

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ: ΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ IDO-1 ΣΕ ΟΣΤΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΤΩΝ
ΓΝΑΘΩΝ ΣΤΗ ΝΟΣΟ ΚΥΤΤΑΡΩΝ LANGERHANS**

ΚΙΟΣΠΕΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ

ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2019

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια για την εκπόνηση της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής
Εργασίας: Χρυσομάλη Ευανθία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εργαστήριο
Στοματολογίας

Τριμελής Επιτροπή

1. Χρυσομάλη Ευανθία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εργαστήριο
Στοματολογίας
2. Νικητάκης Νικόλαος, Καθηγητής και Διευθυντής, Εργαστήριο Στοματολογίας
3. Τόσιος Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Στοματολογίας

Αφιέρωση

Στη μνήμη του πατέρα μου,

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1	ΠΡΟΛΟΓΟΣ	5
2	ΝΟΣΟΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ LANGERHANS	8
2.1	Γενικά.....	8
2.2	Ιστορική αναδρομή	13
2.3	Κλινική Εικόνα	16
2.3.1	Γενικά.....	16
2.3.2	Επιδημιολογικά στοιχεία.....	16
2.3.3	Κλινικές Εκδηλώσεις.....	17
2.3.3.1	Ενδοκρινικό	18
2.3.3.2	Δέρμα	20
2.3.3.3	Οστά	21
2.3.3.4	Γαστρεντερικό και κοιλία	23
2.3.3.5	Εκδηλώσεις από τις γνάθους και τη στοματική κοιλότητα.....	25
2.4	Ιστοπαθολογία	27
2.5	Αιτιοπαθογένεια.....	28
2.6	Διάγνωση.....	30
2.7	Θεραπεία.....	36
2.7.1	Γενική Θεώρηση	36
2.7.1.1	Γενικές αρχές θεραπείας παιδιατρικών ασθενών	36
2.7.1.2	Γενικές αρχές θεραπείας ενηλίκων	37
2.7.2	Αξιολόγηση Ανταπόκρισης στη Θεραπεία	38
2.7.3	Θεραπεία Πρώτης Γραμμής για παιδιατρικούς ασθενείς	39
2.7.3.1	Πολυσυστηματική νόσος.....	39
2.7.3.2	Πολυεστιακή οστική προσβολή, προσβολή ειδικών θέσεων και προσβολή κινδύνου για το ΚΝΣ.....	41
2.7.4	Θεραπεία διάσωσης (Salvage therapy) για τους ασθενείς κινδύνου	42
2.7.5	Θεραπεία υποτροπών	42
2.7.6	Ακτινοθεραπεία.....	43
2.8	Εν συντομία	43
3	ΙΔΟ	45
3.1	Εισαγωγικά	45
3.2	ΙΔΟ.....	45
3.2.1	Έκφραση και Ανοσολογική Ισορροπία	46
3.2.2	Δράση	47

3.3	Μηχανισμοί Δράσης.....	50
3.3.1	Τοπικές επιδράσεις στα Τ κύτταρα	51
3.3.2	Συστηματική ρύθμιση ανοσίας από το IDO	52
3.4	IDO και Δενδριτικά Κύτταρα	55
3.5	IDO σε Φλεγμονή και Νεοπλασία	56
3.5.1	Φλεγμονή	56
3.5.2	Νεοπλασία.....	58
3.5.2.1	Το μικροπεριβάλλον του όγκου	66
4	ΣΚΟΠΟΣ	68
5	ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	70
5.1	Ασθενείς, Κριτήρια Επιλογής	70
5.2	Κριτήρια αποκλεισμού	70
5.3	Θετικοί – Αρνητικοί Μάρτυρες	71
5.4	Κλινικά Χαρακτηριστικά	71
5.5	Ιστολογική Εικόνα - Ειδικές Χρώσεις.....	77
5.6	Ανοσοϊστοχημεία	78
5.6.1	Αποπαραφίνωση κι Ενυδάτωση.....	79
5.6.2	Ανάκτηση Αντιγόνων	79
5.6.3	Αναστολή Ενδογενούς Υπεροξειδάσης	79
5.6.4	Ανοσοϊστοχημική Χρώση.....	79
5.6.5	Αφυδάτωση και Κάλυψη.....	80
5.7	Αξιολόγηση χρώσης.....	80
5.8	Στατιστική Ανάλυση	81
6	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	82
6.1	Μάρτυρες	82
6.2	Δείγμα.....	84
7	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	93
8	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	103
9	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	104
10	ABSTRACT	105
11	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	106
12	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	142

1 ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ως ιστοκύτταρα χαρακτηρίζονται κύτταρα που μεταναστεύουν στους ιστούς όπου και παραμένουν. Στην αγγλόφωνη βιβλιογραφία η μετάφραση του ιστοκυττάρου είναι “Histocyte” και δεδομένης της χρήσης αυτού του όρου, προκύπτει η ονοματολογία “histiocytosis” που περιγράφει την ασθένεια που σχετίζεται με τα ιστοκύτταρα. Επειδή, όμως, ετυμολογικά πρόκειται για λέξη με ελληνική ρίζα μεταφρασμένη στην αγγλική γλώσσα, η ονοματολογία «ιστιοκυττάρωση» υιοθετήθηκε στην παρούσα εργασία ως δοκιμότερη συγκριτικά με τον όρο «ιστιοκύτωση»..

Η νόσος αποτελεί ιστοκυτταρική κλωνική διαταραχή και χαρακτηρίζεται από συνάθροιση παθολογικών κυττάρων τα οποία παρουσιάζουν φαινότυπο όμοιο με τα αντιγονοπαρουσιαστικά δενδριτικά κύτταρα της επιδερμίδας (κύτταρα Langerhans – LCs). Με βάση αυτόν τον χαρακτηρισμό του τύπου των κυττάρων που συμμετέχουν στην παθογένεια, προέκυψε η ονοματολογία Ιστιοκυττάρωση Langerhans (Langerhans Cell Histiocytosis – LCH) ή νόσος κυττάρων Langerhans, ορολογία που υιοθετήθηκε και στην παρούσα εργασία.

Στόχος αυτής της εργασίας είναι η διερεύνηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του ενζύμου IDO σε οστεολυτικές βλάβες των γνάθων στη νόσο κυττάρων Langerhans. Από τη μελέτη της βιβλιογραφίας, φαίνεται να μην υπάρχει άλλη έρευνα που να αφορά στην έκφραση του IDO στη νόσο κυττάρων Langerhans.

Στο γενικό μέρος αυτής της εργασίας περιλαμβάνονται 2 κεφάλαια. Το πρώτο αφορά στην LCH και περιλαμβάνει πληροφορίες ιστορικού περιεχομένου για τη νόσο, ανάλυση της κλινικής εικόνας της νόσου ανά τα συστήματα που προσβάλλει, πληροφορίες για την αιτιοπαθογένεια και την ιστολογική εικόνα της νόσου καθώς και στοιχεία και οδηγίες για τη διάγνωση και τη θεραπεία της. Το δεύτερο κεφάλαιο αναφέρεται στο ένζυμο της παρούσας μελέτης, το IDO. Περιγράφεται εν συντομία η βιοχημεία που το χαρακτηρίζει, ο ρόλος του στην ανθρώπινη ομοιοστασία και τη νόσο, τα βιοχημικά και μοριακά μονοπάτια τα οποία επηρεάζει και απ’ τα οποία επηρεάζεται, καθώς και η σχέση του, όπως αυτή έχει χαρτογραφηθεί έως σήμερα, με τα δενδριτικά κύτταρα, τη φλεγμονή και τον καρκίνο.

Το ειδικό μέρος αποτελείται από το Υλικό και Μέθοδος, τα Αποτελέσματα, τη Συζήτηση και το Συμπέρασμα. Στο Υλικό και Μέθοδος αναλύεται το υλικό της μελέτης, και περιγράφονται οι επιστημονικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και οι μέθοδοι αξιολόγησης και στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων. Στα Αποτελέσματα παρουσιάζονται με φωτογραφικό υλικό και τη βοήθεια γραφημάτων τα αποτελέσματα της μελέτης που έγινε και στη Συζήτηση σχολιάζονται, ερμηνεύονται και συγκρίνονται με πηγές της διεθνούς βιβλιογραφίας. Τέλος, στο Συμπέρασμα, εξάγονται τα συμπεράσματα της μελέτης και δίδονται προοπτικές για μελλοντική έρευνα.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους συνέδραμαν στην εκπόνηση αυτής της εργασίας ή συνέβαλαν με άλλο τρόπο στην μεταπτυχιακή μου εκπαίδευση στη Στοματολογία. Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην *Καθηγήτρια και τέως Διευθύντρια του εργαστηρίου Στοματολογίας Αλεξάνδρα Σκλαβούνου* για την ευκαιρία που μου έδωσε να μελετήσω το αντικείμενο της Στοματολογίας και για τη γνώση και κριτική που προσέφερε τα χρόνια των σπουδών μου. Έπειτα θα ήθελα να ευχαριστήσω εγκαρδώς την υπεύθυνη καθηγήτριά μου, *Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ευανθία Χρυσομάλη*, για την πολύτιμη βοήθεια και στήριξή της τόσο στην εκπαίδευσή μου όσο και στην ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας. Η ερευνητική μεθοδολογία και η αναλυτική σκέψη ήταν προσόντα, την καλλιέργεια των οποίων οφείλω σε μεγάλο βαθμό στον *Καθηγητή και νυν Διευθυντή του εργαστηρίου Στοματολογίας Νικόλαο Νικητάκη*. Ένα μεγάλο ευχαριστώ απευθύνω στον *Αναπληρωτή Καθηγητή Κωνσταντίνο Τόσιο* για την καθοδήγηση και τις συμβουλές που μου παρείχε, όπως επίσης στην *Επίκουρη Καθηγήτρια Ευαγγελία Πιπέρη* για την συμβολή της σε γνώσεις αλλά και στην παρούσα μελέτη. Για τις γνώσεις της στην Παθολογική Ανατομική θα ήθελα να ευχαριστήσω την τέως *Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παναγιώτα Οικονομοπούλου*. Ιδιαίτερες ευχαριστίες και στον *Καθηγητή Ανδρέα Λάζαρη* για την πολύτιμη βοήθεια του στον ίδιο τομέα.

Εν συνεχεία θα ήθελα να ευχαριστήσω την παρασκευάστρια του εργαστηρίου Στοματολογίας *Μαρία Μάνου* για την συμβολή της στην ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας, όπως επίσης και την τεχνολόγο *Μαρία Κεμερλή* για τις συμβουλές της αναφορικά με τα πρωτόκολλα ερευνητικής μεθοδολογίας.

Θα ήθελα επίσης, να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό που στελεχώνει το Εργαστήριο και την Κλινική της Στοματολογίας, την γραμματέα, τους επιστημονικούς συνεργάτες, τους υποψήφιους διδάκτορες και τους μεταπτυχιακούς συμφοιτητές μου, με τους οποίους δημιουργήσαμε ένα όμορφο κλίμα όλα τα χρόνια των σπουδών μου.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω όλους τους φίλους μου, που άντεξαν και υπέμειναν τη γκρίνια και τα νεύρα μου, αλλά μοιράστηκαν και τη χαρά μου. Μα πάνω από όλους, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για την παιδεία, την ανοχή, την πίστη, τη συνέπεια, την επιμονή και την αγάπη που μου έδειξαν όλα αυτά τα χρόνια (αλλά και τα προηγούμενα). Την αδερφή μου Φαίη, τη μητέρα μου Σταματίνα και τον εκλιπόντα πατέρα μου Κωνσταντίνο Κιοσπέ. Σε αυτούς οφείλω το είναι και τις επιτυχίες μου.

Γενικό Μέρος

2 ΝΟΣΟΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ LANGERHANS

2.1 Γενικά

Οι ιστοκυτταρώσεις είναι σπάνιες διαταραχές που χαρακτηρίζονται από συσσώρευση κυττάρων που πιστεύεται ότι προέρχονται από δένδριτικά κύτταρα (Dendritic Cells – DC) ή μακροφάγα. Η βιολογική τους συμπεριφορά ποικίλει από ήπια σε μονήρεις εντοπίσεις έως πολυοργανική νόσο που θέτει σε κίνδυνο τη ζωή του ασθενούς. Η πρώτη κατάταξή τους έγινε το 1987 από ομάδα ειδικών σε ένα Working Group της Εταιρείας Ιστοκυτταρώσεων (Histiocyte Society – HS) [1] σε τρεις βασικές τάξεις:

- 1) **τάξη I:** σχετιζόμενες με κύτταρα Langerhans (Langerhans Cell – LC),
- 2) **τάξη II:** μη σχετιζόμενες με LC και
- 3) **τάξη III:** κακοήθεις ιστοκυτταρώσεις (Malignant Histiocytoses – MH).

Στις σχετιζόμενες με LC ιστοκυτταρώσεις εντάχθηκε η ιστοκυττάρωση κυττάρων Langerhans (LCH), ονομασία κάτω από την οποία συμπεριλήφθηκαν πολλές διαφορετικές ονοματολογίες για την ίδια οντότητα όπως: ιστοκυττάρωση Χ, ηωσινόφιλο κοκκίωμα, νόσος Letterer-Siwe, σύνδρομο Hand-Schüller-Christian, σύνδρομο Hashimoto-Pritzker [2], αυτοϊώμενη ιστοκυττάρωση (self-healing histiocytosis) [3], «αληθής» δερματική ιστοκυττάρωση-Χ (“pure” cutaneous histiocytosis-X) [4], κοκκιωμάτωση κυττάρων Langerhans (Langerhans-cell granulomatosis) [5], ιστοκυττάρωση τύπου II (type ii histiocytosis) [6] και ο γενικός όρος μη λιπιδικές δικτυοενδοθηλίωσεις (non-lipid reticuloendotheliosis). Στην τάξη II ανήκει η αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστοκύττωση (haemophagocytic lymphohistiocytosis), το σχετιζόμενο με λοίμωξη αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (Infection-associated haemophagocytic syndrome) και άλλες ιστοκυτταρώσεις. Τέλος, στην τάξη III, ανήκουν η οξεία μονοκυτταρική λευχαιμία (acute monocytic leukemia), οι κακοήθεις ιστοκυτταρώσεις (malignant histiocytoses) και τα αληθή ιστοκυτταρικά λεμφώματα (true histiocytic lymphomas). Έτσι για πρώτη φορά διαχωρίστηκαν οι οφειλόμενες σε LC/δένδριτικά κύτταρα βλάβες από τις βλάβες των μακροφάγων, όπως επίσης και κακοήθεις νόσοι.

Το 1997, νεότερα επιστημονικά δεδομένα μεταξύ των οποίων η μονοκλωνικότητα της LCH και η ποικίλη βιολογική της συμπεριφορά [7] οδήγησαν σε μια νέα ταξινόμηση [8] από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization – WHO) (**Πίνακας 1**). Η κατηγοριοποίηση γίνεται σε δύο βασικά σκέλη, αυτά της ποικίλης βιολογικής συμπεριφοράς και των κακοήθων διαταραχών.

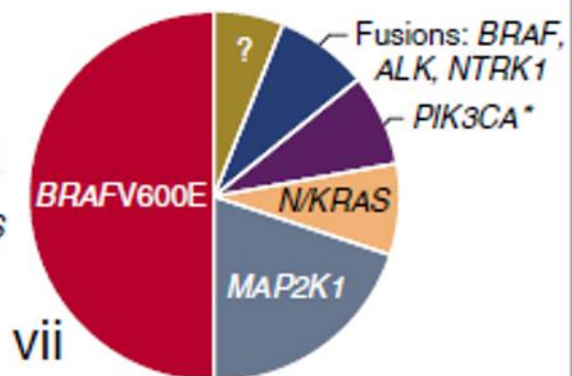
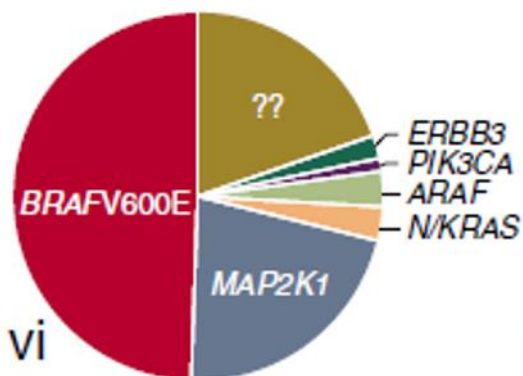
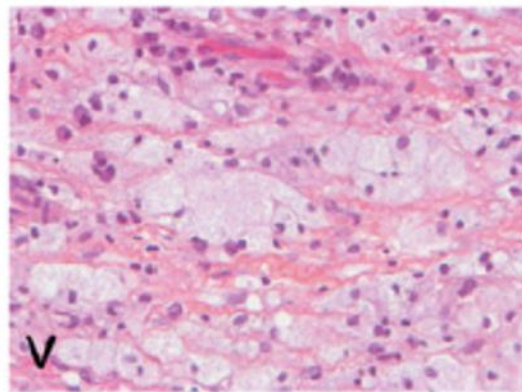
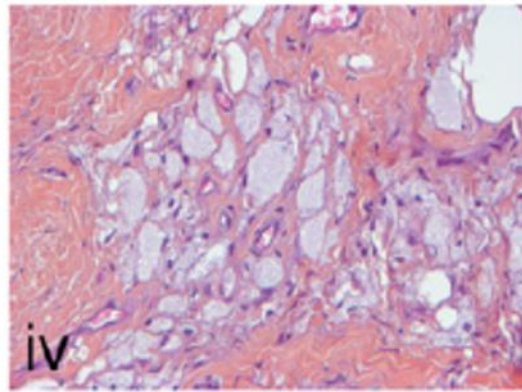
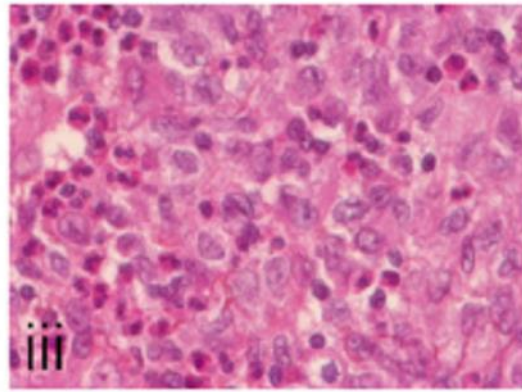
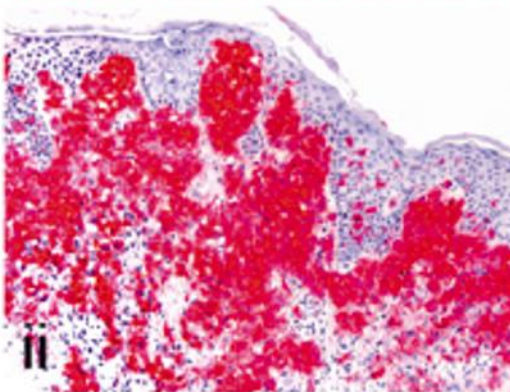
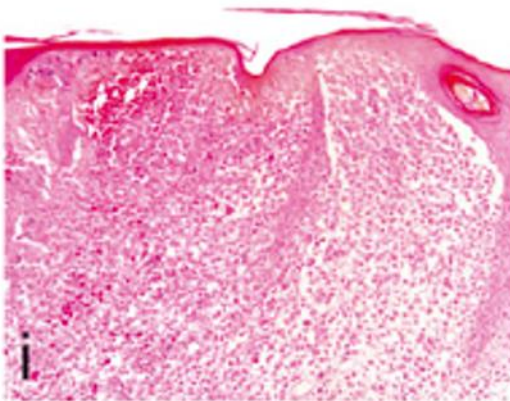
Διαταραχές ποικίλη βιολογικής συμπεριφοράς
 Σχετιζόμενες με δενδριτικά κύτταρα
 Ιστιοκύτωση κυττάρων Langerhans
 Δευτερεύουσες εξεργασίες δενδριτικών κυττάρων
 Νεανικό ξανθοκοκκίωμα και σχετικές διαταραχές
 Μονήρη ιστοκυττώματα ποικίλων φαινοτύπων δενδριτικών κυττάρων
 Σχετιζόμενες με μακροφάγα
 Αιμοφαγοκυτταρικά σύνδρομα
 Πρωτοπαθής αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστοκύτωση
 (Οικογενής και σποραδική, συχνά εκλυόμενη από ιικές λοιμώξεις)
 Δευτεροπαθή αιμοφαγοκυτταρικά σύνδρομα
 Σχετιζόμενα με λοίμωξη
 Σχετιζόμενα με κακοήθεια
 Άλλα
 Νόσος Rosai-Dorfman (ιστιοκύτωση των λεμφοκόλπων με μαζική λεμφαδενοπάθεια)
 Μονήρες ιστοκύττωμα με φαινότυπο μακροφάγων
 Κακοήθεις διαταραχές
 Σχετιζόμενες με μονοκύτταρα
 Λευχαιμίες (FAB και αναθεωρημένη FAB ταξινόμηση)
 Μονοκυτταρική λευχαιμία M5A και B
 Οξεία μυελομονοκυτταρική λευχαιμία M4
 Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία
 Εξωμυελικός μονοκυτταρικός όγκος ή σάρκωμα (μονοκυτταρικό ανάλογο του κοκκιοκυτταρικού σαρκώματος)
 Ιστιοκυτταρικό σάρκωμα σχετιζόμενο με δενδριτικά κύτταρα (τοπικό ή γενικευμένο)
 Προσδιορισμός φαινοτύπου: θυλακιώδη δενδριτικά κύτταρα, διαπλεκόμενα δενδριτικά κύτταρα κ.α.
 Ιστιοκυτταρικό σάρκωμα σχετιζόμενο με μακροφάγα (τοπικό ή γενικευμένο)

Πίνακας 1. Κατάταξη ιστοκυτταρώσεων, WHO 1997. Favara και συν [8]

Οι ιστοκυτταρώσεις σήμερα αποτελούν αιματολογικές βλαστικές διαταραχές (proliferative disorders) οι οποίες μπορεί να οφείλονται σε ένα φάσμα μηχανισμών όπως η αντιδραστική συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων, η αυτοανοσία ή η νεοπλασία [9]. Η τελευταία ταξινόμηση της Εταιρείας Ιστιοκυτταρώσεων [10] με φειδώ κατατάσσει αυτές τις διαταραχές σε 5 κατηγορίες με βάση τα κλινικά, ακτινογραφικά, παθολογοανατομικά, φαινοτυπικά, γενετικά και μοριακά χαρακτηριστικά τους.

Ομάδα L

- LCH
- ICH
- ECD
- Μικτή LCH/ECD



* Ένα ποσοστό ασθενών με μετάλλαξη PIK3CA έχουν συγχρόνως μετάλλαξη BRAFV600E

Ομάδα C

- Δερματικές μη-LCH
- Οικογένεια XG: JXG, AXG, SRH, BCH, GEH, PNH
- Μη-XG οικογένεια: δερματική RDD, NXG, άλλη NOS
- Δερματικές μη-LCH με εμπλοκή ενός συστηματικού παράγοντα

Ομάδα R

- Οικογενής RDD
- Σποραδική RDD
- Κλασική RDD
- Εξωλεμφαδενική RDD
- RDD με νεοπλασία ή αυτοάνοση νόσο
- Αταξινόμητες

Ομάδα M

- Πρωτοπαθής κακοήθης ιστοκυττάρωση
- Δευτεροπαθής κακοήθης ιστοκυττάρωση (σχετιζόμενη με αιματολογική νεοπλασία)

Υπότυποι: ιστοκυτταρικός, διαπλεκόμενος (interdigitating), Langerhans, απροσδιόριστου κυττάρου (indeterminate cell)

Ομάδα H

- Πρωτοπαθής HLH: κληρονομικές μονογονιδιακές καταστάσεις που οδηγούν σε HLH
- Δευτεροπαθής HLH (μη-Μεντελική HLH)
- HLH αγνώστου αιτίας

Ομάδα	Νόσοι
Ομάδα L	<ul style="list-style-type: none"> • LCH • ICH • ECD • Μικτή LCH/ECD
Ομάδα C	<ul style="list-style-type: none"> • Δερματικές μη-LCH - Οικογένεια XG: JXG, AXG, SRH, BCH, GEH, PNH - Μη-XG οικογένεια: δερματική RDD, NXG, άλλη NOS • Δερματικές μη-LCH με εμπλοκή ενός συστηματικού παράγοντα
Ομάδα R	<ul style="list-style-type: none"> • Οικογενής RDD • Σποραδική RDD - Κλασική RDD - Εξωλεμφαδενική RDD - RDD με νεοπλασία ή αυτοάνοση νόσο

	- Αταξινόμητες
Ομάδα Μ	<ul style="list-style-type: none"> • Πρωτοπαθής κακοήθης ιστοκυττάρωση • Δευτεροπαθής κακοήθης ιστοκυττάρωση (σχετιζόμενη με αιματολογική νεοπλασία) <p><i>Υπότυποι: ιστοκυτταρικός, διαπλεκόμενος (interdigitating), Langerhans, απροσδιόριστου κυττάρου (indeterminate cell)</i></p>
Ομάδα Η	<ul style="list-style-type: none"> • Πρωτοπαθής HLH: κληρονομικές μονογονιδιακές καταστάσεις που οδηγούν σε HLH • Δευτεροπαθής HLH (μη-Μεντελική HLH) • HLH αγνώστου αιτίας

Εικόνα 1. Ιστολογία και σωματικές μεταλλάξεις (somatic mutations) των ιστοκυτταρώσεων των ομάδων L, C, R, M, και H. (A) Ομάδα L: Ιστολογία LCH (δέρματος [i-ii] και οστών [iii]) και ECD (περινεφρική (perirenal) [iv]). Πίτα (pie chart) σχετικών συχνοτήτων μεταλλάξεων που ενεργοποιούν κινάσες σε LCH (vi) και ECD (vii). (B) Ομάδα C: Ιστολογία JXG (i-ii). (C) Ομάδα R: Ιστολογία RDD (μηνιγγική με υψηλή διήθηση IgG41 πλασματοκυττάρων [i-ii]). (D) Ομάδα M: Ιστολογία MH (i-ii). (E) Ομάδα H: Ιστολογία κληρονομικής HLH (ήπαρ [i-ii]). Χρώση με CD1a (Lii με κόκκινο), IgG4 (Rii με καφέ), CD163 (Hii με καφέ) ή αιματοξυλίνη και ηωσίνη (οι υπόλοιπες). Emilek και συν [10].

Ομάδα L

Η παλιότερη διχοτόμηση των LC και μη-LC ιστοκυτταρώσεων έχει αμφισβητηθεί καθώς ένα ποσοστό που φτάνει το 20% των ασθενών με νόσο Erdheim-Chester (Erdheim-Chester Disease – ECD) εμφανίζουν επίσης βλάβες LCH [11]. Επίσης, και οι δύο νόσοι έχουν κλωνικές μεταλλάξεις που αφορούν σε γονίδια του MAPK μονοπατιού σε ποσοστό περίπου 80% [12] [13] [14] [15] και τα παθολογικά ιστοκύτταρα είναι μονοκύτταρα του αίματος που φέρουν τις ίδιες μεταλλάξεις. Κλινικά, και στις δύο περιπτώσεις υπάρχουν σχετιζόμενες επιπλοκές όπως ο άποιος διαβήτης και η νευροεκφυλιστική νόσος. Έτσι, οι LCH, ECD και το εξωδερματικό νεανικό ξανθοκοκκίωμα (extracutaneous juvenile xanthogranuloma -JXG) κατατάσσονται στην ίδια ομάδα (Πίνακας 2).

Νόσος	Υπότυποι
LCH	LCH SS LCH πνεύμονες ⁺ LCH MS-RO ⁺ LCH MS-RO ⁻ Σχετιζόμενη με άλλη μυελοβλαστική/μυελοδυσπλαστική διαταραχή
ICH	
ECD	ECD κλασικός τύπος ECD χωρίς εμπλοκή οστού

	Σχετιζόμενη με άλλη μυελοβλαστική/μυελοδυσπλαστική διαταραχή Εξωδερματικό ή γενικευμένο JXG με μετάλλαξη που ενεργοποιεί το MAPK μονοπάτι ή με ALK γονιδιακή μετάθεση
Μικτή LCH και ECD	

Πίνακας 2. Κατάταξη και υποκατηγορίες νόσων ομάδας L. ECD: νόσος Erdheim-Chester; ICH: indeterminate cell histiocytosis – ιστοκυττάρωση απροσδιόριστων κυττάρων; LCH: ιστοκυττάρωση κυττάρων Langerhans; MS: multiple system – πολλαπλά όργανα; RO: risk organ – όργανο κινδύνου; SS: single system – ενός συστήματος. Emile και συν [10].

Ομάδες C, M, R, H

Οι μη-LC ιστοκυτταρώσεις (Ομάδα C) που εντοπίζονται στο δέρμα ή/και στους βλεννογόνους αποτελούνται από πολλές οντότητες, μερικές από τις οποίες μπορεί να σχετίζονται με συστηματική εμπλοκή. Η ταξινόμηση στηρίζεται στον ανοσοφαινότυπο και τα κλινικά χαρακτηριστικά, αν και κάποιοι ασθενείς εμφανίζουν συνδυαστικά χαρακτηριστικά από περισσότερους υπότυπους. Στην ομάδα M περιλαμβάνονται οι παλαιότερες κακοήθεις Ιστοκυτταρώσεις (MH) και νεότερες νόσοι όπως τα ιστοκυτταρικά και τα ενδιάμεσων δενδριτικών κυττάρων (IDC), LC και απροσδιόριστων κυττάρων σαρκώματα. Τα σαρκώματα θυλακιωδών δενδριτικών κυττάρων (follicular DC sarcomas) δεν συμπεριλαμβάνονται σε αυτή την ταξινόμηση. Η ομάδα R περιλαμβάνει όλο το φάσμα της νόσου Rosai-Dorfman (Rosai Dorfman Disease – RDD) καθώς και διάφορες μη δερματικές μη-LC ιστοκυτταρώσεις και η ομάδα H την αιμοφαγοκυτταρική λεμφοϊστοκυττάρωση και σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων [10].

2.2 Ιστορική αναδρομή

Η ομάδων των νόσων που είναι πλέον γνωστές ως LCH παλαιότερα είχαν λάβει πληθώρα ονομάτων όπως ιστοκυττάρωση X, ηωσινόφιλο κοκκίωμα, νόσος Letterer-Siwe, νόσος Hand-Schuller-Christian, σύνδρομο Hashimoto-Pritzker, αυτοϊώμενη ιστοκυττάρωση, αληθής δερματική ιστοκυττάρωση, κοκκιωμάτωση κυττάρων Langerhans, ιστοκυττάρωση τύπου II και τον γενικό όρο μη-λιπιδική δικτυοενδοθηλίωση.

Η πρώτη περίπτωση LCH περιεγράφηκε το 1865 από τον Dr. Thomas Smith σε ένα τετράχρονο με έκζεμα προσώπου (impetigo) και λυτικές (punched-out) βλάβες στα οστά του κρανίου. Αυτά τα ελλείματα θεωρήθηκε ότι ήταν συγγενή, αλλά μεταγενέστερη ανάλυση των σχεδίων (οι βλάβες είχαν σχεδιασθεί διότι οι ακτινογραφίες δεν είχαν ανακαλυφθεί μέχρι το 1895), συγκλίνει προς LCH. Το έκζεμα θεραπεύθηκε αλλά το παιδί απεβίωσε από κοκκύτη λίγους μήνες μετά. Ο Dr. Smith σημειώνει ότι το μόνο άλλο «δείγμα» με παρόμοια συγγενή ελλείματα ήταν μία μεγαλύτερης ηλικίας γυναίκα στο μουσείο του νοσοκομείου “Guy’s” [16] [17].

Την ίδια περίοδο ο Paul Langerhans εξέδωσε μία εργασία-ορόσημο με τίτλο “Über die Nerven der menschlichen Haut” («Σχετικά με τα νεύρα του ανθρώπινου δέρματος») όντας 21 ετών φοιτητής ιατρικής στο Ινστιτούτο Παθολογίας του Πανεπιστημίου του Βερολίνου, με την καθοδήγηση του Καθηγητή Virchow. Χρησιμοποίησε την τεχνική χρώσης του χλωριούχου χρυσού του Cohnheim και περιέγραψε για πρώτη φορά ένα μη χρωσμένο δενδριτικό κύτταρο στην επιδερμίδα. Αρχικά θεώρησε αυτά τα κύτταρα ενδοδερμικούς υποδοχείς του νευρικού συστήματος για εξωδερμικά ερεθίσματα. Αργότερα, ο Langerhans επαναπροσδιόρισε τη θεωρία του καταλήγοντας ότι τα κύτταρα που είχε ανακαλύψει δεν είχαν σχέση με τις τελικές νευρικές απολήξεις. Σήμερα πλέον είναι ευρέως γνωστό, ότι πρόκειται για κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και είναι αυτά τα ιστοκύτταρα που επώνυμα αναφέρονται ως κύτταρα Langerhans, ενώ ο πολλαπλασιασμός αυτών, συνιστά την LCH [16].

Ο Alfred Hand το 1893 από το νοσοκομείο παιδών της Φιλαδέλφεια, παρουσίασε την περίπτωση ενός αγοριού 3 ετών με εξόφθαλμο, το οποίο εισήχθη με πολυδιψία και πολουρία. Το αγόρι πέθανε 2 μήνες μετά και η κιτρινωπή αλλοίωση που βρέθηκε στο βρεγματικό οστό κατά τη νεκροψία αποδόθηκε σε φυματίωση [18]. Το 1905 ο Hand παρεβρέθηκε σε παρουσίαση περιστατικού στην Pennsylvania από τον Dr Thomas W. Kay, ο οποίος παρουσίασε ένα αγόρι 7 ετών με εξόφθαλμο, άποιο διαβήτη και οστικά ελλείματα. Η ομοιότητα των περιστατικών και οι δημοσιεύσεις των Schuller και Christian οδήγησαν τον Hand το 1921 να παραδεχθεί ότι ίσως να ήταν άλλη η σωστή διάγνωση [19]. Το 1915 ο Artur Schuller στη Βιέννη περιέγραψε δύο περιστατικά ενός αγοριού 16 ετών και ενός κοριτσιού 4 ετών με εξόφθαλμο, πολουρία και πολυδιψία. Μία πενταετία μετά ο Dr Henry Christian στο νοσοκομείο Peter Bent Brigham στη Βοστόνη δημοσίευσε την περίπτωση ενός κοριτσιού 5 ετών με εκτεταμένες αλλοιώσεις στα οστά του κρανίου, εξόφθαλμο και άποιο διαβήτη. Εν τέλει η επωνυμία νόσος Hand-Schuller-Christian χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει τη νόσο παιδιών μεγαλύτερων των 2 ετών που χαρακτηρίζεται από την τριάδα συμπτωμάτων: εξόφθαλμο, άποιο διαβήτη και αλλοιώσεις στα οστά του κρανίου [16].

Το 1924 ο Erich Letterer παρουσιάζει μια οξεία «κεραυνοβόλο» μη-λευχαιμική διαταραχή του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος σε ένα παιδί 6 μηνών στο Ινστιτούτο Παθολογίας στο Πανεπιστήμιο του Wurzburg. Εννέα χρόνια μετά από το Πανεπιστήμιο του Lund στη Σουηδία ο Sture Siwe περιγράφει μια παρόμοια διαταραχή σε ένα κορίτσι 18 μηνών. Η διαταραχή χαρακτηριζόταν από σπληνομεγαλία, ηπατομεγαλία, λεμφαδενοπάθεια, όγκους εντοπισμένους σε οστά, αιμορραγική διάθεση, δευτεροπαθή αναιμία και γενικευμένη υπερπλασία μη-λιπιδικών μακροφάγων σε διάφορα όργανα. Ήταν μάλιστα η πρώτη φορά που αναφέρθηκε ο όρος ιστοκυττάρωση (“histiocyten”) σε συνδυασμό με πάθηση του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος. Ανέφερε μάλιστα ότι τέτοιες «νόσοι

αποθήκευσης» (storage diseases) ήταν ήδη γνωστές με τους όρους Gaucher, Niemann-Pick, ακόμη και Christian-Schuller. Η πρώτη αναφορά στη νόσο Letterer-Siwe έγινε σε δημοσίευση των Dr Arthur Abt και Edward Denenholz από το Σικάγο, οι οποίοι ανασκόπησαν 9 το σύνολο περιπτώσεις [20].

Η πρώτη αναφορά σε ηωσινόφιλο κοκκίωμα ως κοκκιωματώδη οστική βλάβη έγινε το 1930 από τον Dr Mignon σε ένα αγόρι 12 ετών. Το 1940 δύο ακόμη άρθρα ήρθαν στη δημοσιότητα. Το πρώτο των Sadao Otani και Joseph Ehrlich από τη Νέα Υόρκη [21]. Ονόμασαν τη νόσο «μονήρες κοκκίωμα του οστού» (solitary granuloma of bone) και την θεώρησαν νεοπλασματικής αρχής. Λίγους μήνες μετά από την ίδια πόλη οι Louis Lichtenstein και Henry Jaffe κατονομάζουν παρόμοια βλάβη «ηωσινόφιλο κοκκίωμα του οστού» (eosinophilic granuloma of bone). Συμπεριλαμβανομένων των επτά περιπτώσεων των Otani και Ehrlich, πρότειναν ότι οι βλάβες αποτελούν ένα ικής προέλευσης κοκκίωμα των οστών, το οποίο θα έπρεπε να διαφοροποιηθεί από άλλες παρόμοιες βλάβες των οστών όπως αυτές της νόσου Hand-Schuller-Christian. Κατέστη παράλληλα σαφές ότι πρόκειται για καλοήγη βλάβη, παρά τη μικροσκοπική εικόνα αθροίσεων μεγάλων φαγοκυττάρων που έμοιαζαν νεοπλασματικά μεταξύ των οποίων αναγνωρίζονταν και τα ηωσινόφιλα [22].

Ένα χρόνο μετά ο Sidney Farber το 1941 [23], σε συνεργασία με τον Green το 1942 [24] και 2 χρόνια μετά, το 1944 οι Jaffe και Lichtenstein [25] καταλήγουν στο ότι οι τρεις προαναφερθείσες νόσοι, Letterer-Siwe, Hand-Schuller-Christian και ηωσινόφιλο κοκκίωμα, με βάση τα ιστολογικά χαρακτηριστικά των βλαβών, είναι διαφορετικές εκδηλώσεις της ίδιας νόσου που φαίνεται να προσβάλλει το αιμοποιητικό σύστημα. Η αιτιολογία τους παραμένει άγνωστη και ως εκ τούτου δεν μπορούν (ακόμα) να περιγραφούν με έναν κοινό όρο. Η ομαδοποίηση αυτή διευκόλυνε την επιστημονική κοινότητα να αναγνωρίσει και να δημοσιεύσει παρόμοιες περιπτώσεις, καθότι πριν η ονοματολογία είχε προκαλέσει σύγχυση. Το 1953 ο Lichtenstein δημοσιεύει ενοποιώντας τις νόσους με τον όρο Ιστιοκυττάρωση Χ. Η ενοποίηση ήταν ως επί τω πλείστον παθολογοανατομική και διακρίνονταν επί μέρους κατηγορίες οξείας ή υποξείας γενικευμένης, χρόνιας γενικευμένης και εντοπισμένης ιστοκυττάρωσης Χ. Ο παράγοντας Χ αναφερόταν στον άγνωστο ακόμα αιτιολογικό παράγοντα. Ο όρος «ιστιοκυττάρωση» θεώρησε ότι περιγράφει βέλτιστα τον φλεγμονώδη πολλαπλασιασμό των κυττάρων που αποτελούσαν το κοινό ιστοπαθολογικό εύρημα [26].

Το 1961 οι Birbeck και συν. με τη βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου μελέτησαν την υπερμικροσκοπική δομή των κυττάρων αυτών κι έτσι αναγνώρισαν μεμονωμένα κύτταρα Langerhans λόγω της παρουσίας σε αυτά χαρακτηριστικών οργανυλλίων που αρχικά αναφέρθηκαν ως σωμάτια Langerhans και πλέον είναι ευρέως γνωστά ως κοκκία Birbeck (Birbeck granules). Αυτά τα κυτταροπλασματικά έγκλειστα παρατηρήθηκαν από τον Birbeck και συν. το 1961 σε βλάβες λεύκης και

έμοιαζαν με δομές των κυττάρων Langerhans της επιδερμίδας [27]. Το 1973 χρησιμοποιώντας ηλεκτρονική μικροσκοπία ο Nezelof και συν. ανέφεραν ότι η Ιστιοκυττάρωση Χ είναι αποτέλεσμα πολλαπλασιασμού και διασποράς παθολογικών ιστοκυττάρων, τα οποία ταυτοποίησαν ως Langerhans λόγω της παρουσίας κοκκίων Birbeck [28]. Χρειάστηκε μια δεκαετία, όμως, προκειμένου να το αποδεχθεί πλήρως η επιστημονική κοινότητα και να μετονομαστεί η νόσος σε Ιστιοκυττάρωση κυττάρων Langerhans περιλαμβάνοντας όλες τις μορφές της νόσου [29] [30]

Το 1985 ο Dr. Giulio D' Angio, καθηγητής Ογκολογίας στο Πανεπιστήμιο της Pennsylvania, συγκάλεσε το πρώτο workshop για τις ιστοκυτταρώσεις στη Philadelphia, το οποίο οδήγησε στην ίδρυση της Εταιρείας Ιστιοκυτταρώσεων με τον Dr. Christian Nezelof ως το πρώτο πρόεδρο. Η Εταιρεία έκτοτε συμμετέχει στη διεθνή έρευνα για την ανάπτυξη βέλτιστων θεραπευτικών προσεγγίσεων για τους ασθενείς με LCH αλλά και άλλου τύπου ιστοκυτταρώσεις [16].

2.3 Κλινική Εικόνα

2.3.1 Γενικά

Η νόσος κυττάρων Langerhans είναι σπάνια και εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά, αν και μπορεί να παρουσιαστεί σε οποιαδήποτε ηλικία. Μπορεί να αφορά σε ένα μόνο όργανο (single-system LCH – SS-LCH), με μονήρεις ή πολλαπλές εντοπίσεις, ή μπορεί να αφορά σε περισσότερα όργανα, εμπλέκοντας κάποια συστήματα ή όντας διάχυτη (disseminated). Η φυσική ιστορία της LCH στους ενήλικες, με εξαίρεση την περίπτωση της πνευμονικής LCH παραμένει άγνωστη. Δεν είναι σαφές αν υπάρχουν σημαντικές διαφορές με τη νόσο των παιδιών, όμως είναι αξιοσημείωτο ότι η πολυσυστηματική νόσος των ενηλίκων είναι λιγότερο επιθετική σε σχέση με την υψηλού κινδύνου αντίστοιχη νόσο των παιδιών. Άγνωστος, επίσης, είναι και ο κίνδυνος επαναδραστηριοποίησης της νόσου [31].

Η νόσος μπορεί να προσβάλλει σχεδόν οποιοδήποτε όργανο ή σύστημα, με την εξαίρεση της καρδιάς και των νεφρών. Η παλαιότερη ονοματολογία (νόσος Hand-Schuller-Christian, νόσος Abt-Letterer-Siwe, ηωσινόφιλο κοκκίωμα ή διάχυτη δικτυοενδοθηλίωση), η οποία συνδεόταν και με συγκεκριμένη κλινική εικόνα κατά περίπτωση, έχει εγκαταλειφθεί. Ο λόγος είναι ότι το παθολογικό «ιστιοκύτταρο» όλων αυτών των διαγνώσεων έχει ταυτόσημο ανοσοφαινότυπο με χαρακτηριστική επίσης παρουσία κοκκίων Birbeck σε ηλεκτρονική μικροσκόπηση, ενώ το προφίλ της γονιδιακής του έκφρασης εγείρει την πιθανότητα να πρόκειται για απόγονο κυκλοφορόντος προγονικού κυττάρου και όχι επιδερμικό ιστοκύτταρο Langerhans αυτό καθαυτό [32] [33].

2.3.2 Επιδημιολογικά στοιχεία

Η ετήσια επίπτωση της LCH σε παιδιά κάτω των 15 ετών κυμαίνεται μεταξύ 2-10 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο παιδιών αυτής της ηλικίας [34] [35] [36, 37, 38, 39].

Η μέση ηλικία διάγνωσης είναι οι 30 μήνες και η αναλογία αγοριών/κοριτσιών είναι σχεδόν ίση με 1 [40]. Υψηλότερη επίπτωση έχει παρατηρηθεί μεταξύ Ισπανών σε σχέση με μη Ισπανούς και μικρότερη επίπτωση στη μαύρη φυλή σε σύγκριση με λευκούς. Στους ενήλικες η επίπτωση είναι μία περίπτωση ανά εκατομμύριο [41] [42], αλλά η πραγματική επίπτωση μάλλον δεν είναι γνωστή, γιατί δημοσιεύονται κυρίως περιστατικά και σειρές περιστατικών και όχι πληθυσμιακές έρευνες, οπότε ίσως η LCH στους ενήλικες να είναι μία υποδιαγνωσμένη νόσος. Είναι, λοιπόν, μία νόσος της παιδικής ως επί το πλείστον ηλικίας με περισσότερο από το 50% των προσβαλλόμενων ατόμων να είναι νεαρής ηλικίας, κάτω των 15 ετών [43] [44]. Η μέγιστη επίπτωση σημειώνεται μεταξύ του πρώτου και τέταρτου έτους της ζωής.

Το 65% των ασθενών με LCH έχουν SS-LCH και στην πλειονότητα των περιπτώσεων έχουν άριστη πρόγνωση [45] [46] [47].

Δεν υπάρχουν σαφείς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου στατιστικά αποδεδειγμένοι, όμως έχουν γίνει συσχετίσεις αυξημένης επίπτωσης της νόσου με κάποιες παραμέτρους. Έτσι φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση της LCH με μητρικές και νεογνικές μη ιικές λοιμώξεις [48] [49] [50, 51], εξωσωματική γονιμοποίηση [52], οικογενειακό ιστορικό καρκίνου [51], γονεϊκή επαγγελματική έκθεση σε μέταλλα, γρανίτες και σκόνη από ξύλο [51] και τον μη εμβολιασμό των παιδιών [50] [51]. Αντικρουόμενες είναι οι απόψεις γύρω από το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό θυρεοειδοπαθειών [50] [51]. Τέλος, χαμηλότερο κοινωνικοοικονομικό επίπεδο συσχετίζεται με πιο εκτεταμένη νόσο, κυρίως όταν αυτό αφορά την πληθυσμιακή συσσώρευση και όχι τόσο την οικονομική ευχέρεια [39].

Οικογενείς περιπτώσεις έχουν παρατηρηθεί με αυτοσωμικό τύπο κληρονομικότητας [53] [54]. Επίσης έχουν αναφερθεί περιπτώσεις διδύμων, κυρίως μονοζυγωτικών αλλά και διζυγωτικών, υποδηλώνοντας μια πιθανή γενετική προδιάθεση, τουλάχιστον για ένα ποσοστό των περιπτώσεων [42] [55] [56]. Παρόλα αυτά η LCH παραμένει μία σποραδική νόσος. Σπάνια έχει περιγραφεί LCH σε ασθενείς που πάσχουν ήδη από κάποια ιστιοκυττάρωση, όπως η νόσος Erdheim-Chester και Rosai Dorfman [57] [58].

Πάνω από το 90% των περιπτώσεων πνευμονικής LCH σε ενήλικες αφορά σε νεαρούς ενήλικες που καπνίζουν, συχνά περισσότερα από 20 τσιγάρα την ημέρα [59] [60].

2.3.3 Κλινικές Εκδηλώσεις

Η νόσος μπορεί να προσβάλει οποιοδήποτε όργανο ή σύστημα. Συχνότερα προσβάλλονται τα οστά, το δέρμα και η υπόφυση και ακολουθούν οι λεμφαδένες, το ήπαρ, ο σπλήνας, το στομάχι και το αιμοποιητικό. Οι πνεύμονες μπορεί να προσβληθούν ταυτόχρονα ή μεθυστέρα από τα υπόλοιπα όργανα. Η εντοπισμένη

πνευμονική νόσος είναι συχνότερη στους ενήλικους, κυρίως νεαρούς ενήλικες που καπνίζουν, και συχνά συνοδεύεται από πολυσυστηματική νόσο. Οι κλινικές εκδηλώσεις της LCH ποικίλουν ανάλογα με το όργανο ή σύστημα που εμπλέκεται στη νόσο και μπορεί να αφορούν σε ήπια νόσο αυτοπεριοριζόμενη ή χρόνια νόσο με υποτροπές. Η γρήγορα εξελισσόμενη νόσος που παρατηρείται σε παιδιά δεν είναι συχνή στους ενήλικες [61].

Τα συχνότερα συμπτώματα της νόσου για τους ενήλικες είναι η δύσπνοια ή ταχύπνοια, πολυδιψία και πολουρία, πόνος στα οστά, λεμφαδενοπάθεια, απώλεια βάρους, πυρετός, αταξία και προβλήματα μνήμης. Τα σημεία της νόσου είναι το δερματικό εξάνθημα, οζίδια στην κεφαλή, οίδημα μαλακών ιστών πλησίον οστικών βλαβών, λεμφαδενοπάθεια, υπερπλασία των ούλων και ηπατοσπληνομεγαλία. Ασθενείς που εμφανίζουν μόνο άποιο διαβήτη πρέπει να παρακολουθούνται για πιθανή ανάπτυξη βλαβών LCH σε άλλα όργανα. Υπολογίζεται ότι το 80% των ασθενών με LCH που είχαν άποιο διαβήτη, είχαν τη νόσο και σε άλλα όργανα όπως τα οστά (68%), το δέρμα (57%), ο πνεύμονας (39%) και οι λεμφαδένες (18%) [62].

Πιο αναλυτικά οι εκδηλώσεις από τα όργανα που προσβάλλονται:

2.3.3.1 Ενδοκρινικό

Η LCH εμφανίζει προτίμηση στην περιοχή υποθαλάμου-υπόφυσης. Σε ορισμένους ασθενείς οδηγεί σε μόνιμες ανεπάρκειες των ορμονών της πρόσθιας και οπίσθιας υπόφυσης. Ο άποιος διαβήτης είναι το πιο συχνό σημείο σχετιζόμενο με τη νόσο, το οποίο μπορεί να εμφανιστεί πριν ή και μετά τη διάγνωση κατά την εξέλιξη της νόσου [62] [63] [64]. Ανευρίσκεται στο 30% των ασθενών [65], αλλά μπορεί να φτάσει και το 40% σε ασθενείς με πολυσυστηματική νόσο και το 94% των ασθενών που έχουν ήδη κάποια άλλη υποφυσιακή ανεπάρκεια [66]. Η πολουρία και η πολυδιψία ή δομικές ανωμαλίες στην περιοχή υποθαλάμου-υπόφυσης είναι σημεία και συμπτώματα που επιβάλλουν την περαιτέρω διερεύνηση για τη διάγνωση του άποιου διαβήτη.

Δυσλειτουργία του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης συναντάται σε ποσοστό 20% των ασθενών και σχεδόν πάντα μαζί με άποιο διαβήτη [64] [67]. Παρότι κατά κανόνα δε σχετίζεται με ευρήματα στην περιοχή υποθαλάμου-υπόφυσης σε απεικονιστικό έλεγχο, ανευρίσκεται σχεδόν σε όλους τους ασθενείς με πολυσυστηματική νόσο, οι οποίοι έχουν άποιο διαβήτη και αλλοιώσεις στην περιοχή υποθαλάμου-υπόφυσης σε MRI [68]. Η ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης είναι η πιο συχνή και αφορά έως και το 50% των ασθενών με άποιο διαβήτη [66]. Στους ενήλικες δεν υπάρχουν συγκεκριμένα συμπτώματα ανεπάρκειας αυξητικής ορμόνης που να θέτουν υποψία για τη διάγνωση [69]. Η ανεπάρκεια γοναδοτροπίνης είναι η δεύτερη πιο συχνή και παρουσιάζεται στις γυναίκες με διαταραχές του καταμήνιου κύκλου και στους άνδρες με μειωμένη λίμπιντο [66]. Η ACTH εμφανίζει έλλειψη, η οποία

μπορεί να είναι μερική ή ολική, και μπορεί να εμφανιστεί με μη ειδικά συμπτώματα ή ως οξεία επινεφριδιακή ανεπάρκεια μετά από καταστάσεις stress. Η ανεπάρκεια TSH αναπτύσσεται σχεδόν πάντα σε έδαφος ολικής ανεπάρκειας του προσθίου λοβού της υπόφυσης και εμφανίζεται άλλοτε με ήπια και άλλοτε με χαρακτηριστικά συμπτώματα υποθυρεοειδισμού. Ήπια ανεβασμένα επίπεδα προλακτίνης που οφείλονται στη διήθηση του στελέχους της υπόφυσης μπορεί να προκαλέσουν γαλακτόρροια στις γυναίκες και ανεπάρκεια γοναδοτροπίνης σε όλους τους ασθενείς. Οι εγκατεστημένες ενδοκρινικές ανεπάρκειες δεν επανέρχονται σχεδόν ποτέ. Ωστόσο, η ανώμαλη απεικόνιση της περιοχής υποθαλάμου-υπόφυσης μπορεί να βελτιωθεί ως απάντηση σε θεραπεία ή ως φυσιολογικό επακόλουθο της πορείας της νόσου [68].

Η προσβολή του υποθαλάμου είναι λιγότερο συχνή σε σχέση με την υπόφυση, όμως επί προσβολής του υποθαλάμου, συνυπάρχει τόσο δυσλειτουργία της υπόφυσης, όσο και νευροψυχιατρικές διαταραχές, διαταραχές συμπεριφοράς, διαταραχή της θερμορύθμισης και του ύπνου καθώς και διαταραχές του αυτόνομου νευρικού συστήματος και του μεταβολισμού. Η πιο συχνή εκδήλωση είναι η παχυσαρκία λόγω αυξημένης όρεξης. Η αδιψία που σχετίζεται με την προσβολή του υποθαλάμου μπορεί να δυσχεραίνει την αντιμετώπιση του άποιου διαβήτη σημαντικά [61].

Όσον αφορά στον θυρεοειδή, έχει περιγραφεί η εμπλοκή του σε περιπτώσεις LCH και τα συμπτώματα περιλαμβάνουν μεγάλη αύξηση του μεγέθους του αδένου, υποθυρεοειδισμό και συμπτώματα από το αναπνευστικό [70]. Η νόσος στον θυρεοειδή μπορεί να είναι εντοπισμένη, αλλά συνηθέστερα αποτελεί εκδήλωση πολυσυστηματικής LCH και αφορά λιγότερο στα παιδιά και κυρίως στους ενήλικες ασθενείς, με ελαφρά προτίμηση στις γυναίκες [71] [72]. Η προσβολή είναι αρκετά σπάνια και μέχρι το 2012 είχαν περιγραφεί 65 τέτοιες περιπτώσεις στην αγγλική βιβλιογραφία [71]. Έχει γίνει συσχέτιση της προσβολής του θυρεοειδούς στο πλαίσιο LCH με χρόνια λεμφοκυτταρική θυρεοειδίτιδα [73], νόσο του Graves, βρογχοκήλη και εξόφθαλμο [74] καθώς και συνύπαρξη με θηλώδες καρκίνωμα [75]. Στην προσβολή του θυρεοειδή φαίνεται να είναι χρήσιμη εξέταση το PET-CT [76]. Αν η προσβολή είναι μονήρης, η πρόγνωση είναι καλύτερη.

Μεταβολικές διαταραχές: Μελέτη σε 14 ενήλικες (και 42 μάρτυρες) έδειξε ότι ασθενείς με LCH έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσουν διαταραχές μεταβολισμού των υδατανθράκων (σακχαρώδη διαβήτη, διαταραχής ανοχής στη γλυκόζη) και των λιπιδίων, οδηγώντας σε αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη, ακόμη και απουσία παχυσαρκίας [77].

Μεταβολισμός των οστών: Ενήλικες με LCH μπορεί να εμφανίσουν χαμηλή σε σχέση με την αναμενόμενη οστική πυκνότητα σε οποιαδήποτε ηλικία, ιδίως κατά τις περιόδους ενεργού νόσου [78].

2.3.3.2 Δέρμα

Παρότι μόνο 12% των παιδιατρικών ασθενών με SS-LCH έχουν δερματικές βλάβες [79] [80], το ποσοστό αυξάνεται σε 53% στις περιπτώσεις MS-LCH [45]. Μάλιστα, στο 50% των περιπτώσεων MS-LCH, οι δερματικές συνιστούν τις πρώτες βλάβες της νόσου [81]. Στην κλινική μελέτη LCH-III, η πενταετής επιβίωση των παιδιών με MS-LCH χωρίς εμπλοκή οργάνων Κινδύνου (OK) ήταν σχεδόν 100%, όμως όταν υπήρχε εμπλοκή των οργάνων κινδύνου το ποσοστό θνητότητας ήταν 15% [47]. Στους ενήλικες το 37% των ασθενών με LCH έχουν προσβολή και στο δέρμα ως εκδήλωση της πολυσυστηματικής νόσου. Η προσβολή του δέρματος μόνο είναι πιο σπάνια σε σχέση με τα παιδιά, αλλά έχουν άριστη πρόγνωση και 100% πενταετή επιβίωση [65].

Η δερματική LCH θεωρείται «μεγάλη ηθοποιός» γιατί μπορεί να μιμηθεί αρκετές δερματοπάθειες. Επίσης, μπορεί να είναι το πρώτο ή και το μοναδικό σημάδι της νόσου. Για τους ενήλικες, οι τυπικές βλάβες του δέρματος της κεφαλής είναι μικρές ημιδιαφανείς βλατίδες διαμέτρου 1-2 εκ., ελαφρώς υπεργεμμένες, ερυθροκίτρινου χρώματος. Συχνά αυτές οι βλάβες αποφλοιώνονται ή αποξηραίνονται, οδηγώντας ενίοτε σε εσφαλμένη διάγνωση σμηγματορροϊκής δερματίτιδας. Προσβολή παρατριμματικών περιοχών στην περιοχή της μασχάλης, στη βουβωνική χώρα, το αιδοίο και την πρωκτογεννητική χώρα με ερυθρηματώδεις βλάβες και διαβρώσεις μπορεί, επίσης, να διαγνωσθεί εσφαλμένα ως έκζεμα, ψωρίαση, καντιντίαση ή παράτριμμα. Γενικευμένο δερματικό εξάνθημα μπορεί να μιμηθεί εικόνα σταγονοειδούς ψωρίασης, οζώδους κνήφης ή ομαλού λειχήνα [61]. Οι βλάβες συνηθέστερα είναι ασυμπτωματικές, αλλά μπορεί να προκαλούν πόνο ή κνησμό.

Η νόσος των Hashimoto-Pritzker αναφέρεται σε αυτοϊώμενη βλάβη κατά τη γέννηση ή στη νεογνική ηλικία (πρώτος μήνας ζωής) χωρίς να υπάρχει εμπλοκή άλλου οργάνου. Συνηθέστερα είναι πολλαπλή και σπανιότερα μονήρης βλάβη. Ο όρος όμως τείνει να εγκαταλειφθεί. Σύμφωνα με κάποιους συγγραφείς, ο όρος έχει χρησιμοποιηθεί εσφαλμένα και για βλάβες που εμφανίστηκαν μετά τον τρίτο μήνα και η βιβλιογραφία παρουσιάζεται συγκεχυμένη [82]. Γενικότερα, λοιπόν, στα νεογνά η πιο συχνή εκδήλωση είναι το σμηγματορροϊκό έκζεμα το οποίο χαρακτηρίζεται από καφέ και ερυθρές βλατίδες που συχνά φέρουν κεντρική έλκωση. Οι μονήρεις δερματικές βλάβες έχουν καλή πρόγνωση και σε ποσοστό 50-60% αυτοϊώνονται εντός ολίγων μηνών, ενώ άλλοτε μπορεί να γίνουν διάχυτες [83]. Δεν έχει βρεθεί κλινικός τρόπος να διαχωριστούν οι περιπτώσεις στις οποίες οι βλάβες θα παραμείνουν στο δέρμα από εκείνες που η νόσος θα εξελιχθεί σε πολυσυστηματική και ο λόγος είναι η πολυμορφία των βλαβών και στις δύο περιπτώσεις [83] [84]. Το μόνο συμπέρασμα που προκύπτει από κάποιες μελέτες είναι ότι όσο οι βλάβες απομακρύνονται από τη νεογνική ηλικία και παρουσιάζονται μετά τον τρίτο μήνα και πολύ περισσότερο μετά τον 18^ο μήνα, τόσο πιθανότερο είναι να εξελιχθούν ή να υποκρύπτουν

πολυσυστηματική νόσο, η οποία θα υποτροπιάσει μετά τη θεραπεία με βινμπλαστίνη/πρεδνιζόνη [82] [85].

Στις εκδηλώσεις από τα νύχια συμπεριλαμβάνονται παρωνυχία, ονυχόλυση, υπόκεντρη υπερκεράτωση και πορφυρικές ραβδώσεις του νυχιού. Επίσης έχουν αναφερθεί μελανόφαιες ραβδώσεις παρόμοιες με τις φαρμακευτικές. Οι δερματικές βλάβες της LCH έχουν ένα πολύ ευρύ φάσμα και χρειάζεται μεγάλη υποψία από τον κλινικό. Η διάγνωση τίθεται με βιοψία και ιστολογική εξέταση της βλάβης. Το δέρμα μπορεί να είναι το μόνο προσβεβλημένο όργανο στο 2% των περιπτώσεων [86]. Σε ποσοστό έως και 60% η νόσος μπορεί να παραμείνει στο δέρμα και να αποδράμει αυτόματα. Για το υπόλοιπο 40% προτείνεται η διερεύνηση για πολυσυστηματική νόσο [61] [87]. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι σε έρευνα των Simko και συν [85] το 40% των ασθενών που παραπέμφθηκαν για πιθανή SS-LCH στο δέρμα, είχαν πολυσυστηματική νόσο και οι μισοί εξ αυτών είχαν προσβληθεί και σε ΟΚ.

Καθότι μονήρεις βλάβες μπορεί να εξελιχθούν σε πολλαπλές ή μια δερματική SS-LCH (μονήρης ή πολλαπλή) να εξελιχθεί σε MS-LCH, οι δερματικές βλάβες είναι πολύ σημαντικό να παρακολουθούνται «στενά» [44] [82]. Το πιο πρόσφατο πρωτόκολλο παρακολούθησης, όπως προτείνεται από την Εταιρεία Ιστοκυτταρώσεων προτείνει δερματολογική εκτίμηση κάθε 2-4 εβδομάδες από τη διάγνωση και έως ότου η νόσος σταθεροποιηθεί ή αποδράμει. Ιδιαίτερη σημασία πρέπει να δίνεται σε σημεία και συμπτώματα που σχετίζονται με πολυσυστηματική νόσο (καθυστέρηση ανάπτυξης, ωχρότητα, διογκωμένα όργανα). Μετά τη θεραπεία, προτείνεται αξιολόγηση ανά 6 μήνες για τα πρώτα 5 έτη [82].

2.3.3.3 Οστά

Η LCH μπορεί να προσβάλει οποιοδήποτε οστό του σώματος, παρότι τα άκρα, άνω και κάτω, προσβάλλονται σπάνια. Πιο αναλυτικά οι θέσεις προσβολής είναι:

Κρανίο

Συχνότερες είναι οι λυτικές βλάβες του **θόλου του κρανίου**, οι οποίες μπορεί να είναι επώδυνες ή και ασυμπτωματικές. Τα βρεγματικά και η μετωπιαία περιοχή προσβάλλονται συχνότερα. Ακτινογραφικά οι βλάβες απεικονίζονται ως σαφώς περιγεγραμμένες διαυγάσεις (punched out). Επίσης, είναι δυνατόν κεντρικά στη βλάβη να υπάρχει οστικό απόλυμα (button sequestrum), σημείο όμως μη ειδικό για την LCH, αφού συχνά παρατηρείται και στην οστεομυελίτιδα [88]. Πολλαπλές βλάβες μπορεί να συνέχονται και να δημιουργούν μια «γεωγραφική» εικόνα ακτινογραφικά [89]. Οι βλάβες αυτές ενίοτε περιβάλλονται από ένα ογκίδιο μαλακών ιστών, το οποίο μπορεί να εκτείνεται εσωτερικά, επηρεάζοντας τη σκληρά μήνιγγα [90]. Σε σπάνιες περιπτώσεις αιμορραγικών βλαβών LCH, μπορεί να προκληθεί και επισκληρίδιο αιμάτωμα [91].

Το κροταφικό είναι το οστό που προσβάλλεται πιο συχνά από τη **βάση του κρανίου**, με παραπλήσιες μάζες μαλακών ιστών, και οι βλάβες εκτείνονται κυρίως στη μαστοειδή απόφυση και λιγότερο στην πλακώδη μοίρα και το μέσο ους [92] [93]. Η προσβολή των οστών του ωτός και του έσω ωτός είναι σπάνια παρά την έντονη οστική καταστροφή. Σπάνια είναι επίσης και η παράλυση κρανιακών νεύρων καθώς και η προσβολή του σφηνοειδούς οστού. Με τη θεραπεία οι βλάβες των μαλακών μορίων υποστρέφουν άμεσα και οι οστεολυτικές βλάβες επανενασβεστιώνονται [93].

Οι οφθαλμικές κόγχες είναι μια ακόμη θέση εμφάνισης της LCH. Μπορεί να είναι μονήρης και να σχετίζεται με ογκίδιο μαλακών ιστών ή να αποτελεί εκδήλωση πολυεστιακής οστικής ή πολυσυστηματικής νόσου. Οι βλάβες εντοπίζονται κυρίως στην άνω και άνω-πλάγια μοίρα του οφθαλμικού κόγχου [92] [94]

Σπονδυλική στήλη και θώρακας

Οι βλάβες της **σπονδυλικής στήλης** μπορεί να αφορούν σε οποιονδήποτε σπόνδυλο. Συχνότερα προσβάλλονται οι αυχενικοί σπόνδυλοι στα παιδιά. Σπάνια πρόκειται για μονήρης εντοπίσεις και συνήθως συνυπάρχουν κι άλλες οστικές βλάβες. Σε ενήλικες η συνηθέστερη εντόπιση είναι η θωρακική μοίρα της σπονδυλικής στήλης, ακολουθούμενη από την οσφυϊκή και την αυχενική [89]. Η οστεολυσία μπορεί να προκαλέσει κατάρρευση του σώματος του σπονδύλου με χαρακτηριστική εικόνα πλατυσπονδυλίας (vertebra plana) [95]. Όταν συνυπάρχει νόσος και στους μαλακούς ιστούς, ενδέχεται να εκλύεται πόνος και να εκδηλώνονται νευρολογικές διαταραχές [96]. Συμπτωτικά φαινόμενα στον νωτιαίο μυελό είναι εξαιρετικά σπάνια [97]. Κατά την επούλωση μπορεί να παρατηρηθεί μερική ή και ολική αποκατάσταση του σπονδύλου.

Οι βλάβες στις πλευρές είναι λυτικές και συχνά συνοδεύονται από παθολογικό κάταγμα. Σε περίπτωση εμπλοκής των μαλακών ιστών μπορεί να εμφανιστεί εξωπλεύρια μάζα [98]. Η προσβολή της κλείδας είναι σπάνια σε παιδιά, αλλά έχουν αναφερθεί περιπτώσεις σε νεαρούς ενήλικες [99]. Αντίθετα, η ωμοπλάτη είναι μια συχνή θέση εντόπισης για τα παιδιά και μπορεί να έχει επεκτατική ή επιθετική εικόνα.

Μακρά οστά

Στα μακρά οστά η LCH εμφανίζεται με ασαφώς περιγεγραμμένες ακτινοδιαυγάσεις του συμπαγούς και σπογγώδους οστού, συνήθως στη διάφυση, τη μετάφυση ή και τις δύο, ενώ είναι σπάνια η εντόπιση στις επιφύσεις. Οι βλάβες αυτές μπορεί να συνοδεύονται από πάχυνση του φλοιού και περιοστική αντίδραση. Με το χρόνο οι αλλοιώσεις δύνανται να αποκτήσουν πιο σαφή ακτινογραφικά όρια και να εμφανίσουν σκληρωτικά όρια στην περιφέρεια. Ενδοοστικά, παρατηρείται οδοντωτή

διαμόρφωση (scalloping), η οποία ευθύνεται για την εικόνα «εκβλαστήσεων» (budding appearance) στη CT [99].

2.3.3.4 Γαστρεντερικό και κοιλία

Η εντερική προσβολή είναι αρκετά σπάνια και η πλειοψηφία των περιπτώσεων αφορά τον παιδιατρικό πληθυσμό, ενώ η συχνότητα εμφάνισής της είναι 2,6% [40]. Συνήθως, αποτελεί σημείο εκτεταμένης πολυσυστηματικής νόσου και συνδέεται με κακή πρόγνωση και έως και 56% θνητότητα εντός 18 μηνών από τη διάγνωση [100] [101] [102]. Στους ενήλικες αφορά κυρίως σε SS-LCH [103] με καλή πρόγνωση και επιβίωση έως και 90% στα 5 έτη [65].

Αρχικά εμφανίζονται μικρά οζίδια στον βλεννογόνο, τα οποία προσδευτικά προκαλούν πάχυνση του εντερικού τοιχώματος [104]. Συχνότερα προσβάλλεται το άνω τμήμα του ειλεού. Το παχύ έντερο επίσης προσβάλλεται συχνά [105]. Τα κυριότερα συμπτώματα είναι οι έμετοι, κοιλιακός πόνος, δυσκοιλιότητα, δύσκολα διαχειρίσιμη διάρροια, αναιμία και πρωτεϊνική απώλεια λόγω εντεροπάθειας [100]. Συχνή είναι η εμφάνιση πολυπόδων και κοκκιωμάτων [61] στους ενήλικες, ενώ έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις διάρροιας, αιματοχεσίας, οξείας σκληροκοειδίτιδας, περιπρωκτικών συριγγίων και δυσσαπορρόφησης [106] [101] [107]. Οι ασθενείς, με ελαφρά υπεροχή των γυναικών 40-77 ετών, μπορεί να είναι ασυμπτωματικοί και η διάγνωση να γίνει από τυχαία ευρήματα σε κολonosκόπηση [103] [108]. Σε μελέτη 12 ενηλίκων με μονήρη εντόπιση LCH στο γαστρεντερικό, μικρό ποσοστό (20%) ασθενών εμφάνισε πολυσυστηματική νόσο εντός 1,5 περίπου έτους από τη διάγνωση. Παρόλα αυτά ο μικρός αριθμός του δείγματος και του χρόνου παρακολούθησης δεν επιτρέπει γενικεύσεις [108].

Όσον αφορά στον σπλήνα και το ήπαρ, πρόκειται για όργανα που προσβάλλονται είτε άμεσα μέσω της διήθησής τους από κύτταρα της LCH είτε δευτερογενώς μέσω κυτοκινών, οι οποίες προκαλούν ενεργοποίηση των μακροφάγων ή διήθηση από λεμφοκύτταρα γύρω από τα χοληφόρα.

Η προσβολή του ήπατος στα παιδιά κυμαίνεται μεταξύ 14,4-18% [40] [109] [110]. Πρόσφατη έρευνα κατέδειξε το 45,2% των παιδιατρικών ασθενών να έχουν προσβολή του ήπατος, αναφέροντας ότι πιθανότατα να έχει υποδιαγνωσθεί στο παρελθόν [111], όμως το δείγμα ήταν μικρό. Τα κύτταρα της LCH φαίνεται να έχουν έναν τροπισμό προς τα χοληφόρα και μπορεί να προκαλέσουν βλάβες και σκλήρυνση του πόρου. Η διαδερμική (περιφερική) βιοψία ήπατος μπορεί να μην είναι διαγνωστική αν το διήθημα εντοπίζεται κεντρικότερα, αλλά μπορεί να αναδείξει τις αποφρακτικές επιδράσεις της περιφερικής χολικής απόφραξης. Η ηπατομεγαλία μπορεί να συνοδεύεται από δυσλειτουργία, οδηγώντας σε υποαλβουμιναιμία με ασκίτη, αύξηση της χολερυθρίνης και έλλειψη παραγόντων πήξης. Το υπερηχογράφημα, η αξονική τομογραφία και η μαγνητική τομογραφία δείχνουν υπόηχο ή χαμηλής έντασης σήμα στις πυλαίες φλέβες ή τα χοληφόρα [112].

Μια από τις πιο σοβαρές επιπλοκές της ηπατικής προσβολής στα παιδιά είναι η σκληρυντική χολαγγειίτιδα. Συνήθως συμβαίνει μερικούς μήνες μετά την αρχική εμφάνιση της νόσου, αλλά κάποιες φορές είναι παρούσα στη διάγνωση. Η μέση ηλικία παιδιών που εμφανίζουν αυτή τη μορφή ηπατικής LCH είναι τα 2 έτη [109]. Οι ασθενείς με ηπατική LCH εμφανίζουν ηπατομεγαλία ή ηπατοσπληνομεγαλία και αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP), των ηπατικών τσανσαμινασών (SGOT/SGPT) και της γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάσης (γ-GT) [112]. Το υπερηχογράφημα και η μαγνητική χολαγγειογραφία είναι χρήσιμες για τη διάγνωση, η βιοψία ήπατος είναι ο μόνος τρόπος να αποσαφηνιστεί αν υπάρχει ενεργός LCH ή ίνωση. Συχνά η βιοψία δείχνει λεμφοκύτταρα και αποφρακτικά φαινόμενα, χωρίς την παρουσία κυττάρων LCH. Θεωρείται ότι κυτοκίνες όπως ο TGF-β, προερχόμενες από λεμφοκύτταρα κατά τη διάρκεια της ενεργούς φάση της νόσου, οδηγούν σε ίνωση και σκλήρυνση γύρω από τα χοληφόρα [113] [113]. Το 75% των ασθενών με σκληρυντική χολαγγειίτιδα δεν ανταποκρίνονται στη χημειοθεραπεία, διότι η LCH δεν είναι πλέον ενεργός, παρότι η ίνωση και η σκλήρυνση παραμένουν [31]. Παρά τους περιορισμούς, η βιοψία του ήπατος είναι ο μόνος τρόπος να διαφοροδιαγνωσθεί η ενεργός νόσος από τη ίνωση τελικού σταδίου. Όταν η ηπατική λειτουργία χειροτερεύει, η μόνη εναλλακτική θεραπεία είναι η μεταμόσχευση [109]. Η νόσος θα πρέπει να βρίσκεται κατά το δυνατόν υπό έλεγχο πριν τη μεταμόσχευση.

Στους ενήλικες η βιβλιογραφία απαρτίζεται κυρίως από αναφορές περιπτώσεων και μόνο μία μελέτη 9 περιστατικών έχει δημοσιεύσει συχνότητα 16,4% (2,4% σε μονήρη εντόπιση και 23,4% σε πολυσυστηματική νόσο) [114]. Όπως στα παιδιά έτσι και στους ενήλικες υπάρχουν δύο φάσεις προσβολής του ήπατος. Η αρχική σχετίζεται με διήθηση από κύτταρα της νόσου και συμπεριλαμβάνει σημεία όπως η ηπατομεγαλία, οζίδια στο ήπαρ, ήπια χολόσταση και αυξημένες τρανσαμινάσες και ανταποκρίνεται στη θεραπεία. Η δεύτερη είναι αυτή της προχωρημένης ίνωσης στην οποία δεν ανευρίσκονται τα κύτταρα της νόσου, η οποία οδηγεί σε σκληρυντική χολαγγειίτιδα και τα συμπτώματα είναι αυτά της σοβαρής χολόστασης και της ηπατικής ανεπάρκειας [115]. Διαφορετικά, ηπατικές ανωμαλίες μπορεί να προκληθούν σαν αποτέλεσμα διήθησης των εξωηπατικών χοληφόρων αγγείων, από πιεστικά φαινόμενα από κάποιον λεμφαδένα ή σαν συνέπεια της χημειοθεραπείας [116]. Στους ενήλικες η νόσος δε φαίνεται να έχει την ίδια κακή πρόγνωση που έχει στα παιδιά, αλλά ενίοτε η ηπατική ανεπάρκεια οδηγεί επίσης στην ανάγκη για μεταμόσχευση [117] [118].

Η προσβολή του σπλήνα μπορεί να οδηγήσει σε κυτταροπενίες καθώς επίσης και σε καταστολή του αναπνευστικού. Η σπληνεκτομή παρέχει μόνο προσωρινή ανακούφιση από τις κυτταροπενίες, καθώς το αυξημένο μέγεθος του ήπατος και η ενεργοποίηση του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος αποφέρουν καταστροφή των κυττάρων του περιφερικού αίματος. Η προσβολή του παγκρέατος και των νεφρών είναι εξαιρετικά σπάνια [119].

2.3.3.5 Εκδηλώσεις από τις γνάθους και τη στοματική κοιλότητα

Οι εκδηλώσεις από την περιοχή των γνάθων και της στοματικής κοιλότητας μπορεί να είναι οι πρώτες της νόσου, ενώ μπορεί να αποτελούν και τις μοναδικές της εκδηλώσεις. Η επίπτωση των στοματικών βλαβών φτάνει το 77% και ως εκ τούτου ο οδοντίατρος μπορεί πολλές φορές να είναι εκείνος που θα θέσει τη διάγνωση [120].

Όσον αφορά στα οστά της περιοχής, η κάτω γνάθος συχνά αποτελεί την πρώτη θέση εκδήλωσης κατά τη δεύτερη και τρίτη δεκαετία ζωής [43] [121] και προσβάλλεται συχνότερα από την άνω γνάθο. Πιο συχνά προσβάλλονται οι οπίσθιες περιοχές, άπω των κυνοδόντων, στην περιοχή προγομφίων και γομφίων, καθώς και η γωνία και ο κλάδος της κάτω γνάθου. Οι πρόσθιες βλάβες συνήθως αποτελούν συνέχεια των οπισθίων [122]. Φαίνεται ότι όταν συνυπάρχουν πολλές βλάβες ταυτόχρονα πρόκειται για προσβολή της φατνιακής ακρολοφίας με διάφορες εστίες οστεόλυσης. Η ακτινογραφική εικόνα των διαφόρων μορφών αλλοιώσεων που εμφανίζονται στα οστά των γνάθων επιτρέπει την παρακάτω ταξινόμηση [120]:

- Μονήρεις ενδοοστικές βλάβες που δε σχετίζονται με τη φατνιακή ακρολοφία. Σπανιότερα είναι πολλαπλές. Πρόκειται για ωοειδείς ή στρογγυλές οστεολυτικές αλλοιώσεις συνηθέστερα στο σώμα και τον κλάδο της κάτω γνάθου. Μπορεί να γίνουν αντιληπτές κλινικά λόγω διόγκωσης και πρόκλησης συμπτωματολογίας ή μπορεί να αποτελέσουν τυχαίο ακτινογραφικό εύρημα.
- Πολλαπλές οστεολυτικές βλάβες στην φατνιακή ακρολοφία. Σε αυτές τις περιπτώσεις συνήθως πρόκειται για καλά περιγεγραμμένες αλλοιώσεις, χωρίς ακτινοσκοπικό όριο. Το ένα τρίτο περίπου των περιπτώσεων δε θα έχει σαφή όρια, αλλά θα είναι τοπικά διηθητικό.
- «Αποκομμένες» (scooped-out) βλάβες στη φατνιακή ακρολοφία. Φαίνεται ότι αυτές οι αλλοιώσεις ξεκινάνε από το διχασμό των ριζών ή από κάποιο σημείο του μέσου τριτημορίου της ρίζας και επεκτείνονται μυλικά, διατηρώντας όμως ένα τμήμα υγιούς οστού αυχενικά. Δημιουργούν έτσι την εικόνα μιας «αποκομμένης» περιοχής. Τέτοιου τύπου βλάβες δεν δημιουργούνται σε περιοδοντικές νόσους και η παρουσία τους αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι πρόκειται για LCH.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται και περιπτώσεις στις οποίες η επικοινωνία της οστικής βλάβης με το στοματικό περιβάλλον έχει δημιουργήσει εικόνα σκληρωτικού οστού, κάτι που εξηγείται από τη δευτεροπαθή φλεγμονή που αναπτύσσεται, σε αντίθεση με τις βλάβες στις οποίες δεν υπάρχει επικοινωνία με τη στοματική κοιλότητα. Ακόμα, δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις στις οποίες έχει παρατηρηθεί πλάση νέου οστού εντός της οστεολυσίας, κάτι που απομακρύνει τη διάγνωση από περιοδοντικές νόσους αλλά περιπλέκει την ακτινογραφική διαφορική διάγνωση με άλλες βλάβες που συνδυάζουν σκιάσεις με διαυγάσεις.

Οι βλάβες των βλεννογόνων συνήθως συνυπάρχουν με τις οστικές και είναι ωοειδείς ή στρογγυλές και επώδυνες στην ψηλάφηση. Ανευρίσκονται συχνότερα στο βλεννογόνο των παρειών και στις ουλοπαραειακές σε οπίσθιες θέσεις. Σχετίζονται με δερματικές βλάβες όπως το τυπικό εξάνθημα τύπου εκζέματος, που συχνά μοιάζει και με σημηγατορροϊκή δερματίτιδα. Επίσης εμφανίζονται και υποδόρια οζίδια, οπότε η αρχική εκτίμηση του ασθενούς θα πρέπει να περιλαμβάνει μια ενδελεχή δερματολογική εξέταση. Έχουν περιγραφεί σπανιότερα περιπτώσεις αλλοιώσεων στους βλεννογόνους χωρίς υποκείμενη οστική νόσο. Οι βλάβες των βλεννογόνων συχνά προκαλούν και διόγκωση των λεμφαδένων κάτι που αντικατοπτρίζει το βαθμό της διήθησης από ιστιοκύτταρα. Το 30% περίπου των ασθενών με βλάβες στο στοματικό βλεννογόνο εμφανίζει και τραχηλική λεμφαδενοπάθεια [123] [124].

Οι οστεολυτικές βλάβες της φατνιακής ακρολοφίας αποτελούν τη βάση για την ανάπτυξη των περιοδοντικών βλαβών. Όσο επεκτείνεται η απώλεια οστού, τόσο εμφανίζονται ελκώσεις και φλεγμονή στα ούλα. Παρότι αρχικά οι αλλοιώσεις εντοπίζονται τυπικά σε ένα σημείο, μπορούν να επεκταθούν σε διάφορη έκταση σε όλα τα τεταρτημόρια, προκαλώντας απώλεια των κερατινοποιημένων ούλων, υφιζήσεις, αιμορραγίες, πόνο ή και διογκώσεις (**Εικόνα 2**). Η απώλεια του οστού οδηγεί σταδιακά σε κινητικότητα των δοντιών τα οποία στην πανοραμική ακτινογραφία δίνουν την εικόνα ότι τα δόντια «αιωρούνται» [89] (**Εικόνα 3**) και είναι ο λόγος που συχνά ο ασθενής οδηγείται σε απώλεια των δοντιών [125] [124] [126]. Συστήνεται τα δόντια με μεγάλη κινητικότητα και φατνιολυσία να μην εξαγονται γιατί με τη θεραπεία και την ύφεση της νόσου θα ενσωματωθούν εκ νέου στο φατνιακό οστό με την επούλωση [61].



Εικόνα 2. Κλινική εικόνα LCH με προσβολή της στοματικής κοιλότητας. Φαίνεται η οστική απώλεια, οι υφιζήσεις και οι ελκώσεις στα ούλα.



Εικόνα 3. Πανοραμική ακτινογραφία ασθενούς με LCH. Φαίνονται οι περιγεγραμμένες ακτινοδιαυγαστικές οστεολυτικές βλάβες, ενώ τα δόντια στις προσβεβλημένες περιοχές είναι σαν να «αιωρούνται» στις γνάθους.

2.4 Ιστοπαθολογία

Η βιοψία των εμπλεκόμενων ιστών συνήθως παρουσιάζει ετερογενείς αθροίσεις κυττάρων Langerhans με ηωσινόφιλα, ουδετερόφιλα, μικρά λεμφοκύτταρα και ιστιοκύτταρα, τα οποία μπορεί να σχηματίζουν πολυπύρηννα γιγαντοκύτταρα [127] [128]. Μπορεί να συνυπάρχουν ηωσινόφιλα αποστημάτια, τα οποία να παρουσιάζουν κεντρική νέκρωση με ή χωρίς κρυστάλλους Charcot-Leyden¹. Μορφολογικά, τα LCs είναι μεγάλα οβάλ μονοπύρηννα κύτταρα με λίγα κυτταροπλασματικά κενοτόπια, ελάχιστο ή καθόλου φαγοκυτταρωμένο υλικό και αρκετό ελαφρώς ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα. Ο πυρήνας εμφανίζει εκσεσημασμένη διακριτή χρωματίνη και λεπτή πυρηνική μεμβράνη, η οποία εμφανίζει αύλακες, πτυχώσεις ή οδοντωτό πυρηνικό περίγραμμα προσομοιάζοντας σε «γυρισμένη πετσέτα» (“twisted towel”) ή σε «κόκκους καφέ» (“coffee bean”). Δεν υπάρχουν εμφανή πυρήνια και σε αντίθεση με τα επιδερμικά LCs, αυτά τα κύτταρα δεν έχουν δενδριτικές αποφυάδες. Η μιτωτική δραστηριότητα ποικίλει και μπορεί να απουσιάζει, ενώ συνήθως δεν υπάρχει ατυπία.

Ομοίως με τα επιδερμικά LCs, τα κύτταρα της LCH εκφράζουν τους ιστιοκυτταρικούς δείκτες CD1a, S100 και CD207 (λανγκερίνη) και περιέχουν κοκκία

¹ Οι κρύσταλλοι Charcot-Leyden είναι μικροσκοπικοί κρύσταλλοι που αποτελούνται από την ηωσινόφιλη πρωτεΐνη galectin-10. Η ανεύρεσή τους είναι ενδεικτική νόσου που χαρακτηρίζεται από ηωσινοφιλική φλεγμονή και είναι συχνή σε αλλεργικές αντιδράσεις και παρασιτικές λοιμώξεις.

Birbeck. Τα κοκκία Birbeck είναι κυτταροπλασματικά ραβδόμορφα οργανίλια με κεντρικές αυλακώσεις, τα οποία μπορούν να αναδειχθούν με ηλεκτρονική μικροσκόπηση. Επίσης, παρατηρείται τελική φυσαλιδώδης διόγκωση των ράβδων, δίνοντας στα κοκκία Birbeck την εικόνα «ρακέτας του τένις» (“tennis racket”). Σε μία μελέτη βρέθηκε θετική έκφραση του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (“immune checkpoint”) PD-L1 σε 7 στις 8 περιπτώσεις LCH [129].

Η ιστολογική εικόνα μπορεί να διαφέρει σε σχέση με τη θέση της βιοψίας. Οι βιοψίες από οστικές βλάβες και βλάβες του δέρματος καθώς επίσης και από μάζες στον εγκέφαλο, τον υποθάλαμο και την υπόφυση έχουν κλασικά CD1a⁺ LCs και CD9⁺ T κύτταρα [127] [130]. Βλάβες στην παρεγκεφαλίδα περιέχουν κυρίως CD8⁺ T κύτταρα και λιγότερο CD1a⁺ LCs. Η καταστροφή των νευραξόνων και η απομυελίνωση είναι εμφανείς. Βιοψίες από το ήπαρ μπορεί να μην είναι CD1a θετικές, αλλά συχνά παρατηρούνται λεμφοκυτταρικές αθροίσεις πέριξ των χοληφόρων.

Άλλα ιστολογικά ευρήματα που δεν είναι διαγνωστικά για την LCH αλλά μπορεί να παρατηρηθούν είναι η αιμοφαγοκυττάρωση σε βιοπτικό υλικό από το μυελό των οστών και μυελοδυσπλαστικές αλλαγές [131] [132]. Δεν υπάρχουν χαρακτηριστικά ή διαγνωστικά κυτταρογενετικά ευρήματα. Παρόλο που η κλωνικότητα μπορεί να επιβεβαιωθεί στις περισσότερες των περιπτώσεων, αυτές οι εξετάσεις δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εξετάσεις ρουτίνας για διάγνωση.

2.5 Αιτιοπαθογένεια

Η ιδέα ότι η LCH προέρχεται από τα επιδερμικά LCs στηρίζεται στην παρατήρηση του Nezelof ότι τα ιστιοκύτταρα στις βλάβες της LCH περιέχουν κοκκία Birbeck, όπως τα επιδερμικά LCs που περιέγραψε ο Langerhans [133]. Συνεκδοχικά, η μεμβρανική έκφραση **λανγκερίνης (langerin – CD207)**, μιας πρωτεΐνης που σχετίζεται με τα κοκκία Birbeck σε αντιγονοπαρουσιαστικά LCs, βρέθηκε ότι είναι παθολογική για τα κύτταρα αυτά είτε αφορούσαν σε παθολογικά κύτταρα της LCH είτε σε φυσιολογικά LC της επιδερμίδας [134] [135]. Έτσι, το μοντέλο για την αιτιοπαθογένεια της νόσου αναπτύχθηκε γύρω από την άποψη της ανώμαλης ενεργοποίησης ή της κακοήθους εξαλλαγής των υπαρχόντων επιδερμικών LCs. Δεδομένα από ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης σε CD207⁺ κύτταρα LCH και επιδερμικά LCs ως μάρτυρες ανέδειξε διαφορετικά προφίλ έκφρασης αμφισβητώντας την προέλευσή τους [32].

Τα CD207⁺ κύτταρα της LCH είχαν αυξημένη έκφραση πρώιμων δεικτών μυελοειδούς προέλευσης σε σχέση με τα επιδερμικά. Τα επιδερμικά LCs προέρχονται από πρόδρομα μυελοειδή κύτταρα που εδρεύουν στο δέρμα κατά την εμβρυική ζωή, αλλά μπορούν να ανανεωθούν από περιφερικά μονοκύτταρα σε περιπτώσεις φλεγμονής του δέρματος [136]. Έτσι, καθίσταται δύσκολη η εξήγηση για το πώς τα φυσιολογικά LCs, που παραμένουν στην επιδερμίδα, θα μπορούσαν να προκαλέσουν μια τέτοια πολυεστιακή διαταραχή.

Έρευνες σε επίμυες ανέδειξαν την παρουσία πληθυσμού διάμεσων (interstitial) CD207⁺DCs στους περισσότερους ιστούς όπως οι πνεύμονες, το ήπαρ και οι λεμφαδένες. Σε αντίθεση με τα LCs που περιορίζονται στην επιδερμίδα και προέρχονται από αιμοποιητικούς προγόνους που εδρεύουν εκεί, τα διάμεσα CD207⁺DCs προέρχονται από προγονικά κύτταρα του αίματος και ανευρίσκονται στους περισσότερους ιστούς στους οποίους προσβάλλει η LCH [136] [137]. Άρα η έκφραση CD207 δεν είναι παθογνωμονική για τα επιδερμικά LCs και η LCH μπορεί να μην προέρχεται από ανώμαλα LCs, αλλά από ανώμαλες μορφές κυκλοφορούντων πρόδρομων των δενδριτικών κυττάρων. Σε συμφωνία έρχεται και η παρατήρηση ότι τα επίπεδα M-CSF στο πλάσμα του αίματος καθώς και μυελοειδών προγονικών δενδριτικών κυττάρων (lin-HLADR⁺CD11c⁺) βρίθουν σε ασθενείς με ενεργό LCH.

Διαμορφώθηκε, λοιπόν, μια νέα υπόθεση για την αιτιολογία της νόσου LCH κατά την οποία μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα από τον μυελό των οστών και όχι επιδερμικά LCs μεταναστεύουν στις θέσεις της νόσου και διαφοροποιούνται στα CD207⁺ κύτταρα της LCH.

Η ακριβής αιτιοπαθογένεια της νόσου παραμένει άγνωστη. Τα LCs της βλάβης αποτελούν έναν κλωνικό πληθυσμό, καθιστώντας την LCH μία μάλλον νεοπλασματικής αρχής νόσο, παρά αντιδραστική. Η πνευμονική LCH φαινόταν να είναι μία διαφορετική νόσος, μη κλωνική, η οποία συνδεόταν περισσότερο με την καπνιστική συνήθεια [138]. Αυτό τα τελευταία χρόνια αμφισβητείται καθώς χρησιμοποιούνται νεότερες και πιο ευαίσθητες μέθοδοι ανίχνευσης μεταλλάξεων [139] [140]. Δεν υπάρχει σαφής άποψη για το αν αποτελεί μια αιματολογική κακοήθεια. Η διατύπωση αυτή στηρίζεται αρχικά στην πρόσφατη ανακάλυψη ότι περίπου το 60% των βιοπτικών παρασκευασμάτων παρουσίαζαν την V600E μετάλλαξη του ογκογονιδίου BRAF, ανεξάρτητα από το στάδιο της νόσου και την εμπλοκή των οργάνων. Η ίδια μετάλλαξη έχει βρεθεί και σε κακοήθεις νόσους όπως το κακόηθες μελάνωμα. Παρόλα αυτά, η V600E μετάλλαξη του ογκογονιδίου BRAF έχει βρεθεί και σε καλοήθεις σπίλους, κάτι που καθιστά πιθανή την ανάγκη συνύπαρξης κι άλλων μεταλλάξεων για να εκδηλωθεί ένα κακόηθες δυναμικό [141].

Από την άλλη, η ανακάλυψη αυτής της μετάλλαξης δημιουργεί νέες πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις για την LCH με στοχευμένη αναστολή έκφρασης του γονιδίου. Αρκετές μελέτες έχουν γίνει με αναστολείς του BRAF για το μελάνωμα και είναι πιθανόν να υπάρχει ανταπόκριση και από τους ασθενείς με LCH. Ασχέτως αν υπάρχει η BRAF V600E μετάλλαξη, σχεδόν όλες οι βλάβες LCH φαίνεται να έχουν ενεργοποιημένο το μοριακό μονοπάτι του ERK που σχετίζεται με το BRAF. Άρα, ίσως ταυτοποιηθούν κι άλλες μεταλλάξεις σε γονίδια που εμπλέκονται στο μονοπάτι RAS-RAF-MEK-ERK. Αυτό υποστηρίζεται από δεδομένα που δείχνουν μεταλλάξεις του υποδοχέα CSF-1 και των γονιδίων RAS και MAP2K1 (MEK) για ένα σημαντικό ποσοστό δειγμάτων LCH αρνητικών για την μετάλλαξη BRAF V600E [142] [143].

2.6 Διάγνωση

Η **διάγνωση** της LCH βασίζεται στην ιστολογική και ανοσοϊστοχημική εξέταση ιστού από τη βλάβη. Το βασικό εύρημα είναι η ταυτοποίηση των χαρακτηριστικών κυττάρων Langerhans. Επιπρόσθετα, θετική χρώση των κυττάρων της βλάβης με CD1a ή/και λανγκερίνη (CD207) είναι απαραίτητη για την τεκμηρίωση της διάγνωσης [143] [127] [61] [144]. Απόξεση από το κέντρο των οστεολυτικών βλαβών συνήθως είναι επαρκής για παθολογοανατομική εξέταση, ενώ μπορεί να εκκινήσει και τη διαδικασία επούλωσης. Αναφέρεται ότι η παρουσία φυσιολογικών αντιδραστικών κυττάρων Langerhans στο δέρμα και τους λεμφαδένες μπορεί να οδηγήσει σε λάθος διάγνωση.

Η **ολική εκτίμηση** του ασθενούς περιλαμβάνει:

1) Πλήρες Ιστορικό

Ένα πλήρες ιστορικό είναι απαραίτητο και πρέπει να περιλαμβάνει αναφορές για την έναρξη τη διάρκεια και τη φύση των συμπτωμάτων. Συμπτώματα για τα οποία πρέπει να ερωτηθεί ο ασθενής είναι: πόνος, οίδημα, δερματικά εξανθήματα, ωτόρροια, ευερεθιστότητα, πυρετός, απώλεια όρεξης, διάρροια, απώλεια βάρους ή χαμηλό κέρδος βάρους, διαταραχές ανάπτυξης, πολυδιψία, πολουρία, αλλαγές στο επίπεδο δραστηριότητας, δύσπνοια, κάπνισμα και νευρολογικές διαταραχές ή συμπεριφορικές αλλαγές.

2) Πλήρη Κλινική Εξέταση

Η κλινική εξέταση του ασθενούς πρέπει να περιλαμβάνει την αξιολόγηση πυρετού, ύψους και βάρους. Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται για την εκτίμηση της σταδιοποίησης της ανάπτυξης κατά Tanner, δερματικών εξανθημάτων, ίκτερου, όψης ασθενούς, οιδημάτων, λεμφαδενοπάθειας, ωτικού εκκρίματος, οφθαλμικών τροχιακών ανωμαλιών, βλαβών των ούλων, της υπερώας και της οδοντοφυΐας, βλαβών του βλεννογόνου των γεννητικών οργάνων και του πρωκτού, ταχύπνοιας, ασκίτη και μεγέθους ήπατος και σπληνός. Ειδικές δοκιμασίες χρειάζονται για νευρολογική εκτίμηση διαταραχών των κρανιακών νεύρων, απώλειας τενόντιων αντανάκλαστικών, οπτικών ελλειμμάτων, και εγκεφαλικής δυσλειτουργίας. Ο ενδεδειγμένος αυτός έλεγχος πρέπει να γίνεται και σε κάθε επανεξέταση.

3) Εργαστηριακό Έλεγχο

Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει τη γενική αίματος, βιοχημικές εξετάσεις, έλεγχος πήκτικότητας, γενική ούρων και απεικόνιση άνω κοιλίας θώρακος και οστών, όπως περιγράφεται αναλυτικά στον **Πίνακα 3** [145] [61]. Συγκεκριμένα για την απεικόνιση των οστών το PET-CT θεωρείται η βέλτιστη και πλέον ευαίσθητη απεικόνιση για της βλάβες της LCH και την εκτίμηση της

ανταπόκρισης στη θεραπεία. Όμως, το κόστος της συχνά την καθιστά ανέφικτη [146].

Προτεινόμενος βασικός έλεγχος με τη διάγνωση ή σε επαναδραστηριοποίηση

Γενική Αίματος

- **Αιμοσφαιρίνη, Λευκοκύτταρα και τύπος Λευκών, Αιμοπετάλια**

Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών (ΤΚΕ)

Βιοχημικός

- **Ολικά λευκώματα, αλβουμίνη, χολερυθρίνη, ALT (SGPT), AST (SGOT), αλκαλική φωσφατάση (ALP), γGT**
- **Ουρία, κρεατινίνη, ηλεκτρολύτες, CRP**
- **Φερριτίνη**

Πηκτικότητα

- **INR/PT, aPTT/PTT, ινωδογόνο**

Ορμονολογικός

- **TSH, fT4**

Γενική (πρώτων πρωινών) ούρων

- **Ειδική πυκνότητα και ωσμωτικότητα**

Υπέρηχος άνω κοιλίας

- **Δομή και μέγεθος ήπατος και σπληνός**
- **Κοιλιακοί λεμφαδένες**

Ακτινογραφία θώρακος

Απεικόνιση οστών*

Πίνακας 3. Προτεινόμενος έλεγχος (baseline) διάγνωσης και επανεκτίμησης επί επαναδραστηριοποίησης της νόσου. *Η απεικόνιση των οστών μπορεί να γίνει με απλές ακτινογραφίες. Το PET-CT θεωρείται η βέλτιστη και πλέον ευαίσθητη απεικόνιση για της βλάβες της LCH και την εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Phillips και συν [146].

Σε ειδικές περιπτώσεις χρειάζεται περεταίρω διερεύνηση, η οποία φαίνεται στον Πίνακα 4 [61] [145]. Σχετικά με τις ενδοκρινικές διαταραχές, η αξιολόγηση της TSH και της ελεύθερης T4 (fT4) καθώς και της ωσμωτικότητας των πρώτων πρωινών ούρων συνιστάται για κάθε ασθενή. Περεταίρω έλεγχος με δοκιμασία στέρησης ύδατος, ωσμωτικότητα πλάσματος, κορτιζόλης ορού, IGF-1, γοναδικές στεροειδείς ορμόνες και γοναδοτροπίνη συνιστάται για τη διερεύνηση μερικού άποιου διαβήτη ή ανεπάρκειας του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης, ιδίως επί παρουσίας κλινικών συμπτωμάτων. Η μαγνητική τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging – MRI) κεφαλής, η οποία έχει και αρκετές ενδείξεις όπως εμπλοκή ωτών, οστών του κρανίου και των γνάθων, ενδοκρινολογικές και άλλες διαταραχές, οφείλει να περιλαμβάνει τον εγκέφαλο, τον υποθάλαμο και την υπόφυση και όλα τα οστά του κρανίου, συμπεριλαμβανομένων των δύο γνάθων. Επίσης κρίνεται απαραίτητη η χορήγηση ενδοφλέβιου σκιαγραφικού (Γαδολίνιο – GTPA) [147].

Εργαστηριακός και απεικονιστικός έλεγχος και εξειδικευμένες εξετάσεις για ιδιαίτερες περιπτώσεις	
Ένδειξη	Δοκιμασία
Ιστορικό πολυουρίας ή πολυδιψίας	<ul style="list-style-type: none"> • Οσμωτικότητα και ειδικό βάρος πρώτων πρωινών ούρων • Ηλεκτρολύτες περιφερικού αίματος • Δοκιμή στέρησης ύδατος • MRI κεφαλής
Κυτταροπενία 2 σειρών (Bicytopenia), πανκυτταροπενία ή εμμένουσα κυτταροπενία μίας σειράς	<ul style="list-style-type: none"> • Κλασική διερεύνηση αναιμιών / θρομβοπενίας • Οστεομυελική βιοψία προς αποκλεισμό άλλων αιτιών πλην LCH • Αξιολόγηση δεικτών αιμοφαγοκυτταρικού συνδρόμου (φεριτίνη, τριγλυκερίδια)
Ηπατικές ή σπληνικές ανωμαλίες	<ul style="list-style-type: none"> • Επί παθολογικών ευρημάτων στο υπερηχογράφημα των οργάνων: CT ή MRI • Βιοψία απεικονιστικά εμφανών ηπατικών αλλοιώσεων • Αποκλεισμός άλλων αιτιών σπληνομεγαλίας • ERCP/MRCP σε περίπτωση υψηλών δεικτών χολόστασης ή απεικονιστικών ευρημάτων διάτασης χοληφόρων. Αποκλεισμός πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης και πρωτοπαθούς σκληρυντικής χολαγγειίτιδας
Διογκωμένοι λεμφαδένες	<ul style="list-style-type: none"> • Σε θετικό υπερηχογράφημα ή κλινικό εύρημα, ο λεμφαδένας θα πρέπει να εξαιρείται και να εξετάζεται ιστολογικά. Αναρρόφηση δια λεπτής βελόνης θα πρέπει να αποφεύγεται. • Συστήνεται συμπληρωματικά CT ή PET-CT
Εμπλοκή πνευμόνων (ανώμαλη ακτινογραφία θώρακος ή σημεία/συμπτώματα ενδεικτικά προσβολής πνευμόνων)	<ul style="list-style-type: none"> • Αξονική τομογραφία υψηλής ανάλυσης (HR-CT) πνευμόνων ή HR-CT χαμηλής δόσης πολλαπλών ανιχνευτών (low dose multi-detector HR-CT) για παιδιά (ανίχνευση οζωδών ή κυστικών σχηματισμών) • Δοκιμασία λειτουργίας πνευμόνων (ανάλογα με την ηλικία)

Ανώμαλη CT πνευμόνων ΚΑΙ ευρήματα μη συμβατά με LCH ή υποψία άτυπης λοίμωξης	<ul style="list-style-type: none"> • Βρογχοκυψελιδική πλύση: >5% CD1a+ κύτταρα είναι διαγνωστικά σε μη καπνιστές • Βιοψία πνευμόνων (αν η πλύση δεν είναι διαγνωστική)
Υποψία εμπλοκής οστών κεφαλής	<ul style="list-style-type: none"> • MRI κεφαλής • Βιοψία της πιο εύκολα προσβάσιμης βλάβης
Υποψία σπονδυλικών βλαβών	<ul style="list-style-type: none"> • MRI σπονδυλικής στήλης (προς αποκλεισμό συμπιεστικών φαινομένων)
Δερματοβλεννογόνιες βλάβες (δέρμα, γεννητικά όργανα, στοματικός βλεννογόνος)	<ul style="list-style-type: none"> • Βιοψία βλαβών
Οπτικές ή νευρολογικές διαταραχές	<ul style="list-style-type: none"> • MRI κεφαλής • Νευρολογική εκτίμηση • Νευροψυχομετρική εκτίμηση
Υποψία ενδοκρινικών διαταραχών (πχ κοντό ανάστημα, διαταραχή αύξησης, πολουρία, πολυδιψία, υποθαλαμικά σύνδρομα, πρώιμη ή καθυστερημένη ήβη)	<ul style="list-style-type: none"> • Ενδοκρινολογική εκτίμηση (συμπεριλαμβανομένης της δοκιμασίας στέρησης νερού και δυναμικών δοκιμασιών πρόσθιου λοβού της υπόφυσης και του θυρεοειδούς) • MRI κεφαλής
Ωτικό έκκριμα ή υποψία ωτικής προσβολής ή προσβολής μαστοειδούς απόφυσης	<ul style="list-style-type: none"> • Δοκιμασίες ακοής • MRI κεφαλής • HR-CT κροταφικού οστού
Αδικοιολόγητη διάρροια, απώλεια βάρους ή δυσσαπορρόφηση	<ul style="list-style-type: none"> • Ενδοσκόπηση και βιοψία

Πίνακας 4. Παρακλινικός έλεγχος LCH σε ιδιαίτερες περιπτώσεις.

Υπάρχουν όργανα η προσβολή των οποίων έχει συσχετισθεί με χειρότερη πρόγνωση και ονομάζονται **όργανα κινδύνου (OK)** (Risk Organs – RO). Κάτι τέτοιο δεν έχει ποτέ σαφώς αποδειχθεί για τους ενήλικες τόσο, όσο για τα παιδιά. Παρόλα αυτά, αποτελέσματα αναδρομικών μελετών σε ενήλικες συμφωνούν με την σημασία αυτών των οργάνων ως προς την εξέλιξη της νόσου [61]. Τα όργανα κινδύνου και τα κριτήρια προσβολής τους από την LCH φαίνονται στον **Πίνακας 5**.

Οι πνεύμονες θεωρούνταν ένα τέτοιο όργανο για πολλά χρόνια, αλλά η ανεξάρτητη προγνωστική τους αξία έχει αμφισβητηθεί [148]. Σε περιπτώσεις προσβολής των πνευμόνων χωρίς άλλα όργανα, η πρόκληση θανάτου είναι εξαιρετικά σπάνια [149] [150] και συνήθως επισυμβαίνει σαν μία «μηχανική επιπλοκή» του τύπου του ανεξέλεγκτου πνευμοθώρακα ή σαν αποτέλεσμα χρόνιων εμφυσιματικών αλλαγών [151]. Επίσης, υπάρχουν συγγραφείς που δεν θεωρούν το ΚΝΣ ως όργανο κινδύνου για τους παιδιατρικούς ασθενείς [31].

Όργανα Κινδύνου	
Αιμοποιητικό (με ή χωρίς εμπλοκή του μυελού των οστών)	Εμπλοκή τουλάχιστον δύο εκ των: <ul style="list-style-type: none"> • Αναιμία: αιμοσφαιρίνη < 10 mg/dL, για παιδιά < 9 mg/ dL (μη οφειλόμενη σε άλλες αιτίες όπως ανεπάρκεια σιδήρου) • Λευκοπενία: λευκοκύτταρα < 4 x 10⁹/L • Θρομβοπενία: αιμοπετάλια < 100 x 10⁹/L
Σπλήνας	<ul style="list-style-type: none"> • Διόγκωση άνω των 2 cm από το κατώτερο όριο ως προς τη μεσοκλειδική γραμμή
Ήπαρ	<ul style="list-style-type: none"> • Διόγκωση άνω των 3 cm από το κατώτερο όριο ως προς τη μεσοκλειδική γραμμή και/ή • Ηπατική δυσλειτουργία (πχ υποπρωτεΐναιμία <55 g / L, υποαλβουμιναιμία < 25 g / L μη οφειλόμενη σε άλλη αιτία) και/ή • Ιστολογική διάγνωση
Κεντρικό Νευρικό Σύστημα	<ul style="list-style-type: none"> • Όγκοι: όλες οι ενδοεγκεφαλικές επεκτατικές βλάβες που αφορούν στον εγκέφαλο ή τις μήνιγγες. • MRI: εικόνα συμβατή με νευροεκφυλιστική νόσο, δηλαδή ανομοιογενές σήμα στον οδοντωτό πυρήνα και την παρεγκεφαλίδα που δεν δικαιολογούνται από λήψη κορτικοστεροειδών. • Νευροεκφυλιστική κλινική εικόνα: παρουσία ενδεικτικών συμπτωμάτων (παρεγκεφαλιδική συνδρομή ή δυσκολίες μάθησης) με συμβατή εικόνα MRI

Πίνακας 5. Όργανα κινδύνου στην LCH και κριτήρια διάγνωσης της προσβολής τους.

Η προσβολή κάποιων οστών της κεφαλής μπορεί να προδιαθέσει τον ασθενή για άποιο διαβήτη και άλλες εκδηλώσεις από το ΚΝΣ [152] [153]. Γι' αυτό ο πιο πρόσφατος όρος «όργανα κινδύνου για το ΚΝΣ» (CNS Risk Lesions) υποδηλώνει ότι οι ασθενείς αυτοί είναι πολύ πιθανό να αναπτύξουν άποιο διαβήτη ή νευροεκφυλιστικά συμπτώματα από το ΚΝΣ, μια ως επί το πλείστον μη αντιστρεπτή επιπλοκή της LCH που μπορεί να έχει εξουθενωτική πορεία για τον ασθενή [154]. Έτσι, με βάση τους Grois και συν. η **κρανιοπροσωπική προσβολή**, δηλαδή η προσβολή των οστών της κεφαλής (πλην του θόλου του κρανίου), των οφθαλμών, των ωτών και της στοματικής κοιλότητας κατά τη διάγνωση της νόσου, πρέπει να θεωρείται προσβολή **κινδύνου για το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα** [153].

Υπάρχουν περιπτώσεις που προσβολή ενός οργάνου μπορεί να έχει πολύ μεγάλη σημασία για τον ασθενή. Τέτοιες θέσεις προσβολής όπως ο όδοντας του άξονα και οι σπόνδυλοι όταν προσβάλλονται και οι μαλακοί ιστοί ενδονωτιαία,

ονομάζονται «ειδικές θέσεις». Βλάβες σε αυτά τα σημεία μπορεί να δημιουργήσουν πρόβλημα στον ασθενή είτε λόγω της άμεσης προόδου της ασθένειας είτε των επιπλοκών της τοπικής αντιμετώπισης, οπότε αποτελούν ένδειξη συστηματικής θεραπείας. Οι σπόνδυλοι, όταν η βλάβη δεν επεκτείνεται στους μαλακούς ιστούς, δεν θεωρούνται «ειδική θέση» [147]. Για τα παιδιά η συστηματική θεραπεία έχει στόχο να αποφευχθεί η συμπίεση του νωτιαίου μυελού αλλά και η ανάπτυξη άποιου διαβήτη λόγω της προαναφερθείσας συσχέτισης. Στους ενήλικες δεν είναι σαφές αν ισχύουν οι ίδιοι κίνδυνοι, παρόλα αυτά οι περισσότεροι ειδικοί αντιμετωπίζουν τους ενήλικες όπως και τα παιδιά (grade D2) [61].

Στο παρελθόν είχε προταθεί σταδιοποίηση (staging) της νόσου από τους Greenberger και συν. [155] η οποία φαίνεται στον **Πίνακας 6**. Αυτή η σταδιοποίηση πλέον δεν χρησιμοποιείται και αντ' αυτής προτείνεται η κλινική ταξινόμηση του **Πίνακας 7**.

Σταδιοποίηση LCH κατά Greenberger και συν.	
Στάδιο I	Μονήρης οστική βλάβη Πολλαπλές βλάβες σε ένα ή περισσότερα οστά
Στάδιο II	Ηλικία > 2 ετών στη διάγνωση και εμφάνιση/εμπλοκή ενός ή περισσότερων εκ των: άποιος διαβήτης, δόντια, ούλα, λεμφαδένες, δέρμα, ήπια πνευμονική προσβολή, εστιακά θετικούς μυελός των οστών
Στάδιο III	Ηλικία < 2 ετών στη διάγνωση και εμπλοκή ενός ή περισσότερων εκ των αναφερομένων στο Στάδιο II Ηλικία > 2 ετών με εμπλοκή ήπατος ή/και σπληνός, μαζική λεμφαδενική προσβολή, πνεύμονες με εικόνα κερήθρας και προσβολή μυελού των οστών
Στάδιο IV	Σπλήνας > 6 εκ. και πυρετός για > 1 μήνα με/χωρίς προσβολή οποιουδήποτε άλλου οργάνου
Στάδιο V	Μονοκυττάρωση του περιφερικού αίματος > 20% επιπλέον των Σταδίων III ή IV

Πίνακας 6. Σταδιοποίηση LCH κατά τους Greenberger και συν [155].

Κλινική ταξινόμηση LCH	
Μονοσυστηματική (Single System LCH – SS-LCH)	Προσβολή ενός οργάνου / συστήματος (με μονήρη ή πολλαπλές εντοπίσεις) <ul style="list-style-type: none"> • Οστά: μονήρης (ένα οστό) ή πολυεστιακή (>1 οστά) • Δέρμα • Λεμφαδένας (όχι λεμφαδένας που παροχετεύει από άλλη βλάβη LCH) • Πνεύμονες • Υποθάλαμος – υπόφυση / Κεντρικό Νευρικό Σύστημα • Άλλο (πχ θυρεοειδής, θύμος)

Πολυσυστηματική (Multisystem LCH – MS-LCH)	Δύο ή περισσότερα όργανα / συστήματα (Με ή χωρίς την προσβολή οργάνων κινδύνου)
---	--

Πίνακας 7. Κλινική ταξινόμηση LCH.

Οι κατηγορίες της LCH που φαίνονται στον **Πίνακας 8** αποτελούν ένδειξη συστηματικής θεραπείας.

Ενδείξεις συστηματικής θεραπείας
<ul style="list-style-type: none"> • SS-LCH με βλάβες κινδύνου για το ΚΝΣ (κρανιοπροσωπική προσβολή) • SS-LCH με πολυεστιακές οστικές εντοπίσεις • SS-LCH με «ειδικές θέσεις» • MS-LCH με/χωρίς εμπλοκή οργάνων κινδύνου

Πίνακας 8. Ενδείξεις συστηματικής θεραπείας στην LCH.

2.7 Θεραπεία

2.7.1 Γενική Θεώρηση

Η θεραπεία της LCH είναι κατά κανόνα εμπειρική και βασίζεται σε γνώμες ειδικών (grade D) και μελέτες περιστατικών ή σειρών περιστατικών (grade C) διότι καθίσταται πολύ δύσκολο να συγκεντρωθούν μεγάλοι αριθμοί ασθενών [61]. Η Εταιρεία Ιστοκυτταρώσεων έχει προβεί σε μια σειρά μελετών προκειμένου να προσεγγίσει καλύτερα διάφορες πτυχές της θεραπείας της LCH σε παιδιατρικό πληθυσμό [147]. Η συμφωνία των Girschikofsky και συν. [31] πάνω σε θέματα αξιολόγησης και θεραπείας της νόσου φαίνεται να είναι ίσως η πλέον κατατοπιστική όσον αφορά τη νόσο των ενηλίκων, παρότι ακόμα αυτό το πεδίο βρίσκεται υπό συζήτηση και έρευνα [32], κυρίως όσον αφορά στη θεραπεία πρώτης γραμμής.

2.7.1.1 Γενικές αρχές θεραπείας παιδιατρικών ασθενών

Για τους παιδιατρικούς ασθενείς έχει φανεί από την κλινική μελέτη LCH-III της Εταιρείας Ιστοκυτταρώσεων ότι οι 12 μήνες θεραπείας σε αντίθεση με τους 6 μήνες συνολικής θεραπείας μειώνουν τον κίνδυνο υποτροπής [47]. Ασθενείς με MS-LCH κατά τη διάγνωση μπορεί να έχουν ποικίλη πορεία. Όταν δεν έχουν προσβληθεί τα όργανα κινδύνου, ή όταν έχουν προσβληθεί τα όργανα κινδύνου αλλά η αρχική ανταπόκριση στη συνήθη θεραπεία είναι καλή, οι ασθενείς έχουν καλή πρόγνωση για μακροχρόνια επιβίωση.

Το σύνηθες σχήμα για συστηματική θεραπεία είναι **πρεδνιζόνη** (PRED) και **βινμπλαστίνη** (VBL) και έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να είναι αποτελεσματικό με ελάχιστη τοξικότητα [156] [157]. Ασθενείς με εμπλοκή των οργάνων κινδύνου (OK) που δεν ανταποκρίνονται καλά στη θεραπεία εντός των πρώτων 6 εβδομάδων, και ιδίως εκείνοι που έχουν κλινικά σημεία επιδείνωσης, έχουν κακή πρόγνωση και σε αυτούς δικαιολογείται από νωρίς η επίταση της θεραπείας [158] [159].

Ασθενείς με πολυεστιακές βλάβες στα οστά, συνήθως, έχουν άριστη πρόγνωση (100%), αλλά υψηλό κίνδυνο υποτροπών (30-50%) και μόνιμες επιπτώσεις

από την προσβολή αυτή. Το ίδιο ισχύει και για τους ασθενείς με προσβολή «ειδικών θέσεων» και «υψηλού κινδύνου για προσβολή του ΚΝΣ» (κρανιοπροσωπική προσβολή). Υπολογίζεται ότι περίπου το 40% αυτών των ασθενών αναπτύσσουν στην πορεία της νόσου άποιο διαβήτη και άλλες ενδοκρिनοπάθειες, καθώς και παρεγχυματικές νόσους του εγκεφάλου, κυρίως στα βασικά γάγγλια και την παρεγκεφαλίδα. Η θεραπεία σε αυτούς τους ασθενείς ενδείκνυται για την αποφυγή υποτροπών και μη αντιστρεπτών συνεπειών και αναπηρίας. Ωστόσο, δεν υπάρχει έρευνα που να υποστηρίζει τη χρήση διαφορετικών θεραπευτικών σχημάτων, πέρα από αναδρομικές μελέτες και γνώμες ειδικών [160].

2.7.1.2 Γενικές αρχές θεραπείας ενηλίκων

Όσον αφορά στους ενήλικες, ο συνδυασμός βινμπλαστίνης και πρεδνιζολόνης αναφέρεται από πολλούς ερευνητές αλλά δεν έχει αποδειχθεί αποτελεσματικός σε προοπτική μελέτη. Προς μείωση ανεπιθύμητων ενεργειών και νευροτοξικότητας κάποιοι ειδικοί προτιμούν μονοθεραπεία με κλαδριβίνη (2-CDA: 2-χλωροδεοξυαδενοσίνη – 2-chlorodeoxyadenosine ή κλαδριβίνη – cladribin), σιταραβίνη (ARA-C) ή ετοποσίδη [61]. Η σιταραβίνη, πιθανότατα υπερτερεί από τη βινμπλαστίνη/πρεδνιζολόνη και την κλαδριβίνη ως προς την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια, όπως φάνηκε σε 58 ασθενείς με οστικές βλάβες [161]. Συνδυαστικά χημικοθεραπευτικά σχήματα όπως MACOP-B [συνδυασμός μεθοτρεξάτης (MTX), σιταραβίνης (ARA-C), κυκλοφωσφαμίδης, βινκριστίνης ή ογκοβίνης (vincristine/ovconin), πρεδνιζόνης και μπλεομυκίνης] είναι αποτελεσματικά αλλά προτείνεται να χρησιμοποιούνται σε πιο επιθετικές μορφές της LCH (grade C1) [162] [163].

Πολλοί ερευνητές προτείνουν την έναρξη με 2-CDA σε περίπτωση εμπλοκής ΟΚ ή σε περίπτωση προσβολής του ΚΝΣ με σχηματισμό όγκου. Η σιταραβίνη είναι επίσης μια καλή εναλλακτική. Σε πολυεστιακές οστικές βλάβες προτείνεται η χρήση διφωσφονικών αφού ενημερωθούν οι ασθενείς για τις πιθανότητες πρόκλησης οστεονέκρωσης στα οστά των γνάθων [164]. Οι αναστολείς της κυκλοξυγενάσης, επίσης, μπορεί να μην είναι απλά παυσίπονα, αλλά να οδηγούν στην ύφεση της νόσου [165]. Οι πιο σύγχρονες προτάσεις για την αντιμετώπιση της LCH στους ενήλικες φαίνονται στον **Πίνακα 9**.

Σύσταση	grade
Ήπια συμπτώματα, χωρίς ΟΚ	
<ul style="list-style-type: none"> • MTX 20mg την εβδομάδα p.o./i.v. • Αζαθειοπρίνη (AZA) 2mg/Kg την ημέρα p.o. • Θαλιδομίδη 100mg την ημέρα p.o. (σε δερματικές ή πολυεστιακές βλάβες μαλακών ιστών) 	C1 D1 C2
Επικουρικά σε πολυεστιακή οστική προσβολή	
<ul style="list-style-type: none"> • Ζολεδρονικό οξύ 4mg i.v. 	C2

μηνιαίως/6μηνιαίως, ανάλογα την έκταση και την απόκριση	C1
Συμπτωματική, MS-LCH, χωρίς OK	
• Σιταραβίνη 100mg/m ² i.v. μέρες 1-5 μηνιαίως	C1
• Ετοποσίδη 100mg/m ² i.v. μέρες 1-5 μηνιαίως	D1
• Βινμπλαστίνη/πρεδνιζολόνη (όπως στους παιδιατρικούς)	C1
MS-LCH, με OK	
• 2-CDA 6mg/m ² s.c./i.v. μέρες 1-5 μηνιαίως	C2

Πίνακας 9. Προτάσεις για τη θεραπεία LCH σε ενήλικες.

2.7.2 Αξιολόγηση Ανταπόκρισης στη Θεραπεία

Για την αξιολόγηση του ασθενούς στην θεραπεία είναι αρχικά σημαντικό να οριστούν οι δύο βασικές καταστάσεις της νόσου: ενεργή και μη ενεργή. **Μη ενεργή** θεωρείται η νόσος όταν δεν υπάρχουν σημεία και συμπτώματα. **Ενεργή** θεωρείται σε κάθε άλλη περίπτωση και αναλόγως της πορείας των σημείων και των συμπτωμάτων στο χρόνο διακρίνονται 3 υποπεριπτώσεις: νόσος σε υποστροφή, σταθερή νόσος και εξελισσόμενη νόσος όπως φαίνεται στον **Πίνακας 10**.

Ορισμός κατάστασης της νόσου		
Μη Ενεργή Νόσος (MEN)	Καμία ένδειξη νόσου	Υποχώρηση όλων των σημείων και συμπτωμάτων
Ενεργός Νόσος (EN)	Υποστροφή	Υποστροφή σημείων και συμπτωμάτων, χωρίς νέες βλάβες
	Σταθερή νόσος	Παραμονή των σημείων και συμπτωμάτων, χωρίς νέες βλάβες
	Εξέλιξη*	Εξέλιξη των σημείων και συμπτωμάτων ή εμφάνιση νέων βλαβών

Πίνακας 10. Αξιολόγηση της νόσου μετά τη θεραπεία. Κριτήρια ορισμού της κατάστασης της νόσου.

* Για τους ασθενείς με μονήρεις οστικές βλάβες, εξέλιξη θεωρείται η εμφάνιση νέων οστικών βλαβών ή η εμφάνιση βλαβών σε άλλα όργανα.

Προχωρώντας στην αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία, υπάρχουν τρεις πιθανές εκβάσεις: ο ασθενής να είναι **καλύτερα**, **χειρότερα** ή μία **ενδιάμεση** κατάσταση. Τα κριτήρια για να γίνει αυτή η ταξινόμηση παρουσιάζονται στον **Πίνακας 11** [147].

Ορισμός Απάντησης στη Θεραπεία		
Καλύτερα	Πλήρης υποστροφή	MEN
	Υποστροφή	EN καλύτερα
Ενδιάμεση	Μικτή	Νέες βλάβες σε κάποια περιοχή, υποστροφή σε κάποια άλλη
	Σταθερή νόσος	
Χειρότερα	Εξέλιξη*	

Πίνακας 11. Αξιολόγηση της νόσου μετά τη θεραπεία. Κριτήρια ορισμού της κατάστασης της νόσου

* Για τους ασθενείς με μονήρεις οστικές βλάβες, εξέλιξη θεωρείται η εμφάνιση νέων οστικών βλαβών ή η εμφάνιση βλαβών σε άλλα όργανα.

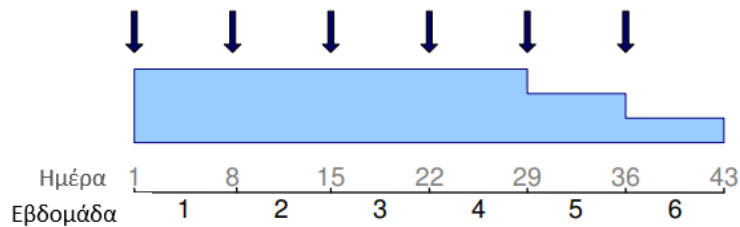
2.7.3 Θεραπεία Πρώτης Γραμμής για παιδιατρικούς ασθενείς

2.7.3.1 Πολυσυστηματική νόσος

Για τους ασθενείς με πολυσυστηματική νόσο, ασχέτως αν έχουν προσβληθεί ΟΚ, προτείνεται **αρχική θεραπεία** για 6 εβδομάδες με πρεδνιζόνη και βινμπλαστίνη. Η πρεδνιζόνη χορηγείται σε δόση 40mg/m² ημερησίως για 4 εβδομάδες, με αποκλιμάκωση τις επόμενες 2 εβδομάδες. Η βινμπλαστίνη χορηγείται ενδοφλεβίως σε 6 εβδομαδιαίες ώσεις των 6mg/m² (**Εικόνα 4**). Η περαιτέρω θεραπεία εξαρτάται από την ανταπόκριση του ασθενούς στην **πρώτη αυτή περίοδο**. Η αξιολόγηση της ανταπόκρισης γίνεται με το πέρας της 6^{ης} βδομάδας όπως περιγράφεται παραπάνω.

Ασθενείς στους οποίους είχαν προσβληθεί ΟΚ κατά τη διάγνωση και δεν αποκρίθηκαν στη θεραπεία καθώς και ασθενείς που δεν είχαν προσβεβλημένα ΟΚ κατά τη διάγνωση, αλλά προσεβλήθησαν ενώ βρίσκονταν σε θεραπεία, είναι υποψήφιοι για **θεραπεία διάσωσης**. Ασθενείς οι οποίοι δεν είχαν προσβολή ΟΚ και δεν παρουσιάζουν βελτίωση (EN ενδιάμεση) καθώς και ασθενείς με προσβολή ΟΚ κατά τη διάγνωση οι οποία ανταποκρίθηκαν στην πρώτη περίοδο θεραπείας (πχ EN καλύτερα), συστήνεται η παράταση της αγωγής για μία **δεύτερη περίοδο** 6 εβδομάδων. Η παράταση αυτή συνίσταται στην ίδια συχνότητα και ποσότητα χορήγησης βινμπλαστίνης και αλλαγή της συχνότητας χορήγησης πρεδνιζόνης σε εβδομαδιαία βάση με τριήμερη διάρκεια της ίδιας ποσότητας po (**Εικόνα 5**) [147].

Αρχική Θεραπεία: 1η Περίοδος



ΥΠΟΜΝΗΜΑ :



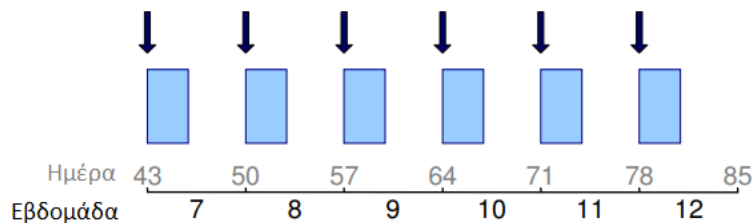
Πρεδνιζόνη 40mg/m²/ημέρα po, εβδομαδιαία αποκλιμάκωση από την 4η εβδομάδα



Βινμπλαστίνη 6mg/m² iv

Εικόνα 4. Αρχική Θεραπεία, 1^η περίοδος. Αποκλιμάκωση po πρεδνιζόνης και εβδομαδιαίες ώσεις βινμπλαστίνης iv. Minkon και συν [147].

Αρχική Θεραπεία: 2η Περίοδος



ΥΠΟΜΝΗΜΑ :



Πρεδνιζόνη 40mg/m²/ημέρα po, εβδομαδιαίως για 3 μέρες

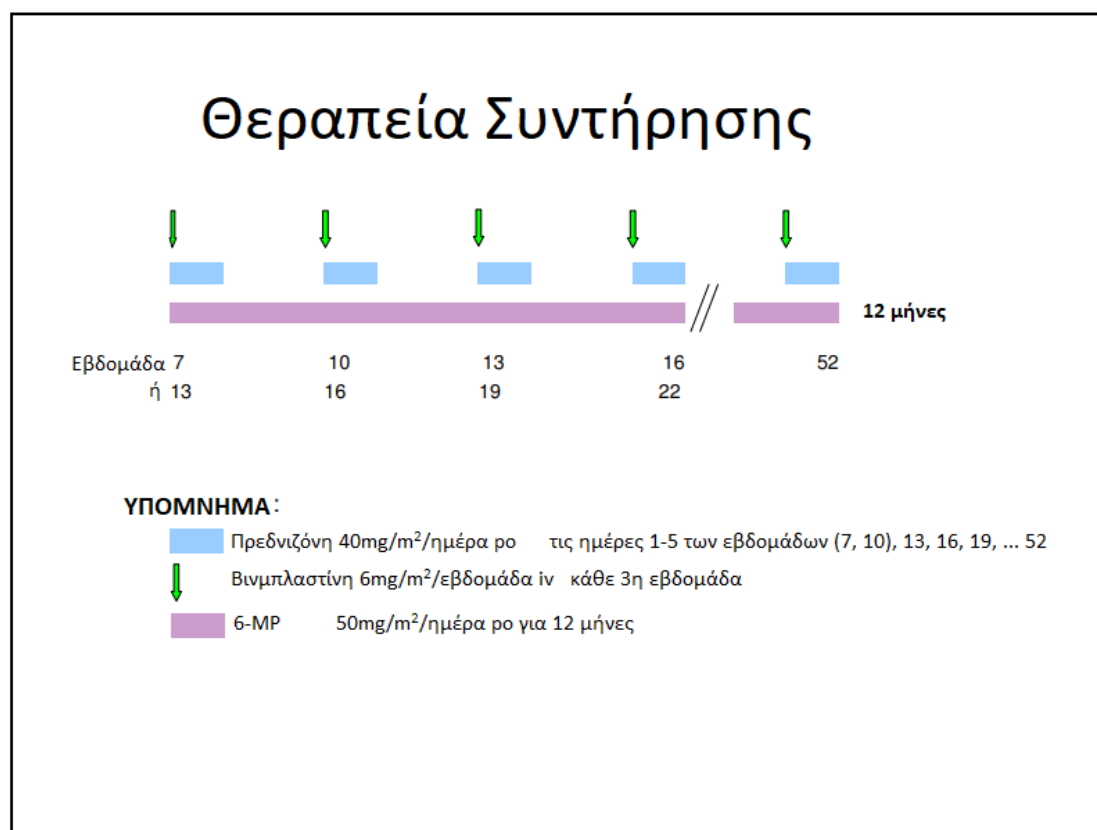


Βινμπλαστίνη 6mg/m² iv

Εικόνα 5. Αρχική Θεραπεία, 2η περίοδος. Σταθερές ώσεις βινμπλαστίνης iv εβδομαδιαίως και εβδομαδιαίες τριήμερες ώσεις βινμπλαστίνης po. Minkon και συν [147].

Ασθενείς που μετά την πρώτη ή τη δεύτερη περίοδο της αρχικής θεραπείας έχουν μη ενεργό νόσο, συστήνεται να συνεχίζουν με τη **θεραπεία συντήρησης**. Η

Θεραπεία συντήρησης συνίσταται στην χορήγηση ώσεων βινμπλαστίνης και πρεδνιζόνης σε ποσότητα ίδια με αυτή της δεύτερης περιόδου της αρχικής θεραπείας και συχνότητα ανά 3 εβδομάδες. Στο σχήμα προστίθεται η καθημερινή χορήγηση 6-μεκραπτοπουρίνης (6-MP) σε δόση 50mg/m² po για 12 μήνες (Εικόνα 6) [147].



Εικόνα 6. Θεραπεία συντήρησης. Ώσεις βινμπλαστίνης iv και πρεδνιζόνης po για 3 μέρες ανά 3 εβδομάδες και καθημερινή λήψη po 6-μεκραπτοπουρίνης (6-MP) για 12 μήνες. Minkon και συν [147].

Ασθενείς που συνεχίζουν με ενεργό προσβολή OK μετά τη δεύτερη περίοδο της αρχικής θεραπείας, συνεχίζουν με θεραπεία διάσωσης. Επίσης, ασθενείς χωρίς προσβολή OK οι οποίοι δεν έχουν βελτιωθεί μετά τη δεύτερη περίοδο της αρχικής θεραπείας συστήνεται να λάβουν δεύτερης γραμμής θεραπεία για ασθενείς χωρίς προσβολή [147].

2.7.3.2 Πολυεστιακή οστική προσβολή, προσβολή ειδικών θέσεων και προσβολή κινδύνου για το ΚΝΣ

Δεν υπάρχουν ακόμα αρκετά δεδομένα ώστε να μπορεί να υποστηριχθεί κάποιο πρωτόκολλο αντιμετώπισης τέτοιων ασθενών. Λόγω των επιπλοκών που δύναται να προκύψουν από την εξέλιξη της προσβολής των ασθενών και του κινδύνου να επηρεαστεί δυσμενώς η ποιότητα ζωής τους δικαιολογείται η έναρξη

συστηματικής αγωγή. Η Εταιρεία Ιστοκυτταρώσεων προτείνει σε αυτές τις περιπτώσεις να ακολουθούνται τα σχήματα αρχικής θεραπείας (περίοδοι 1 και 2) όπως περιεγράφηκαν και στη συνέχεια οι ασθενείς να συνεχίζουν με την θεραπεία συντήρησης. Σε αυτή την περίπτωση η θεραπεία συντήρησης δεν περιλαμβάνει τη χορήγηση 6-MP και συνίσταται μόνο στις ώσεις βινμπλαστίνης και πρεδνιζόνης ανά τρεις εβδομάδες. Η συνολική θεραπεία θα πρέπει να διαρκεί 12 μήνες [79] [147].

2.7.4 Θεραπεία διάσωσης (Salvage therapy) για τους ασθενείς κινδύνου

Δεν υπάρχει σαφές πρωτόκολλο για την αντιμετώπιση ασθενών με σοβαρή, εξελισσόμενη πολυσυστηματική νόσο που δεν ανταποκρίνονται στη συνήθη θεραπεία. Ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα από μελέτες ασθενών που έλαβαν **2-CDA** και **σιταραβίνη** (cytarabine – Ara-C) [166] καθώς και περιπτώσεις **μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων** μετά από μερική μυελοκαταστολή, τόσο σε παιδιατρικό όσο και σε ενήλικο πληθυσμό. [167] [168] [169]. Για τους ενήλικες, αν εμπλέκεται το ΚΝΣ προτείνεται η προσθήκη ARA-C στη θεραπεία με 2-CDA, καθώς και τα δύο φάρμακα διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό [170]. Έχουν καταγραφεί, επίσης, περιπτώσεις καλής απόκρισης σε **αναστολείς τυροσινικής κινάσης** (ιμιτινάμπη – imitinab) [171] [172]. Για τους παιδιατρικούς ασθενείς αναφέρεται ως αποτελεσματική η χορήγηση **κλοφαραμπίνης** (clofarabine) σε ανθιστάμενες στη συνήθη θεραπεία περιπτώσεις [173] [174] [175] (grade C2).

2.7.5 Θεραπεία υποτροπών

Οι υποτροπές (επανενεργοποίηση της νόσου – reactivation) συμβαίνουν σε ένα ποσοστό που κυμαίνεται από 25 έως 38% [161] και συχνότερα αφορούν ασθενείς με πολυσυστηματική νόσο. Η επιλογή της θεραπείας και στις υποτροπές γίνεται όπως για την αρχική νόσο. Αν η υποτροπή της νόσου αφορά σε ένα μόνο όργανο, οι επιλογές είναι τέσσερις:

- 1) Παρακολούθηση των βλαβών (wait and watch approach)
- 2) Τοπική θεραπεία, συμπεριλαμβανομένης της ακτινοθεραπείας
- 3) Διφωσφονικά για οστικές βλάβες
- 4) Χημειοθεραπεία

Σε περίπτωση υποτροπής μιας μονοσυστηματικής νόσου σε πολυσυστηματική η θεραπεία επιλέγεται σαν να εμφανιζόταν πολυσυστηματική νόσος πρώτη φορά. Σε περιπτώσεις που η υποτροπή συμβεί μετά από συστηματική θεραπεία, κυρίως αν έχει περάσει ένα έτος από την ολοκλήρωσή της, προτείνεται να ξαναρχίσει η προηγούμενη χημειοθεραπεία. Αν ο ασθενής δεν αποκρίνεται ή αν η υποτροπή ή εξέλιξη της νόσου επισυμβεί κατά τη διάρκεια της αρχικής θεραπείας, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται εναλλακτικές θεραπείες από τις προαναφερθείσες, χωρίς όμως να υπάρχουν σαφείς οδηγίες [61] (grade D2).

2.7.6 Ακτινοθεραπεία

Η ακτινοθεραπεία στους ενήλικες είναι μία αποδοτική θεραπεία για την LCH σε συγκεκριμένες περιπτώσεις, με αποδεκτές παρενέργειες, σε αντίθεση με τους παιδιατρικούς ασθενείς [176] [177]. Τα περισσότερα βιβλιογραφικά δεδομένα αναφέρουν ότι έχει θέση στη θεραπεία μονηρών αλλά και πολυεστιακών οστικών βλαβών σε μονοσυστηματική νόσο. Η αποτελεσματικότητά της για τον τοπικό έλεγχο της νόσου κυμαίνονται από 75 έως και 100% και η πλήρης υποχώρηση της νόσου από 79 έως 100% των περιπτώσεων [178]. Η χρήση της ακτινοθεραπείας γίνεται και σε βλάβες μαλακών μορίων και λεμφαδένων σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία σε πολυσυστηματική νόσο [179] (grade C2).

Η χρησιμοποιούμενη δόση ποικίλει σε ένα εύρος από 1,4 έως 45 Gy, χωρίς να υπάρχει σύνδεση δόσης – αποτελέσματος. Σε γενικές γραμμές, όμως, η συνιστώμενη δόση για ενήλικες είναι τα 10-20 Gy. Οι ενδείξεις για τη χορήγηση ακτινοθεραπείας συγκεντρώνονται στον **Πίνακας 12**.

Ένδειξη	grade
Μονήρης μη χειρουργήσιμη βλάβη Όπου η χειρουργική επέμβαση θα μπορούσε να θέσει σε κίνδυνο την ανατομική λειτουργία μιας περιοχής (πχ όδοντας, ΚΝΣ)	C2
Υποτροπή ή εξελισσόμενη βλάβη Σε πολυεστιακή μονοσυστηματική ή πολυσυστηματική νόσο όπου δεν υπάρχει επαρκής απόκριση στη χημειοθεραπεία	C2
Επικουρική θεραπεία μετά από χειρουργική αφαίρεση επί παθολογικών οριών: Ειδικά σε πολυεστιακή οστική νόσο με εμπλοκή μαλακών μορίων.	C2

Πίνακας 12. Ενδείξεις για τη χορήγηση ακτινοθεραπείας σε ενήλικες ασθενείς με LCH

2.8 Εν συντομία

Η LCH είναι μια σπάνια ιστιοκυτταρική διαταραχή που προσβάλλει όλες τις ηλικίες, αλλά είναι πιο συχνή σε παιδιά ηλικίας ενός έως τριών ετών. Η κλινική εικόνα της LCH ποικίλει ανάλογα με τις θέσεις και την έκταση της προσβολής. Περίπου οι μισοί ασθενείς παρουσιάζουν τη νόσο σε ένα μόνο σύστημα (πχ τα οστά). Οξεία νόσος διάχυτη πολυσυστηματική παρατηρείται συχνότερα σε παιδιά μικρότερα των τριών ετών. Τα μεγαλύτερα παιδιά και οι ενήλικες εμφανίζουν συχνότερα την νόσο περιορισμένη σε ένα μόνο σύστημα.

Η εμπλοκή των οστών παρατηρείται στις περισσότερες των περιπτώσεων και μπορεί να αφορά σε οποιοδήποτε οστό του σώματος. Παρότι μερικές βλάβες είναι ασυμπτωματικές, οι ασθενείς μπορεί να αναφέρουν πόνο σε συγκεκριμένη περιοχή του προσβεβλημένου οστού. Η κλινική εξέταση συνήθως αποκαλύπτει μια υπεργερμένη, μαλακή μάζα. Ακτινογραφικά, οι βλάβες έχουν συνήθως εικόνα “punched out”, ενίοτε με σύστοιχη διόγκωση των μαλακών ιστών. Η εμπλοκή του δέρματος παρατηρείται στο 40% των περιπτώσεων περίπου. Οι συχνότερες

εκδηλώσεις είναι το εξάνθημα του τύπου του εκζέματος, το οποίο προσμοιάζει με καντινιασκή λοίμωξη, και οι ελκωτικές βλάβες στην μασχालιά ή βουβωνική περιοχή, στα γεννητικά όργανα και την περιπρωκτική χώρα. Λιγότερο συχνή είναι η εκδήλωση με τη μορφή του εξανθήματος Hashimoto-Pritzker, το οποίο αποτελείται από καφεοειδείς έως κυανές βλατίδες σε νεογνά.

Εμπλοκή των πνευμόνων παρατηρείται στο 10% περίπου των περιστατικών. Είναι λιγότερο συχνή στα παιδιά σε σχέση με τους ενήλικες, για τους οποίους το κάπνισμα αποτελεί το κύριο αιτιολογικό παράγοντα. Οι ασθενείς με προσβολή των πνευμόνων μπορεί να είναι ασυμπτωματικοί ή εμφανίζουν αυτόματα πνευμοθώρακα, μη παραγωγικό βήχα, δύσπνοια ή στηθάγχη. Η πιο ευαίσθητη διαγνωστική εξέταση είναι η αξονική τομογραφία υψηλής ανάλυσης (HR CT scan), η οποία αποκαλύπτει κύστες και οζίδια χαρακτηριστικά για την LCH.

Η κίνδυνος προσβολής του ΚΝΣ εξαρτάται από τη θέση προσβολής των οστών. Βλάβες στα οστά του προσωπικού κρανίου και των προσθίων και μέσων κρανιακών κοιλοτήτων φέρουν κίνδυνο προσβολής του ΚΝΣ (CNS-risk) σε ποσοστό 25%. Τα πιο κοινά συμπτώματα από την προσβολή του ΚΝΣ είναι ο άποιος διαβήτης και νευροεκφυλιστικές αλλοιώσεις (αταξία, γνωστική δυσλειτουργία). Ευρήματα σε MRI αποτελούν η πάχυνση στο στέλεχος της υπόφυσης, ενίσχυση του σήματος σε βασικά γάγγλια, στη λευκή ουσία της παρεγκεφαλίδας και στις μήνιγγες.

Η LCH διαγιγνώσκεται με βάση την ιστολογική εικόνα του παθολογικού ιστού σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα του ασθενούς. Βιοψία μίας οστεολυτικής βλάβης ή μιας δερματικής αλλοίωσης προτιμάται, όταν αυτό είναι εφικτό. Όταν υπάρχει υψηλή υποψία για LCH με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων, η ταυτότητά τους πρέπει να εξακριβώνεται με ανοσοϊστοχημική χρώση για CD1a και CD207 ή με την ταυτοποίηση κοκκίων Birbeck σε ηλεκτρονική μικροσκόπηση. Η διάγνωση μπορεί αν είναι δύσκολη καθώς πρόκειται για μια σπάνια νόσο που μπορεί να προσβάλει πολλά όργανα. Πρέπει να διαφοροδιαγιγνώσκεται ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά από άλλες ιστοκυτταρικές διαταραχές και διαταραχές δενδριτικών κυττάρων, συμπαγή μεταστατικά ή αιματολογικά νεοπλάσματα και από αιμοφαγοκυτταρικά, λεμφοϊστοκυτταρικά σύνδρομα και σύνδρομα ενεργοποίησης μακροφάγων.

3 IDO

3.1 Εισαγωγικά

Η τρυπτοφάνη είναι ένα αμινοξύ απαραίτητο για την πρωτεϊνοσύνθεση σε όλες τις μορφές ζωής. Για τον άνθρωπο αποτελεί ένα βασικό ή απαραίτητο αμινοξύ, πράγμα που σημαίνει ότι ο οργανισμός δεν μπορεί να τη συνθέσει από μόνος του και πρέπει να λαμβάνεται με την τροφή. Οι πρωτεΐνες που προσλαμβάνονται καταβολίζονται στα αμινοξέα εξ ων συντέθηκαν και η τρυπτοφάνη οδηγείται στο ήπαρ για πρωτεϊνοσύνθεση. Η τρυπτοφάνη που δεν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί στην παραπάνω διαδικασία θα ακολουθήσει δύο βασικές μεταβολικές οδούς:

- 1) Είτε να αποδοθεί στην κυκλοφορία με σκοπό να χρησιμοποιηθεί για πρωτεϊνοσύνθεση από άλλα κύτταρα του οργανισμού
- 2) Είτε να αποδομηθεί στο ήπαρ με τη μεσολάβηση ενός συνόλου μεταβολικών μονοπατιών τα οποία αποτελούν το **μονοπάτι της κυνουρενίνης**.

Η τρυπτοφάνη είναι επίσης ένα βασικό και μοναδικό συστατικό για τη σύνθεση άλλων ουσιών. **Στο ΚΝΣ και στο στομάχι είναι απαραίτητη για τη σύνθεση της σεροτονίνης, ενώ στην επίφυση απαιτείται για τη σύνθεση της μελατονίνης.** Ακόμα, σε καταστάσεις ανεπάρκειας νιασίνης (B3) από τη διατροφή, η τρυπτοφάνη χρειάζεται για τη σύνθεση του κυτταρικού συμπαραγόντα NAD+. Ο ρόλος του μεταβολισμού της τρυπτοφάνης στη φυσιολογία και τη δυσλειτουργία του ΚΝΣ, του ανοσοποιητικού συστήματος και της φλεγμονής είναι ένα από τα αντικείμενα μελέτης των τελευταίων ετών. Τα απαραίτητα ένζυμα για το μεταβολισμό της τρυπτοφάνης ήταν γνωστό ότι συντίθενται μόνο στα ηπατοκύτταρα, αλλά η άποψη αυτή αμφισβητείται σήμερα. **Η έρευνα, πλέον, εστιάζει περισσότερο στον εξηπατικό μεταβολισμό της τρυπτοφάνης που σχετίζεται με το ανοσοποιητικό.**

Πειραματικές μελέτες σε επίμυες έχουν δείξει ότι οι υψηλές δόσεις τρυπτοφάνης οδηγούν σε μία **μη φυσιολογική συσσώρευση λευκοκυττάρων στους ιστούς** [180] [181], υποδηλώνοντας ότι η τρυπτοφάνη και οι μεταβολίτες της επιδρούν στο ανοσοποιητικό σύστημα. Σε κλινικές μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν υψηλές δόσεις τρυπτοφάνης για την καταπολέμηση της κατάθλιψης ή/και της αϋπνίας, παρατηρήθηκαν δυσλειτουργίες του ανοσοποιητικού, όπως ηωσινοφιλία, φλεγμονές και δερματικές παθολογίες όπως σκληρόδερμα [182]. Άλλες έρευνες σε χοιρίδια έχουν δείξει ότι η τρυπτοφάνη μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένο αριθμό ηωσινοφίλων σε ιστούς όπως οι πνεύμονες, οι μύες και το δέρμα, ιδίως αν συνυπάρξει αντιγονικό ερέθισμα παράλληλα με τη χορήγηση της τρυπτοφάνης [183].

3.2 IDO

Η 2,3-δεοξυγενάση της ινδολεαμίνης (IDO) είναι ένα ένζυμο που αποτελείται από 403 αμινοξέα και κωδικοποιείται από το γονίδιο INDO στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 8p22 [184]. Συνιστά ένα ενδοκυτταρικό, μη εκκρινόμενο ένζυμο, το

οποίο καταβολίζει την τρυπτοφάνη σε κυνουρενίνη. Εκφράζεται σε όλους τους ιστούς, αλλά οι κύριοι ιστοί έκφρασής του είναι το λεπτό έντερο, η επιδιδυμίδα, οι πνεύμονες, τα γυναικεία γεννητικά όργανα και ο πλακούντας [185] [186].

3.2.1 Έκφραση και Ανοσολογική Ισορροπία

Ο έλεγχος της γονιδιακής έκφρασης του IDO είναι πολύπλοκος και μεταβάλλεται σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους. Στον υποκινητή του γονιδίου έχουν βρεθεί στοιχεία απόκρισης επαγόμενης από ιντερφερόνη (IFN response elements – ISRE), καθώς και ακολουθίες ενεργοποίησης γ (gamma activation sequences – GAS), τα οποία είναι απαραίτητα αλλά και επιτρέπουν την ενεργοποίησή του από τις ιντερφερόνες. Φαίνεται ότι η ιντερφερόνη γ (IFN- γ) είναι ο βασικότερος επαγωγέας για την παραγωγή IDO [187]. Άλλες κυτοκίνες που εμπλέκονται στη ρύθμιση της γονιδιακής του έκφρασης είναι η IFN- α , η IFN- β , οι ιντερλευκίνες IL-10, IL-6, IL-4, IL-1 και ο TGF- β [188] [189].

Τα γονίδια που εκφράζονται ως αποτέλεσμα ενεργοποίησής τους από ιντερφερόνες (IFN-stimulated genes – ISGs) μπορεί να οδηγούν στην ανάπτυξη είτε ανοσολογικής ανοχής² είτε ανοσοποιητικών διεργασιών. Η τοπική ισορροπία αυτών των δύο αποκρίσεων στις ιντερφερόνες είναι ένας σημαντικός παράγοντας θα καθορίσει τα αποτελέσματα που θα έχει μία τοπική φλεγμονή στην ανοσολογική απάντηση και τη λειτουργία των ιστών [190]. Το IDO είναι ένα παράδειγμα ISG που προάγει την ανοσοανοχή γιατί το ένζυμο IDO καταστέλλει την ανοσολογική απάντηση και το γονίδιο IDO ενεργοποιείται τόσο από ιντερφερόνες τύπου I (IFN type I – IFN-I) όσο και τύπου II (IFN type II – IFN-II), μέσω των ISRE και GAS αντιστοίχως. Παρότι οι περισσότεροι τύποι κυττάρων εκφράζουν υποδοχείς IFN, δεν επάγεται σε όλα τα κύτταρα η παραγωγή IDO από τις IFN γιατί σε ορισμένα κύτταρα η σηματοδότηση από IFNs υπόκειται σε διαφορετική ρύθμιση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν συγκεκριμένοι υπότυποι δενδριτικών κυττάρων, τόσο σε επίμυες όσο και σε ανθρώπους, τα οποία εκφράζουν IDO μετά από διέγερση με IFNs [191].

Το IDO1 είναι χαρακτηριστικό παράδειγμα ISG που επάγει την ανοσοανοχή. Η μεταγραφική του όμως ενεργότητα δεν διασφαλίζει ταυτόχρονα και την ενζυμική δραστηριότητα του IDO. Το αποτέλεσμα της έκφρασης του γονιδίου υπάγεται σε μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις όπως η περιορισμένη πρόσβαση σε αιμίνη³

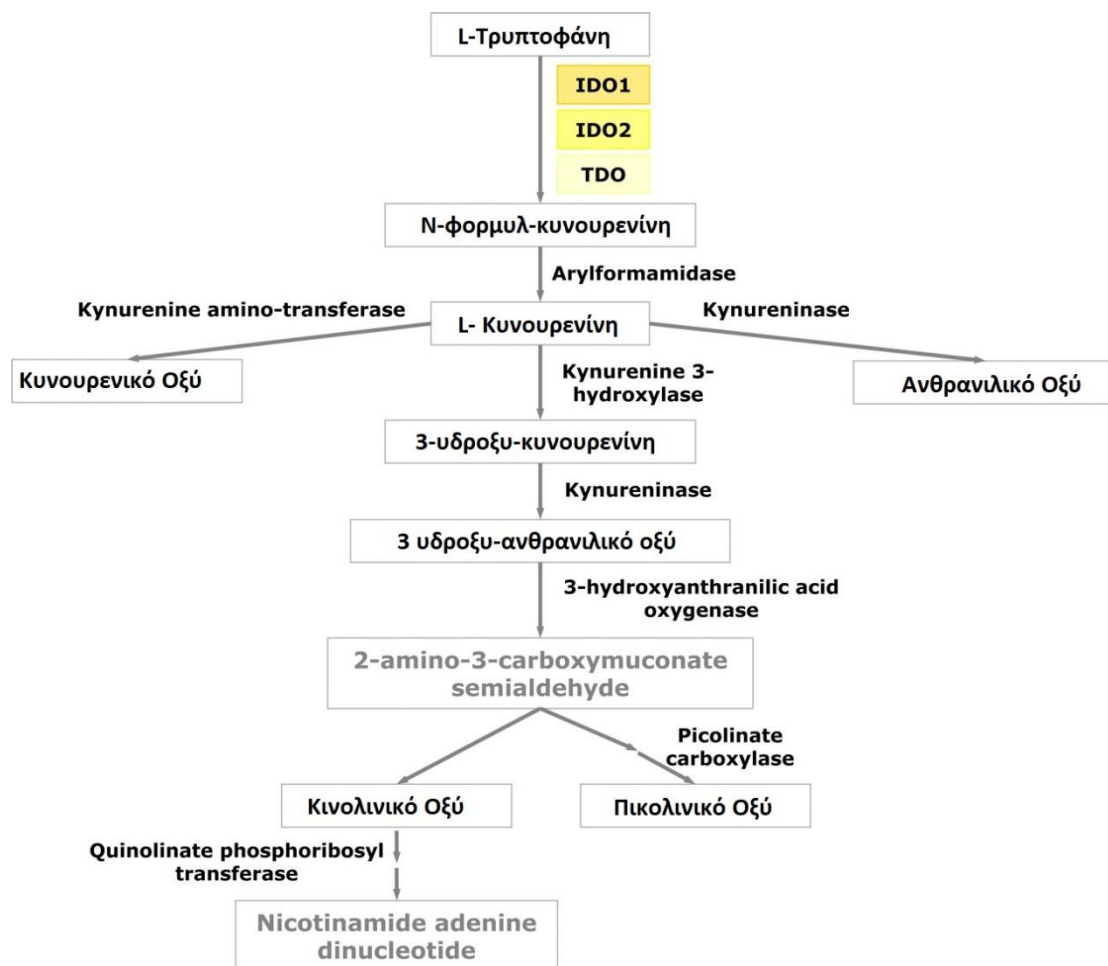
² είναι μια κατάσταση μη ανταπόκρισης του ανοσοποιητικού συστήματος σε ουσίες ή ιστούς που έχουν την ικανότητα να προκαλούν ανοσολογική απόκριση σε έναν δεδομένο οργανισμό. Προκαλείται από προηγούμενη έκθεση στο συγκεκριμένο αντιγόνο και έρχεται σε αντίθεση με τη συμβατική ανοσομεσολαβούμενη απομάκρυνση ξένων αντιγόνων. Η ανοχή ταξινομείται σε κεντρική ή περιφερική, ανάλογα με το πού επάγεται αρχικά αυτή η κατάσταση - στον θύμο αδένα και στον μυελό των οστών (κεντρικά) ή σε άλλους ιστούς και λεμφαδένες (περιφερικά).

³ Η αιμίνη (hemin) είναι μία μεταλλοπορφυρίνη που εμπεριέχει σίδηρο στο μόριό της. Ειδικότερα, είναι μία πρωτοπορφυρίνη IX που περιέχει ένα ιόν τριθενούς σιδήρου (αίμη B) συνδεδεμένο με χλωρίδιο

(έναν ενζυμικό συμπράγοντα του IDO), το τοπικό οξειδοαναγωγικό δυναμικό και το μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide), το οποίο εμποδίζει τη σύζευξη της αίμης με το οξυγόνο, που είναι απαραίτητη για τη ρήξη ενός ινδολικού δακτυλίου [192] [193].

3.2.2 Δράση

Το IDO καταλύει το πρώτο βήμα στον οξειδωτικό καταβολισμό ουσιών που εμπεριέχουν ινδολικούς δακτυλίους, συμπεριλαμβανομένης της **τρυπτοφάνης** και της **σεροτονίνης, γνωστής και ως 5-υδροξυτρυπταμίνη (5HT)**. Κύτταρα που εκφράζουν το IDO1 εξαλείφουν την τρυπτοφάνη και δημιουργούν βιοενεργούς μεταβολίτες, που συνολικά λέγονται **κινουρενίνες**, από την ονομασία του πρώτου μεταβολίτη: **κινουρενίνη (Κγν)**. Ένζυμα μετά το IDO σε αυτό το μονοπάτι αποδομούν την κινουρενίνη και παράγουν κινουρενικό οξύ (ΚΑ), 3-υδροξυ-ανθρανιλικό οξύ (ΗΑΑ), κινολινικό οξύ (QΑ), νιασίνη και άλλους καταβολίτες (**Εικόνα 7**).



Εικόνα 7. Το μονοπάτι μεταβολισμού της τρυπτοφάνης σε κινουρενίνη. (Curti και συν [194]).

Η μείωση της τρυπτοφάνης είναι ένας μηχανισμός ανοσορύθμισης, όμως οι μεταβολίτες της τρυπτοφάνης όπως η κινουρενίνη, το κινουρενικό οξύ, η 3-υδροξυ-κινουρενίνη και το 3-υδροξυ ανθρανιλικό οξύ, μπορούν επίσης να καταστείλουν την

λειτουργία των T κυττάρων [195]. Η τρυπτοφάνη είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ που είναι αναγκαίο σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες. **Η εξάντληση της τρυπτοφάνης οδηγεί σε «θάνατο από λιμό»** επάγοντας τη συσσώρευση μη φορτισμένων tRNA τρυπτοφάνης. Τα μη φορτισμένα tRNA γίνονται αντιληπτά από τη ριβοσωμική κινάση απάντησης στο stress (stress-response kinase - GCN2). Η ενεργοποιημένη μορφή της GCN2 ενεργοποιεί την ενσωματωμένη απόκριση στρες (integrated stress response – ISR) στην απόσυρση αμινοξέων, η οποία επάγει την έκφραση γονιδίου CHOP αλλά διακόπτει την μεταγραφή της πλειονότητας γονιδίων και προάγει την αυτοφαγία. Το ISR μπλοκάρει την είσοδο στον κυτταρικό κύκλο σε ενεργοποιημένα από TCR T κύτταρα, θέτοντάς τα σε ανεργία⁴, και ενεργοποιεί τα Foxp3 ρυθμιστικά CD4⁺ T κύτταρα (Tregs) προάγοντας την ανοσολογική ανοχή [196]. Τα κύτταρα στα οποία η GCN2 είναι γενετικά διαταραγμένη, δεν είναι επιρρεπή στην αναστολή του πολλαπλασιασμού τους από το IDO και δεν τίθενται σε ανεργία από τα δενδριτικά κύτταρα που εκφράζουν το IDO [196].

Ορισμένοι από τους καταβολίτες του μονοπατιού της Kyn δεσμεύονται σε υποδοχείς ανοσοποιητικών κυττάρων. Το HAA, η Kyn και το KA καταστέλλουν τις T κυτταρικές απαντήσεις δεσμευόμενα στους υποδοχείς PDK1 ή AhR των T κυττάρων, των APCs ή άλλων ανοσοποιητικών κυττάρων. Τα βιολογικά επακόλουθα της ενεργοποίησης του AhR είναι η **αναστολή της ενεργοποίησης των T κυττάρων, επαγωγή της ενεργοποίησης των T ρυθμιστικών (Tregs) και η έκφραση IDO από τα DC** [197] [198]. Η νιασίνη, ένα άλλο προϊόν του μονοπατιού της κυουρενίνης, δεσμεύεται στον υποδοχέα Gpr109a και καταστέλλει τη φλεγμονή και την καρκινογένεση στο έντερο, προάγοντας την ομοιοστασία και διασφαλίζοντας την υγεία του εντέρου [199].

Εκτός από το **IDO1** που είναι το βασικό ένζυμο του μεταβολικού μονοπατιού και χαρακτηρίζεται απλώς ως IDO, δύο ένζυμα που καταβολίζουν την τρυπτοφάνη στο ίδιο μονοπάτι είναι: η **2,3 δεοξυγενάση της ινδολεαμίνης 2 (IDO2)** και η δεοξυγενάση της τρυπτοφάνης (TDO). Το IDO2 κωδικοποιείται από το γονίδιο INDOL1, το οποίο βρίσκεται κεντρομεριδιακά του INDO, κάτι που ενισχύει την άποψη ότι πιθανόν να πρόκειται για προϊόν γονιδιακού διπλασιασμού [200]. Είναι δομικά παρόμοιο με το IDO1 με 42% ομοιότητα σε επίπεδο αμινοξέων. Εκφράζεται κυρίως στα **νεφρά, το ήπαρ και τα γεννητικά όργανα**. Υπάρχει σημαντικός γενετικός πολυμορφισμός για το IDO2, καταργώντας τη λειτουργία του ενζύμου στο 50% των ατόμων της Καυκάσιας φυλής [201]. **Το IDO2 εκφράζεται και στα δενδριτικά κύτταρα (DC), αλλά χωρίς να παρουσιάζει ενζυμική δραστηριότητα** [202]. Τα παραπάνω δεδομένα έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι πιθανώς να μη

⁴ Τα λεμφοκύτταρα βρίσκονται σε ανεργία όταν δεν ανταποκρίνονται στο ειδικό αντιγόνο τους. Η ανεργία είναι μια από τις τρεις διαδικασίες που προκαλούν ανοχή, τροποποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα για να αποτρέψει την αυτοκαταστροφή (οι άλλοι είναι η *κλωνική εξάλειψη* και η *ανοσορυθμιστική ρύθμιση*). Για τα T λεμφοκύτταρα η ανεργία προκύπτει όταν ενεργοποιηθούν από τον TCR χωρίς ταυτόχρονη ενεργοποίηση των συν-διεγερτικών υποδοχέων.

διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσολογία του καρκίνου [184]. Η **δεοξυγενάση της τρυπτοφάνης (TDO)** κωδικοποιείται από το γονίδιο TDO2 και εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στο ήπαρ. Παρόλο που λειτουργικά έχει παρόμοια δράση με το IDO1 και IDO2, δομικά έχουν μόνο 10% ομοιότητα σε επίπεδο αμινοξέων. Το TDO θεωρούνταν το μοναδικό ένζυμο που ευθυνόταν για την ομοιοστάση της τρυπτοφάνης. Πρόσφατα, παρατηρήθηκε η έκφρασή του και σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές από όγκους, συμπεριλαμβανομένου του μελανώματος, και βρέθηκε ότι ήταν ικανό να καταστείλει την ανοσολογική αντίδραση κατά του όγκου [203]. Δεν έχει διαπιστωθεί ακόμα έκφραση του TDO από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.

Τα IDO1 και IDO2 καταβολίζουν γενικά ουσίες που περιέχουν ινδολικούς δακτυλίους. Μία άλλη τέτοια ουσία πέραν της τρυπτοφάνης είναι η **σεροτονίνη (5HT)** [190]. Έτσι, εκτός από την επιρροή σε φλεγμονώδης και ανοσοποιητικές διεργασίες, το μονοπάτι της κυνουρενίνης οδηγεί, επίσης, σε **νευρολογικές εκδηλώσεις όπως ο πόνος, η κατάθλιψη και η κόπωση** που συχνά συσχετίζονται με χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους. Το IDO **επηρεάζει τη διάθεση και προάγει την κατάθλιψη** καταναλώνοντας την τρυπτοφάνη, η οποία αποτελεί υπόστρωμα της σύνθεσης της 5HT και της μελατονίνης. Ακόμα, υποδοχείς νευρικών κυττάρων όπως ο NMDA, ο $\alpha 7$ AchR και ο Gpr35 ανιχνεύουν καταβολίτες όπως το KA και το QA. Μία πολύ ενδιαφέρουσα σύνδεση μεταξύ φυσικής άσκησης και μειωμένων επιπέδων κατάθλιψης παρατηρήθηκε λόγω αυξημένης πρόσδεσης της Kyn στην κυκλοφορία από τους υποδοχείς PGC1a1 που εκφράζονται από ενεργούς σκελετικούς μύες [204]. Δεν είναι τυχαίο το γεγονός ότι περιγράφεται συσχέτιση με την κατάθλιψη ακόμα και στις φυσιολογικές δράσεις του IDO [205]. Ενδιαφέρον, επίσης, είναι ότι η υπερ-ενεργοποίηση του IDO σε απάντηση στην αγωγή με IFN- α στο μελάνωμα, θεωρείται «κλειδί» στην παθογένεια της κατάθλιψης που σχετίζεται με την IFN- α . Σε ασθενείς με μελάνωμα και καρκίνο των νεφρών, οι οποίοι λαμβάνουν θεραπεία με IFN- α , έχει παρατηρηθεί συσχέτιση των συμπτωμάτων κατάθλιψης με χαμηλή συγκέντρωση της τρυπτοφάνης στον ορό του αίματος, υποστηρίζοντας περαιτέρω την άποψη ότι το IDO διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη κατάθλιψη που επάγεται από ιντερφερόνες [206] [207].

Το IDO αποτελεί έναν φυσιολογικό ενδογενή μηχανισμό επίκτητης περιφερικής ανοσοανοχής in vivo. Δραστικά ενεργό IDO εκφράζεται στον πλακούντα, όπου η ανοσολογική ανοχή φαίνεται να κυριαρχεί. Σε πειραματική μελέτη σε κυοφορούσες επίμυες παρατηρήθηκε απόρριψη των εμβρύων, όταν τους χορηγήθηκε αναστολέας IDO 1-μεθυλ-τρυπτοφάνη, λόγω ανάπτυξης T κυτταρικής απάντησης έναντι των πατρικών αλλοαντιγόνων [208]. Αντίστοιχη ανοσοανοχή έχει παρατηρηθεί από την επίδραση του IDO σε βλεννογόνους του γαστρεντερικού και στους πνεύμονες. Έρευνες σε επίμυες έχουν δείξει ότι ιστικά μοσχεύματα που έχουν σχεδιαστεί ώστε να υπερεκφράζουν IDO δεν απορρίπτονται, ακόμα και σε

περιπτώσεις πλήρους αναντιστοιχίας αντιγόνων του συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας, χωρίς να έχει χρειαστεί περαιτέρω ανοσοκατασταλτική αγωγή [209] [210] [211] [184]. Παρότι η δράση του είναι πολύ ισχυρή ως επαγωγέας επίκτητης ανοχής σε ξένα αντιγόνα, **δε φαίνεται να εμπλέκεται στη διατήρηση της ανοχής σε αυτοαντιγόνα**. Αυτή η άποψη ενισχύεται από το γεγονός ότι γενετικά τροποποιημένοι επίμυες, οι οποίοι δεν μπορούσαν να παράγουν IDO, δεν ανέπτυξαν αυτοάνοσα νοσήματα ή λεμφοϋπερπλαστικές διαταραχές [212].

Είναι λοιπόν πολύ ενδιαφέρον ότι **η δράση του IDO στην επίκτητη ανοσολογική ανοχή, αν συμβαίνει σε περιπτώσεις καρκίνων, μπορεί να είναι ένας μηχανισμός που διευκολύνει την ανοσολογική διαφυγή των όγκων**.

3.3 Μηχανισμοί Δράσης

Το IDO τροποποιεί την ανοσολογική απάντηση με δύο βασικούς μηχανισμούς: αφενός παράγοντας **κυνουρενίνη** που αποτελεί συνδέτη για τον υποδοχέα του αρυλ υδρογονάνθρακα (aryl hydrocarbon receptor - **AhR**) και αφετέρου εξαντλώντας τα αποθέματα τρυπτοφάνης, κάτι που ενεργοποιεί μονοπάτια που «αντιλαμβάνονται» την **έλλειψη αμινοξέων**. Το IDO έχει επίσης αναφερθεί ότι δρα ως ένα άμεσο ενδοκυτταρικό σηματοδοτικό μόριο στα DCs που το εκφράζουν [213].

Η τοπική εξάντληση των αποθεμάτων τρυπτοφάνης από το IDO ενεργοποιεί την GCN2, η οποία αντιλαμβάνεται την έλλειψη αμινοξέων. Το μόριο της GCN2 περιέχει έναν τομέα κινάσης και μία αλλοστερική ρυθμιστική περιοχή που αποκρίνεται στην παρουσία tRNA όταν αυτό δεν φέρει κάποιο αμινοξύ. Η έλλειψη αμινοξέων, λοιπόν, ενεργοποιεί την GCN2 κινάση, οδηγώντας σε φωσφορυλίωση του ευκαριωτικού παράγοντα έναρξης 2 (eukaryotic initiation factor 2 – eIF2α) [214]. Ο φωσφορυλιωμένος eIF2α καταστέλλει τη ριβοσωμική μετάφραση των περισσότερων τύπων mRNA, αλλά ενισχύει επιλεκτικά τη μετάφραση ενός μικρού αριθμού μεταγράφων. Ένα παράδειγμα μετάφρασης επαγόμενης από τη GCN2 είναι ο μεταγραφικός παράγοντας ATF4 [215]. Το mRNA του ATF4 περιέχει δύο μικρά ανοδικά ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (upstream open reading frames – uORF). Το δεύτερο ανταγωνίζεται την κωδικοποιητική ακολουθία του ATF4 για την έναρξη της μετάφρασης. Όταν ο eIF2α φωσφορυλιωθεί από την GCN2, το δεύτερο uORF παρακάμπτεται και η μετάφραση του ATF4 ενισχύεται κατά πολύ [216].

Επίσης, το IDO παράγει διαλυτούς παράγοντες όπως η κυνουρενίνη και οι καταβολίτες της, οι οποίοι δεσμεύονται κι ενεργοποιούν το AhR [217]. Ο AhR είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ενεργοποιείται από διάφορους προσδέτες και αρχικά είχε ανευρεθεί ως υποδοχέας ξενοτοξινών όπως η διοξίνη. Οι επιδράσεις του AhR στο ανοσοποιητικό είναι πολύπλοκες γιατί διαφορετικοί ενδογενείς κι εξωγενείς προσδέτες μπορεί να έχουν διαφορετική ή ακόμη και αντίθετη επίδραση στους T κυτταρικούς υπότυπους ανάλογα με τη χημική συγγένεια με τον AhR, τη διάρκεια της σηματοδότησης και άλλους παράγοντες [218]. Στην περίπτωση του μονοπατιού της

κυνουρενίνης, ο AhR φαίνεται να έχει ανοσοκατασταλτική δράση, προάγοντας τη διαφοροποίηση των Foxp3⁺ Tregs και προδιαθέτοντας τα δενδριτικά και τα μακροφάγα προς έναν πιο ανοσοκατασταλτικό φαινότυπο [219] [220] [221] [222]. Έχει φανεί ότι στα DCs η σηματοδότηση από τον AhR είναι απαραίτητη για την έκφραση λειτουργικού IDO [223], κάτι που πιθανόν σημαίνει ότι υπάρχει αλληλεπίδραση σε αυτά τα δύο μονοπάτια. Θεραπευτικά, η χορήγηση φυσικής ή συνθετικής κυνουρενίνης, μπορεί να επάγει ανοχή που προστατεύει μεταμοσχευμένους ιστούς και ελαττώνει την ιστική βλάβη που προκαλείται από λοιμώξεις από διάφορα παθογόνα [224] [225] [226].

3.3.1 Τοπικές επιδράσεις στα T κύτταρα

Στα **CD8⁺ T κύτταρα**, η ενεργοποίηση της GCN2 από το IDO οδηγεί σε αναστολή του κυτταρικού κύκλου και λειτουργική ανεργία [227]. Στα **CD4⁺ T κύτταρα**, η ενεργοποίηση της GCN2 αναστέλλει την Th17 διαφοροποίηση [228] [229] και προάγει de novo Treg διαφοροποίηση και ενεργοποίηση λειτουργικής κατασταλτικής δραστηριότητας σε ώριμα Tregs [230] [231]. Καθώς η τρυπτοφάνη αρχικά θα εξαντλούνταν στα **APCs** που εκφράζουν το IDO, είναι πολύ πιθανό το μονοπάτι της GNC2 να ενεργοποιείται και σε αυτά τα κύτταρα. Παρόλα αυτά δεν γνωρίζουμε πολλά ακόμη για τις επιδράσεις του IDO και των μονοπατιών της GNC2 στα κύτταρα αυτά [222]. Η GNC2 απαντά και στην έλλειψη άλλων αμινοξέων πέρα από την τρυπτοφάνη. Χαμηλά τοπικά επίπεδα αργινίνης, λόγω της ενζυμικής δραστηριότητας της αργινάσης-I στα μακροφάγα ή στα μυελοειδή κατασταλτικά κύτταρα, επίσης ενεργοποιούν την GNC2, η οποία οδηγεί σε παρόμοια αποτελέσματα αναστολής του κυτταρικού κύκλου σε ενεργοποιημένα T κύτταρα [232]. Γενικά, η ενεργοποίησή της GCN2 στα T κύτταρα αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό τους και επάγει την διαφοροποίηση των «παρθένων» (naive) CD4⁺ T κυττάρων σε Tregs [196] [233].

Η GNC2 είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην μεσολάβηση των επιδράσεων του IDO. Παρόλα αυτά, σε μελέτες σε μοντέλα επιμύων με υποκινούμενη μέσω φλεγμονής καρκινογένεση, η εξάλειψη της GNC2 δεν προκάλεσε ανοχή έναντι στον όγκο όπως συμβαίνει απουσία του IDO. Αυτό υποδεικνύει την ύπαρξη κι άλλων μονοπατιών σχετιζόμενων με καρκίνο που λειτουργούν σαν απόρροια του IDO. Ένα από αυτά είναι το μονοπάτι mTOR [234]. Η εξάντληση αμινοξέων μπορεί να επιδράσει και στο μονοπάτι mTOR. Η ενεργότητα του **mTOR** αναστέλλεται σε καθεστώς φλεγμονής όπου τα αμινοξέα καταβολίζονται από το IDO, την αργινάση, την υδροξυλάση της τρυπτοφάνης και άλλα ένζυμα [235]. Δεν υπάρχουν δεδομένα άμεσης συσχέτισης του IDO με το μονοπάτι mTOR, όμως είναι πολύ πιθανό να ενεργοποιείται από τη δράση του, δεδομένης της επίδρασης του mTOR στα T κύτταρα και τα Tregs [236].

Το μονοπάτι του IDO συμβάλει στη ρύθμιση των Foxp3⁺ Treg κυττάρων και τη λειτουργία τους. In vitro, η εξάντληση της τρυπτοφάνης (που γίνεται αντιληπτή από την GNC2) δρα συνεργικά με τους μεταβολίτες της κυνουρενίνης οδηγώντας σε de novo διαφοροποίηση μη δεσμευμένων CD4⁺ T κυττάρων σε Foxp3⁺ Tregs [233] [237] [238]. Η αναστολή του mTOR επάγει την έκφραση Foxp3, όμως ο ακριβής μηχανισμός δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί [239]. In vivo, αναστολείς του IDO ή γενετική εξάλειψη του IDO1 εμποδίζει τη φυσιολογική διαφοροποίηση των Tregs σε συγκεκριμένα αντιγόνα (antigen-specific Tregs) ως απάντηση σε αντιγονικό ερέθισμα σε βλεννογόνο [240] [241]. Σε περίπτωση που υπάρχουν ήδη ώριμα Tregs, η συγκαλλιέργεια με DCs που εκφράζουν IDO κατά την ενεργοποίηση των Tregs ενισχύει τις κατασταλτικές τους λειτουργίες [231] και εμποδίζει την αποσταθεροποίηση του ρυθμιστικού φαινοτύπου των Tregs από τη φλεγμονή [242] [243] [244]. Τέλος, ορισμένα μοντέλα δείχνουν ότι το μονοπάτι του IDO και οι μεταβολίτες της κυνουρενίνης καταστέλλουν εκλεκτικά το προ-φλεγμονώδες Th17 μονοπάτι, με αποτέλεσμα την υπεροχή των Tregs έναντι των Th17. Αυτή η αλλαγή μπορεί να ελέγχει την παθολογία που σχετίζεται με τη φλεγμονή, αλλά είναι ανεπιθύμητη σε καταστάσεις όπως η HIV λοίμωξη, όπου η φλεγμονή και η T κυτταρική απάντηση θα ήταν ευεργετικές [245].

3.3.2 Συστηματική ρύθμιση ανοσίας από το IDO

Η επίκτητη περιφερική ανοσοανοχή, οριζόμενη στο πλαίσιο της λειτουργικής κατάστασης κατά την οποία **το ανοσοποιητικό σύστημα δεν αποκρίνεται σε αντιγονικό ερέθισμα**, είναι μια συνεχής διεργασία που εμποδίζει αβλαβή, μη αυτο-αντιγόνα να σηματοδοτήσουν το ανοσοποιητικό σύστημα οδηγώντας σε ιστική βλάβη [216]. Επίμυες χωρίς το γονίδιο IDO1 δεν αναπτύσσουν αυτόματες και θανατηφόρες αυτοάνοσης αρχής διαταραχές που παρατηρούνται σε επίμυες που δεν έχουν τα Foxp3 ή CTLA4. Αυτό καταδεικνύει ότι το IDO δεν είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη ανοσοανοχής έναντι ιδίων αντιγόνων στην ιστική ομοιοστασία. Ωστόσο, **αναστολή του IDO οδηγεί σε ελαττωματική επίκτητη ανοσοανοχή σε νέα αντιγόνα**, όπως για παράδειγμα σε περιπτώσεις μεταμοσχευμένων ιστών [246] [247] ή αντιγόνων που παρουσιάστηκαν σε επιφάνειες βλεννογόνων [240] [241]. Ακόμα, αναστολή του IDO1 οδηγεί σε συμπτώματα λύκου μετά από χρόνια συστηματική έκθεση σε αποπτωτικά κύτταρα [248]. Αντίστροφα, μεταφορά ανασυνδυασμένων γονιδίων IDO σε αλλομοσχευματικούς ιστούς δημιουργεί de novo συστηματική ανοχή στο μεταμοσχευμένο όργανο, χωρίς άλλη ανοσοκαταστολή [210] [249]. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι το μονοπάτι του IDO, σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής, περιορίζει την προοδευτική κατάρρευση της περιφερικής και δημιουργεί συστηματική ανοχή σε αυτό- και άλλο-αντιγόνα σε καταστάσεις αυτοανοσίας και μεταμόσχευσης.

Αυτόνομη έκφραση του IDO παρατηρείται πρωτίστως στους βλεννογόνους, αλλά αυτό το μονοπάτι επάγεται σε πολλούς ιστούς σε κατάσταση φλεγμονής καθώς

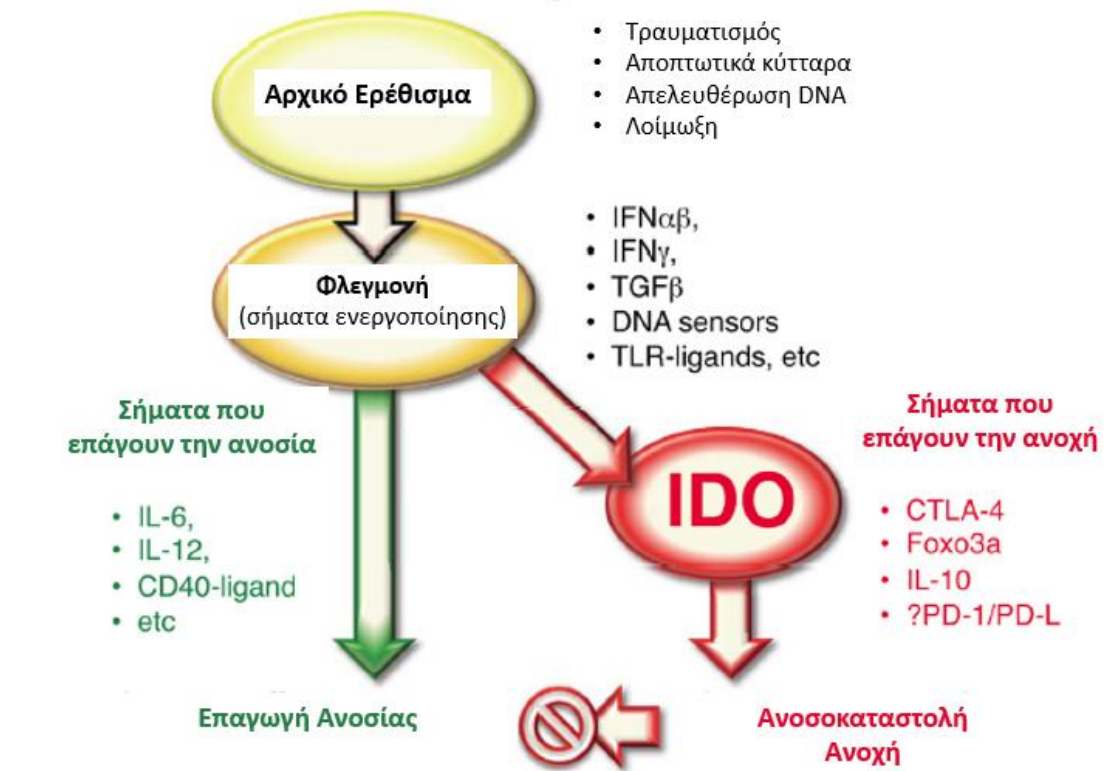
το γονίδιο του IDO επάγεται από IFNs. Έτσι, η ενεργοποίηση του μονοπατιού του IDO εκδηλώνεται σε συνέργεια με την τοπική παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών που σχετίζονται με την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού, κυρίως όταν η φλεγμονή διατηρείται. Σε μερικές περιπτώσεις η επιλογή μεταξύ ανοσίας ή ανοχής φαίνεται να εξαρτάται από τοπικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ισορροπία μεταξύ της ανοσοκατασταλτικής ενεργότητας του IDO και των τοπικών προ-φλεγμονωδών σημάτων (**Εικόνα 8**). Για παράδειγμα, η χορήγηση CTLA-4-Ig ή CD40-Ig σε επίμυες που έχουν υποστεί μεταμόσχευση επάγει την προστατευτική για το μόσχευμα ανοχή. Όμως αν το IDO κατασταλεί, τότε το αποτέλεσμα θα είναι απόρριψη του μοσχεύματος παρά τη χορήγηση CTLA-4-Ig ή CD40-Ig [209] [247].

Η επαγωγή της έκφρασης του IDO αφορά σε μυελοειδή κύτταρα του αίματος, **σε επιθηλιακά κι ενδοθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες, σε φλεγμίνοντες ιστούς** και τους σχετικούς λεμφαδένες. Το IDO μπορεί να προάγει φαινότυπο ανοχής σε επαγγελματικά⁵ αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (professional APCs) (DCs και μακροφάγα), ενώ η έκφρασή του από τα κύτταρα του στρώματος μπορεί να αναστείλει ανοσολογικές διεργασίες σε ιστούς περιορίζοντας την ιστική καταστροφή (όπως σε μεταμοσχευμένους πνεύμονες ή σε χρόνια λοίμωξη των πνευμόνων [250] [251] ή στη νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή [252] [253]). **Η απόκτηση φαινοτύπου ανοχής που να σχετίζεται με το IDO μπορεί να συμβαίνει σε συγκεκριμένα, εξειδικευμένα APCs.** Σε επίμυες, έχει περιγραφεί ένας ξεχωριστός υπότυπος DCs με συνδυαστικό ανοσοφαινότυπο B κυττάρων και δενδριτικών (CD19⁺ DCs). Αυτά τα κύτταρα εξέφραζαν το IDO σε λεμφαδένες που παροχέτευαν μελάνωμα και στον σπλήνα ως απάντηση σε B7⁶ (CTLA-4-Ig) και TLR9 (CpGs⁷) προσδέτες αντίστοιχα [254] [255]. Στην περίπτωση του IDO που παράγεται ως απάντηση σε CpGs, το αποτέλεσμα ήταν ανάλογο της οδού χορήγησης (ενδοφλέβια) και της χορηγούμενης δόσης των CpGs. Έτσι, χαμηλές δόσεις CpGs ενίσχυσαν την κλασική Th1 απάντηση, ενώ υψηλές δόσεις δρούσαν ανοσοκατασταλτικά λόγω της επαγωγής της αντιρρύθμισης με το IDO. Τα σήματα από τα μόρια TGF-β, CTLA-4 και PD-1 ήταν απαραίτητα για την επαγωγή του ανοσοκατασταλτικού IDO από τα CpGs και το αποτέλεσμα του IDO ήταν να ενεργοποιήσει σημαντικά την κατασταλτική ενεργότητα των Tregs [244].

⁵ Σχεδόν όλοι οι τύποι κυττάρων μπορούν να παρουσιάσουν αντιγόνο με κάποιο τρόπο. Τα επαγγελματικά APCs περιλαμβάνουν τα μακροφάγα, τα B κύτταρα και τα δενδριτικά κύτταρα και παρουσιάζουν ξένα αντιγόνα σε βοηθητικά T κύτταρα, ενώ άλλοι τύποι κυττάρων μπορούν να παρουσιάσουν αντιγόνα που προέρχονται από το κύτταρο σε κυτταροτοξικά T κύτταρα.

⁶ Η B7 είναι ένας τύπος περιφερικής μεμβρανικής πρωτεΐνης που ανευρίσκεται σε ενεργοποιημένα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs), η οποία όταν συνδεθεί είτε με μία CD28 είτε CD152 (CTLA-4) πρωτεΐνη επιφανείας σε ένα T κύτταρο, μπορεί να παράξει ένα συν-διεγερτικό ή ένα συν-ανασταλτικό σήμα για να ενισχύσει ή να ελαττώσει την ενεργότητα του MHC-TCR σήματος μεταξύ του APC και του T κυττάρου αντίστοιχως. Δέσμευση του B7 του APC στο CTLA-4 του T κυττάρου προκαλεί αναστολή της ενεργότητας του T κυττάρου.

⁷ Μικρές ακολουθίες μονόκλωνου DNA που θεωρούνται PAMPs.



Εικόνα 8. Η ενεργοποίηση του IDO μέσω φλεγμονής συμβάλλει στη δημιουργία συνθηκών που ευνοούν τη ανοσοκαταστολή και την ανοχή. Το τελικό αποτέλεσμα προκύπτει από την ισορροπία των σημάτων που προάγουν την ανοσιακή απάντηση και τις ρυθμιστικές απαντήσεις. Munn και συν [216].

Σε ένα άλλο πειραματικό μοντέλο, στο οποίο χορηγούνταν αποπτωτικά κύτταρα σε επίμυες, οι φυσιολογικές απαντήσεις ανοχής ήταν επίσης εξαρτώμενες από το IDO, καθώς η αναστολή της ενεργότητας του IDO ή η εξάλειψη του IDO1 γονιδίου, οδήγησε σε αυξημένη ευαισθησία στην ανάπτυξη συνδρόμων παρόμοιων του ερυθματώδους λύκου (lupus-like syndromes) μετά από χρόνια έκθεση σε αποπτωτικά κύτταρα [248]. Σε αυτή την περίπτωση MOMA1⁺ μεταλλοφιλικά μακροφάγα περιθωριακής ζώνης που εξέφραζαν Siglecg1/CD169 ήταν κρίσιμα για την μεσολάβηση ανοσοανοχής από το IDO. Τόσο στο μοντέλο των CpGs όσο και σε εκείνο των αποπτωτικών κυττάρων, μικροί πληθυσμοί σπάνιων αλλά ξεχωριστών κυττάρων φυσικής ανοσίας, που βρίσκονταν στην περιθωριακή ζώνη στον σπλήνα, δημιούργησαν λειτουργική συστηματική ανοσία. Αυτά τα κύτταρα διαμεσολάβησαν κυρίαρχες απαντήσεις σε καθορισμένες φλεγμονώδεις προσβολές μέσω του μονοπατιού του IDO [216].

In vivo, το IDO συχνά φαίνεται να συμμετέχει σε ένα δίκτυο σημάτων ανοσοανοχής. Για παράδειγμα, ανάλυση σταθερών καταστάσεων ανοσοανοχής σε αλλομοσχεύματα δέρματος αποκάλυψε αυξημένο τοπικό καταβολισμό ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων, συμπεριλαμβανομένου του καταβολισμού της τρυπτοφάνης που οφείλεται στο IDO [235], με τα συνεκδοχικά αποτελέσματα στα μονοπάτια GCN2 και mTOR. Σε άλλα μοντέλα, αυξημένη ενεργότητα του IDO είναι

απαραίτητη για την ανοχή σε αλλομοσχεύματα συμπαγών οργάνων μετά από αποκλεισμό CD40 [209] [256], ή αγωγή με CTLA-4-Ig [247]. Αντίθετα, το ανοσοκατασταλτικό φάρμακο, αλοφουγκινόνη (halofuginone), μμείται την επίδραση της εξάντλησης αμινοξέων από αποκλεισμό της δράσης της συνθετάσης προπυλ-tRNA, η οποία ενεργοποιεί την GCN2 και εμποδίζει τις TH17 απαντήσεις [228] [229]. Ενώ η διατήρηση της ενζυμικής δραστηριότητας του IDO καταστέλλει την T κυτταρική ανοσία και επιβραδύνει την εξέλιξη της νόσου σε θέσεις χρόνιας φλεγμονής, η ιστική καταστροφή από το ανοσοποιητικό μπορεί να συμβεί σε δεύτερο χρόνο. Για παράδειγμα, τα T κύτταρα μπορούν να αποκτήσουν αυξημένη αντίσταση στην καταστολή από το IDO, υπερεκφράζοντας τη συνθετάση TRP-tRNA, η οποία επιτρέπει στα T κύτταρα να έχουν πρόσβαση σε τρυπτοφάνη ακόμη κι όταν το IDO είναι ενεργό [257].

3.4 IDO και Δενδριτικά Κύτταρα

Οι ανοσολογικές απαντήσεις επιτελούνται κάτω από εξαιρετικά ελεγχόμενες διεργασίες που ενοποιούν σήματα από ενεργοποιητικούς και ανασταλτικούς υποδοχείς στις κυτταρικές επιφάνειες των ανοσοποιητικών κυττάρων. Αυτές οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις, που ρυθμίζουν τόσο την ποιότητα όσο και το μέγεθος της τελικής απάντησης, παρουσιάζουν ισχυρή εξάρτηση από δύο μικρά χαλαρά διατηρημένα μοτίβα που βρίσκονται στο ενδοκυτταρικό τμήμα πολλών σηματοδοτικών πρωτεϊνών. Αυτά τα μοτίβα αποτελούν τη βάση για δύο αντίθετες σηματοδοτικές υπομονάδες που ανταγωνίζονται για τον έλεγχο της κυτταρικής ενεργοποίησης στο ανοσοποιητικό σύστημα. Πρόκειται για τα **μοτίβα ενεργοποίησης** ανοσοϋποδοχέων βασισμένων στην τυροσίνη (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motifs – ITAMs) και τα **μοτίβα αναστολής** ανοσοϋποδοχέων βασισμένων στην τυροσίνη (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs - ITIMs) [258].

Το IDO έχει αναφερθεί ότι δρα ως ένα **άμεσο ενδοκυτταρικό σηματοδοτικό μόριο στα DCs που το εκφράζουν**. Αυτή η σηματοδοτική λειτουργία είναι ανεξάρτητη από την ενζυμική δραστηριότητα του IDO και μεσολαβείται με την στρατολόγηση των SHP-1/SHP-2 φωσφατασών στο ITIM μοτίβο του μορίου του IDO. Μάλιστα το σύμπλοκο IDO-SHP είναι απαραίτητο για την σταθερή επαγωγή φαινοτύπου ανοσοανοχής από τον TGF-β στα πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs) σε μοντέλα επιμύων [213].

Πολλοί τύποι κυττάρων μπορούν ενδεχομένως να εκφράζουν το IDO, μεταξύ των επαγγελματικών APCs (DCs, μακροφάγα, B κύτταρα). Η έκφραση του, όμως, συχνά περιορίζεται σε **συγκεκριμένους υπότυπους των APCs** που φαίνεται να ειδικεύονται στην ταχεία και υψηλή έκφραση IDO σε απάντηση στα φλεγμονώδη ερεθίσματα. Ακόμα και σε αυτά τα “IDO-ικανά” κύτταρα, η έκφραση αυτού του ενζύμου είναι **αυστηρά ελεγχόμενη από εξωγενή σήματα**. Σε επίπεδο mRNA, η

μεταγραφή του IDO προάγεται από παράγοντες όπως ο Foxo3 και ο IRF-8 και καταστέλλεται από τον DAP12 [259]. Σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο ο ρυθμιστικός παράγοντας SOCS3 δεσμεύεται στο IDO και στοχεύει την πρωτεΐνη του IDO για ουμπικουιτινοποίηση και γρήγορη αποδόμηση [260]. Σε γενικές γραμμές, λοιπόν, φαίνεται πως ορισμένα μόνο APCs εκφράζουν IDO, και μάλιστα μόνο ως απάντηση σε συγκεκριμένα περιβαλλοντικά σήματα [216].

Το IDO ως ένα ενδοκυτταρικό μη εκκρινόμενο ένζυμο εκκινεί τις **μεταβολικές επιδράσεις του μέσω τοπικών σημάτων**. Ωστόσο, οι ανοσολογικές επιδράσεις του δεν περιορίζονται μόνο στα κύτταρα που εκφράζουν το IDO. Γειτονικά κύτταρα μπορεί να «διαισθανθούν» και να απαντήσουν στους εκκρινόμενους μεταβολίτες της κυνουρενίνης και στην μειωμένη πρόσβαση σε τρυπτοφάνη. Έτσι, τα APCs που εκφράζουν IDO μπορούν να επηρεάσουν τόσο τα APCs αυτά καθαυτά, όσο και γειτονικά T κύτταρα που αλληλεπιδρούν με τα APCs. Παρομοίως, η δεοξυγενάση της τρυπτοφάνης (TDO) που επίσης καταλύει τον οξειδωτικό καταβολισμό της τρυπτοφάνης και την παραγωγή κυνουρενίνης. Έτσι, **καρκινικά κύτταρα που εκφράζουν είτε IDO είτε TDO μπορούν να δημιουργήσουν ένα τοπικό ανοσορρυθμιστικό μικροπεριβάλλον που καταστέλλει την ανοσία έναντι στον όγκο** [261] [203]

3.5 IDO σε Φλεγμονή και Νεοπλασία

Ήδη από το 1984 οι έρευνες των Pfefferkorn [262] και Taylor και Feng [263] κατέδειξαν ότι το IDO έχει αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες σε βακτήρια, πρωτόζωα και καρκινικά κύτταρα. Επαγωγή του IDO με IFN- γ σε κύτταρα του ανοσοποιητικού, παρατηρήθηκε την ίδια περίπου περίοδο [264] [265]. Σήμερα, το IDO θεωρείται ότι συμμετέχει σε έναν **γρήγορο και τοπικό μηχανισμό ανοσολογικής ρύθμισης που αναφέρεται με τον όρο «μεταβολική ανοσολογική ρύθμιση» (metabolic immune regulation) και προστατεύει τον ξενιστή από υπερ-αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος, επάγοντας την ανοσολογική ανοχή** [216]. Επίσης, συμμετέχει σε ένα ευρύ φάσμα ανοσολογικών αντιδράσεων, όπως σε χρόνιες λοιμώξεις, στην ανοσολογική διαφυγή των καρκινικών κυττάρων, στη φλεγμονή, στη μεταμόσχευση, στη μητρική ανοχή στο έμβρυο και στην αυτοανοσία [266].

3.5.1 Φλεγμονή

Εξωγενή φλεγμονώδη ερεθίσματα επάγουν την έκφραση του IDO σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs), όπως τα δενδριτικά (DC) [267], τα μακροφάγα [265] και τα Β-κύτταρα [266]. Ως μηχανισμός δράσης έχουν προταθεί η απομάκρυνση ριζών οξυγόνου και μετέπειτα η καταστολή των T-κυτταρικών απαντήσεων [263] [268] [269]. Επειδή η τρυπτοφάνη είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ για την επιβίωση πολλών μικροοργανισμών, η αποδόμησή της από τα κύτταρα που εκφράζουν το IDO θεωρείται ένας από τους βασικούς μηχανισμούς δράσης έναντι των λοιμώξεων. Επιπλέον, η παραγωγή μεταβολιτών όπως η κυνουρενίνη, η οποία

είναι βακτηριοκτόνος συμβάλει ως ένας επιπρόσθετος μηχανισμός άμυνας που μεσολαβείται από το IDO [270] ενάντια σε παθογόνα όπως το *Toxoplasma gondii*, ορισμένα στελέχη *Chlamydia psittaci* και η *Leishmania donovani*. Ακόμα, το IDO συμβάλει στον περιορισμό των ιικών λοιμώξεων. Μελέτες in vitro έχουν δείξει αναστολή της αντιγραφής του κυτταρομεγαλοϊού (CMV) από IFN- γ και IFN- β [271]. Η ιοστατική αυτή επίδραση ήταν δυνατόν να αντιστραφεί με χορήγηση εξωγενούς τρυπτοφάνης, καταδεικνύοντας την εμπλοκή του IDO στο αντιικό αποτέλεσμα [272] [273]. Παρόμοια αποτελέσματα είχαν και έρευνες για τον HSV-2, τον ιό της ιλαράς και της δαμαλίτιδας. Ένας ακόμη σημαντικός ρόλος που έχει αποδοθεί στο IDO είναι στον έλεγχο του βαθμού και του τύπου της φλεγμονής που προκαλούν τα παθογόνα στον πνεύμονα σε αναπνευστικές λοιμώξεις όπως η φυματίωση και η γρίπη [250] [274].

Σε αντίθεση με τα παραπάνω, το IDO δύναται να επάγει και αντικρουόμενα αποτελέσματα στις λοιμώξεις. Ενώ, δηλαδή, φαίνεται να καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό ορισμένων βακτηρίων και παράσιτων [275] [276] ή να αποτρέπει την εξάπλωση ιών [272] [271] [273] [277], μπορεί επίσης να δράσει και επί των κυττάρων του ξενιστή καταστέλλοντας ανοσολογικές αντιδράσεις με αποτέλεσμα την επαγωγή λοιμώξεων [278] ή την καταστολή της ανοσοποίησης μετά από εμβολιασμό [279]. Χαρακτηριστικά, αναφέρεται ότι το παθογόνο του ουροποιητικού *Escherichia coli* (uropathogenic *Escherichia coli* - UPEC) επάγει το IDO στα επιθηλιακά κύτταρα της ουρήθρας και σε πολυμορφοπύρρηνα [278]. Η εξασθενημένη ανοσολογική απόκριση λόγω του IDO επιτρέπει τον ευκολότερο αποικισμό του ουροποιητικού επιθηλίου από την UPEC. Επίσης, ιοί όπως ο HIV (HIV1), εκμεταλλεύονται την ανοσοκατασταλτική ικανότητα του IDO με συνέπεια τη μετάπτωση της λοίμωξης σε χρόνια φάση [280]. Το IDO φαίνεται, επίσης, να εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στον εντερικό βλεννογόνο κατά την αρχική φάση της HIV λοίμωξης, όπου μπορεί να μεταβάλει την τοπική αναλογία Tregs/TH17 κυττάρων, ενισχύοντας τα Tregs και εξασθενώντας τις προστατευτικές TH17 απαντήσεις [245].

Προσδέτες TLR που προέρχονται από παθογόνα ενεργοποιούν την απελευθέρωση ανοσοδιεγερτικών κυτοκινών. Οι προσδέτες των TLR μπορούν επίσης να επάγουν την έκφραση του IDO σε ορισμένα APCs, τα οποία σε αυτή την περίπτωση λαμβάνουν ανοσοκατασταλτική ενεργότητα προσφέροντας έναν πιθανό μηχανισμό για αντιρρυθμιστική ανατροφοδότηση. Έτσι, **η αρχική ανοσιακή αντίδραση του ξενιστή έναντι των παθογόνων μπορεί να εξασθενηθεί λόγω αύξησης του IDO στα APCs που οφείλεται στους TLRs.** Για παράδειγμα, η λοίμωξη με *E. coli* προάγει ένα ανοσορρυθμιστικό φαινότυπο στα ανθρώπινα μυελοειδή DCs, ο οποίος συσχετίζεται με αυξημένη έκφραση IDO και IL-10 [281]. Τα PAMPs που επάγουν το IDO (πχ μέσω IFN τύπου I) σε ορισμένα APCs μπορεί να αποτελούν μια πιθανή εξήγηση του γιατί σε ορισμένες χρόνιες λοιμώξεις παρατηρείται επέκταση των Treg και η αυξημένη ρύθμιση με τη μεσολάβηση Treg [282]. Από θεραπευτική σκοπιά, η ικανότητα των

προσδετών των TLR να επάγουν αντιρρυθμιστική έκφραση IDO μπορεί να έχει επιπτώσεις στην βιολογία ορισμένων ενισχυτικών στα εμβόλια (τα οποία περιλαμβάνουν προσδέτες TRL). Το αντιρρυθμιστικό IDO που επάγεται από το πρόσθετο ενισχυτικό, είναι πιθανό να εξασθενεί την επιθυμητή απόκριση στο εμβόλιο.

Οι ιντερφερόνες τύπου I (IFN-αβ) και II (IFN-γ) θεωρούνται αντιπροσωπευτικά μόρια φλεγμονής που διεγείρει την ανοσιακή απάντηση. **Οι IFNs ενεργοποιούν JAK/STAT σύμπλοκα** για να προάγουν τη μεταγραφή πολλών γονιδίων που επάγονται από IFN (IFN-stimulated genes – ISGs). Πολλά ISGs προάγουν την ανοσιακή απάντηση, αλλά κάποια ISGs ρυθμίζουν την ανοσιακή απάντηση και προάγουν την ανοχή. Οι IFNs είναι ικανές επαγωγείς ανοσορύθμισης που μεσολαβείται από το IDO. Το γονίδιο IDO1 έχει υποκινητές που περιέχουν στοιχεία απόκρισης που επάγεται από IFN (IFN-stimulated response elements – ISRE) και θέσεις που ενεργοποιούνται από IFN (IFN-activated sites – GAS). Αντίθετα, το γονίδιο IDO2 απαντούν στις IFNs ασθενώς.

Άλλοι παράγοντες που προάγουν το IDO σε κάποια κύτταρα είναι οι προσδέτες των AhR υποδοχέων και ρυθμιστικές κυτοκίνες όπως η IL-10 και το TGF-β. Ορισμένοι τύποι κυττάρων εκφράζουν IDO σε θέσεις φλεγμονής, παρότι τα περισσότερα κύτταρα εκφράζουν υποδοχείς για IFN τύπου I (IFNAR) και τύπου II (IFNγR). Λοιμώξεις, εμβολιασμοί και η καρκινογένεση επάγουν IFNs που μπορεί να συν-επάγουν το IDO, αν και η ενζυμική του δραστηριότητα μπορεί να μην εκδηλώνεται λόγω μεταγραφικών, μεταφραστικών και μετα-μεταφραστικών ελέγχων. Μερικά επιθηλιακά κύτταρα, δενδριτικά κύτταρα και μακροφάγα, εκφράζουν το IDO, ενώ τα λεμφοκύτταρα σπάνια εκφράζουν IDO. **Ο μεταγραφικός παράγοντας DAP12 ρυθμίζει την μεταγραφή του IDO που επάγεται από IFN, ενώ το SOCS3 στοχεύει την πρωτεΐνη IDO για πρωτεοσωμική αποδόμηση σε ορισμένα κύτταρα** [260] [259]. Οι μεταβολικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την ενεργότητα του ενζύμου IDO είναι η περιορισμένη πρόσβαση σε αιμίνη (έναν ενζυμικό συμπαράγοντα του IDO), το τοπικό οξειδοαναγωγικό δυναμικό και το μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide), το οποίο εμποδίζει τη σύζευξη της αίμης με το οξυγόνο, που είναι απαραίτητη για να σπάσει ένας ινδολικός δακτύλιος [191] [192]. **Εν κατακλείδι, πολλοί φλεγμονώδεις παράγοντες επάγουν την έκφραση του IDO, αλλά εξίσου πολλοί παράγοντες περιορίζουν την έκφρασή του και ρυθμίζουν την ενεργότητα του.**

3.5.2 Νεοπλασία

Η έκφραση ή/και η ενεργότητα του IDO έχει διαπιστωθεί σε διάφορους τύπους καρκίνου και συνήθως συσχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση. Ο Πίνακας 13 συνοψίζει τις σχετικές δημοσιεύσεις.

Τύπος καρκίνου	Ερευνητές	Μέθοδος ανίχνευσης, αριθμός ασθενών	Πρόγνωση ή/και επιβίωση
Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία	Fukuno και συν, 2015 [283]	IDO mRNA (RT-PCR) σε βλάστες AML n=62 (ενήλικες)	Αυξημένο IDO mRNA συσχετίζεται με χαμηλότερη CR και βραχύτερη OS
	Chamuleau και συν, 2008 [284]	IDO mRNA (RT-PCR) σε βλάστες AML n=286 (ενήλικες)	Αυξημένο IDO mRNA συσχετίζεται με βραχύτερη OS και PFS
	Corm και συν, 2009 [285]	Λόγος Kyn/Trp ορού (HPLC), n=184 (ενήλικες)	Αυξημένος λόγος Kyn/Trp συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Folgiro και συν, 2014 [286]	Έκφραση IDO επαγόμενη από IFN-γ (με βάση τα επίπεδα Kyn και Trp στο μέσο καλλιέργειας, HPLC), n=37 (παιδιατρικοί)	Υψηλότερη έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη PFS
	Mabuchi και συν, 2016 [287]	Συγκέντρωση Kyn ορού, n=48 (ενήλικες)	Αυξημένα επίπεδα Kyn συσχετίζονται με βραχύτερη OS
Καρκίνος Μαστού	Chen και συν, 2014 [288]	Έκφραση IDO (IHC) σε πρωτοπαθή όγκο, n=202	Η έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη DSS και MFS
	Sakurai και συν, 2013 [289]	Λόγος Trp/Kyn ορού (HPLC), n=32	Χειρότερη πρόγνωση για μικρότερο λόγο Trp/Kyn
	Soliman και συν, 2013 [290]	Έκφραση IDO (IHC) σε πρωτοπαθή όγκο, n=203	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS, στις θετικές για υποδοχέα οιστρογόνων περιπτώσεις
	Jacquemier και συν, 2012 [291]	Έκφραση IDO σε πρωτοπαθή όγκο (IHC, n=155) και IDO mRNA (RT-PCR, n=262), μόνο σε	Υψηλή έκφραση IDO mRNA συσχετίζεται με καλύτερη επιβίωση (basal-like breast carcinoma)

		βασικοειδείς καρκίνους	
	Yu και συν, 2011 [292]	Έκφραση IDO (IHC) και IDO mRNA (RT- PCR) σε πρωτοπαθή όγκο και λεμφαδένες, n=26	Έκφραση IDO στον πρωτοπαθή όγκο συσχετίζεται με προχωρημένο κλινικό στάδιο και εκτενέστερες λεμφαδενικές μεταστάσεις
Καρκίνος Τραχήλου	Ferns και συν, 2015 [293]	Λόγος Kyn/Trp ορού (φασματομετρία μάζας), n=251	Αυξημένος λόγος Kyn/Trp συσχετίζεται με βραχύτερη DSS
	Inaba και συν, 2010 [294]	Έκφραση IDO (IHC) σε πρωτοπαθή όγκο, n=112	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη DSS και OS
Καρκίνος Εντέρου	Engin και συν, 2016 [295]	Έκφραση IDO στον πρωτοπαθή όγκο (IHC) και λόγος Kyn/Trp ορού (HPLC), n=44	Ο λόγος Kyn/Trp ορού ήταν σημαντικά υψηλότερος στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. Η έκφραση IDO συσχετίζεται με παρουσία λεμφικής διήθησης και μετάστασης στους λεμφαδένες
	Ferdinande και συν, 2012 [296]	Έκφραση IDO στον πρωτοπαθή όγκο (IHC), n=265 (στάδιο νόσου pT1-4N1Mx)	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS και εμφάνιση μεθύστερων μεταστάσεων
	Gao και συν, 2009 [297]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο (n=71) και σε TDLN (n=60)	Έκφραση IDO σε TDLN συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Brandacher και συν, 2006 [298]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο (n=143) και σε μεταστάσεις (n=53)	Έκφραση IDO συσχετίζεται με τη συχνότητα μεταστάσεων στον ήπαρ και βραχύτερη OS
	Huang και συν, 2002 [299]	Συγκέντρωση Trp ορού (HPLC), n=66	Χαμηλά επίπεδα Trp συσχετίζονται με

			μετάσταση στο ήπαρ και χειρότερη ποιότητα ζωής
Καρκίνος Ενδομητρίου	De Jong και συν, 2012 [300]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=355	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη DSS
	Iino και συν, 2008 [301]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=65	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη PFS
	Iino και συν, 2006 [302]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=80	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη PFS και OS
SCC Οισοφάγου	Jia και συν, 2015 [303]	Έκφραση IDO (IHC) και IDO mRNA (RT-PCR) σε πρωτοπαθή όγκο και TDLN, n=196	Έκφραση IDO στον πρωτοπαθή όγκο και σε TDLN συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Zhang και συν, 2011 [304]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=135	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS
Καρκίνος Στομάχου	Kim και συν, 2016 [305]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=243	Έκφραση IDO συσχετίζεται με λιγότερο προχωρημένο στάδιο. Δε συσχετίστηκε με PFS ή OS
	Zhang και συν, 2013 [306]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=50	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βαθύτερη διήθηση και συχνότερες λεμφαδενικές μεταστάσεις
Γλοίωμα	Zhai και συ, 2015 [307]	Λόγος Kyr/Trp ορού (HPLC), n=33 (πολύμορφο γλοιοβλάστωμα)	Αυξημένος λόγος Kyr/Trp συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Mitsuka και συν, 2013 [308]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=68	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Wainwright και συν, 2012 [309]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=343	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS

Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα	Pan και συν, 2008 [310]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=138	Έκφραση συσχετίζεται με βραχύτερη OS	IDO με
	Ishio και συν, 2004 [311]	Έκφραση IDO (IHC) και IDO mRNA (RT-PCR) σε πρωτοπαθή όγκο, n=21	Υψηλό IDO συσχετίζεται με μεγαλύτερη PFS	mRNA με
Λέμφωμα Hodgkin	Choe και συν, 2014 [312]	Έκφραση IDO σε ιστιοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα (IHC), n=121	Έκφραση συσχετίζεται με βραχύτερη OS	IDO με
SCC Λάρυγγα	Ye και συν, 2013 [313]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=187	Έκφραση συσχετίζεται με βραχύτερη OS και PFS	IDO με
Καρκίνος Πνεύμονα	Creelan και συν, 2013 [314]	Λόγος Κγν/Trp ορού (HPLC), n=33 (NSCLC με διάφορους συνδυασμούς θεραπείας)	Αύξηση του λόγου Κγν/Trp μετά την χημειοθεραπεία εφόδου συσχετίζεται με βραχύτερη OS	IDO με
	Suzuki και συν, 2010 [315]	Λόγος Κγν/Trp ορού (φασματομετρία μάζας), n=123	Αυξημένος λόγος Κγν/Trp συσχετίζεται με πιο προχωρημένη νόσο	IDO με
	Karanikas και συν, 2007 [316]	IDO mRNA (RT-PCR) σε πρωτοπαθή όγκο n=28	Καμία συσχέτιση	
	Astigiano και συν, 2005 [317]	Έκφραση IDO (IHC) σε ηωσινόφιλα που διηθούσαν τον πρωτοπαθή όγκο, n=25 (NSCLC)	Έκφραση συσχετίζεται με βραχύτερη OS	IDO με
Μελάνωμα	Pelak και συν, 2015 [318]	Έκφραση IDO (IHC) σε λεμφαδενική μετάσταση (n=48) και στην πρωτοπαθή εστία (n=32)	Έκφραση IDO σε λεμφαδενική μετάσταση συσχετίζεται με βραχύτερη OS	IDO σε
	Ryan και συν, 2014 [319]	Έκφραση IDO (IHC) σε λεμφαδένες φρουρούς, n=56	Έκφραση IDO σε αρνητικούς λεμφαδένες φρουρούς συσχετίζεται με υποτροπή	IDO σε

	Chevolet και συν, 2014 [320]	Έκφραση IDO (IHC) σε ενδοθήλια πέριξ του όγκου (n=87) και σε λεμφαδένες φρουρούς (n=116)	Έκφραση IDO σε ενδοθήλια πέριξ του όγκου συσχετίζεται με βραχύτερη PFS και OS. Έκφραση του IDO σε λεμφαδένες φρουρούς συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Speeckaert και συν, 2012 [321]	Έκφραση IDO (IHC) σε λεμφαδένες φρουρούς, n=116	Έκφραση IDO σε λεμφαδένες φρουρούς συσχετίζεται με βραχύτερη PFS και OS
	Brody και συν, 2009 [322]	Έκφραση IDO (IHC) σε λεμφικές μεταστάσεις, n=25	Έκφραση IDO σε λεμφαδενικές μεταστάσεις συσχετίζεται με κακή επιβίωση
	Weinlich και συν, 2007 [323]	Λόγος Kyn/Trp ορού (HPLC), n=87	Αυξημένος λόγος Kyn/Trp συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Munn και συν, 2004 [255]	Έκφραση IDO (IHC) σε λεμφαδένες φρουρούς, n=40	Έκφραση IDO σε λεμφαδένες φρουρούς συσχετίζεται με βραχύτερη OS
Μη Hodgkin Λέμφωμα	Nam και συν, 2016 [324]	Έκφραση IDO (IHC) στο μικροπεριβάλλον του όγκου, n=78 (DLBCL)	Έκφραση του IDO σε κύτταρα του ανοσοποιητικού στο μικροπεριβάλλον του όγκου συσχετίζονται με μεγαλύτερη OS
	Liú και συν, 2014 [325]	Έκφραση IDO (IHC) και IDO mRNA (RT-PCR) σε λέμφωμα, n=57	Έκφραση του IDO σε κύτταρα του λεμφώματος συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Ninomiya και συν, 2011 [326]	Έκφραση IDO (IHC) σε κύτταρα του όγκου, n=119 (DLBCL)	Έκφραση του IDO συσχετίζεται με χαμηλότερα ποσοστά ύφεσης και βραχύτερη OS
	Yoshikawa και συν, 2010 [327]	Συγκέντρωση Kyn ορού (HPLC), n=73 (DLBCL)	Αυξημένα επίπεδα Kyn συσχετίζονται με βραχύτερη OS

SCC Στοματικής Κοιλότητας	Seppälä και συν, 2016 [328]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο και λεμφαδένες, n=108 (μόνο γλώσσα)	Έκφραση του IDO συσχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση, στις περιπτώσεις όγκων αρχικής ταξινόμησης T2-T4 και στις περιπτώσεις έντονης φλεγμονής στο διηθητικό μικροπεριβάλλον του όγκου
	Laimer και συν, 2011 [329]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=188	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS
Οστεοσάρκωμα	Urakawa και συν, 2011 [330]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=139	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS και MFS
Καρκίνος Ωοθηκών	Inaba και συν, 2009 [331]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=60	Έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS και PFS
	Takao και συν, 2007 [332]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=122	Σε ορώδεις καρκίνους, έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS
	Okamoto και συν, 2005 [333]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=24	Σε ορώδεις καρκίνους, έκφραση IDO συσχετίζεται με βραχύτερη OS
Καρκίνος Νεφρών	Yuan και συν, 2012 [334]	Έκφραση IDO (IHC) και IDO mRNA (RT-PCR), n=43	Υψηλό IDO mRNA συσχετίζεται με μεγαλύτερη OS
	Riesenverg και συν, 2007 [335]	Έκφραση IDO (IHC) και IDO mRNA (RT-PCR), n=107	Υψηλό IDO mRNA συσχετίζεται με μεγαλύτερη OS
Καρκίνος Θυρεοειδούς	Moretti και συν, 2014 [336]	Έκφραση IDO (IHC, n=55) και IDO mRNA (RT-PCR, n=105) σε πρωτοπαθή όγκο	Αυξημένο IDO mRNA συσχετίζεται με πιο επιθετικούς τύπους όγκου
SCC Αιδοίου	De Jong, και συν, 2012 [337]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο, n=286	Καμία επίδραση στην πρόγνωση

Sznurkowski και συν, 2011 [338]	Έκφραση IDO (IHC) στον πρωτοπαθή όγκο (n=76) και σε λεμφαδενικές μεταστάσεις (n=35)	Έκφραση IDO σε πρωτοπαθή όγκο συσχετίζεται με βραχύτερη OS
---------------------------------	---	--

Πίνακας 13. Προγνωστική αξία της έκφρασης του IDO σε διάφορους τύπου καρκίνου. Με κόκκινο: έρευνες με αρνητική έκβαση, με πράσινο: έρευνες με θετική έκβαση, με μπλε: αδυναμία συσχέτισης / καμία συσχέτιση. Ειλημμένο και τροποποιημένο από [184]. (AML: οξεία μυελογενής λευχαιμία, CR: πλήρης απόκριση, OS: ολική επιβίωση, PFS: επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου, Kyp: κυνουρενίνη, Ttp: τρυπτοφάνη, HPLC: υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, IHC: ανοσοϊστοχημεία, DSS: επιβίωση σχετική με τη νόσο, MFS: επιβίωση χωρίς μεταστάσεις, TDLN: λεμφαδένες που παροχετεύουν τον όγκο, NSCLC: μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα, DLBCL: διάχυτο από μεγάλα Β κύτταρα λέμφωμα)

Η έκφραση του IDO τόσο στην πρωτοπαθή εστία όσο και σε μεταστάσεις συσχετίζεται με παράγοντες χειρότερης πρόγνωσης όπως είναι η μειωμένη επιβίωση, το προχωρημένο στάδιο της νόσου, η παρουσία μεταστάσεων, μειωμένα λεμφοκύτταρα που διηθούν τον όγκο και αυξημένα FoxP3⁺ Treg κύτταρα [298] [292]. **Η έκφραση του IDO από τα κύτταρα του όγκου μπορεί να είναι αποτέλεσμα των γενετικών μεταβολών της κακοήθους εξαλλαγής ή μπορεί να επάγεται από την IFN- γ ή άλλους διαμεσολαβητές φλεγμονής** [184].

Το IDO μπορεί να εκφράζεται επίσης από τα κύτταρα του ξενιστή, τα ενδοθηλιακά κύτταρα ή κύτταρα του ανοσοποιητικού, στο μικροπεριβάλλον του όγκου ή και στους αντίστοιχους λεμφαδένες που παροχετεύουν τον όγκο (tumor-draining lymph nodes – TDLN). Στο μελάνωμα έχει παρατηρηθεί έντονη έκφραση του IDO στο υπόστρωμα πέριξ του πρωτοπαθούς όγκου, αλλά και στο λεμφαδένα φρουρό. Αυτή η έκφραση έχει συσχετισθεί με μειωμένο αριθμό λεμφοκυττάρων που διηθούν τον όγκο (tumor infiltrating lymphocytes – TILs) στην πρωτοπαθή εστία, τα οποία έχουν σημαντική προγνωστική αξία [320]. Ένας τύπος από τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή IDO του ξενιστή είναι τα **πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs)** [255]. Αυτός ο υπότυπος δενδριτικών κυττάρων έχει βρεθεί ότι στους TDLN καταστέλλει την T κυτταρική απάντηση και επάγει την ανοσοανοχή προς συγκεκριμένα αντιγόνα [196]. **Ακόμα, IDO⁺ DCs μπορούν να καταστείλουν T κυτταρικές απαντήσεις σε αντιγόνα που παρουσιάζονται από γειτονικά IDO⁻ DCs** [255]. Αυτό πιθανώς να εξηγεί πως ακόμα και μικροί πληθυσμοί IDO⁺ DCs μπορούν να έχουν σημαντική επίδραση in vivo.

Η ενεργότητα του IDO στο αίμα συνήθως υπολογίζεται έμμεσα με τον υπολογισμό του λόγου κυνουρενίνης / τρυπτοφάνης ως απότοκο της αποδόμησης της τρυπτοφάνης από την ενζυμική δραστηριότητα του IDO. Αυτός ο λόγος έχει συσχετισθεί με αρνητική έκβαση στην οξεία μυελογενή λευχαιμία (AML), στον καρκίνο του μαστού, στον καρκίνο του τραχήλου, στο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα,

στο μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα των πνευμόνων και στο μελάνωμα. Σε μελέτες που αφορούν στο τελευταίο, τα κύρια κύτταρα που εκφράζουν το IDO στο αίμα, φαίνεται να είναι πλασματοκυτταροειδή δένδριτικά κύτταρα (pDCs), μονοκυτταρικά κατασταλτικά κύτταρα από τον μυελό των οστών (monocytic myeloid-derived suppressor cells – mMDSCs). Μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs) τα οποία εκφράζουν IDO συσχετίζονται έντονα με κυτταροτοξικά T κύτταρα που εκφράζουν PD-L1 και Tregs που εκφράζουν CTLA4 υποδεικνύοντας ότι αυτά τα ανοσορυθμιστικά μόρια έχουν στενή σχέση [339] [340].

Παρά το γεγονός ότι στις περισσότερες μελέτες φαίνεται ότι η έκφραση του IDO συσχετίζεται με χειρότερη έκβαση, **σε ορισμένους καρκίνους έχει παρατηρηθεί θετική επίδραση**. Υπάρχουν δύο υποθέσεις που μπορούν να εξηγήσουν αυτή την αντίφαση. Η μία είναι ότι όπως έχει δημοσιευθεί, η τοπική εξάντληση της τρυπτοφάνης μειώνει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων [341] [342]. Η δεύτερη υποστηρίζει ότι ο πιο ισχυρός επαγωγέας έκφρασης για το IDO είναι η IFN- γ . Κατά την ανοσολογική απάντηση κατά του όγκου εκκρίνονται μεγάλες ποσότητες προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, μεταξύ των οποίων και η IFN- γ . Άρα η έκφραση του IDO θα μπορούσε να αποτελεί ένα δείκτη μιας ανοσολογικής απάντησης σε εξέλιξη [184]. Τέλος, ένα μέρος των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων που μπορεί να παρατηρούνται σε μελέτες της βιβλιογραφίας μπορεί να οφείλεται σε τεχνικές διαφορές μεθοδολογίας όπως η χρήση διαφορετικών ανιχνευτικών αντισωμάτων κα.

3.5.2.1 Το μικροπεριβάλλον του όγκου

Το μικροπεριβάλλον του όγκου συνιστά ένα «ανώμαλο» περιβάλλον όπου οι όγκοι συχνά επιστρατεύουν και χρησιμοποιούν στο μέγιστο τους φυσιολογικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς ομοιόστασης και ανοσολογικής ανοχής του ανοσοποιητικού συστήματος. Το IDO υπερεκφράζεται είτε από τα νεοπλασματικά κύτταρα αυτά καθαυτά, είτε από κύτταρα του υποστρώματος όπως τα μακροφάγα, τα δένδριτικά κύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η παθοβιολογία περιπλέκεται ακόμα περισσότερο δεδομένου ότι **προκειμένου το IDO να εκφραστεί απαιτείται η παρουσία μίας κάποιας βαθμού φλεγμονής στον όγκο, που θα το επάγει** [343]. Αυτό θεωρείται ένα ζωτικής σημασίας σημείο, διότι το IDO από τη φύση του ασκεί αντιρρυθμιστική δράση: Η έκφρασή του επάγεται από σήματα φλεγμονής, ενώ στη συνέχεια δρα κατασταλτικά για τη φλεγμονή αυτή. Αυτή η επαγόμενη αντιρρύθμιση είναι ευεργετική όταν ελέγχεται μια επιβλαβής φλεγμονή ή όταν δημιουργείται ανοχή σε αποπτωτικά κύτταρα, αλλά είναι ανεπιθύμητη όταν καταστέλλει την προσπάθεια ανοσιακής απάντησης σε ένα κακόηθες νεόπλασμα.

Η GCN2 επηρεάζει, επίσης, άμεσα τον φαινότυπο των δένδριτικών κυττάρων και των μακροφάγων. Αυτά τα δύο μονοπάτια μαζί, έχουν πολύ μεγάλη επίδραση στα APCs και το αντιγονοπαρουσιαστικό περιβάλλον. Έτσι, όταν το IDO είναι ενεργό, APCs που διαφορετικά θα μπορούσαν να παράγουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η

IL-12, παράγουν αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η IL-10 και ο TGF-β [219] [248] [344]. Αυτό είναι πολύ σημαντικό, γιατί σημαίνει ότι **η αύξηση του IDO μπορεί να αλλάξει τη ίδια τη φύση των APCs και συνεκδοχικά να μετατρέψει όλο το περιβάλλον από ανοσοποιητικό σε ανοσοανοχής.**

Ένα αναπάντητο ερώτημα είναι αν η βασική θέση έκφρασης του IDO είναι **τα νεοπλασματικά κύτταρα αυτά καθαυτά ή τα κύτταρα του ξενιστή, όπως τα DCs που εκφράζουν IDO** και βρίσκονται στους όγκους ή στους TDLN [345]. Μέσα στο νεόπλασμα η έκφραση του IDO από τα κύτταρα του όγκου, θα συνέβαλε στην τοπική ανοσοκαταστολή στο μικροπεριβάλλον [261] [203] [346]. Αυτό διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή των ανοσιακών απαντήσεων στον όγκο. Παρόλα αυτά, ορισμένες ανοσολογικές λειτουργίες του IDO, όπως η συστηματική ενεργοποίηση των Tregs και η δημιουργία συστηματικής ανοχής, φυσιολογικά συμβαίνει όταν το IDO εκφράζεται σε εξειδικευμένα, επαγγελματικά APCs. Έτσι, η αύξηση της έκφρασης του IDO από τα APCs του ξενιστή σε απάντηση στην τοπική αύξηση του όγκου μπορεί να είναι κρίσιμη για της ικανότητα του IDO να συμβάλει στη συστηματική ανοσοκαταστολή και ανοχή έναντι των όγκων [216].

Σε μοντέλα καρκινογένεσης επίμυων προτείνεται η ανάπτυξη όγκων μέσω επιστράτευσης ενεργών κυττάρων που εκφράζουν IDO [347] και επάγουν την αύξηση της έκφρασής του από τα DCs σε TDLNs [255]. Στον καρκίνο του προστάτη (τόσο σε μοντέλα ζώων, όσο και στον άνθρωπο), η **επαγωγή του IDO σε DCs εξαρτάται από την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα Foxo3** [348]. Οι παράγοντες που ενεργοποιούν τον Foxo3 και την συνεκδοχική επαγωγή του IDO στον όγκο και στους TDLN παραμένουν άγνωστοι. Ένας υποψήφιος τέτοιος παράγοντας είναι τα Tregs που εκφράζουν CTLA4, γιατί το επιφανειακό CTLA-4 που εκφράζεται από τα Tregs μπορεί να δεσμευτεί στον B7 των DCs για να επάγει την έκφραση του IDO [349], και αυτή η «όπισθεν σηματοδότηση» από το CTLA-4 στον B7 διαμεσολαβείται πιθανότατα από τον Foxo3 [350]. Σε αυτό το μοντέλο, **τα Tregs που διεισδύουν στον όγκο θα συνδέονταν αιτιωδώς με την επαγωγή IDO στο περιβάλλον του όγκου.** Αμοιβαία, το IDO μπορεί να ενεργοποιήσει Tregs μέσω των μονοπατιών της GCN2 και του AhR [198] [233] [231]. Υπάρχει, λοιπόν, ένα δυναμικό για έναν **κύκλο αμοιβαίως ενισχυτικό με θετική ανάδραση μεταξύ του IDO και των κατασταλτικών Tregs στο μικροπεριβάλλον του όγκου.** Μία τέτοια ανοσοκαταστολή είναι εντελώς ανεπιθύμητη και αιτιολογεί το ερευνητικό ενδιαφέρον για να εμποδιστεί το IDO ως ένα επιπρόσθετο στοιχείο στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου.

4 ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η διερεύνηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του ενζύμου IDO σε οστεολυτικές βλάβες των γνάθων στη νόσο κυττάρων Langerhans.

Ειδικό Μέρος

5 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα εργασία έχει πάρει έγκριση από την Επιτροπή Δεοντολογίας της Έρευνας της Οδοντιατρικής Σχολής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΚΩΔ:0317,24/4/2017). Πρόκειται για αναδρομική μελέτη σε υλικό βιοψιών και αφορά σε περιπτώσεις ιστοτεμαχίων που προέρχονταν από μερική βιοψία ενδοστοματικών αλλοιώσεων για διάγνωση της νόσου κυττάρων Langerhans ή βλαβών ληφθέντων από ασθενείς που ήδη έπασχαν από αυτή τη νόσο. Οι ασθενείς, από τους οποίους προήλθαν αυτά τα ιστοτεμάχια, είχαν δώσει έγγραφη συγκατάθεση λαμβάνοντας γνώση πως το αρχειακό υλικό (φωτογραφικό, ακτινογραφικό, βιολογικό), που θα προκύψει κατά τη διάρκεια της εξέτασης και θεραπείας τους, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ερευνητικούς σκοπούς, χωρίς να αναφέρονται τα προσωπικά στοιχεία τους. Το υλικό αφορούσε σε ιστούς μονιμοποιημένους σε φορμόλη 10% και εγκλεισμένους σε κύβο παραφίνης και προέρχεται από το Ιστοπαθολογικό αρχείο του Εργαστηρίου Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

5.1 Ασθενείς, Κριτήρια Επιλογής

Από το Ιστοπαθολογικό αρχείο του Εργαστηρίου Στοματολογίας αναζητήθηκαν οι περιπτώσεις με διάγνωση LCH. Συγκεκριμένα, από το σύνολο των 19.044 καταγεγραμμένων βιοψιών του αρχείου, οι οποίες είχαν διαγνωσθεί κατά την 20ετή χρονική περίοδο 1995 έως και 2017, βρέθηκαν 34 περιπτώσεις LCH (0,0018%), οι οποίες αντιστοιχούσαν σε 24 ασθενείς.

Για την κάθε περίπτωση αξιολογήθηκε η επάρκεια του ιστού, ενώ για την ιστοπαθολογική και ανοσοϊστοχημική μελέτη κόπηκαν πολλαπλές ιστολογικές τομές 3-5μm. Η τελική επιλογή του υλικού μελέτης πραγματοποιήθηκε μετά από αξιολόγηση των κλινικών πληροφοριών που αναγράφονταν στα παραπεμπτικά των ιστολογικών εκθέσεων. Αφού κόπηκαν σειριακές τομές (περίπου 10/ανά περίπτωση) πάχους 5μm, έγινε ιστοπαθολογική επανεκτίμηση με μικροσκόπηση της πρώτης και τελευταίας ιστολογικής τομής μετά από χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης. Η επιλογή βασίσθηκε στα τυπικά ιστοπαθολογικά κριτήρια καθορισμένα από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO).

Σε κάθε περίπτωση του υλικού μελέτης, η επιβεβαίωση της τελικής διάγνωσης έγινε μετά από ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση (Θετική έκφραση σε S-100 και CD1a από τα κύτταρα της βλάβης).

5.2 Κριτήρια αποκλεισμού

Κριτήρια αποκλεισμού για την έρευνα αποτέλεσαν τα εξής:

- Ανεπαρκές μέγεθος εγκιβωτισμένου δείγματος ιστού

- Απουσία αντιπροσωπευτικών περιοχών της βλάβης κατά την ιστοπαθολογική αξιολόγηση των τομών με χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης

5.3 Θετικοί – Αρνητικοί Μάρτυρες

Η πρώτη ομάδα θετικών μαρτύρων για την αξιολόγηση της χρώσης αποτελούνταν από μονιμοποιημένους σε φορμόλη 10% και εγκιβωτισμένους σε παραφίνη ιστούς με διάγνωση καρκίνου του μαστού [292] [290] [351] [352]. Η δεύτερη ομάδα θετικών μαρτύρων αποτελούνταν από μονιμοποιημένους σε φορμόλη 10% και εγκιβωτισμένους σε παραφίνη ιστούς από βιοψίες του δωδεκαδακτύλου με διάγνωση κοιλιοκάκης κατηγορίας IIIA-IIIIC κατά Marsh [353] [354]. Η δεύτερη ομάδα θετικών μαρτύρων επιλέχθηκε ώστε να χρησιμοποιηθεί επιθηλιακός ιστός παρόμοιας σκληρότητας με το δείγμα των LCH και έτσι να μπορέσει να εφαρμοστεί η ίδια ακριβώς τεχνική χρώσης ανοσοϊστοχημικά.

Τους αρνητικούς μάρτυρες της παρούσας μελέτης αποτέλεσαν ιστοί μονιμοποιημένοι σε φορμόλη 10% και εγκιβωτισμένοι σε παραφίνη με διάγνωση τραυματικού ινώματος. Χρώση κυττάρων στο επιθήλιο, θεωρήθηκε φυσιολογική χρώση κυττάρων Langerhans. Τα δείγματα προήλθαν από το ιστοπαθολογικό αρχείο του Εργαστηρίου Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και αφορούσαν τη χρονική περίοδο 2014-2017.

5.4 Κλινικά Χαρακτηριστικά

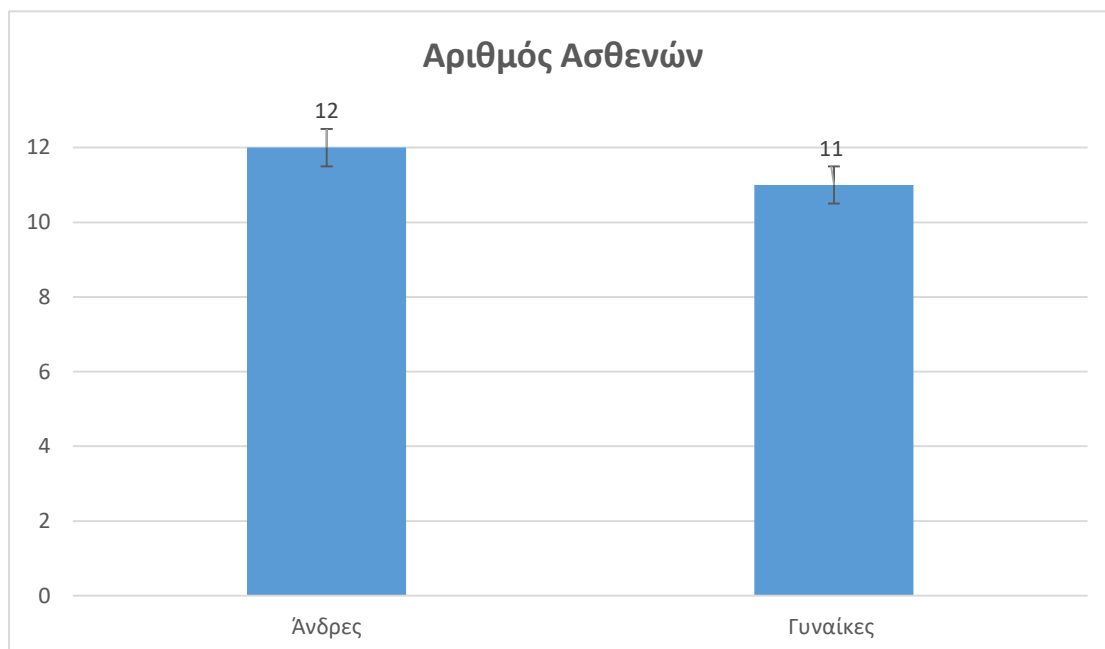
Το υλικό αποτέλεσαν 23 ασθενείς, 12 άνδρες και 11 γυναίκες (για έναν ασθενή το αρχειακό υλικό δεν επαρκούσε για να γίνει η μελέτη). Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στους **Πίνακες Πίνακας 14** και **Πίνακας 15**.

Χαρακτηριστικό	N (%)
Φύλο	
Άνδρας	12 (52,2%)
Γυναίκα	11 (47,8%)
Ηλικία (σε έτη)^{α/β}	35,0 (19,4) / 32,0 (25,0)

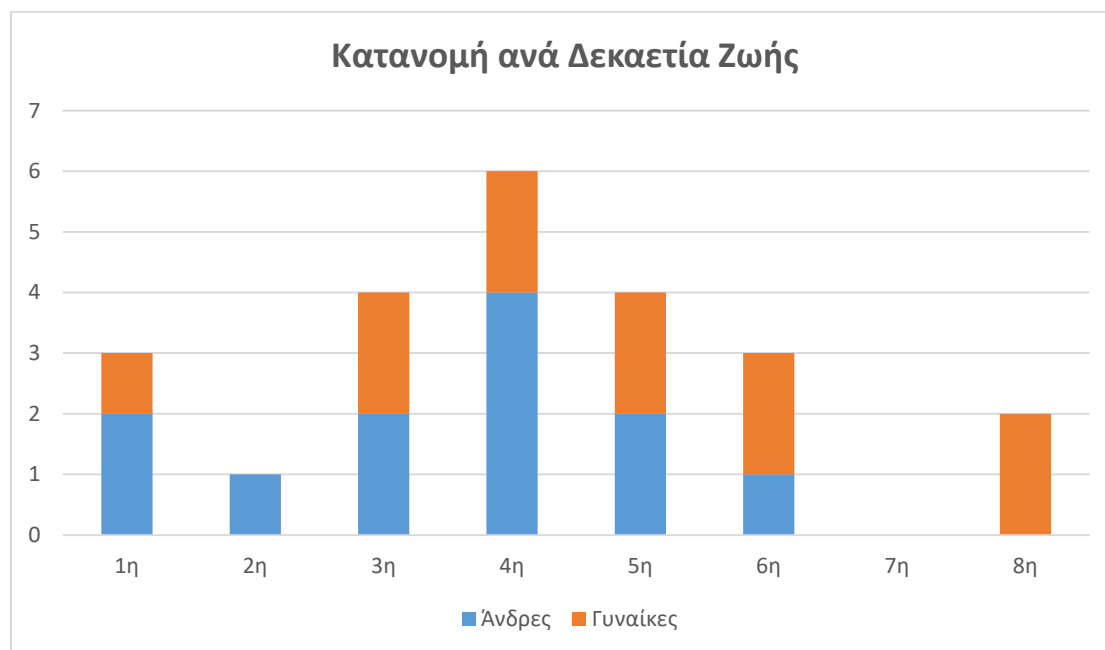
Πίνακας 14. Δημογραφικά χαρακτηριστικά δείγματος. [Οι τιμές εκφράζονται ως n (%) εκτός και εάν δηλώνεται διαφορετικά, ^{α/β} Μέση τιμή (τυπική απόκλιση) / Διάμεσος (ενδοτεταρτημοριακό εύρος)]

Ο μέσος όρος ηλικίας τους ήταν τα 35 έτη (SD=19,4), ενώ 4 ασθενείς ήταν κάτω των 18 ετών: ένα νεογνό 10 μηνών θήλυ, 2 αγόρια 8 και 9 ετών και ένας έφηβος 15 ετών. Ο μέσος όρος ηλικίας αυστηρά για τους ενήλικες είναι τα 40,5 έτη. Στον

Πίνακας 16 φαίνεται η συχνότητα ανά φύλο που παρουσιάζει το δείγμα της μελέτης ανά δεκαετία ζωής. Δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανομή της νόσου ως προς αυτές τις παραμέτρους.



Πίνακας 15. Η κατανομή του δείγματος στα φύλα.

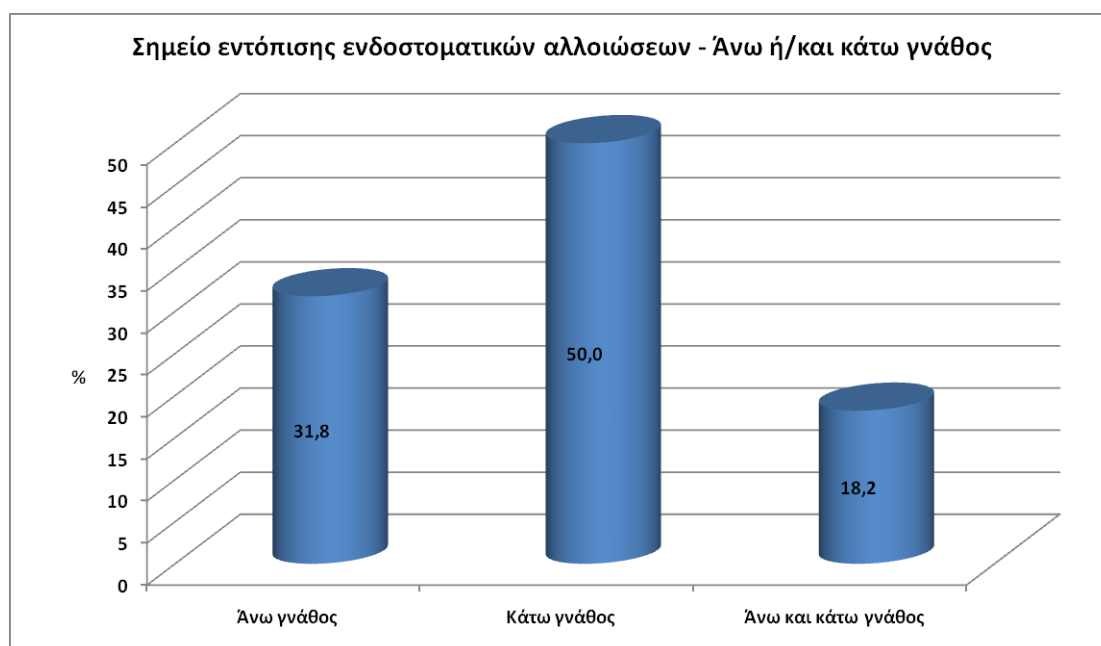


Πίνακας 16. Κατανομή της LCH ανά δεκαετία ζωής και ανά φύλο στο δείγμα της μελέτης.

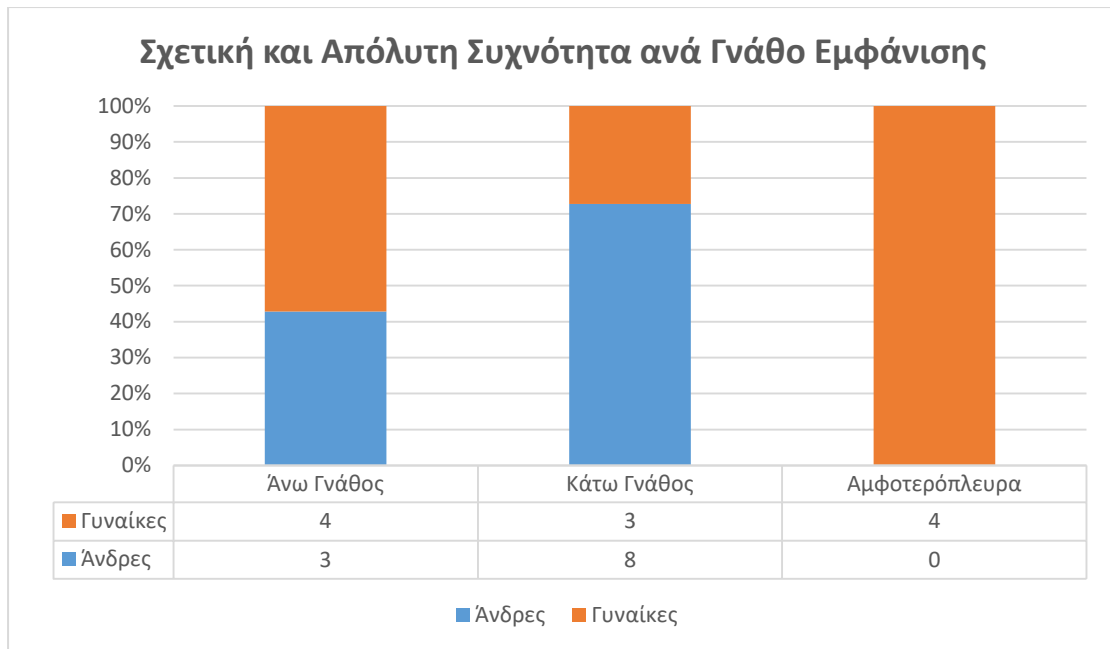
Από τις 23 περιπτώσεις, για τις 22 υπήρχαν δεδομένα που αφορούσαν την εντόπιση της νόσου. Για το 50% των συμμετεχόντων ασθενών στη μελέτη το σημείο εντόπισης των ενδοστοματικών αλλοιώσεων ήταν η κάτω γνάθος, για το 31,8% το σημείο εντόπισης των ενδοστοματικών αλλοιώσεων ήταν η άνω γνάθος και για το 18,2% το σημείο εντόπισης των ενδοστοματικών αλλοιώσεων ήταν η άνω και κάτω γνάθος (Πίνακας 17 και Εικόνα 9). Ως προς την εντόπιση στην άνω ή την κάτω γνάθο δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p=0,28$) όπως φαίνεται και στον Πίνακα 18.

Χαρακτηριστικό	N (%)
Εντόπιση ενδοστοματικών αλλοιώσεων - Άνω ή/και Κάτω γνάθος	
Άνω γνάθος	7 (31,8%)
Κάτω γνάθος	11 (50,0%)
Άνω και κάτω γνάθος	4 (18,2%)
Εντόπιση ενδοστοματικών αλλοιώσεων – Οπίσθια ή/και πρόσθια θέση	
Οπίσθια γνάθος	16 (72,7%)
Πρόσθια γνάθος	2 (9,1%)
Οπίσθια και πρόσθια γνάθος	4 (18,2%)

Πίνακας 17. Δεδομένα εντόπισης LCH σε άνω και κάτω γνάθος καθώς και σε πρόσθια και οπίσθια θέση στο δείγμα. Οι τιμές εκφράζονται ως η (%).

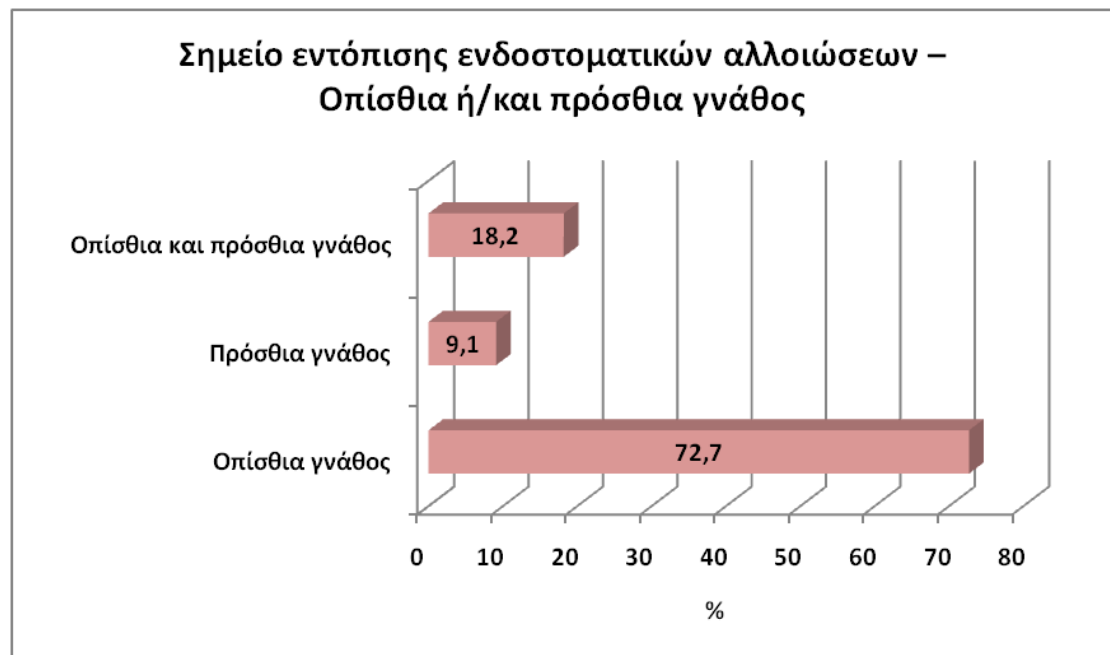


Εικόνα 9. Σχετική κατανομή της εντόπισης της LCH στην άνω ή/και την κάτω γνάθο.



Πίνακας 18. Σχετική και Απόλυτη Συχνότητα της LCH ανά γνάθο εμφάνισης και ανά φύλο στο δείγμα της μελέτης.

Σχετικά με την εντόπιση σε πρόσθια ή οπίσθια θέση προέκυψαν τα παρακάτω δεδομένα: Για το 72,7% των συμμετεχόντων ασθενών στη μελέτη η θέση εντόπισης των ενδοστοματικών αλλοιώσεων ήταν οπίσθια, για το 18,2% η θέση εντόπισης των ενδοστοματικών αλλοιώσεων ήταν πρόσθια και οπίσθια ταυτόχρονα και για το 9,1% η θέση εντόπισης των ενδοστοματικών αλλοιώσεων ήταν πρόσθια (**Πίνακας 17** και **Εικόνα 10**).



Εικόνα 10. Σχετική κατανομή της εντόπισης της LCH σε πρόσθια ή/και οπίσθια θέση στο δείγμα.

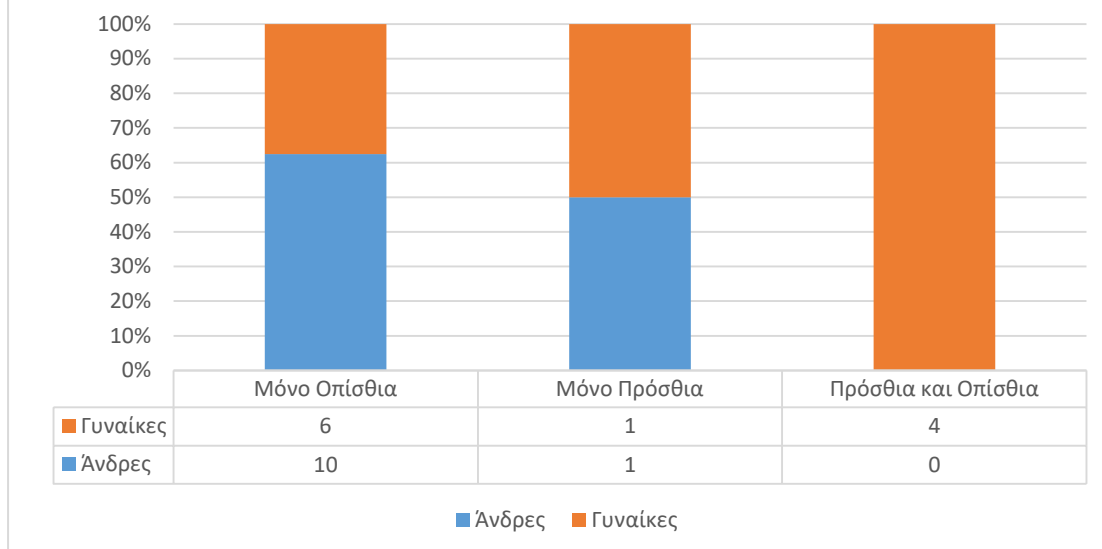
Προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο φύλο και το σημείο εντόπισης των ενδοστοματικών αλλοιώσεων στο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 0,05 ($p=0,033$). Πιο συγκεκριμένα, από το σύνολο των ανδρών ($n=11$) το 90,9% είχε συχνότερη εντόπιση οπίσθια, ενώ από το σύνολο των γυναικών ($n=11$) το 54,5% είχε συχνότερη εντόπιση οπίσθια και το 36,4% οπίσθια και πρόσθια. (Πίνακας 19 και Πίνακας 20).

Χαρακτηριστικό	Φύλο		Τιμή p
	Άρρεν	Θήλυ	
Σημείο εντόπισης ενδοστοματικών αλλοιώσεων – Οπίσθια ή/και πρόσθια γνάθος			0,033^α
Οπίσθια	10 (90,9%)	6 (54,5%)	
Πρόσθια	1 (9,1%)	1 (9,1%)	
Οπίσθια και πρόσθια	0 (0,0%)	4 (36,4%)	

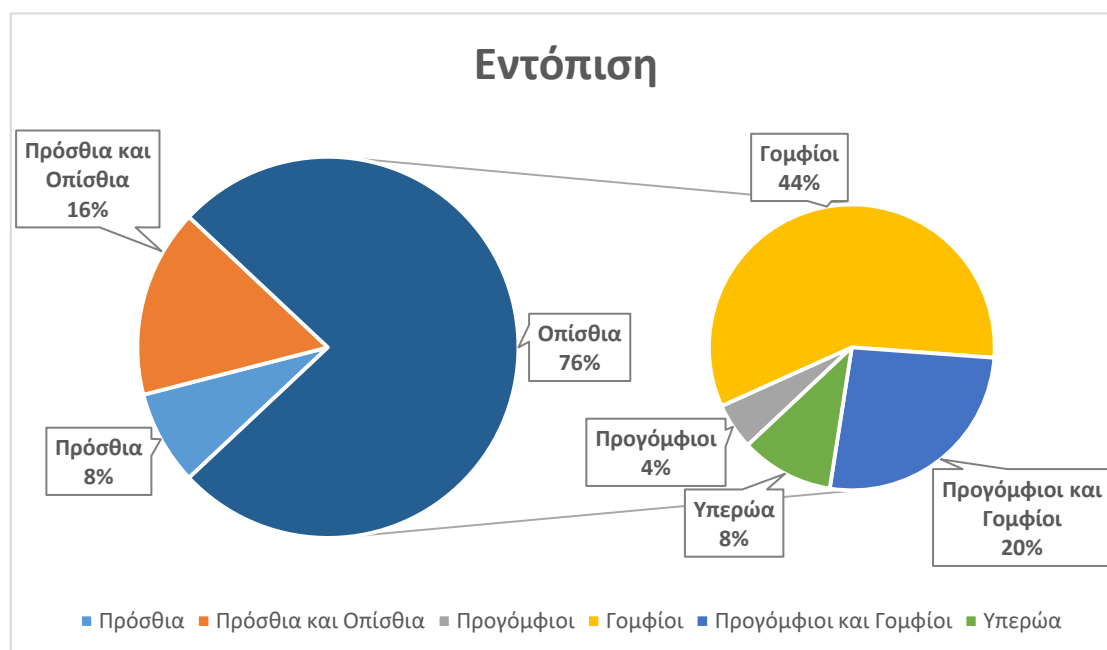
Πίνακας 19. Σχέση φύλου και θέσης εντόπισης (πρόσθια ή/και οπίσθια) της LCH στο δείγμα.
^α Έλεγχος χ^2 .

Αξίζει να σημειωθεί ότι μεταξύ των οπίσθιων εντοπίσεων 16 περιστατικά συμπεριλάμβαναν την περιοχή των γομφίων και 6 τους προγομφίους. Πιο συγκεκριμένα 1 μόνο περιστατικό αφορούσε αποκλειστικά την περιοχή των προγομφίων, 5 συνδύαζαν βλάβες σε γομφίους και προγομφίους και 11 αφορούσαν αποκλειστικά σε γομφίους. Δύο περιπτώσεις που δεν εντοπίζονταν σε δόντια, αφορούσαν στο οστό της υπερώας προς τη μέση γραμμή κοντά στο όριο σκληρής και μαλθακής υπερώας ή πιο δεξιά αντιστοίχως. Αρκετά κατατοπιστική για τις κατανομές είναι η **Εικόνα 11**.

Σχετική και Απόλυτη Συχνότητα Εντόπισης



Πίνακας 20. Σχετική και Απόλυτη συχνότητα εμφάνισης της νόσου σε πρόσθια και οπίσθια θέση ως προς τα δύο φύλα με απόλυτο τρόπο. Η κατηγοριοποίηση αυτή, λαμβάνει υπόψιν τον κάθε ασθενή μόνο μία φορά, σύμφωνα με το κριτήριο που περιγράφει βέλτιστα την περίπτωση του.

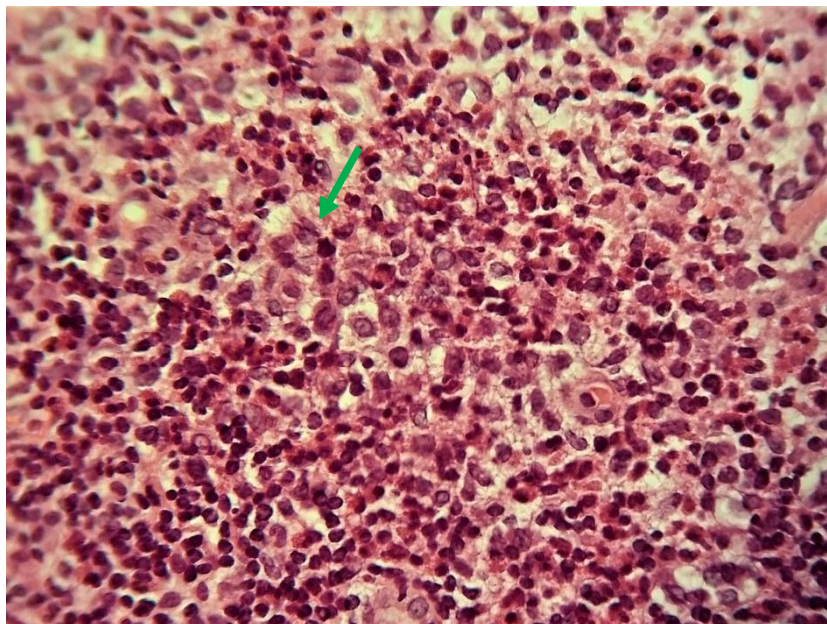


Εικόνα 11. Κατανομή με σχετικές συχνότητες των εντοπίσεων της Νόσου κυττάρων Langerhans ως προς το πρόσθιο και το οπίσθιο ημιμόριο της στοματικής κοιλότητας.

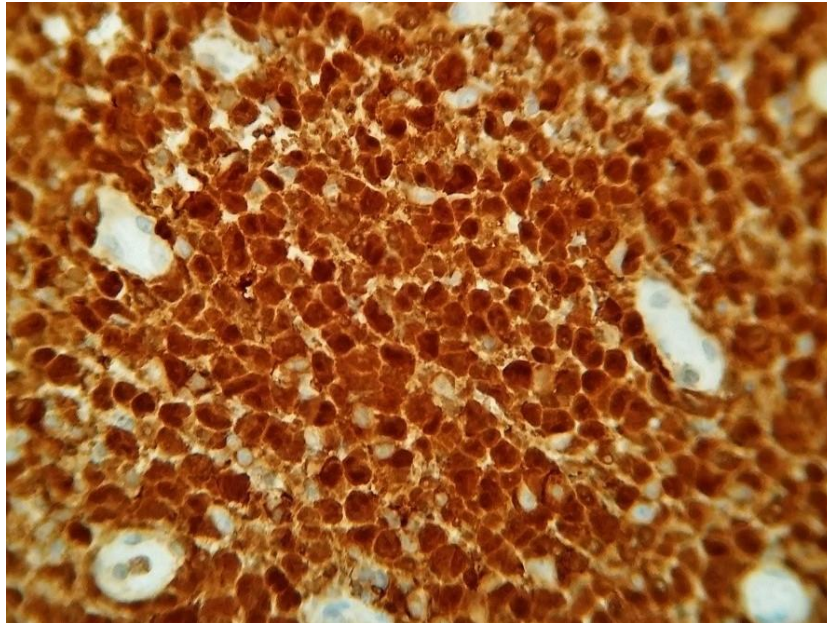
5.5 Ιστολογική Εικόνα - Ειδικές Χρώσεις

Η ιστολογική εξέταση έγινε σε τομές 5μm βαμμένες με αιματοξυλίνη-ηωσίνη (H&E) από δύο εξεταστές (Π.Κ. και Ε.Χ.) με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου. Εξετάστηκαν όλα τα ιστοτεμάχια ανά περιστατικό και εντοπίστηκαν οι πιο χαρακτηριστικές περιοχές. Οι ειδικές χρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν για S-100, CD1a και IDO1. Για όσα περιστατικά υπήρχε ήδη αρχαιακό υλικό χρώσης με S-100 ή CD1a, αυτό χρησιμοποιήθηκε ως είχε, ενώ για τα περιστατικά που δεν είχε γίνει ή δεν βρέθηκε ειδική χρώση, αυτή έγινε εκ νέου προς επιβεβαίωση της διάγνωσης.

Το ιστολογικό εύρημα σε όλες τις περιπτώσεις ήταν ιστοτεμάχια στοματικού βλεννογόνου το χόριο των οποίων εμφάνιζε αθροίσεις πολυάριθμων κυττάρων με ευμεγέθεις πυρήνες, μερικοί εκ των οποίων περιείχαν εντομές δίκην «κόκκου καφέ», ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα, ασαφές κυτταρικό περίβλημα (**Εικόνα 12**) και εμφάνιζαν έντονη ανοσοϊστοχημική θετικότητα για τους δείκτες S-100 και CD1a (**Εικόνα 13** και **Εικόνα 14**). Επίσης παρατηρούνταν διάχυτη ήπια έως έντονου βαθμού φλεγμονώδη διήθηση χρόνιου τύπου με διάσπαρτα ηωσινόφιλα κύτταρα.



Εικόνα 12. Ιστολογική εικόνα ενός περιστατικού LCH, όπου φαίνονται αθροίσεις κυττάρων με ευμεγέθεις πυρήνες, μερικοί εκ των οποίων έχουν εντομές δίκην «κόκκου καφέ» (βέλος) και φλεγμονώδης διήθηση χρόνιου τύπου με πολυάριθμα διάσπαρτα ηωσινόφιλα (H&E, x400)



Εικόνα 13. Χρώση για S-100 πρωτεΐνη, έντονα θετική για περιστατικό LCH, όπου παρατηρείται κυτταροπλασματική και πυρηνική θετική χρώση (x4 00)



Εικόνα 14. Χρώση για CD1a σε περιστατικό LCH, έντονα θετική μεμβρανική χρώση (x400)

5.6 Ανοσοϊστοχημεία

Για την ανοσοϊστοχημεία έγιναν νέες τομές από εγκιβωτισμένους σε παραφίνη ιστούς στο αρχείο του εργαστηρίου της Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Οι εγκιβωτισμένοι ιστοί κόπηκαν εκ νέου σε τομές πάχους 4-5μm σε χειροκίνητο μικροτόμο. Οι τομές τοποθετήθηκαν σε υδατικό μπάνιο στους 62°C για 1 λεπτό και ύστερα τοποθετήθηκαν σε θετικά φορτισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες, ώστε να αποφευχθεί η αποκόλληση των ιστών κατά την περαιτέρω επεξεργασία τους.

Τέλος, οι ιστοί επώαστηκαν για 1 ώρα στους 64°C για την καλύτερη προσκόλληση των ιστών. Η ανοσοϊστοχημεία έγινε για το αντίσωμα για το IDO. Τα χαρακτηριστικά του αντισώματος φαίνονται στον **Πίνακας 21**.

Αντίσωμα	IDO/IDO1
Τύπος αντισώματος	Μονοκλωνικό
Ξενιστής	Μυς
Αραίωση	1/400
Ανάκτηση αντιγόνων	EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution
Ισότυπος	IgG1
Πηγή	Origene Technologies Inc
Όνομα κλώνου	OT12G4
Αριθμός καταλόγου	TA506367

Πίνακας 21. Χαρακτηριστικά αντισώματος που χρησιμοποιήθηκε

5.6.1 Αποπαραφίνωση κι Ενουδάτωση

Η ανοσοϊστοχημεία για το IDO1 έγινε σε τομές παραφίνης 4-5μm μετά από κλιβανισμό στους 37°C για 24 ώρες. Ακολούθησε κλιβανισμός στους 60°C για 30 λεπτά. Οι ιστοί αποπαραφινώθηκαν σε ξυλόλη σε 2 κύκλους των 5 λεπτών. Η ενουδάτωση έγινε σε διάλυμα αλκοόλης σε κύκλους των 5 λεπτών: 2 φορές σε διάλυμα 100°, κατόπιν 2 φορές στους 96°, 1 φορά στους 80° και τέλος σε 70° αλκοόλης. Έπειτα έγινε ξέπλυμα με νερό βρύσης για 5 λεπτά και με απεσταγμένο νερό για 2 φορές από 5 λεπτά.

5.6.2 Ανάκτηση Αντιγόνων

Οι τομές τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία με διάλυμα κιτρικού οξέος με pH=6 (*EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, DAKO, Agilent Technologies, USA*) και μπήκαν σε φούρνο μικροκυμάτων για 30 λεπτά. Αφού αφέθηκαν να κρυώσουν σε θερμοκρασία δωματίου για άλλα 30 λεπτά έγινε έκπλυση με TBS (*Tris-buffered saline*) (*EnVision™ FLEX Wash Buffer, DAKO, Agilent Technologies, USA*), 2 φορές από 5 λεπτά.

5.6.3 Αναστολή Ενδογενούς Υπεροξειδάσης

Ακολούθησε η αναστολή της ενδογενούς υπεροξειδάσης με διάλυμα H₂O₂ 3% για 20 λεπτά και ξέπλυμα με απεσταγμένο νερό 2 φορές για 5 λεπτά και κατόπιν ξέπλυμα με TBS (*EnVision™ FLEX Wash Buffer, DAKO, Agilent Technologies, USA*) 2 φορές για 5 λεπτά.

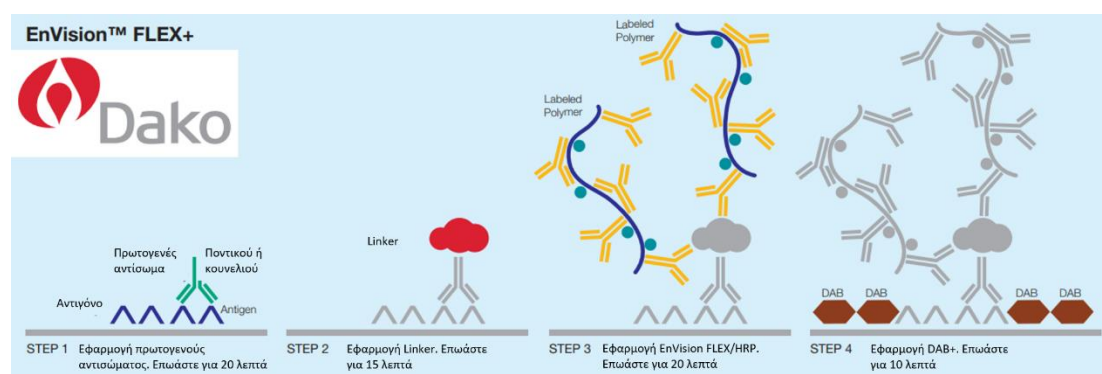
5.6.4 Ανοσοϊστοχημική Χρώση

Το αντίσωμα (*IDO1 mouse monoclonal antibody, clone OT12G4, OriGene Technologies Inc, Rockville, USA*) διαλύθηκε σε συγκεκριμένο ρυθμιστικό διάλυμα (*EnVision™ FLEX Antibody Diluent, DAKO, Agilent Technologies, USA*) και οι ιστοί επώαστηκαν σε αραιώση 1:400 στο ψυγείο στους 4°C για 24 ώρες. Την επομένη, μετά

από ξέπλυμα με TBS (*EnVision™ FLEX Wash Buffer, DAKO, Agilent Technologies, USA*) για 2 φορές από 5 λεπτά, επώαστηκαν σε έτοιμο προς χρήση διάλυμα, που περιείχε μία σταθεροποιητική πρωτεΐνη και αντιμικροβιακό παράγοντα *EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER), DAKO, K8021, Agilent Technologies, USA* για 30 λεπτά. Έπειτα ξεπλύθηκαν πάλι από 2 φορές επί 5 λεπτά με TBS (*EnVision™ FLEX Wash Buffer, DAKO, Agilent Technologies, USA*).

Οι ιστοί μετά επώαστηκαν για 30 λεπτά με *EnVision Flex+ [DAKO, K5007, Agilent Technologies, USA]* για 30 λεπτά και ακολούθησε νέο ξέπλυμα με TBS (*EnVision™ FLEX Wash Buffer, DAKO, Agilent Technologies, USA*) 2 φορές επί 5 λεπτά.

Στη συνέχεια οι τομές απώαστηκαν στο κατάλληλο διάλυμα DAB (1-2 σταγόνες *EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen (DM827) διαλυμένες σε 100ml EnVision™ FLEX Substrate Buffer (DM823), DAKO, Agilent Technologies, USA*) για 5 λεπτά. Ακολούθησε ξέπλυμα με TBS (*EnVision™ FLEX Wash Buffer, DAKO, Agilent Technologies, USA*) 2 φορές από 5 λεπτά (**Εικόνα 15**). Έπειτα, έγινε αντίχρωση με Hematoxylin Harris για 2 λεπτά και ξέπλυμα με TBS (*EnVision™ FLEX Wash Buffer, DAKO, Agilent Technologies, USA*) 2 φορές για 5 λεπτά.



Εικόνα 15. Ανοσοϊστοχημεία.

5.6.5 Αφυδάτωση και Κάλυψη

Τέλος οι ιστοί αφυδατώθηκαν σε διάλυμα αλκοόλης σε κύκλους των 5 λεπτών αρχικά σε διάλυμα 70°, έπειτα σε 80°, 2 φορές στους 96° και δύο φορές στους 100° αλκοόλης, εμβαπτίστηκαν σε ξυλόλη 2 φορές για 5 λεπτά και επιστρώθηκαν με DPX.

5.7 Αξιολόγηση χρώσης

Η αξιολόγηση της χρώσης αιματοξυλίνης-ηωσίνης είχε διπλό στόχο. Αφενός την **επιβεβαίωση της διάγνωσης** για να συμπεριληφθεί το κάθε περιστατικό στο δείγμα της έρευνας. Αφετέρου εντοπίστηκε η **πλέον χαρακτηριστική θέση διήθησης από LCs**. Αντίστοιχη ήταν και η αξιολόγηση των S-100 και CD1a, επικουρικά προς τη διάγνωση και την χρώση των LCs στα ιστολογικά παρασκευάσματα.

Η αξιολόγηση της χρώσης για το IDO1 έγινε στις χαρακτηριστικές για LCH περιοχές των τομών, εκεί όπου βρίσκονταν τα χαρακτηριστικά για τη νόσο LCs. Για

κάθε περιστατικό **5 πεδία μεγάλης μεγέθυνσης (x400)** στις χαρακτηριστικές για τη νόσο θέσεις αξιολογήθηκαν ως προς δύο παράγοντες: τον παράγοντα της έντασης της χρώσης και τον παράγοντα της έκτασης. Η αξιολόγηση έγινε από δύο ερευνητές (Π.Κ. και Ε.Χ.) με βάση το πρωτόκολλο των Yang και συν. [355] κατά το οποίο υπολογίζεται το **άθροισμα** της τιμής της **έντασης** και της τιμής της **έκτασης** της ανοσοϊστοχημικής χρώσης. Όσον αφορά στον παράγοντα της έκτασης, το προς εξέταση πεδίο λάμβανε τιμή 0 όταν κανένα κύτταρο δεν είχε χρωσθεί, τιμή 1 όταν η χρώση καταλάμβανε έκταση μικρότερη του 25% του πεδίου, τιμή 2 όταν η έκταση ήταν μεταξύ του 25-50% του πεδίου και τιμή 3 όταν επεκτεινόταν πέραν του μισού του εξεταζόμενου πεδίου. Προς αξιολόγηση ήταν όλα τα θετικά χρωσμένα κύτταρα ανά πεδίο που αξιολογούνταν, πλην των ενδοθηλίων. Ως προς τον παράγοντα έντασης, κάθε πεδίο λάμβανε τιμή 0 αν δεν παρατηρούνταν καθόλου χρώση, τιμή 1 αν παρατηρούνταν ήπια χρώση, τιμή 2 αν η χρώση ήταν μέτρια και τιμή 3 αν ήταν έντονη.

Ο μέσος όρος από τα 5 πεδία υπολογίστηκε για το κάθε παρασκεύασμα ως προς τους δύο αυτούς παράγοντες, κι έτσι προέκυψε μία τιμή έντασης και μία τιμή έκτασης για το κάθε περιστατικό. Οι τιμές αυτές προστέθηκαν και έτσι προέκυψε το τελικό score για το κάθε περιστατικό. Έτσι, κάθε περιστατικό θεωρήθηκε IDO- για τελικό score 0, IDO+ για score 1 ή 2, IDO2+ για score 3 ή 4 και IDO3+ για score 5 ή 6. **Για τελικό score > 2, δηλαδή τα περιστατικά IDO2+ και IDO3+ θεωρήθηκαν θετικά για την έκφραση IDO.**

5.8 Στατιστική Ανάλυση

Οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες (n) και σχετικές (%) συχνότητες, ενώ οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή (τυπική απόκλιση, SD) ή ως διάμεσος (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, IR). Ο έλεγχος των Kolmogorov-Smirnov και τα διαγράμματα κανονικότητας χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο της κανονικής κατανομής των ποσοτικών μεταβλητών.

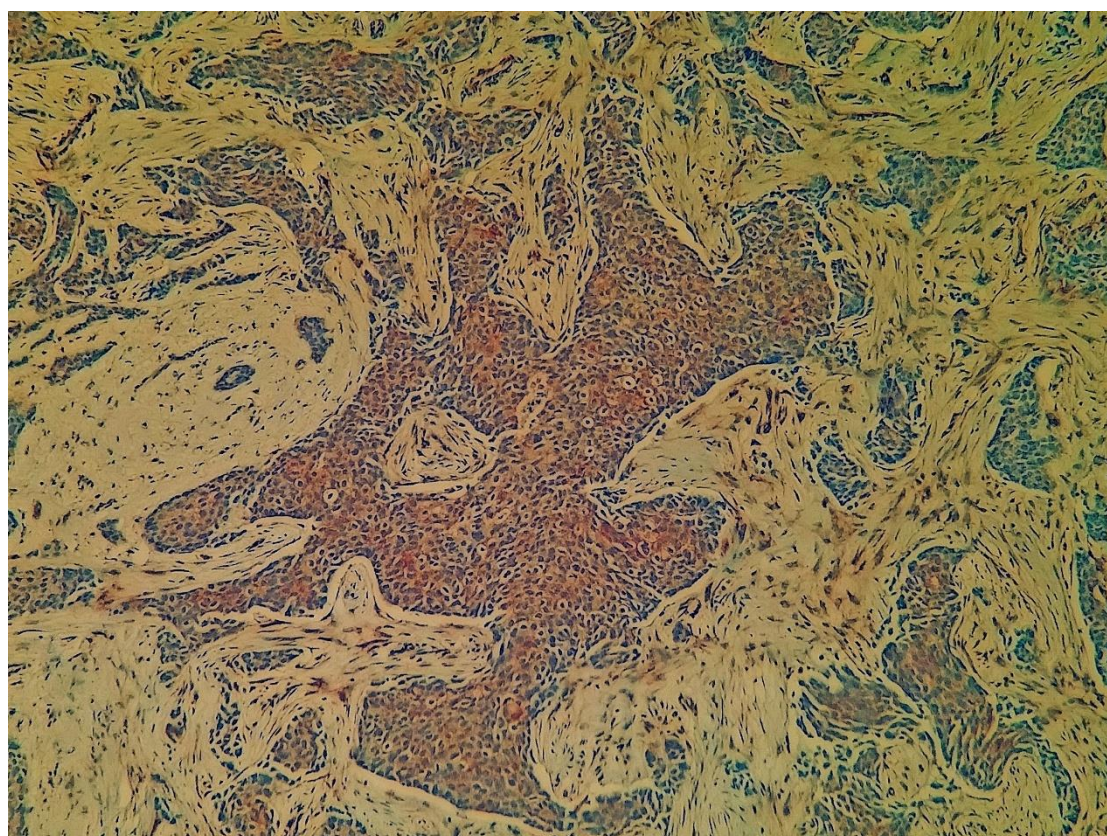
Για τη διερεύνηση της ύπαρξης σχέσης μεταξύ δυο κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος χ^2 (chi-square test). Για τη διερεύνηση της ύπαρξης σχέσης μεταξύ μιας ποσοτικής μεταβλητής και μιας διχοτόμου μεταβλητής χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος t (student's t -test). Για τη διερεύνηση της ύπαρξης σχέσης μεταξύ μιας ποσοτικής μεταβλητής και μιας κατηγορικής μεταβλητής χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διασποράς (analysis of variance). Για τη διερεύνηση της ύπαρξης σχέσης μεταξύ μια ποσοτικής μεταβλητής και μιας διατάξιμης μεταβλητής χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (Spearman's correlation coefficient).

Το αμφίπλευρο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ίσο με 0,05. Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο για τις κοινωνικές επιστήμες IBM SPSS 21.0 (Statistical Package for Social Sciences).

6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

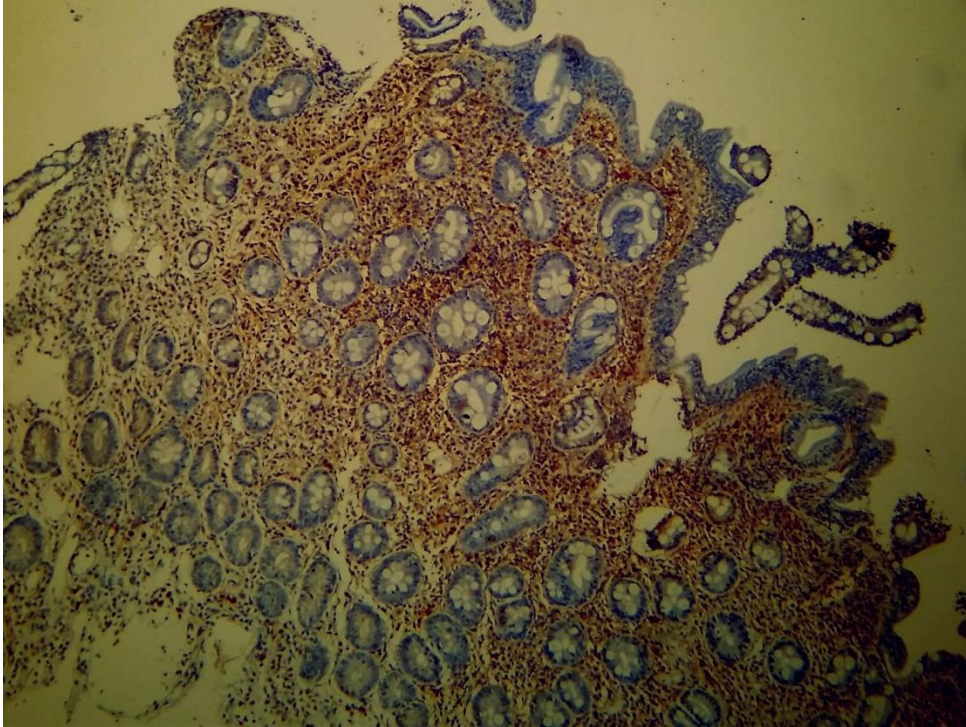
6.1 Μάρτυρες

Η ανοσοϊστοχημική χρώση για το IDO επιβεβαιώθηκε αρχικά σε καρκίνο του μαστού. Παρατηρήθηκε κυτταροπλασματική ή και πυρηνική χρώση των κυττάρων του όγκου στις νεοπλασματικές βλάστες. Χρωσμένα κύτταρα παρατηρήθηκαν και στο στρώμα του όγκου, κάποια από τα οποία είχαν μορφολογικά χαρακτηριστικά που έμοιαζαν με δενδριτικά κύτταρα. Επίσης, χρωσμένα φάνηκαν και μερικά ενδοθηλιακά κύτταρα στα τριχοειδή αγγεία του στρώματος (**Εικόνα 16**).

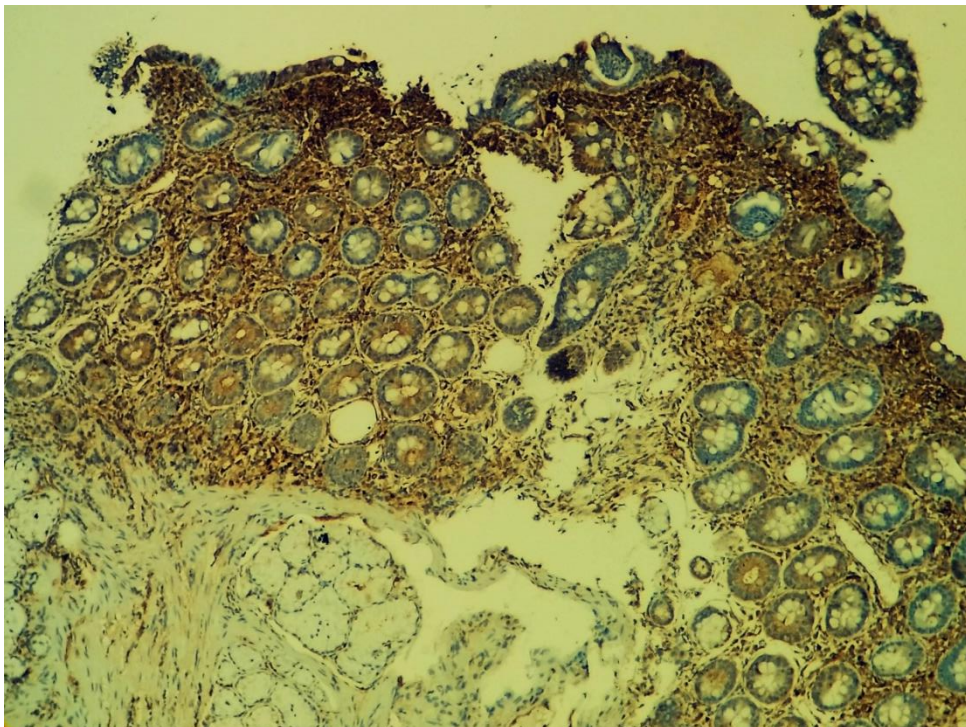


Εικόνα 16. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO σε καρκίνο των μαστών. Χρώση καρκινικών κυττάρων στις βλάστες και κυττάρων στο υπόστρωμα. Κυτταροπλασματική και (λιγότερο) πυρηνική χρώση (x100).

Η ανοσοϊστοχημική χρώση για το IDO επιβεβαιώθηκε έπειτα σε δείγματα κοιλιοκάκης. Δύο δείγματα χρησιμοποιήθηκαν, το ένα ταξινόμησης IIIa και το άλλο IIIc κατά Marsh με διαφορετικού βαθμού ατροφία. Και στα δύο παρατηρήθηκε θετική χρώση κυττάρων στο χόριο με μορφολογικά χαρακτηριστικά μονοκυττάρων ή δενδριτικών κυττάρων και η χρώση ήταν ως επί το πλείστον κυτταροπλασματική. Λιγότερα κύτταρα ήταν θετικά στο επιθήλιο των βλαβών (**Εικόνα 17** και **Εικόνα 18**).

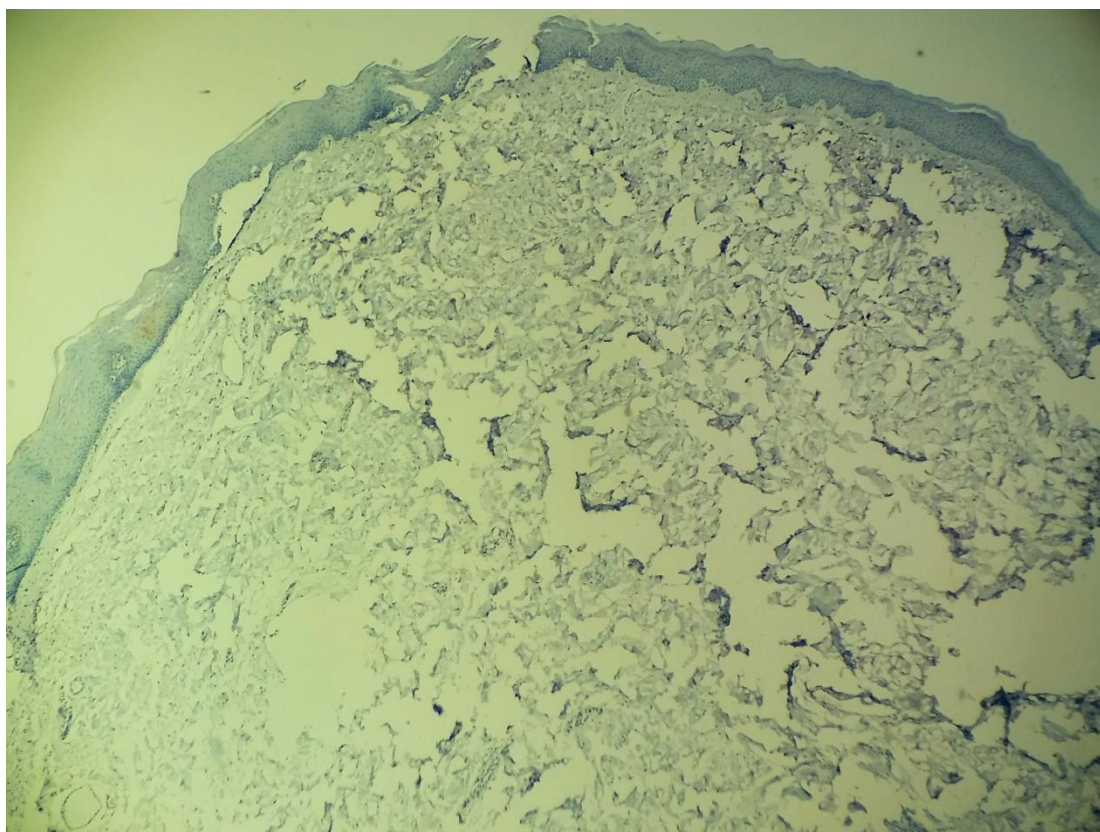


Εικόνα 17. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO σε κοιλιοκάκη IIIa κατά Marsh. Έντονη κι εκτεταμένη χρώση κυττάρων στο χόριο και λιγότερο στο επιθήλιο (x100).



Εικόνα 18. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO σε κοιλιοκάκη IIIc κατά Marsh. Έντονη κι εκτεταμένη χρώση κυττάρων στο χόριο και λιγότερο στο επιθήλιο (x100).

Τέλος, η ανοσοϊστοχημική χρώση για το IDO εφαρμόστηκε σε ιστό με ιστολογική διάγνωση τραυματικού ινώματος. Η χρώση ήταν αρνητική, πλην ελαχίστων κυττάρων στο επιθήλιο (Εικόνα 19).



Εικόνα 19. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO σε τραυματικό ίνωμα. Αρνητική (x40).

6.2 Δείγμα

Τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημικής χρώσης για το IDO φαίνονται στον **Πίνακα 22**. Δώδεκα περιπτώσεις είχαν τελικό score 6, 8 περιπτώσεις είχαν τελικό score 5 και 3 περιπτώσεις είχαν τελικό score 4, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 23**.

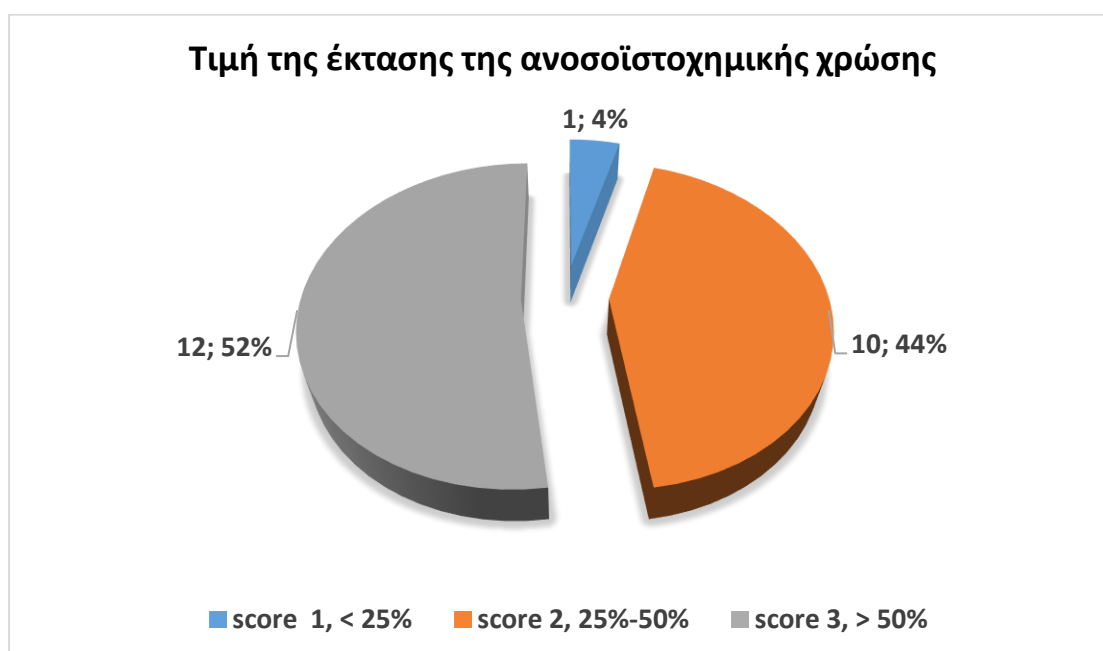
Ποσοστιαία, τα αποτελέσματα ήταν 13% με τελικό score 4, 35% με τελικό score 5 και 52% με τελικό score 6. Ως εκ τούτου στη τελική αξιολόγηση, 3 περιστατικά ήταν IDO 2+ και 20 IDO 3+, δηλαδή 13% και 87% αντίστοιχα, ενώ **όλα τα περιστατικά είχαν τελικό score μεγαλύτερο από 2 και έτσι θεωρήθηκαν θετικά για την έκφραση IDO**.

Χαρακτηριστικό	N (%)
Τιμή της έντασης των χρωσμένων κυττάρων	
Score 2, μέτρια	2 (8,7%)
Score 3, έντονη	21 (91,3%)
Τιμή της έκτασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης	
Score 1, < 25%	1 (4,3%)
Score 2, 25-50%	10 (43,5%)
Score 3, >50%	12 (52,2%)

Τελικό score της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του IDO (άθροισμα των τιμών της έκτασης και της έντασης της χρώσης)	
Score 4, IDO 2+	3 (13,0%)
Score 5, > IDO 3+	8 (34,8%)
Score 6, > IDO 3+	12 (52,2%)
Θετικό για την έκφραση IDO	
Όχι (Score <2, IDO- και IDO+)	0 (0,0%)
Ναι (Score >2, IDO 2+ και IDO 3+)	23 (100,0%)

Πίνακας 22. Αποτελέσματα ανοσοϊστοχημικής χρώσης με IDO.

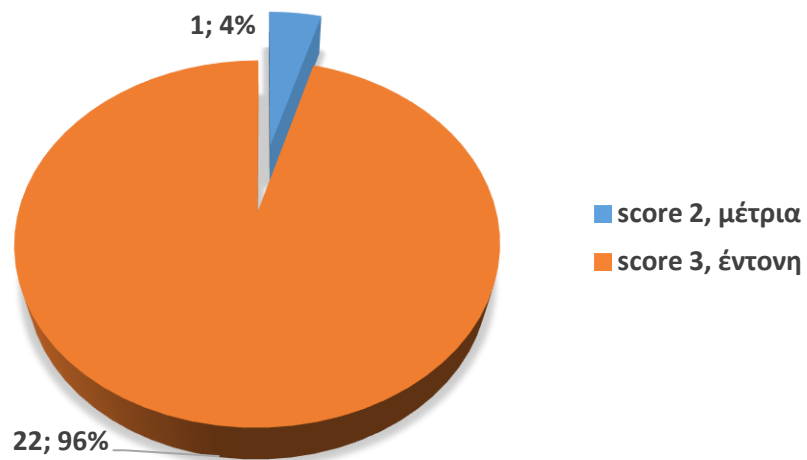
Η **έκταση** της χρώσης στα περισσότερα πεδία έλαβε βαθμό 3. Πιο συγκεκριμένα, για το 52,2% των συμμετεχόντων ασθενών στη μελέτη, η τιμή της έκτασης των χρωσμένων κυττάρων ήταν 3 (>50%), για το 43,5% η τιμή της έκτασης των χρωσμένων κυττάρων ήταν 2 (25%-50%) και για το 4,3% η τιμή της έκτασης των χρωσμένων κυττάρων ήταν 1 (<25%) (**Εικόνα 20**). Σε κανένα δείγμα δεν υπήρξε μηδενική έκταση χρώσης, πλην του αρνητικού μάρτυρα.



Εικόνα 20. Σχετική και απόλυτη τιμή της έκτασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης του IDO.

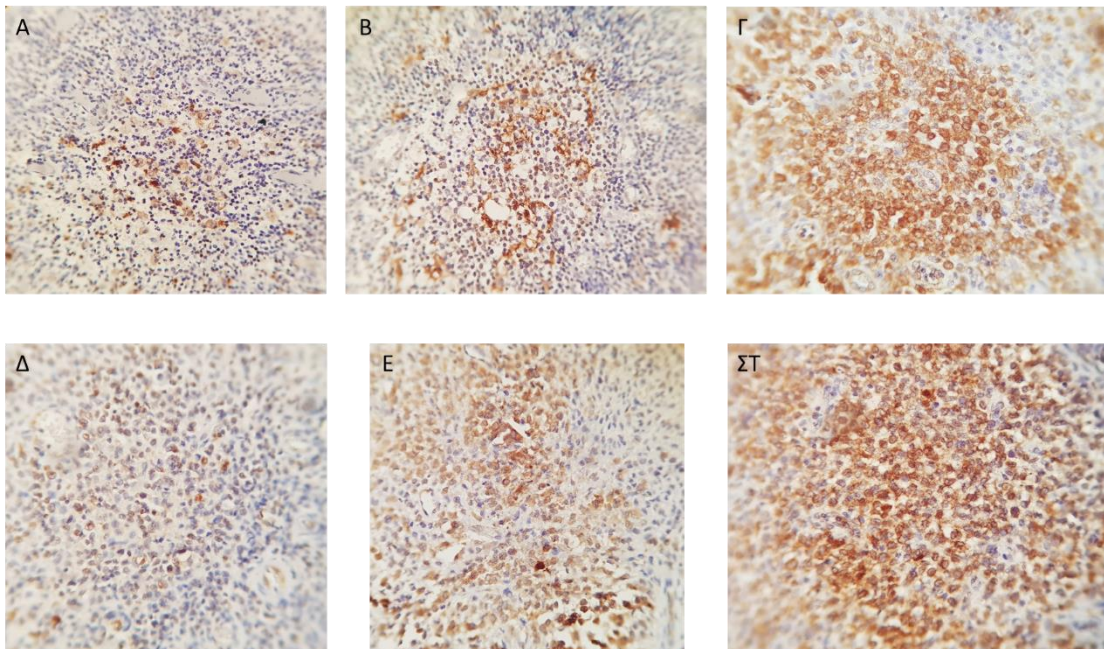
Η **ένταση** της χρώσης στα περισσότερα πεδία ήταν άνω του 50%. Πιο συγκεκριμένα, για το 91,3% των συμμετεχόντων ασθενών στη μελέτη η τιμή της έντασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης ήταν 3 (έντονη) και για το υπόλοιπο 8,7% η τιμή της έντασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης ήταν 2 (μέτρια) (**Εικόνα 21**). Δεν υπήρξε κανένα δείγμα με ήπια ή μηδενική ένταση χρώσης, πλην του αρνητικού μάρτυρα.

Τιμή έντασης ανοσοϊστοχημικής χρώσης



Εικόνα 21. Σχετική και απόλυτη τιμή της έντασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης του IDO.

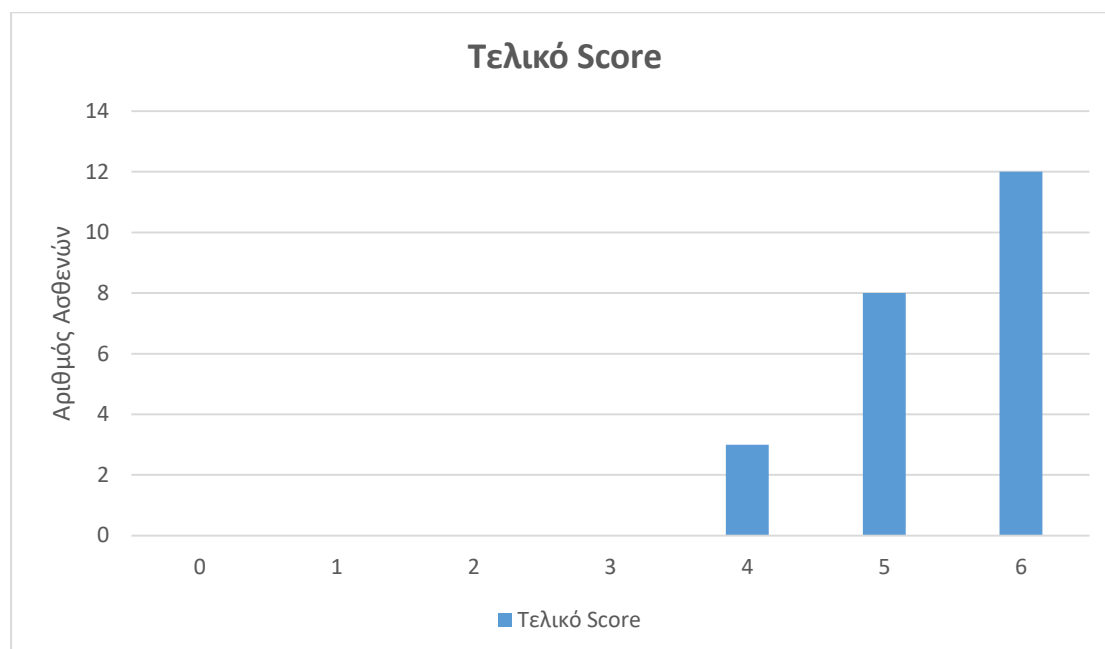
Χαρακτηριστικές μικροσκοπικές εικόνες φαίνονται στην **Εικόνα 22**. Σημειώνεται ότι η εικόνα 16 Δ δεν αποτελεί εικόνα του υλικού της μελέτης των 5 πεδίων ανά περιστατικό στις χαρακτηριστικές θέσεις. Αποτελεί εικόνα από το υπόλοιπο παρασκεύασμα σε θέση που δεν ήταν χαρακτηριστική για τη νόσο, αλλά υπήρχε θετική χρώση που θα μπορούσε να αξιολογηθεί με ένταση 1. Παρατίθεται για λόγους σύγκρισης.



Εικόνα 22. Εικόνες μικροσκοπίου x400. Α, Β, Γ: αντιπροσωπευτικές εικόνες για έκταση χρώσης βαθμού 1, 2 και 3 αντίστοιχα. Δ, Ε, ΣΤ: αντιπροσωπευτικές εικόνες για την ένταση της χρώσης βαθμού 1, 2 και 3 αντίστοιχα. ΣΗΜ: η εικόνα Δ δεν αποτελεί εικόνα από τα 5

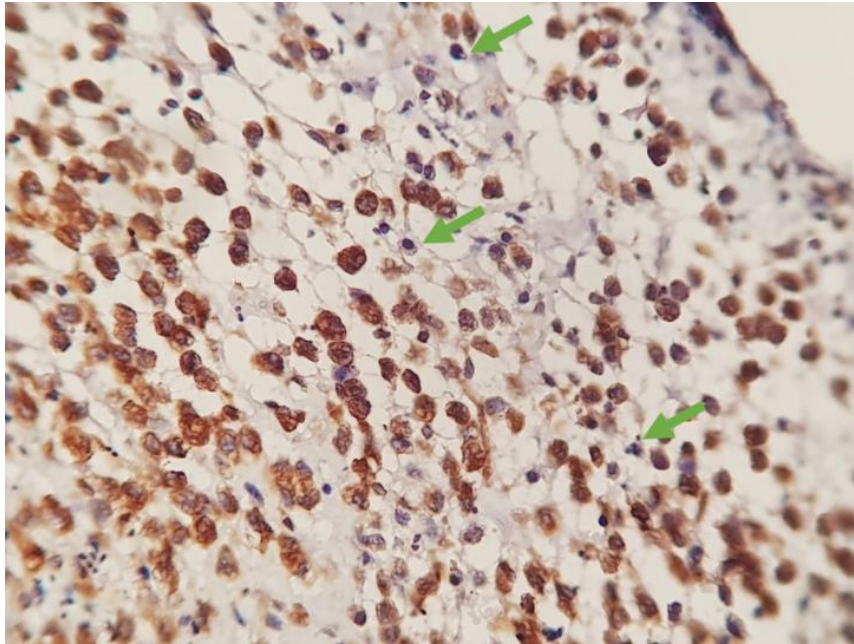
αντιπροσωπευτικά πεδία του ιστοτεμαχίου και δεν έχει ληφθεί υπόψιν στη μελέτη. Παρατίθεται για λόγους σύγκρισης.

Η μέση συνολική βαθμολογία (total score) ανοσοϊστοχημικής εκτίμησης της έκφρασης του ενζύμου IDO ήταν 5,4, η τυπική απόκλιση ήταν 0,7, η διάμεσος ήταν 6, η ελάχιστη τιμή ήταν 4 και η μέγιστη τιμή ήταν 6.

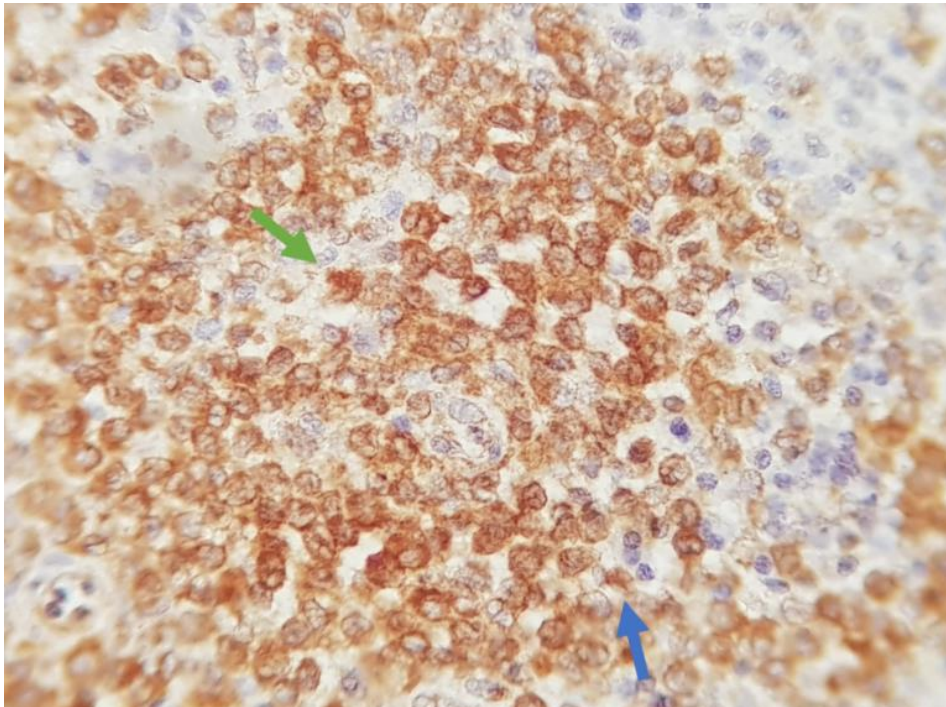


Πίνακας 23. Απόλυτη συχνότητα τελικού score ανοσοϊστοχημικής χρώσης του IDO στο δείγμα.

Τα **νεοπλασματικά** κύτταρα είχαν θετική χρώση, έντονη, κυτταροπλασματική και ενίοτε και πυρηνική. Το σχήμα τους ήταν οβάλ. Στο κυτταρόπλασμα ενίοτε υπήρχαν μη χρωσμένα κενοτόπια (**Εικόνα 23**). Το φλεγμονώδες διήθημα ως επί το πλείστον δεν είχε θετική χρώση. Μορφολογικά αναγνωρίζονταν κύτταρα που έμοιαζαν με λεμφοκύτταρα, ιστιοκύτταρα, ηωσινόφιλα ή άλλα φλεγμονώδη κύτταρα τα οποία ήταν αρνητικά για το IDO. Ορισμένα όμως από τα κύτταρα αυτού του φλεγμονώδους διηθήματος, κυρίως κύτταρα τα οποία έμοιαζαν με δενδριτικά ή μονοκύτταρα είχαν θετική χρώση (**Εικόνα 24** και **Εικόνα 25**).

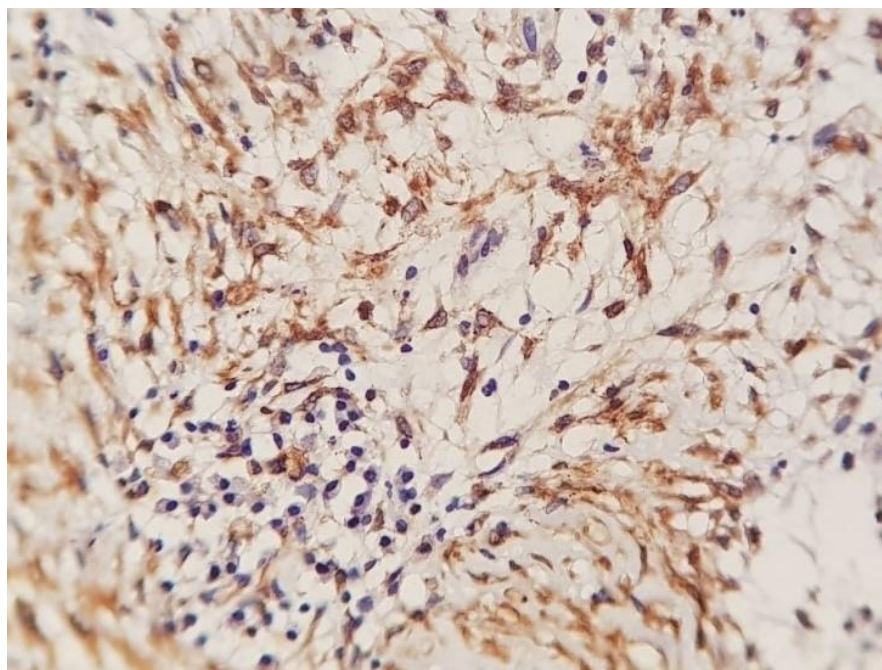


Εικόνα 23. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO. Παρατηρούνται νεοπλασματικά κύτταρα με οβάλ σχήμα χωρίς αποφυάδες με έντονα θετική κυτταροπλασματική χρώση, ενίοτε και πυρηνική. Σε πολλά κύτταρα διακρίνονται μη χρωσμένα κενοτόπια στο κυτταρόπλασμα. Μεταξύ τους διακρίνονται κύτταρα φλεγμονής, τα οποία είναι αρνητικά για IDO (πράσινα βέλη) (x400)



Εικόνα 24. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO. Φαίνονται θετική κυτταροπλασματική χρώση των νεοπλασματικών κυττάρων, τα οποία εμφανίζουν οβάλ σχήμα και σπάνια έχουν χρωσμένο πυρήνα (πράσινο βέλος). Μεταξύ τους αναγνωρίζονται φλεγμονώδη κύτταρα όπως λεμφοκύτταρα και ιστιοκύτταρα τα οποία δεν είναι θετικά για IDO και δενδριτικά

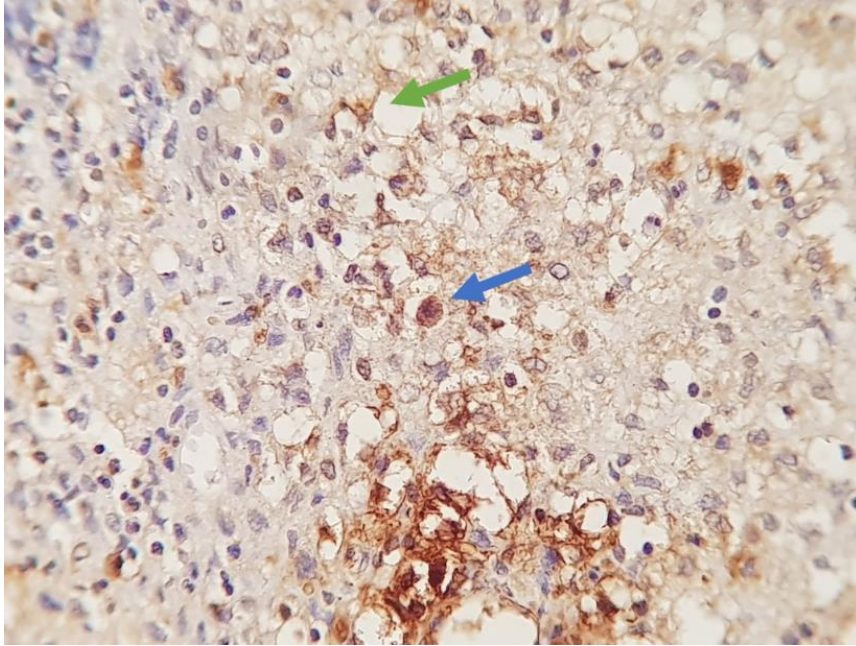
κύτταρα (μπλε βέλος) που είναι θετικά και εμφανίζουν αποφυάδες και πιθανόν να ανήκουν στα φλεγμονώδη κύτταρα του στρώματος. (x400)



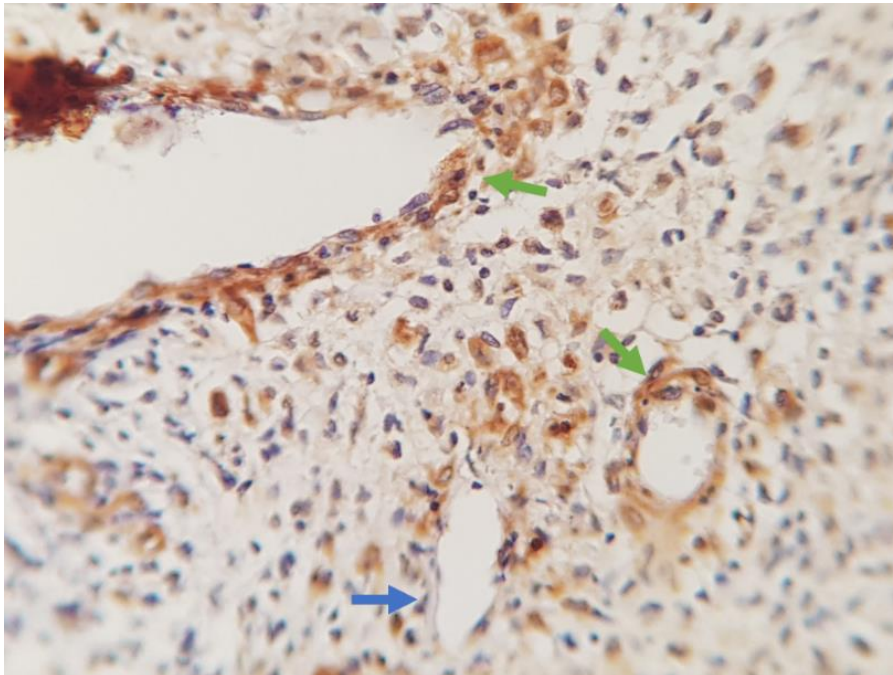
Εικόνα 25. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO. Παρατηρείται εστία από κύτταρα με αποφυάδες, που θυμίζουν δενδριτικά. (x400).

Ανάμεσα στα χρωσμένα κύτταρα, αναγνωρίστηκαν κύτταρα με **αστεροειδές σχήμα και μικρότερες ή μεγαλύτερες αποφυάδες**. Τα κύτταρα αυτά θεωρήθηκε ότι αποτελούν μη νεοπλασματικά δενδριτικά κύτταρα στο πλαίσιο της φλεγμονώδους απόκρισης. Ακόμα, παρατηρήθηκαν κύτταρα με στρογγυλό ή ωοειδές περίγραμμα που έμοιαζαν με μονοκύτταρα και ήταν επίσης θετικά για το IDO (**Εικόνα 25** και **Εικόνα 26**).

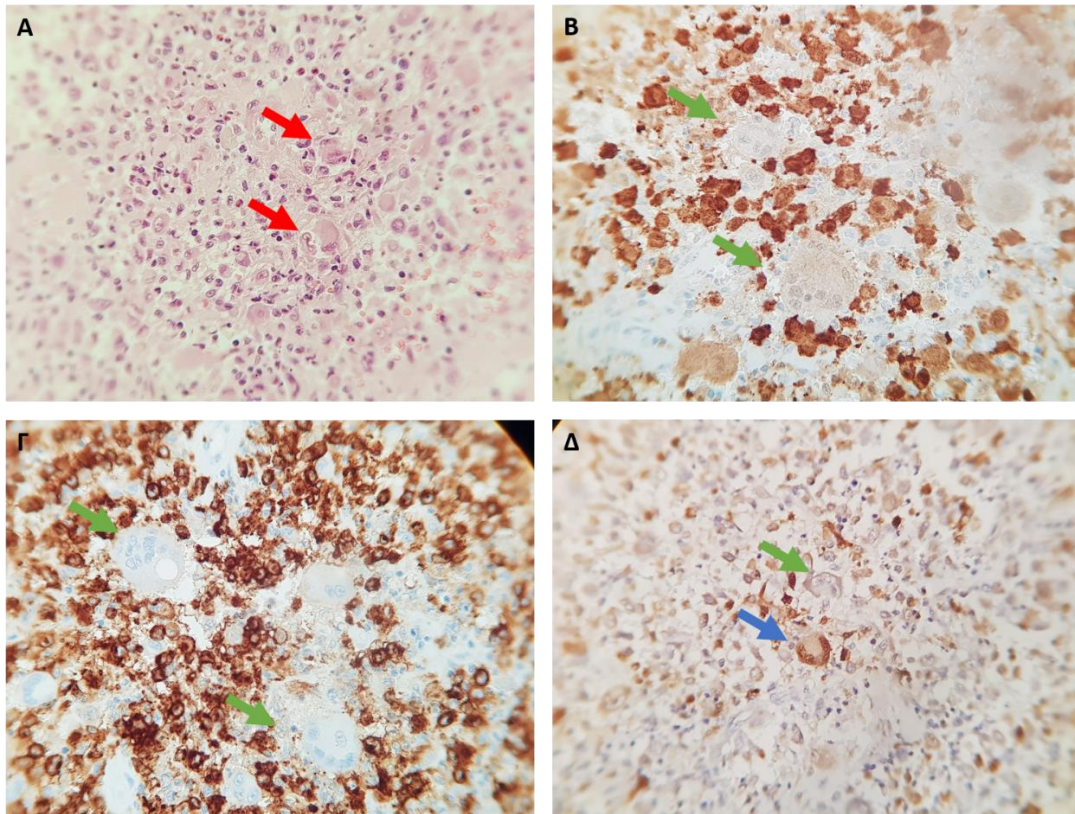
Στα πεδία που εξετάστηκαν παρατηρήθηκε χρώση και σε άλλα κύτταρα. Τέτοια κύτταρα αποτέλεσαν πολλά **ενδοθηλιακά** κύτταρα τριχοειδών ή μεγαλύτερων αγγείων της περιοχής (**Εικόνα 27**). Το ενδιαφέρον είναι ότι η χρώση δεν ήταν καθολική. Ορισμένα μόνο από τα αγγεία της περιοχής ήταν θετικά για το IDO, ανεξάρτητα από το μέγεθός τους. Σε μία περίπτωση, στο φλεγμονώδες διήθημα της LCH παρατηρήθηκαν **πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα**. Τα κύτταρα αυτά ήταν αρνητικά για S100 και CD1a, και μερικώς θετικά για IDO. Η χρώση φάνηκε να είναι τόσο κυτταροπλασματική όσο και πυρηνική (**Εικόνα 28**). Τέλος, ενίοτε παρατηρήθηκαν και θετικά χρωσμένα κύτταρα που θα μπορούσαν να αποτελούν ινοβλάστες.



Εικόνα 26. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO, όπου διακρίνονται κύτταρα με αποφυάδες που μοιάζουν με δενδριτικά (πράσινο βέλος) και κύτταρα που μοιάζουν με μονοπύρηνα (μπλε βέλος) (x400)



Εικόνα 27. Ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO. Παρατηρούνται θετικά (πράσινο βέλος) και αρνητικά (μπλε βέλος) ενδοθηλιακά κύτταρα σε αγγεία μικρότερου και μεγαλύτερου διαμετρήματος (x400).



Εικόνα 28. Πολυπύρρηνα Γιγαντοκύτταρα. Α: Παρουσία πολυπύρρηνων γιγαντοκυττάρων (κόκκινα βέλη) στο φλεγμονώδες διήθημα της LCH (HE, x400), Β: Αρνητικά για S100 πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα (πράσινα βέλη) (S100, x400), Γ: Αρνητικά για CD1a πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα (πράσινα βέλη) (CD1a, x400), Δ: Θετικά (πράσινο βέλος) και αρνητικά (μπλε βέλος) για IDO πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα (IDO, x400).

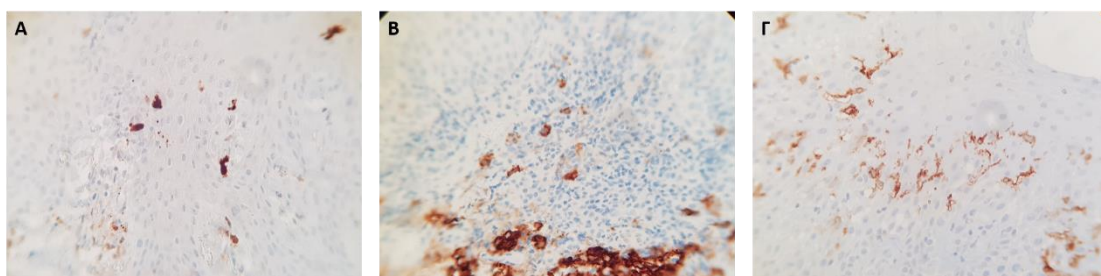
Έπειτα από τη διμεταβλητή ανάλυση **δεν προέκυψε στατιστική σχέση στο επίπεδο του 0,05 ($p < 0,05$) μεταξύ της συνολικής βαθμολογίας (total score) ανοσοϊστοχημικής εκτίμησης της έκφρασης του ενζύμου IDO και των ανεξάρτητων μεταβλητών.** Στον Πίνακας 24 παρουσιάζονται οι διμεταβλητές συσχετίσεις ανάμεσα στα χαρακτηριστικά του δείγματος και τη συνολική βαθμολογία (total score) ανοσοϊστοχημικής εκτίμησης της έκφρασης του ενζύμου IDO.

Χαρακτηριστικό	Τελικό score ανοσοϊστοχημικής εκτίμησης της έκφρασης του ενζύμου IDO (τυπική απόκλιση)	Τιμή p
Φύλο		0,189 ^α
Άρρεν	5,6 (0,7)	
Θήλυ	5,2 (0,8)	
Ηλικία^β	-0,108 ^β	0,622 ^β

Σημείο εντόπισης ενδοστοματικών αλλοιώσεων - Άνω ή/και κάτω γνάθος		0,511 ^γ
Άνω γνάθος	5,1 (0,7)	
Κάτω γνάθος	5,6 (0,4)	
Άνω και κάτω γνάθος	5,3 (1,0)	
Σημείο εντόπισης ενδοστοματικών αλλοιώσεων – Οπίσθια ή/και πρόσθια γνάθος		0,925 ^γ
Οπίσθια γνάθος	5,4 (0,7)	
Πρόσθια γνάθος	5,5 (0,7)	
Μερική αφαίρεση	5,3(1,0)	

Πίνακας 24. Διμεταβλητές συσχετίσεις ανάμεσα στα χαρακτηριστικά του δείγματος και τη συνολική βαθμολογία (total score) ανοσοϊστοχημικής εκτίμησης της έκφρασης του ενζύμου IDO. Οι τιμές εκφράζονται ως n (%) εκτός και εάν δηλώνεται διαφορετικά, α Έλεγχος t, β Συντελεστής συσχέτισης του Spearman, γ Ανάλυση διασποράς.

Η σωστή και αξιολογήσιμη χρώση επιβεβαιώθηκε και από εσωτερικούς μάρτυρες, τους οποίους αποτέλεσαν κύτταρα Langerhans και δενδριτικά κύτταρα τα οποία ανευρέθηκαν σε ορισμένες περιπτώσεις LCH στο συναφαιρεθέν επιθήλιο της στοματικής κοιλότητας. Παρατηρήθηκε θετική χρώση λίγων κυττάρων με δενδριτικές αποφυάδες τόσο με S100 και CD1a όσο και με IDO (**Εικόνα 29**), ενώ κανένα από τα επιθηλιακά κύτταρα δεν ήταν χρωσμένο.



Εικόνα 29. Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για A: S100, B:CD1a, Γ: IDO στο συναφαιρεθέν επιθήλιο στοματικής κοιλότητας από βλάβη LCH.

7 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η LCH είναι μία σπάνια νόσος. Η ετήσια επίπτωση της LCH σε παιδιά κάτω των 15 ετών κυμαίνεται μεταξύ 2-10 περιπτώσεων ανά εκατομμύριο παιδιών αυτής της ηλικίας [34] [35] [36, 37, 38, 39], ενώ στους ενήλικες η επίπτωση υπολογίζεται σε μία περίπτωση ανά εκατομμύριο [41] [42].

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η έκφραση του ενζύμου IDO σε οστικές αλλοιώσεις των γνάθων στην LCH. Η διερεύνηση αυτή έγινε με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας επί ιστολογικών τομών από το αρχειακό υλικό μονιμοποιημένων σε φορμόλη και εγκιβωτισμένων σε παραφίνη χειρουργικών παρασκευασμάτων του Εργαστηρίου της Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, που αποτελούσε το υλικό της μελέτης, προκειμένου να εντοπιστεί η πρωτεΐνη (ένζυμο) στα κύτταρα των ιστών.

Από τα 24 περιστατικά που εντοπίστηκαν αρχικά, τα 23 έλαβαν μέρος στη μελέτη, καθώς για 1 περιστατικό δεν υπήρχε αρκετός ιστός στο αρχειακό υλικό, οπότε εξαιρέθηκε από το δείγμα. Το δείγμα ήταν μικρό και δεν συνάδει με τη διεθνή βιβλιογραφία ως προς την ηλικία [34] [35] [37] [39] [356]. Αυτό δικαιολογείται καθώς η Οδοντιατρική Σχολή δεν αποτελεί κέντρο αναφοράς για την εξέταση των παιδιών, αλλά το νοσοκομείο Παιδών. Ως εκ τούτου στο δείγμα οι περισσότερες περιπτώσεις αφορούσαν ενήλικες. Η κατανομή στα δύο φύλα ήταν παρόμοια. Φαίνεται μια υπεροχή των ανδρών σε νεαρότερες ηλικίες και των γυναικών σε μεγαλύτερη, μη στατιστικά σημαντική. Ο μέσος όρος ηλικίας των ενηλίκων ήταν 40,5 έτη χωρίς να διαφέρει σημαντικά από τα 43,5-44 της βιβλιογραφίας [41] [357].

Η κάτω γνάθος και η οπίσθια εντόπιση των βλαβών ήταν πιο συχνές στο δείγμα της παρούσας μελέτης, κάτι που συμφωνεί με τη βιβλιογραφία [120] [122]. Φάνηκε, επίσης, ότι οι γυναίκες έχουν στατιστικά σημαντικά συχνότερη προσβολή σε πρόσθιες θέσεις των γνάθων σε σχέση με τους άντρες. Κάτι τέτοιο δεν έχει περιγραφεί από άλλες μελέτες. Ένας λόγος πιθανόν να είναι ότι δεν διερευνήθηκε σαν υπόθεση. Από την άλλη, παρότι πρόκειται για στατιστικά σημαντική διαφορά, οι συγγραφείς θεωρούν ορθό να επιβεβαιωθεί και από μεγαλύτερο δείγμα μελέτης.

Η ανοσοϊστοχημική χρώση για IDO στους μάρτυρες ήταν η αναμενόμενη. Στον καρκίνο του μαστού παρατηρήθηκε έντονη χρώση των κυττάρων του όγκου και στο στρώμα του όγκου βρέθηκαν θετικά κύτταρα, μεταξύ των οποίων δενδριτικά κι ενδοθηλιακά κύτταρα. Άλλα χρωσμένα κύτταρα θα μπορούσαν να αποτελούν ινοβλάστες. Το πρότυπο χρώσης αυτό συμφωνεί με τη βιβλιογραφία [351] [291]. Όμως, επειδή ο ιστός από τον καρκίνο του μαστού είναι πιο σκληρός σε σύσταση από τον προς μελέτη ιστό και η τεχνική και η αραίωση που χρησιμοποιήθηκε ήταν διαφορετικές με αυτές που θα αφορούσαν το δείγμα, αποφασίστηκε η χρώση ενός ακόμη θετικού μάρτυρα, της κοιλιοκάκης. Δύο περιπτώσεις εντοπίστηκαν με διαφορετικού βαθμού ατροφία και φάνηκαν θετικές για το IDO. Τα θετικά κύτταρα

βρίσκονταν κυρίως στο χόριο και είχαν μορφολογικά χαρακτηριστικά δενδριτικών κυττάρων ή μονοκυττάρων. Λίγα μόνο κύτταρα ήταν θετικά εντός του επιθηλίου. Τα αποτελέσματα αυτά δε διαφέρουν από εκείνα άλλων ερευνών [353] [354].

Αρνητικό μάρτυρα αποτέλεσε ιστός από ένα τραυματικό ίνωμα του βλεννογόνου του στόματος. Η χρώση στο χόριο ήταν αρνητική και σπάνια βρέθηκαν χρωσμένα κύτταρα στο καλυπτικό επιθήλιο. Τα κύτταρα αυτά θεωρήθηκαν φυσιολογικά κύτταρα Langerhans. Είναι ενδιαφέρον ότι σε αυτή την περίπτωση δεν υπήρχαν θετικά ενδοθηλιακά κύτταρα ούτε άλλα κύτταρα στο χόριο της βλάβης.

Η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης για το IDO στο δείγμα περιστατικών LCH της μελέτης αυτής ήταν θετική για όλα τα περιστατικά. Το πρωτόκολλο αξιολόγησης περιλάμβανε την μικροσκοπική εξέταση 5 πεδίων μεγάλης μεγέθυνσης (x400) ανά περιστατικό. Τα πεδία αυτά δεν ήταν τυχαία. Μελέτη της χρώσης αιματοξυλίνης-ηωσίνης και των S100 και CD1a κατέδειξε τις περιοχές όπου η διήθηση από νεοπλασματικά κύτταρα ήταν πιο σαφής, ελαχιστοποιώντας τις πιθανότητες να ληφθούν υπόψιν λιγότερο χαρακτηριστικές περιοχές που πιθανώς να είχαν ή να μην είχαν χρώση για το IDO και θα αποτελούσαν συγχυτικό παράγοντα για τη μελέτη.

Ανάμεσα στα χρωσμένα κύτταρα, αναγνωρίστηκαν κύτταρα με αστεροειδές σχήμα και μικρότερες ή μεγαλύτερες αποφυάδες, τα οποία θεωρήθηκαν μη νεοπλασματικά δενδριτικά κύτταρα στο πλαίσιο της φλεγμονώδους απόκρισης. Ακόμα, παρατηρήθηκαν κύτταρα με στρογγυλό ή ωοειδές περίγραμμα που έμοιαζαν με μονοκύτταρα και ήταν επίσης θετικά για το IDO, ενδοθηλιακά κύτταρα σε αγγεία μικρότερου ή μεγαλύτερου διαμετρήματος καθώς και από κύτταρα που θα μπορούσαν να είναι ινοβλάστες. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτά τα κύτταρα δεν ήταν καθολικά θετικά, αλλά υπήρχαν και αρνητικοί πληθυσμοί. Η εξήγηση για αυτό το φαινόμενο είναι ότι το IDO ενεργοποιείται σε καταστάσεις φλεγμονής, όταν στα κύτταρα έχουν επιδράσει IFNs. Είναι λοιπόν πιθανό, στα αρνητικά για IDO κύτταρα που ανήκουν σε αυτούς τους πληθυσμούς να μην είχαν επιδράσει IFNs. Αυτό εξηγεί και γιατί σε απομακρυσμένες από τις χαρακτηριστικές για τη νόσο θέσεις το δείγμα ήταν αρνητικό για όλους αυτούς τους τύπους κυττάρων.

Είναι σημαντικό σε αυτό το σημείο να σημειωθεί ότι δε βρέθηκε άλλη έρευνα που να αφορά στην έκφραση του IDO στη νόσο κυττάρων Langerhans. Οι περισσότερες μελέτες αφορούν στην έκφρασή του σε άλλες κακοήθεις νεοπλασματικές νόσους και κυρίως σε συμπαγείς όγκους [184]. Από τις περισσότερες μελέτες φαίνεται αυτή η θετική έκφραση να συσχετίζεται με χειρότερη έκβαση της νόσου, όπως αυτή εκτιμάται μέσα από δείκτες επιβίωσης. Όμως, υπάρχουν συχνά αντικρουόμενα αποτελέσματα και το IDO φαίνεται σε κάποιες μελέτες να σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση. Η εκτίμηση της έκφρασης και της ενεργότητας του IDO έχει γίνει με διάφορες μεθόδους. Οι κυριότερες είναι η εκτίμηση του λόγου Kyn/Trp στον

ορό του αίματος των ασθενών (HPLC), η ανίχνευση του ενζύμου με ανοσοϊστοχημεία (IHC) και η ανίχνευση του mRNA του ενζύμου (RT-PCR). Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος φαίνεται να είναι η IHC, όπως και στη δική μας περίπτωση. Πολλοί ερευνητές θεωρούν τα αποτελέσματα της μέτρησης του λόγου Kyn/Trp συγκρίσιμα με αυτά της IHC [358].

Στον καρκίνο του μαστού έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση του IDO σε αρνητικούς για υποδοχέα οιστρογόνων (ER) όγκους με εντονότερη νεοαγγειογένεση [290]. Οι Yu και συν [292] κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυξημένη έκφραση IDO στον όγκο οδηγεί πιθανώς σε αποφυγή της ανοσοεπιτήρησης και προαγωγή της μετάστασης ευνοώντας την ανάπτυξη και τη διείσδυση Foxp3⁺ Tregs στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Πιο ενδελεχώς, οι Chen και συν [288] βρήκαν ότι η PGE2 που απελευθερώνεται από τα κύτταρα του όγκου επάγει την έκφραση του IDO στους ινοβλάστες, μέσω ενός EP4/STAT3 μοριακού μονοπατιού. Αντίθετα, η κυνουρενίνη που εκκρίνεται από τους ινοβλάστες προάγει τον σχηματισμό του συμπλόκου E-cadherin/AhR/Skr2, οδηγώντας στην αποδόμηση της E-cadherin που αυξάνει την διήθηση στα νεοπλασματικά κύτταρα. Φάνηκε μάλιστα ότι η ικανότητα μετακίνησης καρκινικών κυττάρων που συγκαλλιεργήθηκαν με ινοβλάστες, μειώθηκε όταν χορηγήθηκε ανταγωνιστής IDO. Οι Yu και συν [359] έδειξαν ότι το IDO έχει πιθανότατα ρόλο και στους ανοσοκατασταλτικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με τα MDSCs στον καρκίνο του μαστού μέσω μοριακού μονοπατιού STAT3/NF-κB/IDO. Σε αντίθεση με όλα τα παραπάνω οι Jacquemier και συν [291] βρήκαν ότι το IDO μπορεί να έχει προστατευτικό ρόλο, εξετάζοντας, όμως, τριπλά αρνητικούς (basal – like) καρκίνους.

Μελέτες για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας με μέτρηση του λόγου Kyn/Trp και IHC έχουν δείξει ότι η έκφραση του IDO σχετίζεται με χειρότερες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και πρόγνωση [293] [294] [360]. Άλλοι ερευνητές χρησιμοποίησαν πολυπαραμετρική φθορίζουσα IHC 7 χρωμάτων (7-color fluorescent multiparameter IHC) και RNAseq και έδειξαν ότι ο λόγος Kyn/Trp και η έκφραση IDO ανοσοϊστοχημικά δεν αποτελούν σαφείς βιοδείκτες πρόγνωσης σε ασθενείς με αρχόμενο καρκίνο και ότι αντιθέτως, ένα μοντέλο οριακής έκφρασης του ενζύμου συσχετίστηκε με καλύτερη πρόγνωση [361]. Για τον καρκίνο του ενδομητρίου [300] [362] [363] [301] [302], των ωθηκών [362] [331] [332] [333] και του αιδοίου [362] [360] [338] οι περισσότερες έρευνες βρίσκουν υπερέκφραση του IDO και κάποιες το συσχετίζουν με χειρότερη πρόγνωση. Οι de Jong και συν [337] δεν παρατήρησαν συσχέτιση του ενζύμου με την πρόγνωση του καρκίνου του αιδοίου και οι Liu και συν [364] δεν συμπεριέλαβαν το IDO στους βιοδείκτες για ανοσοθεραπεία στον καρκίνο του ενδομητρίου. Οι Mei και συν [365] βρήκαν ότι η έκφραση IDO στα κύτταρα του στρώματος στον καρκίνο του ενδομητρίου (endometrial stromal cells – ESCs) συσχετιζόταν ισχυρά με μείωση της απόπτωσης και της έκφρασης της p53 και αύξηση της επιβίωσης, του πολλαπλασιασμού, της διήθησης και της έκφρασης MMP-9.

Μάλιστα, βρήκαν ότι το μοριακό μονοπάτι JNK ήταν απαραίτητο για την επίδραση αυτή του IDO στα ESCs. Οι Tanizaki και συν [366] από την άλλη έδειξαν ότι το IDO που προέρχεται από τα κύτταρα του όγκου στον καρκίνο των ωοθηκών προάγει την περιτοναϊκή εξάπλωση του νεοπλασματος μέσω της καταστολής τόσο των T εκτελεστικών κυττάρων που διηθούν τον όγκο (tumor-infiltrating effector T cells), όσο και της επιστράτευσης κυττάρων φυσικών φονευτών (natural killer cells – NKs), ενώ αντίθετα ενισχύει τις ανοσοκατασταλτικές κυτοκίνες στον ασκίτη δημιουργώντας ένα περιβάλλον ανοσοανοχής εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας.

Στον καρκίνο του εντέρου η ανοσοϊστοχημεία για το IDO [295] [296] [297] [298] από τον πρωτοπαθή όγκο, από τους λεμφαδένες και απομακρυσμένες μεταστάσεις, αλλά και μέτρηση της Trp ορού [295] [299] φαίνεται να συσχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν και μελέτες IHC [303] [304] και RT-PCR [303] για τον καρκίνο του οισοφάγου από την πρωτοπαθή εστία και τους επιχώριους λεμφαδένες, συσχετίζοντας την έκφραση του IDO με χειρότερη πρόγνωση. Μάλιστα οι Cui και συν [367] βρήκαν ότι οι ενεργοποιημένοι ινοβλάστες που σχετίζονται με τον όγκο (tumor-associated fibroblasts - TAF) του στρώματος και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών συμβάλλουν στην έκφραση του IDO και στην ενορχήστρωση του ανοσοκατασταλτικού μικροπεριβάλλοντος. Στην περίπτωση του στομάχου τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα. Υπάρχουν μελέτες που συσχετίζουν την έκφραση του IDO με βαθύτερη διήθηση, συχνότερες λεμφαδενικές μεταστάσεις [306] και χειρότερη πρόγνωση σε γαστρικό καρκίνο σταδίου III [368]. Άλλες μελέτες έχουν συσχετίσει την έκφραση του με πιο πρώιμο στάδιο νόσου [305] και καλύτερη πρόγνωση [369]. Συγκεκριμένη φαίνεται να είναι η βιβλιογραφία και στη περίπτωση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Ορισμένες μελέτες συσχετίζουν την έκφραση του IDO με μεγαλύτερη επιβίωση [311], αν και οι περισσότερες δείχνουν ότι συσχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση [310] [370] [371].

Στον καρκίνο των πνευμόνων ο αυξημένος λόγος Kyn/Trp και η IHC για το IDO συσχετίζεται με προχωρημένη νόσο [315] αλλά και με χειρότερη πρόγνωση [317] [314]. Οι Qu και συν [372] έδειξαν ότι η πρωτεΐνη CARD9 (Caspase Recruitment Domain-containing protein 9) μπορεί να αναστείλει την ανοσοκατασταλτική λειτουργία των MDSCs και συνεκδοχικά να αναστείλει την ανάπτυξη του καρκίνου των πνευμόνων, μέσω του μοριακού μονοπατιού CARD9/NF-κB/IDO. Αντίθετα οι Ma και συν [373] βρήκαν ότι το IDO θα μπορούσε να αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη καλής πρόγνωσης για ασθενείς που έχουν υποστεί χειρουργική αφαίρεση για αδενοκαρκίνωμα των πνευμόνων. Στον καρκίνο του θυρεοειδούς επίσης η έκφραση IDO (IHC, RT-PCR) συσχετίστηκε με πιο επιθετικούς τύπους καρκίνου [336] και χειρότερες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους [374]. Στον καρκίνο των νεφρών η έκφραση του IDO (IHC, RT-PCR) σε αντίθεση με τους περισσότερους άλλους καρκίνους φαίνεται να έχει συσχέτιση με καλύτερη πρόγνωση [334] [335] και καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία με nivolumab [375].

Στο μελάνωμα οι περισσότερες έρευνες καταδεικνύουν μία συσχέτιση της έκφρασης του IDO με χειρότερη πρόγνωση. Τόσο ο λόγος Kyn/Trp στον ορό του αίματος των ασθενών [323], όσο και η IHC από την πρωτοπαθή εστία [339] [318], στους λεμφαδένες φρουρούς και στις λεμφαδενικές μεταστάσεις [318] [339] [319] [321] [322] συνδέουν το ένζυμο με βραχύτερη επιβίωση. Οι Ståhlhammar και συν [376] μελέτησαν το IDO και τον TIGIT (T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains) ως ανοσολογικά σημεία ελέγχου (immune checkpoints) για το μελάνωμα και βρήκαν ότι η έκφραση του TIGIT ήταν αυξημένη στο πρωτοπαθές μελάνωμα και συσχετίζεται με την έκφραση του IDO, καθιστώντας και τα δύο στόχους για θεραπεία. Από την άλλη οι Gide και συν [377] μελέτησαν την ανοσοϊστοχημική έκφραση του IDO στις πρωτοπαθείς εστίες του μελανώματος, στην τοπική μετάσταση και στις απομακρυσμένες μεταστάσεις και βρήκαν ότι ενώ στα TILs και σε μονοπύρηνια κύτταρα που εξέφραζαν IDO στην πρωτοπαθή εστία καθώς και στις λεμφαδενικές μεταστάσεις η συσχέτιση με το IDO ήταν σαφής, δεν βρέθηκε συσχέτιση της έκφρασής του με απομακρυσμένες μεταστάσεις. Έτσι, αναφέρουν στα συμπεράσματά τους ότι παρά το γεγονός ότι η έκφραση του IDO στο μελάνωμα χρήζει διερεύνησης με αναστολείς του ενζύμου, χρήση του IDO ως βιοδείκτη είναι περιορισμένη γιατί εμφανίζει ετερογένεια στην έκφρασή του μέσα στον όγκο.

Κι άλλοι ερευνητές θεωρούν σκόπιμη τη μελέτη της απόκρισης της νόσου σε αναστολείς του IDO σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες [378] [379] στο μελάνωμα. Η πρώτη μεγάλη μελέτη φάσης III για τον αναστολέα του IDO epacadostat (ECHO-301) δεν έδειξε να υπάρχει σαφής διαφορά στη συγχορήγησή του με τον PD-1 αναστολέα pembrolizumab. Παρόλα αυτά οι συγγραφείς [380] θεωρούν ότι χρειάζεται κι άλλη έρευνα για να εξαχθούν συμπεράσματα και δικαιολογούν τα αποτελέσματά για τους εξής λόγους: πρώτον δεν είναι βέβαιοι ότι ο αναστολέας του IDO έδρασε επαρκώς στη δόση που χορηγήθηκε. Δεύτερον, θεωρούν ότι ο συνδυασμός φαρμάκων που επιλέχθηκε είχε φανεί από προηγούμενες μελέτες ότι ίσως να μην είναι ο πιο αποτελεσματικός, ενώ άλλοι συνδυασμοί φαίνεται να υπερτερούν. Τέλος, ο αναστολέας είχε μεγάλη επιλεκτικότητα για το IDO1, τη στιγμή που πολλά δεδομένα έδειχναν ότι η συνδυαστική αναστολή IDO1 και TDO όπως και αναστολή του μονοπατιού του AhR ίσως είναι αποτελεσματικότερη. Παραδείγματος χάριν, οι Jia και συν [381] μελετώντας άλλον αναστολέα σε συνδυασμό με rimozide βρήκαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα για τη θεραπεία του μελανώματος.

Για την οξεία μυελογενή λευχαιμία έχει βρεθεί ότι η έκφραση του IDO σε λευχαιμικές βλάστες δεν είναι πάντα θετική, αλλά όταν είναι, συσχετίζεται αρνητικά με την πρόγνωση της νόσου στα παιδιά [286]. Η ανίχνευση του mRNA του IDO στις νεοπλασματικές βλάστες σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα Foxp3+ Tregs [382] και χειρότερη πρόγνωση [283]. Τα επίπεδα Kyn στο αίμα των ασθενών σχετίζονται, επίσης με χειρότερη πρόγνωση και μάλιστα πιθανόν να αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη [287]. Πρόσφατα σε μελέτη 40 ασθενών, η ανοσοϊστοχημική

ανίχνευση του IDO φάνηκε να ταυτοποιεί έναν υπότυπο ασθενών με AML με «πρώιμη θνητότητα», οι οποίοι θα μπορούσαν να επωφεληθούν από θεραπεία με αναστολείς του ενζύμου [383]. Σε μελέτες που αφορούν σε λεμφώματα η έκφραση του IDO (IHC) σε Hodgkin λέμφωμα συσχετίζεται με βραχύτερη OS [312] [384]. Παρομοίως για μη Hodgkin λεμφώματα [325] και κυρίως για το DLBCL υπάρχουν μελέτες συσχέτισης της έκφρασης του IDO με χειρότερη πρόγνωση [326] [327], αλλά και μελέτες στις οποίες φάνηκε να έχει θετική επίδραση στην OS [324] [385].

Στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του στόματος τρεις σημαντικές μελέτες IHC [328] [329] έχουν συσχετίσει τη έκφραση του IDO με χειρότερη πρόγνωση αλλά και αυξημένη κυτταρική ατυπία σε προκαρκινικές καταστάσεις [386]. Οι El Jamal και συν [387] σε μελέτη σε κυτταρικές σειρές ακανθοκυτταρικού καρκινώματος κεφαλής και τραχήλου (HNSCC) εντόπισαν έναν πιθανό ρόλο για το IDO ως αποπτωτικό μεσολαβητή στη ρύθμιση της προκαλούμενης από IFN γ απόπτωσης κυττάρων στο HNSCC μέσω διαταραχής των μιτοχονδρίων μεσολαβούμενης από Noxa και stress του ενδοπλασματικού δικτύου (ER).

Τα δενδριτικά κύτταρα μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες υποομάδες: τα πλασμακυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs) και τα συμβατικά ή μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα (mDCs ή cDCs) [388]. Μια ξεχωριστή, ίσως, υποομάδα αποτελούν τα δενδριτικά κύτταρα του δέρματος. Τα διαφορετικά υποσύνολα έχουν και διαφορετικούς υποδοχείς. Τα pDCs κυκλοφορούν συνήθως στο αίμα και επικρατούν στον σπλήνα, στο θύμο, στο μυελό των οστών και σε ορισμένους περιφερικούς ιστούς. Ο συνδέτης FLT-3 (FLT-3L) είναι ο παράγοντας διαφοροποίησης που ελέγχει τον πολλαπλασιασμό των pDCs από αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα [389]. Πιστεύεται ότι η κύρια λειτουργία των pDCs είναι η επαγωγή της φυσικής ανοσίας [390]. Χρησιμοποιούν υποδοχείς TLR όπως ο TLR7 και ο TLR9 στην καταπολέμηση της ιογενούς μόλυνσης για να παράγουν μεγάλες ποσότητες IFN-I [391]. Τα pDCs γενικά έχουν χαμηλή ικανότητα παρουσίασης αντιγόνου παρόλο που παράγουν συνεχώς μόρια MHC II [392]. Ωστόσο, βρέθηκε ότι έχουν ενισχυμένη πρόσληψη αντιγόνου και αντιγονοπαρουσίαση από αποπτωτικά κύτταρα, ανοσοσυμπλέγματα και ιούς. Τα pDCs έχουν επίσης συσχετισθεί με ανοσολογική ανοχή μέσω της παραγωγής IDO [393] [394]. Είναι ικανά να προσλάβουν εξωγενή αντιγόνα μέσω των υποδοχέων Fc γ (Fc γ RII) και να τα παρουσιάσουν σε CD4 + T κύτταρα [395]. Εκτός από την έκφραση των TLRs και Fc γ RII, τα pDCs επίσης εκφράζουν CLR α όπως το αντιγόνο-2 δενδριτικών κυττάρων αίματος (BDCA-2) και ο ανοσοϋποδοχέας δενδριτικών κυττάρων (DCIR). Η στοχευμένη απελευθέρωση αντιγόνου στον υποδοχέα DCIR έχει ως αποτέλεσμα τόσο την παρουσίαση του αντιγόνου όσο και την παραγωγή IFN- α [396].

Συμβατικά ή μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα (cDCs ή mDCs) βρίσκονται σε περιφερικούς ιστούς και στον λεμφικό ιστό, στο αίμα και σε άλλους ιστούς. Υποδιαίρονται σε μεταναστευτικά ή σταθερά δενδριτικά κύτταρα. Τα μεταναστευτικά DC δεσμεύουν το αντιγόνο και μεταναστεύουν από τους

περιφερικούς ιστούς όπως το δέρμα, το ήπαρ, τον νεφρό, τον πνεύμονα και τον εντερικό σωλήνα σε λεμφικά όργανα και αλληλεπιδρούν με τα T κύτταρα. Από την άλλη πλευρά, τα σταθερά DCs δεν έχουν την ικανότητα να μετακινούνται και παραμένουν στο λεμφικό όργανο όπως οι λεμφαδένες, ο σπλήνας και ο θύμος [397]. Τα cDCs επιμύων αποτελούνται από δύο κύρια υποσύνολα: τα CD8⁺ DCs και τα CD8⁻ DCs. Τα ανθρώπινα ομόλογά τους είναι γνωστά ως CD141⁺ (BDCA3⁺) και CD1c⁺ (BDCA1⁺). Τα CD8⁺ DCs δείχνουν υψηλή έκφραση των CLRs όπως το DEC-205, το οποίο είναι υπεύθυνο για την δέσμευση αντιγόνου και την διασταυρούμενη παρουσίαση σε μόρια MHC I [398] [399]. Εν τούτοις, το DEC-205 εκφράζεται επίσης σε κύτταρα Langerhans, B κύτταρα και DCs στο δέρμα, αλλά σε μικρή ποσότητα. Τα CD8⁺ DCs έχουν επίσης υψηλό επίπεδο έκφρασης του DNNGR 1 (Human Clec9A), ενός άλλου υποδοχέα λεκτίνης τύπου C που έχει τη δυνατότητα να διευκολύνει τη διαδικασία παρουσίασης αντιγόνου [400]. Τα CD8⁻ DCs δεν εκφράζουν το DNNGR 1 αλλά έχουν χαμηλό επίπεδο DEC-205. Εκφράζουν έναν άλλο CLR, τον DCIR2 που είναι εξειδικευμένος για δέσμευση και παρουσίαση αντιγόνου σε μόρια MHC II [401]. Υπάρχουν επίσης διαφορές μεταξύ αυτών των δύο υποσυνόλων σε υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs) όταν ανταποκρίνονται σε εισβάλλοντα παθογόνα. Ο TLR-3 εκφράζεται έντονα σε CD8⁺ DCs, αλλά απουσιάζει στα CD8⁻ DCs [402]. Αναγνωρίζει το dsRNA του ιικού παθογόνου και ενεργοποιεί τους ρυθμιστικούς παράγοντες IRF-3 και NF-κB [403]. Αντίθετα, ο TLR-7 απουσιάζει στα CD8⁺ DCs αλλά υπάρχει σε CD8⁻ DCs. Αναγνωρίζει το μονόκλωνο RNA του ιικού γονιδιώματος όπως στον HCV [404].

Το δέρμα περιέχει επίσης μερικά σημαντικά υποστρώματα δενδριτικών κυττάρων όπως τα κύτταρα Langerhans (LCs). Τα LCs βρίσκονται στην επιδερμίδα τόσο των επιμύων όσο και των ανθρώπων και είναι υπεύθυνα για τη σύλληψη και τη μεταφορά αντιγόνου από την περιφέρεια στον λεμφαδένα για την ενεργοποίηση T κυττάρων μνήμης και παρθένων (naïve) T κυττάρων. Τα LCs μπορούν να αναγνωριστούν από την έκφραση της λανγκερίνης. Ένα άλλο υποσύνολο των DCs του δέρματος ονομάζονται δερμικά (dermal) DCs, και εκφράζουν έναν άλλο CLR, τον DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin), που βρίσκεται κυρίως στο χόριο [405].

Μελέτη των Hutter και συν [406] με μοριακή ανάλυση κατέδειξε ότι ενώ τα νεοπλασματική κύτταρα της LCH μοιράζονται τον θετικό ανοσοφαινότυπο για CD1a και CD207 με τα LCs, εκφράζουν τον CD14, ο οποίος είναι αρνητικός στα LCs, όπως επίσης και για τα mDCs και τα pDCs. Επίσης, τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι θετικά για ITGAM και CD163, που είναι θετικοί στα mDCs, όπως επίσης είναι θετικά για BCA2 και BCA4 που είναι θετικοί για τα pDCs. Αντίθετα, τα pDCs εκφράζουν CD123, ο οποίος είναι αρνητικός στα κύτταρα της LCH. Συμπερασματικά, τα νεοπλασματικά κύτταρα της LCH σχηματίζουν μια ξεχωριστή οντότητα DCs που διαφέρει από τα LCs, pDCs και mDCs σε παρόμοια έκταση.

Από τη μελέτη της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι στους περισσότερους καρκίνους παρατηρείται έκφραση του IDO, ανεξάρτητα από το αν συσχετίζεται με καλύτερη ή χειρότερη πρόγνωση. Αυτό που επίσης καθίσταται σαφές είναι ότι σε άλλες περιπτώσεις είναι τα κύτταρα του όγκου στα οποία παρατηρείται αυτή η αυξημένη έκφραση και άλλοτε στα κύτταρα του στρώματος ή και τα δύο. Οι κύριοι ιστοί έκφρασης του IDO είναι το λεπτό έντερο, η επιδιδυμίδα, οι πνεύμονες, τα γυναικεία γεννητικά όργανα και ο πλακούντας [185] [186]. Επίσης, το IDO έχει αναφερθεί ότι δρα ως ένα άμεσο ενδοκυτταρικό σηματοδοτικό μόριο στα APCs (DCs, μακροφάγα, Β κύτταρα) που το εκφράζουν [213], όμως, συχνά η έκφρασή του περιορίζεται σε συγκεκριμένους υπότυπους των APCs που φαίνεται να ειδικεύονται στην ταχεία και υψηλή έκφραση IDO σε απάντηση στα φλεγμονώδη ερεθίσματα [216]. Έτσι, μελετώντας άλλους συμπαγείς όγκους (όπως στον πνεύμονα, στο μαστό στο γαστρεντερικό κ.ο.κ.) η έκφραση του ενζύμου από τα κύτταρα του όγκου, δεν είναι «αναμενόμενη». Η έκφραση του IDO από τα νεοπλασματικά κύτταρα θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα των γενετικών μεταβολών της κακοήθους εξαλλαγής ή μπορεί να επάγεται από την IFN- γ ή άλλους διαμεσολαβητές φλεγμονής [184].

Στην παρούσα μελέτη τα νεοπλασματικά κύτταρα συμμετείχαν στην παραγωγή IDO στο «μικροπεριβάλλον του όγκου». Όμως, στην LCH τα νεοπλασματικά κύτταρα πιθανόν να προέρχονται από κάποιον υπότυπο των APCs που παράγουν IDO και φυσιολογικά, πλην κάτω από συγκεκριμένα μεταβολικά ή/και φλεγμονώδη ερεθίσματα. Όντας, όμως, νεοπλασματικά κύτταρα, το γεγονός ότι παράγουν IDO μπορεί πιθανώς να αποδοθεί και στην περίπτωση της LCH στις γενετικές μεταβολές της κακοήθους εξαλλαγής των κυττάρων. Η ιδιαίτερη φύση της LCH να εμφανίζεται πάντα με συνοδό φλεγμονή, θα μπορούσε να είναι άλλος ένας παράγοντας ενεργοποίησης της έκφρασης του IDO στα νεοπλασματικά κύτταρα ως αποτέλεσμα δράσης IFNs. Η έκφρασή του από τα κύτταρα του νεοπλάσματος, πιθανώς να συμβάλλει στην τοπική ανοσοκαταστολή στο μικροπεριβάλλον των οστεολυτικών βλαβών του νεοπλάσματος [261] [203] [346]. Αυτό διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή των ανοσιακών απαντήσεων έναντι της νεοπλασίας.

Παρόλα αυτά, ορισμένες ανοσολογικές λειτουργίες του IDO, όπως η συστηματική ενεργοποίηση των Tregs και η δημιουργία συστηματικής ανοχής, φυσιολογικά συμβαίνουν όταν το IDO εκφράζεται σε εξειδικευμένα, επαγγελματικά APCs. Για τον λόγο αυτό η έκφραση του IDO από τα κύτταρα του στρώματος είναι εξίσου σημαντική με την έκφρασή του από τα νεοπλασματικά. Έτσι, η αύξηση της έκφρασης του IDO από τα APCs του ξενιστή σε απάντηση στην τοπική αύξηση του νεοπλάσματος μπορεί να είναι κρίσιμη για την ικανότητα του IDO να συμβάλλει στη συστηματική ανοσοκαταστολή και ανοχή έναντι των νεοπλασμάτων [216]. Στη παρούσα μελέτη πολλά κύτταρα του στρώματος ήταν θετικά για το IDO, συμπεριλαμβανομένων, πλην των ενδοθηλιακών και των ινοβλαστών, πολλών κυττάρων με δενδριτικές αποφυάδες που θα μπορούσαν να αποτελούν DCs.

Σημειώνεται ότι στην περίπτωση της LCH δεν είναι σαφές αν τα νεοπλασματικά κύτταρα θα μπορούσαν να έχουν ακόμα αντιγονοπαρουσιαστικές ιδιότητες [407], δεδομένου ότι εκφράζουν αντιγόνα MHC-II [408], και άρα να συμβάλλουν πιθανώς και αυτά στη συστηματική ανοσοκαταστολή που μεσολαβείται από το IDO.

Η GCN2 που ενεργοποιείται από το IDO επηρεάζει άμεσα τον φαινότυπο των δενδριτικών κυττάρων και των μακροφάγων του στρώματος. Έτσι, όταν το IDO είναι ενεργό, APCs που διαφορετικά θα μπορούσαν να παράγουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η IL-12, παράγουν αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η IL-10 και ο TGF-β [219] [248] [344]. Αυτό είναι πολύ σημαντικό, γιατί σημαίνει ότι η αύξηση του IDO σε τοπικό επίπεδο μπορεί να αλλάξει την ίδια τη φύση των APCs και συνεκδοχικά να μετατρέψει όλο το περιβάλλον από ανοσοποιητικό σε ανοσοανοχής. Στην περίπτωση της LCH δεν είναι σαφές κατά πόσο αυτό συμβάλει στη διήθηση σε τοπικό επίπεδο ή τη «μετάσταση» γιατί δεν πρόκειται για συμπαγή όγκο, αλλά μια αιματολογική νεοπλασία. Είναι όμως πιθανό η συστηματική ανοσοανοχή που μπορεί να επαχθεί από το IDO να συμβάλλει στην εξάπλωση της νόσου σε πολυσυστηματικό επίπεδο.

Οι Li και συν βρήκαν ότι η κυνουρενίνη επάγει την παραγωγή των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-1 και MMP-3 στους ινοβλάστες του δέρματος, μέσω του MEK-ERK1/2 MAPK σηματοδοτικού μονοπατιού, επάγοντας την καλύτερη επούλωση υπερτροφικών ουλών *in vitro* και *in vivo* [409]. Τοπικά, για τις οστεολυτικές βλάβες της LCH, κυρίως όσον αφορά στις γνάθους, η επαγωγή της παραγωγής αυτών των μεταλλοπρωτεϊνών πιθανώς να συμβάλλει στην οστεόλυση που συνοδεύει την εμφάνιση της νόσου και στην εξάπλωση της διήθησης από τα νεοπλασματικά κύτταρα [410].

Οι περιορισμοί αυτής της μελέτης δεν ήταν λίγοι. Η LCH αποτελεί μια αρκετά σπάνια νόσο, κυρίως στους ενήλικες, για αυτό και το δείγμα ήταν μικρό για την ορθή στατιστική διερεύνηση των πιθανών σχέσεων μεταξύ των παραμέτρων που εξετάστηκαν. Ακόμα η LCH είναι μία νόσος άγνωστης αιτιολογίας της οποίας ο κυτταρικός πληθυσμός που έχει υποστεί τη νεοπλασματική εξαλλαγή δεν έχει εξακριβωθεί. Επιπροσθέτως, εμφανίζεται με συνοδό φλεγμονή. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα στο μικροπεριβάλλον του όγκου να υπάρχουν πολλά διαφορετικά κύτταρα, συχνά με παραπλήσια μορφολογικά χαρακτηριστικά, κάνοντας δύσκολη τη διάκρισή τους στο οπτικό μικροσκόπιο. Έτσι, παρότι η ανοσοϊστοχημεία είναι μία από τις πλέον αξιόπιστες μεθόδους ανίχνευσης πρωτεϊνών στους ιστούς, δεν ήταν εύκολο να αναγνωριστούν πάντα με σαφήνεια τα κύτταρα που την παρήγαγαν.

Μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να περιλαμβάνει αναγνώριση των κυττάρων που παράγουν το IDO με τη χρήση κυτταρομετρίας ροής και τον διαχωρισμό τους με βάση χαρακτηριστικούς για τον κάθε υπότυπο υποδοχείς. Εναλλακτικά θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί διπλή ανοσοϊστοχημική χρώση για CD207 και IDO, προκειμένου να γίνει σαφέστερη η χρώση των κυττάρων της LCH σε

σχέση με το υπόστρωμα. Ακόμα, θα ήταν ενδιαφέρον να παρακολουθηθούν περιστατικά που χρειάστηκε να λάβουν συστηματική θεραπεία για την έκφραση του IDO ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία. Τέλος, πιθανώς η χορήγηση ενός αναστολέα του ενζύμου να έχει θετικά αποτελέσματα αναφορικά με τη θεραπεία, σε συστηματικό ή και σε τοπικό επίπεδο για τις μονήρεις βλάβες.

8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την παρούσα ανοσοϊστοχημική μελέτη έδειξαν ότι:

1. Η ανίχνευση του ενζύμου 2,3-διοξυγενάση της ινδολεαμίνης 1 (indolamine-2,3-dioxygenase-1, IDO-1) στις οστεολυτικές βλάβες των γνάθων αφενός, και η απουσία έκφρασης του σε αντιδραστικού τύπου ιστούς αφετέρου, υποδηλώνουν την εμπλοκή του IDO στη νόσο κυττάρων Langerhans (LCH).
2. Η ανοσοϊστοχημική έκφραση του IDO ήταν κυρίως κυτταροπλασματική, ενώ ως προς την κατανομή της, αφορούσε τόσο στις αθροίσεις των νεοπλασματικών κυττάρων, όσο και στο διήθημα του διαμέσου υποστρώματος των βλαβών.
3. Συσχέτιση μεταξύ της έντασης ή της έκτασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης με το IDO-1 και κλινικών στοιχείων όπως το φύλο, η ηλικία των ασθενών ή η εντόπιση των βλαβών δεν επιβεβαιώθηκε.
4. Μια υπόθεση για το ρόλο αυτού του ενζύμου στο τοπικό μικροπεριβάλλον των αλλοιώσεων της LCH είναι η επαγωγή των T ρυθμιστικών κυττάρων, με συνέπεια την πιθανή καταστολή της δράσης των εκτελεστικών T λεμφοκυττάρων στην ανοσολογική άμυνα έναντι των νεοπλασματικών κυττάρων.
5. Μελλοντικές μελέτες σε μεγαλύτερο δείγμα ασθενών και σε συσχέτιση με τη πορεία της νόσου, ιδιαίτερα με την αξιολόγηση θεραπευτικών παρεμβάσεων μέσω IDO αναστολέων θα μπορούσαν να διερευνήσουν την παραπάνω υπόθεση.

9 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η ιστοκυττάρωση από κύτταρα Langerhans (LCH) είναι μία αιματολογική νόσος που χαρακτηρίζεται από αθροίσεις κυττάρων δενδριτικής προέλευσης που προσομοιάζουν με κύτταρα Langerhans. Ο ακριβής κυτταρικός πληθυσμός από τον οποίο προέρχεται και η αιτιοπαθογένεια της νόσου παραμένουν άγνωστα. Μεταλλάξεις του γονιδίου BRAF και ενεργοποίηση του ERK μονοπατιού καταδεικνύουν μια μάλλον νεοπλασματικής φύσης νόσο, χωρίς να θεωρείται κακοήθης. Η κλινική της εικόνα ποικίλει από μονήρεις βλάβες σε πολυσυστηματική προσβολή και διαφέρει σημαντικά στα παιδιά και τους ενήλικες. Στη θεραπεία της χρησιμοποιούνται πολλοί αντινεοπλασματικοί παράγοντες.

Το IDO είναι ένα ένζυμο που καταλύει τον μεταβολισμό της τρυπτοφάνης σε κυνουρενίνη. Τα κύτταρα που εκφράζουν IDO καταστέλλουν τη φυσική και επίκτητη ανοσία για να προάγουν την ανοχή. Η ιντερφερόνη τύπου I (IFN-I) και τύπου II (IFN-II) που παράγονται σε θέσεις φλεγμονής ή από ενεργοποιημένα κύτταρα του ανοσοποιητικού είναι ισχυροί επαγωγείς του ενζύμου IDO επειδή το γονίδιο του IDO περιέχει στοιχεία απόκρισης σε IFNs. Η αυξημένη έκφραση IDO από δενδριτικά κύτταρα (DCs) έχει ιδιαίτερη σημασία επειδή η δραστηριότητα του ενζύμου μετατρέπει τα ώριμα DC σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) ανοσοανοχής που καταστέλλουν τα εκτελεστικά T κύτταρα και προάγουν τα ρυθμιστικά T κύτταρα (Tregs), προωθώντας έτσι την ανοσολογική ανοχή.

Σκοπός: Η διερεύνηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του ενζύμου IDO σε οστεολυτικές βλάβες των γνάθων στην LCH.

Υλικό και Μέθοδος: Η παρούσα μελέτη είναι μια αναδρομική μελέτη σε υλικό βιοψιών και αφορά σε περιπτώσεις ιστοτεμαχίων που προέρχονταν από μερική βιοψία ενδοστοματικών αλλοιώσεων για διάγνωση της LCH. Η διάγνωση επιβεβαιώθηκε με S100 και CD1a. Η διερεύνηση για την έκφραση του IDO έγινε με ανοσοϊστοχημική χρώση επί ιστολογικών τομών.

Αποτελέσματα: Όλα τα περιστατικά είχαν θετική χρώση για το IDO. Τόσο τα νεοπλασματικά κύτταρα της νόσου όσο και κύτταρα του στρώματος βρέθηκαν θετικά για το ένζυμο.

Συμπέρασμα: Το IDO εκφράζεται στις οστεολυτικές βλάβες των γνάθων στην LCH και είναι πιθανό να συμβάλει στην αναστολή της ανοσιακής απάντησης έναντι στη νόσο.

Κλινική Σημασία: Πιθανώς η αναστολή του ενζύμου IDO να έχει θετικά αποτελέσματα στη θεραπεία της LCH.

Λέξεις κλειδιά: νόσος κυττάρων Langerhans, ιστοκυττάρωση, IDO, ηωσινόφιλο κοκκίωμα

10 ABSTRACT

Introduction: Langerhans cell histiocytoses (LCH) is a hematologic disease characterized by accumulation of Langerhans cell-like dendritic cells (DCs). The origin cell and the etiopathogenesis of the disease remain unknown. Mutations of the BRAF gene and activation of the ERK pathway demonstrate a rather neoplastic nature, without being considered malignant. Its clinical manifestations vary from single-lesions to multi-system attack and differ significantly between children and adults. Many antineoplastic agents are used for its treatment.

IDO is an enzyme which catalyzes the metabolism of tryptophan to kynurenin. IDO-expressing cells suppress innate and adaptive immunity to promote tolerance. Interferon type I (IFN-I) and type II (IFN-II) produced at sites of inflammation or activated immune cells are potent inducers of the IDO enzyme because the IDO gene contains IFNs response elements. Increased expression of IDO by dendritic cells (DCs) is of particular importance because enzyme activity converts mature DCs into tolerogenic APCs that suppress effector T cells and promote regulatory Tregs, thus promoting tolerance.

Aim: To investigate the immunohistochemical expression of IDO enzyme in osteolytic lesions of the jaws in LCH.

Materials and Methods: This study is a retrospective study of biopsy material and refers to cases of partial biopsies of intraoral lesions for diagnosis of LCH. The diagnosis was confirmed with S100 and CD1a. Investigation for IDO expression was performed by immunohistochemical staining on histological sections.

Results: All cases were positive for IDO. Both the neoplastic cells of the disease and the stromal cells were found positive for the enzyme.

Conclusion: IDO is expressed in osteolytic lesions of the jaws in LCH and it is likely to contribute to the inhibition of the immune response against the disease.

Clinical Importance: Inhibition of the IDO enzyme may have positive effects on the treatment of LCH.

Key words: LCH, histiocytosis, IDO, eosinophilic granuloma

11 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Writing Group of the Histiocyte Society, "Histiocytosis syndromes in children," *Lancet*, vol. 1, no. 8526, pp. 208-209, 1987.
- [2] Hashimoto K, Pritzker MS, "Electron microscopic study of reticulohistiocytoma. An unusual case of congenital, self-healing reticulohistiocytosis," *Arch Dermatol*, vol. 107, no. 2, pp. 263-70, 1973.
- [3] Hashimoto K, Griffin D, Kohsbaki M., "Self-healing reticulohistiocytosis: a clinical, histologic, and ultrastructural study of the fourth case in the literature," *Cancer*, vol. 49, no. 2, pp. 331-7, 1982.
- [4] Wolfson SL, Botero F, Hurwitz S, Pearson HA., ""Pure" cutaneous histiocytosis-X," *Cancer*, vol. 48, no. 10, pp. 2236-8, 1981.
- [5] Wolff K, "The langerhans cell," *Curr Probl Dermatol*, vol. 4, pp. 79-145, 1972.
- [6] Newton WA Jr, Hamoudi AB, "Histiocytosis: a histologic classification with clinical correlation," *Perspect Pediatr Pathol*, vol. 1, pp. 251-83, 1973.
- [7] Willman CL, Busque L, Griffith BB, Favara BE, McClain KL, Duncan MH, Gilliland DG, "Langerhans'-cell histiocytosis (histiocytosis X)--a clonal proliferative disease," *N Engl J Med*, vol. 331, no. 3, pp. 154-60, 1994.
- [8] Favara BE, Feller AC, Pauli M, Jaffe ES, Weiss LM, Arico M, Bucsky P, Egeler RM, Elinder G, Gadner H, Gresik M, Henter JI, Imashuku S, Janka-Schaub G, Jaffe R, Ladisch S, Nezelof C, Pritchard J, "Contemporary classification of histiocytic disorders. The WHO Committee On Histiocytic/Reticulum Cell Proliferations. Reclassification Working Group of the Histiocyte Society," *Med Pediatr Oncol*, vol. 29, no. 3, pp. 157-66, 1997.
- [9] Vaiselbuh SR, Bryceson YT, Allen CE, Whitlock JA, Ablu O, "Updates on histiocytic disorders," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 61, no. 7, pp. 1329-35, 2014.
- [10] Emile JF, Ablu O, Fraitag S, Horne A, Haroche J, Donadieu J, Requena-Caballero L, Jordan MB, Abdel-Wahab O, Allen CE, Charlotte F, Diamond EL, Egeler RM, Fischer A, Herrera JG, Henter JI, Janku F, Merad M, Picarsic J, Rodriguez-Galindo C, Rollins BJ et al, "Revised classification of histiocytoses and neoplasms of the macrophage-dendritic cell lineages," *Blood*, vol. 127, no. 22, pp. 2672-81, 2016.
- [11] Hervier B, Haroche J, Arnaud L, Charlotte F, Donadieu J, Néel A, Lifermann F, Villabona C, Graffin B, Hermine O, Rigolet A, Roubille C, Hachulla E, Carmoi T, Bézier M, Meignin V, Conrad M, Marie L, Kostrzewa E, French Histiocytoses Study Group, "Association of both Langerhans cell histiocytosis and Erdheim-Chester disease linked to the BRAFV600E mutation," *Blood*, vol. 124, no. 7, pp. 1119-26, 2014.
- [12] Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA, MacConaill LE, Brandner B, Calicchio ML, Kuo FC, Ligon AH, Stevenson KE, Kehoe SM, Garraway LA, Hahn WC, Meyerson M, Fleming

- MD, Rollins BJ., "Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis," *Blood*, vol. 116, no. 11, pp. 1919-23, 2010.
- [13] Nelson DS, van Halteren A, Quispel WT, van den Bos C, Bovée JV, Patel B, Badalian-Very G, van Hummelen P, Ducar M, Lin L, MacConaill LE, Egeler RM, Rollins BJ, "MAP2K1 and MAP3K1 mutations in Langerhans cell histiocytosis," *Genes Chromosomes Cancer*, vol. 54, no. 6, pp. 361-8, 2015.
- [14] Haroche J, Charlotte F, Arnaud L, von Deimling A, Hélias-Rodzewicz Z, Hervier B, Cohen-Aubart F, Launay D, Lesot A, Mokhtari K, Canioni D, Galmiche L, Rose C, Schmalzing M, Croockewit S, Kambouchner M, Copin MC, Fraitag S, Sahn F, Brousse N et al, "High prevalence of BRAF V600E mutations in Erdheim-Chester disease but not in other non-Langerhans cell histiocytoses," *Blood*, vol. 120, no. 13, pp. 2700-3, 2012.
- [15] Diamond EL, Durham BH, Haroche J, Yao Z, Ma J, Parikh SA, Wang Z, Choi J, Kim E, Cohen-Aubart F, Lee SC, Gao Y, Micol JB, Campbell P, Walsh MP, Sylvester B, Dolgalev I, Aminova O, Heguy A, Zappile P, Nakitandwe J, Ganzel C, Dalton JD, Ellison DW et al, "Diverse and Targetable Kinase Alterations Drive Histiocytic Neoplasms," *Cancer Discov*, vol. 6, no. 2, pp. 154-65, 2016.
- [16] Coppes-Zantinga A, Egeler RM., "The Langerhans cell histiocytosis X files revealed," *Br J Haematol*, vol. 116, no. 1, pp. 3-9, 2002.
- [17] Leonidas JC, Guelfguat M, Valderrama E., "Langerhans' cell histiocytosis," *Lancet*, vol. 361, no. 9365, pp. 1293-5, 2003.
- [18] Hand A, "Polyuria and tuberculosis," *Archives of Pediatrics*, vol. 10, pp. 673-5, 1893.
- [19] Hand A, "Defects of membranous bones, exophthalmos and polyuria in childhood: is it dyspituitarism?," *American Journal of Medical Science*, vol. 162, pp. 509-15, 1921.
- [20] Abt A, Denenholz E, "Letterer-Siwe's disease: splenohepatomegaly, associated with widespread hyperplasia of non lipid-storing macrophages: discussion of the so-called reticuloendotheliosis," *American Journal of Diseases of Children*, vol. 51, pp. 499-522, 1936.
- [21] Otani S, Ehrlich JC, "Solitary granuloma of bone: Simulating primary neoplasm.," *Am J Pathol*, vol. 16, no. 4, pp. 479-490, 1940.
- [22] Lichtenstein L, Jeffe HL, "Eosinophilic granuloma of bone: With report of a case," *Am J Pathol*, vol. 16, no. 5, pp. 595-604, 1940.
- [23] Farber S, "The nature of "Solitary or Eosinophilic Granuloma" of bone," *American Journal of Pathology*, vol. 17, pp. 625-29, 1941.
- [24] Green W, Farber S, ""Eosinophilic or Solitary Ganuloma" of bone," *Journal of Bone and Joint Surgery*, vol. 24, pp. 499-526, 1942.
- [25] Jaffe H, Lichtenstein L, "Eosinophilic granuloma of bone. A condition affecting one, several or many bones, but apparently limited to the skeleton, and representing the

mildest clinical expression of the peculiar inflammatory histiocytosis also underlying Letterer-Siwe disease...," *Archives of Pathology*, vol. 37, pp. 99-118, 1944.

- [26] Lichtenstein L, "Histiocytosis X; integration of eosinophilic granuloma of bone, Letterer-Siwe disease, and Schüller-Christian disease as related manifestations of a single nosologic entity," *AMA Arch Pathol*, vol. 56, no. 1, pp. 84-102, 1953.
- [27] Birbeck M, Breathnach A, Everall J, "An electron microscope study of basal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 37, pp. 51-63, 1961.
- [28] Nezelof C, Basset F, Rousseau MF, "Histiocytosis X histogenetic arguments for a Langerhans cell origin," *Biomedicine*, vol. 18, no. 5, pp. 365-71, 1973.
- [29] Risdall RJ, Dehner LP, Duray P, Kobrinsky N, Robison L, Nesbit ME Jr, "Histiocytosis X (Langerhans' cell histiocytosis). Prognostic role of histopathology.," *Arch Pathol Lab Med*, vol. 107, no. 2, pp. 59-63, 1983.
- [30] Nezelof C, Basset F., "Langerhans cell histiocytosis research. Past, present, and future.," *Hematol Oncol Clin North Am*, vol. 12, no. 2, pp. 385-406, 1998.
- [31] PDQ Pediatric Treatment Editorial Board, "Langerhans Cell Histiocytosis Treatment (PDQ®): Health Professional Version," in *PDQ Cancer Information Summaries [Internet]*, Bethesda (MD), National Cancer Institute (US), 2019.
- [32] Allen CE, Li L, Peters TL, Leung HC, Yu A, Man TK, Gurusiddappa S, Phillips MT, Hicks MJ, Gaikwad A, Merad M, McClain KL, "Cell-specific gene expression in Langerhans cell histiocytosis lesions reveals a distinct profile compared with epidermal Langerhans cells," *J Immunol*, vol. 184, no. 8, pp. 4557-67, 2010.
- [33] Ginhoux F, Merad M, "Ontogeny and homeostasis of Langerhans cells," *Immunol Cell Biol*, vol. 88, no. 4, pp. 387-92, 2010.
- [34] Carstensen H, Ornvold K, "The epidemiology of Langerhans cell histiocytosis in children in Denmark," *Med Pediatr Oncol*, vol. 21, no. 5, pp. A-15, 387-8, 1993.
- [35] Salotti JA, Nanduri V, Pearce MS, Parker L, Lynn R, Windebank KP, "Incidence and clinical features of Langerhans cell histiocytosis in the UK and Ireland," *Arch Dis Child*, vol. 94, no. 5, pp. 376-80, 2009.
- [36] Stålemark H, Laurencikas E, Karis J, Gavhed D, Fadeel B, Henter JI, "Incidence of Langerhans cell histiocytosis in children: a population-based study," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 51, no. 1, pp. 76-81, 2008.
- [37] Guyot-Goubin A, Donadieu J, Barkaoui M, Bellec S, Thomas C, Clavel J, "Descriptive epidemiology of childhood Langerhans cell histiocytosis in France, 2000-2004," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 51, no. 1, pp. 71-5, 2008.

- [38] Alston RD, Tatevossian RG, McNally RJ, Kelsey A, Birch JM, Eden TO, "Incidence and survival of childhood Langerhans cell histiocytosis in Northwest England from 1954 to 1998," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 48, no. 5, pp. 555-60, 2007.
- [39] Ribeiro KB, Degar B, Antoneli CB, Rollins B, Rodriguez-Galindo C, "Ethnicity, race, and socioeconomic status influence incidence of Langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 62, no. 6, pp. 982-7, 2015.
- [40] The French Langerhans' Cell Histiocytosis Study Group, "A multicentre retrospective survey of Langerhans' cell histiocytosis: 348 cases observed between 1983 and 1993," *Arch Dis Child*, vol. 75, no. 1, pp. 17-24, 1996.
- [41] Baumgartner I, von Hochstetter A, Baumert B, Luetolf U, Follath F, "Langerhans'-cell histiocytosis in adults," *Med Pediatr Oncol*, vol. 28, no. 1, pp. 9-14, 1997.
- [42] Aricò M, Nichols K, Whitlock JA, Arceci R, Haupt R, Mittler U, Kühne T, Lombardi A, Ishii E, Egeler RM, Danesino C, "Familial clustering of Langerhans cell histiocytosis," *Br J Haematol*, vol. 107, no. 4, pp. 883-8, 1999.
- [43] Hicks J, Flaitz CM., "Langerhans cell histiocytosis: current insights in a molecular age with emphasis on clinical oral and maxillofacial pathology practice," *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, vol. 100, no. 2 suppl, pp. S42-66, 2005.
- [44] Grana N., "Langerhans cell histiocytosis," *Cancer Control*, vol. 21, no. 4, pp. 328-34, 2014.
- [45] Yağcı B, Varan A, Çağlar M, Söylemezoğlu F, Sungur A, Orhan D, Yalçın B, Akyüz C, Kutluk T, Büyükpamukçu M, "Langerhans cell histiocytosis: retrospective analysis of 217 cases in a single center," *Pediatr Hematol Oncol*, vol. 25, no. 5, pp. 399-408, 2008.
- [46] Alston RD, Tatevossian RG, McNally RJ, Kelsey A, Birch JM, Eden TO, "Incidence and survival of childhood Langerhans cell histiocytosis in Northwest England from 1954 to 1998," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 48, no. 5, pp. 555-60, 2007.
- [47] Gadner H, Minkov M, Grois N, Pötschger U, Thiem E, Aricò M, Astigarraga I, Braier J, Donadieu J, Henter JI, Janka-Schaub G, McClain KL, Weitzman S, Windebank K, Ladisch S; Histiocyte Society., "Therapy prolongation improves outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis," *Blood*, vol. 121, no. 25, pp. 5006-14, 2013.
- [48] Nicholson HS, Egeler RM, Nesbit ME , "The epidemiology of Langerhans cell histiocytosis," *Hematol Oncol Clin North Am*, vol. 12, no. 2, p. 379, 1998.
- [49] Hamre M, Hedberg J, Buckley J, Bhatia S, Finlay J, Meadows A, Nesbit M, Smithson A, Robison L, "Langerhans cell histiocytosis: an exploratory epidemiologic study of 177 cases," *Med Pediatr Oncol*, vol. 28, no. 2, pp. 92-7, 1997.
- [50] Bhatia S, Nesbit ME Jr, Egeler RM, Buckley JD, Mertens A, Robison LL., "Epidemiologic study of Langerhans cell histiocytosis in children," *J Pediatr*, vol. 130, no. 5, pp. 774-84, 1997.

- [51] Venkatramani R, Rosenberg S, Indramohan G, Jeng M, Jubran R, "An exploratory epidemiological study of Langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 59, no. 7, pp. 1324-6, 2012.
- [52] Akefeldt SO, Finnström O, Gavhed D, Henter JI, "Langerhans cell histiocytosis in children born 1982-2005 after in vitro fertilization," *Acta Paediatr*, vol. 101, no. 11, pp. 1151-5, 2012.
- [53] de Chadarevian JP, Pawel BR, "Hereditary Langerhans cell histiocytosis: instances of apparent vertical transmission," *Med Pediatr Oncol*, vol. 31, no. 6, p. 559, 1998.
- [54] Huang F1, Arceci R, "The histiocytoses of infancy," *Semin Perinatol*, vol. 23, no. 4, pp. 319-31, 1999.
- [55] Aricò M, Haupt R, Russotto VS, Bossi G, Scappaticci S, Danesino C, "Langerhans cell histiocytosis in two generations: a new family and review of the literature," *Med Pediatr Oncol*, vol. 36, no. 2, pp. 314-6, 2001.
- [56] Aboud MJ, Kadhim MM, "Langerhans-cell histiocytosis (LCH) a presentation of two siblings with two different entities," *Springerplus*, vol. 16, no. 4, p. 351, 2015.
- [57] Pineles SL, Liu GT, Acebes X, Arruga J, Nasta S, Glaser R, Pramick M, Fogt F, Roux PL, Gausas RE, "Presence of Erdheim-Chester disease and Langerhans cell histiocytosis in the same patient: a report of 2 cases," *J Neuroophthalmol*, vol. 31, no. 3, p. 217, 2011.
- [58] Wang KH, Cheng CJ, Hu CH, Lee WR, "Coexistence of localized Langerhans cell histiocytosis and cutaneous Rosai-Dorfman disease," *Br J Dermatol*, vol. 147, no. 4, p. 770, 2002.
- [59] Tazi A, Soler P, Hance AJ, "Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis," *Thorax*, vol. 55, no. 5, pp. 405-16, 2000.
- [60] Vassallo R, Ryu JH, Colby TV, Hartman T, Limper AH, "Pulmonary Langerhans'-cell histiocytosis," *N Engl J Med*, vol. 342, no. 26, pp. 1969-78, 2000.
- [61] Girschikofsky M, Arico M, Castillo D, Chu A, Doberauer C, Fichter J, Haroche J, Kaltsas GA, Makras P, Marzano AV, de Menthon M, Micke O, Passoni E, Seegenschmiedt HM, Tazi A, McClain KL., "Management of adult patients with Langerhans cell histiocytosis: recommendations from an expert panel on behalf of Euro-Histio-Net," *Orphanet J Rare Dis*, vol. 8, p. 72, 2013.
- [62] Kaltsas GA, Powles TB, Evanson J, Plowman PN, Drinkwater JE, Jenkins PJ, Monson JP, Besser GM, Grossman AB, "Hypothalamo-pituitary abnormalities in adult patients with langerhans cell histiocytosis: clinical, endocrinological, and radiological features and response to treatment," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 85, no. 4, pp. 1370-6, 2000.
- [63] Prosch H, Grois N, Prayer D, Waldhauser F, Steiner M, Minkov M, Gadner H, "Central diabetes insipidus as presenting symptom of Langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 43, no. 5, pp. 594-9, 2004.

- [64] Makras P, Kaltsas G, "Langerhans cell histiocytosis and pituitary function," *Endocrine*, vol. 48, no. 3, pp. 728-9, 2015.
- [65] Aricò M, Girschikofsky M, Génèreau T, Klersy C, McClain K, Grois N, Emile JF, Lukina E, De Juli E, Danesino C, "Langerhans cell histiocytosis in adults. Report from the International Registry of the Histiocyte Society," *Eur J Cancer*, vol. 36, no. 16, pp. 2341-8, 2003.
- [66] Makras P, Alexandraki KI, Chrousos GP, Grossman AB, Kaltsas GA, "Endocrine manifestations in Langerhans cell histiocytosis," *Trends Endocrinol Metab.*, vol. 18, no. 6, pp. 252-7, 2007.
- [67] Amato MC, Elias LL, Elias J, Santos AC, Bellucci AD, Moreira AC, De Castro M, "Endocrine disorders in pediatric - onset Langerhans Cell Histiocytosis," *Horm Metab Res*, vol. 38, no. 11, pp. 746-51, 2006.
- [68] Makras P, Samara C, Antoniou M, Zetos A, Papadogias D, Nikolakopoulou Z, Andreakos E, Toloumis G, Kontogeorgos G, Piaditis G, Kaltsas GA, "Evolving radiological features of hypothalamo-pituitary lesions in adult patients with Langerhans cell histiocytosis (LCH)," *Neuroradiology*, vol. 48, no. 1, pp. 37-44, 2006.
- [69] Donadieu J, Rolon MA, Pion I, Thomas C, Doz F, Barkaoui M, Robert A, Deville A, Mazingue F, David M, Brauner R, Cabrol S, Garel C, Polak M; French LCH Study Group, "Incidence of growth hormone deficiency in pediatric-onset Langerhans cell histiocytosis: efficacy and safety of growth hormone treatment," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 28, no. 2, pp. 604-9, 2004.
- [70] Burnett A, Carney D, Mukhopadhyay S, Scalzetti EM, Leino D, Souid AK., "Thyroid involvement with Langerhans cell histiocytosis in a 3-year-old male," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 50, no. 3, pp. 726-7, 2008.
- [71] Patten DK, Wani Z, Tolley N, "Solitary langerhans histiocytosis of the thyroid gland: a case report and literature review," *Head Neck Pathol*, vol. 6, no. 2, pp. 279-89, 2012.
- [72] Saqi A, Kuker AP, Ebner SA, Ausiello J, Jobanputra V, Bhagat G, Giorgadze TA, "Langerhans Cell Histiocytosis: Diagnosis on Thyroid Aspirate and Review of the Literature," *Head Neck Pathol*, vol. 9, no. 4, p. 496–502, 2015.
- [73] Thompson LD, Wenig BM, Adair CF, Smith BC, Heffess CS, "Langerhans cell histiocytosis of the thyroid: a series of seven cases and a review of the literature," *Mod Pathol*, vol. 9, no. 2, pp. 145-9, 1996.
- [74] Lassalle S, Hofman V, Santini J, Sadoul JL, Hofman P, "Isolated Langerhans cell histiocytosis of the thyroid and Graves' disease: an unreported association," *Pathology*, vol. 40, no. 5, pp. 525-7, 2008.
- [75] AlZahrani R, Algarni M, Alhakami H, AlSubayea H, Alfattani N, Guler M, Satti M, "Thyroid Langerhans cell histiocytosis and papillary thyroid carcinoma," *Gland Surg*, vol. 5, no. 5, pp. 537-540, 2016.

- [76] Cai YF, Wang QX, Ni CJ, Dong SY, Lv L, Li Q, Chen ED, Zhang XH, "A Case Report: The Diagnosis and Therapeutic Evaluation for a Rare Disease of Langerhans Cell Histiocytosis Involving Thyroid," *Medicine (Baltimore)*, vol. 94, no. 44, p. e1891, 2015.
- [77] Alexandraki KI, Makras P, Protogerou AD, Dimitriou K, Stathopoulou A, Papadogias DS, Voidonikola P, Piaditis G, Pittas A, Papamichael CM, Grossman AB, Kaltsas G, "Cardiovascular risk factors in adult patients with multisystem Langerhans-cell histiocytosis: evidence of glucose metabolism abnormalities," *QJM*, vol. 101, no. 1, pp. 31-40, 2008.
- [78] Makras P, Terpos E, Kanakis G, Papatheodorou A, Anastasilakis AD, Kokkoris P, Kaltsas GA, "Reduced bone mineral density in adult patients with Langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 58, no. 5, pp. 819-22, 2012.
- [79] Titgemeyer C, Grois N, Minkov M, Flucher-Wolfram B, Gatterer-Menz I, Gadner H, "Pattern and course of single-system disease in Langerhans cell histiocytosis data from the DAL-HX 83- and 90-study," *Med Pediatr Oncol*, vol. 37, no. 2, pp. 108-14, 2001.
- [80] Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Ohga S, Shioda Y, Okimoto Y, Kudo K, Ishii E; HLH/LCH Committee of the Japanese Society of Pediatric Hematology, "Nationwide survey of single-system single site Langerhans cell histiocytosis in Japan," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 54, no. 1, pp. 98-102, 2010.
- [81] Munn S, Chu AC, "Langerhans cell histiocytosis of the skin," *Hematol Oncol Clin North Am*, vol. 12, no. 2, pp. 269-86, 1998.
- [82] Morren MA, Vanden Broecke K, Vangeebergen L, Sillevs-Smitt JH, Van Den Berghe P, Hauben E, Jacobs S, Van Gool SW, "Diverse Cutaneous Presentations of Langerhans Cell Histiocytosis in Children: A Retrospective Cohort Study," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 63, no. 3, pp. 486-92, 2016.
- [83] Lau L, Krafchik B, Trebo MM, Weitzman S, "Cutaneous Langerhans cell histiocytosis in children under one year," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 46, no. 1, pp. 66-71, 2006.
- [84] Battistella M, Fraitag S, Teillac DH, Brousse N, de Prost Y, Bodemer C., "Neonatal and early infantile cutaneous langerhans cell histiocytosis: comparison of self-regressive and non-self-regressive forms," *Arch Dermatol*, vol. 146, no. 2, pp. 149-56, 2010.
- [85] Simko SJ, Garmezzy B, Abhyankar H, Lupo PJ, Chakraborty R, Lim KP, Shih A, Hicks MJ, Wright TS, Levy ML, McClain KL, Allen CE, "Differentiating skin-limited and multisystem Langerhans cell histiocytosis," *J Pediatr*, vol. 165, no. 5, pp. 990-6, 2014.
- [86] Zunino-Goutorbe C, Eschard C, Durlach A, Bernard P, "Congenital solitary histiocytoma: a variant of Hashimoto-Pritzker histiocytosis. A retrospective study of 8 cases," *Dermatology*, vol. 216, no. 2, pp. 118-24, 2008.
- [87] Abla O, Egeler RM, Weitzman S, "Langerhans cell histiocytosis: Current concepts and treatments," *Cancer Treat Rev*, vol. 36, no. 4, pp. 354-9, 2010.

- [88] Krasnokutsky MV1., "The button sequestrum sign," *Radiology*, vol. 236, no. 3, pp. 1026-7, 2005.
- [89] Khung S, Budzik JF, Amzallag-Bellenger E, Lambilliotte A, Soto Ares G, Cotten A, Boutry N, "Skeletal involvement in Langerhans cell histiocytosis," *Insights Imaging*, vol. 4, no. 5, pp. 569-79, 2013.
- [90] Okamoto K, Ito J, Furusawa T, Sakai K, Tokiguchi S, "Imaging of calvarial eosinophil granuloma," *Neuroradiology*, vol. 41, no. 10, pp. 723-8, 1999.
- [91] Morón FE, Morriss MC, Jones JJ, Hunter JV, "Lumps and bumps on the head in children: use of CT and MR imaging in solving the clinical diagnostic dilemma," *Radiographics*, vol. 24, no. 6, pp. 1655-74, 2004.
- [92] D'Ambrosio N, Soohoo S, Warshall C, Johnson A, Karimi S, "Craniofacial and intracranial manifestations of langerhans cell histiocytosis: report of findings in 100 patients," *AJR Am J Roentgenol*, vol. 191, no. 2, pp. 589-97, 2008.
- [93] Fernández-Latorre F, Menor-Serrano F, Alonso-Charterina S, Arenas-Jiménez J, "Langerhans' cell histiocytosis of the temporal bone in pediatric patients: imaging and follow-up," *AJR Am J Roentgenol*, vol. 174, no. 1, pp. 217-21, 2000.
- [94] Herwig MC, Wojno T, Zhang Q, Grossniklaus HE, "Langerhans cell histiocytosis of the orbit: five clinicopathologic cases and review of the literature," *Surv Ophthalmol*, vol. 58, no. 4, pp. 330-40, 2013.
- [95] Azouz EM, Saigal G, Rodriguez MM, Podda A, "Langerhans' cell histiocytosis: pathology, imaging and treatment of skeletal involvement," *Pediatr Radiol*, vol. 35, no. 2, pp. 103-15, 2005.
- [96] Peng XS, Pan T, Chen LY, Huang G, Wang J, "Langerhans' cell histiocytosis of the spine in children with soft tissue extension and chemotherapy," *Int Orthop*, vol. 33, no. 3, pp. 731-6, 2009.
- [97] Jang KS, Jung YY, Kim SW, "Langerhans cell histiocytosis causing cervical myelopathy in a child," *J Korean Neurosurg Soc*, vol. 47, no. 6, pp. 458-60, 2010.
- [98] Stull MA, Kransdorf MJ, Devaney KO, "Langerhans cell histiocytosis of bone," *Radiographics*, vol. 12, no. 4, pp. 801-23, 1992.
- [99] Song YS, Lee IS, Yi JH, Cho KH, Kim DK, Song JW, "Radiologic findings of adult pelvis and appendicular skeletal Langerhans cell histiocytosis in nine patients," *Skeletal Radiol*, vol. 40, no. 11, pp. 1421-6, 2011.
- [100] Yadav SP, Kharya G, Mohan N, Sehgal A, Bhat S, Jain S, Kapoor G, Sachdeva A, "Langerhans cell histiocytosis with digestive tract involvement," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 55, no. 4, pp. 748-53, 2010.
- [101] Geissmann F, Thomas C, Emile JF, Micheau M, Canioni D, Cerf-Bensussan N, Lazarovits AI, Brousse N, "Digestive tract involvement in Langerhans cell histiocytosis. The

French Langerhans Cell Histiocytosis Study Group., " *J Pediatr*, vol. 129, no. 6, pp. 836-45, 1996.

- [102] Hait E, Liang M, Degar B, Glickman J, Fox VL, "Gastrointestinal tract involvement in Langerhans cell histiocytosis: case report and literature review," *Pediatrics*, vol. 118, no. 5, pp. e1593-9, 2006.
- [103] Behdad A, Owens SR, "Langerhans cell histiocytosis involving the gastrointestinal tract," *Arch Pathol Lab Med*, vol. 138, no. 10, pp. 1350-2, 2014.
- [104] Agarwal KK, Seth R, Behra A, Jana M, Kumar R, "18F-Fluorodeoxyglucose PET/CT in Langerhans cell histiocytosis: spectrum of manifestations," *Jpn J Radiol*, vol. 34, no. 4, pp. 267-76, 2016.
- [105] Schmidt S, Eich G, Geoffray A, Hanquinet S, Waibel P, Wolf R, Letovanec I, Alamo-Maestre L, Gudinchet F, "Extraosseous langerhans cell histiocytosis in children," *Radiographics*, vol. 28, no. 3, pp. 707-26, 2008.
- [106] Hait E, Liang M, Degar B, Glickman J, Fox VL, "Gastrointestinal tract involvement in Langerhans cell histiocytosis: case report and literature review," *Pediatrics*, vol. 118, no. 5, pp. e1593-9, 2006.
- [107] Karimzada MM, Matthews MN, French SW, DeUgarte D, Kim DY, "Langerhans cell histiocytosis masquerading as acute appendicitis: Case report and review.," *World J Gastrointest Endosc*, vol. 61, no. 9, pp. 139-144, 2017.
- [108] Singhi AD, Montgomery EA, "Gastrointestinal tract langerhans cell histiocytosis: A clinicopathologic study of 12 patients," *Am J Surg Pathol*, vol. 35, no. 2, pp. 305-10, 2011.
- [109] Braier J, Ciocca M, Latella A, de Davila MG, Drajer M, Imventarza O., "Cholestasis, sclerosing cholangitis, and liver transplantation in Langerhans cell Histiocytosis," *Med Pediatr Oncol*, vol. 38, no. 3, pp. 178-82, 2002.
- [110] Campos MK, Viana MB, de Oliveira BM, Ribeiro DD, Silva CM, "Langerhans cell histiocytosis: a 16-year experience," *J Pediatr (Rio J)*, vol. 83, no. 1, pp. 79-86, 2007.
- [111] Yi X, Han T, Zai H, Long X, Wang X, Li W, "Liver involvement of Langerhans' cell histiocytosis in children," *Int J Clin Exp Med*, vol. 8, no. 5, pp. 7098-106, 2015.
- [112] Wong A, Ortiz-Neira CL, Reslan WA, Sharon R, Pinto-Rojas A, Kaura D, Anderson R, "Liver involvement in Langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Radiol*, vol. 36, no. 10, pp. 1105-7, 2006.
- [113] Jaffe R, "Liver involvement in the histiocytic disorders of childhood," *Pediatr Dev Pathol*, vol. 7, no. 3, pp. 214-25, 2004.
- [114] Kaplan KJ, Goodman ZD, Ishak KG, "Liver involvement in Langerhans' cell histiocytosis: a study of nine cases," *Mod Pathol*, vol. 21, no. 4, pp. 370-8, 1999.

- [115] Abdallah M, Génèreau T, Donadieu J, Emile JF, Chazouillères O, Gaujoux-Viala C, Cabane J, "Langerhans' cell histiocytosis of the liver in adults," *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, vol. 35, no. 6-7, pp. 475-81, 2011.
- [116] Pagnoux C, Hayem G, Roux F, Palazzo E, Meyer O, "Sclerosing cholangitis as a complication of Langerhans' cell histiocytosis," *Rev Med Interne*, vol. 24, no. 5, pp. 324-7, 2003.
- [117] Griffiths W, Davies S, Gibbs P, Thillainayagam A, Alexander G, "Liver transplantation in an adult with sclerosing cholangitis due to Langerhans cell histiocytosis," *J Hepatol*, vol. 44, no. 4, pp. 829-31, 2006.
- [118] Tang Y, Zhang Z, Chen M, Ju W, Wang D, Ji F, Ren Q, Guo Z, He X, "Severe sclerosing cholangitis after Langerhans cell histiocytosis treated by liver transplantation: An adult case report," *Medicine (Baltimore)*, vol. 96, no. 9, p. e5994, 2017.
- [119] Goyal R, Das A, Nijhawan R, Bansal D, Marwaha RK, "Langerhans cell histiocytosis infiltration into pancreas and kidney," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 49, no. 5, pp. 748-50, 2007.
- [120] Madrigal-Martínez-Pereda C, Guerrero-Rodríguez V, Guisado-Moya B, Meniz-García C, "Langerhans cell histiocytosis: literature review and descriptive analysis of oral manifestations," *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, vol. 14, no. 5, pp. E222-8, 2009.
- [121] Plona GA, Wiltz M, Kelsch R, "Spontaneous resolution of an eosinophilic granuloma of the mandible following open biopsy," *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, vol. 122, no. 2, pp. e60-3, 2016.
- [122] Dagenais M, Pharoah MJ, Sikorski PA, "The radiographic characteristics of histiocytosis X. A study of 29 cases that involve the jaws.," *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, vol. 74, pp. 230-6, 1992.
- [123] Pacino GA, Serrat A, Redondo LM, Verrier A, "Langerhans cell histiocytosis: clinical diagnostic features and current concepts," *Med Oral*, vol. 4, no. 5, pp. 607-618, 1999.
- [124] Hernández-Juyol M, Boj-Quesada JR, Gallego Melcon S, "Oral manifestations of Langerhans cell histiocytosis. Case study of a two-year-old boy.," *Med Oral*, vol. 8, no. 1, pp. 19-25, 2003.
- [125] Becelli R, Carboni A, Gianni C, Alterio A, Renzi G, "A rare condition of Hand-Schüller-Christian disease," *J Craniofac Surg*, vol. 13, no. 6, pp. 759-61, 2002.
- [126] Mínguez I, Mínguez JM, Bonet J, Peñarrocha M, Sanchis JM, "Oral manifestations of chronic disseminated histiocytosis. A report of 10 cases," *Med Oral*, vol. 9, no. 2, pp. 149-54, 2004.
- [127] Jaffe R, Weiss LM, Facchetti F, " Tumors derived from Langerhans cells," in *WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues*, Lyon, IARC Press, 2008, pp. 358-60.

- [128] De Young B, Egeler RM, Rollins BJ, "Langerhans cell histiocytosis," in *WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone*, 4th ed ed., Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2013, p. 356.
- [129] Gatalica Z, Bilalovic N, Palazzo JP, Bender RP, Swensen J, Millis SZ, Vranic S, Von Hoff D, Arceci RJ, "Disseminated histiocytoses biomarkers beyond BRAFV600E: frequent expression of PD-L1," *Oncotarget*, vol. 6, no. 23, pp. 19819-25, 2015.
- [130] Grois N, Prayer D, Prosch H, Lassmann H, CNS LCH Co-operative Group, "Neuropathology of CNS disease in Langerhans cell histiocytosis," *Brain*, vol. 128, no. Pt 4, p. 829, 2005.
- [131] Surico G, Muggeo P, Rigillo N, Gadner H, "Concurrent Langerhans cell histiocytosis and myelodysplasia in children," *Med Pediatr Oncol*, vol. 35, no. 4, p. 421, 2000.
- [132] Favara BE, Jaffe R, Egeler RM, "Macrophage activation and hemophagocytic syndrome in langerhans cell histiocytosis: report of 30 cases," *Pediatr Dev Pathol*, vol. 5, no. 2, p. 130, 2002.
- [133] Nezelof C, Basset F, "An hypothesis Langerhans cell histiocytosis: the failure of the immune system to switch from an innate to an adaptive mode," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 42, no. 5, pp. 398-400, 2004.
- [134] Valladeau J, Duvert-Frances V, Pin JJ, Dezutter-Dambuyant C, Vincent C, Massacrier C, Vincent J, Yoneda K, Banchereau J, Caux C, Davoust J, Saeland S., "The monoclonal antibody DCGM4 recognizes Langerin, a protein specific of Langerhans cells, and is rapidly internalized from the cell surface," *Eur J Immunol*, vol. 29, no. 9, pp. 2695-704, 1999.
- [135] Valladeau J, Ravel O, Dezutter-Dambuyant C, Moore K, Kleijmeer M, Liu Y, Duvert-Frances V, Vincent C, Schmitt D, Davoust J, Caux C, Lebecque S, Saeland S., "Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules," *Immunity*, vol. 12, no. 1, pp. 71-81, 2000.
- [136] Merad M, Ginhoux F, Collin M, "Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells," *Nat Rev Immunol*, vol. 8, no. 12, pp. 935-47, 2008.
- [137] Ginhoux F, Tacke F, Angeli V, Bogunovic M, Loubreau M, Dai XM, Stanley ER, Randolph GJ, Merad M., "Langerhans cells arise from monocytes in vivo," *Nat Immunol*, vol. 7, no. 3, pp. 265-73, 2006.
- [138] Yousem SA, Colby TV, Chen YY, Chen WG, Weiss LM, "Pulmonary Langerhans' cell histiocytosis: molecular analysis of clonality," *Am J Surg Pathol*, vol. 25, no. 5, pp. 630-6., 2001.
- [139] Yousem SA, Dacic S, Nikiforov YE, Nikiforova M, "Pulmonary Langerhans cell histiocytosis: profiling of multifocal tumors using next-generation sequencing identifies concordant occurrence of BRAF V600E mutations," *Chest*, vol. 143, no. 6, pp. 1679-1684, 2013.

- [140] Dimmler A, Geddert H, Werner M, Faller G, "Molecular analysis of BRAF V600E mutation in multiple nodules of pulmonary Langerhans cell histiocytosis," *Virchows Arch*, vol. 470, no. 4, pp. 429-435, 2017.
- [141] Badalian-Very G, Vergilio JA, Fleming M, Rollins BJ., "Pathogenesis of Langerhans cell histiocytosis," *Annu Rev Pathol*, vol. 24, no. 8, pp. 1-20, 2013.
- [142] Chakraborty R, Hampton OA, Shen X, Simko SJ, Shih A, Abhyankar H, Lim KP, Covington KR, Trevino L, Dewal N, Muzny DM, Doddapaneni H, Hu J, Wang L, Lupo PJ, Hicks MJ, Bonilla DL, Dwyer KC, Berres ML, Poulikakos PI, Merad M, McClain KL, Wheeler DA et al, "Mutually exclusive recurrent somatic mutations in MAP2K1 and BRAF support a central role for ERK activation in LCH pathogenesis," *Blood*, vol. 124, no. 19, pp. 3007-15, 2014.
- [143] Lau SK, Chu PG, Weiss LM, "Immunohistochemical expression of Langerin in Langerhans cell histiocytosis and non-Langerhans cell histiocytic disorders," *Am J Surg Pathol*, vol. 32, no. 4, pp. 615-9, 2008.
- [144] Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, Advani R, Ghielmini M, Salles GA, Zelenetz AD, Jaffe ES, "The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms," *Blood*, vol. 127, no. 20, pp. 2375-90, 2016.
- [145] Haupt R, Minkov M, Astigarraga I, Schäfer E, Nanduri V, Jubran R, Egeler RM, Janka G, Micic D, Rodriguez-Galindo C, Van Gool S, Visser J, Weitzman S, Donadieu J; Euro Histo Network, "Langerhans cell histiocytosis (LCH): guidelines for diagnosis, clinical work-up, and treatment for patients till the age of 18 years," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 60, no. 2, pp. 175-84, 2013.
- [146] Phillips M, Allen C, Gerson P, McClain K., "Comparison of FDG-PET scans to conventional radiography and bone scans in management of Langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 52, no. 1, pp. 97-101, 2009.
- [147] Minkov M, Grois N, McClain K, Nanduri V et al, "Histiocyte Society Evaluation and Treatment Guidelines," *Histiocyte Society*, 2009.
- [148] Ronceray L, Pötschger U, Janka G, Gadner H, Minkov M; German Society for Pediatric Hematology and Oncology, Langerhans Cell Histiocytosis Study Group., "Pulmonary involvement in pediatric-onset multisystem Langerhans cell histiocytosis: effect on course and outcome," *J Pediatr*, vol. 161, no. 1, pp. 129-33, 2012.
- [149] Tazi A, Soler P, Hance AJ, "Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis.," *Thorax*, vol. 55, no. 5, pp. 405-16, 2000.
- [150] Vassallo R, Ryu JH, Colby TV, Hartman T, Limper AH, "Pulmonary Langerhans'-cell histiocytosis," *N Engl J Med*, vol. 342, no. 26, pp. 1969-78, 2000.
- [151] Braier J, Latella A, Balancini B, Castaños C, Rosso D, Chantada G, Ripoli M, Goldberg J, "Outcome in children with pulmonary Langerhans cell Histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 43, no. 7, pp. 765-9, 2004.

- [152] Donadieu J, Rolon MA, Pion I, Thomas C, Doz F, Barkaoui M, Robert A, Deville A, Mazingue F, David M, Brauner R, Cabrol S, Garel C, Polak M; French LCH Study Group, "Incidence of growth hormone deficiency in pediatric-onset Langerhans cell histiocytosis: efficacy and safety of growth hormone treatment," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 89, no. 2, pp. 604-9, 2004.
- [153] Grois N, Pötschger U, Prosch H, Minkov M, Arico M, Braier J, Henter JI, Janka-Schaub G, Ladisch S, Ritter J, Steiner M, Unger E, Gadner H; DALHX- and LCH I and II Study Committee, "Risk factors for diabetes insipidus in langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 46, no. 2, pp. 228-33, 2006.
- [154] Grois N, Fahrner B, Arceci RJ, Henter JI, McClain K, Lassmann H, Nanduri V, Prosch H, Prayer D; Histiocyte Society CNS LCH Study Group, "Central nervous system disease in Langerhans cell histiocytosis," *J Pediatr*, vol. 156, no. 6, pp. 873-81, 2010.
- [155] Greenberger JS, Crocker AC, Vawter G, Jaffe N, Cassady JR, "Results of treatment of 127 patients with systemic histiocytosis," *Medicine (Baltimore)*, vol. 60, no. 5, 1981.
- [156] Gadner H, Grois N, Pötschger U, Minkov M, Arico M, Braier J et al, "Improved outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis is associated with therapy intensification," vol. 111, no. 5, pp. 2556-62, 2008.
- [157] McClain KL, "Drug therapy for the treatment of Langerhans cell histiocytosis," *Expert Opin Pharmacother*, vol. 6, no. 14, pp. 2435-41, 2005.
- [158] Minkov M, Grois N, Heitger A, Pötschger U, Westermeier T, Gadner H, "Response to initial treatment of multisystem Langerhans cell histiocytosis: an important prognostic indicator," *Med Pediatr Oncol*, vol. 39, no. 6, pp. 581-5, 2002.
- [159] Gadner H, Grois N, Arico M, Broadbent V, Ceci A, Jakobson A et al, "A randomized trial of treatment for multisystem Langerhans' cell histiocytosis," *J Pediatr*, vol. 138, no. 5, pp. 728-34, 2001.
- [160] Titgemeyer C, Grois N, Minkov M, Flucher-Wolfram B, Gatterer-Menz I, Gadner H, "Pattern and course of single-system disease in Langerhans cell histiocytosis data from the DAL-HX 83- and 90-study," *Med Pediatr Oncol*, vol. 37, no. 2, pp. 108-14, 2001.
- [161] Cantu MA, Lupo PJ, Bilgi M, Hicks MJ, Allen CE, McClain KL, "Optimal therapy for adults with Langerhans cell histiocytosis bone lesions," *PLoS One*, vol. 7, no. 8, p. e43257, 2012.
- [162] Derenzini E, Fina MP, Stefoni V, Pellegrini C, Venturini F, Broccoli A, Gandolfi L, Pileri S, Fanti S, Lopci E, Castellucci P, Agostinelli C, Baccarani M, Zinzani PL, "MACOP-B regimen in the treatment of adult Langerhans cell histiocytosis: experience on seven patients," *Ann Oncol*, vol. 21, no. 6, pp. 1173-8, 2010.
- [163] Enrico Derenzini, Vittorio Stefoni, Cinzia Pellegrini, Letizia Gandolfi, Alessandro Broccoli, Beatrice Casadei, Federica Quirini, Lisa Argnani, Lorenzo Tonialini, Pier Luigi

Zinzani, "High efficacy of the MACOP-B regimen in the treatment of adult Langerhans cell histiocytosis, a 20 year experience," *BMC Cancer*, vol. 15, p. 879, 2015.

- [164] Montella L, Merola C, Merola G, Petillo L, Palmieri G., "Zoledronic acid in treatment of bone lesions by Langerhans cell histiocytosis," *J Bone Miner Metab*, vol. 27, no. 1, pp. 110-3, 2009.
- [165] Reichle A, Vogt T, Kunz-Schughart L, Bretschneider T, Bachthaler M, Bross K, Freund S, Andreesen R., "Anti-inflammatory and angiostatic therapy in chemorefractory multisystem Langerhans' cell histiocytosis of adults," *Br J Haematol*, vol. 128, no. 5, pp. 730-2, 2005.
- [166] Bernard F, Thomas C, Bertrand Y, Munzer M, Landman Parker J, Ouache M et al, "Multi-centre pilot study of 2-chlorodeoxyadenosine and cytosine arabinoside combined chemotherapy in refractory Langerhans cell histiocytosis with haematological dysfunction," *Eur J Cancer*, vol. 41, no. 17, pp. 2682-9, 2005.
- [167] Steiner M, Matthes-Martin S, Attarbaschi A, Minkov M, Grois N, Unger E et al, "Improved outcome of treatment-resistant high-risk Langerhans cell histiocytosis after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning," *Bone Marrow Transplant*, vol. 36, no. 3, pp. 215-25, 2005.
- [168] Cooper N, Rao K, Goulden N, Webb D, Amrolia P, Veys P, "The use of reduced-intensity stem cell transplantation in haemophagocytic lymphohistiocytosis and Langerhans cell histiocytosis," *Bone Marrow Transplant*, vol. 24, no. suppl 2, pp. S47-50, 2008.
- [169] Veys PA, Nanduri V, Baker KS, He W, Bandini G, Biondi A, Dalissier A, Davis JH, Eames GM, Egeler RM, Filipovich AH, Fischer A, Jürgens H, Krance R, Lanino E, Leung WH, Matthes S, Michel G, Orchard PJ, Pieczonka A, Ringdén O et al, "Haematopoietic stem cell transplantation for refractory Langerhans cell histiocytosis: outcome by intensity of conditioning," *Br J Haematol*, vol. 169, no. 5, pp. 711-8, 2015.
- [170] McClain KL, "Drug therapy for the treatment of Langerhans cell histiocytosis," *Expert Opin Pharmacother*, vol. 6, no. 14, pp. 2435-41, 2005.
- [171] Montella L, Insabato L, Palmieri G, "Imatinib mesylate for cerebral Langerhans'-cell histiocytosis," *N Engl J Med*, vol. 351, no. 10, pp. 1034-5, 2004.
- [172] Janku F, Amin HM, Yang D, Garrido-Laguna I, Trent JC, Kurzrock R, "Response of histiocytoses to imatinib mesylate: fire to ashes," *J Clin Oncol*, vol. 28, no. 31, pp. e633-6, 2010.
- [173] Rodriguez-Galindo C, Jeng M, Khuu P, McCarville MB, Jeha S, "Clofarabine in refractory Langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 51, no. 5, pp. 703-6, 2008.
- [174] Abraham A1, Alsultan A, Jeng M, Rodriguez-Galindo C, Campbell PK, "Clofarabine salvage therapy for refractory high-risk langerhans cell histiocytosis," *Pediatr Blood Cancer.*, vol. 60, no. 6, pp. E19-22, 2013.

- [175] Simko SJ, Tran HD, Jones J, Bilgi M, Beaupin LK, Coulter D, Garrington T, McCavit TL, Moore C, Rivera-Ortegón F, Shaffer L, Stork L, Turcotte L, Welsh EC, Hicks MJ, McClain KL, Allen CE, "Clofarabine salvage therapy in refractory multifocal histiocytic disorders, including Langerhans cell histiocytosis, juvenile xanthogranuloma and Rosai-Dorfman disease," *Pediatr Blood Cancer*, vol. 61, no. 3, pp. 479-87, 2014.
- [176] Atalar B, Miller RC, Dincbas FO, Geismar JH, Micke O, Akyurek S, Ozyar E, "Adult langerhans cell histiocytosis of bones : a rare cancer network study," *Acta Orthop Belg*, vol. 76, no. 5, pp. 663-8, 2010.
- [177] Gaundong Mbéthé GL, Dejean C, Henriques de Figueiredo B, Sargos P, Italiano A, Kantor G, "[Multifocal Langerhans cell histiocytosis of bone: indications for radiotherapy]," *Cancer Radiother*, vol. 14, no. 8, pp. 759-62, 2010.
- [178] Kriz J, Eich HT, Bruns F, Heyd R, Schäfer U, Haverkamp U, Büntzel J, Seegenschmiedt H, Micke O, "Radiotherapy in langerhans cell histiocytosis - a rare indication in a rare disease," *Radiat Oncol*, vol. 8, p. 233, 2013.
- [179] Onal C, Oymak E, Reyhan M, Canpolat T, Ozyilkan O, "Multifocal soft tissue Langerhans' cell histiocytosis treated with PET-CT based conformal radiotherapy," *Jpn J Radiol*, vol. 33, no. 9, pp. 603-6, 2015.
- [180] Gross B, Ronen N, Reznick A, Mokady S, Honigman S, Livne E, "Biochemical and morphological changes observed in rat muscles following consumption of excessive 1-tryptophan and atherogenic diets," *Adv. Exp. Med. Biol*, vol. 398, p. 575-8, 1996.
- [181] Ronen N, Livne E, Gross B, "Oxidative damage in rat tissue following excessive 1-tryptophan and atherogenic diets," *Adv. Exp. Med. Biol*, vol. 467, p. 497-505, 199.
- [182] Silver RM, Heyes MP, Maize JC, Quearry B, Vionnet-Fuasset M, Sternberg EM, "Scleroderma, fasciitis, and eosinophilia associated with the ingestion of tryptophan.," *N Engl J Med*, vol. 322, no. 13, pp. 874-81, 1990.
- [183] Stahl JL, Cook EB, Pariza MA, Cook ME, Graziano FM, "Effect of L-tryptophan supplementation on eosinophils and eotaxin in guinea pigs," *Exp Biol Med*, vol. 226, no. 3, pp. 177-84, 2001.
- [184] Brochez L, Chevolet I, Kruse V, "The rationale of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition for cancer therapy," *Eur J Cancer*, vol. 76, pp. 167-182, 2017.
- [185] Théate I, van Baren N, Pilotte L, Moulin P, Larrieu P, Renauld JC, Hervé C, Gutierrez-Roelens I, Marbaix E, Sempoux C, Van den Eynde BJ, "Extensive profiling of the expression of the indoleamine 2,3-dioxygenase 1 protein in normal and tumoral human tissues," *Cancer Immunol Res*, vol. 3, no. 2, pp. 161-72, 2015.
- [186] Dai X, Zhu BT, "Indoleamine 2,3-dioxygenase tissue distribution and cellular localization in mice: implications for its biological functions," *J Histochem Cytochem*, vol. 58, no. 1, pp. 17-28, 2010.

- [187] Chon SY, Hassanain HH, Gupta SL, "Cooperative role of interferon regulatory factor 1 and p91 (STAT1) response elements in interferon-gamma-inducible expression of human indoleamine 2,3-dioxygenase gene," *J Biol Chem*, vol. 271, no. 29, pp. 17247-52, 1996.
- [188] Grohmann U1, Orabona C, Fallarino F, Vacca C, Calcinaro F, Falorni A, Candeloro P, Belladonna ML, Bianchi R, Fioretti MC, Puccetti P., "CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo," *Nat Immunol*, vol. 3, no. 11, pp. 1097-101, 2002.
- [189] Babcock TA, Carlin JM, "Transcriptional activation of indoleamine dioxygenase by interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha in interferon-treated epithelial cells," *Cytokine*, vol. 12, no. 6, pp. 588-94, 2000.
- [190] Mellor AL, Lemos H, Huang L, "Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Tolerance: Where Are We Now?," *Front Immunol*, vol. 8, p. 1360, 2017.
- [191] Mellor AL, Munn DH, "Creating immune privilege: active local suppression that benefits friends, but protects foes," *Nat Rev Immunol*, vol. 8, no. 1, pp. 74-80, 2008.
- [192] Alberati-Giani D, Malherbe P, Ricciardi-Castagnoli P, Köhler C, Denis-Donini S, Cesura AM, "Differential regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression by nitric oxide and inflammatory mediators in IFN-gamma-activated murine macrophages and microglial cells," *J Immunol*, vol. 159, no. 1, pp. 419-26, 1997.
- [193] Thomas SR, Salahifar H, Mashima R, Hunt NH, Richardson DR, Stocker R., "Antioxidants inhibit indoleamine 2,3-dioxygenase in IFN-gamma-activated human macrophages: posttranslational regulation by pyrrolidine dithiocarbamate," *J Immunol*, vol. 166, no. 10, pp. 6332-40, 2001.
- [194] Curti A, TrabANELLI S, Salvestrini V, Baccarani M, Lemoli RM, "The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in the induction of immune tolerance: focus on hematology," *Blood*, vol. 113, no. 11, pp. 2394-401, 2009.
- [195] Berthon C, Fontenay M, Corm S, Briche I, Allorge D, Hennart B, Lhermitte M, Quesnel B, "Metabolites of tryptophan catabolism are elevated in sera of patients with myelodysplastic syndromes and inhibit hematopoietic progenitor amplification," *Leuk Res*, vol. 37, no. 5, pp. 573-9, 2013.
- [196] Munn DH, Sharma MD, Baban B, Harding HP, Zhang Y, Ron D, Mellor AL, "GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase," *Immunity*, vol. 22, no. 5, pp. 633-42, 2005.
- [197] Stevens EA, Mezrich JD, Bradfield CA, "The aryl hydrocarbon receptor: a perspective on potential roles in the immune system," *Immunology*, vol. 127, no. 3, pp. 299-311, 2009.
- [198] Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Burlingham WJ, Bradfield CA, "An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells," *J Immunol*, vol. 185, no. 6, pp. 3190-8, 2010.

- [199] Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padia R, Shi H, Thangaraju M, Prasad PD, Manicassamy S, Munn DH, Lee JR, Offermanns S, Ganapathy V, "Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis," *Immunity*, vol. 40, no. 1, pp. 128-39, 2014.
- [200] Murray MF, "The human indoleamine 2,3-dioxygenase gene and related human genes," *Curr Drug Metab*, vol. 8, no. 3, pp. 197-200, 2007.
- [201] Metz R, Duhadaway JB, Kamasani U, Laury-Kleintop L, Muller AJ, Prendergast GC, "Novel tryptophan catabolic enzyme IDO2 is the preferred biochemical target of the antitumor indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitory compound D-1-methyl-tryptophan," *Cancer Res*, vol. 67, no. 15, pp. 7082-7, 2007.
- [202] Lob S, Konigsrainer A, Schafer R, Rammensee HG, Opelz G, Terness P, "Levo- but not dextro-1-methyl tryptophan abrogates the IDO activity of human dendritic cells," *Blood*, vol. 111, no. 4, pp. 2152-4, 2008.
- [203] Pilotte L, Larrieu P, Stroobant V, Colau D, Dolusic E, Frédérick R, De Plaen E, Uyttenhove C, Wouters J, Masereel B, Van den Eynde BJ, "Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 109, no. 7, pp. 2497-502, 2012.
- [204] Agudelo LZ, Femenía T, Orhan F, Porsmyr-Palmertz M, Goiny M, Martinez-Redondo V, Correia JC, Izadi M, Bhat M, Schuppe-Koistinen I, Pettersson AT, Ferreira DMS, Krook A, Barres R, Zierath JR, Erhardt S, Lindskog M, Ruas JL, "Skeletal muscle PGC-1 α 1 modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression," *Cell*, vol. 159, no. 1, pp. 33-45, 2014.
- [205] Yeung AW, Terentis AC, King NJ, Thomas SR, "Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in health and disease," *Clin Sci (Lond)*, vol. 129, no. 7, pp. 601-72, 2015.
- [206] Hoyo-Becerra C, Schlaak JF, Hermann DM, "Insights from interferon- α -related depression for the pathogenesis of depression associated with inflammation," *Brain Behav Immun*, vol. 42, pp. 222-31, 2014.
- [207] Capuron L, Ravaud A, Neveu PJ, Miller AH, Maes M, Dantzer R, "Association between decreased serum tryptophan concentrations and depressive symptoms in cancer patients undergoing cytokine therapy," *Mol Psychiatry*, vol. 7, no. 5, pp. 468-73, 2002.
- [208] Munn DH, Zhou M, Attwood JT, Bondarev I, Conway SJ, Marshall B, Brown C, Mellor AL, "Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism," *Science*, vol. 281, no. 5380, pp. 1191-3, 1998.
- [209] Guillonneau C, Hill M, Hubert FX, Chiffolleau E, Hervé C, Li XL, Heslan M, Usal C, Tesson L, Ménoret S, Saoudi A, Le Mauff B, Josien R, Cuturi MC, Anegón I, "CD40lg treatment results in allograft acceptance mediated by CD8CD45RC T cells, IFN- γ , and indoleamine 2,3-dioxygenase," *J Clin Invest*, vol. 117, no. 4, pp. 1096-106, 2007.

- [210] Swanson KA, Zheng Y, Heidler KM, Mizobuchi T, Wilkes DS, "CD11c+ cells modulate pulmonary immune responses by production of indoleamine 2,3-dioxygenase," *Am J Respir Cell Mol Biol*, vol. 30, no. 3, pp. 311-8, 2004.
- [211] Liu H, Liu L, Fletcher BS, Visner GA, "Novel action of indoleamine 2,3-dioxygenase attenuating acute lung allograft injury," *Am J Respir Crit Care Med*, vol. 173, no. 5, pp. 566-72, 2006.
- [212] Mellor AL, Baban B, Chandler P, Marshall B, Jhaver K, Hansen A, Koni PA, Iwashima M, Munn DH, "Cutting edge: induced indoleamine 2,3 dioxygenase expression in dendritic cell subsets suppresses T cell clonal expansion," *J Immunol*, vol. 171, no. 4, pp. 1652-5, 2003.
- [213] Pallotta MT, Orabona C, Volpi C, Vacca C, Belladonna ML, Bianchi R, Servillo G, Brunacci C, Calvitti M, Biciato S, Mazza EM, Boon L, Grassi F, Fioretti MC, Fallarino F, Puccetti P, Grohmann U, "Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells," *Nat Immunol*, vol. 12, no. 9, pp. 870-8, 2011.
- [214] Wek RC, Jiang HY, Anthony TG, "Coping with stress: eIF2 kinases and translational control," *Biochem Soc Trans*, vol. 34, no. pt 1, pp. 7-11, 2006.
- [215] Kilberg MS, Shan J, Su N, "ATF4-dependent transcription mediates signaling of amino acid limitation," *Trends Endocrinol Metab*, vol. 20, no. 9, pp. 436-43, 2009.
- [216] Munn DH, Mellor AL, "Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses," *Trends Immunol*, vol. 34, p. 137-43, 2013.
- [217] Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Burlingham WJ, Bradfield CA, "An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells," *J Immunol*, vol. 185, no. 6, pp. 3190-8, 2010.
- [218] Stockinger B, Hirota K, Duarte J, Veldhoen M, "External influences on the immune system via activation of the aryl hydrocarbon receptor.," *Semin Immunol*, vol. 23, no. 2, pp. 99-105, 2011.
- [219] Ravishankar B, Liu H, Shinde R, Chaudhary K, Xiao W, Bradley J, Koritzinsky M, Madaio MP, McGaha TL, "The amino acid sensor GCN2 inhibits inflammatory responses to apoptotic cells promoting tolerance and suppressing systemic autoimmunity," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 112, no. 34, pp. 10774-9, 2015.
- [220] Quintana FJ, Murugaiyan G, Farez MF, Mitsdoerffer M, Tukpah AM, Burns EJ, Weiner HL, "An endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand acts on dendritic cells and T cells to suppress experimental autoimmune encephalomyelitis," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 107, no. 48, pp. 20768-73, 2010.
- [221] Jaronen M, Quintana FJ, "Immunological Relevance of the Coevolution of IDO1 and AHR," *Front Immunol*, vol. 20, no. 5, p. 521, 2014.

- [222] Manlapat AK, Kahler DJ, Chandler PR, Munn DH, Mellor AL, "Cell-autonomous control of interferon type I expression by indoleamine 2,3-dioxygenase in regulatory CD19+ dendritic cells," *Eur J Immunol*, vol. 37, no. 4, pp. 1064-71, 2007.
- [223] Nguyen NT, Kimura A, Nakahama T, Chinen I, Masuda K, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T, "Aryl hydrocarbon receptor negatively regulates dendritic cell immunogenicity via a kynurenine-dependent mechanism," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 107, no. 46, pp. 19961-6, 2010.
- [224] Zaher SS, Germain C, Fu H, Larkin DF, George AJ, "3-hydroxykynurenine suppresses CD4+ T-cell proliferation, induces T-regulatory-cell development, and prolongs corneal allograft survival," *Invest Ophthalmol Vis Sci*, vol. 52, no. 5, pp. 2640-8, 2011.
- [225] Romani L, Zelante T, De Luca A, Fallarino F, Puccetti P, "IL-17 and therapeutic kynurenines in pathogenic inflammation to fungi," *J Immunol*, vol. 180, no. 8, pp. 5157-62, 2008.
- [226] Bauer TM, Jiga LP, Chuang JJ, Randazzo M, Opelz G, Terness P, "Studying the immunosuppressive role of indoleamine 2,3-dioxygenase: tryptophan metabolites suppress rat allogeneic T-cell responses in vitro and in vivo," *Transpl Int*, vol. 18, no. 1, pp. 95-100, 2005.
- [227] Munn DH, Sharma MD, Baban B, Harding HP, Zhang Y, Ron D, Mellor AL, "GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase," *Immunity*, vol. 22, no. 5, pp. 633-42, 2005.
- [228] Sundrud MS, Koralov SB, Feuerer M, Calado DP, Kozhaya AE, Rhule-Smith A, Lefebvre RE, Unutmaz D, Mazitschek R, Waldner H, Whitman M, Keller T, Rao A, "Halofuginone inhibits TH17 cell differentiation by activating the amino acid starvation response," *Science*, vol. 324, no. 5932, pp. 1334-8, 2009.
- [229] Keller TL, Zocco D, Sundrud MS, Hendrick M, Edenius M, Yum J, Kim YJ, Lee HK, Cortese JF, Wirth DF, Dignam JD, Rao A, Yeo CY, Mazitschek R, Whitman M, "Halofuginone and other febrifugine derivatives inhibit prolyl-tRNA synthetase," *Nat Chem Biol*, vol. 12, no. 8, pp. 311-7, 2012.
- [230] Fallarino F, Grohmann U, You S, McGrath BC, Cavener DR, Vacca C, Orabona C, Bianchi R, Belladonna ML, Volpi C, Santamaria P, Fioretti MC, Puccetti P, "The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate T cell receptor zeta-chain and induce a regulatory phenotype in naive T cells," *J Immunol*, vol. 176, no. 11, pp. 6752-61, 2006.
- [231] Sharma MD, Baban B, Chandler P, Hou DY, Singh N, Yagita H, Azuma M, Blazar BR, Mellor AL, Munn DH, "Plasmacytoid dendritic cells from mouse tumor-draining lymph nodes directly activate mature Tregs via indoleamine 2,3-dioxygenase," *J Clin Invest*, vol. 117, no. 9, pp. 2570-82, 2007.
- [232] Rodriguez PC, Quiceno DG, Ochoa AC, "L-arginine availability regulates T-lymphocyte cell-cycle progression," *Blood*, vol. 109, no. 4, pp. 1568-73, 2007.

- [233] Fallarino F, Grohmann U, You S, McGrath BC, Cavener DR, Vacca C, Orabona C, Bianchi R, Belladonna ML, Volpi C, Santamaria P, Fioretti MC, Puccetti P, "The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate T cell receptor zeta-chain and induce a regulatory phenotype in naive T cells," *J Immunol*, vol. 176, no. 11, pp. 6752-61, 2006.
- [234] Metz R, Rust S, Duhadaway JB, Mautino MR, Munn DH, Vahanian NN, Link CJ, Prendergast GC, "IDO inhibits a tryptophan sufficiency signal that stimulates mTOR: A novel IDO effector pathway targeted by D-1-methyl-tryptophan," *Oncoimmunology*, vol. 1, no. 9, pp. 1460-1468, 2012.
- [235] Cobbold SP, Adams E, Farquhar CA, Nolan KF, Howie D, Lui KO, Fairchild PJ, Mellor AL, Ron D, Waldmann H, "Infectious tolerance via the consumption of essential amino acids and mTOR signaling," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 106, no. 29, pp. 12055-60, 2009.
- [236] Pollizzi KN, Powell JD, "Regulation of T cells by mTOR: the known knowns and the known unknowns," *Trends Immunol*, vol. 36, no. 1, pp. 13-20, 2015.
- [237] Chen W, Liang X, Peterson AJ, Munn DH, Blazar BR, "The indoleamine 2,3-dioxygenase pathway is essential for human plasmacytoid dendritic cell-induced adaptive T regulatory cell generation," *J Immunol*, vol. 181, no. 8, pp. 5396-404, 2008.
- [238] Manches O, Munn D, Fallahi A, Lifson J, Chaperot L, Plumas J, Bhardwaj N, "HIV-activated human plasmacytoid DCs induce Tregs through an indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent mechanism," *J Clin Invest*, vol. 118, no. 10, pp. 3431-9, 2008.
- [239] Howie D, Waldmann H, Cobbold S, "Nutrient Sensing via mTOR in T Cells Maintains a Tolerogenic Microenvironment," *Front Immunol*, vol. 5, p. 409, 2014.
- [240] van der Marel AP, Samsom JN, Greuter M, van Berkel LA, O'Toole T, Kraal G, Mebius RE, "Blockade of IDO inhibits nasal tolerance induction," *J Immunol*, vol. 179, no. 2, pp. 894-900, 2007.
- [241] Matteoli G, Mazzini E, Iliev ID, Mileti E, Fallarino F, Puccetti P, Chieppa M, Rescigno M, "Gut CD103+ dendritic cells express indoleamine 2,3-dioxygenase which influences T regulatory/T effector cell balance and oral tolerance induction," *Gut*, vol. 59, no. 5, pp. 595-604, 2010.
- [242] Sharma MD, Hou DY, Liu Y, Koni PA, Metz R, Chandler P, Mellor AL, He Y, Munn DH, "Indoleamine 2,3-dioxygenase controls conversion of Foxp3+ Tregs to TH17-like cells in tumor-draining lymph nodes," *Blood*, vol. 113, no. 24, pp. 6102-11, 2009.
- [243] Sharma MD, Hou DY, Baban B, Koni PA, He Y, Chandler PR, Blazar BR, Mellor AL, Munn DH, "Reprogrammed foxp3(+) regulatory T cells provide essential help to support cross-presentation and CD8(+) T cell priming in naive mice," *Immunity*, vol. 33, no. 6, pp. 942-54, 2010.

- [244] Baban B, Chandler PR, Johnson BA 3rd, Huang L, Li M, Sharpe ML, Francisco LM, Sharpe AH, Blazar BR, Munn DH, Mellor AL, "Physiologic control of IDO competence in splenic dendritic cells," *J Immunol*, vol. 187, no. 5, pp. 2329-35, 2011.
- [245] Favre D, Mold J, Hunt PW, Kanwar B, Loke P, Seu L, Barbour JD, Lowe MM, Jayawardene A, Aweeka F, Huang Y, Douek DC, Brenchley JM, Martin JN, Hecht FM, Deeks SG, McCune JM, "Tryptophan catabolism by indoleamine 2,3-dioxygenase 1 alters the balance of TH17 to regulatory T cells in HIV disease," *Sci Transl Med*, vol. 2, no. 32, p. 32ra36, 2010.
- [246] Guillonneau C, Hill M, Hubert FX, Chiffolleau E, Hervé C, Li XL, Heslan M, Usal C, Tesson L, Ménoret S, Saoudi A, Le Mauff B, Josien R, Cuturi MC, Anegón I, "CD40lg treatment results in allograft acceptance mediated by CD8CD45RC T cells, IFN-gamma, and indoleamine 2,3-dioxygenase," *J Clin Invest*, vol. 117, no. 4, pp. 1096-106, 2007.
- [247] Sucher R, Fischler K, Oberhuber R, Kronberger I, Margreiter C, Ollinger R, Schneeberger S, Fuchs D, Werner ER, Watschinger K, Zelger B, Tellides G, Pilat N, Pratschke J, Margreiter R, Wekerle T, Brandacher G, "IDO and regulatory T cell support are critical for cytotoxic T lymphocyte-associated Ag-4 Ig-mediated long-term solid organ allograft survival," *J Immunol*, vol. 188, no. 1, pp. 37-46, 2012.
- [248] Ravishankar B, Liu H, Shinde R, Chandler P, Baban B, Tanaka M, Munn DH, Mellor AL, Karlsson MC, McGaha TL, "Tolerance to apoptotic cells is regulated by indoleamine 2,3-dioxygenase," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 109, no. 10, pp. 3909-14, 2012.
- [249] Liu H, Liu L, Fletcher BS, Visner GA, "Sleeping Beauty-based gene therapy with indoleamine 2,3-dioxygenase inhibits lung allograft fibrosis," *FASEB J*, vol. 20, no. 13, pp. 2384-6, 2006.
- [250] Desvignes L, Ernst JD, "Interferon-gamma-responsive nonhematopoietic cells regulate the immune response to Mycobacterium tuberculosis," *Immunity*, vol. 31, no. 6, pp. 974-85, 2009.
- [251] Liu H, Liu L, Liu K, Bizargity P, Hancock WW, Visner GA, "Reduced cytotoxic function of effector CD8+ T cells is responsible for indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent immune suppression," *J Immunol*, vol. 183, no. 2, pp. 1022-31, 2009.
- [252] Jaspersen LK, Bucher C, Panoskaltsis-Mortari A, Taylor PA, Mellor AL, Munn DH, Blazar BR, "Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical regulator of acute graft-versus-host disease lethality," *Blood*, vol. 111, no. 6, pp. 3257-65, 2008.
- [253] Jaspersen LK, Bucher C, Panoskaltsis-Mortari A, Mellor AL, Munn DH, Blazar BR, "Inducing the tryptophan catabolic pathway, indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), for suppression of graft-versus-host disease (GVHD) lethality," *Blood*, vol. 114, no. 24, pp. 5062-70, 2009.
- [254] Johnson BA 3rd, Kahler DJ, Baban B, Chandler PR, Kang B, Shimoda M, Koni PA, Pihkala J, Vilagos B, Busslinger M, Munn DH, Mellor AL, "B-lymphoid cells with

attributes of dendritic cells regulate T cells via indoleamine 2,3-dioxygenase," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 107, no. 23, pp. 10644-8, 2010.

- [255] Munn DH, Sharma MD, Hou D, Baban B, Lee JR, Antonia SJ, Messina JL, Chandler P, Koni PA, Mellor AL, "Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase by plasmacytoid dendritic cells in tumor-draining lymph nodes," *J Clin Invest*, vol. 114, no. 2, pp. 280-90, 2004.
- [256] Li XL, Ménoret S, Bezie S, Caron L, Chabannes D, Hill M, Halary F, Angin M, Heslan M, Usal C, Liang L, Guillonneau C, Le Mauff B, Cuturi MC, Josien R, Anegon I, "Mechanism and localization of CD8 regulatory T cells in a heart transplant model of tolerance," *J Immunol*, vol. 185, no. 2, pp. 823-33, 2010.
- [257] Boasso A, Herbeuval JP, Hardy AW, Winkler C, Shearer GM, "Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophanyl-tRNA-synthetase by CTLA-4-Fc in human CD4+ T cells," *Blood*, vol. 105, no. 4, pp. 1574-81, 2005.
- [258] Billadeau DD, Leibson PJ, "ITAMs versus ITIMs: striking a balance during cell regulation," *J Clin Invest*, vol. 109, no. 2, pp. 161-8, 2002.
- [259] Orabona C, Puccetti P, Vacca C, Bucciato S, Luchini A, Fallarino F, Bianchi R, Velardi E, Perruccio K, Velardi A, Bronte V, Fioretti MC, Grohmann U, "Toward the identification of a tolerogenic signature in IDO-competent dendritic cells," *Blood*, vol. 107, no. 7, pp. 2846-54, 2006.
- [260] Orabona C, Pallotta MT, Volpi C, Fallarino F, Vacca C, Bianchi R, Belladonna ML, Fioretti MC, Grohmann U, Puccetti P, "SOCS3 drives proteasomal degradation of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) and antagonizes IDO-dependent tolerogenesis," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 105, no. 52, pp. 20828-33, 2008.
- [261] Opitz CA, Litzenburger UM, Sahm F, Ott M, Tritschler I, Trump S, Schumacher T, Jestaedt L, Schrenk D, Weller M, Jugold M, Guillemin GJ, Miller CL, Lutz C, Radlwimmer B, Lehmann I, von Deimling A, Wick W, Platten M, "An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor," *Nature*, vol. 478, no. 7368, pp. 197-203, 2011.
- [262] Pfefferkorn ER, "Interferon gamma blocks the growth of *Toxoplasma gondii* in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 81, p. 908-12, 1984.
- [263] Taylor MW, Feng GS, "Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism," *FASEB J*, vol. 5, p. 2516-22, 1991.
- [264] Werner ER, Bitterlich G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Szabo G, et al, "Human macrophages degrade tryptophan upon induction by interferon-gamma," *Life Sci*, vol. 41, p. 273-80, 1987.
- [265] Carlin JM, Borden EC, Sondel PM, Byrne GI, "Interferon-induced indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human mononuclear phagocytes," *J Leukoc Biol*, vol. 45, p. 29-34, 1989.

- [266] Schmidt SV, Schultze JL, "New Insights into IDO Biology in Bacterial and Viral Infections," *Front Immunol*, vol. 11, no. 5, p. 384, 2014.
- [267] Popov A, Schultze JL, "IDO-expressing regulatory dendritic cells in cancer and chronic infection," *J Mol Med (Berl)*, vol. 86, no. 2, pp. 145-60, 2008.
- [268] Aune TM, Pogue SL, "Inhibition of tumor cell growth by interferon-gamma is mediated by two distinct mechanisms dependent upon oxygen tension: induction of tryptophan degradation and depletion of intracellular nicotinamide adenine dinucleotide," *J Clin Invest*, vol. 84, no. 3, pp. 863-75, 1989.
- [269] Puccetti P, Grohmann U, "IDO and regulatory T cells: a role for reverse signalling and non-canonical NF-kappaB activation," *Nat Rev Immunol*, vol. 7, no. 10, pp. 817-23, 2007.
- [270] Niño-Castro A, Abdullah Z, Popov A, Thabet Y, Beyer M, Knolle P, Domann E, Chakraborty T, Schmidt SV, Schultze JL., "The IDO1-induced kynurenines play a major role in the antimicrobial effect of human myeloid cells against *Listeria monocytogenes*," *Innate Immun*, vol. 20, no. 4, pp. 401-11, 2014.
- [271] Bodaghi B, Goureau O, Zipeto D, Laurent L, Virelizier JL, Michelson S, "Role of IFN-gamma-induced indoleamine 2,3 dioxygenase and inducible nitric oxide synthase in the replication of human cytomegalovirus in retinal pigment epithelial cells," *J Immunol*, vol. 162, no. 2, pp. 957-64, 1999.
- [272] Adams O, Besken K, Oberdörfer C, MacKenzie CR, Rüssing D, Däubener W, "Inhibition of human herpes simplex virus type 2 by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase," *Microbes Infect*, vol. 6, no. 9, pp. 806-12, 2004.
- [273] Obojes K, Andres O, Kim KS, Däubener W, Schneider-Schaulies J, "Indoleamine 2,3-dioxygenase mediates cell type-specific anti-measles virus activity of gamma interferon," *J Virol*, vol. 79, no. 12, pp. 7768-76, 2005.
- [274] van der Sluijs KF, Nijhuis M, Levels JH, Florquin S, Mellor AL, Jansen HM, van der Poll T, Lutter R, "Influenza-induced expression of indoleamine 2,3-dioxygenase enhances interleukin-10 production and bacterial outgrowth during secondary pneumococcal pneumonia," *J Infect Dis*, vol. 193, no. 2, pp. 214-22, 2006.
- [275] Carlin JM, Borden EC, Byrne GI, "Interferon-induced indoleamine 2,3-dioxygenase activity inhibits *Chlamydia psittaci* replication in human macrophages," *J Interferon Res*, vol. 9, no. 3, pp. 329-37, 1989.
- [276] Schmitz JL, Carlin JM, Borden EC, Byrne GI, "Beta interferon inhibits *Toxoplasma gondii* growth in human monocyte-derived macrophages," *Infect Immun*, vol. 57, no. 10, pp. 3254-6, 1989.
- [277] Terajima M, Leporati AM, "Role of Indoleamine 2,3-Dioxygenase in Antiviral Activity of Interferon-gamma Against Vaccinia Virus," *Viral Immunol*, vol. 18, no. 4, pp. 722-9, 2005.

- [278] Loughman JA, Hunstad DA, "Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase by uropathogenic bacteria attenuates innate responses to epithelial infection," *J Infect Dis*, vol. 205, no. 12, pp. 1830-9, 2012.
- [279] Tanner R, Kakalacheva K, Miller E, Pathan AA, Chalk R, Sander CR, Scriba T, Tameris M, Hawkrigde T, Mahomed H, Hussey G, Hanekom W, Checkley A, McShane H, Fletcher HA, "Serum indoleamine 2,3-dioxygenase activity is associated with reduced immunogenicity following vaccination with MVA85A," *BMC Infect Dis*, vol. 14, p. 660, 2014.
- [280] Boasso A, Shearer GM, "How does indoleamine 2,3-dioxygenase contribute to HIV-mediated immune dysregulation," *Curr Drug Metab*, vol. 8, no. 3, pp. 217-23, 2007.
- [281] Kassianos AJ, Hardy MY, Ju X, Vijayan D, Ding Y, Vulink AJ, McDonald KJ, Jongbloed SL, Wadley RB, Wells C, Hart DN, Radford KJ, "Human CD1c (BDCA-1)+ myeloid dendritic cells secrete IL-10 and display an immuno-regulatory phenotype and function in response to *Escherichia coli*," *Eur J Immunol*, vol. 42, no. 6, pp. 1512-2, 2012.
- [282] Suffia IJ, Reckling SK, Piccirillo CA, Goldszmid RS, Belkaid Y, "Infected site-restricted Foxp3+ natural regulatory T cells are specific for microbial antigens," *J Exp Med*, vol. 203, no. 3, pp. 777-88, 2006.
- [283] Fukuno K, Hara T, Tsurumi H, Shibata Y, Mabuchi R, Nakamura N, Kitagawa J, Shimizu M, Ito H, Saito K, Moriwaki H, "Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in leukemic cells indicates an unfavorable prognosis in acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk cytogenetics," *Leuk Lymphoma*, vol. 56, no. 5, pp. 1398-405, 2015.
- [284] Chamuleau ME, van de Loosdrecht AA, Hess CJ, Janssen JJ, Zevenbergen A, Delwel R, Valk PJ, Löwenberg B, Ossenkoppele GJ, "High INDO (indoleamine 2,3-dioxygenase) mRNA level in blasts of acute myeloid leukemic patients predicts poor clinical outcome," *Haematologica*, vol. 93, no. 12, pp. 1894-8, 2008.
- [285] Corm S, Berthon C, Imbenotte M, Biggio V, Lhermitte M, Dupont C, Briche I, Quesnel B, "Indoleamine 2,3-dioxygenase activity of acute myeloid leukemia cells can be measured from patients' sera by HPLC and is inducible by IFN-gamma," *Leuk Res*, vol. 33, no. 3, pp. 490-4, 2009.
- [286] Folgiero V, Goffredo BM, Filippini P, Masetti R, Bonanno G, Caruso R, Bertaina V, Mastronuzzi A, Gaspari S, Zecca M, Torelli GF, Testi AM, Pession A, Locatelli F, Rutella S, "Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) activity in leukemia blasts correlates with poor outcome in childhood acute myeloid leukemia," *Oncotarget*, vol. 5, no. 8, pp. 2052-64, 2014.
- [287] Mabuchi R, Hara T, Matsumoto T, Shibata Y, Nakamura N, Nakamura H, Kitagawa J, Kanemura N, Goto N, Shimizu M, Ito H, Yamamoto Y, Saito K, Moriwaki H, Tsurumi H, "High serum concentration of L-kynurenine predicts unfavorable outcomes in patients with acute myeloid leukemia," *Leuk Lymphoma*, vol. 57, no. 1, pp. 92-8, 2016.

- [288] Chen JY, Li CF, Kuo CC, Tsai KK, Hou MF, Hung WC, "Cancer/stroma interplay via cyclooxygenase-2 and indoleamine 2,3-dioxygenase promotes breast cancer progression," *Breast Cancer Res*, vol. 16, no. 4, p. 410, 2014.
- [289] Sakurai K, Fujisaki S, Nagashima S, Maeda T, Tomita R, Suzuki S, Hara Y, Enomoto K, Amano S, "Indoleamine 2, 3-dioxygenase activity for breast cancer patients with recurrence 5 or more years after surgery," *Gan To Kagaku Ryoho*, vol. 40, no. 12, pp. 1590-2, 2013.
- [290] Soliman H, Rawal B, Fulp J, Lee JH, Lopez A, Bui MM, Khalil F, Antonia S, Yfantis HG, Lee DH, Dorsey TH, Ambs S, "Analysis of indoleamine 2-3 dioxygenase (IDO1) expression in breast cancer tissue by immunohistochemistry.," *Cancer Immunol Immunother*, vol. 62, no. 5, pp. 829-37, 2013.
- [291] Jacquemier J, Bertucci F, Finetti P, Esterni B, Charafe-Jauffret E, Thibault ML, Houvenaeghel G, Van den Eynde B, Birnbaum D, Olive D, Xerri L, "High expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in the tumour is associated with medullary features and favourable outcome in basal-like breast carcinoma," *Int J Cancer*, vol. 130, no. 1, pp. 96-104, 2012.
- [292] Yu J, Sun J, Wang SE, Li H, Cao S, Cong Y, Liu J, Ren X, "Upregulated expression of indoleamine 2, 3-dioxygenase in primary breast cancer correlates with increase of infiltrated regulatory T cells in situ and lymph node metastasis," *Clin Dev Immunol*, vol. 2011, p. 469135, 2011.
- [293] Ferns DM, Kema IP, Buist MR, Nijman HW, Kenter GG, Jordanova ES, "Indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) metabolic activity is detrimental for cervical cancer patient survival," *Oncoimmunology*, vol. 4, no. 2, p. e981457, 2015.
- [294] Inaba T, Ino K, Kajiyama H, Shibata K, Yamamoto E, Kondo S, Umezumi T, Nawa A, Takikawa O, Kikkawa F, "Indoleamine 2,3-dioxygenase expression predicts impaired survival of invasive cervical cancer patients treated with radical hysterectomy," *Gynecol Oncol*, vol. 117, no. 3, pp. 423-8, 2010.
- [295] Engin A, Gonul II, Engin AB, Karamercan A, Sepici Dincel A, Dursun A, "Relationship between indoleamine 2,3-dioxygenase activity and lymphatic invasion propensity of colorectal carcinoma," *World J Gastroenterol*, vol. 22, no. 13, pp. 3592-601, 2016.
- [296] Ferdinande L, Decaestecker C, Verset L, Mathieu A, Moles Lopez X, Negulescu AM, Van Maerken T, Salmon I, Cuvelier CA, Demetter P, "Clinicopathological significance of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 expression in colorectal cancer," *Br J Cancer*, vol. 106, no. 1, pp. 141-7, 2012.
- [297] Gao YF, Peng RQ, Li J, Ding Y, Zhang X, Wu XJ, Pan ZZ, Wan DS, Zeng YX, Zhang XS, "The paradoxical patterns of expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in colon cancer," *J Transl Med*, vol. 7, p. 71, 2009.
- [298] Brandacher G, Perathoner A, Ladurner R, Schneeberger S, Obrist P, Winkler C, Werner ER, Werner-Felmayer G, Weiss HG, Göbel G, Margreiter R, Königsrainer A, Fuchs D, Amberger A, "Prognostic value of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in

colorectal cancer: effect on tumor-infiltrating T cells," *Clin Cancer Res*, vol. 12, no. 4, pp. 1144-51, 2006.

- [299] Huang A, Fuchs D, Widner B, Glover C, Henderson DC, Allen-Mersh TG, "Serum tryptophan decrease correlates with immune activation and impaired quality of life in colorectal cancer," *Br J Cancer*, vol. 86, no. 11, pp. 1691-6, 2002.
- [300] de Jong RA, Kema IP, Boerma A, Boezen HM, van der Want JJ, Gooden MJ, Hollema H, Nijman HW, "Prognostic role of indoleamine 2,3-dioxygenase in endometrial carcinoma," *Gynecol Oncol*, vol. 126, no. 3, pp. 474-80, 2012.
- [301] Ino K, Yamamoto E, Shibata K, Kajiyama H, Yoshida N, Terauchi M, Nawa A, Nagasaka T, Takikawa O, Kikkawa F, "Inverse correlation between tumoral indoleamine 2,3-dioxygenase expression and tumor-infiltrating lymphocytes in endometrial cancer: its association with disease progression and survival," *Clin Cancer Res*, vol. 14, no. 8, pp. 2310-7, 2008.
- [302] Ino K, Yoshida N, Kajiyama H, Shibata K, Yamamoto E, Kidokoro K, Takahashi N, Terauchi M, Nawa A, Nomura S, Nagasaka T, Takikawa O, Kikkawa F, "Indoleamine 2,3-dioxygenase is a novel prognostic indicator for endometrial cancer," *Br J Cancer*, vol. 95, no. 11, pp. 1555-61, 2006.
- [303] Jia Y, Wang H, Wang Y, Wang T, Wang M, Ma M, Duan Y, Meng X, Liu L, "Low expression of Bin1, along with high expression of IDO in tumor tissue and draining lymph nodes, are predictors of poor prognosis for esophageal squamous cell cancer patients," *Int J Cancer*, vol. 137, no. 5, pp. 1095-106, 2015.
- [304] Zhang G, Liu WL, Zhang L, Wang JY, Kuang MH, Liu P, Lin YH, Dai SQ, Du J, "Involvement of indoleamine 2,3-dioxygenase in impairing tumor-infiltrating CD8 T-cell functions in esophageal squamous cell carcinoma," *Clin Dev Immunol*, vol. 2011, p. 384726, 2011.
- [305] Kim JW, Nam KH, Ahn SH, Park DJ, Kim HH, Kim SH, Chang H, Lee JO, Kim YJ, Lee HS, Kim JH, Bang SM, Lee JS, Lee KW, "Prognostic implications of immunosuppressive protein expression in tumors as well as immune cell infiltration within the tumor microenvironment in gastric cancer," *Gastric Cancer*, vol. 19, no. 1, pp. 42-52, 2016.
- [306] Zhang R, Liu H, Li F, Li H, Yu J, Ren X, "The correlation between the subsets of tumor infiltrating memory T cells and the expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in gastric cancer," *Dig Dis Sci*, vol. 58, no. 12, pp. 3494-502, 2013.
- [307] Zhai L, Dey M, Lauing KL, Gritsina G, Kaur R, Lukas RV, Nicholas MK, Rademaker AW, Dostal CR, McCusker RH, Raizer JJ, Parsa AT, Bloch O, Wainwright DA, "The kynurenine to tryptophan ratio as a prognostic tool for glioblastoma patients enrolling in immunotherapy," *J Clin Neurosci*, vol. 22, no. 12, pp. 1964-8, 2015.
- [308] Mitsuka K, Kawataki T, Satoh E, Asahara T, Horikoshi T, Kinouchi H, "Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and correlation with pathological malignancy in gliomas," *Neurosurgery*, vol. 72, no. 6, pp. 1031-8, 2013.

- [309] Wainwright DA, Balyasnikova IV, Chang AL, Ahmed AU, Moon KS, Auffinger B, Tobias AL, Han Y, Lesniak MS, "IDO expression in brain tumors increases the recruitment of regulatory T cells and negatively impacts survival," *Clin Cancer Res*, vol. 18, no. 22, pp. 6110-21, 2012.
- [310] Pan K, Wang H, Chen MS, Zhang HK, Weng DS, Zhou J, Huang W, Li JJ, Song HF, Xia JC, "Expression and prognosis role of indoleamine 2,3-dioxygenase in hepatocellular carcinoma," *J Cancer Res Clin Oncol*, vol. 1334, no. 11, pp. 1247-53, 2008.
- [311] Ishio T1, Goto S, Tahara K, Tone S, Kawano K, Kitano S, "Immunoactivative role of indoleamine 2,3-dioxygenase in human hepatocellular carcinoma," *J Gastroenterol Hepatol*, vol. 19, no. 3, pp. 319-26, 2004.
- [312] Choe JY, Yun JY, Jeon YK, Kim SH, Park G, Huh JR, Oh S, Kim JE, "Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) is frequently expressed in stromal cells of Hodgkin lymphoma and is associated with adverse clinical features: a retrospective cohort study," *BMC Cancer*, vol. 14, p. 335, 2014.
- [313] Ye J, Liu H, Hu Y, Li P, Zhang G, Li Y, "Tumoral indoleamine 2,3-dioxygenase expression predicts poor outcome in laryngeal squamous cell carcinoma," *Virchows Arch*, vol. 462, no. 1, pp. 73-81, 2013.
- [314] Creelan BC, Antonia S, Bepler G, Garrett TJ, Simon GR, Soliman HH, "Indoleamine 2,3-dioxygenase activity and clinical outcome following induction chemotherapy and concurrent chemoradiation in Stage III non-small cell lung cancer," *Oncoimmunology*, vol. 2, no. 3, p. e23428, 2013.
- [315] Suzuki Y, Suda T, Furuhashi K, Suzuki M, Fujie M, Hahimoto D, Nakamura Y, Inui N, Nakamura H, Chida K, "Increased serum kynurenine/tryptophan ratio correlates with disease progression in lung cancer," *Lung Cancer*, vol. 67, no. 3, pp. 361-5, 2010.
- [316] Karanikas V, Zamanakou M, Kerenidi T, Dahabreh J, Hevas A, Nakou M, Gourgoulianis KI, Germenis AE, "Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) expression in lung cancer," *Cancer Biol Ther*, vol. 6, no. 8, pp. 1258-62, 2007.
- [317] Astigiano S1, Morandi B, Costa R, Mastracci L, D'Agostino A, Ratto GB, Melioli G, Frumento G, "Eosinophil granulocytes account for indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated immune escape in human non-small cell lung cancer," *Send to*, vol. 7, no. 4, pp. 390-6, 2005.
- [318] Pelak MJ, Śnietura M, Lange D, Nikiel B, Pecka KM, "The prognostic significance of indoleamine-2,3-dioxygenase and the receptors for transforming growth factor β and interferon γ in metastatic lymph nodes in malignant melanoma," *Pol J Pathol*, vol. 66, no. 4, pp. 376-82, 2015.
- [319] Ryan M, Crow J, Kahmke R, Fisher SR, Su Z, Lee WT, "FoxP3 and indoleamine 2,3-dioxygenase immunoreactivity in sentinel nodes from melanoma patients," *Am J Otolaryngol*, vol. 35, no. 6, pp. 689-94, 2014.

- [320] Chevolet I, Speeckaert R, Haspeslagh M, Neyns B, Krüse V, Schreuer M, Van Gele M, Van Geel N, Brochez L, "Peritumoral indoleamine 2,3-dioxygenase expression in melanoma: an early marker of resistance to immune control," *Br J Dermatol*, vol. 171, no. 5, pp. 987-95, 2014.
- [321] Speeckaert R, Vermaelen K, van Geel N, Autier P, Lambert J, Haspeslagh M, van Gele M, Thielemans K, Neyns B, Roche N, Verbeke N, Deron P, Speeckaert M, Brochez L, "Indoleamine 2,3-dioxygenase, a new prognostic marker in sentinel lymph nodes of melanoma patients," *Eur J Cancer*, vol. 48, no. 13, pp. 2004-11, 2012.
- [322] Brody JR, Costantino CL, Berger AC, Sato T, Lisanti MP, Yeo CJ, Emmons RV, Witkiewicz AK, "Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in metastatic malignant melanoma recruits regulatory T cells to avoid immune detection and affects survival," *Cell Cycle*, vol. 8, no. 12, pp. 1930-4, 2009.
- [323] Weinlich G, Murr C, Richardsen L, Winkler C, Fuchs D, "Decreased serum tryptophan concentration predicts poor prognosis in malignant melanoma patients," *Dermatology*, vol. 214, no. 1, pp. 8-14, 2007.
- [324] Nam SJ, Kim S, Paik JH, Kim TM, Heo DS, Kim CW, Jeon YK, "An increase in indoleamine 2,3-dioxygenase-positive cells in the tumor microenvironment predicts favorable prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone," *Leuk Lymphoma*, vol. 57, no. 8, pp. 1956-60, 2016.
- [325] Liu XQ, Lu K, Feng LL, Ding M, Gao JM, Ge XL, Wang X, "Up-regulated expression of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 in non-Hodgkin lymphoma correlates with increased regulatory T-cell infiltration," *Leuk Lymphoma*, vol. 55, no. 2, pp. 405-14, 2014.
- [326] Ninomiya S, Hara T, Tsurumi H, Hoshi M, Kanemura N, Goto N, Kasahara S, Shimizu M, Ito H, Saito K, Hirose Y, Yamada T, Takahashi T, Seishima M, Takami T, Moriwaki H, "Indoleamine 2,3-dioxygenase in tumor tissue indicates prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP," *Ann Hematol*, vol. 90, no. 4, pp. 409-16, 2011.
- [327] Yoshikawa T, Hara T, Tsurumi H, Goto N, Hoshi M, Kitagawa J, Kanemura N, Kasahara S, Ito H, Takemura M, Saito K, Seishima M, Takami T, Moriwaki H, "Serum concentration of L-kynurenine predicts the clinical outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP," *Eur J Haematol*, vol. 84, no. 4, pp. 304-9, 2010.
- [328] Seppälä M, Halme E, Tiilikainen L, Luukkainen A, Laranne J, Rautiainen M, Huhtala H, Paavonen T, Toppila-Salmi S, "The expression and prognostic relevance of indoleamine 2,3-dioxygenase in tongue squamous cell carcinoma," *Acta Otolaryngol*, vol. 136, no. 7, pp. 729-35, 2016.
- [329] Laimer K, Troester B, Kloss F, Schafer G, Obrist P, Perathoner A, Laimer J, Brandacher G, Rasse M, Margreiter R, Amberger A, "Expression and prognostic impact of

indoleamine 2,3-dioxygenase in oral squamous cell carcinomas," *Oral Oncol*, vol. 47, no. 5, pp. 352-7, 2011.

- [330] Urakawa H, Nishida Y, Nakashima H, Shimoyama Y, Nakamura S, Ishiguro N, "Prognostic value of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in high grade osteosarcoma," *Clin Exp Metastasis*, vol. 26, no. 8, pp. 1005-12, 2009.
- [331] Inaba T, Ino K, Kajiyama H, Yamamoto E, Shibata K, Nawa A, Nagasaka T, Akimoto H, Takikawa O, Kikkawa F, "Role of the immunosuppressive enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase in the progression of ovarian carcinoma," *Gynecol Oncol*, vol. 115, no. 2, pp. 185-92, 2009.
- [332] Takao M, Okamoto A, Nikaido T, Urashima M, Takakura S, Saito M, Saito M, Okamoto S, Takikawa O, Sasaki H, Yasuda M, Ochiai K, Tanaka T, "Increased synthesis of indoleamine-2,3-dioxygenase protein is positively associated with impaired survival in patients with serous-type, but not with other types of, ovarian cancer," *Oncol Rep*, vol. 17, no. 6, pp. 1333-9, 2007.
- [333] Okamoto A, Nikaido T, Ochiai K, Takakura S, Saito M, Aoki Y, Ishii N, Yanaihara N, Yamada K, Takikawa O, Kawaguchi R, Isonishi S, Tanaka T, Urashima M, "Indoleamine 2,3-dioxygenase serves as a marker of poor prognosis in gene expression profiles of serous ovarian cancer cells," *Clin Cancer Res*, vol. 11, no. 16, pp. 6030-9, 2005.
- [334] Yuan F, Liu Y, Fu X, Chen J, "Indoleamine-pyrrole 2,3-dioxygenase might be a prognostic biomarker for patients with renal cell carcinoma," *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, vol. 37, no. 7, pp. 649-55, 2012.
- [335] Riesenbergr R, Weiler C, Spring O, Eder M, Buchner A, Popp T, Castro M, Kammerer R, Takikawa O, Hatz RA, Stief CG, Hofstetter A, Zimmermann W, "Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in tumor endothelial cells correlates with long-term survival of patients with renal cell carcinoma," *Clin Cancer Res*, vol. 13, no. 23, pp. 6993-7002, 2007.
- [336] Moretti S, Menicali E, Voce P, Morelli S, Cantarelli S, Sponziello M, Colella R, Fallarino F, Orabona C, Alunno A, de Biase D, Bini V, Mameli MG, Filetti S, Gerli R, Macchiarulo A, Melillo RM, Tallini G, Santoro M, Puccetti P, Avenia N, Puxeddu E, "Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) is up-regulated in thyroid carcinoma and drives the development of an immunosuppressant tumor microenvironment," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 99, no. 5, pp. E832-40, 2014.
- [337] de Jong RA, Toppen NL, Ten Hoor KA, Boezen HM, Kema IP, Hollema H, Nijman HW, "Status of cellular immunity lacks prognostic significance in vulvar squamous carcinoma," *Gynecol Oncol*, vol. 125, no. 1, pp. 186-93, 2012.
- [338] Sznurkowski JJ, Żawrocki A, Emerich J, Sznurkowska K, Biernat W, "Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase predicts shorter survival in patients with vulvar squamous cell carcinoma (vSCC) not influencing on the recruitment of FOXP3-expressing regulatory T cells in cancer nests," *Gynecol Oncol*, vol. 122, no. 2, pp. 307-12, 2011.

- [339] Chevolet I, Speeckaert R, Schreuer M, Neyns B, Krysko O, Bachert C, Hennart B, Allorge D, van Geel N, Van Gele M, Brochez L, "Characterization of the in vivo immune network of IDO, tryptophan metabolism, PD-L1, and CTLA-4 in circulating immune cells in melanoma," *Oncoimmunology*, vol. 4, no. 3, p. e982382, 2015.
- [340] Chevolet I, Speeckaert R, Schreuer M, Neyns B, Krysko O, Bachert C, Van Gele M, van Geel N, Brochez L, "Clinical significance of plasmacytoid dendritic cells and myeloid-derived suppressor cells in melanoma," *J Transl Med*, vol. 13, p. 9, 2015.
- [341] Ozaki Y, Edelstein MP, Duch DS, "Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase: a mechanism of the antitumor activity of interferon gamma," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 85, no. 4, pp. 1242-6, 1988.
- [342] Takikawa O, Kuroiwa T, Yamazaki F, Kido R, "Mechanism of interferon-gamma action. Characterization of indoleamine 2,3-dioxygenase in cultured human cells induced by interferon-gamma and evaluation of the enzyme-mediated tryptophan degradation in its anticellular activity," *J Biol Chem*, vol. 263, no. 4, pp. 2041-8, 1988.
- [343] Spranger S, Spaapen RM, Zha Y, Williams J, Meng Y, Ha TT, Gajewski TF, "Up-regulation of PD-L1, IDO, and T(regs) in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8(+) T cells," *Sci Transl Med*, vol. 5, no. 200, p. 200ra116, 2013.
- [344] Liu H, Huang L, Bradley J, Liu K, Bardhan K, Ron D, Mellor AL, Munn DH, McGaha TL, "GCN2-dependent metabolic stress is essential for endotoxemic cytokine induction and pathology," *Mol Cell Biol*, vol. 34, no. 3, pp. 428-38, 2014.
- [345] Gerlini G, Di Gennaro P, Mariotti G, Urso C, Chiarugi A, Pimpinelli N, Borgognoni L, "Indoleamine 2,3-dioxygenase+ cells correspond to the BDCA2+ plasmacytoid dendritic cells in human melanoma sentinel nodes," *J Invest Dermatol*, vol. 130, no. 3, pp. 898-901, 2010.
- [346] Balachandran VP, Cavnar MJ, Zeng S, Bamboat ZM, Ocuin LM, Obaid H, Sorenson EC, Popow R, Ariyan C, Rossi F, Besmer P, Guo T, Antonescu CR, Taguchi T, Yuan J, Wolchok JD, Allison JP, DeMatteo RP, "Imatinib potentiates antitumor T cell responses in gastrointestinal stromal tumor through the inhibition of Ido," *Nat Med*, vol. 17, no. 9, pp. 1094-100, 2011.
- [347] Shields JD, Kourtis IC, Tomei AA, Roberts JM, Swartz MA, "Induction of lymphoidlike stroma and immune escape by tumors that express the chemokine CCL21," *Science*, vol. 328, no. 5979, pp. 749-52, 2010.
- [348] Watkins SK, Zhu Z, Riboldi E, Shafer-Weaver KA, Stagliano KE, Sklavos MM, Ambs S, Yagita H, Hurwitz AA, "FOXO3 programs tumor-associated DCs to become tolerogenic in human and murine prostate cancer," *J Clin Invest*, vol. 121, no. 4, pp. 1361-72, 2011.
- [349] Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, Orabona C, Vacca C, Bianchi R, Belladonna ML, Fioretti MC, Alegre ML, Puccetti P, "Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells," *Nat Immunol*, vol. 4, no. 12, pp. 1206-12, 2003.

- [350] Dejean AS, Beisner DR, Ch'en IL, Kerdiles YM, Babour A, Arden KC, Castrillon DH, DePinho RA, Hedrick SM, "Transcription factor Foxo3 controls the magnitude of T cell immune responses by modulating the function of dendritic cells," *Nat Immunol*, vol. 10, no. 5, pp. 504-13, 2009.
- [351] Isla Larrain MT, Rabassa ME, Lacunza E, Barbera A, Cretón A, Segal-Eiras A, Croce MV, "IDO is highly expressed in breast cancer and breast cancer-derived circulating microvesicles and associated to aggressive types of tumors by in silico analysis," *Tumour Biol*, vol. 35, no. 7, pp. 6511-9, 2014.
- [352] Yu J, Du W, Yan F, Wang Y, Li H, Cao S, Yu W, Shen C, Liu J, Ren X, "Myeloid-derived suppressor cells suppress antitumor immune responses through IDO expression and correlate with lymph node metastasis in patients with breast cancer," *J Immunol*, vol. 190, no. 7, pp. 3783-97, 2013.
- [353] Torres MI, López-Casado MA, Lorite P, Ríos A, "Tryptophan metabolism and indoleamine 2,3-dioxygenase expression in coeliac disease," *Clin Exp Immunol.*, vol. 148, no. 3, pp. 419-24, 2007.
- [354] Vorobjova T, Uibo O, Heilman K, Uibo R, "Increased density of tolerogenic dendritic cells in the small bowel mucosa of celiac patients," *World J Gastroenterol*, vol. 21, no. 2, pp. 439-52, 2015.
- [355] Yang C, Zhou Y, Zhang L, Jin C, Li M, Ye L, "Expression and function analysis of indoleamine 2 and 3-dioxygenase in bladder urothelial carcinoma," *Int J Clin Exp Pathol*, vol. 8, no. 2, pp. 1768-75, 2015.
- [356] Kobayashi M, Tojo A, "Langerhans cell histiocytosis in adults: Advances in pathophysiology and treatment," *Cancer Sci*, vol. 109, no. 12, pp. 3707-3713, 2018.
- [357] Götz G, Fichter J, "Langerhans'-cell histiocytosis in 58 adults," *Eur J Med Res*, vol. 9, no. 11, pp. 510-4, 2004.
- [358] Ma W, Duan H, Zhang R, Wang X, Xu H, Zhou Q, Zhang L, "High Expression of Indoleamine 2, 3-Dioxygenase in Adenosquamous Lung Carcinoma Correlates with Favorable Patient Outcome," *J Cancer*, vol. 10, no. 1, pp. 267-276, 2019.
- [359] Yu J, Wang Y, Yan F, Zhang P, Li H, Zhao H, Yan C, Yan F, Ren X, "Noncanonical NF- κ B activation mediates STAT3-stimulated IDO upregulation in myeloid-derived suppressor cells in breast cancer," *J Immunol*, vol. 193, no. 5, pp. 2574-86, 2014.
- [360] Chinn Z, Stoler MH, Mills AM, "PD-L1 and IDO expression in cervical and vulvar invasive and intraepithelial squamous neoplasias: implications for combination immunotherapy," *Histopathology*, vol. 74, no. 2, pp. 256-268, 2019.
- [361] Heeren AM, van Dijk I, Berry DRAI, Khelil M, Ferns D, Kole J, Musters RJP, Thijssen VL, Mom CH, Kenter GG, Bleeker MCG, de Gruijl TD, Jordanova ES, "Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression Pattern in the Tumor Microenvironment Predicts Clinical Outcome in Early Stage Cervical Cancer," *Front Immunol*, vol. 11, no. 9, p. 1598, 2018.

- [362] de Jong RA, Nijman HW, Boezen HM, Volmer M, Ten Hoor KA, Krijnen J, van der Zee AG, Hollema H, Kema IP, "Serum tryptophan and kynurenine concentrations as parameters for indoleamine 2,3-dioxygenase activity in patients with endometrial, ovarian, and vulvar cancer," *Int J Gynecol Cancer*, vol. 21, no. 7, pp. 1320-7, 2011.
- [363] Mills A, Zadeh S, Sloan E, Chinn Z, Modesitt SC, Ring KL, "Indoleamine 2,3-dioxygenase in endometrial cancer: a targetable mechanism of immune resistance in mismatch repair-deficient and intact endometrial carcinomas," *Mod Pathol*, vol. 31, no. 8, pp. 1282-1290, 2018.
- [364] Liu J, Liu Y, Wang W, Wang C, Che Y, "Expression of immune checkpoint molecules in endometrial carcinoma," *Exp Ther Med*, vol. 10, no. 5, pp. 1947-1952, 2015.
- [365] Mei J, Li MQ, Ding D, Li DJ, Jin LP, Hu WG, Zhu XY, "Indoleamine 2,3-dioxygenase-1 (IDO1) enhances survival and invasiveness of endometrial stromal cells via the activation of JNK signaling pathway," *Int J Clin Exp Pathol*, vol. 6, no. 3, pp. 431-44, 2013.
- [366] Tanizaki Y, Kobayashi A, Toujima S, Shiro M, Mizoguchi M, Mabuchi Y, Yagi S, Minami S, Takikawa O, Ino K, "Indoleamine 2,3-dioxygenase promotes peritoneal metastasis of ovarian cancer by inducing an immunosuppressive environment," *Cancer Sci*, vol. 105, no. 8, pp. 966-73, 2014.
- [367] Cui G, Li C, Xu G, Sun Z, Zhu L, Li Z, Zheng W, Li J, Yuan A, "Tumor-Associated Fibroblasts and Microvessels Contribute to the Expression of Immunosuppressive Factor Indoleamine 2, 3-Dioxygenase in Human Esophageal Cancers," *Pathol Oncol Res*, vol. 24, no. 2, pp. 269-275, 2018.
- [368] Nishi M, Yoshikawa K, Higashijima J, Tokunaga T, Kashihara H, Takasu C, Ishikawa D, Wada Y, Shimada M, "The Impact of Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) Expression on Stage III Gastric Cancer," *Anticancer Res*, vol. 38, no. 6, pp. 3387-3392, 2018.
- [369] Patil PA, Blakely AM, Lombardo KA, Machan JT, Miner TJ, Wang LJ, Marwaha AS, Matoso A, "Expression of PD-L1, indoleamine 2,3-dioxygenase and the immune microenvironment in gastric adenocarcinoma," *Histopathology*, vol. 73, no. 1, pp. 124-136, 2018.
- [370] Asghar K, Farooq A, Zulfiqar B, Rashid MU, "Indoleamine 2,3-dioxygenase: As a potential prognostic marker and immunotherapeutic target for hepatocellular carcinoma," *World J Gastroenterol*, vol. 23, no. 13, pp. 2286-2293, 2017.
- [371] Wang Y, Yao R, Zhang L, Xie X, Chen R, Ren Z, "IDO and intra-tumoral neutrophils were independent prognostic factors for overall survival for hepatocellular carcinoma," *J Clin Lab Anal*, vol. epub ahead of print, p. e22872, 2019.
- [372] Qu J, Liu L, Xu Q, Ren J, Xu Z, Dou H, Shen S, Hou Y, Mou Y, Wang T, "CARD9 prevents lung cancer development by suppressing the expansion of myeloid-derived suppressor cells and IDO production," *Int J Cancer*, vol. [Epub ahead of print], 2019.

- [373] Ma W, Duan H, Zhang R, Wang X, Xu H, Zhou Q, Zhang L, "High Expression of Indoleamine 2, 3-Dioxygenase in Adenosquamous Lung Carcinoma Correlates with Favorable Patient Outcome," *J Cancer*, vol. 10, no. 1, pp. 267-276, 2019.
- [374] Ryu HS, Park YS, Park HJ, Chung YR, Yom CK, Ahn SH, Park YJ, Park SH, Park SY, "Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and infiltration of FOXP3+ regulatory T cells are associated with aggressive features of papillary thyroid microcarcinoma," *Thyroid*, vol. 24, no. 8, pp. 1232-40, 2014.
- [375] Seeber A, Klinglmair G, Fritz J, Steinkohl F, Zimmer KC, Aigner F, Horninger W, Gastl G, Zelger B, Brunner A, Pichler R, "High IDO-1 expression in tumor endothelial cells is associated with response to immunotherapy in metastatic renal cell carcinoma," *Cancer Sci*, vol. 109, no. 5, pp. 1583-1591, 2018.
- [376] Stålhammar G, Seregard S, Grossniklaus HE, "Expression of immune checkpoint receptors Indoleamine 2,3-dioxygenase and T cell Ig and ITIM domain in metastatic versus nonmetastatic choroidal melanoma," *Cancer Med*, vol. [Epub ahead of print], 2019.
- [377] Gide TN, Allanson BM, Menzies AM, Ferguson PM, Madore J, Saw RPM, Thompson JF, Long GV, Wilmott JS, Scolyer RA, "Inter- and inpatient heterogeneity of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in primary and metastatic melanoma cells and the tumour microenvironment," *Histopathology*, vol. 74, no. 6, pp. 817-828, 2019.
- [378] Khair DO, Bax HJ, Mele S, Crescioli S, Pellizzari G, Khiabany A, Nakamura M, Harris RJ, French E, Hoffmann RM, Williams IP, Cheung A, Thair B, Beales CT, Touizer E, Signell AW, Tasnova NL, Spicer JF, Josephs DH, Geh JL, MacKenzie Ross A, Healy C et al, "Combining Immune Checkpoint Inhibitors: Established and Emerging Targets and Strategies to Improve Outcomes in Melanoma," *Front Immunol*, vol. 10, p. 453, 2019.
- [379] Eggermont AMM, Crittenden M, Wargo J, "Combination Immunotherapy Development in Melanoma," *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, vol. 23, no. 38, pp. 197-207, 2018.
- [380] Muller AJ, Manfredi MG, Zakharia Y, Prendergast GC, "Inhibiting IDO pathways to treat cancer: lessons from the ECHO-301 trial and beyond," *Semin Immunopathol*, vol. 41, no. 1, pp. 41-48, 2019.
- [381] Jia H, Ren W, Feng Y, Wei T, Guo M, Guo J, Zhao J, Song X, Wang M, Zhao T, Wang H, Feng Z, Tian Z, "The enhanced antitumour response of pimozide combined with the IDO inhibitor L-MT in melanoma," *Int J Oncol*, vol. 53, no. 3, pp. 949-960, 2018.
- [382] Arandi N, Ramzi M, Safaei F, Monabati A, "Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase correlates with regulatory T cell phenotype in acute myeloid leukemia patients with normal karyotype," *Blood Res*, vol. 53, no. 4, pp. 294-298, 2018.
- [383] Mangaonkar A, Mondal AK, Fulzule S, Pundkar C, Park EJ, Jillella A, Kota V, Xu H, Savage NM, Shi H, Munn D, Kolhe R, "A novel immunohistochemical score to predict

early mortality in acute myeloid leukemia patients based on indoleamine 2,3-dioxygenase expression," *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, p. 12892, 2017.

- [384] Masaki A, Ishida T, Maeda Y, Ito A, Suzuki S, Narita T, Kinoshita S, Takino H, Yoshida T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Inagaki H, Ueda R, Choi I, Suehiro Y, Iida S, "Clinical significance of tryptophan catabolism in Hodgkin lymphoma," *Cancer Sci*, vol. 109, no. 1, pp. 74-83, 2018.
- [385] Nam SJ, Kim S, Kwon D, Kim H, Kim S, Lee E, Kim TM, Heo DS, Park SH, Lim MS, Kim CW, Jeon YK, "Prognostic implications of tumor-infiltrating macrophages, M2 macrophages, regulatory T-cells, and indoleamine 2,3-dioxygenase-positive cells in primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system," *Oncoimmunology*, vol. 7, no. 7, p. e1442164, 2018.
- [386] von Bubnoff D, Zahn S, Wenzel J, Wilms H, Bieber T, Lüftl M, "Indoleamine 2,3-dioxygenase expression in early keratocyte neoplasia of the lower lip correlates to the degree of cell atypia," *Pathol Int*, vol. 62, no. 2, pp. 105-11, 2012.
- [387] El Jamal SM, Taylor EB, Abd Elmageed ZY, Alamodi AA, Selimovic D, Alkhateeb A, Hannig M, Hassan SY, Santourlidis S, Friedlander PL, Haikel Y, Vijaykumar S, Kandil E, Hassan M, "Interferon gamma-induced apoptosis of head and neck squamous cell carcinoma is connected to indoleamine-2,3-dioxygenase via mitochondrial and ER stress-associated pathways," *Cell Div*, vol. 11, no. eCollection 2016, p. 11, 2016.
- [388] Hossain MK, Wall KA, "Use of Dendritic Cell Receptors as Targets for Enhancing Anti-Cancer Immune Responses," *Cancers (Basel)*, vol. 11, no. 3, p. E418, 2019.
- [389] McKenna K, Beignon AS, Bhardwaj N, "Plasmacytoid dendritic cells: linking innate and adaptive immunity," *J Virol*, vol. 79, no. 1, pp. 17-27, 2005.
- [390] Reizis B, Bunin A, Ghosh HS, Lewis KL, Sisirak V, "Plasmacytoid dendritic cells: recent progress and open questions," *Annu Rev Immunol*, vol. 29, pp. 163-83, 2011.
- [391] Swiecki M, Colonna M, "The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells," *Nat Rev Immunol*, vol. 15, no. 8, pp. 471-85, 2015.
- [392] Young LJ, Wilson NS, Schnorrer P, Proietto A, ten Broeke T, Matsuki Y, Mount AM, Belz GT, O'Keeffe M, Ohmura-Hoshino M, Ishido S, Stoorvogel W, Heath WR, Shortman K, Villadangos JA, "Differential MHC class II synthesis and ubiquitination confers distinct antigen-presenting properties on conventional and plasmacytoid dendritic cells," *Nat Immunol*, vol. 9, no. 11, pp. 1244-52, 2008.
- [393] Nikolic T, Welzen-Coppens JM, Leenen PJ, Drexhage HA, Versnel MA, "Plasmacytoid dendritic cells in autoimmune diabetes - potential tools for immunotherapy," *Immunobiology*, vol. 214, no. 9-10, pp. 791-9, 2009.
- [394] Miller E, Bhardwaj N, "Dendritic cell dysregulation during HIV-1 infection," *Immunol Rev*, vol. 254, no. 1, pp. 170-89, 2013.

- [395] Benitez-Ribas D, Adema GJ, Winkels G, Klasen IS, Punt CJ, Figdor CG, de Vries IJ, "Plasmacytoid dendritic cells of melanoma patients present exogenous proteins to CD4+ T cells after Fc gamma RII-mediated uptake," *J Exp Med*, vol. 203, no. 7, pp. 1629-35, 2006.
- [396] Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, Cremer S, Zysk M, Miltenyi S, Buck DW, Schmitz J, "BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood," *J Immunol*, vol. 165, no. 11, pp. 6037-46, 2000.
- [397] Segura E, Valladeau-Guilemond J, Donnadieu MH, Sastre-Garau X, Soumelis V, Amigorena S, "Characterization of resident and migratory dendritic cells in human lymph nodes," *J Exp Med*, vol. 209, no. 4, pp. 653-60, 2012.
- [398] Merad M, Sathe P, Helft J, Miller J, Mortha A, "The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting," *Annu Rev Immunol*, vol. 31, pp. 563-604, 2013.
- [399] Macri C, Dumont C, Johnston AP, Mintern JD, "Targeting dendritic cells: a promising strategy to improve vaccine effectiveness," *Clin Transl Immunology*, vol. 5, no. 3, p. e66, 2016.
- [400] Caminschi I, Proietto AI, Ahmet F, Kitsoulis S, Shin Teh J, Lo JC, Rizzitelli A, Wu L, Vremec D, van Dommelen SL, Campbell IK, Maraskovsky E, Braley H, Davey GM, Mottram P, van de Velde N, Jensen K, Lew AM, Wright MD, Heath WR, Shortman K, Lahoud MH, "The dendritic cell subtype-restricted C-type lectin Clec9A is a target for vaccine enhancement," *Blood*, vol. 112, no. 8, pp. 3264-73, 2008.
- [401] den Haan JM, Lehar SM, Bevan MJ, "CD8(+) but not CD8(-) dendritic cells cross-prime cytotoxic T cells in vivo," *J Exp Med*, vol. 192, no. 12, pp. 1685-96, 2000.
- [402] Edwards AD, Diebold SS, Slack EM, Tomizawa H, Hemmi H, Kaisho T, Akira S, Reis e Sousa C, "Toll-like receptor expression in murine DC subsets: lack of TLR7 expression by CD8 alpha+ DC correlates with unresponsiveness to imidazoquinolines," *Eur J Immunol*, vol. 33, no. 4, pp. 827-33, 2003.
- [403] Kawai T, Akira S, "Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors," *Trends Mol Med*, vol. 13, no. 11, pp. 460-9, 2007.
- [404] Zhang Y, El-Far M, Dupuy FP, Abdel-Hakeem MS, He Z, Procopio FA, Shi Y, Haddad EK, Ancuta P, Sekaly RP, Said EA, "HCV RNA Activates APCs via TLR7/TLR8 While Virus Selectively Stimulates Macrophages Without Inducing Antiviral Responses," *Sci Rep*, vol. 6, p. 29447, 2016.
- [405] Kaplan DH, "In vivo function of Langerhans cells and dermal dendritic cells," *Trends Immunol*, vol. 31, no. 12, pp. 446-51, 2010.
- [406] Hutter C, Kauer M, Simonitsch-Klupp I, Jug G, Schwentner R, Leitner J, Bock P, Steinberger P, Bauer W, Carlesso N, Minkov M, Gadner H, Stingl G, Kovar H, Kriehuber E, "Notch is active in Langerhans cell histiocytosis and confers pathognomonic features on dendritic cells," *Blood*, vol. 120, no. 26, pp. 5199-208, 2012.

- [407] Hain T, Melchior F, Kamenjarin N, Muth S, Weslati H, Clausen BE, Mahnke K, Silva-Vilches C, Schütze K, Sohl J, Radsak MP, Bündgen G, Bopp T, Danckwardt S, Schild H, Probst HC, "Dermal CD207-Negative Migratory Dendritic Cells Are Fully Competent to Prime Protective, Skin Homing Cytotoxic T-Lymphocyte Responses," *J Invest Dermatol*, vol. 139, no. 2, pp. 422-429, 2019.
- [408] Redd L, Schmelz M, Burack WR, Cook JR, Day AW, Rimsza L, "Langerhans CellHistiocytosis Shows Distinct Cytoplasmic Expression of Major Histocompatibility Class II Antigens," *J Hematop*, vol. 9, no. 3, pp. 107-112, 2016.
- [409] Li Y, Kilani RT, Rahmani-Neishaboor E, Jalili RB, Ghahary A, "Kynurenine increases matrix metalloproteinase-1 and -3 expression in cultured dermal fibroblasts and improves scarring in vivo," *J Invest Dermatol*, vol. 134, no. 3, pp. 643-50, 2014.
- [410] Bates AM, Gomez Hernandez MP, Lanzel EA, Qian F, Brogden KA, "Matrix metalloproteinase (MMP) and immunosuppressive biomarker profiles of seven head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cell lines," *Transl Cancer Res*, vol. 7, no. 3, pp. 533-542, 2018.

12 ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

- (a)PTT** (Activated) Partial Thromboplastin Time - Χρόνος (Ενεργοποιημένης) Μερικής Θρομβοπλαστίνης
- (m)MDSCs** (Monocytic) Myeloid-Derived Suppressor Cells – (Μονοκυτταρικά) Κατασταλτικά Κύτταρα του Μυελού των Οστών
- 2-CDA** 2-Chlorodeoxyadenosine or Cladribin – 2-Χλωροδεοξυαδενοσίνη ή Κλαδριβίνη
- 5HT** 5- Hydroxytryptamine – 5-υδροξυτρυπταμίνη (σεροτονίνη)
- 6-MP** 6-Mercaptopurine – 6-μεκραπτοπουρίνη
- ACTH** Adrenocorticotrophic Hormone – Φλοιοεπινεφριδιοτρόπος Ορμόνη
- AhR** Aryl Hydrocarbon Receptor – Υποδοχέας του αρυλ υδρογονάνθρακα
- ALL** Acute Lymphoblastic Leukemia – Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία
- ALP** Alkaline Phosphatase – Αλκαλική Φωσφατάση
- AML** Acute Myeloid Leukemia – Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία
- ARA-C** Cytarabine - Σιταραβίνη
- AXG** Adult Xanthogranuloma – Ξανθοκοκκίωμα ενηλίκων
- AZA** Azathioprine – Αζαθειοπρίνη
- BCH** Benign Cephalic Histiocytosis – Καλοήθης Κεφαλική Ιστιοκυττάρωση
- cDC** Conventional Dendritic Cell - Συμβατικό δενδριτικό κύτταρο
- CLR** C-type Lectin Receptor – Υποδοχέας Λεκτίνης τύπου C
- CMV** Cytomegalovirus – Κυτταρομεγαλοϊός
- CNS** Central Nervous System – Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ)
- CR** Complete Response – Πλήρης Απόκριση
- CRP** C Reactive Protein – C Αντιδρώσα Πρωτεΐνη
- DLBCL** Diffuse Large B-Cell Lymphoma – Διάχυτο Λέμφωμα Μεγάλων Β Κυττάρων
- DS** Dendritic Cells – Δενδριτικά Κύτταρα
- DSS** Disease-Specific Survival – Επιβίωση Σχετική με τη Νόσο
- ECD** Erdheim-Chester Disease – Νόσος Erdheim-Chester
- EP4** Prostaglandin E2 Receptor 4 – Υποδοχέας 4 Προσταγλανδίνης E2

- ESCs** Endometrial Stromal Cells – Κύτταρα του Στρώματος του καρκίνου του Ενδομητρίου
- ft4** free Thyroxine – Ελεύθερη θυροξίνη
- GAS** Gamma Activation Sequences – Ακολουθίες Ενεργοποίησης γ
- GCN2** General Control Nonderepressible 2
- GEH** Generalized Eruptive Histiocytosis
- HAA** 3-Hydroxyanthranilic Acid – 3-υδροξυ-ανθρανιλικό οξύ
- HIV** Human Immunodeficiency Virus – Ιός της Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας
- HLH** Hemophagocytic Lymphohistiocytosis – Αιμοφαγοκυτταρική Λεμφοϊστοκυττάρωση
- HNSCC** Head and Neck Squamous Cell Carcinoma – Ακανθοκυτταρικό Καρκίνωμα Κεφαλής και Τραχήλου
- HPLC** High-Performance Liquid Chromatography – Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης
- HS** Histiocyte Society – Εταιρεία Ιστιοκυτταρώσεων
- HSV** Herpes Simplex Virus – Ιός του Απλού Έρπητα
- ICH** Indeterminate Cell Histiocytosis – Ιστιοκυττάρωση Ενδιάμεσων Κυττάρων
- IDC** Interdigitating Dendritic Cell – Διάμεσο Δενδρικό Κύτταρο
- IDO** Indoleamine 2,3-Dioxygenase – 2,3-Διοξυγενάση της Ινδολεαμίνης
- IFN** Interferon – Ιντερφερόνη
- IFNAR** Interferon-A/B Receptor – Υποδοχείς για IFN Τύπου I
- IFN γ R** Interferon- γ Receptor – Υποδοχείς για IFN Τύπου II
- Ig** Immunoglobulin - Ανοσοσφαιρίνη
- IHC** Immunohistochemistry – Ανοσοϊστοχημεία
- IL** Interleukin - Ιντερλευκίνη
- INR** International Normalized Ratio - Διεθνές Κανονικοποιημένο Πηλίκο
- ISGs** IFN-Stimulated Genes – Γονίδια που Εκφράζονται ως Αποτέλεσμα Ενεργοποίησής τους από Ιντερφερόνες
- ISRE** IFN Response Elements - Στοιχεία Απόκρισης Επαγόμενης από Ιντερφερόνη

ITAM Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motifs – Μοτίβα Ενεργοποίησης Ανοσοϋποδοχέων βασισμένων στην Τυροσίνη

JXG Juvenile Xanthogranuloma – Νεανικό Ξανθοκοκκίωμα

KA Kynurenic Acid – Κυνουρενικό Οξύ

Kyn Kynurenine – Κυνουρενίνη

LCH Langerhans Cell Histiocytosis – Ιστικοκυττάρωση Κυττάρων Langerhans

LCs Langerhans Cells – Κύτταρα Langerhans

M-CSF Macrophage Colony Stimulating Factor – Παράγοντας Αύξησης των Αποικιών των Μακροφάγων

mDC Myeloid Dendritic Cell – Μυελοειδές Δενδριτικό Κύτταρο

MFS Metastases Free Survival – Επιβίωση Χωρίς Μεταστάσεις

MH Malignant Histiocytoses – Κακοήθεις Ιστικοκυτταρώσεις

MHC Major Histocompatibility Complex – Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας

MRH Multicentric Reticulohistiocytosis – Πολυκεντρική Δικτυοϊστικοκυττάρωση

MRI Magnetic Resonance Imaging – Απεικόνιση Μαγνητικού Συντονισμού

MS Multiple System – Πολλαπλών Οργάνων

mTOR Mammalian Target of Rapamycin

MTX Methotrexate - Μεθοτρεξάτη

NAD+ Nicotinamide Adenine Dinucleotide - Δινουκλεοτίδιο Αδενίνης Νικοτιναμιδίου

NOS Not Otherwise Specified – Άλλου Τύπου

NSCLC Non-Small Cell Lung Cancer – Μη Μικροκυτταρικό Καρκίνωμα του Πνεύμονα

NXG Necrobiotic Xanthogranuloma – Νεκρωβιοτικό Ξανθοκοκκίωμα

OS Overall Survival – Ολική Επιβίωση

PBMCs Peripheral Blood Mononuclear Cells – Μονοπύρηννα Κύτταρα του Περιφερικού Αίματος

pDC Plasmacytoid Dendritic Cell – Πλασματοκυτταροειδές Δενδριτικό Κύτταρο

pDCs Plasmacytoid Dendritic Cells – Πλασματοκυτταροειδή Δενδριτικά Κύτταρα

PET-CT Positron Emission Tomography – Computed Tomography – Υπολογιστική Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων

PFS	Progression Free Survival – Επιβίωση Χωρίς Εξέλιξη της Νόσου
PGE	Prostaglandin E2 – Προσταγλανδίνη E2
PNH	Progressive Nodular Histiocytosis
PRED	Prednisone - Πρεδνιζόνη
PRR	Pattern Recognition Receptor – Υποδοχέας Αναγνώρισης Προτύπων
PT	Prothrombin Time – Χρόνος Προθρομβίνης
QA	Quinolinic Acid – Κινολινικό Οξύ
RDD	Rosai-Dorfman Disease – Νόσος Rosai-Dorfman
RO	Risk Organ – Όργανο Κινδύνου (OK)
SD	Standard Deviation – Τυπική Απόκλιση
SGOT	Serum Glutamyl Oxaloacetic Transaminase – Γλουταμινική Οξαλοξική Τρανσαμινάση Ορού
SGPT	Serum Glutamyl Pyruvic Transaminase – Γλουταμινική Πυροσταφυλική Τρανσαμινάση Ορού
SRH	Solitary Reticulohistiocytoma – Μονήρες Δικτυοϊστιωκυττάρωμα
SS	Single System – Ενός Συστήματος
TAF	Tumor-Associated Fibroblasts – Ινοβλάστες που Σχετίζονται με τον Όγκο
TCR	T Cell Receptor – Υποδοχέας T κυττάρων
TDLN	Tumor-Draining Lymph Node – Λεμφαδένες που Παροχετεύουν τον Όγκο
TDO	Tryptophan 2,3-Dioxygenase – 2,3-Διοξυγενάση της Τρυπτοφάνης
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta – Μεταμορφωτικός Αυξητικός Παράγων β'
TILs	Tumor-Infiltrating Lymphocytes – Λεμφοκύτταρα που Διηθούν τον Όγκο
TLR	Toll Like Receptor
Tregs	T Regulatory Cells – T Ρυθμιστικά Κύτταρα
TRP	Tryptophan - Τρυπτοφάνη
TSH	Thyroid Stimulating Hormone – Θυρεοειδοτρόπος Ορμόνη
UPEC	Uropathogenic Escherichia Coli – Παθογόνο του Ουροποιητικού Escherichia coli
VBL	Vinblastin – Βινμπλαστίνη

- WHO** World Health Organization – Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
- XD** Xanthoma disseminatum
- XG** Xanthogranuloma – Ξανθοκοκκίωμα
- γ-GT** Gamma-Glutamyl Transpeptidase – γ-Γλουταμυλική Τρανσπεπτιδάση
- ITIM** Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs – Μοτίβα Αναστολής
Ανοσοϋποδοχέων βασισμένων στην Τυροσίνη
- ΚΝΣ** Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
- OK** Όργανο Κινδύνου