



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

Διευθυντής: Ν. Καβαντζάς

ΘΕΜΑ:

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΈΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΕΦΡΙΝΩΝ

(ΕΡΗ)Α2, Α4, -Α6 ΣΤΟ ΟΦΘΑΛΜΙΚΟ ΜΕΛΑΝΩΜΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΥΓΕΝΙΟΣ-ΕΟΥΓΚΕΝ ΔΑΝΑ

Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων

ΑΘΗΝΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ 2024



## ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ



### ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ ΟΡΚΟΣ



Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἄσκληπιόν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἵστωρας ποιεύμενος, ἐπιτελεᾶ ποιήσεις κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε. ἠγῆσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ οὐτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρῃσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηίζωσι μαθηᾶναι, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροῆσις καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσις μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμῆ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοιςί τε καὶ ὠρρισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δαλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρῃσιν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φοβόριον δώσω. Ἄγνῳς δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν. Οὐ τεμῶ δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκκωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήσιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ὄν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φοβίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφορδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμαίων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπήης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἢ μὴ κρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔσω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελεᾶ ποιέοντι, καὶ μὴ ὑγκέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοσεζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιόρκοῦντι, τάναντία τουτέων

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	
Όνοματεπώνυμο	ΔΑΝΑ ΕΥΓΕΝΙΟΣ- ΕΟΥΓΚΕΝ
Ημερομηνία Γέννησης	22/01/1985
Λοιπά Στοιχεία	<a href="https://www.linkedin.com/in/eugene-eougken-danas-6949189a/">https://www.linkedin.com/in/eugene-eougken-danas-6949189a/</a> <a href="https://www.researchgate.net/profile/Eougken-Dana">https://www.researchgate.net/profile/Eougken-Dana</a> <a href="https://orcid.org/0000-0002-2865-3893">https://orcid.org/0000-0002-2865-3893</a>
Διεύθυνση Ηλεκτρονικού Ταχυδρομείου	danaseugene@gmail.com
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ	
Πτυχίο:	<i>ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ/ ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΑΘΗΝΑΣ</i> 16/3/2009
Α' Μεταπτυχιακό	<i>ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ</i> <i>ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ / ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ</i> 4/2/2014
Υπ. Διδάκτορας	<i>ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ</i> <i>Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ / ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ</i> 5/6/2014
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ	
1	<p><b>EPHA2, EPHA4, and EPHA7 Expression in Triple-Negative Breast Cancer</b>  <i>Diagnostics</i></p> <p style="text-align: center;">2022-02-01   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪</li> <li>▪ DOI: <a href="https://doi.org/10.3390/diagnostics12020366">10.3390/diagnostics12020366</a></li> <li>▪ Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/diagnostics12020366">2075-4418</a></li> </ul>

2	<p><b>EPHA2, EPHA4, and EPHA6 Expression in Uveal Melanomas: Searching for the Culprits of Neoplasia</b></p> <p><i>Diagnostics</i></p> <p>2022-04-19   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ DOI: <a href="https://doi.org/10.3390/diagnostics12051025">10.3390/diagnostics12051025</a></li> <li>▪ Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/2075-4418">2075-4418</a></li> </ul> <p>○</p>
3	<p><b>High Pregnane X Receptor (PXR) Expression Is Correlated with Poor Prognosis in Invasive Breast Carcinoma</b></p> <p><i>Diagnostics</i></p> <p>2021-10-20   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ DOI: <a href="https://doi.org/10.3390/diagnostics11111946">10.3390/diagnostics11111946</a></li> <li>▪ Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/2075-4418">2075-4418</a></li> </ul>
4	<p><b>Histone Deacetylase (HDAC)-1, -2, -4, and -6 in Uveal Melanomas: Associations with Clinicopathological Parameters and Patients' Survival.</b></p> <p><i>Cancers</i></p> <p>2021-09-23   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34638249/">34638249</a></li> <li>▪ PMC: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC8507547/">PMC8507547</a></li> <li>▪ DOI: <a href="https://doi.org/10.3390/cancers13194763">10.3390/cancers13194763</a></li> </ul>
5	<p><b>Clinical Significance of Histone Deacetylase (HDAC)-1, -2, -4 and -6 Expression in Salivary Gland Tumors.</b></p> <p><i>Diagnostics (Basel, Switzerland)</i></p> <p>2021-03-14   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33799478/">33799478</a></li> <li>• PMC: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC8000873/">PMC8000873</a></li> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.3390/diagnostics11030517">10.3390/diagnostics11030517</a></li> </ul>
6	<p><b>The Clinical Impact of the EPH/Ephrin System in Cancer: Unwinding the Thread</b></p> <p><i>International Journal of Molecular Sciences</i></p> <p>2021-08-05   Journal article</p>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.3390/ijms22168412">10.3390/ijms22168412</a></li> </ul> <p><i>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/1422-0067">1422-0067</a></i></p>
7	<p><b>Impact of Deserosalization on Small Bowel Anastomosis Healing in Swine: A Pilot Study</b> <i>In Vivo</i></p> <p>2020   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.21873/invivo.12056">10.21873/invivo.12056</a></li> <li>• <i>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/0258-851X">0258-851X</a></i></li> <li>• <i>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/1791-7549">1791-7549</a></i></li> </ul>
8	<p><b>Long-term administration of Empagliflozin may promote hepatic and renal lipid accumulation, and inflammation in the APOE knockout model</b> <i>Endocrine Abstracts</i></p> <p>2019-05-01   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.1530/endoabs.63.gp40">10.1530/endoabs.63.gp40</a></li> <li>• <i>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/1479-6848">1479-6848</a></i></li> </ul>
9	<p><b>Elevated Hu-Antigen Receptor (HuR) Expression is Associated with Tumor Aggressiveness and Poor Prognosis but not with COX-2 Expression in Invasive Breast Carcinoma Patients</b> <i>Pathology &amp; Oncology Research</i></p> <p>2018-07   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.1007/s12253-017-0288-1">10.1007/s12253-017-0288-1</a></li> <li>• <i>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/1219-4956">1219-4956</a></i></li> <li>• <i>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.3390/1532-2807">1532-2807</a></i></li> </ul>
10	<p><b>Clinical significance of farnesoid X receptor expression in thyroid neoplasia</b> <i>Future oncology (London, England)</i></p> <p>2017-08-01   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28762281/">28762281</a></li> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.2217/fon-2017-0090">10.2217/fon-2017-0090</a></li> </ul>
11	<p><b>Epithelial-Mesenchymal Transition in Non Small-cell Lung Cancer.</b> <i>Anticancer research</i></p> <p>2017-04-01   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28373440/">28373440</a></li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>DOI: <a href="https://doi.org/10.21873/anticanres.11510">10.21873/anticanres.11510</a></li> </ul>
12	<p><b>CO 2 -laser therapy in women with severe symptoms of vaginal atrophy: a pilot histopathological study</b>  <b>European Journal of Obstetrics &amp; Gynecology and Reproductive Biology</b>  <b>2017-04   journal-article</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>DOI: 10.1016/j.ejogrb.2017.01.031</li> <li>Part of ISSN: 0301-2115</li> </ul>
13	<p><b>Expression and Clinical Significance of Concomitant FAK/SRC and p-Paxillin in Mobile Tongue Squamous Cell Carcinoma.</b>  <i>Anticancer research</i>  2017-03-01   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28314297/">28314297</a></li> <li>DOI: <a href="https://doi.org/10.21873/anticanres.11449">10.21873/anticanres.11449</a></li> </ul>
14	<p><b>High Farnesoid X Receptor (FXR) expression is a strong and independent prognosticator in invasive breast carcinoma</b>  <i>Neoplasma</i>  2017   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>DOI: <a href="https://doi.org/10.4149/neo_2017_420">10.4149/neo_2017_420</a></li> <li>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.4149/neo_2017_420">1338-4317</a></li> </ul>
15	<p><b>Phosphorylated Epidermal Growth Factor Receptor Expression Is Associated With Clinicopathologic Parameters and Patient Survival in Mobile Tongue Squamous Cell Carcinoma.</b>  <i>Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons</i>  2016-08-27   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27657462/">27657462</a></li> <li>DOI: <a href="https://doi.org/10.1016/j.joms.2016.08.022">10.1016/j.joms.2016.08.022</a></li> </ul>
16	<p><b>Myofibroblasts Role in Wound Healing of Eyelid Lesions</b>  <i>International Journal of Pathology and Clinical Research</i>  2016-06-30   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>DOI: <a href="https://doi.org/10.23937/2469-5807/1510038">10.23937/2469-5807/1510038</a></li> <li>Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.23937/2469-5807/1510038">2469-5807</a></li> </ul>

17	<p><b>Evaluation of cannabinoid CB1 and CB2 receptors expression in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients' survival</b></p> <p><i>Tumor Biology</i></p> <p>2016-03   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.1007/s13277-015-4182-8">10.1007/s13277-015-4182-8</a></li> <li>• Part of ISSN: <a href="https://doi.org/10.1010-4283">1010-4283</a></li> <li>• Part of ISSN: <a href="https://doi.org/1423-0380">1423-0380</a></li> </ul>
18	<p><b>Clinical Significance of Hu-Antigen Receptor (HuR) and Cyclooxygenase-2 (COX-2) Expression in Human Malignant and Benign Thyroid Lesions</b></p> <p><i>Pathology &amp; Oncology Research</i></p> <p>2016-01   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.1007/s12253-015-9997-5">10.1007/s12253-015-9997-5</a></li> <li>• Part of ISSN: <a href="https://doi.org/1219-4956">1219-4956</a></li> <li>• Part of ISSN: <a href="https://doi.org/1532-2807">1532-2807</a></li> </ul>
19	<p><b>Extracellular signal-regulated kinase (ERK) expression and activation in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival.</b></p> <p><i>Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine</i></p> <p>2014-03-30   journal-article</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24682903/">24682903</a></li> <li>• DOI: <a href="https://doi.org/10.1007/s13277-014-1853-9">10.1007/s13277-014-1853-9</a></li> </ul>
<b>ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ</b>	
1	<p>Choline deficiency effect on the myocardial extracellular matrix remodeling: The role of carnitine.</p> <p>Athina Strilakou , Andreas Lazaris , Asteria Papavdi , Ioanna Giannopoulou , Apostolos Perelas , Petros Karkalousos , Anastasios Kriembardis , <b>Eugenios Danas</b> , Charis Liapi 17th World Congress of Basic &amp; Clinical Pharmacology</p>

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ



Μέσα από αυτές τις λίγες γραμμές, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν και με στήριξαν για την εκπόνηση και την ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής . Η εκπόνηση της διατριβής αυτής ήταν μια πρόκληση για μένα διότι είναι η βασική προϋπόθεση για την ολοκλήρωση του κύκλου σπουδών μου στην Ιατρική Σχολή Αθηνών .

Πρώτα από όλα θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον καθηγητή μου, Σταμάτιο Θεοχάρη , για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την ανάθεση της παραπάνω διδακτορικής διατριβής . Το αμείωτο ενδιαφέρον, οι υποδείξεις, η καθοδήγηση, η προθυμία του και η συμπαράστασή του κατά τη συγγραφή της εργασίας, ήταν καθοριστική. Επίσης οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στον Αλέξανδρο Περγάρη και στον Κώστα Παλαμάρη , για την ουσιαστική και καταλυτική συμβολή του στη διεκπεραίωση της διατριβής αυτής. Θερμές ευχαριστίες απευθύνω σε όλους τους καθηγητές που είχα όλα τα χρόνια της ακαδημαϊκής μου ζωής , κα Κορκολοπούλου Πηνελόπη και κ. Καβατζά Νικόλαο , για τις γνώσεις που μου μετέδωσαν και με έκαναν καλύτερο άνθρωπο.

Ένα μεγάλο και εγκάρδιο ευχαριστώ στους καρδιακούς μου φίλους για τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόησή τους, όπως επίσης, σε όλους όσους συνέβαλαν με οποιονδήποτε τρόπο στην επιτυχή εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής. Τέλος ένα τεράστιο ευχαριστώ αξίζουν δύο ήρωες της καθημερινότητάς μου, οι γονείς μου Χριστίνα Δάνα και Λίλη- Ηλία Δάνα , που με στηρίζουν ηθικά και οικονομικά όλα αυτά τα χρόνια, δίνοντάς μου κουράγιο να προχωρώ και τελικά να επιτύχω τους στόχους μου.

Την παρούσα εργασία την αφιερώνω στη οικογένειά μου .



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ .....</b>	<b>13</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>14</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>16</b>
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.8</b>
1.ΟΦΘΑΛΜΟΣ: ΑΝΑΤΟΜΙΑ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ.....	18
2.ΜΕΛΑΝΟΚΥΤΤΑΡΑ .....	<b>Error! Bookmark not defined.2</b>
3.ΟΦΘΑΛΜΙΚΟΣ ΜΕΛΑΝΩΜΑ .....	29
3.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ-ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	29
3.2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ .....	31
3.3. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ .....	37
3.4. ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ.....	39
3.5. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ-ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ.....	42
3.6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ-ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	54
3.7. ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	56
4.ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΙ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ (ΕΡΗ: ΕΡΥΘΡΟΡΟΙΕΤΙΝ PRODUCING HEPATOCELLULAR)-ΕΦΡΙΝΕΣ.....	60
4.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ-ΡΥΘΜΙΣΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ .....	60
4.2. ΕΦΡΙΝΕΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ .....	65
<b>ΥΛΙΚΑ ΜΕΘΟΔΟΙ .....</b>	<b>75</b>
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>77</b>
1.ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	77
2.ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΡΗΑ2 ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ.....	78
3.ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΡΗΑ4 ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ.....	81
4.Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΡΗΑ6 ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ.....	86
5.ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΥΠΕΡΚΕΦΡΑΣΗ ΕΡΗΑ2, ΕΡΗΑ4 ΚΑΙ ΕΡΗ6.....	91
6. ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ.....	92
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>95</b>

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ .....100**



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα οφθαλμικά μελανώματα αποτελούν τις πιο συχνές πρωτοπαθείς κακοήθειες του οφθαλμού στους ενήλικες, με τον οφθαλμό να αντιπροσωπεύει τη δεύτερη πιο κοινή θέση για μελάνωμα, μετά το δέρμα. Εμφανίζονται συνήθως σε μεγαλύτερες ηλικίες από το δερματικό μελάνωμα, και η εμφάνισή τους σχετίζεται με σειρά παραγόντων κινδύνου, που αφορούν το φωτότυπο των ασθενών, την παρουσία δερματικών και οφθαλμικών σπύλων, καθώς και διάφορα κληρονομικά σύνδρομα. Η πρόγνωσή τους παραμένει κακή, με περίπου τις μισές περιπτώσεις να παρουσιάζουν μεταστατική νόσο τη στιγμή της διάγνωσης. Σχετικά με την παθογένεια της νόσου υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα, σύμφωνα με τα οποία σε αυτήν εμπλέκονται τόσο σημειακές μεταλλάξεις (*GNAQ*, *GNA11*, *BAP1*, *SF3B1* και *EIF1AX*) όσο και χρωμοσομικές ανωμαλίες (μονοσωμία 3, κέρδος 8q και 6p και απώλεια του 1p).

Οι ανθρώπινοι ηπατοκυτταρικοί υποδοχείς που παράγουν ερυθροποιητίνη (EPHs) αποτελούν τη μεγαλύτερη γνωστή οικογένεια υποδοχέων τυροσίνης, οι οποίοι, μαζί με τους προσδέτες τους, τις εφρίνες, παίζουν σημαντικό ρόλο σε μια πληθώρα φυσιολογικών διεργασιών και εμπλέκονται σε βασικά στάδια καρκινογένεσης.

Στην παρούσα μελέτη, διερευνήθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση των EPHA2, EPHA4 και EPHA6 σε ιστούς οφθαλμικού μελανώματος και στη συνέχεια τα επίπεδα έκφρασής τους συσχετίστηκαν με σειρά κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων, συμπεριλαμβανομένου του σταδίου της νόσου και της συνολικής επιβίωσης των ασθενών (OS). Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης EPHA2 συσχετίστηκαν σημαντικά με αυξημένο κάθετο πάχος του όγκου ( $p = 0,03$ ) και την παρουσία διήθησης του σκληρού χιτώνα ( $p = 0,05$ ), ενώ η αυξημένη πυρηνική χρωση EPHA6 συσχετίστηκε με μεγαλύτερη ηλικία κατά τη διάγνωση ( $p = 0,03$ ) και απουσία αποκόλληση αμφιβληστροειδούς ( $p = 0,05$ ). Σε μια πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης, η αυξημένη έκφραση EPHA4 συσχετίστηκε με μικρότερο OS μαζί με την παρουσία μετάστασης ( $p < 0,001$ ) και μονοσωμίας 3 ( $p = 0,02$ ). Σε ένα ξεχωριστό μοντέλο, διαπιστώθηκε ότι η ταυτόχρονη υπερέκφραση τουλάχιστον δύο από τις υπό μελέτη εφρίνες ( $HR = 14,7$ ,  $p = 0,03$ ) αποτελεί ανεξάρτητο δυσμενή προγνωστικό παράγοντα. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας εμπλέκουν αυτά τα συγκεκριμένα μέλη της ομάδας EPHA ως πιθανούς βιοδείκτες για την πρόγνωση της νόσου καθώς και ως πιθανούς στόχους για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων.

**Λέξεις κλειδιά:** βιοδείκτες, εφρίνες, καρκίνος, πρόγνωση, οφθαλμικό μελάνωμα

## ABSTRACT

Uveal melanomas (UMs) comprise the most common primary intraocular malignancies in adults, with the eye representing the second most common site for melanoma, following the skin. They usually appear at older ages than cutaneous melanoma, and their occurrence is associated with a number of risk factors, including the phototype of the patients, the presence of skin and eye nevi, as well as various hereditary syndromes. Prognosis remains poor, with approximately half of the cases presenting with metastatic disease at the time of diagnosis. Regarding disease pathogenesis, there are limited data, according to which both point mutations (*GNAQ*, *GNA11*, *BAP1*, *SF3B1* and *EIF1AX*) and chromosomal abnormalities (monosomy 3, gain of 8q and 6p and loss of 1p) are involved.

Erythropoietin-producing human hepatocellular receptors (EPHs) comprise the largest known family of tyrosine receptors, in which, along with their ligands, ephrins, play an important role in a plethora of processes in human physiology, and are implicated in key steps of carcinogenesis.

In the present study, EPHA2, EPHA4, and EPHA6 immunohistochemical expressions were investigated in UM tissues and further correlated to a multitude of clinicopathological parameters, including disease stage and patients' overall survival (OS). High levels of EPHA2 expression were significantly associated with increased tumor vertical thickness ( $p = 0.03$ ) and the presence of intrascleral involvement ( $p = 0.05$ ), whereas high EPHA6 nuclear expression was associated with older age at diagnosis ( $p = 0.03$ ) and absence of retinal detachment ( $p = 0.05$ ). In a multivariate survival analysis, increased EPHA4 expression was associated with shortened OS along with the presence of metastasis ( $p < 0.001$ ) and monosomy 3 ( $p = 0.02$ ). In a separate model, the concurrent overexpression of at least two of the investigated EPHs (HR = 14.7,  $p = 0.03$ ) also proved to be an independent poor prognostic factor. In conclusion, our results implicate these specific members of the EPHA group as potential biomarkers for disease prognosis as well as possible targets for the development of novel therapeutic interventions.

**Keywords:** biomarkers; cancer; ephrins; prognosis; uveal melanoma



# **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

## 1. ΟΦΘΑΛΜΟΣ: ΑΝΑΤΟΜΙΑ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

Ο οφθαλμός αποτελεί ένα από τα αισθητήρια όργανα του ανθρώπινου σώματος και είναι υπεύθυνος για την ανίχνευση των οπτικών ερεθισμάτων και τη μετατροπή τους σε ηλεκτρικά σήματα, τα οποία εν συνεχεία θα μεταφερθούν στον οπτικό φλοιό του εγκεφάλου, στον ινιακό λοβό, όπου υπόκεινται σε περαιτέρω επεξεργασία. Προκειμένου να επιτελέσει αυτή τη λειτουργία, ο οφθαλμός αποτελείται από μια διαθλαστική και μια φωτοευαίσθητη μοίρα. Η διαθλαστική μοίρα, επιτρέπει τη διέλευση του φωτός με τέτοιο τρόπο ώστε αυτό να εστιάζεται στο φωτοευαίσθητο τμήμα του οφθαλμού, τον αμφιβληστροειδή, προκειμένου να μεταβιβαστεί στη συνέχεια στον εγκέφαλο (Mccaa, 1982; Willoughby et al., 2010).

Η ανάπτυξη των οφθαλμών ξεκινά γύρω στην 4<sup>η</sup> εμβρυϊκή εβδομάδα, από προσεκβολές του προσθίου εγκεφάλου, οι οποίες θα σχηματίσουν εν συνεχεία τους αμφιβληστροειδείς χιτώνες και τα οπτικά νεύρα. Η συνεχιζόμενη ανάπτυξη αυτών των δομών, επάγει και την ανάπτυξη από το επιφανειακό εξώδερμα του φακού, ορισμένων επικουρικών μορίων του προσθίου τμήματος του οφθαλμού. Ακολουθώντας, σε πιο όψιμα στάδια της ανάπτυξης, διαμορφώνονται από το παρακείμενο μεσέγχυμα οι τρεις χιτώνες και οι λοιπές δομές του οφθαλμικού βολβού (Heavner & Pevny, 2012). Οι τρεις χιτώνες του οφθαλμικού βολβού είναι οι εξής: ο ινώδης χιτώνας, που αποτελεί τον ισχυρό εξωτερικό χιτώνα, ο ενδιάμεσος αγγειοβριδής αγγειώδης χιτώνας και ο πλέον εσωτερικός αμφιβληστροειδής ή νευρικός χιτώνας (Εικόνα 1) (Mccaa, 1982; Willoughby et al., 2010).

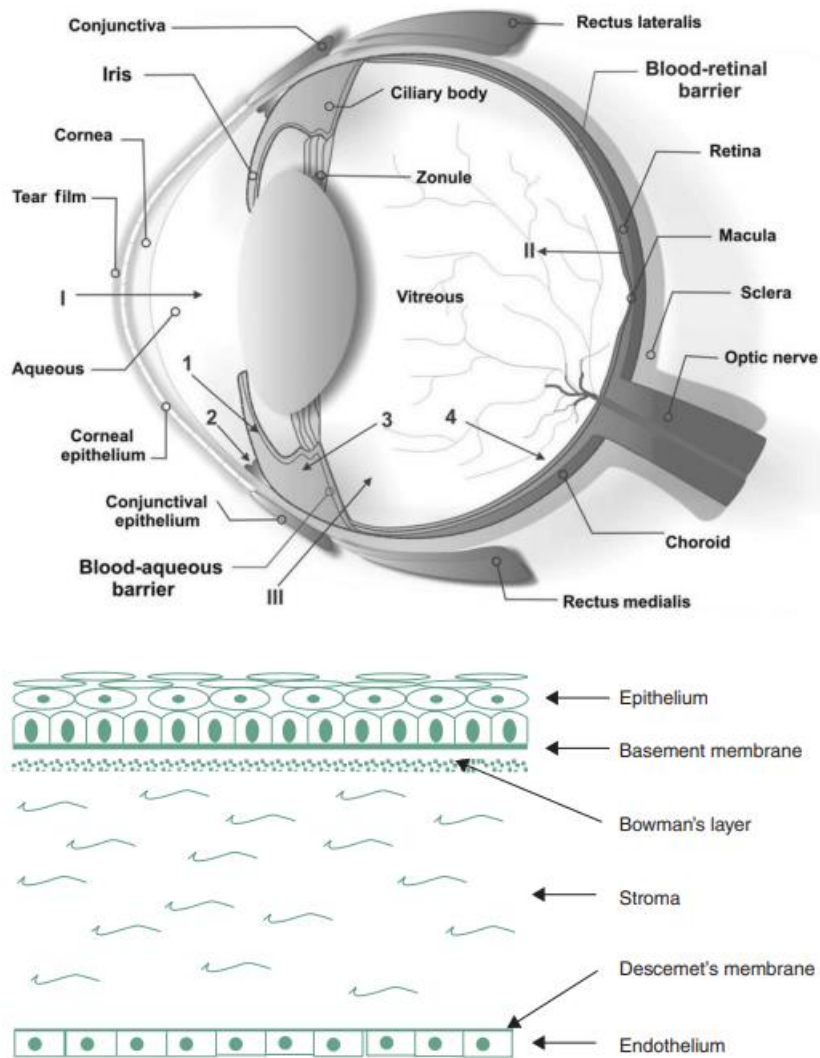
Ο ινώδης χιτώνας έχει ως κύρια λειτουργία του τη διατήρηση του κατάλληλου σχήματος του οφθαλμικού βολβού, υπό την επίδραση και της ενδοφθάλμιας πίεσης που ασκείται σε αυτόν από το υδατοειδές υγρό και το υαλοειδές σώμα (βλέπε παρακάτω). Υποδιαιρείται περαιτέρω σε σκληρό και κερατοειδή χιτώνα, οι οποίοι αμφότεροι στερούνται πλήρως αγγείωσης (Εικόνα 1) (Mccaa, 1982; Willoughby et al., 2010). Ο σκληρός χιτώνας αποτελείται από διαπλεκόμενες δέσμες κολλαγόνου τύπου I, εναλλασσόμενες με πλέγματα ελαστικών ινών. Η εναλλαγή αυτή διασφαλίζει τη διατήρηση του σχήματος του οφθαλμικού βολβού. Ο κερατοειδής χιτώνας από την άλλη είναι ιδιαίτερα νευροβριθής και αποτελείται ιστολογικά από πέντε διακριτές στιβάδες: το επιθήλιο του κερατοειδούς, τον υμένα του Bowman, το διαφανές στρώμα, τον υμένα του Descemet και το ενδοθήλιο του κερατοειδούς (Εικόνα 1) (Mccaa, 1982; Willoughby et al., 2010). Το επιθήλιο του κερατοειδούς είναι στην ουσία η συνέχεια του επιπεφυκότα, καλύπτει το πρόσθιο τμήμα του σκληρού χιτώνα και πρόκειται για πολύστιβο πλακώδες, μη κερατινοποιημένο επιθήλιο, αποτελούμενο από πέντε έως επτά

στιβάδες κυττάρων. Ο υμένας του Bowman, εντοπίζεται αμέσως υπό το επιθήλιο. Πρόκειται για ινώδη υμένα, αποτελούμενο από τυχαία διατεταγμένες κολλαγόνες ίνες τύπου I. Το διαφανές στρώμα είναι η παχύτερη στιβάδα του κερατοειδούς και αποτελείται από πέταλα κολλαγόνων ιών τύπου I, μεταξύ των οποίων αναγνωρίζονται διάσπαρτες ινοβλάστες, άμορφη θεμέλια ουσία και ελαστικές ίνες (Mccaa, 1982; Willoughby et al., 2010). Ο υμένας του Descemet είναι στην ουσία μια παχιά βασική μεμβράνη που παρεμβάλλεται ανάμεσα στο στρώμα και το υποκείμενο ενδοθήλιο. Τέλος το ενδοθήλιο του κερατοειδούς επενδύει την εσωτερική (οπίσθια) επιφάνεια του κερατοειδούς και συνίσταται σε μονόστιβο πλακώδες επιθήλιο, το οποίο είναι επιφορτισμένο με τη σύνθεση και την έκκριση των πρωτεϊνών που σχηματίζουν τον υμένα του Descemet (Mccaa, 1982; Willoughby et al., 2010).

Ο αγγειώδης χιτώνας είναι ιδιαιτέρως αγγειοβριθής και αποτελείται από τρία μέρη: το χοριοειδή χιτώνα, το ακτινωτό σώμα και την ίριδα (Εικόνα 1) (Hayreh, 2006). Ο χοριοειδής χιτώνας αποτελεί την χρωστικοφόρο στιβάδα του οπισθίου τοιχώματος του οφθαλμικού βολβού, που προσφύεται χαλαρά στον ινώδη χιτώνα. Αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό, εντός του οποίου παρατηρούνται πολυάριθμοι ινοβλάστες, αλλά και μελανοκύτταρα, τα οποία του προσδίδουν και το χαρακτηριστικό μελανό χρώμα (Nickla & Wallman, 2010). Το ακτινωτό σώμα είναι στην ουσία η σφηνοειδής προσεκβολή του χοριοειδούς χιτώνα στο έσω τοίχωμα του βολβού, στο επίπεδο του φακού και καταλαμβάνει το χώρο μεταξύ της πριονωτής παρυφής του αμφιβληστροειδούς και της ίριδας (Delamere, 2005). Αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό, με πολυάριθμους ελαστικές ίνες, αιμοφόρα αγγεία και μελανοκύτταρα. Το εξωτερικό στρώμα κυττάρων του, το οποίο «βλέπει» προς τον αυλό του οφθαλμικού βολβού, είναι μη χρωστικοφόρο κυλινδρικό επιθήλιο, ενώ το εσωτερικό στρώμα κυττάρων συνίσταται σε χρωστικοφόρο μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο, πλούσιο σε μελανίνη (Delamere, 2005). Μια καίριας σημασίας λειτουργία του ακτινωτού σώματος είναι και η μεταφορά ενός διηθήματος του πλάσματος, με χαμηλή περιεκτικότητα πρωτεϊνών, του υδατοειδούς υγρού, από τον οπίσθιο στον πρόσθιο θάλαμο, προκειμένου να παρέχει στο φακό και τον κερατοειδή, που χαρακτηρίζονται από πτωχή αγγείωση θρεπτικές ουσίες και οξυγόνο (Delamere, 2005; Hayreh, 2006). Η ίρις αποτελεί την πλέον πρόσθια προέκταση του χοριοειδούς χιτώνα και εντοπίζεται μεταξύ του οπισθίου και του προσθίου θαλάμου, καλύπτοντας πλήρως το φακό, με εξαίρεση την περιοχή της κόρης (Mathôt, 2018). Αποτελείται κυρίως από ινοβλάστες και μελανοκύτταρα. Τα τελευταία επιτελούν διττό ρόλο: αφενός μεν αποτρέπουν τη διέλευση του φωτός στο εσωτερικό του οφθαλμού (εκτός φυσικά από την περιοχή της κόρης, η οποία όπως είδαμε δεν καλύπτεται από την ίριδα), αφετέρου

είναι αυτά τα οποία προσδίδουν στους οφθαλμού το χρώμα τους (Mathôt, 2018). Τέλος, ο φακός αποτελεί έναν διαφανή εύκαμπτο και αμφίκυρτο δίσκο. Περιβάλλεται από μια ομοιογενή ελαστική κάψα, η οποία διαθλά το φως. Το υποκαψικό επιθήλιο είναι μονόστιβο κυβοειδές και εντοπίζεται μόνο στην πρόσθια επιφάνεια του φακού. Ωστόσο το μεγαλύτερο μέρος του αποτελείται από επιμήκη κύτταρα, τα οποία χαρακτηρίζονται ως ίνες του φακού. Τα κύτταρα αυτά προκύπτουν από τα κύτταρα του υποκαψικού επιθηλίου, όταν αυτά υπόκεινται σε μια διαδικασία ωρίμανσης, κατά την οποία χάνουν τα οργανίδια και τους πυρήνες τους και αποκτούν πιο επιμηκυμένο σχήμα, το οποίος φτάνει τα 7-10 χιλ. Ο εξειδικευμένος αυτός κυτταρικός πληθυσμός είναι επιφορτισμένος με την παραγωγή πρωτεϊνών που ονομάζονται κρυσταλλίνες και χρησιμεύουν στο να αυξάνουν το δείκτη διάθλασης του φωτός (Mathôt, 2018).

Ο αμφιβληστροειδής είναι ο πλέον εσωτερικός χιτώνας του οφθαλμού και σχηματίζεται από μια έξω χρωστικοφόρο στιβάδα και μια έσω στιβάδα, η οποία ονομάζεται ιδίως αμφιβληστροειδής. Η χρωστικοφόρος στιβάδα αποτελείται από κύτταρα κυβοειδή και κυλινδρικά, τα οποία χαρακτηρίζονται από εμφανή πολικότητα, με βασικά τοποθετημένους πυρήνες και πολυάριθμα κοκκία μελανίνης στο κορυφαίο τμήμα του κυτταροπλάσματός τους. Η έσω στιβάδα αποτελεί την οπτική μοίρα του αμφιβληστροειδούς και σχηματίζεται από πολυάριθμα φωτοϋποδεκτικά κύτταρα, τα κωνία και τα ραβδία, τα οποία είναι εξειδικευμένα στο να υποδέχονται και να επεξεργάζονται τα οπτικά ερεθίσματα πριν τα μεταβιβάσουν στον οπτικό φλοιό του εγκεφάλου (Mashige & Oduntan, 2016; Ptito et al., 2021).



**Εικόνα 1.** Στο πάνω μέρος της εικόνας αναγνωρίζονται τα βασικά τμήματα από τα οποία αποτελείται ο οφθαλμικός βολβός, ενώ στο κάτω μέρος βλέπουμε σχηματικά τις πέντε στιβάδες του κερατοειδούς χιτώνα (Willoughby et al., 2010).

## 2.ΜΕΛΑΝΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα μελανοκύτταρα αποτελούν έναν κυτταρικό πληθυσμό, προερχόμενο από τη νευρική ακρολοφία, ο οποίος εντοπίζεται κυρίως στις βασικές στιβάδες της επιδερμίδας, τα τριχοθυλάκια και του οφθαλμούς κι έχει ως κύρια λειτουργία του την σύνθεση και την έκκριση μελανίνης (M. Li et al., 2020). Η τελευταία αποτελεί μια χρωστική, που έχει ως κύριο ρόλο την προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία. Η παραγόμενη μελανίνη μετά τη σύνθεσή της αποθηκεύεται σε κοκκία, τα οποία ονομάζονται μελανοσώματα. Προκειμένου να επιτελέσουν πιο αποτελεσματικά τη λειτουργία της παραγωγής και μεταφοράς μελανοσωμάτων, τα μελανοκύτταρα, εκτός από εμφανή πολικότητα, παρουσιάζουν δενδριτική μορφολογία και καλά ανεπτυγμένο σύστημα μεταφοράς οργανιδίων (Tadokoro & Takahashi, 2017; X. Wu & Hammer, 2014).

Εμβρυολογικά, τα μελανοκύτταρα προέρχονται από το εξώδερμα και συγκεκριμένα από τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας (Vandamme & Berx, 2019). Κατά τη γαστριδίωση, σχηματίζονται από την επιβλάστη τα τρία βλαστικά δέρματα: ενδόδερμα, μεσόδερμα κι εξώδερμα (Ghimire et al., 2021; Solnica-Krezel & Sepich, 2012). Το εξώδερμα διαφοροποιείται εν συνεχεία, κατά τη διαδικασία της νευριδίωσης, στις διαφορετικές σειρές κυττάρων του κεντρικού και περιφερικού νευρικού συστήματος. Το πρώτο στάδιο μετά το σχηματισμό τους εξωδέρματος είναι η δημιουργία, στη ραχιαία επιφάνεια του εμβρύου της νευρικής πλάκας, η οποία ακολούθως αρχίζει να αναδιπλώνεται και σχηματίζει τη νευρική αύλακα και τελικά το νευρικό σωλήνα, ο οποίος διαφοροποιείται στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Krispin et al., 2010). Ένας άλλος πληθυσμός κυττάρων, τα οποία εντοπίζονται τοπογραφικά στο όριο μεταξύ των κυττάρων της νευρικής πλάκας και τους μη νευροεξωδερματικούς ιστούς του εμβρύου, σχηματίζει τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας, τα οποία διαφοροποιούνται προς τις σειρές του περιφερικού νευρικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένων και των μελανοκυττάρων (Εικόνα 2) (Klymkowsky et al., 2010; Sauka-Spengler et al., 2007; Solnica-Krezel & Sepich, 2012; Vandamme & Berx, 2019). Η διαδικασία διαφοροποίησης και ωρίμανσης των μελανοκυττάρων περιλαμβάνει διακριτά ενδιάμεσα φαινοτυπικά στάδια, τα οποία χαρακτηρίζονται από τον συντονισμένο επαναπρογραμματισμό συγκεκριμένων ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών, που καταλήγουν σε ενεργοποίηση και απενεργοποίηση μεταγραφικών και επιγενετικών παραγόντων (Εικόνα 3). Η αναδιοργάνωση αυτή των κυτταρικών δικτύων είναι αποτέλεσμα διακυτταρικών αλληλεπιδράσεων με παρακείμενους κυτταρικούς πληθυσμούς, τόσο εξωδερματικούς όσο και προερχόμενους από άλλα βλαστικά δέρματα (M. Li et al., 2020; Stuhlmiller & García-Castro, 2012; Vandamme & Berx, 2019).

Τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας προκύπτουν από νευροεξωδερματικούς κυτταρικούς πληθυσμούς, μέσα από μια πολύ-σταδιακή διαδικασία προοδευτικής επαγωγής συγκεκριμένων μονοπατιών σηματοδότησης, τα οποία ενεργοποιούνται κατά κύριο λόγο από μια ποικιλία παρακρινικών παραγόντων, οι κυριότεροι εκ των οποίων είναι: η μορφογενετική πρωτεΐνη των οστών (BMP: Bone Morphogenic Protein), ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (FGF: Fibroblast Growth Factor), προσδέτες των μονοπατιών Wnt, Notch, Hedgehog, και ενδοθηλίνης, καθώς και το ρετινοϊκό οξύ (Duband, 2010; Milet & Monsoro-Burq, 2012). Τα διαφορετικά αυτά δίκτυα κυτταρικής σηματοδότησης δεν ενεργοποιούνται τυχαία, αλλά όπως συμβαίνει κατά την οργανογένεση όλων των πολυκύτταρων οργανισμών, απαιτείται η συντονισμένη ρύθμιση της ενεργότητάς τους μέσα σε ένα αυστηρό χωροχρονικό πλαίσιο, το οποίο επιτρέπει την επαγωγή των κατάλληλων, στο κάθε στάδιο διαφοροποίησης, μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι με τη σειρά τους οδηγούν σε τροποποίηση της έκφρασης γονιδίων και απόκτηση της τελικής ταυτότητας του κάθε κυττάρου. Μεταγραφικοί παράγοντες που μέχρι στιγμής έχουν ταυτοποιηθεί ως καίριας σημασίας για την εμφάνιση των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας είναι οι: Msx1/2, Pax3/7, Zic1, Dlx3/5, Hairy2, Id3, Ap2. Οι τελευταίοι, μετά την ενεργοποίησή τους προκαλούν ένα δεύτερο κύμα μεταγραφικού επαναπρογραμματισμού, που οδηγεί στην επαγωγή των Snail2, FoxD3, Sox9/10, Twist, cMyc και Ap2 (Meulemans & Bronner-Fraser, 2004; Sauka-Spengler & Bronner-Fraser, 2008). Οι διαφορετικοί αυτοί παράγοντες δεν ενεργοποιούνται ταυτόχρονα στη διάρκεια της διαφοροποίησης των κυττάρων του νευροεξωδέρματος προς κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας, αλλά σε διαφορετικά στάδια, με τον Pax7 να είναι αυτός που θεωρείται πως επάγεται σε πιο πρώιμα στάδια, δίνοντας το αρχικό σήμα για την περαιτέρω διαφοροποίηση των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας (Εικόνα 2) (Basch et al., 2006; Otto et al., 2006).

Αρχικά τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας, τα οποία χαρακτηρίζονται από αυξημένη κινητικότητα και δυνατότητα μετανάστευσης, μετακινούνται σε διαφορετικά σημεία του σώματος του εμβρύου. Το πρώτο και καθοριστικό βήμα για τη μετανάστευσή τους είναι η ενεργοποίηση της επιθηλιο-μεσεγγυματικής μετατροπής, κατά την οποία μια ομάδα μεταγραφικών παραγόντων, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται οι Snail, Twist, Zeb, ρυθμίζουν την καταστολή της έκφρασης γονιδίων που συνδέονται με επιθηλιακά κυτταρικά χαρακτηριστικά και ταυτόχρονα επάγουν τη μεταγραφή γονιδίων, τα οποία προσδίδουν στα κύτταρα μεσεγγυματικό φαινότυπο, ο οποίος τους επιτρέπει να μεταναστεύουν σε απομακρυσμένα σημεία του σώματος (Theveneau & Mayor, 2012). Ο κυριότερος

εκπρόσωπος της πρώτης κατηγορίας γονιδίων, είναι η πρωτεΐνη E-cadherin, η οποία αποτελεί το κυριότερο δομικό μόριο των μεσοκυττάρων συνδέσεων, που επιτρέπουν στα κύτταρα των επιθηλιακών ιστών να διατηρούν τη μεταξύ τους συνοχή και την κορυφαιο-βασική πολικότητα, η οποία είναι αναγκαία για τη φυσιολογική τους λειτουργία. Η δεύτερη κατηγορία γονιδίων, αφορά στην ουσία τη γονιδιακή «υπογραφή» της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής και περιλαμβάνει μια σειρά πρωτεϊνών, οι οποίες εκτείνονται σε ένα ευρύ φάσμα, από μόρια διακυτταρικών συνδέσεων έως υποδοχείς αλληλεπίδρασης με το μικροπεριβάλλον καθώς και ένζυμα αναδιαμόρφωσης της εξωκυττάριας ουσίας. Τους κυριότερους εκπροσώπους αυτής της κατηγορίας γονιδίων αποτελούν οι καντχερίνες 7 και 11 (Cadherin-7/11), οι οποίες απαντώνται σε μεσεγχυματικούς κυτταρικούς πληθυσμούς και τους επιτρέπουν αντί της κορυφαιο-βασικής πολικότητας των επιθηλιακών κυττάρων να αποκτήσουν προσθιο-οπίσθια πολικότητα προσδίδοντάς τους παράλληλα αυξημένο δυναμικό μετανάστευσης. Επιπλέον, καθοριστικό ρόλο κατά τη μετανάστευση των κυττάρων παίζουν οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (Matrix metalloproteinases: MMPs), που αποδομούν συστατικά του στρώματος, όπως κολλαγόνο, λαμινίνη και ινονεκτίνη, ανοίγοντας κατ'αυτόν τον τρόπο διάδρομο για την έλευση των κυττάρων (Kalluri & Weinberg, 2009; Nieto et al., 2016; J. Yang et al., 2020). Είναι σημαντικό επίσης ότι κατά τη διαδικασία της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής, ο επανα-προγραμματισμός κυτταρικού φαινοτύπου είναι ως επί το πλείστον μερικός. Κατά συνέπεια η απώλεια των επιθηλιακών και η ταυτόχρονη απόκτηση μεσεγχυματικών χαρακτηριστικών δεν είναι καθολική και στην πλειονότητα των περιπτώσεων προκύπτουν υβριδικοί πληθυσμοί, που στην ουσία αφορούν σε ενδιάμεσες φαινοτυπικές καταστάσεις στο ευρύ φάσμα μεταξύ επιθηλιακής και μεσεγχυματικής διαφοροποίησης (Kalluri & Weinberg, 2009; Nieto et al., 2016; J. Yang et al., 2020). Μετά τη μετανάστευσή τους στο όργανο-ιστό στόχο τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας δίνουν γέννηση σε ετερογενείς κυτταρικούς πληθυσμούς, τόσο μεσεγχυματικής (λεία μυϊκά κύτταρα, λιποκύτταρα, χονδροκύτταρα) όσο και νευρικής (κύτταρα schwann, κύτταρα μυεντερικού και υποβλεννογονίου πλέγματος του γαστρεντερικού σωλήνα, μελανοκύτταρα) (Εικόνα 3) (M. Li et al., 2020).

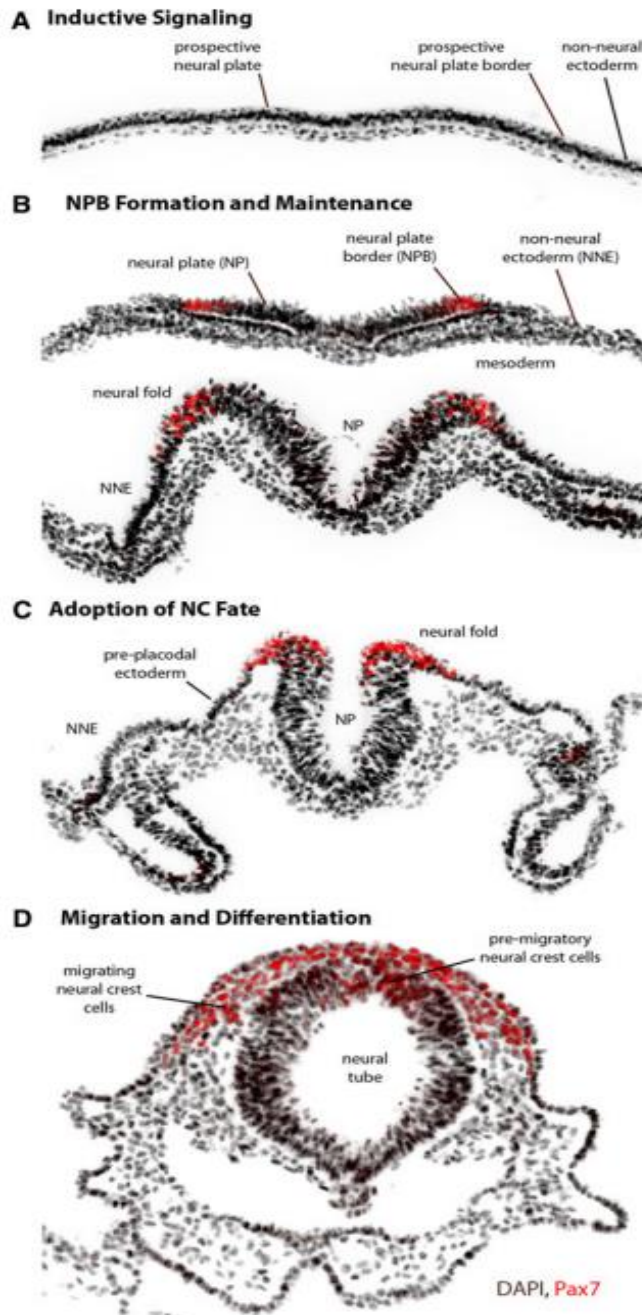
Ο σχηματισμός των μελανοκυττάρων ξεκινά από την εμφάνιση ενός πληθυσμού κοινών προγονικών κυττάρων (μελανοβλαστικών/γλοιακών), τα οποία έχουν δυναμικό διαφοροποίησης και προς τις δύο σειρές, τόσο προς μελανοκύτταρα όσο και προς νευρογλοιακά κύτταρα. Το πρώτο βήμα για να εισέλθουν τα δι-δύναμα αυτά προγονικά κύτταρα στην κατεύθυνση της μελανοκυτταρικής διαφοροποίησης είναι η ενεργοποίηση της



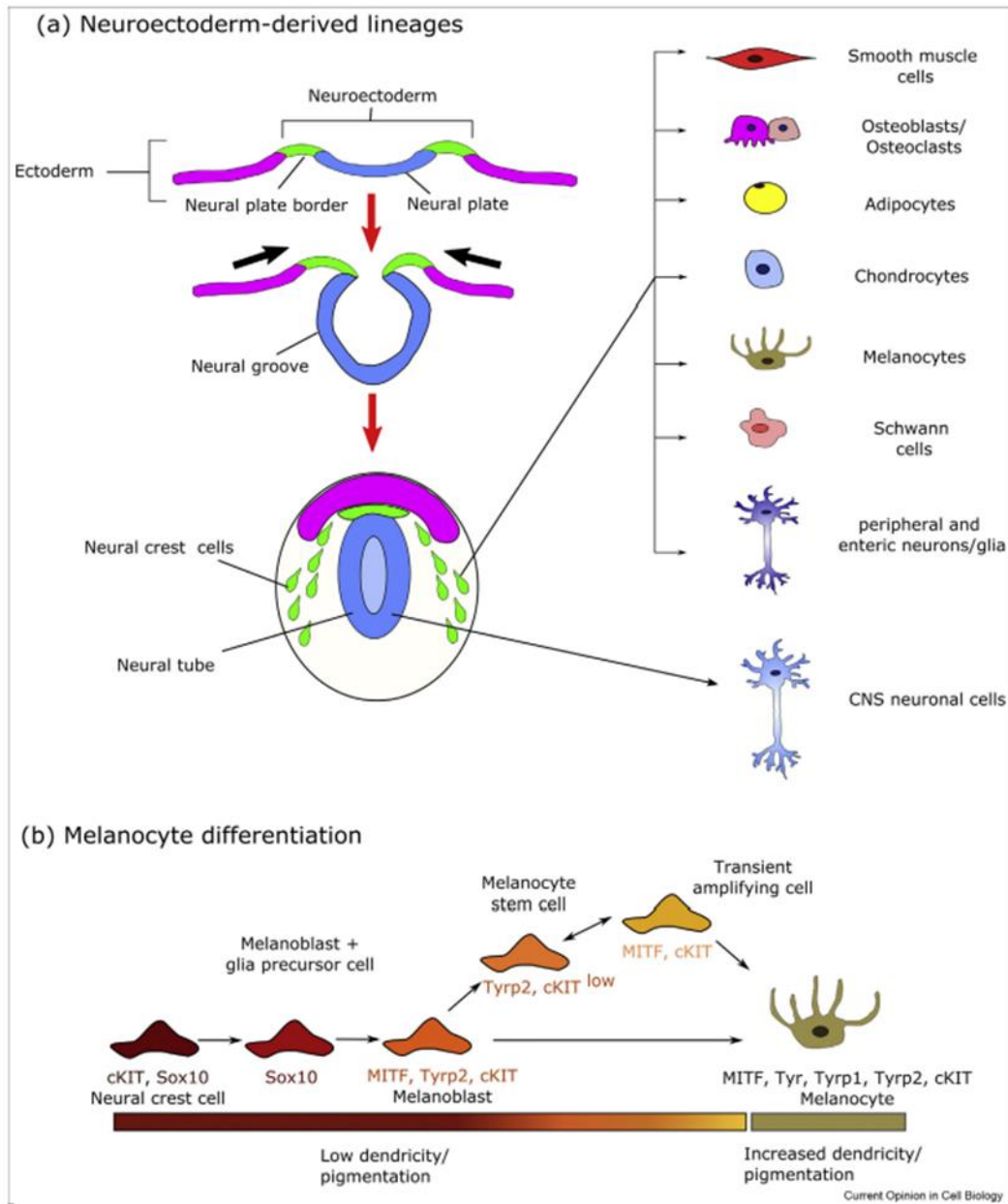
έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα που σχετίζεται με τη μικροφθαλμία (MITF: Microphthalmia Transcription Factor) (Εικόνα 3) (M. Li et al., 2020; Vandamme & Berx, 2019). Ο εν λόγω μεταγραφικός παράγοντας εμφανίζει πέντε ισομορφές, οι οποίες εμφανίζουν διακριτά πρότυπα έκφρασης. Ο παράγοντας MITF είναι κρίσιμος για μια ποικιλία κυτταρικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένης της επιβίωσης, της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, του πολλαπλασιασμού και κυρίως της διαφοροποίησης των μελανοκυττάρων, η οποία επιτυγχάνεται μέσω ρύθμισης της έκφρασης των γονιδίων που απαιτούνται για τη σύνθεση της χρωστικής μελανίνης (Shibahara, 2001). Η έκφραση του MITF ρυθμίζεται από πολλούς διαφορετικούς μεταγραφικούς παράγοντες, που εμπλέκονται στο σχηματισμό της νευρικής ακρολοφίας και τη διαφοροποίηση των μελανοβλαστών, όπως οι Pax3, Sox10, FoxD3 και CREB (Bertolotto et al., 1998; Kawakami & Fisher, 2017; Kos et al., 2001; Verastegui et al., 2000; Watanabe et al., 1998). Μετά την εγκατάστασή τους στο χόριο οι μελανοβλάστες αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται με ένα ασύμμετρο μοτίβο κυτταρικής διαίρεσης, κατά το οποίο το ένα εκ των δύο θυγατρικών κυττάρων μεταναστεύει στην επιδερμίδα, ενώ το δεύτερο παραμένει στο χόριο, ως προγονικό κύτταρο, το οποίο δυνητικά μπορεί να ενεργοποιηθεί δίνοντας γένεση σε νέα ώριμα μελανοκύτταρα (Lague et al., 2013; Vandamme & Berx, 2019). Εν συνεχεία, εκτός από την επιδερμίδα και το χόριο, οι μελανοβλάστες συγκεντρώνονται και στα τριχοθυλάκια, όπου και πάλι διαφοροποιούνται σε ώριμα μελανοκύτταρα, τα οποία συμβάλλουν στη μελάγχρωση των μαλλιών (Nishimura, 2011; Nishimura et al., 2005).

Εκτός από το δέρμα, μελανοκύτταρα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, εντοπίζονται και στον οφθαλμό και συγκεκριμένα στην ίριδα, το ακτινωτό σώμα και το χοριοειδή χιτώνα (D.-N. Hu, 2005; D.-N. Hu, Simon, et al., 2008.). Η λειτουργία της μελανίνης στους οφθαλμικούς ιστούς δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, ωστόσο φαίνεται ότι η παρουσία της προστατεύει τον οφθαλμό από τη βλαπτική επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας. Οι ακτίνες του φωτός που προσπίπτουν στον οφθαλμό αποτελούνται από ακτινοβολίες που εμπίπτουν στο ορατό και το υπεριώδες φάσμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (Sarnat, 1992; Sliney, 2005). Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι δεν αλληλεπιδρούν όλα τα μήκη κύματος με όλα τα τμήματα του οφθαλμικού βολβού. Για παράδειγμα, τα μελανοκύτταρα της ίριδας καλύπτονται εξωτερικά από τον κερατοειδή χιτώνα, ο οποίος είναι διαφανής στο ορατό φως, αλλά απορροφά το σύνολο σχεδόν της υπεριώδους ακτινοβολίας. Αντίστοιχα, τα μελανοκύτταρα του ακτινωτού σώματος και του χοριοειδούς χιτώνα καλύπτονται από το επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς και το χρωστικοφόρο κυλινδρικό επιθήλιο του ακτινωτού σώματος, τα οποία επίσης έχουν

την ικανότητα να απορροφούν το μεγαλύτερο μέρος της υπεριώδους ακτινοβολίας (Sarnat, 1992; Sliney, 2005). Κατά συνέπεια τα μελανοκύτταρα του οφθαλμού, ανεξαρτήτως της εντόπισής τους, εκτίθενται σχεδόν αποκλειστικά σε ορατού φάσματος ακτινοβολία. Η παραγόμενη από αυτά μελανίνη φαίνεται να επιτελεί διττό ρόλο: τον καθορισμό του χρώματος των οφθαλμών και την προστασία από τη δυνητικά βλαπτική επίδραση που μπορεί να ασκεί η ακτινοβολία του ορατού φωτός. Γενικά διακρίνονται δυο τύποι μελανίνης, η ευμελανίνη και η φαιομελανίνη. Στα μελανοκύτταρα του οφθαλμού αναγνωρίζονται και οι δύο τύποι μελανίνης, με τον μεταξύ τους λόγο να ποικίλει ανάλογα με το χρώμα των οφθαλμών (Prota et al., 1998). Έτσι όσο πιο σκούρο χρώμα είναι το χρώμα τους, τόσο πιο αυξημένη είναι η ποσότητα ευμελανίνης, και τόσο μεγαλύτερος ο λόγος ευμελανίνης/φαιομελανίνης. Αντίθετα, όσοι έχουν ανοιχτόχρωμους οφθαλμούς εμφανίζουν αυξημένη ποσότητα φαιομελανίνης (Prota et al., 1998; Wakamatsu et al., 2008; Wielgus & Sarna, 2005). Αναφορικά με τον προστατευτικό ρόλο που επιτελεί η μελανίνη απέναντι στην ηλιακή κυρίως ακτινοβολία, αυτή φαίνεται ότι σχετίζεται με την ικανότητά της να απορροφά αποτελεσματικά ιδιαίτερα τα χαμηλά μήκη κύματος. Έτσι τα μελανοκύτταρα της ίριδας απορροφούν το μεγαλύτερο μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, προστατεύοντας τα υπόλοιπα τμήματα του οφθαλμικού βολβού από ενδεχόμενες βλάβες, ενώ η ποσότητα της ακτινοβολίας που ξεφεύγει από αυτά, μπορεί να απορροφηθεί από τα μελανοκύτταρα του αμφιβληστροειδούς (Sarnat, 1992). Επιπλέον, στα μελανοκύτταρα του χοριοειδούς χιτώνα, η μελανίνη επιτελεί και μια επιπλέον σημαντική λειτουργία, την προστασία έναντι του οξειδωτικού στρες, που προκύπτει από την αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών λόγω της αγγειοβρίθειας και της αυξημένης συγκέντρωσης οξυγόνου που χαρακτηρίζει το συγκεκριμένο ιστό (D.-N. Hu, Savage, et al., 2008; Peters et al., 2006; Wang et al., 2006).



**Εικόνα 2.** Στην εικόνα φαίνονται τα βασικά στάδια της διαδικασίας της νευριδίωσης, με τη διαμόρφωση της νευρικής πλάκας και του νευρικού σωλήνα, που εν συνεχεία θα διαφοροποιηθεί σε κεντρικό νευρικό σύστημα, καθώς και την εμφάνιση των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας, τα οποία μεταναστεύουν στους περιφερικούς ιστούς για να σχηματίσουν τα κύτταρα του περιφερικού νευρικού συστήματος. Καθοριστική για την έναρξη της διαφοροποίησης των κυττάρων του εξωδέρματος προς κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας θεωρείται η ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα Pax7 (Stuhlmiller & García-Castro, 2012).



**Εικόνα 3.** Τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας δίνουν γένεση σε μια ποικιλία κυτταρικών πληθυσμών, τόσο μεσεγχυματικής όσο και νευρικής διαφοροποίησης. Τα μελανοκύτταρα προκύπτουν από δι-δύναμη προγονικά κύτταρα, που λειτουργούν ως πρόδρομος πληθυσμός μελανοβλαστών και νευρογλοιακών κυττάρων. Η διαδικασία διαφοροποίησης από τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας σε μελανοβλάστες και κατόπιν σε ώριμα μελανοκύτταρα εξαρτάται από την ενεργοποίηση μιας σειράς υποδοχέων και μεταγραφικών παραγόντων, με κυριότερους τους cKIT και MITF (Microphthalmia Transcription Factor) (M. Li et al., 2020).

### 3.ΟΦΘΑΛΜΙΚΟ ΜΕΛΑΝΩΜΑ

#### 3.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ-ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Το οφθαλμικό μελάνωμα μπορεί να αναπτυχθεί σε όλα τα σημεία του οφθαλμικού βολβού όπου υπάρχουν μελανοκύτταρα, δηλαδή το ακτινωτό σώμα, την ίριδα και το χοριοειδή χιτώνα. Η πλειοψηφία των περιπτώσεων παρατηρείται στο χοριοειδή χιτώνα (90%), με το ακτινωτό σώμα και την ίριδα να προσβάλλονται στο 6% και το 4%, αντίστοιχα (C. L. Shields, Kaliki, et al., 2012). Αποτελεί το συχνότερο πρωτοπαθή κακοήγη όγκο των οφθαλμών, και το δεύτερο σε συχνότητα τύπο μελανώματος μετά το δερματικό, αφορώντας συνολικά περίπου το 5% των περιπτώσεων μελανώματος (Branisteanu et al., 2021). Γενικά είναι αρκετά σπάνιος όγκος, καθώς η επίπτωσή του κυμαίνεται μεταξύ 1/1.000.000 και 9/1.000.000 πληθυσμού ανά έτος, ενώ η πλειονότητα των περιστατικών αφορά άτομα ηλικίας μεταξύ 50 και 70 ετών, με διάμεση ηλικία εμφάνισης τα 62 έτη (Aronow et al., 2018; A. D. Singh et al., 2011). Αν και ορισμένες επιδημιολογικές έρευνες έχουν δείξει ότι άνδρες και γυναίκες επηρεάζονται εξίσου, άλλες δείχνουν μια ελαφρά υπεροχή του ανδρικού φύλου (Andreoli et al., 2005; Aronow et al., 2018; D. N. Hu et al., 2005; A. D. Singh et al., 2011). Επιπλέον, σημαντικές διαφοροποιήσεις στη συχνότητα εμφάνισής του απαντώνται μεταξύ διαφορετικών εθνοτήτων. Στις ΗΠΑ ο λόγος της επίπτωσης μεταξύ λευκών και μαύρων κυμαίνεται μεταξύ 1:15-1:50/1.000.000, καταδεικνύοντας τον εμφανώς αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου στους λευκούς. Μεταξύ των τελευταίων παρατηρούνται περαιτέρω διαφοροποιήσεις, με τους Λατίνους να χαρακτηρίζονται από σαφώς χαμηλότερη επίπτωση οφθαλμικού μελανώματος συγκριτικά με τους Καυκάσιους. Τέλος οι Ασιάτες εμφανίζουν ιδιαίτερα χαμηλή επίπτωση, συγκρίσιμη με τους μαύρους. Κατ'απόλυτη τιμή, η επίπτωση της νόσου ανά εκατομμύριο πληθυσμού ανά έτος στις διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες είναι: 0.31 (μαύροι), 0.38 (Ασιάτες), 1.67 (Λατίνοι), and 6.02 (Καυκάσιοι) (Εικόνα 4) (D. N. Hu et al., 2005).

**TABLE 1.** Number and Incidence Rates (1/Million) and Rate Ratios for Uveal Melanomas by Race in 11 SEER registry areas, 1992–2000

Race/Ethnicity	Number	Crude Rate	Adjusted Rate (95% CI)*	Rate Ratio (95% CI)†	Z Value	P Value
Black	9	0.24	0.31 (0.1–0.6)	Reference		
American Indian	0	—	—	—	—	—
Asian‡	10	0.29	0.38 (0.2–0.8)	1.23 (0.5–3.2)	0.422	>.05
Hispanic	52	0.91	1.67 (1.2–2.3)	5.39 (2.5–11.5)	4.377	<.0001
Non-Hispanic white	1281	6.37	6.02 (5.7–6.4)	19.42 (9.7–39.0)	8.332	<.0001

\*Age-adjusted incidence rate and 95% CI.  
†Rate ratios were calculated on the basis of age-adjusted rate.  
‡Includes Pacific Islander.

**Εικόνα 4.** Στον παραπάνω πίνακα φαίνεται η διαφορετική επίπτωση οφθαλμικού μελανώματος μεταξύ διαφορετικών εθνοτήτων (D. N. Hu et al., 2005).

Στην Ευρώπη, η επίπτωση ποικίλλει ανά περιοχή, με μια χαρακτηριστική προοδευτικά αυξανόμενη κλίση από το νότο προς βορρά, που αντιστοιχεί σε ελάχιστη συχνότητα <2/1.000.000 σε Ισπανία και νότια Ιταλία, και μέγιστη >8/1.000.000 στην Ιρλανδία, τη Νορβηγία και της Δανία (Εικόνα 5) (Virgili et al., 2007). Στην Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία η επίπτωση είναι παρόμοια με εκείνη της Βόρειας Ευρώπης, στα 9,8 και 9 περιστατικά ανά 1.000.000 πληθυσμού ετησίως, αντίστοιχα. Τέλος, η συχνότητα εμφάνισης της νόσου είναι ιδιαίτερα χαμηλή (<1 /1.000.000) τόσο στις Ασιατικές χώρες, όπως η Νότια Κορέα (0,4/1.000.000) και η Ιαπωνία (0,6/1.000.000), όσο και στην Αφρική (0,3/1.000.000) (D. N. Hu et al., 2005; Virgili et al., 2007).

Table 1. Standardized Incidence Rates (European Standard Population) of Uveal Melanoma for All the Registries Included in the Study

Registry	Area	Total No. of Cases	No. of Unknown Diagnosis Verifications	No. of Sites Unspecified (190.9)	Latitude	Standardized Incidence Rate (95% Confidence Interval)
Iceland	Nordic	16	0	6	65	6.3 (3.1–9.5)
Finland	Nordic	371	0	0	64	6.1 (5.5–6.8)
Norway	Nordic	473	0	0	62	8.4 (7.6–9.2)
Sweden	Nordic	882	0	0	62	7.1 (6.6–7.6)
Denmark	Nordic	586	3	10	56	8.6 (7.9–9.3)
Scotland	UK	552	0	121	56	8.4 (7.7–9.1)
Yorkshire	UK	287	5	97	54	6.1 (5.4–6.8)
East Anglia	UK	156	78	40	53	5.6 (4.7–6.5)
Mersey	UK	154	1	35	53	4.8 (4.0–5.6)
Wales	UK	214	0	86	53	5.4 (4.7–6.2)
West Midlands	UK	222	39	11	53	3.2 (2.8–3.7)
Oxford	UK	184	0	63	52	6.4 (5.4–7.3)
Thames	UK	530	44	192	52	6.0 (5.5–6.5)
South Western	UK	549	0	171	51	6.4 (5.9–7.0)
Trent	UK	380	8	201	51	6.0 (5.4–6.6)
Estonia	Eastern	129	0	8	59	7.0 (5.8–8.3)
Cracow	Eastern	51	0	23	50	6.6 (4.7–8.5)
Slovakia	Eastern	354	0	5	49	6.4 (5.8–7.1)
Slovenia	Eastern	149	11	0	46	6.8 (5.7–8.0)
Eindhoven	Western	50	1	2	51	4.8 (3.5–6.2)
Calvados Gen	Western	32	0	3	49	4.8 (3.1–6.5)
Saarland	Western	66	0	6	49	4.5 (3.4–5.6)
Bas Rhin	Western	60	0	8	48	5.4 (4.0–6.8)
Geneva	Western	22	0	0	46	4.7 (2.7–6.7)
Varese	Western	43	0	2	46	3.7 (2.6–4.9)
Parma	Western	24	1	5	45	3.4 (1.9–4.8)
Turin	Western	36	0	1	45	2.9 (2.0–3.9)
Navarra	Western	15	0	1	43	2.6 (1.3–3.9)
Tuscany	Western	51	0	8	43	3.4 (2.4–4.3)
Latina	Western	14	0	0	41	2.6 (1.2–3.9)
Tarragona	Western	7	0	1	41	1.3 (0.3–2.2)
Mallorca	Western	9	0	0	40	2.0 (0.6–3.3)
Ragusa	Western	5	1	1	37	1.5 (0.1–2.8)

**Εικόνα 5.** Στον πίνακα φαίνεται η διαφορετική επίπτωση οφθαλμικού μελανώματος μεταξύ διαφορετικών ευρωπαϊκών χωρών (Virgili et al., 2007).

Η ετερογένεια στην κατανομή των περιστατικών οφθαλμικού μελανώματος που παρατηρείται μεταξύ διαφορετικών εθνοτήτων υποδεικνύει την ύπαρξη προδιαθεσικών παραγόντων, οι οποίοι συνδέονται τόσο με χαρακτηριστικά των εν λόγω πληθυσμών που απορρέουν από το γενετικό τους υπόβαθρο όσο και με διάφορες συνήθειες που επηρεάζουν την αλληλεπίδρασή τους με το περιβάλλον (Nayman et al., 2017). Οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου που έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη οφθαλμικού μελανώματος φαίνονται στην εικόνα 7.

### 3.2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

#### Φωτότυπος-χρώμα δέρματος-χρώμα ματιών:

Ενώ η παρουσία φωτότυπου I και II θεωρείται ότι αυξάνει την πιθανότητα ανάπτυξης οφθαλμικού μελανώματος, αντικρουόμενα αποτελέσματα έχουν καταγραφεί μεταξύ

διαφορετικών μελετών ως προς το κατά πόσον τα επιμέρους στοιχεία που τον χαρακτηρίζουν, δηλαδή το χρώμα δέρματος, μαλλιών και ματιών αποτελούν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου (Egan et al., 1988; Nayman et al., 2017).

Μια μετα-ανάλυση, που περιελάμβανε εκτεταμένο δείγμα ασθενών, έδειξε ότι το ανοιχτό χρώμα δέρματος και η ευπάθεια για την ανάπτυξη εγκαυμάτων κατά την έκθεση στον ήλιο αυξάνουν τον κίνδυνο οφθαλμικού μελανώματος κατά περίπου 1.6 και 1.8, αντίστοιχα (Maresca et al., 2015; Nayman et al., 2017). Η σύνδεση του χρώματος του δέρματος με την εμφάνιση όγκων προερχόμενων από μελανοκύτταρα μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι αυτό καθορίζεται εν πολλοίς γενετικά από τα επίπεδα, την κατανομή και το είδος μελανίνης στο κάθε άτομο. Συγκεκριμένα, εκτός από τα συνολικά μειωμένα επίπεδα μελανίνης που χαρακτηρίζουν τα άτομα με ανοιχτόχρωμο δέρμα, φαίνεται να παρουσιάζουν και αυξημένο λόγο φαιομελανίνης-προς-ευμελανίνη στο ραγοειδή χιτώνα των οφθαλμών τους, κάτι που θεωρείται ότι καθιστά τα μελανοκύτταρα περισσότερο ευπαθή στην εμφάνιση βλαβών στο γενετικό υλικό, οι οποίες μπορούν εν συνεχεία να οδηγήσουν σε ανάπτυξη όγκων (Maresca et al., 2015; Nayman et al., 2017).

Το ανοιχτό χρώμα ματιών έχει επίσης δειχθεί ότι συνδέεται με αυξημένη επίπτωση οφθαλμικού μελανώματος, αφού σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα για την εμφάνιση της νόσου κατά 1.75 (Weis et al., 2006). Και σε αυτή την περίπτωση, το παθοφυσιολογικό υπόβαθρο της παρατηρούμενης στατιστικής συσχέτισης θεωρείται ότι έγκειται στη μειωμένη παραγωγή μελανίνης, τόσο στην ίριδα, όσο και στο χοριοειδή και αμφιβληστροειδή χιτώνα των εν λόγω ασθενών. Το γεγονός αυτό, αφενώς καθιστά τον οφθαλμό πιο διαπερατό στις ακτίνες της ηλιακής ακτινοβολίας, η οποία μπορεί πιο εύκολα να φτάσει μέχρι το οπίσθιο τμήμα του οφθαλμικού βολβού προκαλώντας βλάβες στο DNA των μελανοκυττάρων του ραγοειδούς χιτώνα και αφετέρου καθιστά και το επιθήλιο του χοριοειδούς και του αμφιβληστροειδούς χιτώνα πιο ευάλωτα σε βλάβες από την ηλιακή ακτινοβολία (GueÅ nel et al., 2001; Harbour et al., 2004; Menon et al., 1992; Saornil, 2004).

Τέλος, το χρώμα των μαλλιών, αν και γενικά αποτελεί αναπόσπαστο στοιχείο του φαινότυπου δεν φαίνεται με βάση τα έως τώρα δεδομένα να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για το οφθαλμικό μελάνωμα. Μια υπόθεση που έχει αναπτυχθεί προκειμένου να ερμηνεύσει τα δεδομένα, επικεντρώνεται στις διαφορές που παρουσιάζουν τα μελανοκύτταρα των τριχοθυλακίων ως προς τη φυσιολογία-ομοιόστασή τους συγκριτικά με τα αντίστοιχα της επιδερμίδας και του οφθαλμού (Weis et al., 2006).



### Δερματικοί σπίλοι-φακή:

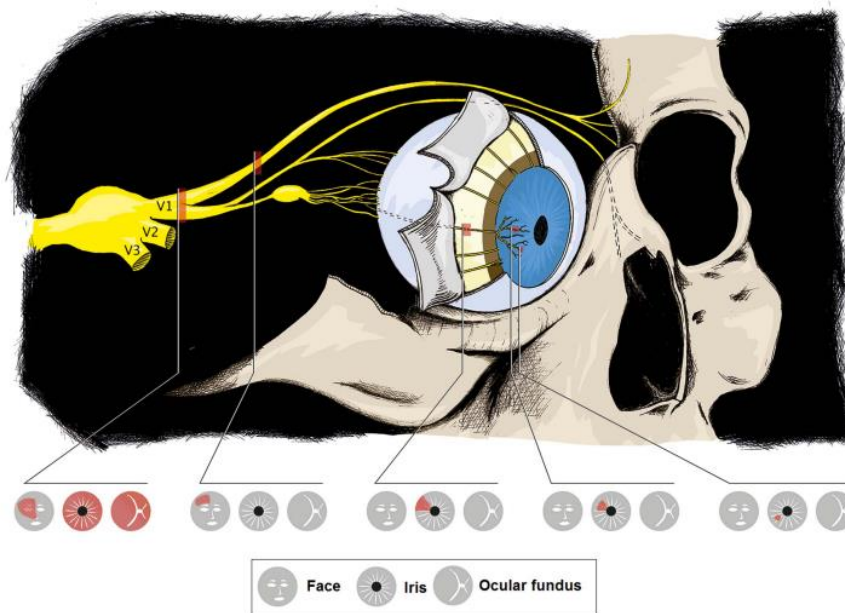
Οι σπίλοι και η φακή αποτελούν καλοήθεις αλλοιώσεις των μελανοκυττάρων, η παρουσία των οποίων έχει ταυτοποιηθεί ως παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση οφθαλμικού μελανώματος. Η φακή συνίσταται στην υπερτροφία των μελανοκυττάρων της επιδερμίδας, καθώς αυξάνεται το μέγεθος του κυτταροπλάσματός τους, ενώ και δενδριτικές τους αποφυάδες γίνονται πιο προεξάρχουσες (Praetorius et al., 2014). Η αντιροπιστική αυτή υπερτροφία των μελανοκυττάρων θεωρείται ότι προκαλείται μετά από παρατεταμένη έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία, στα πλαίσια της προσπάθειας του οργανισμού να αυξήσει την παραγόμενη μελανίνη, ενισχύοντας κατ'έκταση την προστασία των κερατινοκυττάρων από τη βλαπτική δράση της ηλιακής ακτινοβολίας (Praetorius et al., 2014). Οι σπίλοι από την άλλη χαρακτηρίζονται ιστολογικά από υπερπλασία των μελανοκυττάρων, τα οποία διαμορφώνουν φωλεώδεις σχηματισμούς, οι οποίες εντοπίζονται στην επιδερμίδα ή/και στο χόριο του δέρματος (Roh et al., 2015). Η παθογένειά τους θεωρείται ότι περιλαμβάνει τόσο γενετικούς παράγοντες, όπως παρουσία κληρονομούμενων μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα γονίδια, όπως το *BRAF*, αλλά και σε περιβαλλοντικούς, όπως η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία (Roh et al., 2015). Οι σπίλοι διακρίνονται αδρά σε απλούς και άτυπους, με βάση κλινικά κριτήρια, τα οποία αφορούν κατά κύριο λόγο μακροσκοπικά τους χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα, οι άτυποι σπίλοι εμφανίζουν ορισμένες ομοιότητες με το μελάνωμα, όπως ετερογένεια χρώματος σε διαφορετικά σημεία της βλάβης, ασυμμετρία, ανώμαλα-διηθητικά όρια και μέγιστη διάμετρο μεγαλύτερη των 6 χιλ (Slade et al., 1995). Ενώ λοιπόν ορισμένοι σπίλοι αποτελούν δυνητικά προκαρκινικές βλάβες και μπορούν υπό την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων και κυρίως της ηλιακής έκθεσης να εξελιχθούν σε μελανώματα, η σύνδεσή τους με την ανάπτυξη οφθαλμικού μελανώματος δεν έχει σαφώς καθοριστεί (Gandini et al., 2005; Weis et al., 2009). Μια αρκετά βιώσιμη υπόθεση υποστηρίζει ότι η παρουσία σε ένα άτομο αλλοιώσεων όπως οι σπίλοι και η φακή είναι ενδεικτική ενός γενετικού υποβάθρου το οποίο τα καθιστά πιο ευπαθή σε ογκογόνες μεταλλάξεις όταν εκτίθενται σε συγκεκριμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες με κυριότερο την ηλιακή ακτινοβολία (Gandini et al., 2005; Weis et al., 2009).

### Οφθαλμικοί σπίλοι:

Εκτός όμως των δερματικών σπύλων, αντίστοιχες καλοήθεις μελανοκυτταρικές αλλοιώσεις (σπίλοι) απαντώνται και στους οφθαλμούς. Οι οφθαλμικοί σπίλοι αντιστοιχούν περίπου στο 60% των μονήρων όγκων της ίριδας, εμφανίζονται συχνότερα στους λευκούς, όπου η

επίπτωσή τους κυμαίνεται μεταξύ 2-6%, ενώ η συχνότητα εμφάνισής τους μεταξύ ανδρών και γυναικών είναι παρόμοια (C. L. Shields, Kancherla, et al., 2012). Εμφανίζονται συχνότερα σε άτομα με ανοιχτό χρώμα δέρματος και οφθαλμών. Διακρίνονται σε διάχυτους, οι οποίοι καταλαμβάνουν μεγάλο μέρος, ακόμα και το σύνολο της ίριδας και είναι συγγενούς αιτιολογίας και σε μονήρεις, οι οποίοι είναι εντοπισμένοι και περιορίζονται σε σαφώς μικρότερη έκταση (Schwab et al., 2015). Από τις δυο αυτές κατηγορίες, οι μονήρεις σπίλοι αποτελούν την πλειοψηφία, σχεδόν τα 3/4 και εμφανίζονται συχνότερα στο κατώτερο ημιμόριο της ίριδας, ενώ οι διάχυτοι παρατηρούνται ως επί το πλείστον στο ανώτερο ημιμόριο. Εκτός της ίριδας, οι οφθαλμικοί σπίλοι απαντώνται επίσης και στο χοριοειδή χιτώνα, αλλά και στο ακτινωτό σώμα (Schwab et al., 2015). Η εντόπιση και το μέγεθός τους θεωρείται ότι σχετίζεται άμεσα με τη διαδικασία μετανάστευσης των μελανοβλαστών κατά την εμβρυογένεση και εξαρτάται κυρίως από το χρονικό σημείο στο οποίο ξεκινά ο πολλαπλασιασμός τους. Πιο συγκεκριμένα, καθώς οι μελανοβλάστες μεταναστεύουν κατά μήκος των τριών κλάδων του τριδύμου νεύρου (V1:οφθαλμικό νεύρο, V2:άνω γναθικό νεύρο, V3:κάτω γναθικό νεύρο) αυτές που προορίζονται για να εγκατασταθούν στον οφθαλμό, μεταφέρονται σε αυτόν ακολουθώντας την πορεία του οφθαλμικού νεύρου (V1), το οποίο χορηγεί πολλαπλούς μικρότερους κλάδους, μεταξύ των οποίων τα ακτινωτά νεύρα (Εικόνα 6). Τα τελευταία διεισδύουν στον οφθαλμό παρέχοντας νεύρωση στα διαφορετικά τμήματά του, συμπεριλαμβανομένου του κερατοειδούς χιτώνα, του ακτινωτού σώματος και της ίριδας (Saari et al., 1974). Το σημείο επομένως στο οποίο βρίσκονται οι μελανοβλάστες τη στιγμή που αρχίζει η διαδικασία σχηματισμού του σπίλου καθορίζει και την κατανομή των νεοπλασματικών μελανοκυττάρων στον οφθαλμό (Εικόνα 6) . Αν αυτό συμβεί νωρίς κατά την εμβρυϊκή ζωή, όταν οι μελανοβλάστες βρίσκονται ακόμα στο οφθαλμικό νεύρο ή σε κάποιον από τους μεγάλους κλάδους του, τότε τα μελανοκύτταρα θα κατανεμηθούν στο σύνολο ή σε μεγάλο μέρος της συνολικής έκτασης της ίριδας. Αντίθετα, αν η υπερπλασία των μελανοκυττάρων ξεκινήσει σε πιο όψιμο στάδιο, όταν αυτά έχουν φτάσει σε έναν από του κλάδους των ακτινωτών νεύρων, τότε ο σπίλος θα εντοπίζεται στην περιορισμένη έκταση που νευρώνεται από τους συγκεκριμένους αυτούς κλάδους (Saari et al., 1974). Κατ' αναλογία με τους δερματικούς σπίλους, ορισμένοι εκ των οποίων έχει δειχθεί ότι αποτελούν προκαρκινικές βλάβες, με δυναμικό εξέλιξης σε μελάνωμα, οι οφθαλμικοί σπίλοι θεωρείται ότι μπορεί να λειτουργούν ως πρόδρομες αλλοιώσεις του οφθαλμικού μελανώματος, καθώς η παρουσία τους έχει συνδεθεί με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης οφθαλμικού μελανώματος κατά 1.57 (Weis et al., 2009).

## → MELANOBLAST MIGRATION →



**Εικόνα 6.** Το σημείο κατά μήκος των κλάδων του τριδύμου νεύρου στο οποίο ξεκινά ο πολλαπλασιασμός των μελανοβλαστών καθορίζει την έκταση της ίριδας που θα καταλαμβάνεται τελικά από το σπίλο (Schwab et al., 2015).

### Κληρονομικά σύνδρομα σχετιζόμενα με προδιάθεση για ανάπτυξη όγκων:

Περίπου το 1% των περιστατικών οφθαλμικού μελανώματος θεωρείται ότι είναι οικογενούς αιτιολογίας και αναπτύσσεται στα πλαίσια κάποιου κληρονομικού συνδρόμου (Abdel-Rahman et al., 2010; Rai et al., 2017). Το κυριότερο τέτοιο σύνδρομο που οφείλεται σε κληρονομούμη μετάλλαξη μεμονωμένου γονιδίου και έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση οφθαλμικού μελανώματος είναι το σχετιζόμενο με μεταλλάξεις του *BAP1* (BAP1 σύνδρομο προδιάθεσης για ανάπτυξη όγκων/BAP1 tumor predisposition syndrome: BAP1-TPDS) (Masoomian et al., 2018). Το γονίδιο *BAP1*, κωδικοποιεί την ομώνυμη πρωτεΐνη, η οποία αποτελεί ένα ένζυμο υδρόλυσης ομάδων ουβικουτίνης (H. Yu et al., 2010). Ένα ευρύ φάσμα μεταλλάξεων του συγκεκριμένου γονιδίου, οι οποίες μάλιστα εμφανίζονται στα γεννητικά κύτταρα και κατά συνέπεια είναι κληρονομούμενες, έχουν ήδη ταυτοποιηθεί και ενταχθεί στα πλαίσια του BAP1-TPDS. Τα άτομα με τις εν λόγω μεταλλάξεις εμφανίζουν προδιάθεση για την ανάπτυξη μια σειράς κακοήθων νεοπλασμάτων, με κυριότερα το μεσοθηλίωμα, το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, το δερματικό μελάνωμα και το οφθαλμικό μελάνωμα (Harbour

et al., 2010; Testa et al., 2011; Wiesner et al., 2011). Σε μια μελέτη 174 ατόμων με BAP1-TPDS, το 75% (130 άτομα) εμφάνισε τουλάχιστον έναν όγκο στην διάρκεια της ζωής του, με το οφθαλμικό μελάνωμα να αποτελεί τη συχνότερη εκδήλωση, καθώς παρατηρήθηκε στο 31% (Rai et al., 2016). Η ηλικία εμφάνισης στους ασθενείς αυτούς ήταν σημαντικά μικρότερη από την παρατηρούμενη στις σποραδικές περιπτώσεις της νόσου, καθώς η διάμεση ηλικία διάγνωσης ήταν τα 51 έτη. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων παρατηρήθηκαν τουλάχιστον δυο διαφορετικοί πρωτοπαθείς όγκοι. Επίσης, στο 90% καταγράφηκε θετικό οικογενειακό ιστορικό, με τουλάχιστον δυο συγγενείς πρώτου ή δεύτερου βαθμού να εμφανίζουν όγκο ταυτόσημο με αυτόν που παρατηρήθηκε στον ασθενή της μελέτης (Rai et al., 2016).

Άλλα κληρονομούμενα σύνδρομα που προδιαθέτουν για ανάπτυξη όγκων σε πολλαπλές εντοπίσεις κι έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση οφθαλμικού μελανώματος είναι τα σύνδρομα Lynch και Birt-Hogg-Dubbe καθώς και κληρονομικές μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA1/BRCA2*, τα οποία όμως ευθύνονται για ελάχιστο ποσοστό των περιστατικών της οικογενούς μορφής της νόσου (P. A. Johansson et al., 2019; Lasave & Deromedis, 2017).

#### Περιβαλλοντικοί παράγοντες:

Οι σημαντικότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες που έχουν ενοχοποιηθεί για την αύξηση τους κινδύνου οφθαλμικού μελανώματος είναι δυο επαγγελματικές δραστηριότητες: η συγκόλληση και η μαγειρική (Nayman et al., 2017). Ως προς τη συγκόλληση, φαίνεται ότι συνδέεται με την έντονη και παρατεταμένη έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, η οποία είναι αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινότητας όσων ασχολούνται επαγγελματικά με την εν λόγω δραστηριότητα (Tenkate, 1998). Εκτός όμως από την έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι και μήκη κύματος του ορατού φάσματος, κυρίως αυτά που αντιστοιχούν στο μπλε χρώμα (450-495 nm) συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (Di Cesare et al., 2009; Logan et al., 2015). Επιπλέον, το συγκεκριμένο επάγγελμα περιλαμβάνει την έκθεση και σε άλλους τοξικούς παράγοντες, όπως χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία, ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ραδιοσυχνοτήτων, καθώς και αναθυμιάσεις που παράγονται κατά τη διαδικασία της συγκόλλησης, οι οποίοι πιθανολογούνται ως παράγοντες κινδύνου για το οφθαλμικό μελάνωμα (Borská et al., 2003; Simonato et al., 1991; Stang et al., 2001; Tenkate, 1998). Σχετικά με την επαγγελματική ενασχόληση με τη μαγειρική φαίνεται ότι η παρετεταμένη έκθεση στις αναθυμιάσεις του λαδιού, οι οποίες είναι πλούσιες σε πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες,

προκαλούν οξειδωτικό στρες στα κύτταρα, επάγοντας την καρκινογένεση (Nayman et al., 2017).

**Table 2.** Identified meta-analyzed uveal melanoma risk factors.

Risk factor	OR	95% CI
Atypical cutaneous nevi*	2.82	1.10–7.26
Welding	2.05	1.20–3.51
Occupational cooking	1.81	1.33–2.46
Fair skin color	1.80	1.31–2.47
Light eye color**	1.75	1.31–2.34
Common cutaneous nevi <sup>o</sup>	1.74	1.27–2.39
Propensity to sunburn	1.64	1.29–2.09
Iris nevi*	1.53	1.03–2.27
Occupational sunlight exposure	1.37	0.96–1.96
Cutaneous freckles*	1.27	1.09–1.49
Latitude of birth <sup>§</sup>	1.08	0.67–1.74
Light hair color <sup>†</sup>	1.02	0.82–1.26
Outdoor leisure activities <sup>‡</sup>	0.86	0.71–1.04

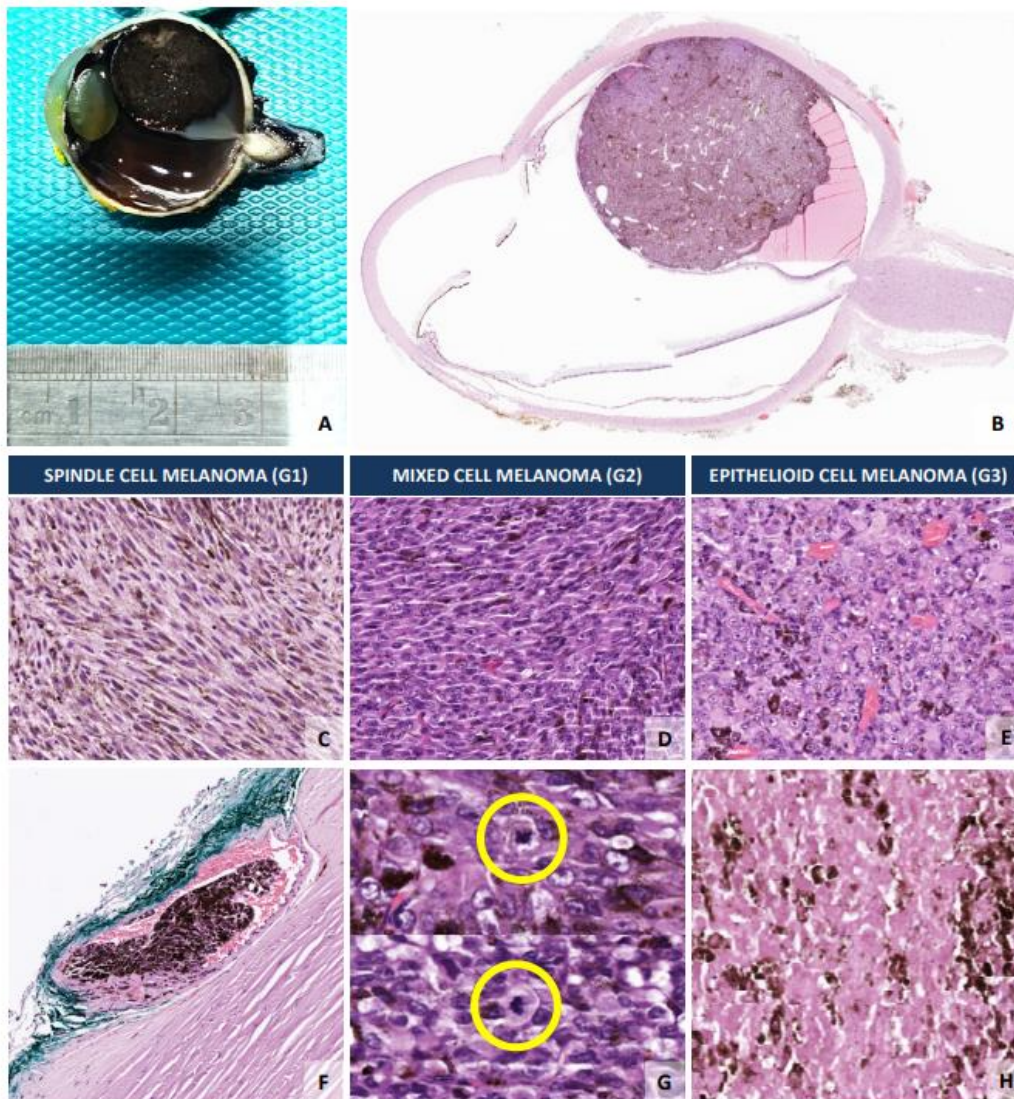
\*Presence vs. absence of. \*\*Blue or gray. <sup>o</sup> Greater numbers vs. none. <sup>§</sup> Born closer to the equator vs. further. <sup>†</sup> Blond or red. <sup>‡</sup> More time vs. less.

**Εικόνα 7.** Ο παραπάνω πίνακας συνοψίζει τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη οφθαλμικού μελανώματος (Nayman et al., 2017).

### 3.3. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

Ιστολογικά, τα οφθαλμικά μελανώματα μπορούν να προσλάβουν πολλά διαφορετικά πρότυπα καθώς τα κυτταρικά τους χαρακτηριστικά μπορεί να ποικίλουν. Η ιστοπαθολογική ανάλυση των εν λόγω νεοπλασμάτων έχει οδηγήσει στην ταυτοποίηση τεσσάρων, μορφολογικά ετερογενών πληθυσμούς κυττάρων, η οποία βασίζεται στα τροποποιημένα κριτήρια του Callender κι εφαρμόζεται για περίπου 40 χρόνια (McLean et al., 2018). Με βάση αυτό το σύστημα κυτταρολογικής ταξινόμησης, οι δυο από τους 4 πληθυσμούς κυττάρων που απαντώνται στο οφθαλμικό μελάνωμα είναι ατρακτοειδείς (ατρακτοειδή κύτταρα A και B), ο ένας είναι επιθηλιοειδής, ενώ έχει αναγνωριστεί και ένας πληθυσμός με ενδιάμεσα χαρακτηριστικά. Αμφότεροι οι ατρακτοκυτταρικοί πληθυσμοί (ατρακτοειδή κύτταρα A και B) έχουν ατρακτοειδές σχήμα, εμφανίζουν όμως διακριτά χαρακτηριστικά που αφορούν κυρίως τον πυρήνα. Συγκεκριμένα τα κύτταρα A έχουν ομοιόμορφους πυρήνες με εντομές, ενώ οι πυρήνες των κυττάρων B είναι επιμηκυμένοι, συχνά με αποστρογγυλεμένα άκρα (cigar-like) και φέρουν ευμέγεθες πυρήνιο. Τα κύτταρα B

αποτελούν τον επικρατέστερο πληθυσμό που παρατηρείται στα οφθαλμικά μελανώματα. Αντίθετα τα κύτταρα A πλέον θεωρείται ότι δεν αποτελούν κακοήγη πληθυσμό, αλλά καλοήγη σπιλοκύτταρα. Τα επιθηλιοειδή κύτταρα εμφανίζουν πτωχή συνοχή, έχουν μεγαλύτερο μέγεθος και στρογγυλό-ωοειδές σχήμα, ενώ ο πυρήνας τους φέρει συνήθως προέχον ηωσινόφιλο πυρήνιο. Τέλος τα ενδιάμεσα κύτταρα είναι μικρότερα στρογγυλά επιθηλιοειδή κύτταρα, με μορφολογικά χαρακτηριστικά ενδιάμεσα μεταξύ των επιθηλιοειδών και των ατρακτοειδών κυττάρων B. Οι εν λόγω κυτταρικοί πληθυσμοί αναμειγνύονται σε διαφορετικές αναλογίες σε κάθε όγκο, με αποτέλεσμα άλλοτε να προεξάρχει εμφανώς ένας συγκεκριμένος κυτταρικός φαινότυπος, προσδίδοντας στον νεόπλασμα μονόμορφη εικόνα και σε άλλες περιπτώσεις να αναγνωρίζονται σε ικανή έκταση και διαφορετικοί πληθυσμοί κυττάρων με αποτέλεσμα ο όγκος να παρουσιάζει διαφασικό ή και πολυφασικό μορφολογικό πρότυπο. Όταν τα ατρακτοειδή κύτταρα B καταλαμβάνουν πάνω από το 90% του όγκου, τότε αυτός χαρακτηρίζεται ως μελάνωμα ατρακτοειδούς τύπου, ενώ όταν άνω το 90% του νεοπλάσματος αποτελείται από επιθηλιοειδή κύτταρα, χαρακτηρίζεται ως μελάνωμα επιθηλιοειδούς τύπου. Οι όγκοι που δεν πληρούν αυτά τα κριτήρια των αμιγώς ατρακτοειδών ή επιθηλιοειδών όγκων ταξινομούνται ως μελανώματα μικτού τύπου (Εικόνα 8) (Lamas et al., 2021; McLean et al., 2018). Οι συγκεκριμένοι μορφολογικοί υπότυποι χρησιμοποιούνται και για τον καθορισμό της ιστολογικής κακοήθειας (grade) του όγκου. Τα επιθηλιοειδή κύτταρα θεωρείται ότι σχετίζονται με επιθετική βιολογική συμπεριφορά και κατ'έκταση με πτωχή πρόγνωση, επομένως το ποσοστό τους μέσα στον όγκο είναι ανάλογο με το βαθμό κακοήθειάς του. Πιο συγκεκριμένα, το σύστημα grading που χρησιμοποιείται είναι το εξής: τα ατρακτοειδούς τύπου μελανώματα ταξινομούνται ως grade 1, τα μικτά ως grade 2 και τα επιθηλιοειδή ως grade 3. Ανοσοϊστοχημικά, τα κύτταρα του οφθαλμικού μελανώματος, ανεξαρτήτως της μορφολογίας τους εκφράζουν τους κλασικούς δείκτες μελανοκυτταρικής διαφοροποίησης HMB45, S100, PMEL, Melan A, MITF, tyrosinase και SOX10 (Jager et al., 2020).



**Εικόνα 8.** Στην εικόνα φαίνονται τα τρία μορφολογικά πρότυπα που απαντώνται στο οφθαλμικό μελάνωμα, το ατρακτοκυτταρικό, το μίκτο και το επιθηλιοειδές (Lamas et al., 2021).

### 3.4. ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η σταδιοποίηση του οφθαλμικού μελάνωματος με βάση το σύστημα TNM γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Επιτροπής για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer: AJCC) και εξαρτάται από την ακριβή εντόπιση του όγκου στον οφθαλμό (Amin et al., 2017). Συγκεκριμένα οι όγκοι της ίριδος σταδιοποιούνται με βάση το μέγεθος, το οποίο καθορίζεται από τη μέγιστη διάμετρο, το ποσοστό από τη συνολική επιφάνεια της ίριδας που καταλαμβάνεται από τον όγκο, την παρουσία δευτεροπαθούς γλαυκώματος, καθώς και την επέκτασή του σε παρακείμενες δομές, όπως το χοριοειδή ή το σκληρό χιτώνα και το ακτινωτό

σώμα. Οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται για τη σταδιοποίηση των οφθαλμικών μελανωμάτων του ακτινωτού σώματος και του χοριοειδούς χιτώνα είναι η μέγιστη διάμετρος και το πάχος του νεοπλάσματος και η επέκτασή του στο ακτινωτό σώμα ή και πέραν του σκληρού χιτώνα. Επιπλέον παράγοντες που λαμβάνονται υπόψιν κατά τη σταδιοποίηση είναι η παρουσία λεμφαδενικών και απομακρυσμένων μεταστάσεων (Amin et al., 2017). Τα ακριβή συστήματα σταδιοποίησης των μελανωμάτων της ίριδας και του ακτινωτού σώματος/χοριοειδούς χιτώνα φαίνονται στις παρακάτω εικόνες.

TABLE 1. IRIS MELANOMA BASED ON AJCC 8TH EDITION CLASSIFICATION <sup>1</sup>	
T Category	T Criteria
<b>T1</b>	<b>Tumor limited to the iris</b>
T1a	Tumor limited to the iris, not more than 3 clock hours in size
T1b	Tumor limited to the iris, more than 3 clock hours in size
T1c	Tumor limited to the iris with secondary glaucoma
<b>T2</b>	<b>Tumor confluent with or extending into the ciliary body, choroid, or both</b>
T2a	Tumor confluent with or extending into the ciliary body, without secondary glaucoma
T2b	Tumor confluent with or extending into the ciliary body and choroid, without secondary glaucoma
T2c	Tumor confluent with or extending into the ciliary body, choroid, or both with secondary glaucoma
<b>T3</b>	<b>Tumor confluent with or extending into the ciliary body, choroid, or both, with scleral extension</b>
<b>T4</b>	<b>Tumor with extrascleral extension</b>
T4a	Tumor with extrascleral extension ≤5 mm in largest diameter
T4b	Tumor with extrascleral extension >5 mm in largest diameter

TABLE 3. DEFINITION OF REGIONAL LYMPH NODE BASED ON AJCC 8TH EDITION CLASSIFICATION <sup>1</sup>	
N Category	N Criteria
<b>N1</b>	<b>Regional lymph node metastasis or discrete tumor deposits in the orbit</b>
N1a	Metastasis in one or more regional lymph node(s)
N1b	No regional lymph nodes are positive, but there are discrete tumor deposits in the orbit that are not contiguous to the eye

TABLE 4. DEFINITION OF DISTANT METASTASIS BASED ON AJCC 8TH EDITION CLASSIFICATION <sup>1</sup>	
M Category	M Criteria
<b>M0</b>	<b>No distant metastasis by clinical classification</b>
<b>M1</b>	<b>Distant metastasis</b>
M1a	Largest diameter of the largest metastasis ≤3.0 cm
M1b	Largest diameter of the largest metastasis 3.1-8.0 cm
M1c	Largest diameter of the largest metastasis ≥8.1 cm

**Εικόνα 9.** Σταδιοποίηση κατά TNM του μελανώματος της ίριδας, σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Επιτροπής για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer: AJCC, 8<sup>η</sup> έκδοση).



**TABLE 2. AJCC CLASSIFICATION OF POSTERIOR UVEAL MELANOMA (CHOROIDAL AND CILIARY BODY), T CATEGORY SUBCLASSIFICATION**

T Category	T Criteria
TX	Primary tumor cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumor
T1	Tumor base $\leq 9$ mm with thickness $\leq 6$ mm Tumor base 9.1-12 mm with thickness $\leq 3$ mm
T1a	Tumor size category 1 without ciliary body involvement and extraocular extension
T1b	Tumor size category 1 with ciliary body involvement
T1c	Tumor size category 1 without ciliary body involvement but with extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T1d	Tumor size category 1 with ciliary body involvement and extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T2	Tumor base $\leq 9$ mm with thickness 6.1-9 mm Tumor base 9.1-12 mm with thickness 3.1-9 mm Tumor base 12.1-15 mm with thickness $\leq 6$ mm Tumor base 15.1-18 mm with thickness $\leq 3$ mm
T2a	Tumor size category 2 without ciliary body involvement and extraocular extension
T2b	Tumor size category 2 with ciliary body involvement
T2c	Tumor size category 2 without ciliary body involvement but with extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T2d	Tumor size category 2 with ciliary body involvement and extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T3	Tumor base 3.1-9 mm with thickness 9.1-12 mm Tumor base 9.1-12 mm with thickness 9.1-15 mm Tumor base 12.1-15 mm with thickness 6.1-15 mm Tumor base 15.1-18 mm with thickness 3.1-12 mm
T3a	Tumor size category 3 without ciliary body involvement and extraocular extension
T3b	Tumor size category 3 with ciliary body involvement
T3c	Tumor size category 3 without ciliary body involvement but with extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T3d	Tumor size category 3 with ciliary body involvement and extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T4	Tumor base 12.1-15 mm with thickness $>15$ mm Tumor base 15.1-18 mm with thickness $>12$ mm Tumor base $>18$ mm with any thickness
T4a	Tumor size category 4 without ciliary body involvement and extraocular extension
T4b	Tumor size category 4 with ciliary body involvement
T4c	Tumor size category 4 without ciliary body involvement but with extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T4d	Tumor size category 4 with ciliary body involvement and extraocular extension $\leq 5$ mm in largest diameter
T4e	Any tumor size category with extraocular extension $>5$ mm in largest diameter
Source: Adapted from the <i>AJCC Cancer Staging Manual</i> , 8th ed. <sup>1</sup>	

**TABLE 3. AJCC CLASSIFICATION OF POSTERIOR UVEAL MELANOMA (CHOROIDAL AND CILIARY BODY), REGIONAL LYMPH NODES AND DISTANT METASTASIS**

N Category	N Criteria
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
N0	No regional lymph node involvement
N1	Regional lymph node metastasis or discrete tumor deposits in the orbit
N1a	Metastasis in one or more regional lymph node(s)
N1b	No regional lymph nodes are positive, but there are discrete tumor deposits in the orbit that are not contiguous to the eye
M Category	M Criteria
M0	No distant metastasis by clinical classification
M1	Distant metastasis
M1a	Largest diameter of the largest metastasis $\leq 3.0$ cm
M1b	Largest diameter of the largest metastasis 3.1-8.0 cm
M1c	Largest diameter of the largest metastasis $\geq 8.1$ cm
Source: Adapted from the <i>AJCC Cancer Staging Manual</i> , 8th ed. <sup>1</sup>	

**Εικόνα 10.** Σταδιοποίηση κατά TNM του μελανώματος χοριοειδούς χιτώνα και ακτινωτού σώματος σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Επιτροπής για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer: AJCC, 8<sup>η</sup> έκδοση).

### 3.5. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ-ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ

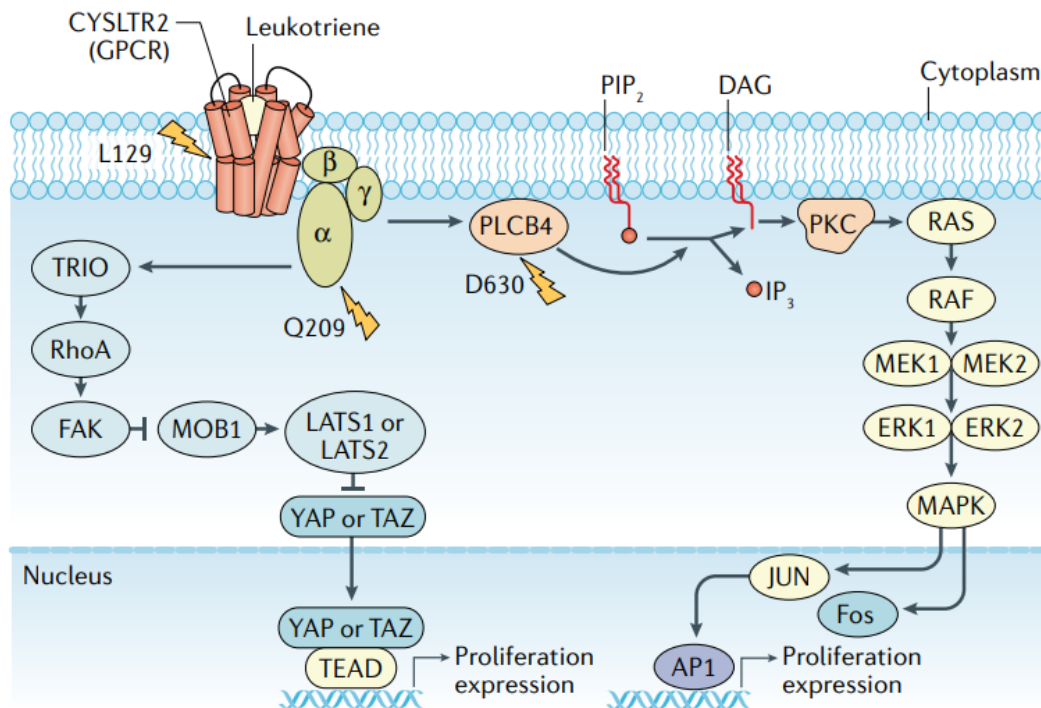
Όπως συμβαίνει στο σύνολο σχεδόν των κακοήθων νεοπλασμάτων, η παθογένεια του οφθαλμικού μελανώματος χαρακτηρίζεται από μια εκτεταμένη απορρύθμιση τόσο των επιπέδων έκφρασης όσο και της ενεργότητας πολλαπλών γονιδίων, τα οποία εμπλέκονται στο σύνολο των φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών, με αποτέλεσμα τα κύτταρα να αποκτούν τα χαρακτηριστικά της κακοήθειας (Gallenga et al., 2022; Jager et al., 2020). Η διαδικασία αυτή, που χαρακτηρίζεται ως κακοήθης εξαλλαγή (malignant transformation), προκαλείται από ένα ευρύ φάσμα γενετικών κι επιγενετικών αλλαγών, που περιλαμβάνουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες, σημειακές μεταλλάξεις και απορρύθμιση των διαδικασιών μεθυσίωσης κι ακετυλίωσης των ιστονών. Εκτεταμένες αναλύσεις σε ανθρώπινα δείγματα οφθαλμικού μελανώματος έχουν οδηγήσει στην αποκρυπτογράφηση ορισμένων από τις κυριότερες μοριακές βλάβες που εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου (Gallenga et al., 2022; Jager et al., 2020).

Σημειακές μεταλλάξεις: Ευρέως φάσματος γονιδιωματικές αναλύσεις έχουν αρχίσει να αποκρυπτογραφούν το γενετικό υπόβαθρο του οφθαλμικού μελανώματος. Σύμφωνα με τα ευρήματα τέτοιων μελετών, δυο είναι οι κύριες βλάβες χαρακτηρίζουν τους συγκεκριμένους όγκους: μια αλλοίωση στο μονοπάτι  $G_{a_q}$  και μια μετάλλαξη που χαρακτηρίζεται ως BSE, το οποίο προέρχεται από τα αρχικά των BAP1, Splice (μάτισμα) και EIF1AX76 (Gallenga et al., 2022; Jager et al., 2020). Επομένως η δεύτερη αλλοίωση αφορά το ένα εκ των τριών αυτών παραγόντων. Από αυτά τα δυο είδη βλάβης, θεωρείται ότι η απορρύθμιση του  $G_{a_q}$  συμβαίνει σε πιο πρώιμο στάδιο και αποτελεί στην ουσία το αρχικό «συμβάν» που πυροδοτεί τη διαδικασία της ογκογένεσης. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται και από το γεγονός ότι μεταλλάξεις στο συγκεκριμένο μονοπάτι έχουν εντοπιστεί και σε καλοήθεις δυνητικά προ-διηθητικές βλάβες, όπως οι σπίλοι, χωρίς ωστόσο να έχει διαλευκανθεί η ακριβής πορεία που ακολουθείται κατά την εξέλιξη από σπίλο σε οφθαλμικό μελάνωμα (Gallenga et al., 2022; Jager et al., 2020).

Το μονοπάτι  $G_{\alpha_q}$  ενεργοποιείται από υποδοχείς συζευγμένους με G πρωτεΐνες (GPCR: G protein-coupled receptors), οι οποίοι, μετά από τη σύνδεση του κατάλληλου προσδέτη ενεργοποιούν έναν καταρράκτη φωσφορυλιώσεων. Ο τελευταίος ξεκινά από τις τρεις υπομονάδες της G πρωτεΐνης ( $G_{\alpha}$ ,  $G_{\beta}$ ,  $G_{\gamma}$ ) και καταλήγει μέσω άλλων μορίων που λειτουργούν ως δευτερογενείς αγγελιοφόροι στην ενεργοποίηση ενδοκυττάριας σηματοδότησης (Jager et al., 2020). Στο οφθαλμικό μελάνωμα οι μεταλλάξεις που στοχεύουν το μονοπάτι  $G_{\alpha_q}$  είναι αποκλειστικά ενεργοποιητικές (gain-of-function) κι έχουν ως συνέπεια τη διαρκή ενεργοποίηση ενδοκυττάριας σηματοδότησης, ακόμα και χωρίς την παρουσία προσδέτη στον υποδοχέα (Vader et al., 2017). Στην συντριπτική τους πλειονότητα, οι μεταλλάξεις αυτές αφορούν τα γονίδια *GNAQ* και *GNA11*, τα οποία κωδικοποιούν α υπομονάδες των ετεροτριμερών G πρωτεϊνών, και τους επιτρέπουν να διατηρούν τα εξαρτώμενα από αυτές ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μονοπάτια σε κατάσταση διαρκούς μεταγωγής σήματος. Οι μεταλλάξεις αυτές συναντώνται περίπου στο 85% των οφθαλμικών μελανωμάτων, με κυριότερη την *Q209* και λιγότερο συχνές τις *R183* και *G48* (Raamsdonk et al., 2010; Van Raamsdonk et al., 2009). Αρκετά σπανιότερα, σε ποσοστό περίπου 10% των οφθαλμικών μελανωμάτων οι μεταλλάξεις παρατηρούνται σε άλλες πρωτεΐνες που επίσης εμπλέκονται στο συγκεκριμένο μονοπάτι και κυρίως στα γονίδια *CYSLTR2* (μετάλλαξη *L129*) και *PLCB4* (μετάλλαξη *D630*) (Εικόνα 11) (P. Johansson et al., 2016; Moore et al., 2016). Ο *CYSLTR2* είναι ένας υποδοχέας λευκοτριενίων, ο οποίος ανήκει στην κατηγορία των GPCR υποδοχέων και όταν φέρει τις συγκεκριμένες μεταλλάξεις ενεργοποιεί διαρκώς την ενδοκυττάρια σηματοδότηση, ενώ η πρωτεΐνη *PLCB4* αποτελεί έναν ενδοκυττάριο παράγοντα, ο οποίος κατόπιν φωσφορυλιώσης από τα ετεροτριμερή των G πρωτεϊνών διαμεσολαβεί την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικών κινασών C (PKCs) (Jager et al., 2020). Το μονοπάτι  $G_{\alpha_q}$  αλληλεπιδρά κι ενεργοποιεί πολλαπλά ενδοκυττάρια δίκτυα, όπως η οδός της μιτογόνου πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK), της  $\beta$ -κατενίνης, της RhoA-Rac και της πρωτεΐνης σχετιζόμενης με Yes (YAP) (Yoo et al., 2016). Ιδιαίτερα ως προς το τελευταίο, υπάρχουν αρκετά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η ενεργοποιεί μέσω του μονοπατιού TRIO-RhoA την κινάση FAK, η οποία με τη σειρά της το YAP μέσω του παράγοντα Mps one binder 1 (MOB1) (Εικόνα 11) (Feng et al., 2019). Το συγκεκριμένο ενδοκυττάριο δίκτυο ενδεχομένως θα μπορούσε να αξιοποιηθεί και κλινικά, στα πλαίσια ανάπτυξης θεραπειών που στοχεύουν τη διαδικασία της μετάστασης.

Το γεγονός ότι ο ετήσιος ρυθμός κακοήθους εξαλλαγής των οφθαλμικών σπύλων, οι οποίοι συνήθως φέρουν αλλοιώσεις στο μονοπάτι  $G_{\alpha_q}$ , σε μελάνωμα είναι περίπου 1 στους 8.845,

υποδηλώνει ότι μια πρόσθετη γενετική βλάβη απαιτείται προκειμένου η προδιηθητική βλάβη να εξελιχθεί σε διηθητική νόσο (Carbone et al., 2013). Όπως έχει προκύψει από γονιδωματικές αναλύσεις δειγμάτων οφθαλμικού μελανώματος, αυτό το δεύτερο συμβάν αφορά σε μια αλλοίωση BSE, στην οποία, όπως αναφέρθηκε παραπάνω περιλαμβάνονται: απενεργοποίηση και των δυο αλληλόμορφων του γονιδίου *BAP1*, μια ετερόζυγη μετάλλαξη που τροποποιεί τη λειτουργία ενός από τους παράγοντες ρύθμισης του ματίσματος του mRNA (κυρίως του *SF3B1*) ή μια μετάλλαξη στο αμινοτελικό άκρο του παράγοντα *EIF1AX* (Gallenga et al., 2022; Jager et al., 2020).



**Εικόνα 11.** Εκτός των *GNAQ* και *GNA11*, απαντώνται παρατηρούνται σε άλλες πρωτεΐνες που επίσης εμπλέκονται στο μονοπάτι  $G_{\alpha_q}$ , και συγκεκριμένα στα γονίδια *CYSLTR2* (μετάλλαξη *L129*) και *PLCB4* (μετάλλαξη *D630*) (Jager et al., 2020).

Το γονίδιο *BAP1* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 3, έχει ογκοκατασταλτική δράση και κωδικοποιεί μια πυρηνική υδρολάση της ουβικουιτίνης, η οποία εμπλέκεται σε πολλαπλές κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου, της κυτταρικής αύξησης και διαίρεσης, της απόπτωσης, της επιδιόρθωσης βλαβών του DNA και της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης (Bononi et al., 2017; Koormans et al., 2014; Van De Nes et al., 2016). Η ομόζυγη απενεργοποίηση του *BAP1* αποτελεί τη συχνότερη από τις τρεις

ανωτέρω βλάβες, καθώς απαντάται περίπου στο~ 50% των πρωτοπαθών οφθαλμικών μελανωμάτων (Harbour et al., 2010). Συνήθως προκύπτει από συνδυασμό μιας αδρανοποιητικής μετάλλαξης στο ένα αλληλόμορφο, σε συνδυασμό με απώλεια της ετεροζυγωτίας κυρίως μέσω απώλειας του ενός χρωμοσώματος 3 (μονοσωμία 3). Η απώλεια λειτουργικότητας της πρωτεΐνης BAP1 έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο μεταστατικής νόσου και μειωμένη ελεύθερη νόσου επιβίωση (Harbour et al., 2010).

Το γονίδιο SF3B1 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2 και κωδικοποιεί έναν παράγοντα του συμπλόκου U2 snRNP του σπλαιίσωματος (spliceosome), ο οποίος είναι απαραίτητος για την αναγνώριση της σωστής θέσης ματίσματος του πρόδρομου mRNA (Jager et al., 2020). Μεταλλάξεις στο εν λόγω μόριο έχουν αναφερθεί στο 25% των οφθαλμικών μελανωμάτων και αφορούν τις περιοχές R625, K666 και K700 (Furney et al., 2013; Harbour et al., 2013; Martin et al., 2013). Η παρουσία αυτών των μεταλλάξεων οδηγεί σε απώλεια της λειτουργικότητας της συγκεκριμένης πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα, να αναγνωρίζονται από το σύμπλοκο του σπλαιίσωματος εναλλακτικά σημεία ματίσματος και κατ' επέκταση να διατηρούνται ιντρονικές αλληλουχίες και στο ώριμο mRNA. Οι τελευταίες μπορεί να μετατοπίσουν το πλαίσιο ανάγνωσης, οδηγώντας είτε σε αποδόμησή του, είτε σε παραγωγή πρωτεϊνών, διαρκώς ενεργοποιημένων ή δυσλειτουργικών, που αδυνατούν να επιτελέσουν το φυσιολογικό τους ρόλο (Darman et al., 2015). Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιας πρωτεΐνης στο οφθαλμικό μελάνωμα είναι το σύμπλοκο αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης BAF, το οποίο λόγω εσφαλμένου ματίσματος σε οφθαλμικά μελάνωματα με SF3B1 μεταλλάξεις δεν μπορεί να διαδραματίσει τον ογκοκατασταλτικό του ρόλο (Inoue et al., 2019).

Τέλος, το γονίδιο EIF1AX εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη eIF1A, η οποία αποτελεί τμήμα του συμπλόκου έναρξης της μετάφρασης. Το σύμπλοκο αυτό προσδένεται στο 5'-άκρο του mRNAs κι εξασφαλίζει την αποκλειστική έναρξη της μετάφρασης από το συγκεκριμένο σημείο (Y. Li et al., 2020). Μεταλλάξεις του συγκεκριμένου γονιδίου παρατηρούνται σε περίπου 15% των περιπτώσεων οφθαλμικού μελάνωματος και αφορούν στα πρώτα 15 κωδικόνια του αμινοτελικού άκρου της πρωτεΐνης (Martin et al., 2013). Οι σημειακές βλάβες του παράγοντα αυτού επηρεάζουν την έκφραση πολλών διαφορετικών πρωτεϊνών, χωρίς ωστόσο μέχρι στιγμής να υπάρχουν συγκεκριμένα δεδομένα για τον ακριβή παθοφυσιολογικό ρόλο που διαδραματίζει η δυσλειτουργία του εν λόγω παράγοντα στην παθογένεια της νόσου. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι οι ασθενείς με

*EIFIAX*-μεταλλαγμένο οφθαλμικό μελάνωμα εμφανίζουν σχετικά καλή πρόγνωση (Jager et al., 2020).

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες: Μελέτες ανάλυσης του καρυοτύπου σε σειρές οφθαλμικών μελανωμάτων, έχουν οδηγήσει στην ταυτοποίηση χρωμοσωμικών ανωμαλιών που φαίνεται να διαδραματίζουν καίριους ρόλους στην παθοφυσιολογία της νόσου, ενώ ορισμένες εξ'αυτών φαίνεται να έχουν και κλινική βαρύτητα, καθώς εμφανίζουν συσχέτιση με την πρόγνωση των ασθενών (Gallenga et al., 2022).

Η κυριότερη χρωμοσωμική αλλοίωση, που αναγνωρίστηκε πριν από περίπου 25 χρόνια είναι η μονοσωμία του χρωμοσώματος 3, η οποία μάλιστα σχετίζεται με δυσμενή κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά, όπως το μεγάλο μέγεθος του όγκου, η επιθηλιοειδής μορφολογία, η υψηλή μιτωτική δραστηριότητα, η παρουσία αγγειακών εμβόλων, η διήθηση του ακτινωτού σώματος, η επέκταση εκτός του σκληρού χιτώνα, η εμφάνιση μεταστάσεων και τελικά η δυσμενής πρόγνωση των ασθενών (Fallico et al., 2021; Prescher et al., 1996). Ειδικότερα ως προς τις μεταστάσεις, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις αιτιολογικής συσχέτισης με την απώλεια τους ενός από τα δυο χρωμοσώματα 3, αφού είναι πολλοί σπάνιες οι περιπτώσεις εμφάνισης μεταστάσεων σε ασθενείς με δισωμία 3 (Kaliki & Shields, 2017).

Το χρωμόσωμα 8 αποτελεί επίσης συχνό στόχο αλλοιώσεων στα πλαίσια του οφθαλμικού μελανώματος, η κυριότερη εκ των οποίων αφορά σε κέρδος του μακρού σκέλους του (8q) (Dogrusöz & Jager, 2018). Η συγκεκριμένη χρωμοσωμική ανωμαλία, που συχνά προκύπτει από σχηματισμό ισοχρωμοσώματος, απαντάται στο 37-63% των πρωτοπαθών όγκων και σχετίζεται με κακή πρόγνωση (B. Damato et al., 2010; Dogrusöz, Bagger, et al., 2017; Ewens et al., 2013; van den Bosch et al., 2012; Versluis et al., 2015). Ιδιαίτερα το κέρδος μιας συγκεκριμένης περιοχής του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 8, αυτής που εντοπίζεται εγγύς των τελομερών, έχει εντοπιστεί σε ποσοστό περίπου 90% των εξετασθέντων οφθαλμικών μελανωμάτων, γεγονός που υποδηλώνει τον πιθανότατα κεντρικό ρόλο της συγκεκριμένης γενετικής περιοχής στην ογκογένεση (N. Singh et al., 2015). Επιπλέον, η παρουσία κέρδους του 8q συχνά συνυπάρχει με τη μονοσωμία 3, συνύπαρξη που έχει συσχετιστεί με υψηλότερα ποσοστά θανάτων από μεταστατική νόσο (Cassoux et al., 2014; Hughes et al., 2005). Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό θνησιμότητας εντός 5-ετίας από την αρχική διάγνωση είναι 66% σε ασθενείς με ταυτόχρονη μονοσωμία 3 και κέρδος 8q, 40% σε περιπτώσεις που παρουσιάζουν μόνο μονοσωμία 3 και 31% σε περιστατικά που εμφανίζουν

μόνο κέρδος 8q (Fallico et al., 2021; Scholes et al., 2003). Ενώ η συνύπαρξη των δυο εν λόγω χρωμοσωμικών αλλοιώσεων (μονοσωμία 3, κέρδος 8q) έχει επιβεβαιωθεί σε πολλαπλά δείγματα όγκων, δεν έχει, τουλάχιστον προς το παρόν ξεκαθαριστεί η σειρά εμφάνισής τους κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του όγκου. Οι υπάρχουσες μελέτες έχουν καταλήξει σε διαφορούμενα αποτελέσματα, καθώς ορισμένες υποστηρίζουν ότι η μονοσωμία 3 εμφανίζεται σε πιο πρώιμο στάδιο κατά τη διαδικασία της κακοήθους εξαλλαγής των μελανοκυττάρων, ενώ τα δεδομένα από άλλες έρευνες δείχνουν ότι το κέρδος του 8q προηγείται (Ehlers et al., 2008; Lange et al., 2015).

Η απώλεια του βραχέος σκέλους του χρωμοσώματος 1 (1p) συναντάται συχνά στο οφθαλμικό μελάνωμα και σε ποσοστό 19-34% συνυπάρχει με τη μονοσωμία 3 (B. Damato et al., 2010; Ewens et al., 2013; Kilic et al., 2006; van den Bosch et al., 2012). Η παρουσία ταυτόχρονης απώλειας του 1p και μονοσωμίας 3 θεωρείται ότι αποτελεί ανεξάρτητη προγνωστική παράμετρος για την ελεύθερη νόσου επιβίωση των ασθενών (Kilic et al., 2006).

Το κέρδος του βραχέος σκέλους του χρωμοσώματος 6 (6p) αποτελεί την χρωμοσωμική βλάβη που ταυτοποιήθηκε πρώτη χρονολογικά στο οφθαλμικό μελάνωμα (Gallenga et al., 2022). Η επίπτωσή της κυμαίνεται μεταξύ 18% και 54% και η παρουσία της έχει συσχετιστεί με καλή πρόγνωση (B. Damato et al., 2010; Ewens et al., 2013; Kilic et al., 2006; van den Bosch et al., 2012). Ενδιαφέρον είναι επίσης το γεγονός ότι η εν λόγω χρωμοσωμική ανωμαλία και η μονοσωμία 3 είναι αμοιβαία αποκλειόμενες, καθώς συνυπάρχουν μόνο σε ποσοστό 4% των οφθαλμικών μελανωμάτων που έχουν αναλυθεί (Ehlers et al., 2008; Hughes et al., 2005). Είναι επομένως πιθανό, να σηματοδοτούν και να χαρακτηρίζουν δυο διακριτές εξελικτικές πορείες, τις οποίες μπορεί να ακολουθήσει η διαδικασία της ανάπτυξης του όγκου.

Μετάσταση: Περίπου το ήμισυ των ασθενών με οφθαλμικό μελάνωμα εμφανίζουν μεταστατική νόσο κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Σε μια μελέτη >8.000 ασθενών, τα ποσοστά εμφάνισης μεταστάσεων εντός 10 ετών από την αρχική διάγνωση διέφεραν ανάλογα με την εντόπιση του πρωτοπαθούς όγκου στον οφθαλμό και: ήταν 33% για μελάνωμα ακτινωτού σώματος, 25% για μελάνωμα του χοριοειδούς χιτώνα και 7% για το μελάνωμα της ίριδας (C. L. Shields et al., 2009). Οι θάνατοι παρατηρούνται συνήθως εντός 1-3 ετών μετά την αρχική θεραπεία και πιθανώς σχετίζονται με την παρουσία μεταλλάξεων είτε στο *BAP1* είτε στο *SF3B1* (A. D. Singh et al., 2004; Yavuziyigitoglu et al., 2016).

Δύο μεγάλες μελέτες συνέκριναν το προφίλ γενετικών αλλοιώσεων και έκφρασης γονιδίων μεταξύ πρωτοπαθών οφθαλμικών μελανωμάτων και των αντίστοιχων μεταστατικών εστιών από τους ίδιους ασθενείς (Rodrigues et al., 2019; Shain et al., 2019). Στην εκτεταμένη αυτή ανάλυση δεν εντοπίστηκε στις μεταστάσεις καμία νέα «οδηγός» μετάλλαξη (driver mutation) που να μην υπήρχε στην πρωτοπαθή εστία, ενώ και ο συνολικός αριθμός των νέο-εμφανιζόμενων στις δευτεροπαθείς εντοπίσεις μεταλλάξεων ήταν περιορισμένος (Rodrigues et al., 2019; Shain et al., 2019). Το σημαντικότερο ίσως εύρημα ήταν ότι δεν παρατηρήθηκε απενεργοποίηση του *BAP1* κατά τη διάρκεια της εξέλιξη του όγκου και νεοπλάσματα που είχαν εξ'αρχής στην πρωτοπαθή εστία ακέραιο (wild type) το συγκεκριμένο γονίδιο, το διατήρησαν και στις μεταστάσεις. Κατά συνέπεια η απώλεια της λειτουργικότητας του *BAP1* είναι ένα πρώιμο συμβάν στην ογκογένεση. Από την άλλη γενετικές αλλαγές που φαίνεται να προκύπτουν σε πιο όψιμα στάδια της καρκινογένεσης και παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά στις μεταστατικές εστίες αφορούν σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες (απώλειες 1p, 6q και 8p, κέρδη 1q, 6p και 8q), καθώς και μεταλλάξεις επιγενετικών παραγόντων που ρυθμίζουν την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, όπως οι *PBRM1* και *EZH2* (Rodrigues et al., 2019; Shain et al., 2019).

Το ήπαρ είναι η πιο κοινή εντόπιση μεταστάσεων στο οφθαλμικό μελάνωμα, ωστόσο δευτεροπαθείς εστίες μπορεί να εμφανιστούν και σε άλλα όργανα, όπως οι πνεύμονες, οι λεμφαδένες, τα οστά, το δέρμα και ο εγκέφαλος (Jager et al., 2020). Η επιλογή του τελικού προορισμού που θα αποικίσουν τα καρκινικά κύτταρα εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις τους με τα κύτταρα των οργάνων στόχων. Τα τελευταία φαίνεται να ασκούν ενεργό ρόλο τόσο στο αρχικό στάδιο της εγκατάστασης των μεταστατικών κυττάρων όσο και στη διαμόρφωση ενός μικροπεριβάλλοντος που θα ευνοεί την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους. Για παράδειγμα, η αυξημένη συχνότητα μετάστασης του οφθαλμικού μελανώματος στο ήπαρ θεωρείται ότι οφείλεται κατά μεγάλο βαθμό στην παραγωγή τόσο από ηπατικά αστεροειδή κύτταρα (κύτταρα του Ito), όσο και από κύτταρα των ηπατικών κολποειδών ορισμένων μορίων, όπως ο αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων (HGF: Hepatocyte Growth Factor), και ο παράγοντας που προέρχεται από στρωματικά κύτταρα (SDF1: stromal derived factor 1), τα οποία λειτουργούν ως προσδέτες των υποδοχέων των κυττάρων του οφθαλμικού μελανώματος, cMET και CXCR12 αντίστοιχα (Diaz et al., 1999; H. Li et al., 2008, 2009; G. Yu et al., 2013).

Μοριακή ταξινόμηση: Πρόσφατα πραγματοποιήθηκε μια εκτεταμένη ανάλυση 80 οφθαλμικών μελανωμάτων, η οποία προσέγγισε πολυπαραγοντικά το μοριακό τους προφίλ,

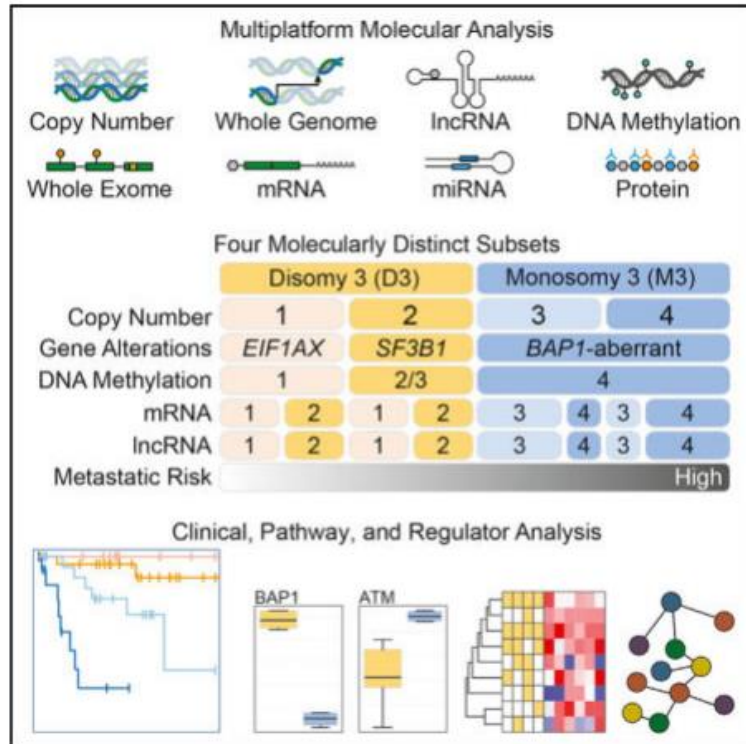


χρησιμοποιώντας μια σειρά τεχνικών κι εστιάζοντας στην τόσο ανίχνευση γενετικών αλλοιώσεων, συμπεριλαμβανομένων μεταλλάξεων και χρωμοσωμικών βλαβών, όσο και επιγενετικών αλλαγών, μέσω αποκρυπτογράφησης του προφίλ μεθυλίωσης του DNA στα καρκινικά κύτταρα. Η μελέτη αυτή οδήγησε στην ταυτοποίηση 4 μοριακών υποτύπων οφθαλμικού μελανώματος, ο καθένας από τους οποίους φέρει τη δική του γονιδιακή υπογραφή και σχετίζεται με συγκεκριμένες από τις γενετικές βλάβες (μεταλλάξεις, χρωμοσωμικές ανωμαλίες) που αναφέρθηκαν παραπάνω (Robertson et al., 2017). Επιπλέον οι μοριακοί αυτοί υπότυποι φαίνεται να έχουν και κλινική σημασία, καθώς η γενετική-γονιδιακή τους υπογραφή φαίνεται να αποτελεί ανεξάρτητο προβλεπτικό-προγνωστικό παράγοντα για τη νόσο.

Η ταξινόμηση σε μοριακές υποκατηγορίες βασίστηκε κυρίως στην παρουσία 4 γενετικών αλλαγών: τη μονοσωμία 3 και τις μεταλλάξεις των γονιδίων *BAP1*, *SF3B* και *EIF1AX*. Έτσι λοιπόν οι μοριακές κατηγορίες 1 και 2 παρουσίαζαν μεταλλάξεις στα γονίδια *EIF1AX* και *SF3B* αντίστοιχα, χωρίς να εμφανίζουν μονοσωμία 3 ή βλάβες στο *BAP1*. Από την άλλη πλευρά οι δυο τελευταίες γενετικές αλλοιώσεις (μονοσωμία 3, μεταλλάξεις στο *BAP1*) ταυτοποιήθηκαν σε αμφοτέρους τους μοριακούς υποτύπους 3 και 4 (Robertson et al., 2017). Οι 4 αυτοί υπότυποι συσχετίζονται με προοδευτικά επιδεινούμενη πρόγνωση και αυξανόμενο κίνδυνο εμφάνισης μεταστάσεων (από τον 1 στον 4). Ως προς τα υπόλοιπα μοριακά τους χαρακτηριστικά εμφανίζουν διακριτές διαφορές, τόσο στο επίπεδο των περαιτέρω γενετικών τους βλαβών, όσο και στο προφίλ μεθυλίωσης του DNA και στην ενεργοποίηση συγκεκριμένων σηματοδοτικών μονοπατιών (Robertson et al., 2017). Έτσι, ο υπότυπος 1 χαρακτηρίζεται από τα χαμηλότερα επίπεδα ανευπλοειδίας συγκριτικά με τους υπόλοιπους τρεις, εμφανίζοντας ουσιαστικά μια χρωμοσωμική ανωμαλία, το κέρδος του 6p. Από την άλλη πλευρά, στη μοριακή κατηγορία 2 εντοπίστηκε κέρδος αμφοτέρων των 6p και 8q, ενώ η παρουσία πολλαπλών αντιγράφων του 8q παρατηρήθηκε και στους υποτύπους 3 και 4. Μάλιστα, στον υπότυπο 4 ταυτοποιήθηκε η παρουσία ισοχρωμοσώματος 8q στο σύνολο των δειγμάτων (20/20), έναντι μόνο 4/22 του υποτύπου 3. Αναφορικά με τους υποτύπους 3 και 4, εκτός της παρουσίας μονοσωμίας 3 και μεταλλάξεων *BAP1*, εμφανίζουν κι άλλα κοινά στοιχεία, όπως το παρόμοιο προφίλ μεθυλίωσης του DNA και αυξημένα επίπεδα έκφρασης γονιδίων που συνδέονται με τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και ιδιαίτερα με το μονοπάτι της ιντερφερόνης γ (*IFNG*, *IFNGR1*, και *IRF1*) και με τη δραστηριότητα των T-λεμφοκυττάρων (*PRF1*, *GZMA*, *IDO1*, *TIGIT*, *IL6*, *IL10* και *FOXP3*). Επίσης και οι δυο αυτές μοριακές υποκατηγορίες χαρακτηρίζονται από αυξημένη διήθηση από T-

κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CD8 θετικά) καθώς και από αυξημένα επίπεδα μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (HLA) (Robertson et al., 2017). Το γεγονός ότι σε αυτή την κατηγορία νεοπλασμάτων, που χαρακτηρίζονται από πιο επιθετική βιολογικής συμπεριφορά και δυσμενέστερη πρόγνωση παρατηρείται αυξημένη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος καταδεικνύει την πολυπλοκότητα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των νεοπλασματικών κυττάρων και της επίκτητης κυρίως ανοσίας και υποδηλώνει ότι η ανοσολογική απόκριση μπορεί υπό ορισμένες συνθήκες να δρα όχι περιοριστικά, αλλά ακόμα και υποβοηθητικά στην εξέλιξη ενός όγκου (Robertson et al., 2017). Περισσότερα για το ρόλο του ανοσοποιητικού συστήματος θα αναφερθούν παρακάτω. Ως προς τις διαφορές που τις καθιστούν τους δυο υποτύπους 3 και 4 διακριτές κατηγορίες, φαίνεται ότι αφορούν, με βάση τα έως τώρα δεδομένα σε δυο παραμέτρους: τα διαφορετικά επίπεδα έκφρασης μη κωδικών μορίων RNA, συμπεριλαμβανομένων microRNAs και long non-coding RNAs και στα επίπεδα ενεργοποίησης συγκεκριμένων ενδοκυττάρων μονοπατιών σηματοδότησης. Συγκεκριμένα, ο υπότυπος 3 χαρακτηρίζεται από αυξημένη ενεργοποίηση των μονοπατιών MAPK και PIK3CA, καθώς και από αυξημένη δραστηριότητα των μεταγραφικών παραγόντων FOXA1 και FOXM1. Από την άλλη πλευρά, στην κατηγορία 4 παρατηρείται ενεργοποίηση του μονοπατιού της υποξίας και αυξημένη δραστηριότητα του μεταγραφικού παράγοντα Myc και του συστήματος επιδιόρθωσης του DNA (Robertson et al., 2017). Οι διαφοροποιήσεις συνηγορούν υπέρ της πολυσταδιακής φύσης που χαρακτηρίζει τη διαδικασία της καρκινογένεσης, σύμφωνα με την οποία μπορεί το αρχικό συμβάν μεταξύ δυο νεοπλασμάτων να είναι κοινό, στη συνέχεια όμως υπάρχουν διαφορετικές εξελικτικές πορείες τις οποίες μπορεί να ακολουθήσει, ανάλογα με τις επιμέρους γενετικές κι επιγενετικές αλλαγές που θα συμβούν.

Γεγονός είναι ότι η συσχέτιση της μοριακής κατηγοριοποίησης του οφθαλμικού μελανώματος με κλινικές παραμέτρους υποδηλώνει την αξία που έχει η περαιτέρω διαλεύκανση των μοριακών μηχανισμών της νόσου τόσο στην καλύτερη κατανόησή της παθογένειάς της από την πλευρά της βασικής έρευνας, όσο και για την ταυτοποίηση νέων προβλεπτικών παραμέτρων και ίσως και θεραπευτικών στόχων.



**Εικόνα 12.** Στην εικόνα φαίνονται συνοπτικά τα βασικά χαρακτηριστικά των μοριακών υποτύπων του οφθαλμικού μελανώματος (Robertson et al., 2017).

Μικροπεριβάλλον του όγκου: Τα τελευταία χρόνια η έρευνα γύρω από τον καρκίνο, συμπεριλαμβανομένου και του οφθαλμικού μελανώματος έχει επικεντρωθεί εν πολλοίς στο μικροπεριβάλλον, το οποίο φαίνεται ότι ασκεί ενεργό ρόλο σε όλα τα στάδια της καρκινογένεσης, ενώ επηρεάζει και την ανταπόκριση σε πολλές μορφές θεραπείας. Σε αυτό το πλαίσιο παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η μελέτη της ανοσολογικής απόκρισης έναντι του νεοπλασματος, η οποία σε μεγάλο βαθμό καθορίζει και το είδος των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που διηθούν το μικροπεριβάλλον των όγκων και κατ'επέκταση και την ανταπόκριση του όγκου στις διαθέσιμες ανοσοθεραπείες με αναστολείς σημείων ελέγχου (Jager et al., 2020).

Παρά το γεγονός ότι στο οφθαλμικό μελάνωμα έχουν ταυτοποιηθεί καρκινικά νέο-αντιγόνα, αλλά και T-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα με ειδικότητα έναντι των εν λόγω αντιγόνων, οι μέχρι τώρα ενδείξεις συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι η ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος στα πλαίσια του όγκου δεν είναι σε θέση να περιορίσει την ανάπτυξή του. Επιπλέον, φαίνεται ότι τα μεταστατικά οφθαλμικά μελανώματα εμφανίζουν περιορισμένη ανταπόκριση στη θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού

συστήματος. Μια σειρά παραγόντων έχουν προταθεί ως πιθανές αιτίες για την αντοχή που αναπτύσσουν τα νεοπλάσματα αυτά στην ανοσοθεραπεία (Jager et al., 2020).

Ο κυριότερος από αυτούς τους παράγοντες έχει να κάνει με τη φύση του οφθαλμού ως όργανο, καθώς θεωρείται ένας ανοσολογικά προνομιακός ιστός (immune-privileged), το μικροπεριβάλλον του οποίου, είτε σε συνθήκες ομοιόστασης είτε σε περιπτώσεις παθολόγων ερεθισμάτων διαφόρων ειδών θεωρείται ότι δρα κατασταλτικά στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, εμποδίζοντας την ανάπτυξη ανοσολογικής απάντησης.

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που υποδεικνύουν την αποτελεσματική ανάπτυξη ανοσολογικής απόκρισης έναντι του όγκου, αλλά και την πιθανότητα ανταπόκρισης του αντίστοιχου ασθενούς στην ανοσοθεραπεία είναι το φλεγμονώδες διήθημα του μικροπεριβάλλοντός του. Αυτό έχει αξία και ποσοτικά, δηλαδή το κατά πόσον αναγνωρίζονται ή όχι κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος μεταξύ των καρκινικών κυττάρων, αλλά και ποιοτικά, δηλαδή το είδος των εν λόγω κυτταρικών πληθυσμών. Το οφθαλμικό μελάνωμα αποτελεί έναν από τους όγκους με τα χαμηλότερα επίπεδα διήθησης του μικροπεριβάλλοντος από φλεγμονώδη κύτταρα (Thorsson et al., 2018). Ωστόσο υπάρχει ένα μικρό ποσοστό περιπτώσεων της νόσου, οι οποίες αποτελούν εξαίρεση στον κανόνα κι εμφανίζουν σημαντική διήθηση από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (Hilders et al., n.d.; Maat et al., 2008). Οι όγκοι αυτοί συνήθως χαρακτηρίζονται και από αυξημένη αγγειοβρίθεια (Lang et al., 1977). Αναφορικά με τη σύσταση αυτού του φλεγμονώδους διηθήματος, αυτή συνίσταται σε συνδυασμό κυττάρων της μη ειδικής και της επίκτητης ανοσίας, κυρίως T-λεμφοκύτταρα και μακροφάγα, αλλά και περιορισμένο αριθμό B-λεμφοκυττάρων και κυττάρων φυσικών φονέων (NK-κύτταρα) (Bronkhorst et al., 2012; Tobal et al., 1993). Τα T-λεμφοκύτταρα, στην πλειονότητά τους είναι κυτταροτοξικά και μάλιστα ενεργοποιημένα, ενώ παρατηρούνται και FOXP3+ T-ρυθμιστικά κύτταρα (Lagouros et al., 2009). Το είδος του κυτταρικού πληθυσμού που προεξάρχει στο μικροπεριβάλλον των νεοπλασμάτων φαίνεται να συνδέεται άμεσα με το είδος των γενετικών αλλοιώσεων που εμφανίζουν τα καρκινικά κύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, οι T-λεμφοκυτταρικοί πληθυσμοί κυριαρχούν σε μελανώματα με μονοσωμία 3 και απώλεια του *BAP1*, ενώ τα μακροφάγα, αποτελούν τον κύριο κυτταρικό πληθυσμό σε περιπτώσεις με κέρδος του 8q (Bronkhorst et al., 2012; Gezgin et al., 2017).

Ένας άλλος παράγοντας που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την ανταπόκριση ενός όγκου στα υπάρχοντα ανοσοθεραπευτικά σχήματα είναι η ανοσογονικότητά του, δηλαδή το κατά πόσον

τα κύτταρά του μπορούν να παρουσιάσουν στην επιφάνειά τους νέο-αντιγόνα, τα οποία θα επάγουν μια ειδική ανοσολογική απόκριση, διαμεσολαβούμενη κυρίως από την κυτταρική ανοσία. Το οφθαλμικό μελάνωμα χαρακτηρίζεται από σχετικά χαμηλή ανοσογονικότητα, γεγονός που οφείλεται στο χαμηλό φορτίο μεταλλάξεων και κατ' επέκταση στην περιορισμένη, συγκριτικά με άλλες κακοήθειας ποσότητα μεταλλαγμένων πρωτεϊνών, οι οποίες λειτουργούν ως πηγές νέο-αντιγόνων (Colli et al., 2016; McGranahan et al., 2016). Παρόλα αυτά, έχουν ταυτοποιηθεί ορισμένα νέο-αντιγόνα, τα οποία προέρχονται από πρωτεΐνες εμπλεκόμενες στη σύνθεση της μελανίνης, όπως τα TRP1 (tyrosinase-related protein 1), MART1 (melanoma antigen recognized by T cells 1) και η μελανοκυτταρική πρωτεΐνη PMEL (De Vries et al., 1998; van der Pol et al., 1987). Ωστόσο η ύπαρξη νεο-αντιγόνων σε ένα κύτταρο αποτελεί πιθανότατα αναγκαία, αλλά σίγουρα όχι ικανή συνθήκη για την ενεργοποίηση της επίκτητης κυτταρικής ανοσίας. Κι αυτό γιατί πολλές κακοήθειες χρησιμοποιούν μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να αποφεύγουν την αναγνώριση από το ανοσοποιητικό σύστημα, με κυριότερο εξ'αυτών τη μείωση των επιπέδων μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (HLA) στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων (Garcia-Lora et al., 2003). Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται και στο οφθαλμικό μελάνωμα, ωστόσο παραδόξως φαίνεται να έχει, τουλάχιστον εν μέρει ευεργετική επίδραση, καθώς οι όγκοι με μειωμένα επίπεδα HLA εμφανίζουν καλύτερη πρόγνωση (Anastassiou et al., 2003; Blom et al., 1997; Jager et al., 2002; Robertson et al., 2017; Sourj et al., 2019). Αυτή η συσχέτιση πιθανώς συνδέεται με το γεγονός ότι τα κύτταρα με περιορισμένα επίπεδα HLA αποτελούν πιο εύκολους στόχους για τα NK-κύτταρα, ένας μηχανισμός που έχει επιβεβαιωθεί και σε *in vivo* μοντέλα δερματικού μελανώματος (Dithmar et al., 1999; Ma et al., 1995). Από την άλλη πλευρά, τα υψηλά επίπεδα HLA είναι συμβατά με έναν προ-φλεγμονώδη φαινότυπο των αντίστοιχων όγκων. Έτσι οφθαλμικά μελανώματα με αυξημένο HLA χαρακτηρίζονται και από αυξημένη διήθηση του μικροπεριβάλλοντός τους από μακροφάγα και T-λεμφοκύτταρα (Sourj et al., 2019). Τα κύτταρα αυτά φαίνεται ότι ασκούν σε μεγάλο βαθμό ανοσοκατασταλτική και προ-καρκινική δράση. Ειδικά τα μακροφάγα, εμφανίζουν το φαινότυπο των σχετιζόμενων με τον όγκο μακροφάγων (Tumor Associated Macrophages: TAMs/M2), τα οποία αφενός αναστέλλουν την ενεργοποίηση των κυττάρων της ειδικής ανοσίας, εμποδίζοντας την ανάπτυξη αντι-νεοπλασματικής ανοσολογικής απάντησης και αφετέρου έχουν αγγειογενετική δράση, υποβοηθώντας τη μετανάστευση των κακοήθων κυττάρων σε άλλους ιστούς και τη δημιουργία μεταστατικών εστιών (Bronkhorst et al., 2011; Mäkitie et al., n.d.). Εκτός των μακροφάγων, ένας άλλος πληθυσμός κυττάρων μονοκυτταρικής διαφοροποίησης με ανοσοκατασταλτική δράση είναι τα κατασταλτικά

κύτταρα μυελοειδούς προέλευσης (Myeloid Derived Suppressor Cells: MDSCs), τα οποία έχουν απομονωθεί στο περιφερικό αίμα ασθενών με οφθαλμικό μελάνωμα και η παρουσία τους σχετίζεται με καταστολή της ενεργοποίησης των T-λεμφοκυττάρων (McKenna et al., 2009).

Καθοριστικής σημασίας για την ικανότητα των κυττάρων του οφθαλμικού μελανώματος να αποφεύγουν την κυτταροτοξική δράση των εκπροσώπων της επίκτητης κυτταρικής ανοσίας είναι η ικανότητά τους να περιορίζουν την έκφραση των συνενεργοποιητικών μορίων CD80 και CD86 και ταυτόχρονα να επάγουν την έκφραση ειδικών προσδετών, των λεγόμενων σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος όπως οι CTLA4, PD1, PDL1, TIGIT και LAG3 (Carlring et al., 2003; Durante et al., 2020; Wierenga et al., 2019; W. Yang et al., 2009). Οι δυο αυτοί μηχανισμοί επιτρέπουν στα νεοπλασματικά κύτταρα να καταστέλλουν την ενεργοποίηση των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων και ορίζονται ως ανοσοαποφυγή (immune evasion). Επιπλέον, εκτός από τα κύτταρα πολλών κακοήθων όγκων, συμπεριλαμβανομένου και του οφθαλμικού μελανώματος έχουν τη δυνατότητα έκκρισης παρακρινών παραγόντων όπως ο IDO1, οι οποίοι ασκούν παρόμοια ανασταλτική δράση έναντι της κυτταρικής ανοσίας (P. W. Chen et al., 2007).

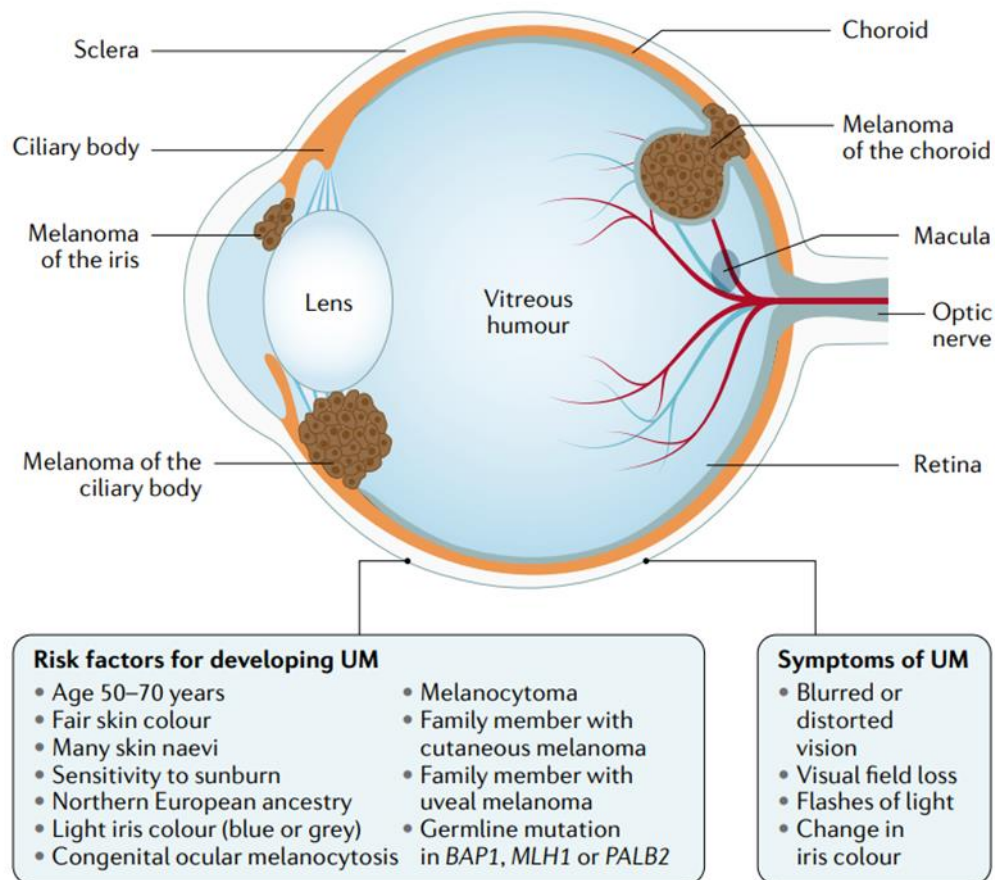
### **3.6.ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ-ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

Οι ασθενείς με οφθαλμικό μελάνωμα μπορεί να έχουν εμφανείς εκδηλώσεις ή να παρουσιάζουν μια ποικιλία κλινικών συμπτωμάτων και σημείων, όπως θολή ή μειωμένη όραση, φωταψίες, απώλεια οπτικών πεδίων ή αλλαγή του χρώματος της ίριδας (Εικόνα 13) (E. M. Damato & Damato, 2012). Το είδος των εκδηλώσεων αυτών συνδέεται με την εντόπιση του όγκου στον οφθαλμικό βολβό. Συγκεκριμένα, μελανώματα που αναπτύσσονται στο πρόσθιο ή το οπίσθιο τμήμα του οφθαλμού, στο ακτινωτό σώμα ή το χοριοειδή χιτώνα συνήθως είναι ασυμπτωματικά μέχρι να φτάσουν σε αρκετά μεγάλο μέγεθος, οπότε μπορεί να προκαλέσουν κυρίως φωταψίες. Αντίθετα, νεοπλάσματα που εμφανίζονται σε περιφερικές θέσεις μπορεί να προκαλέσουν απώλεια οπτικού πεδίου, ενώ όγκοι εγγύς της πυκνής κηλίδας οδηγούν ακόμα και σε αποκόλληση αμφιβληστροειδούς και άμεση απώλεια όρασης (Jager et al., 2020).

Τα συγκεκριμένα συμπτώματα/σημεία θέτουν την υπόνοια βλάβης, ωστόσο η ειδικότητά τους για το οφθαλμικό μελάνωμα είναι χαμηλή και μπορούν να παρατηρηθούν και σε αρκετές άλλες νοσολογικές οντότητες, νεοπλασματικές και μη. Κατά συνέπεια χρησιμοποιούνται πρόσθετες εξετάσεις, κυρίως απεικονιστικές, οι οποίες είναι απαραίτητες για να θέσουν με

βεβαιότητα την τελική διάγνωση . Στα μελανώματα που αναπτύσσονται στο πρόσθιο τμήμα του οφθαλμικού βολβού, η κυριότερη απεικονιστική μέθοδος είναι η βιομικροσκοπία με σχισμοειδή λυχνία, ενώ σε αυτά του οπισθίου τμήματος χρησιμοποιείται η έμμεση οφθαλμοσκόπηση (Jager et al., 2020; C. L. Shields et al., 2019). Οι απεικονιστικές αυτές τεχνικές επιτρέπουν τον προσδιορισμό πολλών διαφορετικών χαρακτηριστικών του όγκου, όπως: το μέγεθος, η σαφήνεια των περιφερικών ορίων, ο βαθμός μελάγχρωσης, η αγγειοβρίθεια, η διήθηση του ακτινωτού σώματος και η επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα. Επιπλέον, οι τεχνικές αυτές συμβάλλουν και στη διάκριση μεταξύ σπίλου και μελανώματος, η οποία βασίζεται σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, που ορίζονται από το ακρωνύμιο MOLES: Mushroom shape (σχήμα μανιταριού), Orange pigment (πορτοκαλί χρωστική στον όγκο), Large size (μεγάλο μέγεθος), Enlarging tumour (αυξανόμενο μέγεθος του όγκου), Subretinal fluid (συλλογή υγρού κάτωθεν του αμφιβληστροειδούς χιτώνα) (E. M. Damato & Damato, 2012; C. L. Shields et al., 2019). Σημαντικός επίσης στη διάγνωση των οφθαλμικών μελανωμάτων είναι ο ρόλος της υπερηχοτομογραφίας, καθώς και της αγγειογραφίας, είτε με τη μέθοδο του φθορισμού είτε με τη χρήση ειδικής χρωστικής (indocyanine green). Η υπερηχοτομογραφία συμβάλλει στην αναγνώριση όγκων με μέγιστη διάμετρο τουλάχιστον 1,5 χιλ., ενώ είναι χρήσιμη και για τον προσδιορισμό των διαστάσεών τους και την εκτίμηση της τοπικής τους επέκτασης (Bianciotto et al., 2011; Coleman et al., 2004; Lois et al., 1998; Nordlund et al., 2003). Από την άλλη πλευρά η αγγειογραφία, και με τις δυο διαθέσιμες τεχνικές χρησιμοποιεί το πρότυπο της αγγειακής κυκλοφορίας για να ξεχωρίσει τους όγκους από το φυσιολογικό επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς (B. E. Damato, 1992; B. E. Damato & Foulds, 1990; C. L. Shields et al., 1995). Σημαντική βοήθεια στην ακριβέστερη εκτίμηση της τοπικής επέκτασης του νεοπλάσματος παρέχουν και η αξονική (CT) και η μαγνητική τομογραφία (MRI) (Beenakker et al., 2016; Tartaglione et al., 2014).

Εκτός των απεικονιστικών εξετάσεων, έχει πλέον αρχίσει να εφαρμόζεται σε ευρεία κλίμακα στη ρουτίνα η βιοψία δια λεπτής βελόνης (FNB: Fine-needle biopsy), κυρίως σε περιπτώσεις που ο συνδυασμός κλινικών και απεικονιστικών ευρημάτων δεν επαρκεί για να οδηγήσει σε απόλυτα ασφαλή συμπεράσματα. Η λήψη του ιστοτεμαχίου πραγματοποιείται συνήθως υπό απεικονιστική καθοδήγηση μέσω της μεθόδου της έμμεσης οφθαλμοσκόπησης (Jager et al., 2020). Η ιστολογική επιβεβαίωση της διάγνωσης χρησιμοποιείται με αυξανόμενη συχνότητα, καθώς παρέχει και επιπλέον πληροφορίες, με σημαντική κλινική σημασία, οι οποίες αφορούν κυρίως την πιθανότητα μετάστασης και τη γενικότερη πρόγνωση των ασθενών.



**Εικόνα 13.** Στην εικόνα συνοψίζονται οι βασικοί παράγοντες κινδύνου και οι κυριότερες κλινικές εκδηλώσεις του οφθαλμικού μελανώματος (Jager et al., 2020).

### 3.7.ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Μετά την επιβεβαίωση της διάγνωσης, ακολουθεί ο σχεδιασμός της κατάλληλης θεραπευτικής προσέγγισης, ο οποίος γίνεται εξατομικευμένα για τον κάθε ασθενή, λαμβάνοντας υπόψιν μια σειρά παραμέτρων. Οι τελευταίες αφορούν τόσο χαρακτηριστικά του όγκου, όπως το μέγεθος, η ακριβής του εντόπιση, η διήθηση αμφιβληστροειδούς και η αποκόλλησή του, όσο και γενικότερα στοιχεία του ασθενούς, όπως η ηλικία, η γενικότερη κατάσταση της υγείας του, η κατάσταση του ετερόπλευρου οφθαλμού, αλλά και η ίδια η επιθυμία του ασθενούς (Dogrusöz, Jager, et al., 2017; Tartaglione et al., 2014). Οι δυο συχνότερα εφαρμοζόμενες θεραπείες είναι η χειρουργική, που συνίσταται στην εκπυρήνιση ολόκληρου του οφθαλμού και η ακτινοθεραπεία, με την μορφή της βραχυθεραπείας ιριδίου.



Μη επεμβατική θεραπεία: Η ακτινοθεραπεία αποτελεί τη συχνότερα επιλεγόμενη θεραπευτική προσέγγιση σε ασθενείς όπου επιδιώκεται η διατήρηση του προσβαλλόμενου από τον όγκο οφθαλμού. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί με δυο κυρίως τεχνικές, τη βραχυθεραπεία και την τηλεθεραπεία, η οποία με τη σειρά της περιλαμβάνει δυο διαφορετικές μεθόδους, τη στερεοτακτική ακτινοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία με φορτισμένα σωματίδια (Jager et al., 2020).

Η βραχυθεραπεία, που είναι και η κυριότερη μέθοδος ακτινοθεραπείας για τη θεραπεία του οφθαλμικού μελανώματος, βασίζεται στην τοποθέτηση ενός ραδιοϊσοτόπου στο σκληρό χιτώνα, σε περιοχή εγγύς του όγκου. Τα κυριότερα ισότοπα που χρησιμοποιούνται είναι το ιώδιο-125, το ρουθένιο-106, το παλλάδιο-103, το ιρίδιο-192 and το κοβάλτιο-60 (Jager et al., 2020; J. A. Shields & Shields, 2015). Με αυτή την τεχνική η παραγόμενη ακτινοβολία στοχεύει σχεδόν αποκλειστικά τα καρκινικά κύτταρα, επηρεάζοντας όσο το δυνατόν λιγότερο τους παρακείμενους υγιείς ιστούς. Παρόλα αυτά δεν είναι πάντα εφικτό να αποφευχθεί πλήρως η βλαπτική επίδραση της ακτινοβολίας στους μη νεοπλασματικούς ιστούς, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται ανεπιθύμητες ενέργειες όπως αμφιβληστροειδοπάθεια, αιμορραγία, αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς, οίδημα της πυκνής κηλίδας και νεοαγγειακό γλαύκωμα. Οι τοπικές αυτές παρενέργειες μπορούν να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά με τοπικά κορτικοειδή ή αντι-αγγειογενετικούς παράγοντες (Jager et al., 2020). Με σωστή επιλογή των ασθενών, η βραχυθεραπεία μπορεί να επιτύχει αποτελεσματικό έλεγχο της νόσου στον 98% των περιπτώσεων, ενώ στο 95% των ασθενών επιτυγχάνεται και διατήρηση του οφθαλμού, με ένα καλό επίπεδο όρασης (Hawkins, 2011; C. L. Shields et al., 2000).

Επεμβατική θεραπεία: Αναφορικά με την επεμβατική θεραπεία, αυτή περιλαμβάνει κυρίως τρεις χειρουργικές προσεγγίσεις: την ογκεκτομή, την εκκυρήνιση ολόκληρου του οφθαλμού και την ταυτόχρονη αφαίρεση του οφθαλμού και των παρακείμενων μαλακών μορίων, του οφθαλμικού κόγχου, συμπεριλαμβανομένων μυών, λιπώδους ιστού, αγγείων και νεύρων (Jager et al., 2020). Η πρώτη μέθοδος τη ογκεκτομής εμφανίζει αρκετές τεχνικές δυσκολίες και για το λόγο αυτό εφαρμόζεται κυρίως σε μεγάλα εξειδικευμένα κέντρα. Η χρήση της περιορίζεται σε ασθενείς με καλά περιγεραμμένα νεοπλάσματα, τα οποία λόγω του μεγέθους τους δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά μόνο με ακτινοθεραπεία (B. Damato, 2006; Kivelä et al., 2003; J. A. Shields et al., 1991). Παρόλα αυτά, η μέθοδος της ογκεκτομής χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά με συνοδό νέο-επικουρική ακτινοθεραπεία πριν τη χειρουργική επέμβαση. Αυτό συμβαίνει γιατί η προηγηθείσα ακτινοθεραπεία θεωρείται ότι

μειώνει τον κίνδυνο διασποράς του όγκου κατά τη χειρουργική προσπέλαση (Bechrakis & Foerster, 2006). Η εν λόγω τεχνική επιτρέπει τη διατήρηση του οφθαλμού και της όρασης του ασθενούς, αλλά ταυτόχρονα μπορεί να εμφανίσει επιπλοκές με κυριότερη την αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς, ενώ αυξάνει και την πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής, κατά κανόνα εγγύς των εγχειρητικών ορίων, προφανώς λόγω πλημμελούς εκτομής (Bechrakis & Foerster, 2006). Η ολική εκπυρήνιση του οφθαλμικού βολβού εφαρμόζεται σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο (μέγιστη διάμετρος μεγαλύτερη των 20 χιλ), οι οποίοι επεκτείνονται στο οπτικό νεύρο ή/και στον οφθαλμικό κόγχο ή προκαλούν δευτεροπαθές γλαύκωμα (J. A. Shields & Shields, 2015). Τέλος η αφαίρεση μαζί με τον οφθαλμό και των παρακείμενων μαλακών μορίων, εφαρμόζεται σε μελανώματα που παρουσιάζουν εκτεταμένη διήθηση του οφθαλμικού κόγχου (Jager et al., 2020).

Θεραπεία μεταστατικής νόσου: Η αντιμετώπιση των ασθενών με μεταστατικό οφθαλμικό μελάνωμα βασίζεται στη χορήγηση συστηματικών θεραπειών, στις οποίες περιλαμβάνονται χημειοθεραπευτικά σχήματα και στοχευμένες θεραπείες.

Η κλασική χημειοθεραπεία έχει δοκιμαστεί κυρίως σε κλινικές μελέτες σταδίου II. Παρότι δοκιμάστηκε ένα ευρύ φάσμα χημειοθεραπευτικών ουσιών, όπως η ντακαρβαζίνη, η τεμοζολαμίδη, η φοτεμουστίνη, η σισπλατίνη, η πακλιταξέλη και η βινκριστίνη, δεν παρατηρήθηκαν αξιόλογα αποτελέσματα ως προς την παράταση της επιβίωσης των ασθενών με μεταστατική νόσο. Ο μοναδικός συνδυασμός που έδειξε κάπως πιο ελπιδοφόρα αποτελέσματα ήταν αυτός της γκεμισιταμπίνης με τρεοσουλφάνη, η χορήγηση του οποίου οδήγησε σε διάμεση επιβίωση 14 μηνών. Ωστόσο δεν υιοθετήθηκε η χρησιμοποίησή του σαν θεραπευτική επιλογή ρουτίνας λόγω της πολύ-συστηματικής του τοξικότητας και των ανεπιθύμητων ενεργειών που φάνηκε να προκαλεί στο νευρικό και το αιμοποιητικό σύστημα καθώς και στους πνεύμονες των ασθενών (Shah et al., 2018).

Οι στοχευμένες θεραπείες που έχουν δοκιμαστεί σε ασθενείς με μεταστατικό οφθαλμικό μελάνωμα αφορούν κυρίως σε αναστολείς των μονοπατιών MAPK και PIK3CA/Akt, τα οποία ενεργοποιούνται και φαίνεται να παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της ογκογένεσης. Ως αναστολέας του μονοπατιού MAPK έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως η σελουμετινίμη (selumetinib), η οποία δρα στο επίπεδο του MEK, εμποδίζοντας τη φωσφορυλίωσή του και κατά συνέπεια καταστέλλοντας την περαιτέρω ενεργοποίηση του ενδοκυττάριου καταρράκτη φωσφορυλιώσεων που ευθύνεται για την ογκογόνο δράση του (Carrvajal et al., 2014, 2018). Επίσης, μια εναλλακτική προσέγγισης του συγκεκριμένου

μονοπατιού βασίστηκε στην αναστολή των PKC, κινασών που, όπως είδαμε και παραπάνω εντοπίζονται σε κατώτερο επίπεδο στον ενδοκυττάριο σηματοδοτικό δίκτυο (Piperino-Neumann et al., 2023). Ωστόσο η χρησιμοποίηση των δυο αυτών αναστολέων, είτε του καθενός ξεχωριστά ως μονοθεραπεία, είτε συνδυαστικά απέτυχε να επιφέρει σημαντικό κλινικό όφελος για τους ασθενείς . Η αποτυχία αυτών των θεραπευτικών στρατηγικών έχει οδηγήσει τα τελευταία χρόνια στην προσπάθεια αναστολής της ογκογένεσης μέσω απευθείας στόχευσης στο επίπεδο της γονιδιακής ρύθμισης. Έτσι πλέον σχεδιάζονται και δοκιμάζονται μόρια-αναστολείς μεταγραφικών παραγόντων, όπως το Myc ή και επιγενετικών ρυθμιστών (Ambrosini et al., 2015; Onken et al., 2018). Παρότι οι αρχικές ενδείξεις από την εφαρμογή αυτών των θεραπειών είναι υποσχόμενες χρειάζονται αρκετές επιπλέον μελέτες για να επιβεβαιώσουν σε μεγαλύτερα δείγματα την ικανότητά τους να παρατείνουν την επιβίωση των ασθενών.

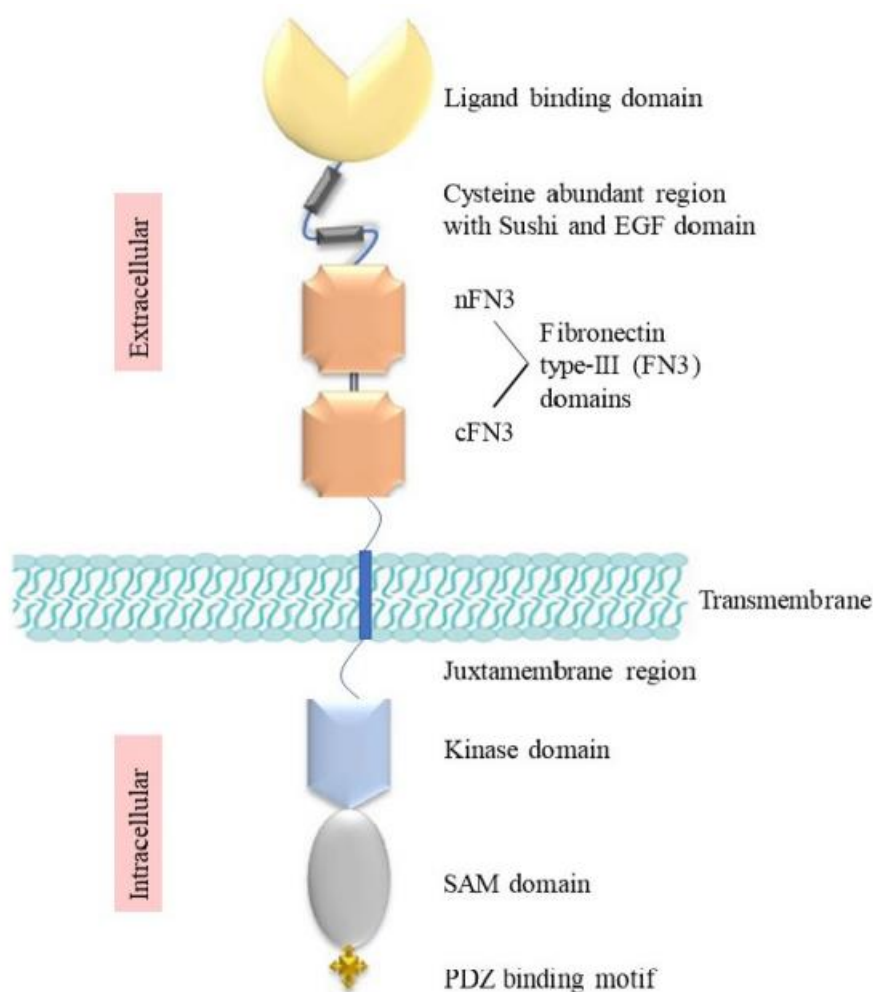
## **4. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΙ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ (Eph: ERYTHROPOIETIN PRODUCING HEPATOCELLULAR)-ΕΦΡΙΝΕΣ**

### **4.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ-ΡΥΘΜΙΣΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ**

Οι υποδοχείς ηπατοκυττάρων που παράγουν ερυθροποιητίνη (Eph: Erythropoietin producing hepatocellular) ή αλλιώς οι υποδοχείς εφρινών, αποτελούν τη μεγαλύτερη οικογένεια υποδοχέων τυροσινικής κινάσης, η οποία συμπεριλαμβάνει συνολικά 14 υποδοχείς. Οι υποδοχείς αυτοί ταξινομούνται περαιτέρω σε δυο κατηγορίες, την τύπου A (EphA) και την τύπου B (EphB), με την πρώτη να περιλαμβάνει 9 υποδοχείς (EphA1-8, EphA10) και τη δεύτερη 5 (EphB1-4, EphB6). Η ταξινόμηση αυτή βασίζεται στην παρουσία ομόλογων αλληλουχιών αμινοξέων και δομικών προτύπων, η οποία τους προσδίδει αυξημένη συγγένεια για δυο ομώνυμες κατηγορίες προσδετών, τις 5 εφρίνες τύπου A (A1-A5) και τις 3 εφρίνες τύπου B (B1-B3) (Arora et al., 2023; Giaginis et al., 2010; Kandouz, 2012).

Από δομικής άποψης, οι υποδοχείς εφρινών είναι διαμεμβρανικοί και αποτελούνται επί της ουσίας από τρεις διακριτές περιοχές: την εξωκυττάρια, τη διαμεμβρανική και την ενδοκυττάρια (Εικόνα 14). Το εξωκυττάριο τμήμα περιλαμβάνει μια περιοχή σύνδεσης του προσδέτη (LBD: ligand-binding domain), μια περιοχή πλούσια σε κατάλοιπα κυστεΐνης (CRD: cysteine-rich domain), μια περιοχή προσομοιάζουσα τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGF: epidermal-growth factor-like domain), και τέλος δυο κατάλοιπα προσομοιάζονται την ινωδονεκτίνη τύπου III (FN3: fibronectin type III-domain) (Εικόνα 14). Τα δυο κατάλοιπα LBD και CRD έχουν καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση του διμερισμού των υποδοχέων μετά από τη σύνδεση του προσδέτη (Himanen et al., 2010). Η διαμεμβρανική περιοχή σχηματίζει μια έλικα, η οποία διατρέχει τη λιπιδική διπλοστιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης, συνδέοντας το εξωκυττάριο με το ενδοκυττάριο τμήμα του υποδοχέα. Τέλος, η ενδοκυττάρια περιοχή συνίσταται σε τέσσερα διαφορετικά τμήματα, ένα παραμεμβρανικό (JM: juxtamembrane domain), μια περιοχή με διαμόρφωση α-έλικας (SAM: sterile alpha motif), μια περιοχή πρόσδεσης PDZ (PDZ-binding domain) και τέλος την περιοχή με την καταλυτική δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης, η οποία ενεργοποιεί έναν ενδοκυττάριο καταρράκτη φωσφορυλιώσεων. Καθεμία από τις περιοχές του ενδοκυττάριου τμήματος διαδραματίζει έναν διακριτό ρόλο στη ρύθμιση της μεταγωγής σήματος από τον υποδοχέα στο κυτταρόπλασμα. Η περιοχή JM ρυθμίζει την καταλυτική δραστηριότητα,

αλληλεπιδρώντας με το παρακείμενο μοτίβο τυροσινικής κινάσης. Η περιοχή SAM ασκεί ρυθμιστικό ρόλο στη φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης Y928 στον υποδοχέα EphB1 και Y921 στον υποδοχέα EphA2, προάγοντας την αλληλεπίδρασή τους με προσαρμοστικές πρωτεΐνες, οι οποίες φέρουν κατάλοιπα SH2, όπως οι Grb7 και Grb10. Επιπλέον, η συγκεκριμένη περιοχή ελέγχει, δρώντας περιοριστικά τη δραστηριότητα της παρακείμενης περιοχής τυροσινικής κινάσης, ενώ προάγει και το διμερισμό των υποδοχέων EphA3. Η σύνδεση του κατάλληλου προσδέτη στον υποδοχέα, προκαλεί μια αναδιαμόρφωση της τριτοταγούς δομής του ενδοκυττάριου τμήματος της πρωτεΐνης, η οποία επιτρέπει την πρόσβαση του καταλυτικού κέντρου του ενζύμου σε κατάλοιπα τυροσίνης (Liang et al., 2019).



**Εικόνα 14.** Η εικόνα δείχνει τα διαφορετικά τμήματα και μοτίβα από τα οποία αποτελείται η εξωκυττάρια, η διαμεμβρανική και η ενδοκυττάρια περιοχή των υποδοχέων εφρινών (Agora et al., 2023).

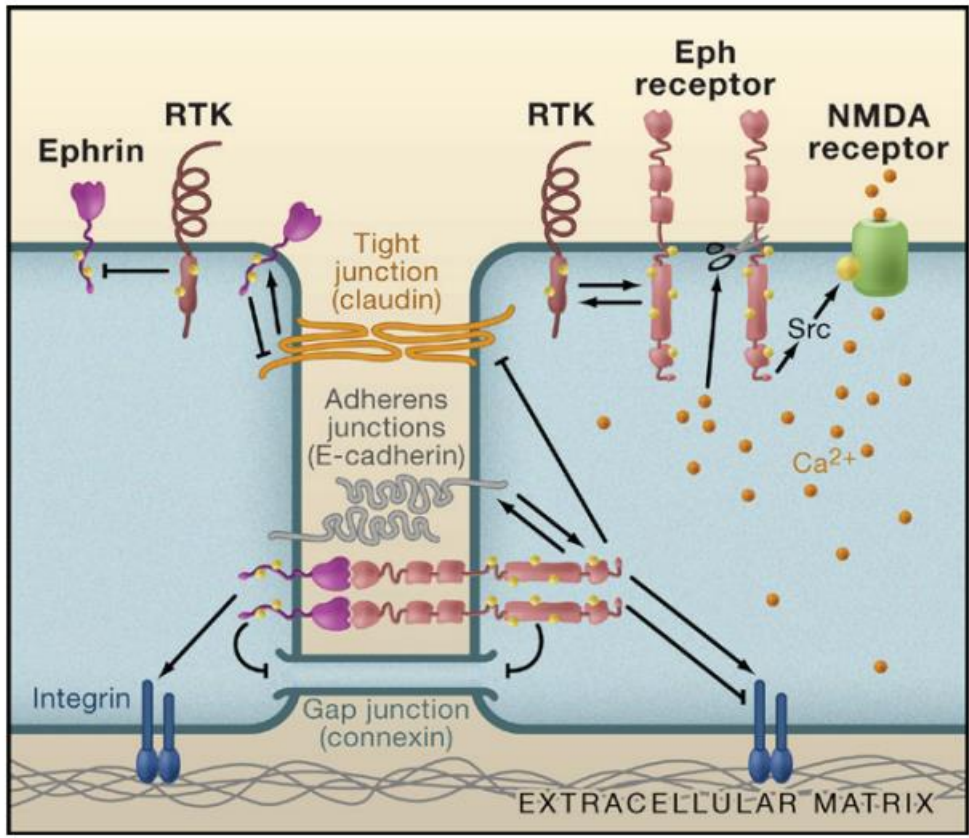
Μια από τις κυριότερες συνέπειες της ενεργοποίησης των υποδοχέων εφρίνης είναι η αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού, η οποία διαμεσολαβείται από μια οικογένεια ενζύμων, τις Rho GTPάσες, που περιλαμβάνει τα RhoA, Rac1 και Cdc42 (Noren & Pasquale, 2004). Από αυτά τα Rac1 και Cdc42 ενεργοποιούν μια διαδικασία σχηματισμού κυτταρικών προσεκβολών, όπως τα φιλοπόδια, ενώ η RhoA εμπλέκεται κυρίως στη δημιουργία και διατήρηση των συνδέσεων του κυττάρου με το παρακείμενο στρώμα (focal adhesions), αλλά και στη ρύθμιση της συσταλτική λειτουργίας της ακτινομοσίνης, γεγονός που υποδεικνύει τον καίριο ρόλο τους στην πλαστικότητα του σχήματος των κυττάρων (Lisabeth et al., 2013). Επιπλέον, η ενεργοποίηση των υποδοχέων εφρίνης, μέσω φωσφορυλίωσης των προσαρμοστικών πρωτεϊνών επηρεάζει τη δραστηριότητα πολλαπλών ενδοκυττάρων οδών σηματοδότησης είτε θετικά είτε αρνητικά. Ένα από τα κυριότερα μονοπάτια στόχους των εφρινών είναι αυτό της PIK3CA/Akt/mTOR, στο οποίο ασκεί ανασταλτική δράση, μέσω αποφωσφορυλίωσης του κυτταροπλασματικού μεσολαβητή Akt. Με αυτό τον τρόπο επηρεάζει άμεσα μια σειρά κυτταρικών λειτουργιών, που επηρεάζονται από το συγκεκριμένο μονοπάτι όπως η κυτταρική αύξηση και διαίρεση και η απόπτωση (Manning & Cantley, 2007; Sahoo & Buck, 2021).

Ένα χαρακτηριστικό της σηματοδότησης των εφρινών είναι η αμφίδρομη πορεία του σήματος, το οποίο επηρεάζει τη λειτουργία ενδοκυττάρων δικτύων όχι μόνο στο κύτταρο που φέρει τον υποδοχέα, αλλά και σε αυτό με τον προσδέτη. Η αλληλεπίδραση προσδέτη-υποδοχέα αφενός μεν προκαλεί ολιγομερισμό και φωσφορυλίωση των υποδοχέων στο κύτταρο δέκτη του σήματος και αφετέρου οδηγεί σε μεταγωγή σήματος στο κύτταρο που φέρει τον προσδέτη (J. Chen et al., 2015; Janes et al., 2014). Αμφότερα τα είδη σήματος που επάγονται από αυτές τις διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις, μέσω των υποδοχέων και των προσδετών εφρίνης συμμετέχουν σε πολλαπλές φυσιολογικές κυτταρικές διεργασίες, τόσο κατά την ιστική ανάπτυξη όσο και κατά την ομοιόσταση (Nikas et al., 2022; Zhang, 2021).

Εκτός της ενεργοποίησης καθοδικών μονοπατιών σηματοδότησης, οι υποδοχείς εφρινών φαίνεται να εμπλέκονται σε άμεσες αλληλεπιδράσεις και με άλλους διακυτταρικούς υποδοχείς, αλλά και με μόρια που συμμετέχουν στη διακυτταρική επικοινωνία και στις αλληλεπιδράσεις των κυττάρων με το εξωκυττάριο στρώμα (Εικόνα 15) (Pasquale, 2008). Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι της πρώτης κατηγορίας είναι οι υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων EGF (EGFR) και FGF (FGFR), οι οποίοι έχει δειχθεί ότι ασκούν συνεργιστική δράση με τους υποδοχείς EphA2 και EphA4, αντίστοιχα, επάγοντας τόσο τον πολλαπλασιασμό όσο και τη μεταναστευτική ικανότητα των κυττάρων (Brantley-Sieders et al., 2006; Larsen et al., 2007; Pasquale, 2008). Ειδικότερα ο FGFR, φαίνεται ότι μπορεί να

αλληλεπιδράσει και με τον EphB1, με την αλληλεπίδραση αυτή να είναι ανασταλτικής φύσης και να καταστέλλει τη δραστηριότητά του (Arvanitis & Davy, 2008; Davy et al., 2006). Επιπλέον, ο υποδοχέας Ryk του μονοπατιού Wnt έχει φανεί να αλληλεπιδρά άμεσα με υποδοχείς εφρινών, ενώ και ενδοκυττάριοι παράγοντες του συγκεκριμένου μονοπατιού συνεισφέρουν στην ενδοκυττάρωση των υποδοχέων EphB, περιορίζονται τη μεταγωγή σήματος (Arvanitis & Davy, 2008).

Η έκφραση και η μεμβρανική εντόπιση του διαμεμβρανικού μορίου E-καντχερίνης είναι διαδικασία αλληλοεξαρτώμενη με την έκφραση, την εντόπιση και την ενεργοποίηση των υποδοχέων εφρίνης, μέσω μεταγωγής αμφίδρομων σημάτων (Arvanitis & Davy, 2008). Αφενός μεν η ενεργοποίηση των υποδοχέων EphB επάγει τη μεταφορά της E-καντχερίνης στην κυτταρική μεμβράνη και το σχηματισμό μεσοκυτταρίων συνδέσεων, οι οποίες φαίνεται να διαταράσσονται σε συνθήκες αναστολής των υποδοχέων EphB (Cortina et al., 2007; Noren & Pasquale, 2007). Από την άλλη πλευρά, αποσταθεροποίηση των μεσοκυτταρίων συνδέσεων μπορεί να προκληθεί και από υπερέκφραση του EphA2 υποδοχέα, μέσω αυξημένης δραστηριότητας της RhoA GTPάσης (Pasquale, 2008). Μια άλλη ομάδα διακυτταρικών πρωτεϊνών, που αποτελούν δομικό συστατικό των μεσοκυτταρίων συνδέσεων, οι κλοντίνες (claudins), φαίνεται να διαθέτουν ικανότητα ενεργοποίησης των υποδοχέων EphB (Arvanitis & Davy, 2008). Τέλος, καίριος είναι ο ρόλος των εφρινών στη ρύθμιση της δραστηριότητας των υποδοχέων γλουταμικού οξέος (NMDA), οι οποίοι είναι συζευγμένοι με διαύλους ασβεστίου. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα EphB2 οδηγεί σε φωσφορυλίωση του NMDA, με επακόλουθη είσοδο ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα και εξωκυττάρωση των νευροδιαβιβαστών (Yamaguchi & Pasquale, 2004).



**Εικόνα 15.** Στην εικόνα συνοψίζονται οι υποδοχείς και τα διαμεμβρανικά μόρια με τα οποία αλληλεπιδρούν τα σηματοδοτικά μονοπάτια των εφρινών (Pasquale, 2008).

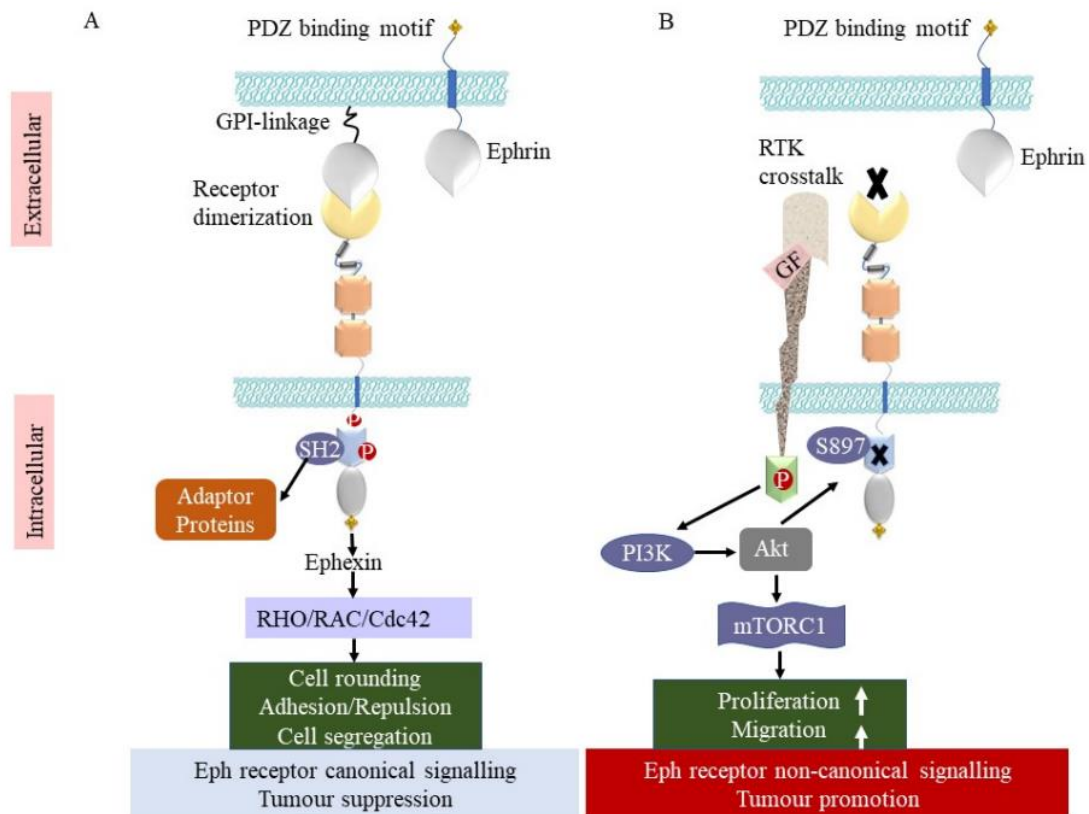


## 4.2. ΕΦΡΙΝΕΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Οι εφρίνες και οι υποδοχείς τους έχουν αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας ως προς το ρόλο τους στην καρκινογένεση, με τα αποτελέσματα να δείχνουν ετερογενείς λειτουργίες. Τα επίπεδα έκφρασής τους μπορεί να είναι είτε χαμηλά είτε υψηλά σε κακοήθειες διαφορετικής ιστογένεσης και διαφοροποίησης (συγκριτικά με τους αντίστοιχους μη νεοπλασματικούς ιστούς), γεγονός που συνηγορεί υπέρ των πολλαπλής φύσης λειτουργιών που επιτελούν στα πλαίσια της απορρύθμισης της κυτταρικής βιολογίας, που λαμβάνει χώρα στα διαφορετικά στάδια της κακοήθους εξαλλαγής (Εικόνες 16, 17, 18) (Arora et al., 2023; Pergaris et al., 2021). Φαίνεται ότι οι λειτουργίες αυτές εξαρτώνται άμεσα από το συγκεκριμένο υπόβαθρο, που χαρακτηρίζει τα εξαλλαγμένα κύτταρα και μπορεί να δρουν είτε ογκογόνα είτε ογκοκατασταλτικά, ανάλογα με την αλληλεπίδρασή τους με άλλα ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μονοπάτια.

Ογκογόνος δράση εφρινών: Μελέτες του προφίλ έκφρασης των εφρινών, τόσο υποδοχέων όσο και προσδετών, σε ένα ευρύ φάσμα κακοήθων νεοπλασμάτων έχουν αναδείξει αυξημένα επίπεδα αρκετών εξ'αυτών συγκριτικά με τους αντίστοιχους υγιείς ιστούς. Επιπλέον και λειτουργικά πειράματα, σε πειραματικά μοντέλα, τόσο *in vivo*, σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, όσο και *in vitro*, έχουν επιβεβαιώσει την ογκογόνο δράση τους. Για παράδειγμα, ο υποδοχέας EphA3 εμφανίζει πολύ ασθενή έκφραση στον υγιή εγκέφαλο, ενώ υπερεκφράζεται σημαντικά στους κακοήθεις όγκους του κεντρικού νευρικού συστήματος, κυρίως στο γλοιοβλάστωμα, όπου φαίνεται να σχετίζεται με τη ρύθμιση της διαφοροποίησης και του κυτταρικού θανάτου των νεοπλασματικών κυττάρων (Offenhäuser et al., 2018). Μάλιστα, η απαλοιφή του γονιδίου του εν λόγω υποδοχέα σε ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο γενετικό μοντέλο γλοιοβλαστώματος σε ποντίκια, έχει φανεί ότι επάγει την καλύτερη διαφοροποίηση και την απόπτωση των κακοήθων κυττάρων (Offenhäuser et al., 2018). Αντίστοιχα, αυξημένα επίπεδα μια άλλης ομάδας υποδοχέων εφρινών, των EphA2, EphB2 και EphB4 έχουν ανιχνευθεί σε καρκινώματα μαστού συγκριτικά με ιστούς από φυσιολογικούς μαζικούς αδένες (Q. Wu et al., 2004). Μάλιστα, η έκφρασή τους εμφανίζει θετική συσχέτιση με συγκεκριμένες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους. Έτσι, οι υποδοχείς EphB2 και EphA2 σχετίζονται με δυσμενέστερη πρόγνωση, ενώ ειδικότερα στην περίπτωση του υποδοχέα EphA2, φαίνεται ότι η ογκογόνος δράση του, διαμεσολαβείται, τουλάχιστον εν μέρει, από ενίσχυση της

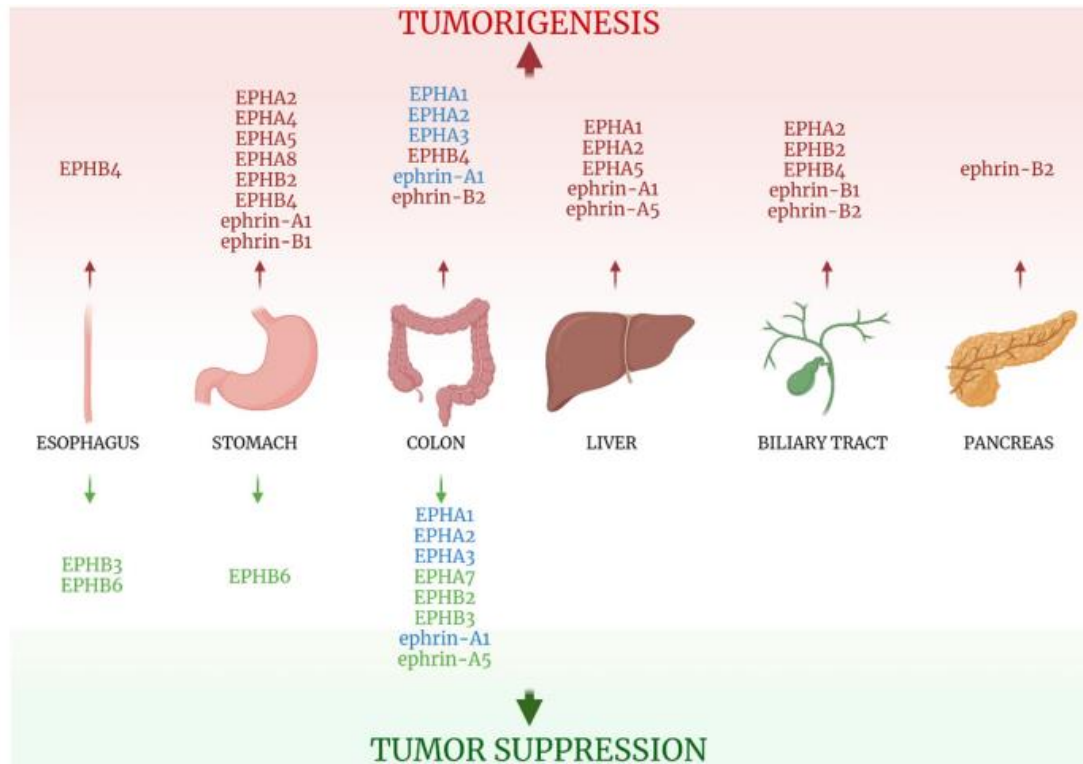
σηματοδότησης του υποδοχέα τυροσινικής κινάσης erbB2 (HER2) (Brantley-Sieders et al., 2008). Επιπλέον, σε μοντέλα καρκίνου του μαστού σε ποντίκια, η απαλοιφή του γονιδίου του EphA2 οδήγησε σε σημαντική παράταση της λανθάνουσας περιόδου τόσο για την εμφάνιση πρωτοπαθών κακοήθων νεοπλασμάτων στο μαζικό αδένα, όσο και για τη δημιουργία δευτεροπαθών εστιών (Brantley-Sieders et al., 2008). Αντίστοιχα, ο υποδοχέας EphB4 έχει συσχετιστεί με όγκους μαστού υψηλότερη ιστολογικής κακοήθειας (histological grade) και προχωρημένου παθολογοανατομικού σταδίου, καθώς και με αυξημένο δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ανευπλοειδία (Q. Wu et al., 2004). Επιπλέον, η μείωση των πρωτεϊνικών του επιπέδων σε κυτταρικές σειρές, μέσω συνθετικών μη κωδικών μορίων RNA (siRNA: small-interfering RNA) επάγει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο των νεοπλασματικών κυττάρων (Kumar et al., 2006). Τέλος, σε πολλά καρκινώματα μαστού έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα των υποδοχέων EphA4, EphA7 και EphA10, τα οποία συσχετίζονται με μειωμένη επιβίωση των αντίστοιχων ασθενών, ενώ ειδικότερα ο EphA4 επάγει τη διηθητική ικανότητα και ενισχύει το μεταστατικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων, μέσω ενεργοποίησης του μονοπατιού του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα-β (TGFβ: transforming growth factor-beta) (Arora et al., 2023).



**Εικόνα 16.** Στην εικόνα συνοψίζονται οι βασικές ογκογόνες και ογκοκατασταλτικές λειτουργίες των εφρινών (Arora et al., 2023).

Ογκοκατασταλτική δράση εφρινών: Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ορισμένες κατηγορίες κακοήθειας χαρακτηρίζονται από χαμηλότερα επίπεδα εφρινών, τόσο υποδοχέων όσο και προσδετών, από τους αντίστοιχους υγιείς ιστούς. Για παράδειγμα, τα αδενοκαρκινώματα παχέος εντέρου, χαρακτηρίζονται από μειωμένα επίπεδα των υποδοχέων EphA1 και EphB4, με το δεύτερο να εμφανίζει και αρνητική συσχέτιση με το βαθμό ιστολογικής κακοήθειας των όγκων και την επιβίωση των ασθενών (Herath et al., 2009; Pasquale, 2010). Ο προσδέτης ephrin-A5 εμφανίζει μειωμένη έκφραση στα γλοιοβλαστώματα, ενώ ο υποδοχέας EphB6 παρατηρείται σε μειωμένα επίπεδα σε προχωρημένου σταδίου καρκινώματα πνεύμονα (Pasquale, 2010). Ως προς τους μηχανισμούς ογκοκαταστολής που επιστρατεύονται μετά από την ενεργοποίηση των εφρινών, περισσότερα και πιο καλά τεκμηριωμένα δεδομένα υπάρχουν για τον υποδοχέα EphB4. Ο τελευταίος μετά από την σύνδεση του προσδέτη ephrin-B2, φαίνεται να ασκεί ογκοκατασταλτική δράση τόσο σε μοντέλα ετερότοπης μεταμόσχευσης (xenografts), όσο και σε κυτταρικές σειρές καρκινωμάτων μαστού και παχέος εντέρου (Arora et al., 2023). Κατ'αρχάς, η καταστολή της έκφρασής του

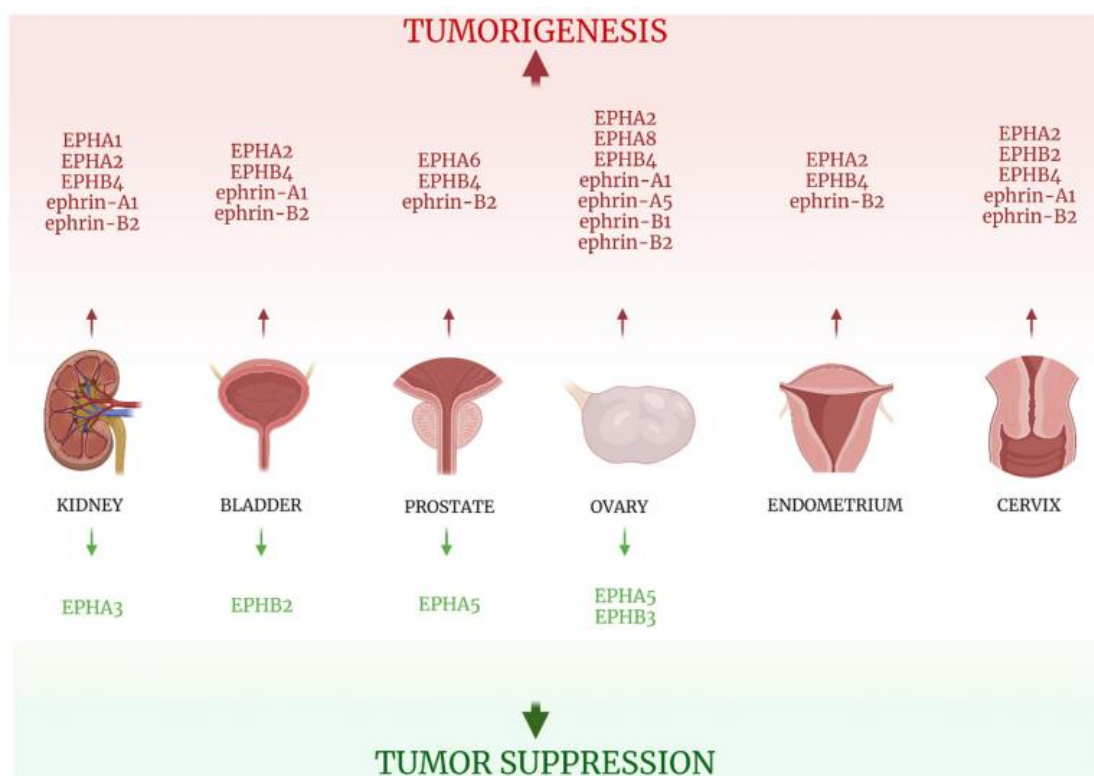
διευκολύνει κι επιταχύνει την ανάπτυξη όγκων σε μοντέλα xenograft καρκίνου μαστού. Επιπλέον, η περιοριστική του δράση στην πορεία της καρκινογένεσης έχει επιβεβαιωθεί και σε κυτταρικές σειρές μαστού και παχέος εντέρου, όπου η καταστολή της έκφρασής του περιορίσε τόσο τον πολλαπλασιασμό όσο και τη διηθητικότητα και το μεταστατικό δυναμικό των κυττάρων. Μάλιστα, στην περίπτωση του καρκίνου μαστού, το παθογενετικό υπόβαθρο αυτής της ογκοκατασταλτικής λειτουργίας έχει φανεί ότι σχετίζεται με την επαγωγή μιας ενδοκυττάριας σηματοδοτικής οδού, που διαμεσολαβείται από τον υποδοχέα τυροσινικής κινάσης Abl και την προσαρμοστική πρωτεΐνη Crk (Noren & Pasquale, 2004). Ένα ακόμα εύρημα συμβατό με την ογκοκατασταλτική λειτουργία του άξονα ephrin-B2-EphB4 είναι τα αυξημένα επίπεδα του προσδέτη, που έχουν εντοπιστεί σε όγκους χαμηλόβαθμης ιστολογικής κακοήθειας και τα οποία σχετίζονται με βελτιωμένη επιβίωση των ασθενών (Magic et al., 2019). Ειδικότερα, στην περίπτωση του παχέος εντέρου, φαίνεται ότι έχει μελετηθεί ο ρόλος των εφρινών και σε πιο πρώιμα στάδια της καρκινογένεσης και συγκεκριμένα σε προδιηθητικές βλάβες, όπως τα αδενώματα. Έτσι λοιπόν, η γενετική απαλοιφή των γονιδίων των υποδοχέων EphB4, EphB2 και EphB3 σε ένα γενετικά τροποποιημένο μοντέλο οικογενούς αδενωματώδους πολυποδίασης (APC: Adenomatous Polyposis Coli) οδήγησε σε αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων του αδενώματος και ταχύτερο σχηματισμό διηθητικών αδενοκαρκινωμάτων μεγαλύτερου μεγέθους (Batlle et al., 2005; Doposo et al., 2009). Από τις εφρίνες της οικογένειας A, οι δυο που έχουν συνδεθεί με αντι-νεοπλασματική, υπό συνθήκες, δράση είναι οι υποδοχείς EphA2 και EphA4. Ως προς τον πρώτο, η απαλοιφή του σε ποντίκια επιταχύνει τη χημικά επαγόμενη καρκινογένεση στο δέρμα, αυξάνοντας και το διηθητικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων (Guo et al., 2006). Από την άλλη πλευρά, ο EphA4, παρότι υπερεκφράζεται σε καρκινώματα του μαστού και του πνεύμονα, φαίνεται ότι τα αυξημένα επίπεδά του σχετίζονται με καλύτερη πρόγνωση. Επίσης, η *in vitro* επαγόμενη υπερέκφρασή του οδηγεί σε μείωση του διηθητικού και μεταναστευτικού δυναμικού των καρκινικών κυττάρων (Saintigny et al., 2012).



**Εικόνα 17.** Στην εικόνα συνοψίζονται τα μέλη της οικογένειας των εφρινών (υποδοχείς και προσδέτες), που ασκούν ογκογόνο ή ογκοκατασταλτική δράση σε καρκινώματα του γαστρεντερικού συστήματος (γαστρεντερικό σωλήνα, ήπαρ/χοληφόρα, πάγκρεας) (Pergaris et al., 2021).

Μεταλλάξεις στο σηματοδοτικό μονοπάτι των εφρινών: Ένας σημαντικός τρόπος απορρύθμισης της λειτουργίας των εφρινών κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης είναι οι μεταλλάξεις των γονιδίων τους, οι οποίες έχουν εντοπιστεί τόσο σε ανθρώπινα δείγματα μια ποικιλίας νεοπλασμάτων, όσο και σε καρκινικές κυτταρικές σειρές. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η διαφοροποίηση που παρατηρείται ως προς τους υποδοχείς που επηρεάζονται σε διαφορετικά είδη όγκων. Καρκινώματα του προστάτη, του στομάχου, του παχέος εντέρου, καθώς και μελανώματα εμφανίζουν μεταλλάξεις στο γονίδιο του υποδοχέα EphB2, οι οποίες οδηγούν σε απώλεια της λειτουργικότητάς του (Lisabeth et al., 2013). Φαίνεται ότι οι εν λόγω γενετικές αλλαγές αφορούν στην περιοχή που κωδικοποιεί το καταλυτικό κέντρο του ενζύμου και επιφέρουν δυσλειτουργία της δραστηριότητας κίνησης του υποδοχέα, περιορίζοντας την ενδοκυττάρια σηματοδότηση. Μεταλλάξεις που οδηγούν σε απώλεια της λειτουργικότητας έχουν επίσης ταυτοποιηθεί και σε άλλα μέλη της οικογένειας των εφρινών, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τον υποδοχείς EphA5 και EphA3, των οποίων

αλλοιώσεις έχουν εντοπιστεί στα καρκινώματα του πνεύμονα (Lisabeth et al., 2013). Ο τελευταίος φαίνεται να επηρεάζεται και σε αρκετές άλλες κακοήθειες, ετερογενούς προέλευσης, όπως το μελάνωμα, το γλοιοβλάστωμα και οι όγκοι του παγκρέατος, του παχέος εντέρου, του ήπατος και των ωοθηκών. Ειδικότερα στον καρκίνο του πνεύμονα, έχει παρατηρηθεί περιορισμένη φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης του υποδοχέα, γεγονός που συνηγορεί υπέρ της ογκοκατασταλτικής του φύσης (Lisabeth et al., 2012). Η ογκοκατασταλτική λειτουργία του EphA3 επιβεβαιώνεται και από *in vitro* αποτελέσματα σε πειράματα με κυτταρικές σειρές καρκίνου πνεύμονα, όπου η παρουσία δυο φυσιολογικών αλληλόμορφων του γονιδίου φαίνεται να ασκεί κατασταλτική δράση στην επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Zhuang et al., 2012).



**Εικόνα 18.** Στην εικόνα συνοψίζονται τα μέλη της οικογένειας των εφρινών (υποδοχείς και προσδέτες), που ασκούν ογκογόνο ή ογκοκατασταλτική δράση σε καρκινώματα του ουροποιητικού και του γεννητικού συστήματος. (Pergaris et al., 2021).

Εφρίνες και μικροπεριβάλλον του όγκου: Καθοριστική φαίνεται να είναι η λειτουργία που επιτελούν οι εφρίνες και στην αλληλεπίδραση μεταξύ των νεοπλασματικών

κυττάρων και των κυττάρων του μικροπεριβάλλοντος. Από τα μέλη της οικογένειας των εφρινών, αυτοί που έχουν κυρίως ταυτοποιηθεί ως διαμεσολαβητές αλληλεπιδράσεων με το μικροπεριβάλλον μιας σειράς όγκων είναι οι EphA2, EphA3, EphA4 και EphA10 (Agora et al., 2023).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο ρυθμιστικός τους ρόλος στη διαδικασία της αγγειογένεσης, με κύριο εκπρόσωπο τον υποδοχέα EphA2, ο οποίος έχει δειχθεί ότι υπερεκφράζεται σε όγκους που χαρακτηρίζονται από αυξημένη αγγειοβρίθεια (Brantley-Sieders et al., 2005). Για παράδειγμα, σε *in vivo* πειράματα μελέτης του καρκίνου του μαστού, που βασίστηκαν στην ένεση της κυτταρικής σειράς 4T1 σε ποντίκια wild-type και σε ποντίκια με καθολική έλλειψη του γονιδίου *EphA2*, φάνηκε ότι η έλλειψή του από το μικροπεριβάλλον και ιδιαίτερα από το ενδοθήλιο των αγγείων περιόρισε την αγγειογένεση και κατ'επέκταση το μέγεθος και το μεταστατικό δυναμικό των όγκων (Brantley-Sieders et al., 2005). Εκτός των ενδοθηλιακών κυττάρων, σημαντικός φαίνεται ότι είναι ο ρόλος των εφρινών και σε πληθυσμούς κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, που επιστρατεύονται στο μικροπεριβάλλον. Τα κύτταρα αυτά ανήκουν ως επί το πλείστον στη μυελοειδή και πιο συγκεκριμένα στη μονοκυτταρική σειρά, όπως τα σχετιζόμενα με τον όγκο μακροφάγα (TAMs) και τα κατασταλτικά κύτταρα μυελοειδούς προέλευσης (MDSCs), καθώς επίσης και μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα. Οι ανωτέρω κυτταρικοί υπότυποι αποτελούν, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω ανοσοκατασταλτικά κύτταρα, τα οποία έχει φανεί σε μια ποικιλία κακοηθειών ότι αναστέλλουν την επίκτητη κυτταρική ανοσία, εμποδίζοντας τα T-λεμφοκύτταρα να ενεργοποιηθούν πλήρως και να καταστρέψουν τα νεοπλασματικά κύτταρα (Janes et al., 2021). Ο υποδοχέας EphA3 έχει εντοπιστεί σε αυξημένα επίπεδα σε xenografts όγκων προστάτη και παχέος εντέρου, κατά κύριο λόγο σε μυελοειδή ανοσοκατασταλτικά κύτταρα και σε μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα. Μάλιστα η χορήγηση σε ποντίκια που έφεραν τέτοιους όγκους ενός αντισώματος αγωνιστικού για το συγκεκριμένο υποδοχέα οδήγησε σε τροποποίηση της σύστασης του στρώματος των νεοπλασμάτων και μείωση του μεγέθους τους (Vail et al., 2014). Ο υποδοχέας Eph4 φαίνεται να εμπλέκεται στις αλληλεπιδράσεις των σχετιζόμενων με τον όγκο μακροφάγων και των καρκινικών βλαστοκυττάρων (CSCs: Cancer Stem Cells). Πιο συγκεκριμένα, τα κύτταρα των όγκων που εκφράζουν EphA4, καθώς κι έναν υποδοχέα πρόσδεσης ιντεγκρινών, τον CD90, φαίνεται ότι χαρακτηρίζονται από έναν φαινότυπο καρκινικών βλαστοκυττάρων, με ταυτόχρονη ενεργοποίηση της

επιθηλιο-μεσεγγυματικής μετατροπής. Τα φαινοτυπικά αυτά χαρακτηριστικά προσδίδουν στα εν λόγω κύτταρα αυξημένη διηθητική ικανότητα και μεταστατικό δυναμικό, γεγονός που υποστηρίζεται και από την εντόπισή τους στις διηθητικές παρυφές του νεοπλάσματος (H. Lu et al., 2014). Φαίνεται λοιπόν ότι καθοριστικό ρόλο στην απόκτηση αυτού του φαινοτύπου και στην ενίσχυση της μεταναστευτικής ικανότητας διαδραματίζει η αλληλεπίδρασή τους με τα σχετιζόμενα με τον όγκο μακροφάγα, η οποία διαμεσολαβείται, του τουλάχιστον εν μέρει από τον υποδοχέα EphA4. Η ενεργοποίηση του τελευταίου προκαλεί την έκκριση μιας σειράς κυτταροκινών από τα καρκινικά βλαστοκύτταρα, οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν στην ενεργοποίηση μιας σειράς ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών, όπως η Src κινάση, η πρωτεϊνική κινάση C, ο Nfk- $\beta$  και οι ιντερλευκίνες IL-6 και IL-8 (H. Lu et al., 2014). Από την άλλη πλευρά, στον παγκρεατικό καρκίνο, η παρουσία του υποδοχέα EphA2 στα νεοπλασματικά κύτταρα δρα κατασταλτικά στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, περιορίζοντας τη διήθηση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου από T-λεμφοκύτταρα (T-cell exclusion). Μάλιστα σε ένα γενετικά τροποποιημένο μοντέλο καρκίνου παγκρέατος, βασισμένο σε ιστοειδική καρκινογένεση, επαγόμενη από ενεργοποιητική μετάλλαξη του K-Ras, φάνηκε ότι η απαλοιφή του *EphA2* οδήγησε σε αυξημένη παρουσία στο μικροπεριβάλλον των όγκων T-λεμφοκυττάρων, τόσο βοηθητικών (CD4+), όσο και κυτταροτοξικών (CD8+), με ταυτόχρονη μείωση αμφοτέρων των πληθυσμών κατασταλτικών κυττάρων της μυελοειδούς σειράς (MDSCs και TAMs) (Markosyan et al., 2019). Επιπλέον, ο υποδοχέας EphA2 φαίνεται δρα περιοριστικά στην ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών με καθοριστική λειτουργία στην ανάπτυξη αποτελεσματικής ανοσολογικής απόκρισης, όπως αυτό της ιντερφερόνης, το οποίο εμφανίζει περιορισμένη δραστηριότητα σε όγκους με έλλειψη EphA2, ενώ παράλληλα, άλλες ενδοκυττάρια οδοί, στις οποίες έχει αποδοθεί ανοσοκατασταλτική λειτουργία, όπως η TGF/SMAD ενεργοποιούνται από αυτόν (Markosyan et al., 2019). Τέλος, ο υποδοχέας EphA10 φαίνεται ότι επάγει την έκφραση του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος, PD-L1, ενώ η απαλοιφή του από τα καρκινικά κύτταρα αυξάνει την ενεργοποίηση της κυτταρικής ανοσίας έναντι του όγκου (W. H. Yang et al., 2018).

Εφρίνες και αντοχή στη θεραπεία: Η ικανότητα των υποδοχέων εφρινών να αλληλεπιδρούν με ένα ευρύ φάσμα ενδοκυττάρων δικτύων τους καθιστά καθοριστικούς παράγοντες στην ανάπτυξη αντοχής των καρκινικών κυττάρων μιας



ποικιλίας νεοπλασμάτων έναντι των χορηγούμενων θεραπειών. Η υπερέκφραση του υποδοχέα EphA2 στον καρκίνο του μαστού έχει συσχετιστεί με ανάπτυξη αντοχής σε θεραπείες αναστολής του EGFR, αλλά και στον ορμονοθεραπεία με tamoxifen (Ciocco & Fazio, 2021; M. Lu et al., 2003). Επιπλέον, το αντι-c-erbB2 αντίσωμα trastuzumab, ενεργοποιεί έναν μηχανισμό αντοχής, μέσω επαγωγής της κινάσης Src, η οποία αυξάνει τα επίπεδα φωσφορυλίωσης του EphA2. Ο τελευταίος, εν συνεχεία ενεργοποιεί τα σηματοδοτικά μονοπάτια PI3K/Akt και MAPK (Zhuang et al., 2010). Ο υποδοχέας EphA2 εμπλέκεται επίσης στην ανάπτυξη αντοχής έναντι του BRAF αναστολέα, του vemurafenib, ενεργοποιώντας έναν φαινότυπο που χαρακτηρίζεται από αυξημένη διηθητικότητα και μεταστατικό δυναμικό. Μάλιστα η αναστολή του EphA2 φαίνεται ότι οδηγεί σε μείωση της φωσφορυλίωσης των Akt and Erk (μονοπάτι MAPK) και ενεργοποίηση της απόπτωσης σε *in vivo* μοντέλα ποντικών (Miao et al., 2015). Ένας άλλος υποδοχέας της οικογένειας A, ο EphA4 φαίνεται ότι μέσω αλληλεπίδρασης με την κυκλινο-εξαρτώμενη κινάση 5 (CDK5: cyclin-dependent kinase 5), στο πολλαπλό μύελωμα προσδίδει στα νεοπλασματικά κύτταρα αντοχή έναντι της θεραπείας με αναστολείς πρωτεασώματος, όπως η βορτεζομίμη (bortezomib) (Ding et al., 2017). Τέλος, τα μειωμένα επίπεδα του υποδοχέα EphA3 φαίνεται να σχετίζονται με ενεργοποίηση του μονοπατιού PIK3CA/BMX/STAT3, το οποίο θεωρείται ότι επάγει μηχανισμούς αντοχής έναντι πολλαπλών φαρμάκων (Peng et al., 2016). Ως προς τις εφρίνες της οικογένειας B, η αλληλεπίδραση των EphB4–ephrin-B2 φαίνεται να εμπλέκεται σε ανάπτυξη αντοχής έναντι τόσο στοχευμένων θεραπειών, όσο και χημειοθεραπειών στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) και το μελάνωμα. Στην πρώτη περίπτωση, της ΧΜΛ, ο άξονας EphB4–ephrin-B2 προσδίδει στα κύτταρα αντοχή στους αναστολείς της Abl κινάσης, όπως η ιματινίμη (imatinib), ενώ η μέσω siRNA μείωση των επιπέδων EphB4 σε κυτταρικές σειρές, οδήγησε σε περιορισμό της κινητικότητας των νεοπλασματικών κυττάρων (L. Li et al., 2016). Αντίστοιχα στο μελάνωμα, η υπερέκφραση του EphB4 οδηγεί σε ανθεκτικότητα σε χημειοθεραπεία με σισπλατίνη μέσω αυξημένων επιπέδων φωσφορυλιωμένων Akt και Erk (X. Yang et al., 2015).

# **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ

### 1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκε μια ομάδα 44 ασθενών, για τους οποίους είχε τεθεί διάγνωση οφθαλμικού μελανώματος. Όλοι οι όγκοι είχαν τυποποιηθεί με βάση τη μορφολογία τους σε επιθηλιοειδείς, ατρακτοκυτταρικούς και μικτούς, ενώ είχαν ταξινομηθεί κατά TNM με βάση τη σταδιοποίηση του AJCC (8<sup>η</sup> έκδοση). Επίσης, σε αρκετούς ασθενείς υπήρχαν πληροφορίες για πρόσθετα κλινικοπαθολογοανατομικά και μοριακά χαρακτηριστικά, όπως: η μέγιστη διάμετρος και το πάχος του όγκου, η διήθηση συγκεκριμένων δομών του οφθαλμικού βολβού (ο οπίσθιος πόλος του οφθαλμού, το ακτινωτό σώμα, η ίριδα και η ιριδοκορική γωνία και ο σκληρός χιτώνας), η αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς, η αιμορραγία του υαλοειδούς σώματος, ο αριθμός των μιώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας, η ύπαρξη μεταστάσεων και η παρουσία απώλειας του χρωμοσώματος 3 ή κέρδους του 8q. Τέλος, για ορισμένους ασθενείς ήταν διαθέσιμες και πληροφορίες σχετικές με την πορεία της νόσου τους και την ολική τους επιβίωση (follow-up). Τα ακριβή χαρακτηριστικά των ασθενών και οι παράμετροι που ήταν διαθέσιμοι συνοψίζονται στον πίνακα 1.

### 2. ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ

Τομές από ιστό οφθαλμικού μελανώματος, μονιμοποιημένο σε φορμόλη και εμπεδωμένο σε παραφίνη, βάφτηκαν με αντισώματα έναντι του EPHA2 (κλώνος ab123877, AbCam/σε αραιώση 1:100), έναντι του EPHA4 (κλώνος D-4, Santa Cruz, CA, USA/σε αραιώση 1:200) και έναντι του EPHA6 (κλώνος ab11329, AbCam/σε αραιώση 1:250). Ως θετικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν ιστοί με γνωστή έκφραση EPH, ενώ ως αρνητικοί μάρτυρες, οι ίδιοι ιστοί στους οποίους κατά την ανοσοϊστοχημεία το πρωτογενές αντίσωμα αντικαταστάθηκε με αντιορό.

Η αξιολόγηση των χρώσεων πραγματοποιήθηκε από δύο έμπειρους παθολογοανατόμους, με διπλά τυφλή μέθοδο. Η πυρηνική και η κυτταροπλασματική χρώση αξιολογήθηκαν χωριστά. Αρχικά, υπολογίστηκε για το κάθε αντίσωμα (EPHA2, EPHA4 και EPHA6) η ποσοστιαία αναλογία των θετικών νεοπλασματικών κυττάρων σε σχέση με τον συνολικό αριθμό των νεοπλασματικών κυττάρων κάθε τομής, η οποία εν συνεχεία κατηγοριοποιήθηκε σε τέσσερις ομάδες: 0 (κανένα θετικό κύτταρο), 1 (<10% θετικών κυττάρων), 2 (11-50% θετικά

κύτταρα), 3 (51-80% θετικά κύτταρα και 4 (>80% θετικά κύτταρα). Επίσης εκτιμήθηκε η ένταση της χρώσης σε τετραβάθμια κλίμακα: 0 (απουσία χρώσης), 1 (ήπιας έντασης χρώσης), 2 (μέτριας έντασης χρώση) και 3 (υψηλής έντασης χρώση). Με βάση τις δυο αυτές παραμέτρους, προέκυψε ένα score ανοσοαντίδρασης (immunoreactive score, IRS) ως το γινόμενο του ποσοστού νεοπλασματικών κυττάρων επί την ένταση της χρώσης (score 1-12). Το score ανοσοαντίδρασης ταξινομήθηκε σε τέσσερις κατηγορίες: αρνητική έκφραση (IRS 0-1), ήπια έκφραση (IRS 2-3), μέτρια έκφραση (IRS 4-8) και έντονη έκφραση (IRS 9-12). Κατά συνέπεια, η αρνητική και η ήπια έκφραση (IRS 0-3) κατηγοριοποιούνται στην ομάδα χαμηλής έκφρασης ενώ η μέτρια και έντονη έκφραση (IRS 4-12) κατηγοριοποιούνται στην ομάδα υψηλής έκφρασης.

### **3.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε από ειδικό βιοστατιστικόλόγο. Η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης EPH και διαφορετικών κλινικοπαθολογοανατομικών χαρακτηριστικών εξετάστηκε με μη παραμετρικές δοκιμασίες με διόρθωση για πολλαπλές συγκρίσεις, όπου ήταν απαραίτητο. Η ανάλυση της επιβίωσης πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τις καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier και η μεταξύ τους σύγκριση έγινε με long-rank τεστ. Οι αριθμητικές παράμετροι κατηγοριοποιήθηκαν βάσει των διάμεσων τιμών τους και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο παλινδρόμησης του Cox, προκειμένου να εκτιμηθεί η πιθανή προγνωστική αξία κάθε παραμέτρου ανεξαρτήτως των υπολοίπων. Ως στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές  $p < 0,05$ . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με την χρήση του στατιστικού πακέτου STATA 11.0/SE για Windows.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Δεκαεπτά ασθενείς ήταν άνδρες (39%) και 27 ήταν γυναίκες (61%). Η διάμεση ηλικία κατά την διάγνωση ήταν τα 66,5 έτη (εύρος: 14-90 έτη). Το πάχος του όγκου κυμαινόταν μεταξύ 6 και 16 χιλ., με διάμεση τιμή τα 12 χιλ και η μέγιστη διάμετρός του μεταξύ 17 και 24 χιλ., με διάμεση τιμή τα 16 χιλ. Όλα τα περιστατικά αφορούσαν σε οφθαλμικά μελανώματα του ακτινωτού σώματος και του χοριοειδούς χιτώνα, 4 εκ των οποίων (9%) εμφάνιζαν δευτεροπαθή συμμετοχή της ίριδας. Ως προς τον ιστολογικό τους τύπο, με βάση το μορφολογικό πρότυπο των νεοπλασματικών κυττάρων, οι όγκοι κατηγοριοποιήθηκαν σύμφωνα με το τροποποιημένο σύστημα ταξινόμησης κατά Callendar, ως εξής: 12 επιθηλιοειδούς τύπου (27%), 23 μικτού τύπου (52%) και 9 ατρακτοκυτταρικού τύπου (21%). Η κατανομή τους ως προς το στάδιο T, σύμφωνα με την ταξινόμηση του AJCC (8<sup>η</sup> έκδοση) ήταν η ακόλουθη: T2, 2 περιστατικά (5%), T3, 20 περιστατικά (45%) και T4, 22 περιστατικά (50%). Δεκαεπτά ασθενείς (39%) είχαν μεταστατική νόσο κατά την διάγνωση. Σε 19 από τα 29 περιστατικά που εξετάστηκαν, καταγράφηκε μονοσωμία 3 (66%), ενώ σε 13/17 ανιχνεύτηκε κέρδος του 8q (77%). Αναφορικά με την παρακολούθηση των ασθενών (follow-up), οι 24/44 (55%) απεβίωσαν από την νόσο εντός περιόδου 3 με 146 μηνών, ενώ οι εναπομείναντες 20 ετέθησαν σε παρακολούθηση για διάμεση περίοδο 66,5 μηνών.

**Πίνακας 1.** Ο πίνακας συνοψίζει τα βασικά δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών, καθώς και τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους που μελετήθηκαν.

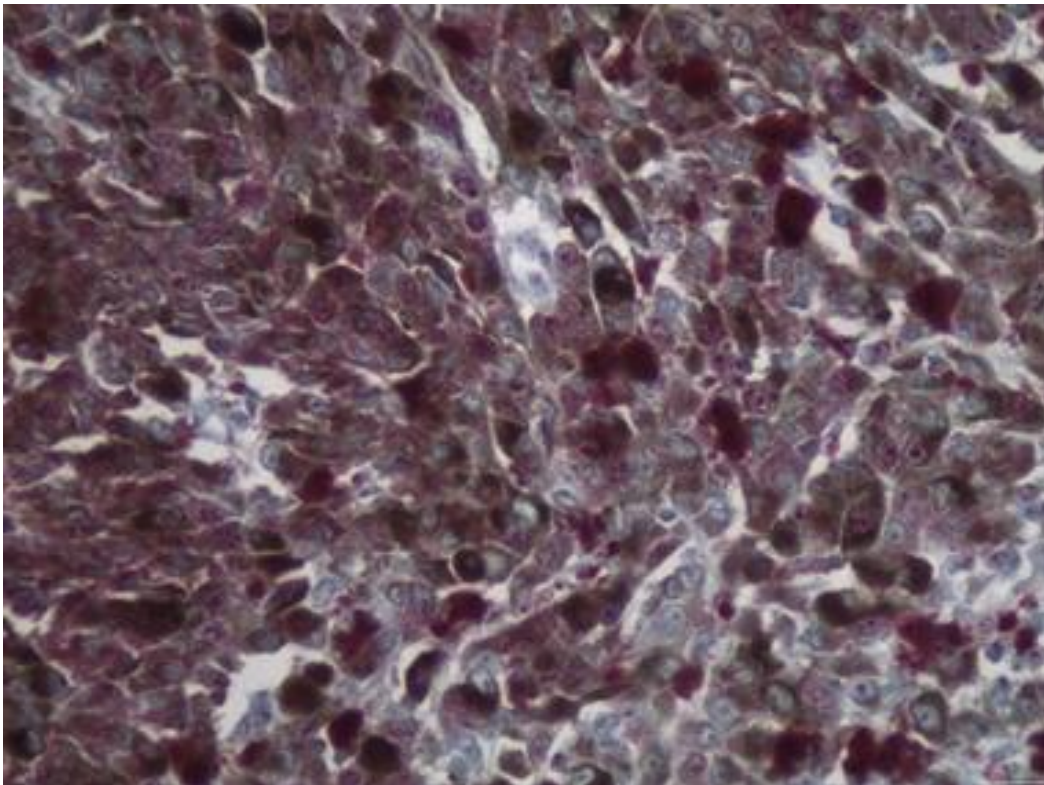
Παράμετρος	Διάμεση τιμή	Εύρος
Ηλικία	66.5	14-90 έτη
Αριθμός μιτώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας	3	0-24
Πάχος όγκου	12	6-16 χιλ
Μέγιστη διάμετρος όγκου	16	17-24 χιλ
	<b>Αριθμός</b>	<b>%</b>
<b>Φύλο</b>		
Άρρεν	17/44	39%

<i>Θήλυ</i>	27/44	61%
<b>Διήθηση οπισθίου πόλου οφθαλμικού βολβού</b>	15/44	34%
<b>Διήθηση ακτινωτού σώματος</b>	12/44	27%
<b>Διήθηση ίριδας</b>	4/44	9%
<b>Διήθηση ιριδο-κορικής γωνίας</b>	3/44	7%
<b>Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς</b>	18/44	41%
<b>Αιμορραγία ναλοειδούς σώματος</b>	9/44	20%
<b>Διήθηση σκληρού χιτώνα</b>	35/44	80%
<b>Επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα</b>	6/44	14%
<b>Ιστολογικός τύπος</b>		
<i>Επιθηλιοειδής</i>	12/44	27%
<i>Μικτός</i>	23/44	52%
<i>Ατρακτοκυτταρικός</i>	9/44	21%
<b>Απώλεια χρωμοσώματος 3</b>	19/29	66%
<b>Κέρδος 8q</b>	13/17	77%
<b>Παρουσία μετάστασης</b>	17/44	39%
<b>T-στάδιο (AJCC)</b>		
<i>T1</i>	0/44	0%
<i>T2</i>	2/44	5%
<i>T3</i>	20/44	45%
<i>T4</i>	22/44	50%
<b>Συμβάν</b>		
<i>Θάνατος από τη νόσο</i>	24/44, εντός 3-146 μηνών	55%
<i>Απώλεια κατά την παρακολούθηση</i>	20/44, παρακολούθηση για 1-162 μήνες	45%

## 2.ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΡΗΑ2 ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ

Σε 34/44 περιστατικά (77%) παρατηρήθηκε θετικότητα για τον ΕΡΗΑ2 (Εικόνα 1), η οποία είχε σχεδόν αποκλειστικά κυτταροπλασματική εντόπιση. Πιο συγκεκριμένα, τα 33 δείγματα εμφάνισαν μόνο κυτταροπλασματική χρώση, με μόλις ένα να εμφανίζει συνδυασμό πυρηνικής και κυτταροπλασματικής ανοσοαντιδραστικότητας. Συνεπώς, προχωρήσαμε στην συσχέτιση μόνο της κυτταροπλασματικής χρώσης του ΕΡΗΑ2 με τις διαθέσιμες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους. Με cut-off τη διάμεση τιμή του score ανοσοαντίδρασης (IRS) για το σύνολο των ασθενών της μελέτης, 12 περιστατικά (27%) ταξινομήθηκαν στην ομάδα υψηλού και 32 (73%) στην ομάδα χαμηλού IRS.

Το υψηλό IRS για τον ΕΡΗΑ2 εμφάνισε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το αυξημένο πάχος του όγκου (Mann Whitney U test,  $p=0,03$ , Σχήμα 2), τη διήθηση του σκληρού χιτώνα (Fischer's exact test,  $p=0,05$ ) και την παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων (Fischer's exact test,  $p=0,09$ ), με την τελευταία ωστόσο συσχέτιση να βρίσκεται στα όρια της σημαντικότητας. Οι συσχετίσεις με τις υπόλοιπες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (Πίνακας 2).



**Εικόνα 1.** Ανοσοϊστοχημική χρώση έναντι του ΕΡΗΑ2, η οποία ανέδειξε συνδυασμό κυτταροπλασματικής και πυρηνικής θετικότητας.

**Πίνακας 2.** Ο πίνακας συνοψίζει τις συσχετίσεις της κυτταροπλασματικής χρώσης του ΕΡΗΑ2 με τις διαθέσιμες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους των ασθενών.

<b>Κυτταροπλασματική χρώση ΕΡΗΑ2</b>			
	Χαμηλό IRS (0-3)	Υψηλό IRS (4-12)	p-value
<b>Παράμετρος</b>	Διάμεση τιμή (εύρος)		
<b>Ηλικία</b>	66.5 (14-90)	70.5 (32-90)	0.33
<b>Αριθμός μιτώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας</b>	3 (0-24)	3 (0-12)	0.88
<b>Πάχος όγκου</b>	11.35 (6-16)	13.35 (8.7-16)	<b>0.03</b>
<b>Μέγιστη διάμετρος όγκου</b>	16 (7-24)	14.5 (14-22)	0.29
	Αριθμός περιστατικών		
<b>Φύλο</b>			
Άρρεν	13	4	0.74
Θήλυ	19	8	
<b>Διήθηση οπισθίου πόλου οφθαλμικού βολβού</b>			
Όχι	21	8	>0.99
Ναι	11	4	
<b>Διήθηση ακτινωτού σώματος</b>			
Όχι	23	9	>0.99
Ναι	9	3	
<b>Δευτεροπαθής διήθηση ίριδας</b>			
Όχι	28	12	0.56
Ναι	4	9	
<b>Διήθηση ιριδο-κορικής γωνίας</b>			
Όχι	29	12	0.55
Ναι	3	0	
<b>Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς</b>			
Όχι	17	9	0.30
Ναι	15	3	
<b>Αιμορραγία υαλοειδούς σώματος</b>			
Όχι	27	8	0.23
Ναι	5	4	



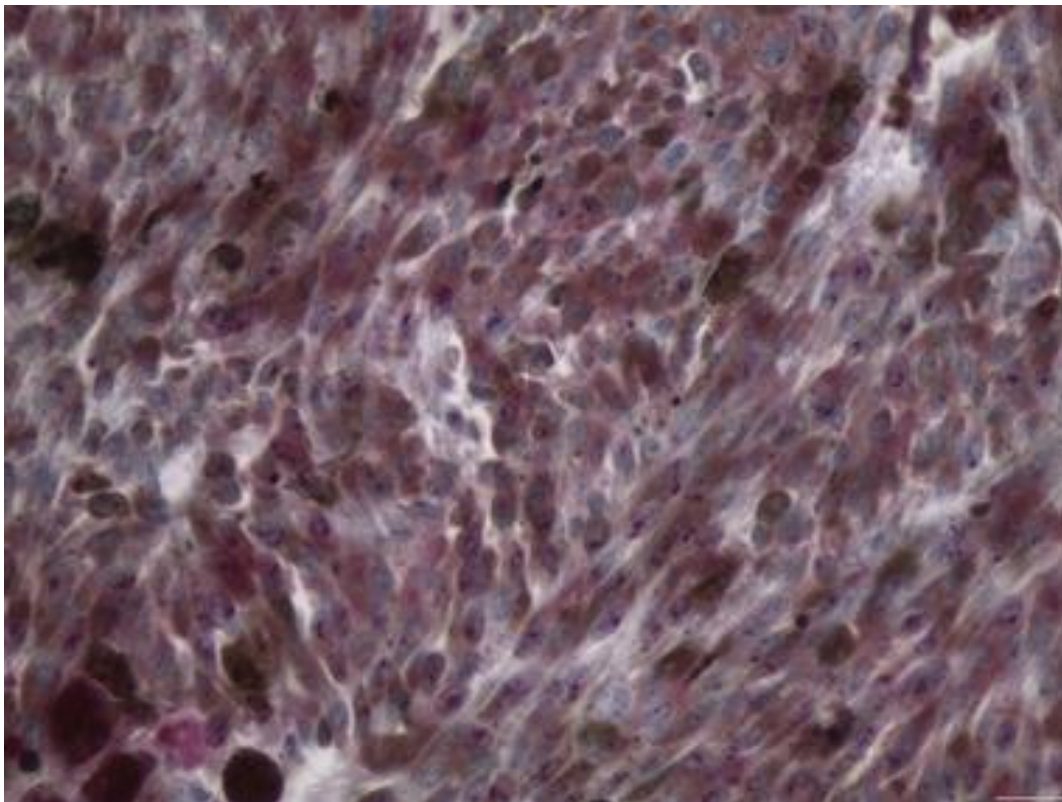
<b>Διήθηση σκληρού χιτώνα</b>			
Όχι	9	0	<b>0.05</b>
Ναι	23	12	
<b>Επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα</b>			
Όχι	26	12	0.17
Ναι	6	0	
<b>Ιστολογικός τύπος</b>			
<i>Επιθηλιοειδής</i>	10	2	0.36
<i>Μικτός</i>	17	6	
<i>Ατρακτοκυτταρικός</i>	5	4	
<b>Απώλεια χρωμοσώματος 3</b>			
Όχι	9	1	>0.99
Ναι	16	3	
<b>Κέρδος 8q</b>			
Όχι	3	1	>0.99
Ναι	11	2	
<b>Παρουσία μετάστασης</b>			
Όχι	15	10	<b>0.09</b>
Ναι	10	2	
<b>T-στάδιο (AJCC)</b>			
<i>T1</i>	0	0	>0.99
<i>T2</i>	2	0	
<i>T3</i>	14	6	
<i>T4</i>	16	6	

### 3. ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΡΗΑ4 ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ

Ο ΕΡΗΑ4 εμφάνισε τόσο πυρηνική όσο και κυτταροπλασματική χρώση (Εικόνα 2). Πυρηνική θετικότητα παρατηρήθηκε σε 27 περιστατικά (61%), ενώ ως προς το πυρηνικό IRS, 12 όγκοι (27%) ταξινομήθηκαν στην ομάδα υψηλού score και τα υπόλοιπα 32 (73%) στην ομάδα χαμηλού score (Πίνακας 2). Κυτταροπλασματική χρώση ανιχνεύτηκε επίσης σε 27 περιστατικά (61%), με 5 εξ' αυτών να κατηγοριοποιούνται στην ομάδα υψηλού IRS

(11%), ενώ τα υπόλοιπα 39 (89%) ταξινομήθηκαν στην ομάδα χαμηλού κυτταροπλασματικού score (Πίνακας 3). Η πυρηνική και η κυτταροπλασματική θετικότητα δεν εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική μεταξύ τους συσχέτιση (exact test κατά Fischer,  $p < 0,10$ ). Ταυτόχρονα υψηλό πυρηνικό και κυτταροπλασματικό IRS παρατηρήθηκε μόνο σε έναν όγκο, ενώ σε 28 περιπτώσεις ανιχνεύτηκε η ταυτόχρονη παρουσία χαμηλού πυρηνικού και κυτταροπλασματικού score.

Δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης ERHA4 και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων (Πίνακες 2 και 3).



**Εικόνα 2.** Ανοσοϊστοχημική χρώση έναντι του ERHA4, η οποία ανέδειξε συνδυασμό κυτταροπλασματικής και πυρηνικής θετικότητας.

**Πίνακας 2.** Ο πίνακας συνοψίζει τις συσχετίσεις της πυρηνικής χρώσης του ERHA4 με τις διαθέσιμες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους των ασθενών.

<b>Πυρηνική χρώση ERHA2</b>			
	Χαμηλό IRS (0-3)	Υψηλό IRS (4-12)	p-value
<b>Παράμετρος</b>	Διάμεση τιμή (εύρος)		
<b>Ηλικία</b>	65 (14-90)	75 (15-87)	0.33
<b>Αριθμός μιτώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας</b>	3 (0-24)	4.5 (0-24)	0.73

<b>Πάχος όγκου</b>	11.7 (8.5-16)	12.2 (6-16)	0.79
<b>Μέγιστη διάμετρος όγκου</b>	16 (7-24)	16 (10-20.5)	0.88
	Αριθμός περιστατικών		
<b>Φύλο</b>			
Άρρεν	13	4	0.74
Θήλυ	19	8	
<b>Διήθηση οπισθίου πόλου οφθαλμικού βολβού</b>			
Όχι	21	8	>0.99
Ναι	11	4	
<b>Διήθηση ακτινωτού σώματος</b>			
Όχι	25	7	0.26
Ναι	7	5	
<b>Δευτεροπαθής διήθηση ίριδας</b>			
Όχι	30	10	0.30
Ναι	2	2	
<b>Διήθηση ιριδο-κορικής γωνίας</b>			
Όχι	31	10	0.18
Ναι	1	2	
<b>Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς</b>			
Όχι	19	7	>0.99
Ναι	3	5	
<b>Αιμορραγία υαλοειδούς σώματος</b>			
Όχι	26	9	0.69
Ναι	6	3	
<b>Διήθηση σκληρού χιτώνα</b>			
Όχι	6	3	0.69
Ναι	26	9	
<b>Επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα</b>			
Όχι	26	12	0.17
Ναι	6	0	
<b>Ιστολογικός τύπος</b>			

<i>Επιθηλιοειδής</i>	10	2	0.60
<i>Μικτός</i>	15	8	
<i>Ατρακτοκυτταρικός</i>	5	2	
<b>Απώλεια χρωμοσώματος 3</b>			
Όχι	6	4	0.39
Ναι	15	4	
<b>Κέρδος 8q</b>			
Όχι	3	1	>0.99
Ναι	9	4	
<b>Παρουσία μετάστασης</b>			
Όχι	18	9	0.31
Ναι	14	3	
<b>T-στάδιο (AJCC)</b>			
<i>T1</i>	0	0	0.74
<i>T2</i>	1	1	
<i>T3</i>	15	5	
<i>T4</i>	16	6	

**Πίνακας 3.** Ο πίνακας συνοψίζει τις συσχετίσεις της κυτταροπλασματικής χρώσης του ΕΡΗΑ4 με τις διαθέσιμες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους των ασθενών.

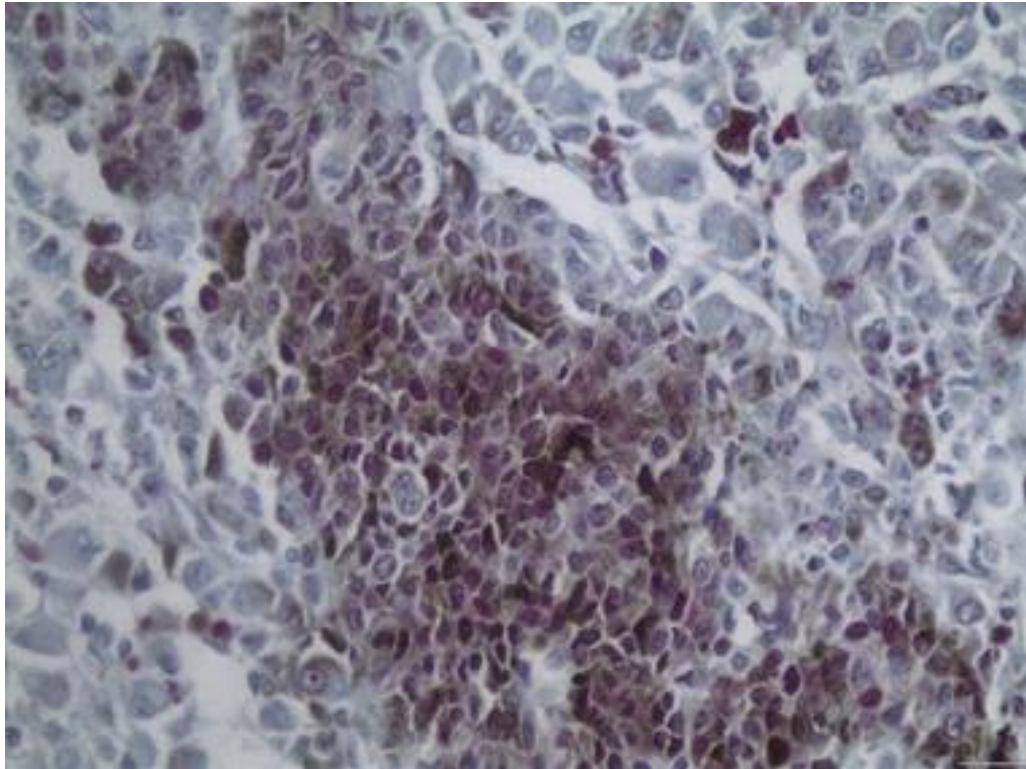
<b>Κυτταροπλασματική χρώση ΕΡΗΑ4</b>			
	Χαμηλό IRS (0-3)	Υψηλό IRS (4-12)	p-value
<b>Παράμετρος</b>	Διάμεση τιμή (εύρος)		
<b>Ηλικία</b>	67 (14-90)	58 (32-90)	0.84
<b>Αριθμός μιτώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας</b>	3 (0-24)	3 (2-12)	0.79
<b>Πάχος όγκου</b>	11.5 (6-16)	12.6 (10.5-14.7)	0.24
<b>Μέγιστη διάμετρος όγκου</b>	16 (7-24)	15 (12-19.5)	0.40
	Αριθμός περιστατικών		
<b>Φύλο</b>			
Άρρεν	16	1	0.64
Θήλυ	23	4	
<b>Διήθηση οπισθίου πόλου οφθαλμικού βολβού</b>			
Όχι	23	3	>0.99

Ναι	13	2	
<b>Διήθηση ακτινωτού σώματος</b>			
Όχι	28	4	>0.99
Ναι	11	1	
<b>Δευτεροπαθής διήθηση ίριδας</b>			
Όχι	35	5	>0.99
Ναι	4	0	
<b>Διήθηση ιριδο-κορικής γωνίας</b>			
Όχι	36	5	>0.99
Ναι	3	0	
<b>Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς</b>			
Όχι	24	2	0.39
Ναι	15	3	
<b>Αιμορραγία υαλοειδούς σώματος</b>			
Όχι	31	4	>0.99
Ναι	8	1	
<b>Διήθηση σκληρού χιτώνα</b>			
Όχι	8	1	>0.99
Ναι	31	4	
<b>Επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα</b>			
No	33	5	>0.99
Yes	6	0	
<b>Ιστολογικός τύπος</b>			
<i>Επιθηλιοειδής</i>	12	0	0.31
<i>Μικτός</i>	20	3	
<i>Ατρακτοκυτταρικός</i>	7	2	
<b>Απώλεια χρωμοσώματος 3</b>			
Όχι	8	2	0.27
Ναι	18	1	
<b>Κέρδος 8q</b>			
Όχι	2	2	0.12
Ναι	12	1	

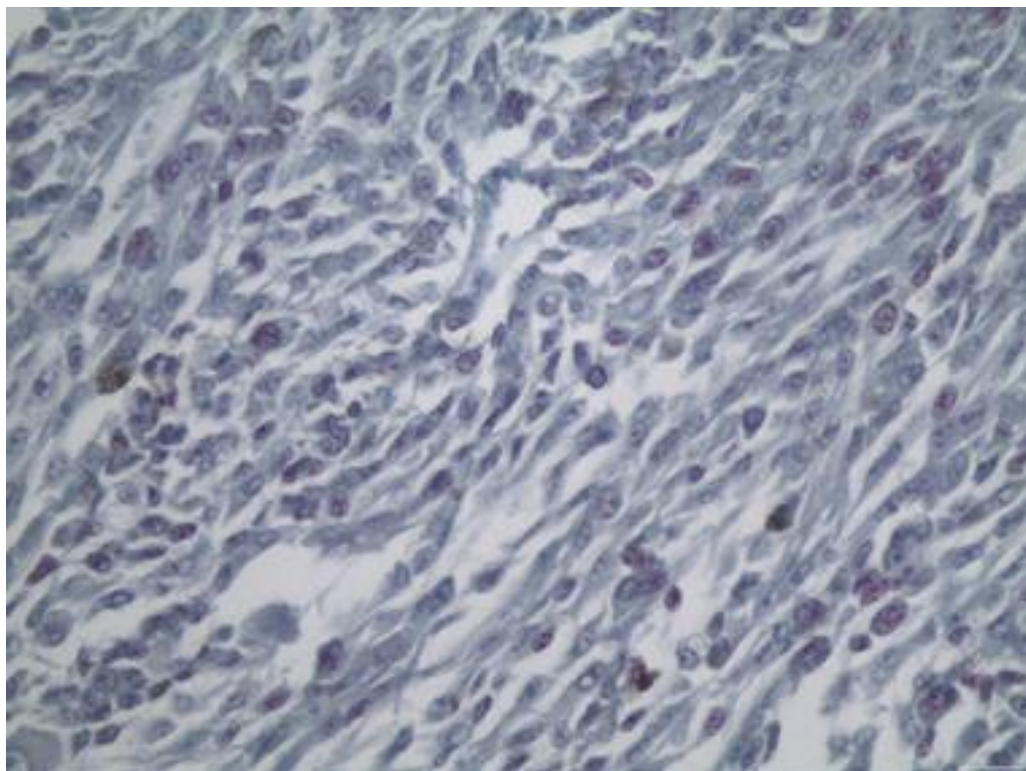
<b>Παρουσία μετάστασης</b>			
Όχι	23	4	0.63
Ναι	16	1	
<b>T-στάδιο (AJCC)</b>			
<i>T1</i>			
<i>T2</i>	2	0	0.73
<i>T3</i>	17	3	
<i>T4</i>	20	2	

#### **4. Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΡΗΑ6 ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ**

Ο ΕΡΗΑ6 εμφάνισε τόσο πυρηνική όσο και κυτταροπλασματική χρώση (Εικόνες 3 και 4). Πυρηνική θετικότητα ΕΡΗΑ6 παρατηρήθηκε σε 28 περιστατικά (64%) και κυτταροπλασματική σε 22 περιστατικά (44%). Είκοσι εννέα περιστατικά (66%) ταξινομήθηκαν στην ομάδα χαμηλού και 15 (34%) στην ομάδα υψηλού πυρηνικού IRS. Κατ' αναλογία, ως προς την κυτταροπλασματική χρώση, 30 εκ των περιστατικών (68%) ταξινομήθηκαν στην ομάδα χαμηλού IRS και 14 στην ομάδα υψηλού IRS (32%) (Πίνακες 4 και 5). Ταυτόχρονα υψηλό πυρηνικό και κυτταροπλασματικό IRS παρατηρήθηκε σε 4 περιστατικά, 19 περιστατικά έδειξαν ταυτόχρονο χαμηλό πυρηνικό και κυτταροπλασματικό IRS ενώ δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ κυτταροπλασματικού και πυρηνικού IRS στον ΕΡΗΑ6 (Fischer's exact test,  $p < 0,10$ ). Υψηλό πυρηνικό IRS για τον ΕΡΗΑ6 συσχετίστηκε με μεγαλύτερη ηλικία διάγνωσης (Mann Whitney U test,  $p = 0,03$ ) και απουσία αποκόλλησης αμφιβληστροειδούς (Fischer's exact test,  $p = 0,05$ ) (Πίνακας 4). Οι συσχετίσεις με τις υπόλοιπες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (Πίνακας 4).



**Εικόνα 3.** Ανοσοϊστοχημική χρώση έναντι του ERHA6, η οποία ανέδειξε συνδυασμό κυτταροπλασματικής και πυρηνικής θετικότητας.



**Εικόνα 4.** Ανοσοϊστοχημική χρώση έναντι του ΕΡΗΑ6, η οποία ανέδειξε αποκλειστικά πυρηνική θετικότητα.

**Πίνακας 4.** Ο πίνακας συνοψίζει τις συσχετίσεις της πυρηνικής χρώσης του ΕΡΗΑ6 με τις διαθέσιμες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους των ασθενών.

<b>Πυρηνική χρώση ΕΡΗΑ6</b>			
	Χαμηλό IRS (0-3)	Υψηλό IRS (4-12)	p-value
<b>Παράμετρος</b>	Διάμεση τιμή (εύρος)		
<b>Ηλικία</b>	63 (14-90)	75 (15-90)	<b>0.03</b>
<b>Αριθμός μιτώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας</b>	4 (0-10)	2 (0-24)	0.76
<b>Πάχος όγκου</b>	11.5 (8.5-16)	12 (6-16)	0.82
<b>Μέγιστη διάμετρος όγκου</b>	16 (10-24)	16 (7-22)	0.59
	Αριθμός περιστατικών		
<b>Φύλο</b>			
Άρρεν	18	11	0.52
Θήλυ	11	4	
<b>Διήθηση οπισθίου πόλου οφθαλμικού βολβού</b>			
Όχι	18	11	0.52
Ναι	11	4	
<b>Διήθηση ακτινωτού σώματος</b>			
Όχι	23	9	0.28
Ναι	6	6	
<b>Δευτεροπαθής διήθηση ίριδας</b>			
Όχι	26	14	>0.99
Ναι	3	1	
<b>Διήθηση ιριδο-κορικής γωνίας</b>			
Όχι	28	13	0.26
Ναι	1	2	
<b>Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς</b>			
Όχι	14	12	<b>0.05</b>
Ναι	15	3	



<b>Αιμορραγία ναλοειδούς σώματος</b>			
Όχι	23	12	>0.99
Ναι	6	3	
<b>Διήθηση σκληρού χιτώνα</b>			
No	5	4	0.46
Yes	24	11	
<b>Επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα</b>			
No	25	13	>0.99
Yes	4	2	
<b>Ιστολογικός τύπος</b>			
<i>Επιθηλιοειδής</i>	10	2	0.31
<i>Μικτός</i>	13	10	
<i>Ατρακτοκυτταρικός</i>	6	3	
<b>Απώλεια χρωμοσώματος 3</b>			
Όχι	8	2	0.41
Ναι	11	8	
<b>Κέρδος 8q</b>			
Όχι	3	1	>0.99
Ναι	10	3	
<b>Παρουσία μετάστασης</b>			
Όχι	16	11	0.33
Ναι	13	4	
<b>T-στάδιο (AJCC)</b>			
<i>T1</i>	0	0	0.88
<i>T2</i>	1	1	
<i>T3</i>	14	6	
<i>T4</i>	14	8	

**Πίνακας 5.** Ο πίνακας συνοψίζει τις συσχετίσεις της κυτταροπλασματικής χρώσης του ΕΡΗΑ6 με τις διαθέσιμες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους των ασθενών.

<b>Κυτταροπλασματική χρώση ΕΡΗΑ6</b>			
	Χαμηλό IRS (0-3)	Υψηλό IRS (4-12)	p-value
<b>Παράμετρος</b>	Διάμεση τιμή (εύρος)		

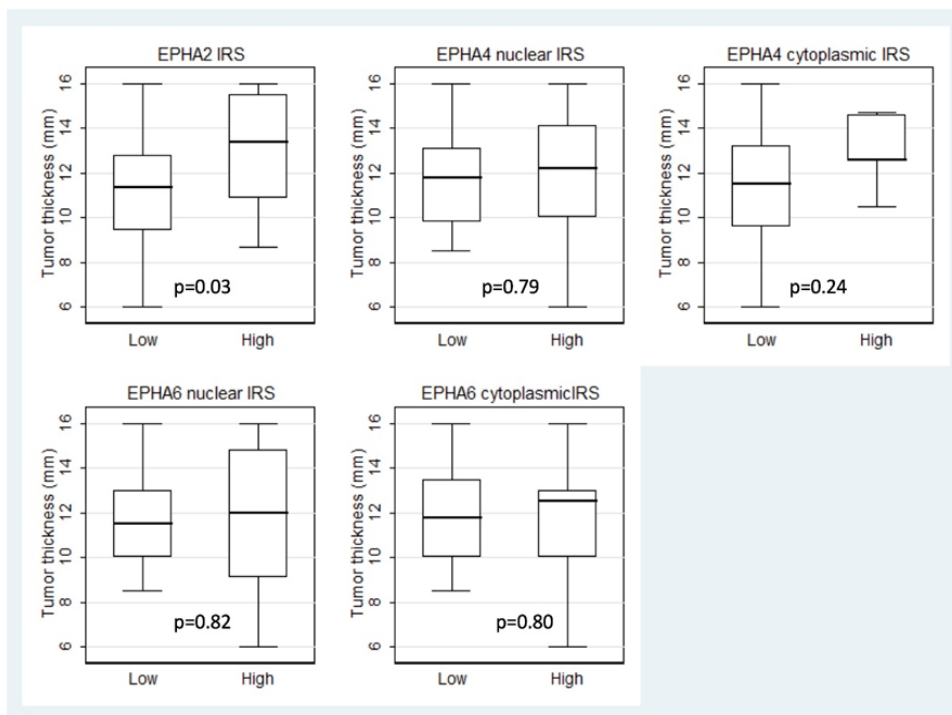
<b>Ηλικία</b>	65 (15-90)	73.5 (14-85)	0.37
<b>Αριθμός μιτώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας</b>	3.5 (0-24)	3 (0-24)	0.83
<b>Πάχος όγκου</b>	11.7 (8.5-16)	12.5 (6-16)	0.80
<b>Μέγιστη διάμετρος όγκου</b>	16.5 (7-24)	16 (10-20)	0.54
	Αριθμός περιστατικών		
<b>Φύλο</b>			
Άρρεν	19	10	0.74
Θήλυ	11	4	
<b>Διήθηση οπισθίου πόλου οφθαλμικού βολβού</b>			
Όχι	19	10	0.74
Ναι	11	4	
<b>Διήθηση ακτινωτού σώματος</b>			
Όχι	22	10	>0.99
Ναι	8	4	
<b>Δευτεροπαθής διήθηση ίριδας</b>			
Όχι	27	13	>0.99
Ναι	3	1	
<b>Διήθηση ιριδο-κορικής γωνίας</b>			
Όχι	27	14	0.54
Ναι	3	0	
<b>Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς</b>			
Όχι	19	7	0.51
Ναι	11	7	
<b>Αιμορραγία υαλοειδούς σώματος</b>			
Όχι	24	11	>0.99
Ναι	6	3	
<b>Διήθηση σκληρού χιτώνα</b>			
Όχι	6	3	>0.99
Ναι	24	11	
<b>Επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα</b>			

Όχι	26	12	>0.99
Ναι	4	2	
<b>Ιστολογικός τύπος</b>			
<i>Επιθηλιοειδής</i>	9	3	0.70
<i>Μικτός</i>	16	7	
<i>Ατρακτοκυτταρικός</i>	5	4	
<b>Απώλεια χρωμοσώματος 3</b>			
Όχι	6	4	0.70
Ναι	13	6	
<b>Κέρδος 8q</b>			
Όχι	1	3	0.25
Ναι	9	4	
<b>Παρουσία μετάστασης</b>			
Όχι	17	10	0.51
Ναι	13	4	
<b>T-στάδιο (AJCC)</b>			
<i>T1</i>	0	0	0.56
<i>T2</i>	1	1	
<i>T3</i>	15	5	
<i>T4</i>	14	8	

## 5. ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΥΠΕΡΚΕΦΡΑΣΗ ΕΡΗΑ2, ΕΡΗΑ4 ΚΑΙ ΕΡΗ6

Προκειμένου να αξιολογηθεί ο ρόλος της ταυτόχρονης υπερέκφρασης των τριών υπό διερεύνηση ΕΡΗ, χρησιμοποιήσαμε το κυρίαρχο πρότυπο ανοσοαντίδρασης των ΕΡΗΑ4 και ΕΡΗΑ6, δηλαδή την πυρηνική έκφραση. Στην εργασία μας, υπήρξαν 15 (34,1%) περιστατικά με υπερέκφραση μόνο ενός ΕΡΗ, 9 περιστατικά (20,5%) με ταυτόχρονη υπερέκφραση δύο ΕΡΗ και 3 περιστατικά (4,5%) με ταυτόχρονο υψηλό score ανοσοαντιδραστικότητας και στους 3 ΕΡΗ.

Η παρουσία ταυτόχρονης έκφρασης των ΕΡΗ υπό διερεύνηση (διπλή ή τριπλή) δεν εμφάνιζε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με κάποια από τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους.

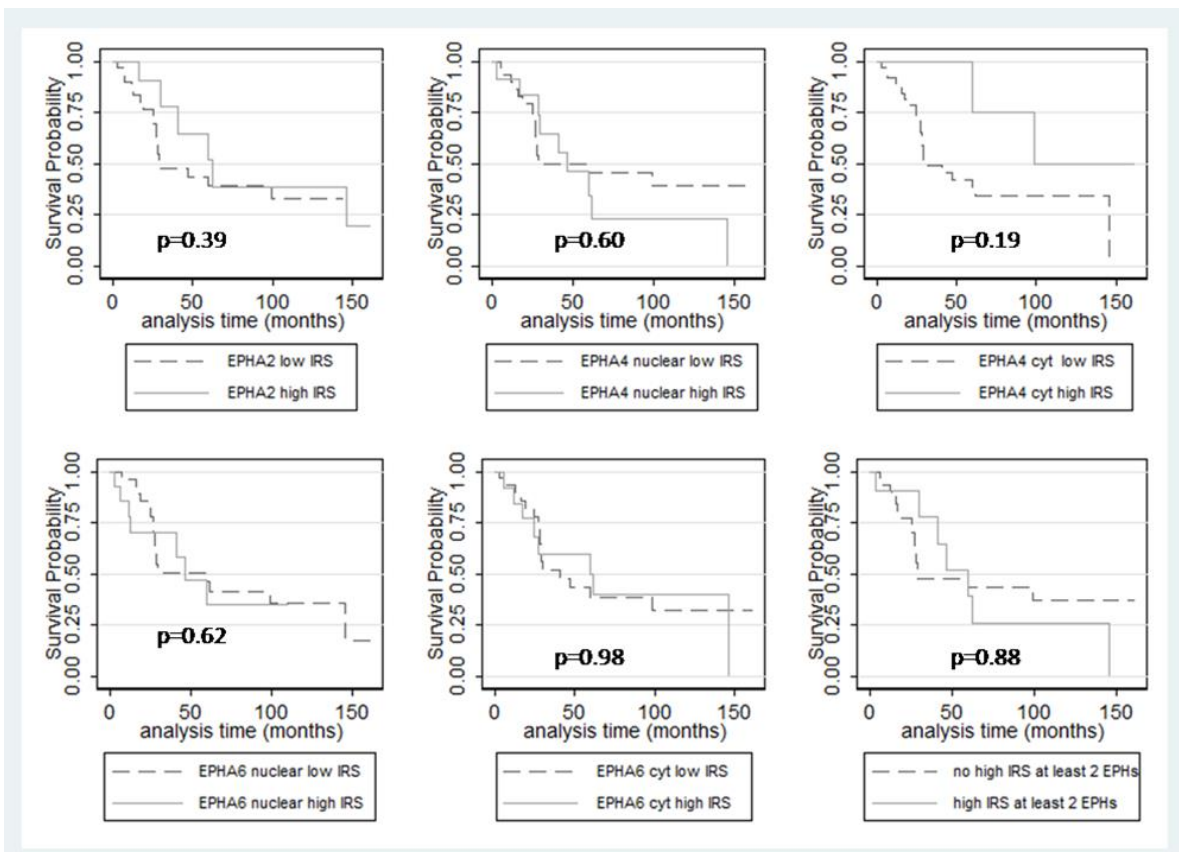


**Εικόνα 5.** Συσχέτιση των επιπέδων έκφρασης των EPHA2, EPHA4 και EPHA6 με το πάχος των όγκων.

## 6. ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ

Στην μονοπαραγοντική ανάλυση, η μονοσωμία 3 (long-rank test,  $p=0,03$ ), το κέρδος του 8q (long-rank test,  $p=0,04$ ) και η παρουσία μετάστασης (long-rank test,  $p<0,01$ ) εμφάνισαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με δυσμενή πρόγνωση και συγκεκριμένα με μειωμένη ολική επιβίωση των ασθενών (overall survival, OS). Επιπροσθέτως, η αυξημένη ηλικία (long-rank test,  $p=0,06$ ), η διήθηση του σκληρού χιτώνα (long-rank test,  $p=0,06$ ), η επέκταση πέραν του σκληρού χιτώνα (long-rank test,  $p=0,08$ ) και το πιο προχωρημένο στάδιο T, κατά AJCC (T2 έναντι T3 έναντι T4, long-rank test,  $p=0,06$ ) έδειξαν οριακά σημαντικές συσχετίσεις με δυσμενή έκβαση των αντίστοιχων ασθενών. Αναφορικά με την έκφραση των EPHA2, EPHA4 και EPHA6, αυτή δεν φάνηκε να επηρεάζει την επιβίωση των ασθενών (Πίνακας 6, Εικόνα 6). Επιπλέον, ούτε η παρουσία ταυτόχρονης διπλής ή τριπλής υπερέκφρασης των υπό μελέτη EPH συσχετίστηκε επίσης με την ολική επιβίωση (long-rank test,  $p>0,10$ ).

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση της επιβίωσης προσαρμόσαμε ένα μοντέλο αναλογικού κινδύνου κατά COX με την χρήση του IRS του EPHA2 και του κυρίαρχου προτύπου έκφρασης των EPHA4 και EPHA6, δηλαδή του πυρηνικού, καθώς και των παραμέτρων (παρουσία μετάστασης και μονοσωμίας 3), οι οποία έδειξαν στατιστική σημαντικότητα σημαντικά κατά τη μονοπαραγοντική ανάλυση. Το κέρδος του 8η αποκλείστηκε από αυτήν την ανάλυση λόγω του μικρού αριθμού των περιστατικών για τα οποία υπήρχε αυτή η πληροφορία στη μελέτη μας. Σε αυτό το μοντέλο, το υψηλό IRS του EPHA4 ( $HR=7,8$ ,  $p=0,02$ ) συσχετίστηκε με βράχυνση της ολικής επιβίωσης και με την παρουσία μετάστασης ( $HR=30,1$ ,  $p<0,001$ ) και μονοσωμίας 3 ( $HR=7,3$ ,  $p=0,02$ ). Επιπροσθέτως, προσαρμόσαμε ένα μοντέλο με την χρήση μιας παραμέτρου που αντιπροσωπεύει την ταυτόχρονη παρουσία υψηλού IRS σε τουλάχιστον δύο από τους υπό διερεύνηση EPH και την παρουσία μετάστασης και μονοσωμίας 3. Σε αυτό το μοντέλο, η ταυτόχρονη υπερέκφραση τουλάχιστον δύο EPH ( $HR=14,7$ ,  $p=0,03$ ) όπως και η παρουσία μετάστασης ( $HR=41,9$ ,  $p=0,02$ ) αποδείχτηκε πως είναι ανεξάρτητοι δυσμενείς προγνωστικοί δείκτες,



**Εικόνα 6.** Καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier, με βάση τα επίπεδα έκφρασης των EPHA2, EPHA4, EPHA6.

**Πίνακας 6.** Συσχέτιση κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων με την επιβίωση των ασθενών (μονοπαραγοντική ανάλυση).

<b>Παράμετρος</b>	<b>p-value</b>
Ηλικία (<66.5 vs ≥66.5 έτη)	0.06
Αριθμός μιτώσεων ανά 40 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας (παρουσία vs απουσία)	0.60
Πάχος όγκου (<12 vs ≥12 χιλ)	0.49
Μέγιστη διάμετρος (<16 vs ≥16 χιλ)	0.94
Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς (όχι vs ναι)	0.37
Αιμμοραγία υαλοειδούς σώματος (όχι vs ναι)	0.98
Διήθηση σκληρού χιτώνα (όχι vs ναι)	0.06
Extrascлера involvement (όχι vs ναι)	0.08
Ιστολογικός τύπος (επιθηλιοειδής vs μικτός vs ατρακτοκυτταρικός)	0.47
Απώλεια χρωμοσώματος 3 (όχι vs ναι)	<b>0.03</b>
Κέρδος 8q (όχι vs ναι)	<b>0.04</b>
Παρουσία μετάστασης (όχι vs ναι)	<b>&lt;0.001</b>
T-στάδιο (AJCC) (T2 vs T3 Vs T4)	0.06
Ephrin A2 IRS (χαμηλό vs υψηλό)	0.40
Ephrin A4 πυρηνικό IRS (χαμηλό vs υψηλό)	0.60
Ephrin A4 κυτταροπλασματικό IRS (χαμηλό vs υψηλό)	0.19
Ephrin A2 πυρηνικό IRS (χαμηλό vs υψηλό)	0.62
Ephrin A2 κυτταροπλασματικό IRS (χαμηλό vs υψηλό)	0.98
Ταυτόχρονα υψηλό IRS για τουλάχιστον δυο Ephs (όχι vs ναι)	0.88

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα οφθαλμικά μελανώματα αποτελούν σπάνιο τύπο κακοήθειας, ωστόσο η σε βάθος μελέτη της βιολογίας τους είναι καίριας σημασίας για την καλύτερη κατανόηση της δυσμενούς πρόγνωσης που συνήθως τα χαρακτηρίζει. Έτσι, τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον έχει στραφεί στην ανακάλυψη νέων βιοδεικτών, οι οποίοι θα συνεισφέρουν στην πρόωμη διάγνωση της νόσου, την έγκαιρη ανίχνευση μεταστάσεων, τον καθορισμό της πρόγνωσης, και ενδεχομένως θα αποτελέσουν μελλοντικά στόχους νεότερων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Σε μια πρόσφατη ενδελεχή ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, παρουσιάστηκαν οι τελευταίες εξελίξεις ως προς το μοριακό υπόβαθρο των οφθαλμικών μελανωμάτων, με ιδιαίτερη αναφορά σε μοριακές βλάβες, οι οποίες φαίνεται να έχουν σημαντική προβλεπτική/προγνωστική αξία. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η απώλεια της πυρηνικής χρώσης του BAP1, η οποία συσχετίστηκε με 8πλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης μεταστάσεων (Lamas et al., 2021). Μια πληθώρα άλλων μορίων, συνολικά άνω των 50, των οποίων η έκφραση φαίνεται να σχετίζεται με διαφορετικές κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και να επιδρά στην έκβαση των ασθενών, έχουν ήδη ταυτοποιηθεί (Gajdzis et al., 2021).

Οι EPH/εφρίνες έχουν αναδυθεί τα τελευταία χρόνια ως παράγοντες-κλειδιά στην διαδικασία της ογκογένεσης. Μια πληθώρα μελετών έχουν αποδείξει τη συμμετοχή τους στην καρκινογένεση, κι έχουν αναδείξει το διττό τους ρόλο ως ογκογόνοι ή ογκοκατασταλτικοί παράγοντες (Pergaris et al., 2021). Αντιστοίχως, αρκετές μελέτες έχουν εξετάσει την ανοσοϊστοχημική έκφραση των EPH σε μια ποικιλία κακοηθειών, με συχνά αντιφατικά αποτελέσματα, γεγονός που υπονοεί πως ο ρόλος της αυξημένης και/ή περιορισμένης έκφρασης των εφρινών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το γενικότερο βιολογικό υπόβαθρο στο οποίο λαμβάνει χώρα (Giaginis et al., 2014; Karidis et al., 2011; Masaoutis et al., 2021).

Οι διαθέσιμες πληροφορίες αναφορικά με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των EPH στα οφθαλμικά μελανώματα περιορίζονται σε μια πρόσφατη μελέτη η οποία εξέτασε την έκφραση τριών τύπου A υποδοχέων, δηλαδή των EPHA1, EPHA5 και EPHA7. και παρείχε ελπιδοφόρα αποτελέσματα σχετικά με τον ρόλο τους στο οφθαλμικό μελάνωμα (Gajdzis et al., 2020). Η πολυπλοκότητα ωστόσο του συστήματος EPH/εφρίνης σημαίνει ότι απαιτούνται ακόμα εκτενείς μελέτες τόσο για να καθορίσουν το ακριβές προφίλ έκφρασης των μορίων αυτών στη συγκεκριμένη σπάνια μορφή κακοήθειας, όσο και για να αποκρυπτογραφήσουν το ρόλο τους στη διαδικασία της ογκογένεσης .

Στην παρούσα μελέτη, στοχεύουμε στην διερεύνηση, για πρώτη φορά, της έκφρασης των δύο πιο συχνά εξετασθέντων EPH της οικογένειας A, δηλαδή των EPHA2 και EPHA4, και ενός από τους λιγότερο εξετασθέντες, δηλαδή του EPHA6. Σύμφωνα με τα ευρήματά μας, έκφραση EPHA2, EPHA4 και EPHA6 παρατηρήθηκε στην πλειοψηφία των περιστατικών που εξετάστηκαν (77%, 61% και 64% αντίστοιχα), με την EPHA2 να εμφανίζει τον υψηλότερο βαθμό θετικότητας. Η έκφραση EPHA2 στο μελάνωμα έχει ήδη καταγραφεί σε μελανοκυτταρικές κυτταρικές σειρές. Από την άλλη πλευρά, η ταυτόχρονη υπερέκφραση των EPHA2, EPHA4 και EPHA6 δεν αποτέλεσε συχνό φαινόμενο αφού η πλειονότητα των περιστατικών μας είχαν ταξινομηθεί στην ομάδα χαμηλής έκφρασης. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στην αναφερόμενη παραπάνω μελέτη της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των EPHA1, A5 και A7 στα οφθαλμικά μελανώματα (Lugli et al., 2005).

Ενδιαφέρον εμφανίζει το γεγονός πως η ανοσοϊστοχημική έκφραση EPHA2 συσχετίστηκε με το πάχος του όγκου και οριακά με την παρουσία μετάστασης, δύο παραμέτρους ενδεικτικούς επιθετικής βιολογικής συμπεριφοράς και δυσμενούς κλινικής πορείας. Η υψηλότερη έκφραση EPHA2 είχε προηγουμένως συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα μετάστασης σε διάφορους τύπους όγκων, όπως το μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (NSCLC) και το γαστρικό αδενοκαρκίνωμα (Yuan et al., 2009). Για παράδειγμα, επιμόλυνση των της κυτταρικής σειράς προστατικού αδενοκαρκινώματος PC3 με μια μεταλλαγμένη μορφή του γονιδίου *EPHA2*, η οποία χαρακτηρίζεται από ελαττωμένη δραστηριότητα κινάσης, οδήγησε σε μειωμένη ικανότητα των εν λόγω κυττάρων να μεθίστανται συγκριτικά με αυτά που έφεραν την wild-type μορφή του EPHA2 (Taddei et al., 2009). Επιπλέον, έχει αναφερθεί παλαιότερα, πως η επανέκφραση EPHA2 στα μελανοκύτταρα ποντικών ενεργοποιεί ένα διηθητικό φαινότυπο, μέσω αναδιαμόρφωσης του κυτταροσκελετού και ενεργοποίησης της κινητικότητάς τους (Udayakumar et al., 2011). Τέλος, τα αυξημένα επίπεδα EPHA2 έχουν συσχετιστεί με αυξημένο μέγεθος του όγκου σε γαστρικά αδενοκαρκινώματα και γλοιώματα (Hong et al., 2018; Suo et al., 2019).

Από την άλλη μεριά, η ανοσοϊστοχημική έκφραση EPHA6 στο οφθαλμικό μελάνωμα είχε συσχετιστεί με μεγαλύτερη ηλικία και απουσία αποκόλλησης αμφιβληστροειδούς. Πληροφορίες σχετικά με την έκφραση και τον ρόλο του EPHA6 στους όγκους περιορίζονται σε λίγες μελέτες, που αφορούν σε καρκινώματα μαστού, σε επιθηλιακούς όγκους του θύμου αδένου και στον καρκίνο του προστάτη (Masaoutis et al., 2021; Pergaris et al., 2021; Zhou et al., 2018). Παρότι οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους μπορεί ο EPHA6 προάγει την καρκινογένεση δεν έχουν ακόμα αποσαφηνιστεί, φαίνεται ότι εν μέρει σχετίζονται με την ικανότητά του να προάγει την αγγειογένεση στο μικροπεριβάλλον των όγκων.



Τέλος, η ανοσοϊστοχημική έκφραση του ERHA4 δεν έδειξε στην μελέτη μας σημαντική συσχέτιση με οποιαδήποτε από τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους που εξετάστηκαν, ήταν ωστόσο ο μοναδικός υποδοχέας EPH ο οποίος στην πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης φάνηκε σε σχετίζεται με ελαττωμένη ολική επιβίωση. Γενικά, αυξημένα επίπεδα έκφρασης ERHA4 έχουν συσχετιστεί με δυσμενή πρόγνωση σε λίγους τύπους όγκων, όπως στα γαστρικά αδενοκαρκινώματα, ενώ η χαμηλή έκφραση ERHA4 στα παγκρεατικά αδενοκαρκινώματα έχει συσχετιστεί με μειωμένο πολλαπλασιασμό των νεοπλασματικών κυττάρων (Miyazaki et al., 2013; Pergaris et al., 2021). Επιπλέον, τα επίπεδα του ERHA4 φαίνεται να συνδέονται με την ανάπτυξη ανοτοχής στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία, σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου (Lin et al., 2017).

Ενδιαφέρον επίσης έχει το γεγονός ότι η παρουσία ενός μέλους του συστήματος EPH/εφρίνης μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετικά ή ακόμα και αντίθετα αποτελέσματα, ανάλογα με την εντόπιση του. Στην μελέτη μας, η πυρηνική εντόπιση του ERHA4 συσχετίστηκε με φτωχότερη πρόγνωση, ενώ η κυτταροπλασματική χρώση της ίδιας πρωτεΐνης έδειξε μια τάση προς καλύτερη έκβαση ασθενών. Παρόμοια ευρήματα προέκυψαν από την ανοσοϊστοχημική μελέτη της έκφρασης του ERHB2 σε δείγματα καρκίνου του μαστού. Στην εν λόγω μελέτη παρατήρηθηκαν αντίστροφα αποτελέσματα ως προς τη συσχέτιση μεταξύ μεμβρανικής και κυτταροπλασματικής χρώσης ERHB2 και την πρόγνωση των ασθενών. Συγκεκριμένα, η μεμβρανική θετικότητα συσχετίστηκε με αυξημένη, ενώ η κυτταροπλασματική με βραχύτερη ολική επιβίωση (Husa et al., 2016).

Ένα σημαντικό εύρημα που αναδύθηκε από την παρούσα διερεύνηση είναι το γεγονός πως η ταυτόχρονη υπερέκφραση τουλάχιστον δύο από τους εξεταζόμενους EPH συσχετίστηκε με μειωμένη ολική επιβίωση και παρέμεινε ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας σε πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης, μαζί με την παρουσία μετάστασης. Αυτό το εύρημα είναι συμβατό με ήδη υπάρχοντα δεδομένα, σύμφωνα με τα οποία η συνδυασμένη έκφραση διαφόρων EPH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διάκριση μεταξύ διαφόρων σταδίων του καρκινώματος του πνεύμονα (Giaginis et al., 2014).

Αναφορικά με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά των ασθενών που μελετήθηκαν, τα αποτελέσματα της ανάλυσης επιβίωσης επιβεβαίωσαν την προγνωστική αξία ορισμένων παραμέτρων, όπως η παρουσία μετάστασης, η μονοσωμία 3 και το κέρδος του 8q, ενισχύοντας την εγκυρότητα της στατιστικής ανάλυσης και δηλώνοντας πως η μελέτη μας, αν και σχετικά μικρή, είναι αντιπροσωπευτική.

Προκειμένου να συσχετίσουμε τα ευρήματά μας με προϋπάρχοντα δεδομένα, πραγματοποιήσαμε έρευνα στη βάση δεδομένων cBioportal, διερευνώντας την έκφραση των

τριών γονιδίων που περιλαμβάνονται στην μελέτη μας (EPHA2, EPHA4 και EPHA6). Ενδιαφέρον είναι ότι δεν παρατηρήθηκε τροποποίηση, είτε αύξηση είτε μείωση των επιπέδων mRNA των τριών γονιδίων, ούτε και στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με τις υπό μελέτη κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους. Επιπροσθέτως, καμία από τις εξεταζόμενες περιπτώσεις δεν εμφάνισε μεταλλάξεις σε αυτά τα γονίδια.

Τα μέχρι τώρα ευρήματα από τη μελέτη διαφορετικών νεοπλασμάτων συνηγορούν υπέρ μιας ετερογένειας που χαρακτηρίζει το ρόλο των EPH στα πλαίσια της καρκινογένεσης σε διαφορετικούς ιστούς. Έτσι, φαίνεται ότι αυτός μπορεί, ανάλογα με το ιστικό-κυτταρικό και βιολογικό υπόβαθρο να είναι είτε ογκογόνος, είτε ογκοκατασταλτικός. Η κατεύθυνση προς την οποία κλίνει τελικά η λειτουργία των εφρινών στα πλαίσια της ανάπτυξης και της εξέλιξης ενός όγκου φαίνεται να αποτελεί άμεση συνέπεια των διακριτών συνδυασμών προσδετών και υποδοχέων που εκφράζονται στα αντίστοιχα κύτταρα και το μικροπεριβάλλον του όγκου (Agora et al., 2023; Pergaris et al., 2021). Καθοριστικός φαίνεται ότι είναι ο ρόλος της υπερέκφρασης των EPH για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών βλαστοκυττάρων, ενός πληθυσμού νεοπλασματικών κυττάρων, ο οποίος έχει ταυτοποιηθεί σε πολλά διαφορετικά νεοπλάσματα και θεωρείται, τουλάχιστον εν μέρει, υπεύθυνος για την αντίσταση στη θεραπεία και την αυξημένη ικανότητα ενεργοποίησης της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής και κατ'επέκταση για το αυξημένο μεταστατικό δυναμικό των κυττάρων (Anderton et al., 2021). Ωστόσο, επειδή όλα τα προαναφερόμενα αποτελέσματα και κλινικοπαθολογοανατομικές συσχετίσεις προέρχονται από μια μοναδική μελέτη, θεωρείται απαραίτητο να επιβεβαιωθούν από περαιτέρω έρευνες, προκειμένου να διαλευκανθεί πλήρως ο ρόλος των EPH στην παθογένεια των οφθαλμικών μελανωμάτων.

Τα τελευταία χρόνια, ο ογκογόνος ή ογκοκατασταλτικός ρόλος των διαφόρων μελών του συστήματος EPH/εφρίνης, τους καθιστά πιθανούς στόχους θεραπευτικών παρεμβάσεων. Πολλές διαφορετικές προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί σε αυτή τη προσπάθεια, όπως η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, συνθετικών πεπτιδίων που αναστέλλουν τη δραστηριότητα κινάσης του υποδοχέα, μικροί αναστολείς πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, ή ακόμα και μόρια siRNA (Saha et al., 2018). Ορισμένες από αυτές τις στρατηγικές, ιδιαίτερα αυτές που βασίζονται σε μονοκλωνικά αντισώματα, έχουν οδηγήσει σε πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα, τόσο σε συμπαγείς όγκους, όσο και σε αιματολογικές κακοήθειες (Kanani & Klein, 2016). Η μελέτη μας, μαζί με την προηγηθείσα έρευνα των EPHA1, A5 και EPHA7 παρέχουν τις πρώτες σαφείς ενδείξεις αναφορικά με το ρόλο του συστήματος EPH/εφρίνης στο οφθαλμικό μελάνωμα (Gajdzis et al., 2020). Είναι ωστόσο εμφανές πως η διερεύνηση του ακριβούς ρόλου του κάθε μέλους της ευρύτερης οικογένειας υποδοχέων και προσδετών

είναι απαραίτητη προκειμένου να χρησιμοποιηθούν πιο αποτελεσματικά ως μελλοντικοί στόχοι θεραπευτικών παρεμβάσεων.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Abdel-Rahman, M. H., Pilarski, R., Ezzat, S., Sexton, J., & Davidorf, F. H. (2010). Cancer family history characterization in an unselected cohort of 121 patients with uveal melanoma. *Familial Cancer*, 9(3), 431–438. <https://doi.org/10.1007/S10689-010-9328-7/METRICS>
- Ambrosini, G., Sawle, A. D., Musi, E., & Schwartz, G. K. (2015). BRD4-targeted therapy induces Myc-independent cytotoxicity in Gnaq/11-mutant uveal melanoma cells. *Oncotarget*, 6(32), 33397. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.5179>
- Amin, M. B., Frederick, J., Greene, L., Edge, S. B., Compton, C. C., Gershenwald, J. E., Brookland, R. K., Meyer, L., Gress, D. M., David, P., Byrd, R., & Winchester, P. (2017). The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 67(2), 93–99. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21388>
- Anastassiou, G., Rebmann, V., Wagner, S., Bornfeld, N., & Grosse-Wilde, H. (2003). Expression of Classic and Nonclassic HLA Class I Antigens in Uveal Melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44(5), 2016–2019. <https://doi.org/10.1167/IOVS.02-0810>
- Anderton, M., Van Der Meulen, E., Blumenthal, M. J., & Schäfer, G. (2021). *cancers The Role of the Eph Receptor Family in Tumorigenesis*. <https://doi.org/10.3390/cancers13020206>
- Andreoli, M. T., Mieler, W. F., & Leiderman, Y. I. (2015). *Epidemiological trends in uveal melanoma*. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol>
- Aronow, M. E., Topham, A. K., & Singh, A. D. (2018). Uveal Melanoma: 5-Year Update on Incidence, Treatment, and Survival (SEER 1973-2013). *Ocular Oncology and Pathology*, 4(3), 145–151. <https://doi.org/10.1159/000480640>
- Arora, S., Scott, A. M., & Janes, P. W. (2023). Eph Receptors in Cancer. In *Biomedicines* (Vol. 11, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020315>
- Arvanitis, D., & Davy, A. (2008). Eph/ephrin signaling: networks. *Genes & Development*, 22(4), 416. <https://doi.org/10.1101/GAD.1630408>
- Basch, M. L., Bronner-Fraser, M., & García-Castro, M. I. (2006). Specification of the neural crest occurs during gastrulation and requires Pax7. *Nature* 2006 441:7090, 441(7090), 218–222. <https://doi.org/10.1038/nature04684>

- Battle, E., Bacani, J., Begthel, H., Jonkeer, S., Gregorieff, A., Van De Born, M., Malats, N., Sancho, E., Boon, E., Pawson, T., Gallinger, S., Pals, S., & Clevers, H. (2005). EphB receptor activity suppresses colorectal cancer progression. *Nature* 2005 435:7045, 435(7045), 1126–1130. <https://doi.org/10.1038/nature03626>
- Bechrakis, N. E., & Foerster, M. H. (2006). Neoadjuvant proton beam radiotherapy combined with subsequent endoresection of choroidal melanomas. *International Ophthalmology Clinics*, 46(1), 95–107. <https://doi.org/10.1097/01.IIO.0000195856.31324.00>
- Beenakker, J. W. M., Ferreira, T. A., Soemarwoto, K. P., Genders, S. W., Teeuwisse, W. M., Webb, A. G., & Luyten, G. P. M. (2016). Clinical evaluation of ultra-high-field MRI for three-dimensional visualisation of tumour size in uveal melanoma patients, with direct relevance to treatment planning. *Magma (New York, N.y.)*, 29(3), 571. <https://doi.org/10.1007/S10334-016-0529-4>
- Bertolotto, C., Abbe, P., Hemesath, T. J., Bille, K., Fisher, D. E., Ortonne, J. P., & Ballotti, R. (1998). Microphthalmia Gene Product as a Signal Transducer in cAMP-Induced Differentiation of Melanocytes. *The Journal of Cell Biology*, 142(3), 827. <https://doi.org/10.1083/JCB.142.3.827>
- Bianciotto, C., Shields, C. L., Guzman, J. M., Romanelli-Gobbi, M., Mazzuca, D., Green, W. R., & Shields, J. A. (2011). Assessment of anterior segment tumors with ultrasound biomicroscopy versus anterior segment optical coherence tomography in 200 cases. *Ophthalmology*, 118(7), 1297–1302. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.11.011>
- Blom, D.-J. R., Luyten, G. P. M., Mooy, C., Kerkvliet, S., Zwinderman, A. H., & Jager, M. (1997). Human leukocyte antigen class I expression. Marker of poor prognosis in uveal melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 38(9), 1865–1872.
- Bononi, A., Giorgi, C., Patergnani, S., Larson, D., Verbruggen, K., Tanji, M., Pellegrini, L., Signorato, V., Olivetto, F., Pastorino, S., Nasu, M., Napolitano, A., Gaudino, G., Morris, P., Sakamoto, G., Ferris, L. K., Danese, A., Raimondi, A., Tacchetti, C., ... Carbone, M. (2017). BAP1 regulates IP3R3-mediated Ca<sup>2+</sup> flux to mitochondria suppressing cell transformation. *Nature*, 546(7659), 549. <https://doi.org/10.1038/NATURE22798>
- Borská, L., Fiala, Z., Smejkalová, J., & Tejral, J. (2003). Health risk of occupational exposure in welding processes I. Genotoxic risk. *Acta Medica (Hradec Králové) / Universitas Carolina, Facultas Medica Hradec Králové*, 46(1), 25–29. <https://doi.org/10.14712/18059694.2019.5>
- Branisteanu, D., Bogdanici, C., Branisteanu, D., Maranduca, M., Zemba, M., Balta, F., Branisteanu, C., & Moraru, A. (2021). Uveal melanoma diagnosis and current

- treatment options (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(6).  
<https://doi.org/10.3892/etm.2021.10863>
- Brantley-Sieders, D. M., Fang, W. Bin, Hicks, D. J., Zhuang, G., Shyr, Y., & Chen, J. (2005). Impaired tumor microenvironment in EphA2-deficient mice inhibits tumor angiogenesis and metastatic progression. *The FASEB Journal*, 19(13), 1884–1886.  
<https://doi.org/10.1096/FJ.05-4038FJE>
- Brantley-Sieders, D. M., Fang, W. Bin, Hwang, Y., Hicks, D., & Chen, J. (2006). Ephrin-A1 Facilitates Mammary Tumor Metastasis through an Angiogenesis-Dependent Mechanism Mediated by EphA Receptor and Vascular Endothelial Growth Factor in Mice. *Cancer Research*, 66(21), 10315–10324.  
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-1560>
- Brantley-Sieders, D. M., Zhuang, G., Hicks, D., Wei, B. F., Hwang, Y., Cates, J. M. M., Coffman, K., Jackson, D., Bruckheimer, E., Muraoka-Cook, R. S., & Chen, J. (2008). The receptor tyrosine kinase EphA2 promotes mammary adenocarcinoma tumorigenesis and metastatic progression in mice by amplifying ErbB2 signaling. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(1), 64.  
<https://doi.org/10.1172/JCI33154>
- Bronkhorst, I. H. G., Khanh Vu, T. H., Jordanova, E. S., Luyten, G. P. M., van der Burg, S. H., & Jager, M. J. (2012). Different Subsets of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Correlate with Macrophage Influx and Monosomy 3 in Uveal Melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(9), 5370–5378.  
<https://doi.org/10.1167/IOVS.11-9280>
- Bronkhorst, I. H. G., Ly, L. V., Jordanova, E. S., Vrolijk, J., Versluis, M., Luyten, G. P. M., & Jager, M. J. (2011). Detection of M2-macrophages in uveal melanoma and relation with survival. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 52(2), 643–650. <https://doi.org/10.1167/iov.10-5979>
- Carbone, M., Yang, H., Pass, H. I., Krausz, T., Testa, J. R., & Gaudino, G. (2013). BAP1 and Cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 13(3), 153.  
<https://doi.org/10.1038/NRC3459>
- Carlring, J., Shaif-Muthana, M., Sisley, K., Rennie, I. G., & Murray, A. K. (2003). Apoptotic cell death in conjunction with CD80 costimulation confers uveal melanoma cells with the ability to induce immune responses. *Immunology*, 109(1), 41. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2567.2003.01632.X>
- Carvajal, R. D., Piperno-Neumann, S., Kapiteijn, E., Chapman, P. B., Frank, S., Joshua, A. M., Piulats, J. M., Wolter, P., Cocquyt, V., Chmielowski, B., Evans, T. R. J., Gastaud, L., Linette, G., Berking, C., Schachter, J., Rodrigues, M. J., Shoushtari, A. N., Clemett, D., Ghiorghiu, D., ... Nathan, P. (2018). Selumetinib in combination with dacarbazine in patients with metastatic uveal melanoma: A

- Phase III, Multicenter, Randomized Trial (SUMIT). *Journal of Clinical Oncology*, 36(12), 1232–1239. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.1090>
- Carvajal, R. D., Sosman, J. A., Quevedo, J. F., Milhem, M. M., Joshua, A. M., Kudchadkar, R. R., Linette, G. P., Gajewski, T. F., Lutzky, J., Lawson, D. H., Lao, C. D., Flynn, P. J., Albertini, M. R., Sato, T., Lewis, K., Doyle, A., Ancell, K., Panageas, K. S., Bluth, M., ... Schwartz, G. K. (2014). Effect of Selumetinib versus Chemotherapy on Progression-Free Survival in Uveal Melanoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 311(23), 2397. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2014.6096>
- Cassoux, N., Rodrigues, M. J., Plancher, C., Asselain, B., Levy-Gabriel, C., Lumbroso-Le Rouic, L., Piperno-Neumann, S., Dendale, R., Sastre, X., Desjardins, L., & Couturier, J. (2014). Genome-wide profiling is a clinically relevant and affordable prognostic test in posterior uveal melanoma. *British Journal of Ophthalmology*, 98(6), 769–774. <https://doi.org/10.1136/BJOPHTHALMOL-2013-303867>
- Chen, J., Song, W., & Amato, K. (2015). Eph Receptor Tyrosine Kinases in Cancer Stem Cells. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 26(1), 1. <https://doi.org/10.1016/J.CYTOGFR.2014.05.001>
- Chen, P. W., Mellon, J. K., Mayhew, E., Wang, S., He, Y. G., Hogan, N., & Niederkorn, J. Y. (2007). Uveal Melanoma Expression of Indoleamine 2, 3 Deoxygenase: Establishment of an Immune Privileged Environment by Tryptophan Depletion. *Experimental Eye Research*, 85(5), 617. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2007.07.014>
- Cioce, M., & Fazio, V. M. (2021). EphA2 and EGFR: Friends in Life, Partners in Crime. Can EphA2 Be a Predictive Biomarker of Response to Anti-EGFR Agents? *Cancers*, 13(4), 1–23. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13040700>
- Coleman, D. J., Silverman, R. H., Chabi, A., Rondeau, M. J., Shung, K. K., Cannata, J., & Lincoff, H. (2004). High-resolution ultrasonic imaging of the posterior segment. *Ophthalmology*, 111(7), 1344–1351. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2003.10.029>
- Colli, L. M., Machiela, M. J., Myers, T. A., Jessop, L., Yu, K., & Chanock, S. J. (2016). Burden of non-synonymous mutations among TCGA cancers and candidate immune checkpoint inhibitor responses. *Cancer Research*, 76(13), 3767. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-0170>
- Cortina, C., Palomo-Ponce, S., Iglesias, M., Fernández-Masip, J. L., Vivancos, A., Whissell, G., Humà, M., Peiró, N., Gallego, L., Jonkheer, S., Davy, A., Lloreta, J., Sancho, E., & Batlle, E. (2007). EphB–ephrin-B interactions suppress colorectal cancer progression by compartmentalizing tumor cells. *Nature Genetics* 2007 39:11, 39(11), 1376–1383. <https://doi.org/10.1038/ng.2007.11>

- Damato, B. (2006). The role of eyewall resection in uveal melanoma management. *International Ophthalmology Clinics*, 46(1), 81–93. <https://doi.org/10.1097/01.IIO.0000195862.71558.C8>
- Damato, B., Dopierala, J. A., & Coupland, S. E. (2010). Genotypic profiling of 452 choroidal melanomas with multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clinical Cancer Research*, 16(24), 6083–6092. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2076/83698/AM/GENOTYPIC-PROFILING-OF-452-CHOROIDAL-MELANOMAS>
- Damato, B. E. (1992). Tumour fluorescence and tumour-associated fluorescence of choroidal melanomas. *Eye* 1992 6:6, 6(6), 587–593. <https://doi.org/10.1038/eye.1992.127>
- Damato, B. E., & Foulds, W. S. (1990). Tumour-associated retinal pigment epitheliopathy. *Eye* 1990 4:2, 4(2), 382–387. <https://doi.org/10.1038/eye.1990.51>
- Damato, E. M., & Damato, B. E. (2012). Detection and time to treatment of uveal melanoma in the United Kingdom: An evaluation of 2384 patients. *Ophthalmology*, 119(8), 1582–1589. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.01.048>
- Darman, R. B., Seiler, M., Agrawal, A. A., Lim, K. H., Peng, S., Aird, D., Bailey, S. L., Bhavsar, E. B., Chan, B., Colla, S., Corson, L., Feala, J., Fekkes, P., Ichikawa, K., Keaney, G. F., Lee, L., Kumar, P., Kunii, K., MacKenzie, C., ... Buonamici, S. (2015). Cancer-Associated SF3B1 Hotspot Mutations Induce Cryptic 3' Splice Site Selection through Use of a Different Branch Point. *Cell Reports*, 13(5), 1033–1045. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.053>
- Davy, A., Bush, J. O., & Soriano, P. (2006). Inhibition of Gap Junction Communication at Ectopic Eph/ephrin Boundaries Underlies Craniofrontonasal Syndrome. *PLoS Biology*, 4(10), 1763–1776. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.0040315>
- De Vries, T. J., Trančíkova, D., Ruiter, D. J., & Van Muijen, G. N. P. (1998). High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*, 78(9), 1156. <https://doi.org/10.1038/BJC.1998.646>
- Delamere, N. A. (2005). Ciliary Body and Ciliary Epithelium. In *Advances in Organ Biology* (Vol. 10, pp. 127–148). [https://doi.org/10.1016/S1569-2590\(05\)10005-6](https://doi.org/10.1016/S1569-2590(05)10005-6)
- Di Cesare, S., Maloney, S., Fernandes, B. F., Martins, C., Marshall, J. C., Anteck, E., Odashiro, A. N., Dawson, W. W., & Burnier, M. N. (2009). The effect of blue light exposure in an ocular melanoma animal model. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 28(1). <https://doi.org/10.1186/1756-9966-28-48>



- Diaz, C. E., Rusciano, D., Dithmar, S., & Grossniklaus, H. E. (1999). B16LS9 melanoma cells spread to the liver from the murine ocular posterior compartment (PC). *Current Eye Research*, *18*(2), 125–129. <https://doi.org/10.1076/CEYR.18.2.125.5380>
- Ding, L., Shen, Y., Ni, J., Ou, Y., Ou, Y., & Liu, H. (2017). EphA4 promotes cell proliferation and cell adhesion–mediated drug resistance via the AKT pathway in multiple myeloma. *Tumor Biology*, *39*(3). [https://doi.org/10.1177/1010428317694298/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177\\_1010428317694298-FIG5.JPEG](https://doi.org/10.1177/1010428317694298/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1010428317694298-FIG5.JPEG)
- Dithmar, S., Rusciano, D., Armstrong, C. A., Lynn, M. J., & Grossniklaus, H. E. (1999). Depletion of NK cell activity results in growth of hepatic micrometastases in a murine ocular melanoma model. *Current Eye Research*, *19*(5), 426–431. <https://doi.org/10.1076/CEYR.19.5.426.5294>
- Dogrusöz, M., Bagger, M., Van Duinen, S. G., Kroes, W. G., Ruivenkamp, C. A. L., Böhringer, S., Andersen, K. K., Luyten, G. P. M., Kiilgaard, J. F., & Jager, M. J. (2017). The Prognostic Value of AJCC Staging in Uveal Melanoma Is Enhanced by Adding Chromosome 3 and 8q Status. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *58*(2), 833–842. <https://doi.org/10.1167/IOVS.16-20212>
- Dogrusöz, M., & Jager, M. J. (2018). Genetic prognostication in uveal melanoma. *Acta Ophthalmologica*, *96*(4), 331–347. <https://doi.org/10.1111/AOS.13580>
- Dogrusöz, M., Jager, M. J., & Damato, B. (2017). Uveal melanoma treatment and prognostication. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*, *6*(2), 186–196. <https://doi.org/10.22608/APO.201734>
- Dopeso, H., Mateo-Lozano, S., Mazzolini, R., Rodrigues, P., Lagares-Tena, L., Ceron, J., Romero, J., Esteves, M., Landolfi, S., Hernández-Losa, J., Castaño, J., Wilson, A. J., Ramon Y Cajal, S., Mariadason, J. M., Schwartz, S., & Arango, D. (2009). The receptor tyrosine kinase EPHB4 has tumor suppressor activities in intestinal tumorigenesis. *Cancer Research*, *69*(18), 7430–7438. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-0706/655231/P/THE-RECEPTOR-TYROSINE-KINASE-EPHB4-HAS-TUMOR>
- Duband, J. L. (2010). Diversity in the molecular and cellular strategies of epithelium-to-mesenchyme transitions: Insights from the neural crest. *Cell Adhesion & Migration*, *4*(3), 458. <https://doi.org/10.4161/CAM.4.3.12501>
- Durante, M. A., Rodriguez, D. A., Kurtenbach, S., Kuznetsov, J. N., Sanchez, M. I., Decatur, C. L., Snyder, H., Feun, L. G., Livingstone, A. S., & Harbour, J. W. (2020). Single-cell analysis reveals new evolutionary complexity in uveal melanoma. *Nature Communications*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-019-14256-1>

- Egan, K. M., Seddon, J. M., Glynn, R. J. D., Gragoudas, E. S., & Albert, D. M. (1988). MAJOR REVIEW Epidemiologic Aspects of Uveal Melanoma. In *SURVEY OF OPHTHALMOLOGY* (Vol. 32).
- Ehlers, J. P., Worley, L., Onken, M. D., & Harbour, J. W. (2008). Integrative Genomic Analysis of Aneuploidy in Uveal Melanoma. *Clinical Cancer Research*, *14*(1), 115–122. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1825>
- Ewens, K. G., Kanetsky, P. A., Richards-Yutz, J., Al-Dahmash, S., de Luca, M. C., Bianciotto, C. G., Shields, C. L., & Ganguly, A. (2013). Genomic Profile of 320 Uveal Melanoma Cases: Chromosome 8p-Loss and Metastatic Outcome. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *54*(8), 5721–5729. <https://doi.org/10.1167/IOVS.13-12195>
- Fallico, M., Raciti, G., Longo, A., Reibaldi, M., Bonfiglio, V., Russo, A., Caltabiano, R., Gattuso, G., Falzone, L., & Avitabile, T. (2021). Current molecular and clinical insights into uveal melanoma (Review). *International Journal of Oncology*, *58*(4). <https://doi.org/10.3892/IJO.2021.5190>
- Feng, X., Arang, N., Rigracciolo, D. C., Lee, J. S., Yeerna, H., Wang, Z., Lubrano, S., Kishore, A., Pachter, J. A., König, G. M., Maggolini, M., Kostenis, E., Schlaepfer, D. D., Tamayo, P., Chen, Q., Ruppin, E., & Gutkind, J. S. (2019). A Platform of Synthetic Lethal Gene Interaction Networks Reveals that the GNAQ Uveal Melanoma Oncogene Controls the Hippo Pathway through FAK. *Cancer Cell*, *35*(3), 457. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2019.01.009>
- Furney, S. J., Pedersen, M., Gentien, D., Dumont, A. G., Rapinat, A., Desjardins, L., Turajlic, S., Piperno-Neumann, S., de la Grange, P., Roman-Roman, S., Stern, M. H., & Marais, R. (2013). SF3B1 mutations are associated with alternative splicing in uveal melanoma. *Cancer Discovery*, *3*(10), 1122. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-13-0330>
- Gajdzis, M., Kaczmarek, R., & Gajdzis, P. (2021). Novel Prognostic Immunohistochemical Markers in Uveal Melanoma-Literature Review. *Cancers*, *13*(16). <https://doi.org/10.3390/CANCERS13164031>
- Gajdzis, M., Theocharis, S., Gajdzis, P., Cassoux, N., Gardrat, S., Donizy, P., Klijanienko, J., & Kaczmarek, R. (2020). Ephrin Receptors (Eph): EphA1, EphA5, and EphA7 Expression in Uveal Melanoma—Associations with Clinical Parameters and Patient Survival. *Life*, *10*(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/LIFE10100225>
- Gallenga, C. E., Franco, E., Adamo, G. G., Violanti, S. S., Tassinari, P., Tognon, M., & Perri, P. (2022). Genetic Basis and Molecular Mechanisms of Uveal Melanoma Metastasis: A Focus on Prognosis. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.828112>

- Gandini, S., Sera, F., Cattaruzza, M. S., Pasquini, P., Abeni, D., Boyle, P., & Melchi, C. F. (2005). Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *European Journal of Cancer*, *41*(1), 28–44. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2004.10.015>
- Garcia-Lora, A., Algarra, I., & Garrido, F. (2003). MHC class I antigens, immune surveillance, and tumor immune escape. *Journal of Cellular Physiology*, *195*(3), 346–355. <https://doi.org/10.1002/JCP.10290>
- Gezgin, G., Dogrusöz, M., van Essen, T. H., Kroes, W. G. M., Luyten, G. P. M., van der Velden, P. A., Walter, V., Verdijk, R. M., van Hall, T., van der Burg, S. H., & Jager, M. J. (2017). Genetic evolution of uveal melanoma guides the development of an inflammatory microenvironment. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, *66*(7), 903. <https://doi.org/10.1007/S00262-017-1991-1>
- Ghimire, S., Mantziou, V., Moris, N., & Martinez Arias, A. (2021). Human gastrulation: The embryo and its models. *Developmental Biology*, *474*, 100–108. <https://doi.org/10.1016/J.YDBIO.2021.01.006>
- Giaginis, C., Tsoukalas, N., Bournakis, E., Alexandrou, P., Kavantzas, N., Patsouris, E., & Theocharis, S. (2014). Ephrin (Eph) receptor A1, A4, A5 and A7 expression in human non-small cell lung carcinoma: associations with clinicopathological parameters, tumor proliferative capacity and patients' survival. *BMC Clinical Pathology*, *14*(1), 8. <https://doi.org/10.1186/1472-6890-14-8>
- Giaginis, C., Tsourouflis, G., Zizi-Serbetzoglou, A., Kouraklis, G., Chatzopoulou, E., Dimakopoulou, K., & Theocharis, S. E. (2010). Clinical Significance of Ephrin (Eph)-A1,-A2,-A4,-A5 and-A7 Receptors in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pathology oncology research: POR* vol. 16,2 (2010): 267-76. doi:10.1007/s12253-009-9221-6
- GueÅ nel, P., Laforest, L., Cyr, D., Ile FeÅ votte, J., Sabroe, S., cile Dufour, C., Lutz, J.-M., & Lynge, E. (2001). Occupational risk factors, ultraviolet radiation, and ocular melanoma: a case-control study in France. *Cancer causes & control: CCC* vol. 12,5 (2001): 451-9. doi:10.1023/a:1011271420974
- Guo, H., Miao, H., Gerber, L., Singh, J., Denning, M. F., Gilliam, A. C., & Wang, B. (2006). Disruption of EphA2 Receptor Tyrosine Kinase Leads to Increased Susceptibility to Carcinogenesis in Mouse Skin. *Cancer Research*, *66*(14), 7050–7058. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0004>
- Harbour, J. W., Brantley, M. A., & Hollingsworth, H. (2004). Association between posterior uveal melanoma and iris freckles, iris naevi, and choroidal naevi. *The British journal of ophthalmology* vol. 88,1 (2004): 36-8. doi:10.1136/bjo.88.1.36
- Harbour, J. W., Onken, M. D., Roberson, E. D. O., Duan, S., Cao, L., Worley, L. A., Council, M. L., Matatall, K. A., Helms, C., & Bowcock, A. M. (2010). Frequent

- mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science*, 330(6009), 1410–1413.  
[https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1194472/SUPPL\\_FILE/HARBOUR\\_SOM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1194472/SUPPL_FILE/HARBOUR_SOM.PDF)
- Harbour, J. W., Roberson, E. D. O., Anbunathan, H., Onken, M. D., Worley, L. A., & Bowcock, A. M. (2013). Recurrent mutations at codon 625 of the splicing factor SF3B1 in uveal melanoma. *Nature Genetics*, 45(2), 133.  
<https://doi.org/10.1038/NG.2523>
- Hawkins, B. S. (2011). Collaborative Ocular Melanoma Study randomized trial of I-125 brachytherapy. <Http://Dx.Doi.Org/10.1177/1740774511419684>, 8(5), 661–673. <https://doi.org/10.1177/1740774511419684>
- Hayreh, S. S. (2006). Orbital vascular anatomy. *Eye*, 20(10), 1130–1144.  
<https://doi.org/10.1038/sj.eye.6702377>
- Heavner, W., & Pevny, L. (2012). Eye development and retinogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(12).  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008391>
- Herath, N. I., Doecke, J., Spanevello, M. D., Leggett, B. A., & Boyd, A. W. (2009). Epigenetic silencing of EphA1 expression in colorectal cancer is correlated with poor survival. *British Journal of Cancer*, 100(7), 1095.  
<https://doi.org/10.1038/SJ.BJC.6604970>
- Waard-Siebinga, I., Van, J. L., Jager, D.-M. J., Hilders, C. G. J. M., & Hansen, B. E. (1996). HLA expression and tumor-infiltrating immune cells in uveal melanoma. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology* vol. 234,1 (1996): 34-42. doi:10.1007/BF00186516
- Himanen, J. P., Yermekbayeva, L., Janes, P. W., Walker, J. R., Xu, K., Atapattu, L., Rajashankar, K. R., Mensinga, A., Lackmann, M., Nikolov, D. B., & Dhe-Paganon, S. (2010). Architecture of Eph receptor clusters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(24), 10860–10865. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1004148107/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Hong, H. N., Won, Y. J., Shim, J. H., Kim, H. J., Han, S. H., Kim, B. S., & Kim, H. S. (2018). Cancer-associated fibroblasts promote gastric tumorigenesis through EphA2 activation in a ligand-independent manner. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 144(9), 1649–1663. <https://doi.org/10.1007/S00432-018-2683-8/METRICS>
- Hu, D. N., Yu, G. P., McCormick, S. A., Schneider, S., & Finger, P. T. (2005). Population-based incidence of uveal melanoma in various races and ethnic groups. *American Journal of Ophthalmology*, 140(4), 612.e1-612.e8.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajo.2005.05.034>

- Hu, D.-N. (2005). Photobiology of Ocular Melanocytes and Melanoma ¶. *Photochemistry and Photobiology*, 81(3), 506–509. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.2005.TB00217.X>
- Hu, D.-N., Savage, H. E., & Roberts, J. E. (2002). Uveal Melanocytes, Ocular Pigment Epithelium, and M ¨ uller Cells in Culture: In Vitro Toxicology. *International Journal of Toxicology*, 21:465–472. <https://doi.org/10.1080/1091581029016989>
- Hu, D.-N., Simon, J. D., & Sarna, T. (2008). Role of ocular melanin in ophthalmic physiology and pathology. *Photochemistry and photobiology vol. 84,3 (2008)*: 639-44. doi:10.1111/j.1751-1097.2008.00316.x
- Hughes, S., Damato, B. E., Giddings, I., Hiscott, P. S., Humphreys, J., & Houlston, R. S. (2005). Microarray comparative genomic hybridisation analysis of intraocular uveal melanomas identifies distinctive imbalances associated with loss of chromosome 3. *British Journal of Cancer 2005 93:10*, 93(10), 1191–1196. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602834>
- Husa, A. M., Magic, Ž., Larsson, M., Fornander, T., & Pérez-Tenorio, G. (2016). EPH/ephrin profile and EPHB2 expression predicts patient survival in breast cancer. *Oncotarget*, 7(16), 21362. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.7246>
- Inoue, D., Chew, G. L., Liu, B., Michel, B. C., Pangallo, J., D’Avino, A. R., Hitchman, T., North, K., Lee, S. C. W., Bitner, L., Block, A., Moore, A. R., Yoshimi, A., Escobar-Hoyos, L., Cho, H., Penson, A., Lu, S. X., Taylor, J., Chen, Y., ... Bradley, R. K. (2019). Spliceosomal disruption of the non-canonical BAF complex in cancer. *Nature*, 574(7778), 432. <https://doi.org/10.1038/S41586-019-1646-9>
- Jager, M. J., Hurks, H. M., Levitskaya, J., & Kiessling, R. (2002). HLA expression in uveal melanoma: there is no rule without some exception. *Human Immunology*, 63(6), 444–451. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(02\)00389-0](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(02)00389-0)
- Jager, M. J., Shields, C. L., Cebulla, C. M., Abdel-Rahman, M. H., Grossniklaus, H. E., Stern, M. H., Carvajal, R. D., Belfort, R. N., Jia, R., Shields, J. A., & Damato, B. E. (2020). Uveal melanoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0158-0>
- Janes, P. W., Slape, C. I., Farnsworth, R. H., Atapattu, L., Scott, A. M., & Vail, M. E. (2014). EphA3 biology and cancer. *Growth Factors*, 32(6), 176–189. <https://doi.org/10.3109/08977194.2014.982276>
- Janes, P. W., Vail, M. E., Ernst, M., & Scott, A. M. (2021). Eph receptors in the immunosuppressive tumor microenvironment. *Cancer Research*, 81(4), 801–805. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-3047/654322/AM/EPH-RECEPTORS-IN-THE-IMMUNE-SUPPRESSIVE-TUMOR>

- Johansson, P. A., Nathan, V., Bourke, L. M., Palmer, J. M., Zhang, T., Symmons, J., Howlie, M., Patch, A. M., Read, J., Holland, E. A., Schmid, H., Warriar, S., Glasson, W., Höiom, V., Wadt, K., Jönsson, G., Olsson, H., Ingvar, C., Mann, G., ... Pritchard, A. L. (2019). Evaluation of the contribution of germline variants in BRCA1 and BRCA2 to uveal and cutaneous melanoma. *Melanoma Research*, 29(5), 483–490. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000613>
- Johansson, P., Aoude, L. G., Wadt, K., Glasson, W. J., Warriar, S. K., Hewitt, A. W., Kiilgaard, J. F., Heegaard, S., Isaacs, T., Franchina, M., Ingvar, C., Vermeulen, T., Whitehead, K. J., Schmidt, C. W., Palmer, J. M., Symmons, J., Gerdes, A. M., Jönsson, G., & Hayward, N. K. (2016). Deep sequencing of uveal melanoma identifies a recurrent mutation in PLCB4. *Oncotarget*, 7(4), 4624. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.6614>
- Kaliki, S., & Shields, C. L. (2017). Uveal melanoma: relatively rare but deadly cancer. *Eye*, 31(2), 241. <https://doi.org/10.1038/EYE.2016.275>
- Kalluri, R., & Weinberg, R. A. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(6), 1420. <https://doi.org/10.1172/JCI39104>
- Kandouz, M. (2012). The Eph/Ephrin family in cancer metastasis: communication at the service of invasion. *Cancer and Metastasis Reviews* 2012 31:1, 31(1), 353–373. <https://doi.org/10.1007/S10555-012-9352-1>
- Kania, A., & Klein, R. (2016). Mechanisms of ephrin–Eph signalling in development, physiology and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2016 17:4, 17(4), 240–256. <https://doi.org/10.1038/nrm.2015.16>
- Karidis, N. P., Giaginis, C., Tsouroufis, G., Alexandrou, P., Delladetsima, I., & Theocharis, S. (2011). Eph-A2 and Eph-A4 expression in human benign and malignant thyroid lesions: An immunohistochemical study. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 17(9), BR257. <https://doi.org/10.12659/MSM.881929>
- Kawakami, A., & Fisher, D. E. (2017). The master role of microphthalmia-associated transcription factor in melanocyte and melanoma biology. *Laboratory Investigation* 2017 97:6, 97(6), 649–656. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2017.9>
- Kilic, E., Van Gils, W., Lodder, E., Beverloo, H. B., Van Til, M. E., Mooy, C. M., Paridaens, D., De Klein, A., & Luyten, G. P. M. (2006). Clinical and Cytogenetic Analyses in Uveal Melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(9), 3703–3707. <https://doi.org/10.1167/IOVS.06-0101>
- Kivelä, T., Puusaari, I., & Damato, B. (2003). Transscleral Resection versus Iodine Brachytherapy for Choroidal Malignant Melanomas 6 Millimeters or More in

- Thickness: A Matched Case-Control Study. *Ophthalmology*, 110(11), 2235–2244. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2003.02.001>
- Klymkowsky, M. W., Rossi, C. C., & Artinger, K. B. (2010). Mechanisms driving neural crest induction and migration in the zebrafish and *Xenopus laevis*. *Cell Adhesion & Migration*, 4(4), 595. <https://doi.org/10.4161/CAM.4.4.12962>
- Koopmans, A. E., Verdijk, R. M., Brouwer, R. W. W., Van Den Bosch, T. P. P., Van Den Berg, M. M. P., Vaarwater, J., Kockx, C. E. M., Paridaens, D., Naus, N. C., Nellist, M., Van Ijcken, W. F. J., Kiliç, E., & De Klein, A. (2014). Clinical significance of immunohistochemistry for detection of BAP1 mutations in uveal melanoma. *Modern Pathology*, 27(10), 1321–1330. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2014.43>
- Kos, R., Reedy, M., Johnson, R. L., & Erickson, C. (2001). The winged-helix transcription factor FoxD3 is important for establishing the neural crest lineage and repressing melanogenesis in avian embryos. *Development*.
- Krispin, S., Nitzan, E., & Kalcheim, C. (2010). The dorsal neural tube: A dynamic setting for cell fate decisions. *Developmental Neurobiology*, 70(12), 796–812. <https://doi.org/10.1002/DNEU.20826>
- Kumar, S. R., Singh, J., Xia, G., Krasnoperov, V., Hassanieh, L., Ley, E. J., Schnet, J., Kumar, N. G., Hawes, D., Press, M. F., Weaver, F. A., & Gill, P. S. (2006). Receptor Tyrosine Kinase EphB4 Is a Survival Factor in Breast Cancer. *The American Journal of Pathology*, 169(1), 279. <https://doi.org/10.2353/AJPATH.2006.050889>
- Lagouros, E., Salomao, D., Thorland, E., Hodge, D. O., Vile, R., & Pulido, J. S. (2009). Infiltrative T Regulatory Cells in Enucleated Uveal Melanomas. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 107, 223. [/pmc/articles/PMC2814577/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19414577/)
- Lamas, N. J., Martel, A., Nahon-Estève, S., Goffinet, S., Macocco, A., Bertolotto, C., Lassalle, S., & Hofman, P. (2021). Prognostic Biomarkers in Uveal Melanoma: The Status Quo, Recent Advances and Future Directions. *Cancers* 2022, Vol. 14, Page 96, 14(1), 96. <https://doi.org/10.3390/CANCERS14010096>
- Lang, Janet R., Davidorf, F. H., & Baba, N. (1977). THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF LYMPHOCYTIC INFILTRATION IN MALIGNANT MELANOMA OF THE CHOROID H E SPONTANEOUS REGRESSION OF MALIGNANT. In *Cancer* (Vol. 40).
- Lange, M. J. de, Pelt, S. I. van, Versluis, M., Jordanova, E. S., Kroes, W. G. M., Ruivenkamp, C., Burg, S. H. van der, Luyten, G. P. M., Hall, T. van, Jager, M. J., Velden, P. A. van der, de Lange, M. J., van Pelt, S. I., Versluis, M., Jordanova, E. S., Kroes, W. G. M., Ruivenkamp, C., van der Burg, S. H., Luyten, G. P. M., ... van der Velden, P. A. (2015). Heterogeneity revealed by integrated genomic

- analysis uncovers a molecular switch in malignant uveal melanoma. *Oncotarget*, 6(35), 37824–37835. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.5637>
- Larsen, A. B., Pedersen, M. W., Stockhausen, M. T., Grandal, M. V., Van Deurs, B., & Poulsen, H. S. (2007). Activation of the EGFR Gene Target EphA2 Inhibits Epidermal Growth Factor–Induced Cancer Cell Motility. *Molecular Cancer Research*, 5(3), 283–293. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-06-0321>
- Larue, L., De Vuyst, F., & Delmas, V. (2013). Modeling melanoblast development. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(6), 1067–1079. <https://doi.org/10.1007/S00018-012-1112-4/METRICS>
- Lasave, A. F., & Deromedis, P. (2017). SOLITARY RETINAL CAPILLARY HEMANGIOMA IN A PATIENT WITH BILATERAL CHORIORETINAL COLOBOMA From the Retina and Vitreous Department, Clinica. In *RETINAL CASES & BRIEF REPORTS* (Vol. 0).
- Li, H., Alizadeh, H., & Niederkorn, J. Y. (2008). Differential Expression of Chemokine Receptors on Uveal Melanoma Cells and Their Metastases. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(2), 636–643. <https://doi.org/10.1167/IOVS.07-1035>
- Li, H., Yang, W., Chen, P. W., Alizadeh, H., & Niederkorn, J. Y. (2009). Inhibition of Chemokine Receptor Expression on Uveal Melanomas by CXCR4 siRNA and Its Effect on Uveal Melanoma Liver Metastases. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 50(12), 5522. <https://doi.org/10.1167/IOVS.09-3804>
- Li, L., Xu, N., Zhang, J. F., Xu, L. L., Zhou, X., Huang, B. T., Li, Y. L., & Liu, X. L. (2016). EphB4/ephrinB2 Contributes to Imatinib Resistance in Chronic Myeloid Leukemia Involved in Cytoskeletal Proteins. *International Journal of Medical Sciences*, 13(5), 365. <https://doi.org/10.7150/IJMS.14989>
- Li, M., Knapp, S. K., & Iden, S. (2020). (Mechanisms of melanocyte polarity and differentiation: What can we learn from other neuroectoderm-derived lineages? In *Current Opinion in Cell Biology* (Vol. 67, pp. 99–108). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.09.001>
- Li, Y., Shi, J., Yang, J., Ge, S., Zhang, J., Jia, R., & Fan, X. (2020). Uveal melanoma: progress in molecular biology and therapeutics. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 12. <https://doi.org/10.1177/1758835920965852>
- Liang, L. Y., Patel, O., Janes, P. W., Murphy, J. M., & Lucet, I. S. (2019). Eph receptor signalling: from catalytic to non-catalytic functions. *Oncogene*, 38(39), 6567–6584. <https://doi.org/10.1038/S41388-019-0931-2>
- Lin, C. Y., Lee, Y. E., Tian, Y. F., Sun, D. P., Sheu, M. J., Lin, C. Y., Li, C. F., Lee, S. W., Lin, L. C., Chang, I. W., Wang, C. T., & He, H. L. (2017). High Expression



- of EphA4 Predicted Lesser Degree of Tumor Regression after Neoadjuvant Chemoradiotherapy in Rectal Cancer. *Journal of Cancer*, 8(6), 1089–1096. <https://doi.org/10.7150/JCA.17471>
- Lisabeth, E. M., Falivelli, G., & Pasquale, E. B. (2013). Eph Receptor Signaling and Ephrins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(9). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A009159>
- Lisabeth, E. M., Fernandez, C., & Pasquale, E. B. (2012). Cancer Somatic Mutations Disrupt Functions of the EphA3 Receptor Tyrosine Kinase Through Multiple Mechanisms. *Biochemistry*, 51(7), 1464. <https://doi.org/10.1021/BI2014079>
- Logan, P., Bernabeu, M., Ferreira, A., & Burnier, M. N. (2015). Evidence for the role of blue light in the development of uveal melanoma. *Journal of Ophthalmology*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/386986>
- Lois, N., Shields, C. L., Shields, J. A., Eagle, R. C., & De Potter, P. (1998). Cavitory melanoma of the ciliary body. A study of eight cases. *Ophthalmology*, 105(6), 1091–1098. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(98\)96013-4](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(98)96013-4)
- Lu, H., Clauser, K. R., Tam, W. L., Fröse, J., Ye, X., Eaton, E. N., Reinhardt, F., Donnenberg, V. S., Bhargava, R., Carr, S. A., & Weinberg, R. A. (2014). A Breast Cancer Stem Cell Niche Supported by Juxtacrine Signaling from Monocytes and Macrophages. *Nature Cell Biology*, 16(11), 1105. <https://doi.org/10.1038/NCB3041>
- Lu, M., Miller, K. D., Gokmen-Polar, Y., Jeng, M.-H., & Kinch, M. S. (2003). EphA2 Overexpression Decreases Estrogen Dependence and Tamoxifen Sensitivity 1. *CANCER RESEARCH*, 63, 3425–3429. <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/63/12/3425/2504555/3425.pdf>
- Lugli, A., Spichtin, H., Maurer, R., Mirlacher, M., Kiefer, J., Huusko, P., Azorsa, D., Terracciano, L., Sauter, G., Kallioniemi, O. P., Mousses, S., & Tornillo, L. (2005). EphB2 Expression across 138 Human Tumor Types in a Tissue Microarray: High Levels of Expression in Gastrointestinal Cancers. *Clinical Cancer Research*, 11(18), 6450–6458. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-2458>
- Ma, D., Luyten, G. P., Luider, T. M., & Niederkorn, J. Y. (1995). Relationship between natural killer cell susceptibility and metastasis of human uveal melanoma cells in a murine model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 36(2), 435–441.
- Maat, W., Ly, L. V., Jordanova, E. S., De Woff-Rouendaal, D., Schalijs-Delfos, N. E., & Jager, M. J. (2008). Monosomy of Chromosome 3 and an Inflammatory Phenotype Occur Together in Uveal Melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(2), 505–510. <https://doi.org/10.1167/IOVS.07-0786>

- Magic, Z., Sandström, J., & Perez-Tenorio, G. (2019). Ephrin-B2 inhibits cell proliferation and motility in vitro and predicts longer metastasis-free survival in breast cancer. *International Journal of Oncology*, 55(6), 1275. <https://doi.org/10.3892/IJO.2019.4892>
- Mäkitie, T., Summanen, P., Tarkkanen, A., & Kivelä, T. (2001). Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+)) cells and prognosis in malignant uveal melanoma." *Investigative ophthalmology & visual science* vol. 42,7 (2001): 1414-21..
- Manning, B. D., & Cantley, L. C. (2007). AKT/PKB Signaling: Navigating Downstream. *Cell*, 129(7), 1261. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.06.009>
- Maresca, V., Flori, E., & Picardo, M. (2015). Skin phototype: A new perspective. In *Pigment Cell and Melanoma Research* (Vol. 28, Issue 4, pp. 378–389). <https://doi.org/10.1111/pcmr.12365>
- Markosyan, N., Li, J., Sun, Y. H., Richman, L. P., Lin, J. H., Yan, F., Quinones, L., Sela, Y., Yamazoe, T., Gordon, N., Tobias, J. W., Byrne, K. T., Rech, A. J., Fitzgerald, G. A., Stanger, B. Z., & Vonderheide, R. H. (2019). Tumor cell–intrinsic EPHA2 suppresses antitumor immunity by regulating PTGS2 (COX-2). *The Journal of Clinical Investigation*, 129(9), 3594. <https://doi.org/10.1172/JCI127755>
- Martin, M., Maßhöfer, L., Temming, P., Rahmann, S., Metz, C., Bornfeld, N., Van De Nes, J., Hitpass, L. K., Hinnebusch, A. G., Horsthemke, B., Lohmann, D. R., & Zeschnigk, M. (2013). Exome sequencing identifies recurrent somatic mutations in EIF1AX and SF3B1 in uveal melanoma with disomy 3. *Nature Genetics*, 45(8), 933. <https://doi.org/10.1038/NG.2674>
- Masaoutis, C., Georgantzoglou, N., Sarantis, P., Theochari, I., Tsoukalas, N., Bobos, M., Alexandrou, P., Pergaris, A., Rontogianni, D., & Theocharis, S. (2021). Ephrin Receptors (Ephs) Expression in Thymic Epithelial Tumors: Prognostic Implications and Future Therapeutic Approaches. *Diagnostics*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS11122265>
- Mashige, K. P., & Oduntan, O. A. (2016). A review of the human retina with emphasis on nerve fibre layer and macula thicknesses. *African Vision and Eye Health*, 75(1). <https://doi.org/10.4102/AVEH.V75I1.330>
- Masoomian, B., Shields, J. A., & Shields, C. L. (2018). Overview of BAP1 cancer predisposition syndrome and the relationship to uveal melanoma. In *Journal of Current Ophthalmology* (Vol. 30, Issue 2, pp. 102–109). Iranian Society of Ophthalmology. <https://doi.org/10.1016/j.joco.2018.02.005>
- Mathôt, S. (2018). Pupillometry: Psychology, physiology, and function. In *Journal of Cognition* (Vol. 1, Issue 1). Ubiquity Press. <https://doi.org/10.5334/joc.18>

- Mccaa, C. S. (1982). The Eye and Visual Nervous System: Anatomy, Physiology and Toxicology. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 44).
- McGranahan, N., Furness, A. J. S., Rosenthal, R., Ramskov, S., Lyngaa, R., Saini, S. K., Jamal-Hanjani, M., Wilson, G. A., Birkbak, N. J., Hiley, C. T., Watkins, T. B. K., Shafi, S., Murugaesu, N., Mitter, R., Akarca, A. U., Linares, J., Marafioti, T., Henry, J. Y., Van Allen, E. M., ... Swanton, C. (2016). Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science (New York, N.Y.)*, *351*(6280), 1463. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAF1490>
- McKenna, K. C., Beatty, K. M., Bilonick, R. A., Schoenfield, L., Lathrop, K. L., & Singh, A. D. (2009). Activated CD11b+ CD15+ Granulocytes Increase in the Blood of Patients with Uveal Melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *50*(9), 4295. <https://doi.org/10.1167/IOVS.08-3012>
- McLean, I. W., Foster, W. D., Zimmerman, L. E., & Gamel, J. W. (2018). Modifications of Callender's Classification of Uveal Melanoma at the Armed Forces Institute of Pathology. *American Journal of Ophthalmology*, *195*, lvi–lx. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2018.08.025>
- Menon, I. A., Wakeham, D. C., Persad, S. D., Avaria, M., Trope, G. E., & Basu, P. K. (1992). Quantitative Determination of the Melanin Contents in Ocular Tissues from Human Blue and Brown Eyes. In *JOURNAL OF OCULAR PHARMACOLOGY* (Vol. 8, Issue 1). Mary Ann Liebert, Inc., Publishers.
- Meulemans, D., & Bronner-Fraser, M. (2004). Gene-Regulatory Interactions in Neural Crest Evolution and Development. *Developmental Cell*, *7*(3), 291–299. <https://doi.org/10.1016/J.DEVCEL.2004.08.007>
- Miao, B., Ji, Z., Tan, L., Taylor, M., Zhang, J., Choi, H. G., Frederick, D. T., Kumar, R., Wargo, J. A., Flaherty, K. T., Gray, N. S., & Tsao, H. (2015). EphA2 is a Mediator of Vemurafenib Resistance and a Novel Therapeutic Target in Melanoma. *Cancer Discovery*, *5*(3), 274. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0295>
- Milet, C., & Monsoro-Burq, A. H. (2012). Neural crest induction at the neural plate border in vertebrates. *Developmental Biology*, *366*(1), 22–33. <https://doi.org/10.1016/J.YDBIO.2012.01.013>
- Miyazaki, K., Inokuchi, M., Takagi, Y., Kato, K., Kojima, K., & Sugihara, K. (2013). EphA4 is a prognostic factor in gastric cancer. *BMC Clinical Pathology*, *13*(1), 19. <https://doi.org/10.1186/1472-6890-13-19>
- Moore, A. R., Ceraudo, E., Sher, J. J., Guan, Y., Shoushtari, A. N., Chang, M. T., Zhang, J. Q., Walczak, E. G., Kazmi, M. A., Taylor, B. S., Huber, T., Chi, P., Sakmar, T. P., & Chen, Y. (2016). Recurrent activating mutations of G-protein-

- coupled receptor CYSLTR2 in uveal melanoma. *Nature Genetics*, 48(6), 675. <https://doi.org/10.1038/NG.3549>
- Nayman, T., Bostan, C., Logan, P., & Burnier, M. N. (2017). Uveal Melanoma Risk Factors: A Systematic Review of Meta-Analyses. In *Current Eye Research* (Vol. 42, Issue 8, pp. 1085–1093). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/02713683.2017.1297997>
- Nickla, D. L., & Wallman, J. (2010). The multifunctional choroid. In *Progress in Retinal and Eye Research* (Vol. 29, Issue 2, pp. 144–168). <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2009.12.002>
- Nieto, M. A., Huang, R. Y. Y. J., Jackson, R. A. A., & Thiery, J. P. P. (2016). EMT: 2016. *Cell*, 166(1), 21–45. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.028>
- Nikas, I., Giaginis, C., Petrouska, K., Alexandrou, P., Michail, A., Sarantis, P., Tsourouflis, G., Danas, E., Pergaris, A., Politis, P. K., Nakopoulou, L., & Theocharis, S. (2022). EPHA2, EPHA4, and EPHA7 Expression in Triple-Negative Breast Cancer. *Diagnostics*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS12020366>
- Nishimura, E. K. (2011). Melanocyte stem cells: a melanocyte reservoir in hair follicles for hair and skin pigmentation. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 24(3), 401–410. <https://doi.org/10.1111/J.1755-148X.2011.00855.X>
- Nishimura, E. K., Granter, S. R., & Fisher, D. E. (2005). Mechanisms of hair graying: Incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche. *Science*, 307(5710), 720–724. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1099593/SUPPL\\_FILE/NISHIMURA.SOM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1099593/SUPPL_FILE/NISHIMURA.SOM.PDF)
- Nordlund, J. R., Robertson, D. M., & Herman, D. C. (2003). Ultrasound Biomicroscopy in Management of Malignant Iris Melanoma. *Archives of Ophthalmology*, 121(5), 725–727. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.121.5.725>
- Noren, N. K., & Pasquale, E. B. (2004). Eph receptor–ephrin bidirectional signals that target Ras and Rho proteins. *Cellular Signalling*, 16(6), 655–666. <https://doi.org/10.1016/J.CELLSIG.2003.10.006>
- Noren, N. K., & Pasquale, E. B. (2007). Paradoxes of the EphB4 Receptor in Cancer. *Cancer Research*, 67(9), 3994–3997. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-0525>
- Offenhäuser, C., Al-Ejeh, F., Puttick, S., Ensbey, K. S., Bruce, Z. C., Jamieson, P. R., Smith, F. M., Stringer, B. W., Carrington, B., Fuchs, A. V., Bell, C. A., Jeffree, R., Rose, S., Thurecht, K. J., Boyd, A. W., & Day, B. W. (2018). EphA3 Pay-

- Loaded Antibody Therapeutics for the Treatment of Glioblastoma. *Cancers*, *10*(12). <https://doi.org/10.3390/CANCERS10120519>
- Onken, M. D., Makepeace, C. M., Kaltenbronn, K. M., Kanai, S. M., Todd, T. D., Wang, S., Broekelmann, T. J., Rao, P. K., Cooper, J. A., & Blumer, K. J. (2018). Targeting nucleotide exchange to inhibit constitutively active G protein alpha-subunits in cancer. *Science Signaling*, *11*(546). <https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAO6852>
- Otto, A., Schmidt, C., & Patel, K. (2006). Pax3 and Pax7 expression and regulation in the avian embryo. *Anatomy and Embryology*, *211*(4), 293–310. <https://doi.org/10.1007/S00429-006-0083-3>
- Pasquale, E. B. (2008). Eph-Ephrin Bidirectional Signaling in Physiology and Disease. In *Cell* (Vol. 133, Issue 1, pp. 38–52). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.011>
- Pasquale, E. B. (2010). Eph receptors and ephrins in cancer: bidirectional signaling and beyond. *Nature Reviews. Cancer*, *10*(3), 165. <https://doi.org/10.1038/NRC2806>
- Peng, J., Wang, Q., Liu, H., Ye, M., Wu, X., & Guo, L. (2016). EPHA3 regulates the multidrug resistance of small cell lung cancer via the PI3K/BMX/STAT3 signaling pathway. *Tumour Biology*, *37*(9), 11959. <https://doi.org/10.1007/S13277-016-5048-4>
- Pergaris, A., Danas, E., Goutas, D., Sykaras, A. G., Soranidis, A., & Theocharis, S. (2021). The clinical impact of the eph/ephrin system in cancer: Unwinding the thread. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 16). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22168412>
- Peters, S., Lamah, T., Kokkinou, D., Bartz-Schmidt, K. U., & Schraermeyer, U. (2006). Melanin protects choroidal blood vessels against light toxicity. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, *61*(5–6), 427–433. <https://doi.org/10.1515/ZNC-2006-5-620>
- Piperno-Neumann, S., Carlino, M. S., Boni, V., Loirat, D., Speetjens, F. M., Park, J. J., Calvo, E., Carvajal, R. D., Nyakas, M., Gonzalez-Maffe, J., Zhu, X., Shirley, M. D., Ramkumar, T., Fessehatsion, A., Burks, H. E., Yerramilli-Rao, P., & Kapiteijn, E. (2023). A phase I trial of LXS196, a protein kinase C (PKC) inhibitor, for metastatic uveal melanoma. *British Journal of Cancer*, *128*(6), 1040. <https://doi.org/10.1038/S41416-022-02133-6>
- Praetorius, C., Sturm, R. A., & Steingrimsson, E. (2014). Sun-induced freckling: Ephelides and solar lentigines. *Pigment Cell and Melanoma Research*, *27*(3), 339–350. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12232>

- Prescher, G., Bornfeld, N., Hirche, H., Horsthemke, B., Jöckel, K. H., & Becher, R. (1996). Prognostic implications of monosomy 3 in uveal melanoma. *Lancet*, 347(9010), 1222–1225. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)90736-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)90736-9)
- Prota, G., Hu, D. N., Vincensi, M. R., McCormick, S. A., & Napolitano, A. (1998). Characterization of Melanins in Human Irides and Cultured Uveal Melanocytes From Eyes of Different Colors. *Experimental Eye Research*, 67(3), 293–299. <https://doi.org/10.1006/EXER.1998.0518>
- Ptito, M., Bleau, M., & Bouskila, J. (2021). The Retina: A Window into the Brain. *Cells*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/CELLS10123269>
- Raamsdonk, C. D. Van, Griewank, K. G., Crosby, M. B., Garrido, M. C., Vemula, S., Wiesner, T., Obenaus, A. C., Wackernagel, W., Green, G., Bouvier, N., Sozen, M. M., Baimukanova, G., Roy, R., Heguy, A., Dolgalev, I., Khanin, R., Busam, K., Speicher, M. R., O'Brien, J., & Bastian, B. C. (2010). Mutations in GNA11 in Uveal Melanoma. *The New England Journal of Medicine*, 363(23), 2191. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1000584>
- Rai, K., Pilarski, R., Boru, G., Rehman, M., Saqr, A. H., Massengill, J. B., Singh, A., Marino, M. J., Davidorf, F. H., Cebulla, C. M., & H. Abdel-Rahman, M. (2017). Germline BAP1 alterations in familial uveal melanoma. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 56(2), 168–174. <https://doi.org/10.1002/GCC.22424>
- Rai, K., Pilarski, R., Cebulla, C. M., & Abdel-Rahman, M. H. (2016). Comprehensive review of BAP1 tumor predisposition syndrome with report of two new cases. *Clinical Genetics*, 89(3), 285–294. <https://doi.org/10.1111/CGE.12630>
- Robertson, A. G., Shih, J., Yau, C., Gibb, E. A., Oba, J., Mungall, K. L., Hess, J. M., Uzunangelov, V., Walter, V., Danilova, L., Lichtenberg, T. M., Kucherlapati, M., Kimes, P. K., Tang, M., Penson, A., Babur, O., Akbani, R., Bristow, C. A., Hoadley, K. A., ... Zmuda, E. (2017). Integrative Analysis Identifies Four Molecular and Clinical Subsets in Uveal Melanoma. *Cancer Cell*, 32(2), 204–220.e15. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.07.003>
- Rodrigues, M., Mobuchon, L., Houy, A., Alsafadi, S., Baulande, S., Mariani, O., Marande, B., Rais, K. A., Van Der Kooij, M. K., Kapiteijn, E., Gassama, S., Gardrat, S., Barnhill, R. L., Servois, V., Dendale, R., Putterman, M., Tick, S., Piperno-Neumann, S., Cassoux, N., ... Stern, M. H. (2019). Evolutionary routes in metastatic uveal melanomas depend on MBD4 alterations. *Clinical Cancer Research*, 25(18), 5513–5524. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1215/75387/AM/EVOLUTIONARY-ROUTES-IN-METASTATIC-UVEAL-MELANOMAS>
- Roh, M. R., Eliades, P., Gupta, S., & Tsao, H. (2015). Genetics of melanocytic nevi. In *Pigment Cell and Melanoma Research* (Vol. 28, Issue 6, pp. 661–672). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12412>

- Saari, M., Unnar, G., & Ohansson, J. (1974). *Eye Clinic and Institute of Physiology* (Vol. 89).
- Saha, N., Robev, D., Mason, E. O., Himanen, J. P., & Nikolov, D. B. (2018). Therapeutic potential of targeting the Eph/ephrin signaling complex. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *105*, 123. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCEL.2018.10.006>
- Sahoo, A. R., & Buck, M. (2021). Structural and Functional Insights into the Transmembrane Domain Association of Eph Receptors. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(16). <https://doi.org/10.3390/IJMS22168593>
- Saintigny, P., Peng, S., Zhang, L., Sen, B., Wistuba, I. I., Lippman, S. M., Girard, L., Minna, J. D., Heymach, J. V., & Johnson, F. M. (2012). Global evaluation of Eph receptors and ephrins in lung adenocarcinomas identifies EphA4 as an inhibitor of cell migration and invasion. *Molecular Cancer Therapeutics*, *11*(9), 2021. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-0030>
- Saornil, M. A. (2004). Iris colour and uveal melanoma. *Canadian Journal of Ophthalmology*, *39*(4), 448–452. [https://doi.org/10.1016/S0008-4182\(04\)80018-8](https://doi.org/10.1016/S0008-4182(04)80018-8)
- Sarnat, T. (1992). New Trends in Photobiology (Invited Review) Properties and function of the ocular melanin-A photobiophysical view. In *J. Photo&em. Photobid. B: Biol* (Vol. 12).
- Sauka-Spengler, T., & Bronner-Fraser, M. (2008). A gene regulatory network orchestrates neural crest formation. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 9, Issue 7, pp. 557–568). <https://doi.org/10.1038/nrm2428>
- Sauka-Spengler, T., Meulemans, D., Jones, M., & Bronner-Fraser, M. (2007). Ancient evolutionary origin of the neural crest gene regulatory network. *Developmental Cell*, *13*(3), 405–420. <https://doi.org/10.1016/J.DEVCEL.2007.08.005>
- Scholes, A. G. M., Damato, B. E., Nunn, J., Hiscott, P., Grierson, I., & Field, J. K. (2003). Monosomy 3 in Uveal Melanoma: Correlation with Clinical and Histologic Predictors of Survival. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *44*(3), 1008–1011. <https://doi.org/10.1167/IOVS.02-0159>
- Schwab, C., Zalaudek, I., Mayer, C., Riedl, R., Wackernagel, W., Juch, H., Aigner, B., Brunasso, A. M., Langmann, G., & Richtig, E. (2015). New insights into oculodermal nevogenesis and proposal for a new iris nevus classification. *British Journal of Ophthalmology*, *99*(5), 644–649. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-305849>
- Shah, S., Luke, J. J., Jacene, H. A., Chen, T., Giobbie-Hurder, A., Ibrahim, N., Buchbinder, E. L., McDermott, D. F., Flaherty, K. T., Sullivan, R. J., Lawrence, D. P., Ott, P. A., & Hodi, F. S. (2018). Results from phase II trial of HSP90

- inhibitor, STA-9090 (ganetespib), in metastatic uveal melanoma. *Melanoma Research*, 28(6), 605–610. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000509>
- Shain, A. H., Bagger, M. M., Yu, R., Chang, D., Liu, S., Vemula, S., Weier, J. F., Wadt, K., Heegaard, S., Bastian, B. C., & Kiilgaard, J. F. (2019). The genetic evolution of metastatic uveal melanoma. *Nature Genetics*, 51(7), 1123. <https://doi.org/10.1038/S41588-019-0440-9>
- Shibahara, S. (2001). Microphthalmia-associated transcription factor (MITF): Multiplicity in structure, function, and regulation. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 6(1), 99–104. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.00010.x>
- Shields, C. L., Dalvin, L. A., Ancona-Lezama, D., Yu, M. D., Di Nicola, M., Williams, B. K., Lucio-Alvarez, J. A., Ang, S. M., Maloney, S., Welch, R. J., & Shields, J. A. (2019). Choroidal Nevus Imaging Features in 3,806 Cases and Risk Factors for Transformation into Melanoma in 2,355 Cases: The 2020 Taylor R. Smith and Victor T. Curtin Lecture. *Retina*, 39(10), 1840–1851. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002440>
- Shields, C. L., Furuta, M., Thangappan, A., Nagori, S., Mashayekhi, A., Lally, D. R., Kelly, C. C., Rudich, D. S., Nagori, A. V., Wakade, O. A., Mehta, S., Forte, L., Long, A., Dellacava, E. F., Kaplan, B., & Shields, J. A. (2009). Metastasis of Uveal Melanoma Millimeter-by-Millimeter in 8033 Consecutive Eyes. *Archives of Ophthalmology*, 127(8), 989–998. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHTHALMOL.2009.208>
- Shields, C. L., Kaliki, S., Shah, S. U., Luo, W., Furuta, M., & Shields, J. A. (2012). Iris melanoma: Features and prognosis in 317 children and adults. *Journal of American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*, 16(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/J.JAAPOS.2011.10.012>
- Shields, C. L., Kancherla, S., Patel, J., Vijayvargiya, P., Suriano, M. M., Kolbus, E., Badami, A., Sharma, P., Jacobs, E., Voluck, M., Zhang, Z., Kansal, R., Shields, P. W., Bianciotto, C. G., & Shields, J. A. (2012). Clinical survey of 3680 iris tumors based on patient age at presentation. *Ophthalmology*, 119(2), 407–414. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.07.059>
- Shields, C. L., Shields, J. A., Cater, J., Gündüz, K., Miyamoto, C., Micaily, B., & Brady, L. W. (2000). Plaque radiotherapy for uveal melanoma: long-term visual outcome in 1106 consecutive patients. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, 118(9), 1219–1228. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.118.9.1219>
- Shields, C. L., Shields, J. A., & De Potter, P. (1995). Patterns of indocyanine green videoangiography of choroidal tumours. *The British Journal of Ophthalmology*, 79(3), 237. <https://doi.org/10.1136/BJO.79.3.237>



- Shields, J. A., & Shields, C. L. (2015). Management of posterior uveal melanoma: Past, present, and Future: The 2014 Charles L. Schepens lecture. *Ophthalmology*, *122*(2), 414–428. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.08.046>
- Shields, J. A., Shields, C. L., Shah, P., & Sivalingam, V. (1991). Partial Lamellar Sclerouvectomy for Ciliary Body and Choroidal Tumors. *Ophthalmology*, *98*(6), 971–983. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(91\)32194-8](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(91)32194-8)
- Simonato, L., Fletcher, A. C., Andersen, A., Anderson, K., Becker, N., Chang-Claude, J., Ferro, G., Gerin, M., Gray, C. N., Hansen, K. S., Kalliomaki, P. L., Kurppa, K., Laangard, S., Merlo, F., Moulin, J. J., Newhouse, M. L., Peto, J., Pukkala, E., & Sjogren, B. (1991). A historical prospective study of European stainless steel, mild steel, and shipyard welders. *British Journal of Industrial Medicine*, *48*(3), 145–154. <https://doi.org/10.1136/OEM.48.3.145>
- Singh, A. D., Rennie, I. G., Kivela, T., Seregard, S., & Grossniklaus, H. (2004). The Zimmerman-McLean-Foster hypothesis: 25 years later. *The British Journal of Ophthalmology*, *88*(7), 962. <https://doi.org/10.1136/BJO.2003.029058>
- Singh, A. D., Turell, M. E., & Topham, A. K. (2011). Uveal melanoma: Trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology*, *118*(9), 1881–1885. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.01.040>
- Singh, N., Singh, A. D., & Hide, W. (2015). Inferring an Evolutionary Tree of Uveal Melanoma From Genomic Copy Number Aberrations. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *56*(11), 6801–6809. <https://doi.org/10.1167/IOVS.15-16822>
- Slade, J., Marghoob, A. A., Salopek, T. G., Rigel, D. S., Kopf, A. W., Bart, R. S., Brook, S., & York, N. (1995). Atypical mole syndrome: risk factor for cutaneous malignant melanoma and implications for management. *Journal of the American Academy of Dermatology* vol. 32,3 (1995): 479-94. doi:10.1016/0190-9622(95)90073-x.
- Sliney, D. H. (2005). Exposure Geometry and Spectral Environment Determine Photobiological Effects on the Human Eye¶†. *Photochemistry and Photobiology*, *81*(3), 483–489. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.2005.TB00212.X>
- Solnica-Krezel, L., & Sepich, D. S. (2012). Gastrulation: Making and shaping germ layers. In *Annual Review of Cell and Developmental Biology* (Vol. 28, pp. 687–717). <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154043>
- Souri, Z., Wierenga, A. P. A., Mulder, A., Jochemsen, A. G., & Jager, M. J. (2019). HLA Expression in Uveal Melanoma: An Indicator of Malignancy and a Modifiable Immunological Target. *Cancers*, *11*(8). <https://doi.org/10.3390/CANCERS11081132>

- Stang, A., Anastassiou, G., Ahrens, W., Bromen, K., Bornfeld, N., & Jöckel, K.-H. (2001). *The Possible Role of Radiofrequency Radiation in the Development of Uveal Melanoma*.
- Stuhlmiller, T. J., & García-Castro, M. I. (2012). Current perspectives of the signaling pathways directing neural crest induction. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 69, Issue 22, pp. 3715–3737). <https://doi.org/10.1007/s00018-012-0991-8>
- Suo, F., Zhong, B., Lu, F., & Dong, Z. (2019). The combined use of EphA2/MMP-2 expression and MRI findings contributes to the determination of cerebral glioma grade. *Oncology Letters*, *18*(5), 5607. <https://doi.org/10.3892/OL.2019.10912>
- Taddei, M. L., Parri, M., Angelucci, A., Onnis, B., Bianchini, F., Giannoni, E., Raugei, G., Calorini, L., Rucci, N., Teti, A., Bologna, M., & Chiarugi, P. (2009). Kinase-Dependent and -Independent Roles of EphA2 in the Regulation of Prostate Cancer Invasion and Metastasis. *The American Journal of Pathology*, *174*(4), 1492. <https://doi.org/10.2353/AJPATH.2009.080473>
- Tadokoro, R., & Takahashi, Y. (2017). Intercellular transfer of organelles during body pigmentation. *Current Opinion in Genetics & Development*, *45*, 132–138. <https://doi.org/10.1016/J.GDE.2017.05.001>
- Tartaglione, T., Pagliara, M. M., Sciandra, M., Caputo, C. G., Calandrelli, R., Fabrizi, G., Gaudino, S., Blasi, M. A., & Colosimo, C. (2014). Uveal melanoma: Evaluation of extrascleral extension using thin-section MR of the eye with surface coils. *Radiologia Medica*, *119*(10), 775–783. <https://doi.org/10.1007/S11547-014-0388-X/METRICS>
- Tenkate, T. D. (1998). Optical radiation hazards of welding arcs. *Reviews on Environmental Health*, *13*(3), 131–146. <https://doi.org/10.1515/REVEH.1998.13.3.131>
- Testa, J. R., Cheung, M., Pei, J., Below, J. E., Tan, Y., Sementino, E., Cox, N. J., Dogan, A. U., Pass, H. I., Trusa, S., Hesdorffer, M., Nasu, M., Powers, A., Rivera, Z., Comertpay, S., Tanji, M., Gaudino, G., Yang, H., & Carbone, M. (2011). Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nature Genetics* *2011* *43:10*, *43*(10), 1022–1025. <https://doi.org/10.1038/ng.912>
- Theveneau, E., & Mayor, R. (2012). Neural crest delamination and migration: From epithelium-to-mesenchyme transition to collective cell migration. *Developmental Biology*, *366*(1), 34–54. <https://doi.org/10.1016/J.YDBIO.2011.12.041>
- Thorsson, V., Gibbs, D. L., Brown, S. D., Wolf, D., Bortone, D. S., Ou Yang, T. H., Porta-Pardo, E., Gao, G. F., Plaisier, C. L., Eddy, J. A., Ziv, E., Culhane, A. C., Paull, E. O., Sivakumar, I. K. A., Gentles, A. J., Malhotra, R., Farshidfar, F., Colaprico, A., Parker, J. S., ... Shmulevich, Ilya. (2018). The Immune Landscape of Cancer. *Immunity*, *48*(4), 812. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2018.03.023>

- Tobal, K., Deuble, K., McCartney, A., & Lightman, S. (1993). Characterization of cellular infiltration in choroidal melanoma. *Melanoma Research*, 3(1), 63–65. <https://doi.org/10.1097/00008390-199304000-00009>
- Udayakumar, D., Zhang, G., Ji, Z., Njauw, C. N., Mroz, P., & Tsao, H. (2011). Epha2 is a Critical Oncogene in Melanoma. *Oncogene*, 30(50), 4921. <https://doi.org/10.1038/ONC.2011.210>
- Vader, M. J. C., Madigan, M. C., Versluis, M., Suleiman, H. M., Gezgin, G., Gruis, N. A., Out-Luiting, J. J., Bergman, W., Verdijk, R. M., Jager, M. J., & Van Der Velden, P. A. (2017). GNAQ and GNA11 mutations and downstream YAP activation in choroidal nevi. *British Journal of Cancer*, 117(6), 884. <https://doi.org/10.1038/BJC.2017.259>
- Vail, M. E., Murone, C., Tan, A., Hii, L., Abebe, D., Janes, P. W., Lee, F. T., Baer, M., Palath, V., Bebbington, C., Yarranton, G., Llerena, C., Garic, S., Abramson, D., Cartwright, G., Scott, A. M., & Lackmann, M. (2014). Targeting EphA3 Inhibits Cancer Growth by Disrupting the Tumor Stromal Microenvironment. *Cancer Research*, 74(16), 4470–4481. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0218>
- Van De Nes, J. A. P., Nelles, J., Kreis, S., Metz, C. H. D., Hager, T., Lohmann, D. R., & Zeschnigk, M. (2016). Comparing the prognostic value of BAP1 mutation pattern, chromosome 3 status, and BAP1 immunohistochemistry in uveal melanoma. *American Journal of Surgical Pathology*, 40(6), 796–805. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000645>
- van den Bosch, T., van Beek, J. G. M., Vaarwater, J., Verdijk, R. M., Naus, N. C., Paridaens, D., de Klein, A., & Kiliç, E. (2012). Higher Percentage of FISH-Determined Monosomy 3 and 8q Amplification in Uveal Melanoma Cells relate to Poor Patient Prognosis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(6), 2668–2674. <https://doi.org/10.1167/IOVS.11-8697>
- van der Pol, J. P., Jager, M. J., de Wolff-Rouendaal, D., Ringens, P. J., Vennegoor, C., & Ruiter, D. J. (1987). Heterogeneous expression of melanoma-associated antigens in uveal melanomas. *Current Eye Research*, 6(6), 757–765. <https://doi.org/10.3109/02713688709034842>
- Van Raamsdonk, C. D., Bezrookove, V., Green, G., Bauer, J., Gaugler, L., O'Brien, J. M., Simpson, E. M., Barsh, G. S., & Bastian, B. C. (2009). Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue nevi. *Nature*, 457(7229), 599. <https://doi.org/10.1038/NATURE07586>
- Vandamme, N., & Berx, G. (2019). From neural crest cells to melanocytes: cellular plasticity during development and beyond. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 76, Issue 10, pp. 1919–1934). Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03049-w>

- Verastegui, C., Bille, K., Ortonne, J. P., & Ballotti, R. (2000). Regulation of the microphthalmia-associated transcription factor gene by the Waardenburg syndrome type 4 gene, SOX10. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(40), 30757–30760. <https://doi.org/10.1074/JBC.C000445200>
- Versluis, M., De Lange, M. J., Van Pelt, S. I., Ruivenkamp, C. A. L., Kroes, W. G. M., Cao, J., Jager, M. J., Luyten, G. P. M., & Van Der Velden, P. A. (2015). Digital PCR Validates 8q Dosage as Prognostic Tool in Uveal Melanoma. *PLOS ONE*, 10(3), e0116371. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0116371>
- Virgili, G., Gatta, G., Ciccolallo, L., Capocaccia, R., Biggeri, A., Crocetti, E., Lutz, J. M., & Paci, E. (2007). Incidence of Uveal Melanoma in Europe. *Ophthalmology*, 114(12). <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2007.01.032>
- Wakamatsu, K., Hu, D. N., McCormick, S. A., & Ito, S. (2008). Characterization of melanin in human iridal and choroidal melanocytes from eyes with various colored irides. *Pigment Cell and Melanoma Research*, 21(1), 97–105. <https://doi.org/10.1111/J.1755-148X.2007.00415.X>
- Wang, Z., Dillon, J., & Gaillard, E. R. (2006). Antioxidant Properties of Melanin in Retinal Pigment Epithelial Cells. *Photochemistry and Photobiology*, 82(2), 474–479. <https://doi.org/10.1562/2005-10-21-RA-725>
- Watanabe, A., Takeda, K., Ploplis, B., & Tachibana, M. (1998). Epistatic relationship between Waardenburg Syndrome genes MITF and PAX3. *Nature Genetics*, 18(3), 283–286. <https://doi.org/10.1038/NG0398-283>
- Weis, E., Shah, C. P., Lajous, M., Shields, J. A., & Shields, C. L. (2006). The Association Between Host Susceptibility Factors and Uveal Melanoma A Meta-analysis. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)* vol. 124,1 (2006): 54-60. doi:10.1001/archophth.124.1.54
- Weis, E., Shah, C. P., Lajous, M., Shields, J. A., & Shields, C. L. (2009). The Association of Cutaneous and Iris Nevi with Uveal Melanoma: A Meta-analysis. *Ophthalmology*, 116(3). <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.10.008>
- Wielgus, A. R., & Sarna, T. (2005). Melanin in human irides of different color and age of donors. *Pigment Cell Research*, 18(6), 454–464. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0749.2005.00268.X>
- Wierenga, A. P. A., Cao, J., Luyten, G. P. M., & Jager, M. J. (2019). Immune checkpoint inhibitors in uveal and conjunctival melanoma. *International Ophthalmology Clinics*, 59(2), 53–63. <https://doi.org/10.1097/HIO.0000000000000263>
- Wiesner, T., Obenauf, A. C., Murali, R., Fried, I., Griewank, K. G., Ulz, P., Windpassinger, C., Wackernagel, W., Loy, S., Wolf, I., Viale, A., Lash, A. E.,

- Pirun, M., Socci, N. D., Rütten, A., Palmedo, G., Abramson, D., Offit, K., Ott, A., ... Speicher, M. R. (2011). Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nature Genetics* 2011 43:10, 43(10), 1018–1021. <https://doi.org/10.1038/ng.910>
- Willoughby, C. E., Ponzin, D., Ferrari, S., Lobo, A., Landau, K., & Omid, Y. (2010). Anatomy and physiology of the human eye: Effects of mucopolysaccharidoses disease on structure and function - a review. In *Clinical and Experimental Ophthalmology* (Vol. 38, Issue SUPPL. 1, pp. 2–11). <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2010.02363.x>
- Wu, Q., Suo, Z., Risberg, B., Karlsson, M. G., Villman, K., & Nesland, J. M. (2004). Expression of Ephb2 and Ephb4 in Breast Carcinoma. *Arányi Lajos Foundation PATHOLOGY ONCOLOGY RESEARCH*, 10(1).
- Wu, X., & Hammer, J. A. (2014). Melanosome transfer: it is best to give and receive. *Current Opinion in Cell Biology*, 29(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.CEB.2014.02.003>
- Yamaguchi, Y., & Pasquale, E. B. (2004). Eph receptors in the adult brain. *Current Opinion in Neurobiology*, 14(3), 288–296. <https://doi.org/10.1016/J.CONB.2004.04.003>
- Yang, J., Antin, P., Berx, G., Blanpain, C., Brabletz, T., Bronner, M., Campbell, K., Cano, A., Casanova, J., Christofori, G., Dedhar, S., Derynck, R., Ford, H. L., Fuxe, J., García de Herreros, A., Goodall, G. J., Hadjantonakis, A. K., Huang, R. J. Y., Kalcheim, C., ... Sheng, G. (2020). Guidelines and definitions for research on epithelial–mesenchymal transition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2020 21:6, 21(6), 341–352. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0237-9>
- Yang, W. H., Cha, J. H., Xia, W., Lee, H. H., Chan, L. C., Wang, Y. N., Hsu, J. L., Ren, G., & Hung, M. C. (2018). Juxtacrine signaling inhibits antitumor immunity by upregulating PD-L1 expression. *Cancer Research*, 78(14), 3761. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0040>
- Yang, W., Li, H., Chen, P. W., Alizadeh, H., He, Y., Hogan, R. N., & Niederkorn, J. Y. (2009). PD-L1 Expression on Human Ocular Cells and Its Possible Role in Regulating Immune-Mediated Ocular Inflammation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 50(1), 273–280. <https://doi.org/10.1167/IOVS.08-2397>
- Yang, X., Yang, Y., Tang, S., Tang, H., Yang, G., Xu, Q., & Wu, J. (2015). EphB4 inhibitor overcome the acquired resistance to cisplatin in melanomas xenograft model. *Journal of Pharmacological Sciences*, 129(1), 65–71. <https://doi.org/10.1016/J.JPHS.2015.08.009>
- Yavuziyigitoglu, S., Koopmans, A. E., Verdijk, R. M., Vaarwater, J., Eussen, B., Van Bodegom, A., Paridaens, D., Kiliç, E., & De Klein, A. (2016). Uveal Melanomas

- with SF3B1 Mutations: A Distinct Subclass Associated with Late-Onset Metastases. *Ophthalmology*, 123(5), 1118–1128. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2016.01.023>
- Yoo, J. H., Shi, D. S., Grossmann, A. H., Sorensen, L. K., Tong, Z. Z., Mleynek, T. M., Rogers, A., Zhu, W., Richards, J. R., Winter, J. M., Zhu, J., Dunn, C., Bajji, A., Shenderovich, M., Mueller, A. L., Woodman, S. E., Harbour, J. W., Thomas, K. R., Odelberg, S. J., ... Li, D. Y. (2016). ARF6 is an actionable node that orchestrates oncogenic GNAQ signaling in uveal melanoma. *Cancer Cell*, 29(6), 889. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2016.04.015>
- Yu, G., Jing, Y., Kou, X., Ye, F., Gao, L., Fan, Q., Yang, Y., Zhao, Q., Li, R., Wu, M., & Wei, L. (2013). Hepatic Stellate Cells Secreted Hepatocyte Growth Factor Contributes to the Chemoresistance of Hepatocellular Carcinoma. *PLoS ONE*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0073312>
- Yu, H., Mashtalir, N., Daou, S., Hammond-Martel, I., Ross, J., Sui, G., Hart, G. W., Rauscher, F. J., Drobetsky, E., Milot, E., Shi, Y., & Affar, E. B. (2010). The Ubiquitin Carboxyl Hydrolase BAP1 Forms a Ternary Complex with YY1 and HCF-1 and Is a Critical Regulator of Gene Expression. *Molecular and Cellular Biology*, 30(21), 5071–5085. <https://doi.org/10.1128/mcb.00396-10>
- Yuan, W. J., Ge, J., Chen, Z. K., Wu, S. Bin, Shen, H., Yang, P., Hu, B., Zhang, G. W., & Chen, Z. H. (2009). Over-expression of EphA2 and ephrina-1 in human gastric adenocarcinoma and its prognostic value for postoperative patients. *Digestive Diseases and Sciences*, 54(11), 2410–2417. <https://doi.org/10.1007/S10620-008-0649-4/METRICS>
- Zhang, X. (2021). The Expression Profile and Prognostic Values of EPHA Family Members in Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.619949>
- Zhou, D., Ren, K., Wang, J., Ren, H., Yang, W., Wang, W., Li, Q., Liu, X., & Tang, F. (2018). Erythropoietin-producing hepatocellular A6 overexpression is a novel biomarker of poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncology Letters*, 15(4), 5257. <https://doi.org/10.3892/OL.2018.7919>
- Zhuang, G., Brantley-Sieders, D. M., Vaught, D., Yu, J., Xie, L., Wells, S., Jackson, D., Muraoka-Cook, R., Arteaga, C., & Chen, J. (2010). Elevation of receptor tyrosine kinase EphA2 mediates resistance to trastuzumab therapy. *Cancer Research*, 70(1), 299–308. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1845>
- Zhuang, G., Song, W., Amato, K., Hwang, Y., Lee, K., Boothby, M., Ye, F., Guo, Y., Shyr, Y., Lin, L., Carbone, D. P., Brantley-Sieders, D. M., & Chen, J. (2012). Effects of Cancer-Associated EPHA3 Mutations on Lung Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 104(15), 1183. <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJS297>

