



УЧЕБНА КНИГА

текстове за продължаващо
медицинско обучение

2015

КЛИНИЧНО ПОВЕДЕНИЕ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

включително базоцелуларен, плоскоклетъчен
и *Merkel*-клетъчен кожен карцином

НАУЧНА ПРОГРАМА
ШЕСТА НАЦИОНАЛНА КОНФЕРЕНЦИЯ

15–17 октомври 2015, Варна



Благотворителна фондация за деца
Роналд Макдоналд България
RMHC



Boehringer
Ingelheim



PharmaSwiss
Choose More Life



Bayer



КЛИНИЧНО ПОВЕДЕНИЕ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

включително базоцелуларен, плоскоклетъчен и *Merkel*-клетъчен кожен карцином

ТЕКСТОВЕ ЗА ПРОДЪЛЖАВАЩО МЕДИЦИНСКО ОБУЧЕНИЕ



УЧЕБНА КНИГА 2015

КЛИНИЧНО ПОВЕДЕНИЕ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

включително базоцелуларен, плоскоклетъчен
и *Merkel*-клетъчен кожен карцином

ТЕКСТОВЕ ЗА ПРОДЪЛЖАВАЩО
МЕДИЦИНСКО ОБУЧЕНИЕ

*Под редакцията на
доц. д-р Димитър КАЛЕВ, д.м.*



АРТ ТРЕЙСЪР

Варна, 2015

**БЪЛГАРСКО
ОНКОЛОГИЧНО
ДРУЖЕСТВО**



**МЕДИЦИНСКИ
УНИВЕРСИТЕТ
ВАРНА**



**УМБАЛ
"СВ. МАРИНА"
ВАРНА**

*МОРЕ 2015 благодари на Novartis, Roche, MSD и Bristol-Myers Squibb
за подкрепата в издаването на тази учебна книга*

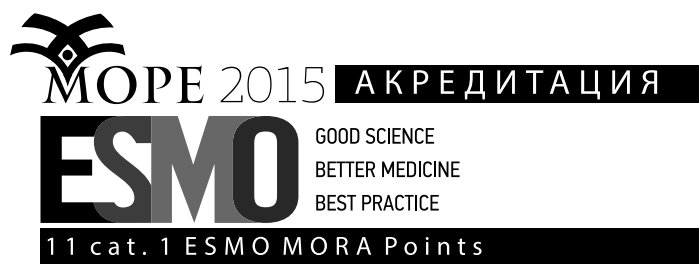
© Ася Консулова, Борислав Чаушев, Валентин Иванов, Веселина Колева, Драга Тончева, Елица Енчева, Емил Костадинов, Златица Петрова, Ива Гаврилова, Иво Гергов, Ирена Костадинова, Красимир Киров, Красимир Койнов, Мариана Замир, Мария Балабанова, Милка Георгиева, Милчо Минчев, Надя Димитрова, Румен Габровски, Татяна Хаджиева, Яна Бочева – автори, 2015

© Димитър Калев – съставител и редактор, 2015

© АРТ ТРЕЙСЪР – издател, 2015

ISBN 978-619-7094-14-5

www.more-conference.com – официален сайт на МОРЕ 2015



ВЪВЕДЕНИЕ

Тази книга е част от работата на Националния експертен борд за поведение при кожен меланом и други немеланомни кожни тумори, *MOPE 2015*. Замислена е като сборник от статии в стил *State of the Art*. Главната ѝ цел е да достигне до българските лекари, практикуващи онкология, и да послужи за тяхното продължаващо медицинско обучение (Continuing Medical Education).

Съдържанието на Учебната книга включва 16 статии върху патогенеза, молекулярно типизиране, скрининг, диагностика и лечение на пациенти с меланом. Всички автори текстове провеждат и налагат определен стил на онкологично мислене – медицина, основана на доказателства, с прецизно дефинирани степени на препоръчителност. Идеалният модел пред локалните възможности, експертното становище пред финансово-политическата конюнктура – това е кредо на авторите в тази книга. Освен образователна, текстовете притежават и възпитателна функция – да вложат в социалното съзнание и в организацията на здравеопазване уважение към лидерската роля на националните експерти по онкология.

Учебната книга на Шестата национална конференция *MOPE 2015* е работена и се публикува паралелно с *Националното ръководство за клинично поведение при кожен меланом* и в известен смисъл обогатява неговото съдържание. И двата документа добавят към българската клинична онкология неща, които читателят може да приложи и провери в ежедневната клинична практика.

доц. д-р Димитър Калев
Председател на Организационен комитет MOPE 2015

ЕПИДЕМИОЛОГИЯ НА КОЖЕН МЕЛАНОМ – КЪДЕ Е БЪЛГАРИЯ ПОД СЛЪНЦЕТО НА ЕВРОПА

д-р Надя Димитрова, дм

Национален раков регистър, СБАЛО – София

ОБЗОР

Кожният меланом (КМ) е рядка злокачествена болест, но е най-честата причина за смърт от злокачествени кожни тумори. Според данни на GLOBOCAN за Европа през 2012 г. са диагностицирани около 100000 нови случаи с кожен меланом и 22 000 са починалите, като относителният дял на пациентите от Централна и Източна Европа е съотв. 19% и 36%.

Цел на настоящото проучване е да се опишат различията в разпространението на КМ в Европа и особеностите за държавите от Югоизточна Европа, както и тенденциите в заболяемост, смъртност и преживяемост на пациентите. Използвани са данни от двете най-нови международни проучвания с участието на България: (1) SEE+, което описва съвременните тенденции в заболяемост и смъртност от злокачествени болести в Югоизточна Европа, Турция (Измир и Анталия), Кипър и Малта и (2) EURO CARE-5, което изучава преживяемостта на пациентите със злокачествени болести в Европа.

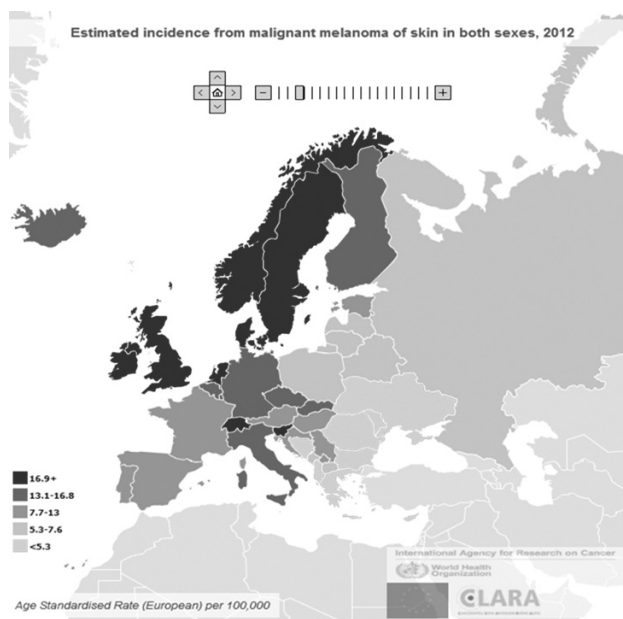
Заболяемостта от КМ в Европа варира в широки граници и се увеличава с различни темпове в отделните държави. Смъртността от КМ в Европа е сравнително ниска и показва тенденция за стабилизиране и намаление, но предимно в държавите от Северозападна Европа. Преживяемостта от КМ в Европа е сравнително висока и е с благоприятна тенденция за увеличаване, особено изразена в държавите от Източна Европа, където пациентите все още живеят най-кратко. В България епидемиологичните характеристики на КМ са: ниска заболяемост с умерен темп на нарастване; ниска смъртност при мъже и средно висока при жени, но и при двата пола има сравнително бърз темп на увеличение; тенденция за увеличение на преживяемостта, която, въпреки това, остава доста по-ниска от средната за Европа.

Изучаването на особеностите в разпространението на КМ в Европа и анализа на тенденциите в епидемиологичните показатели може да подпомогне планирането и мониторирането на ефекта от програми за контрол на болестта, включващи както дейности за профилактика и ранна диагностика, така и приложение на иновативни лечения, подобряващи преживяемостта.

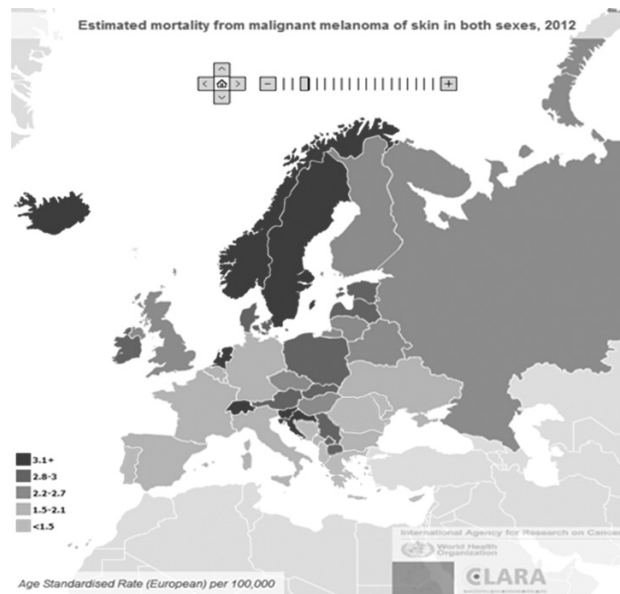
Увод

Кожният меланом (КМ) е рядка злокачествена болест, но е най-честата причина за смърт от злокачествени кожни тумори. Според данни на GLOBOCAN за Европа¹ през 2012 г. са диагностицирани около 100000 нови случаи с КМ и 22000 са починалите, като относителният дял на пациенти от Централна и Източна Европа е съотв. 19% и 36%.² В България през 2012 г. са регистрирани 491 нови случаи, които са 1.5% от всички злокачествени болести и 9.8% от тези на кожа. Починалите от КМ в България през същата година са 163 – 0.9% от всички причини за смърт от злокачествени болести и 46.7% от тези на кожа.³

Заболяемостта от КМ в Европа е 11.1 на 100000 и варира в широки граници – от около 3 на 100000 в Югоизточна Европа до 24 на 100000 в Северна Европа.⁴ Като цяло се наблюдава намаляваща заболяемост в посока от Северна към Южна Европа (Фиг. 1).^{5,6} Заболяемостта в България е 4.5 на 100000 и е по-ниска от средната за Европа.⁴



Фигура 1. Заболяемост от кожен меланом в Европа през 2012 г., общо мъже и жени, www.eco.iarc.fr



Фигура 2. Смъртност от кожен меланом в Европа през 2012 г., общо мъже и жени, www.eco.iarc.fr

Смъртността от КМ в Европа е 2.3 на 100000 и сред държавите с най-висока смъртност (над 3 на 100000) са както такива от Северна (Норвегия, Швеция, Нидерландия), така и от Югоизточна Европа (Словения, Хърватия, Словакия) (Фиг. 2). Смъртността в България е 1.8 на 100000 и е по-ниска от средната за Европа.⁴

Преживяемостта на пациенти с КМ е сравнително висока. Средната за Европа 5-годишна релативна преживяемост е 82.7%, но има големи различия по региони, с най-високи стойности в Централна и Северна Европа – 87% и най-ниски – в Източна Европа – 73%. Държавите с преживяемост над 89% са Обединеното кралство (Северна Ирландия), Исландия, Швейцария и Германия. С преживяемост под 70% са Литва, Латвия, Полша и България, като стойността за България е най-ниска – 48.5%, т.е. с 34.2 процентни пункта по-ниска от средната за Европа.⁷

Рисковите фактори за развитите на КМ са идентифицирани и описани в няколко проучвания (мета-анализи) – интермитентно излагане на ултравиолетова радиация, осо-

ЕПИДЕМИОЛОГИЯ НА КОЖЕН МЕЛАНОМ

бено в млада възраст; слънчеви изгаряния на кожата; фамилна анамнеза; фототип на кожата; гъстота на луничките; цвят на кожа, очи и коса; наличие на премалигнени лезии на кожата; степен на увреждане на кожата от слънцето. Надморската височина е фактор, модулиращ риска за заболяване, а полът е определящ фактор за прогнозата на болестта.⁸⁻¹¹

Цел на настоящото проучване е да се опишат различията в разпространението на КМ в Европа и особеностите за държавите от Югоизточна Европа, както и тенденциите в заболяемостта, смъртността и преживяемостта на пациентите.

Материали и методи

Използвани са данни от двете най-нови международни проучвания с участието на България: (1) SEE+, което описва съвременните тенденции в заболяемост и смъртност от злокачествени болести в Югоизточна Европа, Турция (Измир и Анталия), Кипър и Малта⁶ и (2) EURO CARE-5, което изучава подробно преживяемостта на пациентите със злокачествени болести в Европа.⁷

Проучването SEE+ анализира стандартизираните (по световен стандарт) по-

казатели за заболяемост и смъртност за диагностицираните през периода 1999-2008 г., като изчислява средногодишната промяна (в %) на тези показатели, използвайки метода Joinpoint regression.¹² Проучването EURO CARE-5 представя резултати за петгодишна релативна преживяемост на пациенти със злокачествени заболявания в Европа, диагностицирани през периода 2000-2007 г. [www.eurocare.it]. Повече детайли за използваните статистически методи са описани в съответните публикации.^{6,7}

Резултати

На Табл. 1 са представени стандартизираните показатели за заболяемост и смъртност от кожен меланом от девет популационни ракови регистри – пет национални (Словения, Хърватия, България, Кипър и Малта) и четири регионални (Сърбия – централен регион, Румъния – област Клуж, Турция – Измир и Анталия). Данните на някои от раковите регистри не са били достатъчни за изчисляване на тенденциите, но те са включени в сравнителния анализ на показателите.

Таблица 1. Стандартизирани (по световен стандарт на 100000) заболяемост и смъртност от кожен меланом в Югоизточна Европа през 2008 г. и тенденции за периода 1999-2008 г.

	мъже				жени			
	стандартизиран показател на 100000		средногодишна промяна (%)		стандартизиран показател на 100000		средногодишна промяна (%)	
Заболяемост								
Словения	13,9	B ¹	5.4	↑	15.1	B	7.2	↑
Хърватия	8.7	C ²	2.2	↑	7.0	C	1.5	↑
Сърбия. централен регион	4.7	C	2.5	↑	4.7	C	2.1	↑
Румъния, област Клуж	5.8	C	–	–	5.1	C	–	–
България	3.4	H ³	2.2	↑	3.1	H	3.0	↑
Турция, Измир	2.4	H	–	–	–	–	–	–

Турция, Анталия	2.4	Н	10.4	↑	–	–	–	–
Кипър	4.4	С	3.4	↑	4.9	С	2.9	↑
Малта	5.7	С	-2.9	↓	12.9	В	9.9	↑
Смъртност								
Словения	4.0	В	1.4	↑	2.0	В	2.4	↑
Хърватия	3.5	В	0.7	↑	1.8	В	2.8	↑
Сърбия, централен регион	2.7	С	3.3	↑	1.3	С	1.1	↑
Румъния, област Клуж	0.9	Н	–		1.7	С	–	–
България	1.4	Н	2.8	↑	1.1	С	3.7	↑
Турция, Анталия	0.9	Н	–	–	0.8	Н	–	–
Кипър	1.8	С	–	–	0.7	Н	–	–
Малта	2.9	В	-5.3	↓	0.3	Н	7.9	↑
¹ В: висока заболяемост – държавата е сред десетте Европейски държави с най-висока заболяемост ² С: средна заболяемост – между ниска и висока ³ Н: ниска заболяемост – държавата е сред десетте Европейски държави с най-ниска заболяемост Забележка: Стрелките показват посоката на промяната: ↑ нарастване; ↓ намаляване; символът „–“ означава, че липсват данни; подчертаните (bold) числа показват статистически значима промяна (p<0,05)								

Заболяемостта от КМ в разглежданите държави е сходна при мъже и жени, с изключение на Малта, където заболяемостта при жени е почти два пъти по-висока, отколкото при мъже. С най-висока заболяемост в региона е Словения – 13.9 на 100000 мъже и 15.1 на 100000 жени, с най-ниска – Турция (Измир и Анталия) – 2.4 на 100000 мъже. Заболяемостта в България също е ниска – 3.4 на 100000 мъже и 3.1 на 100000 жени.

Заболяемостта като цяло се увеличава – с 2 до 10% средногодишно, с изключение при мъжете в Малта, където тя намалява – с 3% средногодишно за анализирания период. Най-бързо е средногодишното увеличение на заболяемостта при мъжете в Турция (Анталия) – с 10% и в Словения – с 5%; при жените в Малта – с 10% и в Словения – със 7%. В България заболяемостта се увеличава средногодишно с 2% при мъже и с 3% при жени.

Смъртността от КМ в разглежданите държави е по-висока при мъже, отколкото при жени, с изключение на Румъния (Клуж), където смъртността при жени е почти два пъти по-висока, отколкото при мъже. С най-висока смъртност в региона е Словения – 4.0 на 100000 мъже и 2.0 на 100000 жени, с най-ниска – Румъния (Клуж) и Турция (Анталия) – 0.9 на 100000 мъже, и Малта – 0.3 на 100000 жени. Смъртността в България е ниска при мъже – 1.4 на 100000 и средно висока при жени – 1.1 на 100000.

Смъртността като цяло се увеличава – с 1 до 8% средногодишно, с изключение при мъжете в Малта, където тя намалява с 5% средногодишно за анализирания период. Най-бързо е средногодишното увеличение на смъртността при мъже в Сърбия (централен регион) и в България – с 3%; при жени в Малта – с 8% и в България – с 4%.

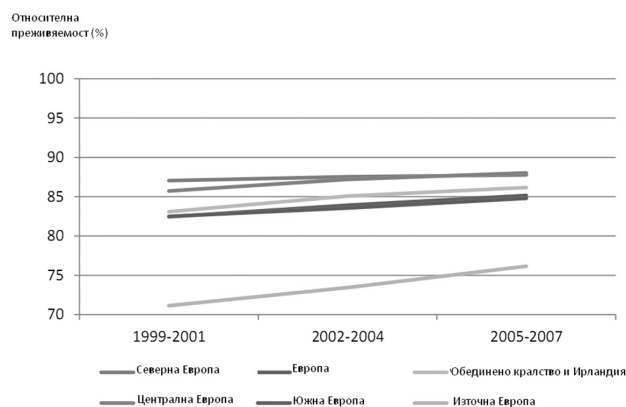
ЕПИДЕМИОЛОГИЯ НА КОЖЕН МЕЛАНОМ

Преживяемостта на пациентите с КМ варира от 69.0% в Източна Европа до 84.2% в Централна Европа при мъже и от 77.2% в Източна Европа до 90.7% в Северна Европа при жени (Табл. 2). Сред държавите от Югоизточна Европа преживяемостта е най-ниска в България – 39.7% при мъже и 57.7% при жени, и най-висока в Малта – 87.3% и 86.7%, съотв. при мъже и жени.

Таблица 2. Петгодишна релативна преживяемост (%) на пациенти с кожен меланом, диагностицирани през периода 2000-2007 г. в избрани държави и региони в Европа, EUROCARE-5.

Държави	Мъже	Жени
България	39.7	57.7
Полша	55.2	65.3
Хърватия	64.6	75.4
Словакия	67.7	79.8
Словения	77.1	83.0
Чехия	79.9	84.7
Малта	87.3	86.7
региони		
Източна Европа	69.0	77.2
Южна Европа	77.9	86.1
Централна Европа	84.2	90.2
Северна Европа	82.3	90.7

Тенденциите в преживяемостта на пациенти с КМ са благоприятни. Средната за Европа петгодишна релативна преживяемост се увеличава от 82.4% за диагностицираните през периода 1999-2001 г. до 85.2% през 2005-2007 г., като увеличението е статистически значимо. Най-голямо увеличение на преживяемостта се наблюдава в Източна Европа – с 5% за разглеждания период, следвана от Обединеното кралство и Ирландия – с 3.1%, Централна и Южна Европа – с 2.3% и Северна Европа – с 0.8% (Фиг. 3) (www.eurocare.it). В България уве-



Фигура 3. Петгодишна, стандартизирана по възраст, относителна преживяемост на пациенти с кожен меланом по региони в Европа и периоди на диагностициране, EUROCARE-5.

личението на преживяемостта е с 4% за същия период – от 48.7% до 52.7%.

Обсъждане

От представените резултати се забелязват различия в разпространението на КМ в Югоизточна Европа – заболяемостта и смъртността са по-високи в западните части на региона (Словения, Хърватия) и по-ниски – в източните (България, Турция). Заболяемостта и смъртността се увеличават, но с различни темпове, като по-бързо се увеличава заболяемостта.

Неблагоприятна комбинация от висока заболяемост и бърз темп на нарастване се наблюдава при мъже и жени в Словения и при жени в Малта. В държавите със средна и ниска заболяемост увеличението е предимно умерено, с изключение на мъжете в Турция (Анталия), където заболяемостта е ниска, но средногодишното увеличение е с 10%. Най-бързо средногодишно увеличение на смъртността (с 3 до 4%) се установява в държавите със средна и ниска смъртност.

Едновременно с това се отчита и увеличение на преживяемостта, което въпреки че е най-голямо за Източна, в сравнение с другите региони в Европа, не променя факта, че

пациентите от тези държави са с най-ниската преживяемост от КМ на континента.

Резултатите за България показват комбинация от благоприятни и неблагоприятни тенденции – заболяемостта е ниска с умерен темп на нарастване (с 2 до 3% средногодишно), смъртността е ниска при мъже и средно висока при жени, но и при двата пола има сравнително бърз темп на увеличение (с 3 до 4% средногодишно); преживяемостта се повишава с 4 процентни пункта от 1999 г. до 2007 г., но остава най-ниска в Европа.

Подобно на тенденциите в Югоизточна Европа, заболяемостта от КМ се увеличава и в повечето държави от Северозападна и Централна Европа, но в някои от тях (Полша, Италия, Норвегия, Швейцария) се наблюдава стабилизиране на тенденцията след 2000 г. Проучването на *Karim-Kos H. et al.* за периода 1994-2005 г. показва най-бързо средногодишно увеличение на заболяемостта при мъже в Австрия (Тирол) – с 10%, в Малта – с 8%, в Обединено кралство (Англия и Уелс), Франция и Хърватия – с 6%; при жени – в Австрия и Хърватия – със 7%, Франция, Германия и Словения – с 5%. Неблагоприятна комбинация от висока заболяемост и бърз темп на увеличаване е установена за мъже и жени в Австрия.¹³

Относно смъртността тенденциите са по-разнородни. В голяма част от Европейските държави средногодишното увеличение на смъртността е не повече от 1%, а при доста от тях се наблюдава и намаление на смъртността от КМ (Австрия, Швейцария, Испания, Чехия и др.). Тенденциите за намаляване на смъртността са по-изразени при жени, отколкото при мъже, дори в някои държави (Обединено кралство (Северна Ирландия), Франция, Италия, Малта, Словения, Испания) смъртността при жени намалява, а при мъже се увеличава.¹³ Резултатите, публикувани от *Bosetti et al.* по-

казват тенденция за намаляване на смъртността от кожни злокачествени болести в Европейски съюз след 2000 г., а *Autier et al.* потвърждават тази благоприятна промяна, като уточняват, че тя е по-добре изразена сред по-млади възрастови групи и по-скоро в държавите от Северозападна, отколкото от Югоизточна Европа.^{14, 15}

При интерпретация на тенденциите трябва да се вземат предвид и особеностите в разпространението на рисковите фактори. Съчетанието от генетични характеристики, изразяващи се в цвят на кожа, коса и очи, с различия в степента на излагане на ултравиолетова радиация (включително в солариуми), влиянието на надморската височина и дейностите за профилактика на болестта в отделните държави може да обясни до известна степен вариациите в заболяемостта в Европа. Държавите от Югоизточна Европа имат дълга брегова ивица, планински или спа-курорти, които предразполагат към по-продължително излагане на слънце, особено през летните месеци и при по-млади възрастови групи, които са и по-чувствителни на неблагоприятни въздействия. Разходите за туризъм/курорт в чужбина също показват ръст през последните години – увеличението е от два до пет пъти за държавите от Югоизточна Европа.¹⁶ Профилактичните мероприятия в рамките на инициирания от белгийски дерматолози през 1999 г. проект *Euromelanoma* се прилагат в различна степен в отделните Европейски държави.¹⁷ Средствата, които се отделят за здравеопазване на глава от населението, както и социалноикономическият статус, който е независим прогностичен фактор, варират в широки граници^{19, 20}, което се отразява и на тенденциите в епидемиологичните показатели за КМ.

Преживяемостта от КМ се увеличава във всички Европейски държави, но с различни темпове – най-бързо в държавите с най-ни-

ска преживяемост в началото на анализирания период (Източна Европа) и най-бавно – в тези с най-висока преживяемост в началото на периода (Северна Европа). Поради липсата на по-детайлни данни на популационно ниво за стадийното разпределение и проведеното лечение различията в преживяемостта на пациентите от Европа трудно могат да бъдат интерпретирани. Очаква се, че с все по-широкото приложение на индивидуализиран подход при лечение и с използването на иновативна таргетна и имунотерапия прогнозата за пациентите ще се подобрява.²¹⁻²³

Заклучение

Заболяемостта от КМ в Европа варира в широки граници и се увеличава с различни темпове в отделните държави. Смъртността от КМ в Европа е сравнително ниска и показва тенденция за стабилизиране и намаление, но предимно в държавите от Северозападна Европа. Преживяемостта от КМ в Европа е сравнително висока и е с благоприятна тенденция за увеличаване, особено изразена в държавите от Източна Европа, където пациентите все още живеят най-кратко. В България епидемиологичните характеристики на кожния меланом са: ниска заболяемост, с умерен темп на нарастване; ниска смъртност при мъжете и средно висока при жените, но и при двата пола има сравнително бърз темп на увеличение; тенденция за увеличение на преживяемостта, която въпреки това остава доста по-ниска от средната за Европа.

Изучаването на особеностите в разпространението на КМ в Европа и анализът на тенденциите в епидемиологичните показатели може да подпомогне планирането и мониторирането на ефекта от програми за контрол на болестта, включващи както дейности за профилактика и ранна диагностика, така и приложение на иновативни лечения, подобряващи преживяемостта на пациентите.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136 (5): E359-386.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. 2013.
3. Валерианова З, Димитрова Н, Тонев С, Вуков М. (ред.) Заболяемост от рак в България, 2012. Български национален раков регистър. София, 2014.
4. Steliarova-Foucher E, O'Callaghan M, Ferlay J, et al. European Cancer Observatory: Cancer incidence, mortality, prevalence and survival in Europe. Version 1.0 (September 2012) European Network of Cancer Registries, International Agency for Research on Cancer. Available at: <http://eco.iarc.fr>.
5. De Vries E, Bray FI, Coebergh JWW, Parkin DM. Changing epidemiology of malignant cutaneous melanoma in Europe 1953-1997: rising trends in incidence and mortality but recent stabilizations in western Europe and decreases in Scandinavia. *Int J Cancer* 2003;107:119-26.
6. Znaor A, van den Hurk C, Primic-Zakelj M, et al. Cancer incidence and mortality patterns in South Eastern Europe in the last decade: Gaps persist compared with the rest of Europe. *Eur J Cancer* 2013; 49 (7): 1683-1691.
7. De Angelis R, Sant M, Coleman M, Francisci S, et al. The EURO CARE-5 Working Group. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO CARE-5 – a population-based study. *The Lancet Oncology* 2014; 15 (1): 23-34.
8. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer* 2005; 41: 28-44.
9. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer* 2005; 41 (1): 45-60.
10. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer* 2005; 41: 2040-2059.

11. Joosse A, Collette S, Suci S, et al. Sex is an independent prognostic indicator for survival and relapse/progression-free survival in metastasized stage III to IV melanoma: a pooled analysis of five European organisation for research and treatment of cancer randomized controlled trials. *J Clin Oncol* 2013; 31 (18): 2337-2346.
12. Joinpoint Regression Program, Version 4.0.4, May 2013; Statistical Methodology and Applications Branch, Surveillance Research Program, National Cancer Institute.
13. Karim-Kos HE, de Vries E, Soerjomataram E, et al. Recent trends of cancer in Europe: A combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1345-1389.
14. Bosetti C, Bertuccio P, Malvezzi M, et al. Cancer mortality in Europe, 2005-2009, and an overview of trends since 1980. *Ann Oncol* 2013; 24: 2657-2671.
15. Autier et al. The forthcoming inexorable decline of cutaneous melanoma mortality in light-skinned populations. *Eur J Cancer* 2015; 51 (7): 869-878.
16. The UN World Tourism Organization (UNWTO). Available at: www.e-unwto.org/content/v486k6/?v=search.
17. Stratigos A, Forsea AM, van der Leest RJT, et al. Euromelanoma: a dermatology-led European campaign against nonmelanoma skin cancer and cutaneous melanoma. Past, present and future. *Br J Dermatol* 2012; 167 (Suppl): 99-104.
18. Van der Leest RJT, de Vries E, Bulliard J-L, et al. The Euromelanoma skin cancer prevention campaign in Europe: characteristics and results of 2009 and 2010. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25: 1455-1465.
19. World Bank 2010. Available at: data.worldbank.org/indicator/SH.XPD.PCAP/countries.
20. Eriksson H, Lyth J, Månsson-Brahme E, et al. Low level of education is associated with later stage at diagnosis and reduced survival in cutaneous malignant melanoma: a nationwide population-based study in Sweden. *Eur J Cancer* 2013; 49 (12): 2705-2716.
21. Tsimberidou AM, Eggermont AM, Schilsky RL. Precision cancer medicine: the future is now, only better. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2014; 61-69.
22. Eggermont AMM, Robert C. Melanoma: smart therapeutic strategies in immuno-oncology. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11: 181-182.
23. Eggermont AMM, Spatz A, Robert C. Cutaneous melanoma. *Lancet* 2014; 383: 816-827.

ГЕНЕТИЧНИ ПРОФИЛИ НА МЕЛАНОМ

чл. кор. проф. д-р Драга Тончева, дбн

Катедра по медицинска генетика, Медицински университет – София

ГЕНЕТИЧНИ ПРОФИЛИ НА МЕЛАНОМ

чл. кор. проф. д-р Драга Тончева, дбн

Катедра по медицинска генетика, Медицински университет – София

ОБЗОР

Молекулните профили на туморните геноми и експресионната характеристика на меланомите могат да дадат ценна информация за определяне на прогнозата и индивидуалната терапия на пациентите.

Известно е, че меланомите могат да бъдат генетично класифицирани според типа на герминативните и соматичните генни мутации. В основата на наследствените карциноми лежат мутации в гените: *CDKN2A*, *POT1*, *CDK4* и *CDK6*, *BAP1*, *PTCH*, в други минорни гени: *MC1R*, *MITF* и др. Широко мащабни изследвания на соматични мутации в меланомите чрез екзомно секвениране разкрива нови значими изменения и потвърждава данните, че най-често срещани са *BRAF*- и *NRAS*-мутации. Въпреки тяхната изяснена роля за туморната характеристика, мненията за прогностичната им стойност са противоречиви. Тумори с див тип *BRAF*- и *NRAS*-гени съдържат патологични варианти в *NF1* и *KIT*. Съществена генетична характеристика на меланомите са промени в *CDKN2A*, *CDK4*, *CCND1*, *RB1*. Съвременните изследвания показват, че съществуват различни активирани и инактивирани пътища, определящи молекулната патогенеза на меланомите.

Генно експресионното профилиране разкрива нови биомаркери и генни сигнатури, които корелират с туморната прогресия и представлява важен принос за индивидуализиране на диагнозата и терапията на пациентите.

Увод

Статистиката показва, че 5% до 10% от пациентите с меланом имат най-малко още един болен родственик. Рискът за заболяване е съответно два пъти по-висок за деца на болен родител, три пъти – за братя и сестри на пробанда и девет пъти – за деца на двама болни родители.¹ При някои фамилни случаи наследяването на генетичния дефект

показва автозомно-доминантно предаване в потомството, а при други следва полигенен тип на унаследяване.

Високо рискови гени за фамилен меланом

Герминативни мутации във високо рискови и в по-ниско рискови гени са свързани с фамилни меланоми.²

CDKN2A. Това е тумор-супресорен ген, локализиран върху 9-та хромозома и кодира два генни продукта: p16 и p14ARF. p16 е известен като инхибитор на 2A на циклин-зависими кинази (CDK4 и CDK6) и представлява тумор-супресорен протеин. Варианти в *CDKN2A* локуса предразполагат към развитие на меланом, ако се отразят върху активността на p16 или p14ARF или едновременно засегнат функцията на двата генни продукта. Патологични мутации в *CDKN2A* са най-значимата причина за наследствените меланоми, тъй като са диагностицирани при 20-40% от пациентите. Те създават висок генетичен риск за носителите им (Фиг. 1)

CDK4 и *CDK6*. Циклин-зависимите кинази (CDK4 и CDK6) играят важна роля в G1 до S фазата на клетъчния цикъл. Фосфорилирането на ретинобластомния протеин (Rb) от циклин-зависими кинази в G1 фаза на клетъчния цикъл освобождава транскрипционни фактори, предизвикващи експресия на гени и метаболитни промени, които предшества ДНК-репликацията и позволяват на клетката да премине през клетъчния цикъл. Тези гени действат в един и същ сигнален път с *CDKN2A*. Герминативна мутация в *CDK4* е много рядка при семейства с меланом и тя води до замяна на аминокиселина на 24-та позиция. Мутацията нарушава свързването с p16 и съответно – пос-

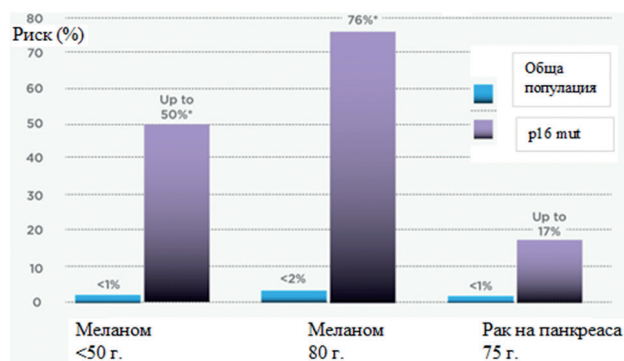
ледващото инхибиране на CDK4. *CDK4^{mut}* ген става постоянно активен и действа като доминантен онкоген.

POT1. Във фамилии с наследствени меланоми, в които липсват мутации в *CDKN2A* или *CDK4*, са идентифицирани несинонимни мутации в гена *POT1* (Ser270Asn, Tyr89Cys, Arg137His и Gln623His). Тяхната честота е около 4% от наследствените меланоми. *POT1* се свързва с едноврижни повторни теломерни райони и се предполага, че помага за поддържане дължината на теломерите. Клиничната полза от тестване на този ген все още не е установена.

BRCA-асоцииран протеин 1 (BAP1). *BAP1* е тумор-супресорен ген, асоцииран както със спорадични, така и с наследствени меланоми. Той е инактивиран при 84% от пациентите с метастазирал увеален меланом. В две семейства с множествени меланоцитни тумори са идентифицирани герминативни мутации на *BAP1*, които се унаследяват по автозомно доминантен модел. Пациенти с герминативни *BAP1*-мутации имат повишен риск за белодробен аденокарцином, мезотелиом, парагангиома и светлоклетъчен карцином на бъбрек.

Мутацията (p.Leu570Val) в *BAP1*-гена, идентифицирана в семейство с многобройни случаи на меланом, нарушава сплайсинга и води до промяна на рамката на четене. Тя е свързана със случаи на увеален меланом и парагангиома.

Синдром на Gorlin (NBCCS, Nevoid Basal Cell Carcinoma синдром). Той е генетично заболяване, дължащо се на мутации в гена *PTCH*, които повишават риска за развитие на базоцелуларен карцином на кожа и други симптоми, вариращи между пациентите – кисти на челюст, костни деформации, инфекции и др. В състояние на клетъчен покой трансмембраният рецепторен протеин (*PTCH1*) подтиска седем-трансмембранен протеин (Smo-Smoothened) и предотвратя-



Фигура 1. Риск за меланом при носители на p16 mut.

ГЕНЕТИЧНИ ПРОФИЛИ НА МЕЛАНОМ

ва сигналната трансдукция. При свързване на специфичен лиганд *PTCH1* престава да инхибира Smo, в резултат на това се активират транскрипционни фактори (GLI1, GLI2), гени на клетъчната пролиферация (циклин D, циклин E, мус) и регулатори на ангиогенезата. Така балансът между *PTCH1* (инхибиране) и Smo (активиране) осъществява фина регулация на сигналната трансдукция. При мутации, водещи до загуба на *PTCH1* функция или придобиване на Smo функция, балансът се променя към активиране на сигналната мрежа, което е ключово събитие в неопластичната трансформация. Типът на унаследяване *PTCH1* мутации е автозомно-доминантен, а рискът за предаване на патологични варианти от родител в потомството е 50%.

Минорни гени за фамилен меланом (генни модификатори)

MC1R (*alpha melanocyte-stimulating hormone receptor*). При герминативна мутация този ген създава предразположеност към меланом и се свързва със следния фенотип: червена коса, чувствителност към слънчеви лъчи, а при липса на червена коса – и лунички. Мета-анализ показва най-висок риск от меланом при лица с *MC1R*-варианти при червенокоси пациенти, но тази асоциация остава противоречива. Друг мета-анализ показва, че рискът за меланом е най-висок при лица, които носят *MC1R*-варианти и имат фенотип, считан за протективен – добър тен, по-тъмна коса и тъмна кожа. Установена е връзка на *MC1R* вариант (R163Q) с меланом тип *lentigo maligna* и с базоцелуларен карцином. *MC1R*-варианти могат да променят риска за меланом при хора с *CDKN2A*-мутации. Мета-анализ доказва, че при индивиди, носители на *CDKN2A*

мутации и на повече от един вариант в *MC1R*, рискът от меланом се повишава почти четирикратно. Средната възраст за развитие на меланом намалява с десет години (от 47 на 37 години) при индивиди с един или повече варианти в *MC1R*.

Други пигментни гени, които при мутации създават чувствителност за развитие на меланом, са тирозиназа (*Tyr*), TYR-свързан протеин 1 (*TYRP1*) и *ASIP*.

MITF (*microphthalmia-associated transcription factor*). Това е транскрипционен фактор, който регулира множество важни гени за функцията на меланоцитите. Генният вариант E318K нарушава нормалната пост-транслационна модификация (SUMOylation) на *MITF*. Вариантът е открит в шест семейства, отрицателни за *CDKN2A*-и *CDK4*-мутации. Индивиди с вариант E318K са с по-бледа кожа, с множество невуси и множество първични меланоми. Данните показват, че вариантът E318K може да създава умерен риск за меланом, повишен около два пъти, но те остават спорни.

BRCA2. Breast Cancer Linkage Consortium установява, че мутации в *BRCA2* повишават относителния риск от меланом два пъти, но тези данни не са потвърдени в други големи проучвания. Като цяло, доказателствата за повишен риск от меланом при носители на *BRCA2*-мутации са противоречиви.

Други фамилни карциноми, съдържатели гени за предразположеност

Наследствени синдроми, като синдром на *Li-Fraumeni* (LFS), ксеродерма пигментозум (XP) и наследствен ретинобластом повишават значително риска от развитие на меланом. За повече информация виж раздел *Рискови фактори*, (www.mmmp.org/MMMP/import.mmmp?page=riskfactors.mmmp).

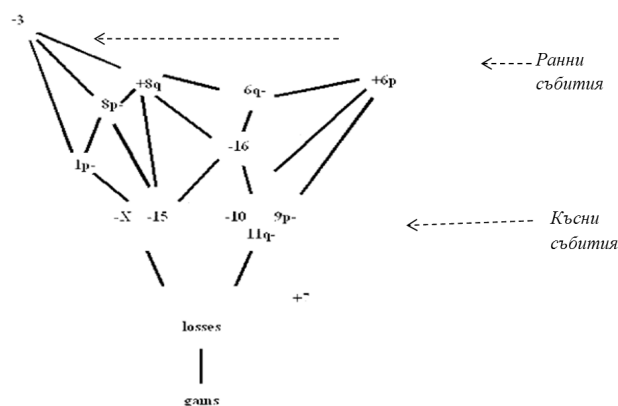
Синдром на Li-Fraumeni (LFS). Генът *TP53* кодира протеин p53. Той играе централна роля в клетъчния цикъл като “пазител на генома” при настъпване на ДНК-повреди и запазва клетките от натрупване на грешки в генетичния код. Соматични мутации в този ген настъпват в около 50% от всички спорадични тумори. Герминативни мутации в *TP53* са свързани със синдрома на *Li-Fraumeni*, който се характеризира с предразположение към различни видове тумори. Класически индикатори за LFS са: (1) пробанд със сарком, диагностициран преди 45-та година; (2) родственик от първа степен на възраст под 45 години с всеки тип карцином; (3) допълнителен роднина на възраст под 45 години от първа или втора степен в същата фамилна линия с всеки тип карцином или сарком на всяка възраст. Мутации в *TP53* са открити в 77% от случаите с LFS. Много изследвания доказват асоциация с меланом, но мненията се различават, тъй като абсолютният брой на случаи с меланом е нисък. Други семейства с карциномни синдроми като неврофиброматоза, карцином на панкреас, тумори на мозък и карцином на гърда също могат да бъдат предразположени към меланом.

Ксеродерма пигментозум (XP). Това е рядка генетична болест, която се унаследява по автосомно-рецесивен тип. Характеризира се с чувствителност към слънчева светлина и силно повишен риск (над 1000 пъти) за кожни и очни неоплазми: базоцелуларен и плоскоклетъчен карцином, меланом. Дължи се на мутации в гените *ERCC3 (XPB)*, *XPC*, *ERCC2 (XPD)*, *DDB2 (XPE)*, *ERCC4 (XPF)*, *ERCC5 (XPG)* и *POLH (XP-V)*. Мутации в ген *XPC* са идентифицирани при 50% от пациентите. Те смущават изрязването на нуклеотиди и по този механизъм нарушават поправката на ДНК при настъпили нарушения под действието на ултравиолетови лъчи, което води до геномна нестабилност.

Наследствен ретинобластом. Активният протеин pRB предпазва клетката от растеж чрез подтискане на клетъчния цикъл, ако тя не е подготвена за делене. При фосфорилиране на протеина той става неактивен и позволява на клетката да премине от G1 в S фаза. Според класическата хипотеза за двойния удар на Knudson герминативна мутация в *RB1*-гена може да се наследи и да повиши риска за възникване на втора соматична мутация. При инактивиране на *RB1*-гена възниква наследствен ретинобластом и предразположеност към други ракови заболявания (саркоми и меланом).

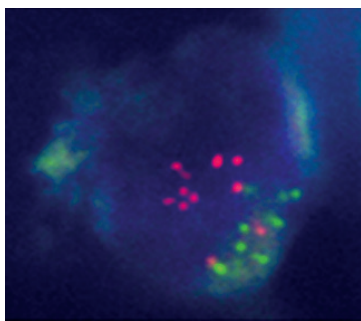
Молекулна биология на спорадичните меланоми

Нестабилни хромозомни локуси при кожни меланоми. При анализ на 307 туморни кариотипи е установено, че делецията на хромозома 3 и гейна на късото рамо на хромозома 6 са двете най-ранни взаимноизключващи се хромозомни изменения. Това наблюдение предполага съществуването на два различни пътя на развитие на меланоми (Фиг. 2).³

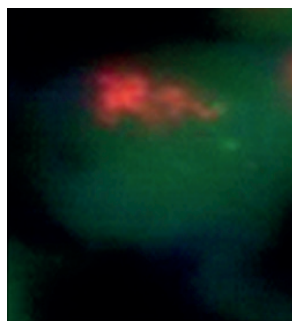


Фигура 2. Графично представяне на двата основни цитогенетични пътя, разкрити чрез статистически методи при анализ на 307 меланомни кариотипа.

ГЕНЕТИЧНИ ПРОФИЛИ НА МЕЛАНОМ



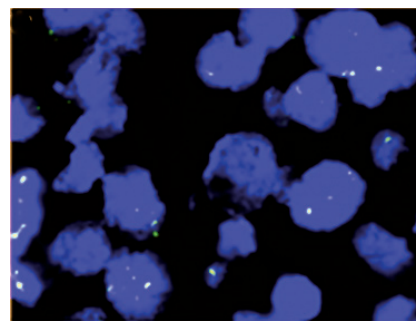
Фигура 3а. Единични клетки с повишен брой копия на *C-MYC* гена (гейн).



Фигура 3б. Единични клетки с клъстерна амплификация на *C-MYC*.



Фигура 3в. *ZNF217* и *MYBL2* генни копия в ядра от туморни клетки, включени в меланомен тъканен микрочип.



Посочените ранни събития са следващи от изменения в хромозоми 1, 8, 9, 10, 11, 15, 16 и X. Графичното представяне на резултатите показва съществуването на групи от хромозомни изменения във времето, представени само от делеции или само от гейн. В допълнение анализът разкрива, че кариотипният модел на меланомите е високо специфичен.

Собствени изследвания на спорадични меланоми

За определяне честотата на изменения в гените *CCND1*, *C-MYC*, *STK6*, *CYP24*,

ZNF217 и *MYBL2* са използвани 189 първични меланоми и 87 меланомни метастази, аранжирани в тъканни микрочипове, изградени от нас.⁴⁻⁶ За визуализиране на *CCND1*- и *C-MYC*-генни копия са използвани директно белязани ДНК-проби, докато за детекция на *STK6*, *CYP24*, *ZNF217* и *MYBL2* генни копия са използвани специално конструирани ВАС-клонове. Типът и честотата на измененията в броя на копията на гените са представени на Фиг. 3 (а, б, в) и Табл. 1а, б.

При кожни меланоми амплификации-те на гени *MYBL2*, *ZNF217*, *CYP24* и *STK6* са рядко явление, докато бройните аберации

Таблица 1а. Разпределение на повишен брой копия на *C-MYC* и *CCND1* при първични меланоми и меланомни метастази.

Параметри	Анеупл. бр. (%)	<i>C-MYC</i>			<i>CCND1</i>		
		Гейн бр. (%)	Ампл. бр. (%)	Общо бр. (%)	Гейн бр. (%)	Ампл. бр. (%)	Общо бр. (%)
Първични меланоми	21 (15.11)	5 (3.60)	1 (0.72)	27/139 (19.42)	1 (0.61)	8 (4.88)	8/164 (5.49)
Меланомни метастази	14 (25.0)	1 (1.79)	-	15/56 (26.79)	-	4 (6.56)	4/61 (6.56)
Общ брой	35 (17.95)	6 (3.08)	1 (0.51)	195 (21.54)	1 (0.44)	12 (5.24)	229 (5.68)

Легенда: анеупл. – анеуплоидия, ампл. – амплификация

Таблица 1б. Разпределение на повишен брой копия на *STK6*, *CYP24*, *ZNF217* и *MYBL2* при първични меланоми и меланомни метастази.

Параметри	Анеупл. бр. (%)	<i>STK6</i>		<i>CYP24</i>		<i>ZNF217</i>		<i>MYBL2</i>	
		Гейн бр. (%)	Ампл. бр. (%)	Гейн бр. (%)	Ампл. бр. (%)	Гейн бр. (%)	Ампл. бр. (%)	Гейн бр. (%)	Ампл. бр. (%)
Първични меланоми	30 (23.44)	6 (5.94)	1 (0.99)	4 (3.64)	1 (0.91)	5 (5.68)	1 (1.14)	3 (2.88)	3 (2.88)
Меланомни метастази	22 (37.93)	4 (7.55)	1 (1.89)	6 (10.34)	1 (1.72)	5 (11.90)	1 (2.38)	5 (11.9)	0
Общ брой	53 (28.34)	10 (6.45)	2 (1.29)	10 (5.85)	2 (1.17)	10 (7.63)	2 (1.53)	8 (5.41)	3 (2.03)

Легенда: анеупл. – анеуплоидия, ампл. – амплификация

на хромозома 20 се срещат често. За първи път е установено комбинирано изменение на *СМУС/CDKN2A*. Анализът показва, че пациенти с тумори, които са носители на комбинирано изменение *CDKN2A/C-МУС*,

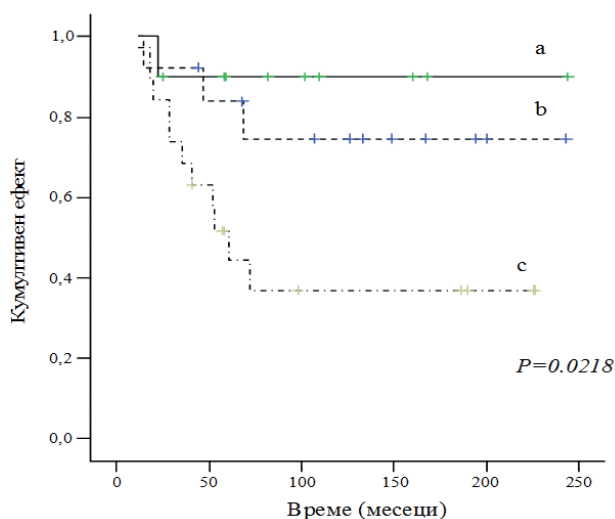
имат значително по-добра преживяемост, отколкото носители само на *CDKN2A*-делеция ($p = 0.0218$) (Фиг. 4).

Соматични мутации при кожни меланоми

Най-често срещани са соматични мутации в гена *BRAF*, следвани от мутации в гените *NRAS* и *cKIT* (Фиг. 5).





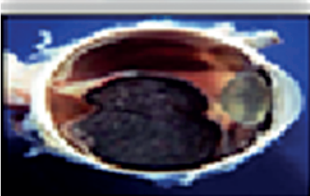
Мутации в тумор-супресорен ген *TP53* се срещат с честота (~15%) от всички меланоми. Туморната подгрупа *BRAF^{mut}* по-често асоциира с експресия на *cMET*, туморите *NRAS^{mut}* нямат експресия на *ERCC1*, а при *cKIT^{mut}* липсва *PGP*-експресия. Туморите с мутации (*BRAF^{mut}*, *NRAS^{mut}*, *cKIT^{mut}*) показват експресия на гените *MGMT*, *SPARC*, *TOP2A*, *TOPO1*, *TS*, *TUBB3* и *RRM1*, свързани с пътища, създаващи множествена хеморезистентност.

Тройно негативни меланоми. Пациентите с тройни негативен див тип (3 x WT) варианти също представляват важна група, която се нуждае от потенциални целеви терапии. Честотата на меланомите с *BRAF^{mut}*, *NRAS^{mut}*, *cKIT^{mut}* и 3 x WT са съотв. 30%, 26%, 3.7% и 40% от всички меланоми. Трой-



Фигура 4. Криви на Карпан-Меер: (a) тумори с комбинирано *CDKN2A/C-МУС*-изменение; (b) тумори с нормален брой копия на *CDKN2A* и *C-МУС* и (c) тумори със самостоятелна делеция на *CDKN2A*. Кривата показва, че носители на самостоятелна делеция на *CDKN2A* имат значително по-кратка преживяемост, отколкото пациенти с тумори, съдържащи комбинирана *CDKN2A/C-МУС*.

ГЕНЕТИЧНИ ПРОФИЛИ НА МЕЛАНОМ

	Меланомът възниква без хронично слънчево въздействие	→	50% BRAF 20% NRAS
	Меланомът възниква при хронично слънчево въздействие	→	10% BRAF 10% NRAS 2% KIT
	Меланомът възниква върху мукоза	→	5% BRAF 15% NRAS 20% KIT
	Меланомът възниква върху акрална повърхност	→	15% BRAF 15% NRAS 15% KIT
	Увеален меланом	→	32% GNA11 50% GNAQ 1% BRAF

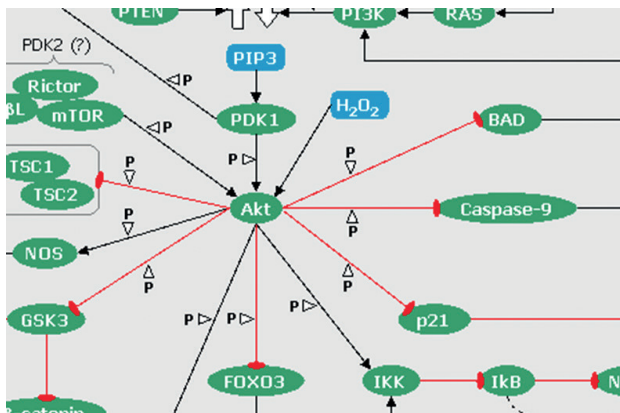
Фигура 5. Честота на соматични мутации при меланоми (стадий IV)⁷.

но негативните меланоми имат мутационен спектър, различен от другите молекулни подгрупи, който се характеризира с мутации в *KRAS*, *JAK3*, *cMET*, *GNA11*, *GNAQ*, *APC*, *KDR*, *BRCA1*, *ERBB4*. Не са открити мутации в *Akt*, *BRCA2*, *IDH1*, *CSF1R*, *GNAS*, *Notch1*, *Smo*, *STK11*, *VHL*, *MLH1*, *MPL*, *MPM1* и *PD-L1* (K. Homicsko et al.)

Молекулни пътища, нарушени при спорадични меланоми

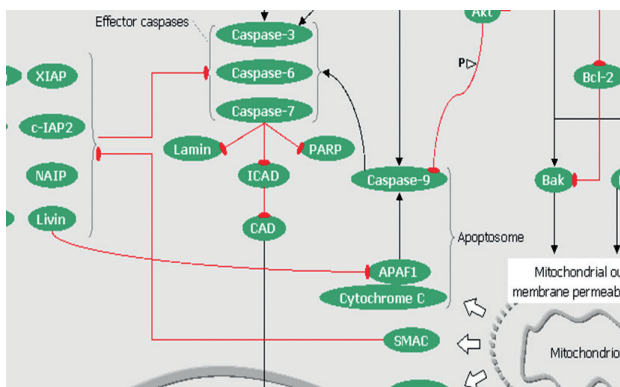
Молекулните пътища, които водят до развитие на спорадични мелано-

ми при настъпили соматични мутации са свързани с тирозин киназни рецептори (TKR) (като VEGFR, HER, TGFBR), мрежите Ras/Raf/MEK/ERK; PI3K/Akt/PTEN/mTOR; регулатори на клетъчния цикъл (Rb/p53/p16INKA/p14ARF/HDM2), епигенетични регулатори на генна експресия (DNA метилатори, хистонови ацетилатори и microRNA), пътя на програмираната клетъчна смърт (apoptosis) (FAS, TRAILR, TNFR; митохондриален път: Bcl2 фамилия), апоптозни ефектори (каспази), шаперони и HSP, proteasome (Фиг. 6а-6е) (Melanoma Molecular Map Project www.mmmp.org/MMMP/).



Фигура 6а. Пътища през АКТ/PI3K.

Акт-серин/треонин киназа (протеин киназа В, РКВ) е ключов регулатор на клетъчния цикъл. Генът *Akt* има повишена активност в спорадичните метастатични меланоми, въпреки че не съдържа активиращи мутации. Активността на *Akt* се засилва в резултат на понижена *PTEN*-активност. *PTEN* е фосфатаза, която е негативен регулатор на Акт. *PTEN* преобразува *PIP3* (фосфатидилинозитол трифосфат) до *PIP2*. Предполага се, че активността на *PTEN* може да бъде подтисната от комбинираното действие на мутационни и епигенетични събития при 60% от спорадичните меланоми. *PI3K/АКТ*-пътят играе важна роля за възникване на придобита резистентност към *BRAF*-инхибитори в *BRAF^{mut}* меланоми по механизма на свръхрегулация, геномна диверсификация и клонална еволюция (Hubling Shi).

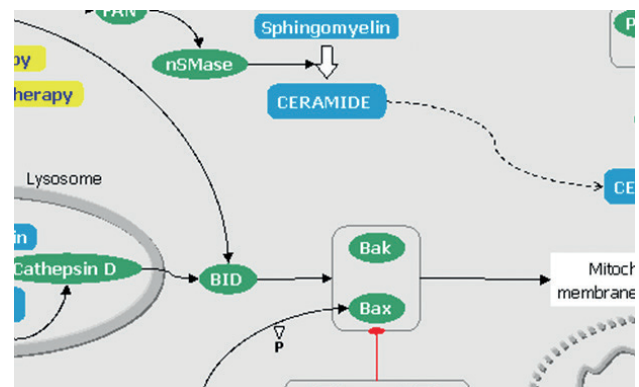


Фигура 6б. Апоптозни пътища.

Апоптозата е ключово събитие в онкогенезата, вкл. в молекулната биология на меланом. Апоптозните пътища (присъщ или митохондриален и неприсъщ или рецептори на смъртта) и техните сложни връзки са изобразени на Фиг. 6б.

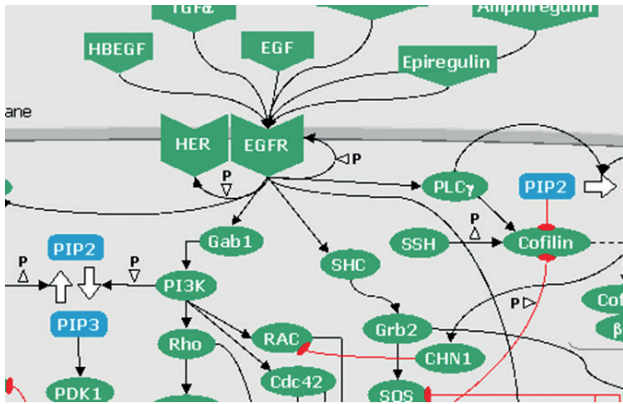
Сфинголипидите са не само структурни компоненти на клетъчните мембрани, но и действат като сигнални молекули и регулират основни клетъчни функции. Церамидът (сфингозин-базирана липидна молекула) е ключов регулатор на много биологични процеси като клетъчна диференциация, пролиферация, апоптоза и стареене. Церамидът има проапоптозен ефект, а сфингозин-1-фосфатът (*S1P*) – антиапоптозен ефект. Съотношението между церамид и сфингозин-1-фосфат (*S1P*) играе важна роля за “решението” на клетката да се насочи към апоптоза или към пролиферация. Нарушеният баланс между тези две събития в полза на церамида лежи в основата на развитието и растеж на туморите, включително на меланом (Фиг. 6в).

Ролята на рецептора на епидермалния растежен фактор (*EGFR*) за развитието на различни карциноми е установена (Фиг. 6г). Данните за експресия на *EGFR*-протеина при меланоми са противоречиви. Изследвания с *FISH* техника привеждат доказателства за повишена активност при меланоми, свързана с по-лоша прогноза. Допуска се,



Фигура 6в. Церамидни пътища.

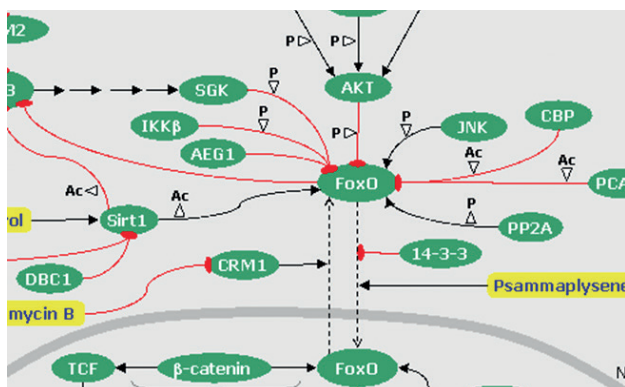
ГЕНЕТИЧНИ ПРОФИЛИ НА МЕЛАНОМ



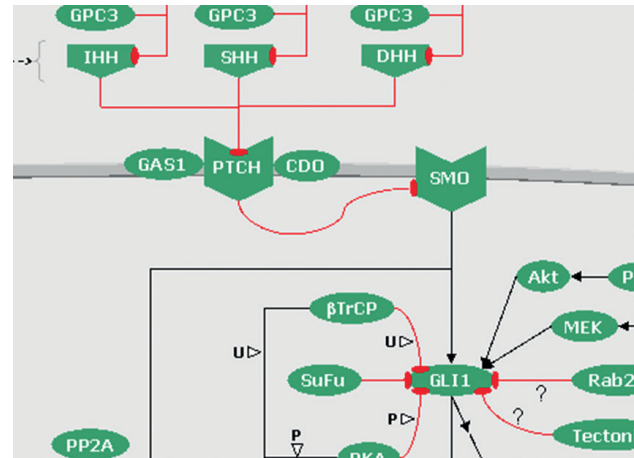
Фигура 6г. EGFR-пътница.

че EGFR вероятно е свързан с прогресията и метастазирането на подгрупи меланоми. При BRAF V600-мутантни меланоми експресията на EGFR асоциира с придобитата резистентност към BRAF-инхибитори.^{10, 11} В *in vivo* експерименти с мишки *cetuximab* подтиска образуването на метастази, което вероятно представлява терапевтична опция за тези тумори.

FOXO-протеините представляват суперфамилия, включваща повече от 100 членове. Те играят роля на транскрипционни фактори, свързани с ключови клетъчни процеси – апоптоза, клетъчна пролиферация, резистентност към оксидативен стрес. Меланомите обикновено са резистентни на химиотерапия. Тази резистентност може да бъде свързана с дефекти в сигналните пътища на рецепторите за клетъчна смърт и



Фигура 6д. FOXO-пътница.



Фигура 6е. Hedgehog-пътница.

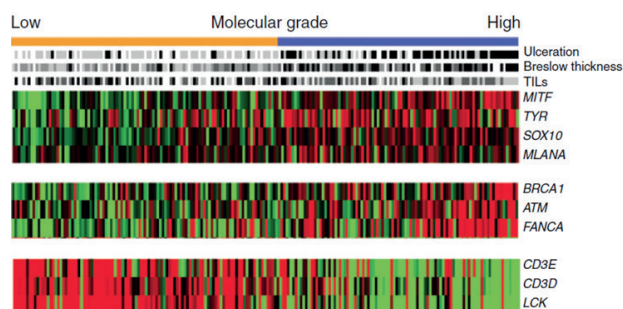
дефекти в индуциране на апоптозата. FOXO-семейството на транскрипционни фактори индуцира експресията на лиганди за рецептори на смъртта, като Fas-лиганд (Fas-L), което води до апоптоза (Фиг. 6д).

Hedgehog-сигналният път (НН), Wnt и Notch играят първостепенна роля в морфогенезата и основателно се допуска, че тези сигнални мрежи имат значение за молекулярната биология на меланомите (Фиг. 6е).

Прогностични фактори

Въпреки факта, че кликопатологичните фактори в момента са най-надеждни предиктори, никой от тях не може точно да предскаже прогнозата за всеки пациент. Тъй като злокачественият фенотип е определен от комплекс от сложни молекулни нарушения в туморните клетки, използването на нови геномни технологии в областта на молекулярната онкологията ще разкрие в бъдеще нови и по-ефективни прогностични инструменти. За някои от тях (напр. *Akt*, *MITE*, *PTEN*, *Bcl-2*, *NCOA3*) има данни за прогностична стойност, но тези изследвания са все още в зародиш.

Познаването на молекулярната организация на ранните меланоми може да допълни хистопатологията и евентуално да пред-



Фигура 7. Молекулни профили на първични меланоми с ниска и висока степен на туморно развитие¹³.

скаже тяхното развитие. Данните на *Harbst K, et al.*¹³ разкриват различна експресионна структура при първични меланоми с молекулен профил за нисък и за висок риск. Меланомите с висок риск се характеризират с висока експресия на MITF-свързани гени (*MITF, TYR, SOX10, MLANA*) и BRCA-свързани гени (*BRCA1, ATM, FANCA*) и с ниска експресия на гени, свързани с имунитета (*CD3E, CD3D, LCK*) (Фиг. 7).

Рискът за метастази при меланоми (стадий I/II) може да бъде определен с теста DecisionDx-Melanoma (Castle Bioscience, Inc., Friendswood, TX), чрез изследване на генно експресионни профили (GEP) на 28 специфични и 3 контролни гени. С този тест меланомите се диференцират на високо и ниско рискови. Рискът, определен чрез експресионни сигнатури, се различава значително от риска за метастазиране, базиран на TNM-стадиране. Той не зависи от използваните в момента показатели за оценка: дебелина по *Breslow*, разязвяване (присъства или отсъства), кожен митотичен индекс, микросателити (присъства или отсъства). Актуализираните резултати на Castle Biosciences, Inc., получени от най-нови изследвания с теста за неинвазивно генно експресионно профилиране, показват, че GEP-тестът може да идентифицира точно висок риск за туморна прогресия при пациенти с междинна дебелина (T2/T3) на

меланом, независимо от статуса на биопсирани сентинелни лимфни възли (СЛБ) и улцерации. GEP-тестът е по-добър предиктор от СЛБ, а в комбинация те подобряват точността на прогнозата. При пациенти с негативна СЛБ и висок GEP-риск анализът по *Kaplan-Meier* показва, че петгодишната преживяемост без прогресия, липсата на далечни метастази и общата преживяемост са съотв. 35%, 49% и 54%. Данните от проучването доказват, че GEP-тестът е обективен предиктор на риска за метастази при пациенти с негативна СЛБ.¹⁴

Прогнозата за меланоми в стадий III се гради на хистология и брой на въввлечени лимфни възли, но тези характеристики не отразяват широката туморна хетерогенност в тази група пациенти. Нови експресионни проучвания на регионални метастази доказват, че генните сигнатури съдържат прогностична информация: пациенти с тумори, класифицирани на базата на висок имуноен отговор, имат по-добра преживяемост от тези с пигментни или пролиферативни тумори.¹⁵

Заклучение

Изследванията с нови генни технологии осигуряват бързо развитие на познанията за молекулно стадиране на меланомите и въвеждане на персонализирана терапия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hemminki K, et al, Familial and attributable risks in cutaneous melanoma: effects of proband and age. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 217-223.
2. Julia A, et al, Familial melanoma. Melanoma molecular map project. Available at: www.mmmmp.org/mmmmp/
3. Hoglund M, et al. Dissecting karyotypic patterns in malignant melanomas: temporal clustering of losses and gains in melanoma karyotypic evolution. *Int J Cancer* 2004; 108: 57-65.

ГЕНЕТИЧНИ ПРОФИЛИ НА МЕЛАНОМ

4. Койнова Д. Анализ на генетичните изменения в нестабилни хромозомни локуси при два типа тумори – ларингеални карциноми и кожни меланоми. *Докторска дисертация*, 2006.
5. Koynova D, et al. Increased C-MYC copy numbers on the background of CDKN2A loss is associated with improved survival in nodular melanoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133 (2): 117-123.
6. Koynova D, et al. Gene specific fluorescence in-situ hybridization analysis on tissue microarray to refine the region of chromosome 20q amplification in melanoma. *Melanoma Res* 2007; 17: 37-41
7. Lovly C, et al. My Cancer Genome 2015; Available at: www.mycancergenome.org/content/disease/melanoma/
8. Homicsko K, et al. Triple wild type melanoma profiling in the Caris Molecular Intelligence registry. ASCO Annual Meeting 2015. *J Clin Oncol* 33, 2015 (Suppl; Abstr 9054).
9. Hubing Shi, et al. Acquired resistance and clonal evolution in melanoma during BRAF inhibitor therapy. *Cancer Discov* 2014; 4 (1): 80-93.
10. Sun Chong, et al. Reversible and adaptive resistance to BRAF(V600E) inhibition in melanoma. *Nature* 2014; doi:10.1038/nature13121
11. Gross A, et al. Expression and activity of EGFR in human cutaneous melanoma cell lines and influence of vemurafenib on the EGFR pathway. *Target Oncol* 2015; 10 (1): 77-84.
12. Keller J, et al. Wnt and related signaling pathways in melanomagenesis. *Cancer* 2010; 2: 1000-1012.
13. Harbst K, et al. Molecular Profiling Reveals Low- and High-Grade Forms of Primary Melanoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18 (15): 4026-4036.
14. Gerami P, et al. Gene expression profiling for molecular staging of cutaneous melanoma in patients undergoing sentinel lymph node biopsy. *J Am Acad Dermatol* 2015; 72 (5): 780-785.
15. Cirenajwis H, et al. Molecular stratification of metastatic melanoma using gene expression profiling: Prediction of survival outcome and benefit from molecular targeted therapy. *Oncotarget* 2015; 6 (14): 12297-12309.

**ИМУНОЛОГИЯ НА МЕЛАНОМ – МЕХАНИЗМИ
И ТАРГЕТИ**

проф. д-р Милчо Минчев, дмн

НСБАЛХЗ – София

ИМУНОЛОГИЯ НА МЕЛАНОМ – МЕХАНИЗМИ И ТАРГЕТИ

проф. д-р Милчо Минчев, дмн

НСБААХЗ – София

ОБЗОР

Статията е литературен обзор върху съвременните модели за антигенно скулптуриране и възможности за имунотерапия при меланом. Подробно е разгледана концепцията за т.нар. туморно имуноредактиране и неговите последователни фази. В имунотерапията използването на ваксини се комбинира с адюванти, както и с агенти, блокиращи имunosупресивното действие на т.нар. checkpoint-блокатори. За блокиране на PD-1 са разработени и одобрени *pembrolizumab* и *nivolumab* . Антитуморният ефект на конвенционалната химиотерапия се дължи на активиране на имунната система поради подтискане на имunosупресивни механизми. Дискутира се възможността имунната система да стане основно оръжие в арсенала на медицинската онкология.

Увод

Основна функция на имунната система е разпознаване на собствените антигени от чуждите.¹ Двете заболявания, които нарушават тази дихотомия, са автоимунните и неопластичните. Имунната система трябва да не реагира срещу собствените антигени и автоимунните болести обикновено са резултат от неспособност на регулаторните механизми да поддържат толеранса към тях. Обратно на това – въпреки наличието на ефектори, с които имунната система може да елиминира малигненни клетки, наблюдават се напоследък доказателства сочат за наличие на множество механизми, чрез които туморите избягват това.

Антигенно скулптуриране

Едно от най-важните развития в областта на туморната имунология е въвеждането на концепцията за туморното имуноредактиране, т.е. антигенно скулптуриране на тумора под въздействие на имунната система.^{2,3} Като резултат от това имуноредактиране пролиферационно предимство имат по-слабо антигенни и неимуногенни туморни клетки, клетки, резистирани на апоптоза, или клетки с повишена имunosупресивност. Имуноредакцията преминава през три ключови Т-клетъчно зависими фази – (А) на елиминиране (elimination) вследствие на протективен имунитет, (Б) на равновесие (equilibrium), при която туморни клетки, оцеляли след имунна атака, са в състояние

на латентност (летаргия) и (B) фаза на туморен растеж (escape), при която се появяват клинично проявяващи се тумори поради имунната селекция на туморни клетки с понижена имуногенност или повишена имуносупресивност.

Фаза на елиминиране. Меланомът е смятан за един от най-антигенните тумори.^{4,5} Причината са многото, над 34000 мутации, които създават потенциална възможност за синтез и експресия на нови, non-self, антигени. Антигеността на меланома се потвърждава от няколко феномена. Първият е т.нар. меланом-асоциирана, витилиго-подобна хипопигментация, която се появява понякога при авансиране на болестта. Причинена е от имунологична атака на Т-лимфоцити, сенсibiliзирани срещу нормални меланоцити от тирозиназата на меланомните клетки. Вторият феномен е спонтанната регресия на първичния тумор. Тя се причинява от тумор-инфилтриращите лимфоцити (TILs), сенсibiliзирани срещу антигени на меланомните клетки. За разлика от антителата, които разпознават пространствени конформации върху нативния антиген^{6,7}, Т-лимфоцитните рецептори реагират с фрагменти от белтъчната молекула на антигена (пептиди), експресирани в асоциация с тъканно-съвместими молекули⁸. Меланомните антигени и епитопите, които се разпознават от Т-лимфоцитите на пациента, могат да бъдат разделени в четири групи: (1) меланоцит-специфични меланозомални протеини или антигени на диференциацията, експресирани както от нормални меланоцити, така и от меланомни клетки; това са tyrosinase, tyrosinase-related protein 1 (TYRP1), gp100, melan-A/MART-1 и dopachrome tautomerase (DCT)⁹⁻¹¹; (2) герминативни (ембрионални) протеини, неекспресирани при соматични, но с реактивирана експресия при меланомни клетки (melanoma-associated antigen) и тумори на тестисите (NY-ESO, MAGE,

BAGE и GAGE)¹²⁻¹⁶; (3) свръхекспресия на собствени протеини, които са мутирали (β -catenin, MUM-1 и CDK4)¹⁷, инхибитор на циклин-зависимата киназа CD4IK p15 и N-acetylglucosaminyltransferase V¹⁸; (4) секвестрирани антигени – собствени протеини, които като антигени са скрити за имунните клетки.

Съществуват два различни модела за активиране на имунната система срещу туморните клетки. Първият, т.нар. модел на разузнаването, постулира, че туморите, представящи чужди антигени, се разпознават от различните звена на имунната система и биват елиминирани още при своята поява.¹⁹ Вторият се основава на схващането, че туморните клетки, подложени на стрес, освобождават фактори, възприемащи се като сигнал *опасност* от специализирани антиген-представящи клетки (дендритни, активирани макрофаги, В-лимфоцити). При наличие на такъв сигнал последните стимулират Т-лимфоцитен отговор. Главното в този модел е, че туморни клетки, които не се разпознават в контекста на опасност, не стимулират имуноен отговор.²⁰ Според втория модел стимулирането на Т-клетъчен имуноен отговор към меланомни антигени зависи от начина на представяне на последните. Наивните, нестимулирани досега Т-лимфоцити, могат да бъдат стимулирани само след представяне на антигена във вторичните лимфоидни органи от специализирани клетки. Най-ярки представители на тази популация са дендритните клетки.²¹ Разпознаването на антигените от Т-клетките върху мембраната на туморна или здрава паренхимна клетка не води до стимулация, а до парализа на лимфоцити. За да се стигне до ефективна стимулация, наивните Т-клетки се нуждаят най-малко от два сигнала.²² Докато първият идва от специфичното разпознаване на антигена от Т-клетъчния рецептор, то вторият, т.нар. костимулиращ,

произтича от взаимодействието на CD28 Т-рецептора с CD80 или CD86 върху антиген-представящата клетка.

Клетките естествени убийци (natural killer, NK cells) на вродената имунна система също играят роля в откриването и унищожаването на туморни клетки. Те разпознават туморни клетки, които не експресират клас I тъканно съвместими молекули – т.нар. хипотеза missing self.^{23, 24} Активността им се определя от баланса между позитивни и негативни сигнали. Позитивните сигнали постъпват чрез т.нар. Killer Activating Receptors (KARS), които реагират с продукти, индуцирани от клетъчен стрес – MHC class I chain-related (MIC) MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, ULBP3.²⁵⁻²⁷ Негативните сигнали идват от т.нар. killer inhibitory receptors (KIRS), като разпознаването на тъкан-съвместими молекули върху туморните клетки от KIRS блокира активирането на NK-клетките. При човека са открити две семейства от инхибиторни рецептори: имуноглобулин-подобни и лектин-подобни CD94-NKG2.

Други клетки, участващи в противотуморната защита, са макрофагите и неутрофилите.²⁸⁻³¹ Тези клетки отхвърлят тумори чрез разрушаване на туморния матрикс и васкулатура и чрез подтискане на неопластичната генезата. Нещо повече – те могат да представят туморни антигени и да стимулират имунни клетки като цитотоксични Т-клетки, NK-клетки и антиген-представящи клетки. При ранната радиална фаза на растеж на меланома често се открива лимфоцитна инфилтрация, водеща до пълно или частично разрушаване на тумора. Тази инфилтрация е един от критериите за отидиференциране на меланома от бенигнен невус. При последващата вертикална фаза на растеж по-рядко (в 10-20% от случаите) се наблюдава инфилтрат от TILs. По-високата степен на инфилтриране (brisk, non-brisk, scarce) е свързана

с по-добра преживяемост.^{32, 33} Туморната инфилтрация с CD4, CD8, CD68 макрофаги и HLA-DR-експресиращи клетки, дори при наличие на метастази в регионални лимфни възли, също корелира с по-добра преживяемост.³⁴

Фаза на постигане на равновесие (equilibrium) при непълно елиминиране на тумора.^{3, 35} Независимо че туморните клетки са антигенни, съществуват механизми, пречещи на тяхното елиминиране. Те са възникнали в процеса на еволюцията и целят потискане на имунологичната реакция към собствени антигени и в тях влизат централният толеранс, невъзможността за активиране на имунните клетки в периферните тъкани, външната регулация на Т-лимфоцитите (напр. въздействието на регулаторни Т-лимфоцити, на миелоидни имуносупресивни клетки, на супресивни цитокини като IL-10), както и вътрешна регулация на Т-клетките вследствие на неправилна и прекалена антигенна стимулация (анергия и изтощение).³⁶⁻³⁸

С напредване на болестта и липсата на пълноценно елиминиране на туморните клетки се достига до фазата на равновесие. Както се спомена по-горе, наивните Т-лимфоцити, освен от антиген-специфичния сигнал, се нуждаят от костимулация чрез взаимодействието CD28/CD80 или CD28/CD86. Докато CD28 експресията върху Т-лимфоцитната мембрана настъпва след ангажиране на антигенния им рецептор, в цитоплазмата им съществува пресинтезиран лиганд за CD80 и CD86 – т.нар. CTLA4.³⁹ Свързването на CTLA4 с CD80 и CD86 обаче води до тяхната парализа (анергия), като това е един от механизмите за контрол на автоимунните реакции – слабите ангажирания на Т-клетъчния антиген-специфичен рецептор не водят до имунна реакция.⁴⁰ Фактът, че *in vitro* стимулирани CD8+ туморинфилтриращи лимфоцити не произвеждат

IFN- γ ⁴¹, показва, че много от развилите се вече тумори са инфилтрирани от инактивирани/анергизирани клетки⁴². Разработени са моноклонални антитела – *ipilimumab* (*Yervoy*[®]) и *tremelimumab*, които свързват CTLA4 и създават възможност слаби антигенни дразнения да доведат до стимулиране и пролиферация на Т-лимфоцитите в потентни ефекторни клетки и клетки с имунна памет (memory cells), които при следваща поява на антигена предизвикват бърза реакция.⁴³

В тази фаза на равновесие и на имуноредактиране имунната система държи туморните клетки в състояние на функционална летаргия; това е състоянието на „спящи“ туморни клетки. В края на тази фаза може да протича имунно моделиране на тумора, като в него настъпва генетична нестабилност с риск за клонална експанзия. Някои от туморните клетки претърпяват генетични и епигенетични промени и под въздействие на постоянна имунна селекция се появяват варианти на туморни клетки, които не са податливи на имунна атака поради загуба на антигени или индуциране на имуносупресия (лиганд за рецептора за програмирана смърт – PDL1).⁴⁴⁻⁴⁶ Ниска антигенна експресия върху мембраната на туморните клетки може да има натриимер при BRAF V600 мутация.⁴⁷ В такива случаи приложението на BRAF-инхибитори води до повишена антигенна експресия с последваща Т-клетъчна активация⁴⁸ и инфилтриране на тумора⁴⁹. Липсата на антигенност може да се дължи и на блокиране на синтеза и експресията върху мембраната на меланомните клетки на MHC клас I молекули. Разработен е препарат за генна терапия чрез интралезионно приложение на *Allovecitin-7*[®], който възстановява синтеза и експресията на HLA-B7⁵⁰ и може да бъде прилаган за лечение на пациенти с HLA-B7 фенотип. Фазата на равновесие е баланс между производство

на антитуморни (IL-12, IFN- γ) и тумор-промоциращи (IL-10, IL-23) цитокини.

Фаза на туморна прогресия при неефективност на имунния контрол (*Escape*).³⁵ В края на фазата на равновесие поради генетичната нестабилност и настъпили епигенетични промени чрез имунна селекция и „скулптуриране“ на туморна тъкан се появяват неопластични клетки с понижена имуногенност и/или повишена имуносупресивност. В тази фаза поради неефективност на имунния контрол се стига до клинична проява и прогресия на злокачествената болест. Неефективността на имунния контрол може да се опосредства чрез най-различни механизми, включително: (i) намалено имунно разпознаване (липса на туморни антигени, загуба на тъкансъвместими молекули или костимулиращи лиганди); (ii) увеличена резистентност на туморните клетки към апоптоза (увеличена експресия на STAT-3 или Bcl2) или (iii) създаване на имуносупресивна туморна микросреда чрез синтез на цитокини като VEGF, TGF- β и чрез експресия на имунорегулаторни молекули⁵¹ като индолеамин-2-3 диоксидаза (IDO)[52-54], PD-1/PD-L1, Т-клетъчен муцин имунодомен/галекин 9 (Tim-3/ galectin-9)⁵⁵, лимфоцит-активиращ ген 3 (LAG-3).^{56,57} В последните години се натрупа информация за нови молекули, които допринасят за тумор-индуцирана имуносупресия като CD73⁵⁸, аденозинови рецептори^{59,60} и нови молекули от семейството на B7 checkpoint-молекули, в това число V-domain Ig suppressor of T cell activation (VISTA)^{61,62} и B- и T-lymphocyte attenuator (BTLA).^{63,64}

При пациенти с напреднала неопластична болест, като следствие на дефектно стимулиране, Т-лимфоцитите са с нарушена функция (дисфункционални), изпадайки в състояние на „изтощение“ (T cell “exhaustion”). Това състояние на Т-клетъчно изтощение първоначално е описано като

клонално елиминирание (делеция) на вирус-специфични Т-лимфоцити при хронични вирусни инфекции⁶⁵, но-по-късно е валидирано като неспособност на Т-лимфоцитите да развиват мощен цитотоксичен отговор. Наблюдавано е при пациенти с карцином.⁶⁶ Изтощените Т-клетки в туморната среда са с повишена експресия на инхибиторни молекули, в това число PD-1 (CD279), CTLA-4 (CD152), Lag-3, Tim-3, CD244/2B4, CD160, T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains (TIGIT) и др.⁶⁷ Освен това, те са с намалено производство на цитокини и с намалена цитотоксичност, което води до намалено елиминирание на неопластичните клетки. Блокирането на PD-1-сигналната верига води до частично елиминирание на вирусния или туморен товар⁶⁸⁻⁷⁰, което демонстрира, че изтощените Т-лимфоцити не са дефинитивно потиснати, но могат да бъдат рестимулирани – факт с отношение към лечението на персистиращи вирусни инфекции или злокачествени тумори.⁷¹⁻⁷³

Имунотерапия

Видът на имунотерапия зависи от фазата на болестта. През първата фаза на елиминирание използването на ваксини е уместно да се комбинира с добри адюванти, както и с агенти, блокиращи имуносупресивното действие на т.нар. checkpoint-блокатори, напр. CTLA-4. Първият блокатор, одобрен за клинична употреба през 2011 г., е моноклоналното антияло *ipilimumab* (*Yervoy*) на *Bristol-Myers Squibb*.⁷²⁻⁷⁶ Уместно е прилагането му в комбинация с ваксини, целящи активно имунизирание на пациента срещу туморни антигени. Като ваксини могат да бъдат използвани цели модифицирани туморни клетки, пречистени туморни лизати, пречистени тумор-асоциирани протеини, пептиди от туморни антигени, ДНК или РНК, кодиращи тумор-асоциирани антигени.⁷⁷⁻⁷⁹

Във втората фаза усилията трябва да бъдат насочени срещу поява и селектиране на варианти на неопластични клетки с намалена антигенност. Вследствие на мутации туморните клетки престават да експресират определени антигени и въпреки наличието на напрегнат имунитет срещу последните, туморните клетки не се атакуват и елиминират.^{35, 80} Човек всекидневно се среща с патогени и имунната му система еволюционно е придобила чрез явление, наречено имунодоминантност, качество да елиминира бактериални и вирусни агенти без да уврежда макроорганизма. Имунодоминантността представлява насочването на имунния отговор, въпреки наличие на множество антигенни детерминанти, към тесен набор от тях. Това е основен механизъм за предпазване на макроорганизма от колатерална увреда при имунологично елиминирание на патогени.^{81, 82} За разлика от противовирусния и противобактериалния имунитет, където този механизъм е протективен за макроорганизма, при неоплазии той благоприятства оцеляването на туморни клетки, които не експресират имунодоминантната антигенна детерминанта. Осигуряването на имуноен отговор срещу широк набор от туморни антигени, т.е. осигуряването на „имунодемократичен“ отговор би трябвало да реши поне част от този проблем.⁸³

В третата фаза пациентът се представя с напреднала болест, при която усилията на терапевтичния екип трябва да бъдат насочени към премахване на имуносупресивната среда в туморното ложе и възстановяване на реактивността на изтощените Т-лимфоцити. За блокадата на един от инхибиторните на CTLA-4 вече стана въпрос по-горе.⁷⁴ За блокиране на PD-1 са разработени и одобрени през 2014 г. от FDA *pembrolizumab* (anti-PD-1, *Keytruda*, *Merck and Co.*) и *nivolumab* (anti-PD-1, *Opdivo*, *Bristol-Myers Squibb*), като и двата са с добра клинична ефективност.

Противотуморната химиотерапия традиционно и исторически се свързва с подтискане на имунитета поради имunosупресивния си ефект. Натрупващи се напоследък данни показват, че антитуморният ефект на конвенционалната химиотерапия идва отчасти от активиране на имунната система поради подтискане на имunosупресивни механизми.⁸⁴⁻⁸⁶ Някои химиотерапевтици като антрациклини, *cyclophosphamide* и *oxaliplatin* предизвикват имуногенна смърт в туморните клетки като в туморната микросреда се освобождават туморни антигени и молекули (HMGB1 и АТР), сигнализиращи „опасност“.^{87, 88} В резултат дендритните клетки се стимулират, натоваарват с туморни антигени и узряват в компетентни антиген-представящи клетки.⁸⁹ Тези химиотерапевтични агенти могат да бъдат използвани и в по-ниска дозировка. Така например *cyclophosphamide*, приложен три дни преди имунизация в доза 200-300 mg/m², потиска функцията на имunosупресивните Т-регулаторни клетки и усилва ефекта на имунотерапията.

Заклучение

Успехът с т.нар. checkpoint-антагонисти открива нова ера в противотуморната терапия, основаваща се на възможност имунната система да стане основно оръжие в арсенала на терапевта. Комбинативните лечения, включващи checkpoint-инхибитори и противоракови ваксини, прилагани на фона на химиотерапия илъчелечение, се очертават като основна стратегия за клинично поведение. Основна задача ще бъде разбирането на клетъчните и молекулните механизми, определящи взаимодействието на традиционните методи на лечение, дозировката им и ритъмът им на приложение. Във връзка с всичко това е необходимо да се предприемат редица важни стъпки, за да може имунотерапията да навлезе като стандартизирано лече-

ние при солидни тумори и по-специално – при меланом. Първо, трябва да има по-леки регулаторни режими от лекарствени агенции, за да могат да се комбинират различни, макар и все още недоказали се модалности с надеждата да се намери подходяща имунотерапевтична комбинация. Второ, с цел ранно започване на имунотерапията, трябва да се фокусира вниманието върху ранна диагностика, а тъканната протеомика да подпомогне в намирането на нови мишени за имунна атака. И най-важно, необходими са финансови средства както за фундаментална научна работа, така и за провеждането на клинични проучвания от академични звена, не само от големи фармацевтични компании, за да може имунотерапията да навлезе в рутинната лечебна практика.

ЛИТЕРАТУРА

1. Burnet, FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *CA Cancer J Clin* 1976; 26: 119-121.
2. Shankaran, V, et al. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 2001; 410: 1107-1111.
3. Dunn, GP, LJ Old, RD Schreiber. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 329-360.
4. Jarmalavicius S, Y Welte, P Walden. High immunogenicity of the human leukocyte antigen peptidomes of melanoma tumor cells. *J Biol Chem* 2012; 287 (40): 33401-33411.
5. Silberberg I, AW Kopf, NS Cooper. Studies of the antigenicity of human malignant melanoma for rabbits. Findings in blood serum of antibody response of rabbits following immunization procedures with extracts from malignant melanomas and control materials. *J Invest Dermatol* 1966; 47 (2): 87-98.
6. Sela-Culang I, V Kunik, Y Ofran. The structural basis of antibody-antigen recognition. *Front Immunol* 2013; 4: 302.

7. Rini JM, U Schulze-Gahmen, IA Wilson. Structural evidence for induced fit as a mechanism for antibody-antigen recognition. *Science* 1992; 255 (5047): 959-965.
8. Bennink JR, et al. Antigen processing: where tumor-specific T-cell responses begin. *J Immunother* 1993; 14 (3): 202-208.
9. Kawakami Y, et al. Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91 (9): 3515-3519.
10. Bakker AB, et al. Identification of a novel peptide derived from the melanocyte-specific gp100 antigen as the dominant epitope recognized by an HLA-A2.1-restricted anti-melanoma CTL line. *Int J Cancer* 1995; 62 (1): 97-102.
11. Engelhard VH, et al. Antigens derived from melanocyte differentiation proteins: self-tolerance, autoimmunity, and use for cancer immunotherapy. *Immunol Rev* 2002; 188: 136-146.
12. Takahashi K, et al. Identification of MAGE-1 and MAGE-4 proteins in spermatogonia and primary spermatocytes of testis. *Cancer Res* 1995; 55 (16): 3478-3482.
13. De Plaen E, et al. Structure, chromosomal localization, and expression of 12 genes of the MAGE family. *Immunogenetics* 1994; 40 (5): 360-369.
14. Boel P, et al. BAGE: a new gene encoding an antigen recognized on human melanomas by cytolytic T lymphocytes. *Immunity* 1995; 2 (2): 167-175.
15. Por E, et al. The cancer/testis antigen CAGE with oncogenic potential stimulates cell proliferation by up-regulating cyclins D1 and E in an AP-1- and E2F-dependent manner. *J Biol Chem* 2010; 285 (19): 14475-14485.
16. Kawakami Y, et al. Identification of a human melanoma antigen recognized by tumor-infiltrating lymphocytes associated with in vivo tumor rejection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91 (14): 6458-6462.
17. Robbins P, et al. A mutated beta-catenin gene encodes a melanoma-specific antigen recognized by tumor infiltrating lymphocytes. *J Exp Med* 1996; 183 (3): 1185-1192.
18. Kirkin AF, K Dzhandzhugazyan, J Zeuthen. Melanoma-associated antigens recognized by cytotoxic T lymphocytes. *APMIS* 1998; 106 (7): 665-679.
19. Burnet F. The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res* 1970; 13: 1-27.
20. Fuchs EJ, P Matzinger. Is cancer dangerous to the immune system? *Semin Immunol* 1996; 8 (5): 271-280.
21. Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity: enhancing the efficiency of antigen presentation. *Mt Sinai J Med* 2001; 68 (3): 160-166.
22. Schwartz RH. T cell clonal anergy. *Curr Opin Immunol* 1997; 9 (3): 351-357.
23. Watzl C, EO Long. Exposing tumor cells to killer cell attack. *Nat Med* 2000; 6 (8): 867-868.
24. Pardoll DM. Immunology. Stress, NK receptors, and immune surveillance. *Science* 2001; 294 (5542): 534-536.
25. Cerwenka A, et al. Retinoic acid early inducible genes define a ligand family for the activating NKG2D receptor in mice. *Immunity* 2000; 12 (6): 721-727.
26. Bauer S, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science* 1999; 285 (5428): 727-729.
27. Wu J, et al. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10. *Science* 1999; 285 (5428): 730-732.
28. Lollini PL, G. Forni. Specific and nonspecific immunity in the prevention of spontaneous tumours. *Immunol Today* 1999; 20 (8): 347-350.
29. Di Carlo E, et al. The intriguing role of polymorphonuclear neutrophils in antitumor reactions. *Blood* 2001; 97 (2): 339-345.
30. Elgert KD, DG Alleva, DW Mullins. Tumor-induced immune dysfunction: the macrophage connection. *J Leukoc Biol* 1998; 64 (3): 275-290.
31. Bonnotte B, et al. Identification of tumor-infiltrating macrophages as the killers of tumor cells after immunization in a rat model system. *J Immunol* 2001; 167 (9): 5077-5083.
32. Clark WH Jr, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81 (24): 1893-1904.
33. Clemente CG, et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer* 1996; 77 (7): 1303-1310.
34. Mihm MC, Jr, CG Clemente, N Cascinelli. Tumor infiltrating lymphocytes in lymph node melanoma metastases: a histopathologic prognostic indicator and an expression of local immune response. *Lab Invest* 1996; 74 (1): 43-47.

35. Dunn GP, et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3 (11): 991-998.
36. Schietinger A, PD Greenberg. Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction. *Trends Immunol* 2014; 35 (2): 51-60.
37. Kim PS, R Ahmed. Features of responding T cells in cancer and chronic infection. *Curr Opin Immunol* 2010; 22 (2): 223-230.
38. Schreiber RD, LJ Old, MJ Smyth. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011; 331 (6024): 1565-1570.
39. Thompson CB, JP Allison. The emerging role of CTLA-4 as an immune attenuator. *Immunity* 1997; 7 (4): 445-450.
40. Walunas TL, CY Bakker, JA Bluestone. CTLA-4 ligation blocks CD28-dependent T cell activation. *J Exp Med* 1996; 183 (6): 2541-2550.
41. Walker EB, et al. gp100(209-2M) peptide immunization of human lymphocyte antigen-A2+ stage I-III melanoma patients induces significant increase in antigen-specific effector and long-term memory CD8+ T cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10 (2): 668-680.
42. Harlin H, et al. Tumor progression despite massive influx of activated CD8(+) T cells in a patient with malignant melanoma ascites. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 55 (10): 1185-1197.
43. Maker AV, et al. Tumor regression and autoimmunity in patients treated with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and interleukin 2: a phase I/II study. *Ann Surg Oncol* 2005; 12 (12): 1005-1016.
44. Brown JA, et al. Blockade of programmed death-1 ligands on dendritic cells enhances T cell activation and cytokine production. *J Immunol* 2003; 170 (3): 1257-1266.
45. Ohigashi Y, et al. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand-2 expression in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2947-2953.
46. Sosman J. Clinical activity and safety of anti-programmed death-1 (PD-1) (BMS-936558/MDX-1106/ONO-4538) in patients with advanced melanoma. 2012.
47. Kono M, et al. Role of the mitogen-activated protein kinase signaling pathway in the regulation of human melanocytic antigen expression. *Mol Cancer Res* 2006; 4 (10): 779-792.
48. Boni A, et al. Selective BRAFV600E inhibition enhances T-cell recognition of melanoma without affecting lymphocyte function. *Cancer Res* 2010; 70 (13): 5213-5219.
49. Wilmott JS, et al. Selective BRAF inhibitors induce marked T-cell infiltration into human metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18 (5): 1386-1394.
50. Doukas J, A Rolland. Mechanisms of action underlying the immunotherapeutic activity of Allovectin in advanced melanoma. *Cancer Gene Ther* 2012; 19 (12): 811-817.
51. Dunn GP, LJ Old, RD Schreiber. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity* 2004; 21 (2): 137-148.
52. Vacchelli E, et al. Trial watch: IDO inhibitors in cancer therapy. *Oncoimmunology* 2014; 3 (10): e957994.
53. Ninomiya S, et al. Tumor indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibits CD19-CAR T cells and is downregulated by lymphodepleting drugs. *Blood* 2015; 125 (25): 3905-3916.
54. Liang GB, et al. Impact of immunosuppressive agents on the expression of indoleamine 2,3-dioxygenase, heme oxygenase-1 and interleukin-7 in mesangial cells. *Mol Med Rep* 2015; 12 (2): 2577-2583.
55. Sakuishi K, et al. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity. *J Exp Med* 2010; 207 (10): 2187-2194.
56. Goldberg MV, CG Drake. LAG-3 in cancer immunotherapy. *Curr Top Microbiol Immunol* 2011; 344: 269-278.
57. Woo SR, et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res* 2012; 72 (4): 917-927.
58. Hicklin DJ, FM Marincola, S Ferrone. HLA class I antigen downregulation in human cancers: T-cell immunotherapy revives an old story. *Mol Med Today* 1999; 5 (4): 178-186.
59. Garrido F, et al. Implications for immunosurveillance of altered HLA class I phenotypes in human tumours. *Immunol Today* 1997; 18 (2): 89-95.
60. Hiraki A, et al. Loss of HLA haplotype in lung cancer cell lines: implications for immunosurveillance of altered HLA class I/II phenotypes in lung cancer. *Clin Cancer Res* 1999; 5 (4): 933-936.
61. Bicknell DC, A Rowan, WF Bodmer. Beta 2-microglobulin gene mutations: a study of established colorectal cell lines and fresh tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91 (11): 4751-4755.

62. Seung S, JL Urban, H Schreiber. A tumor escape variant that has lost one major histocompatibility complex class I restriction element induces specific CD8+ T cells to an antigen that no longer serves as a target. *J Exp Med* 1993; 178 (3): 933-940.
63. Natali PG, et al. Selective changes in expression of HLA class I polymorphic determinants in human solid tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86 (17): 6719-6723.
64. Blanchet O, et al. Altered binding of regulatory factors to HLA class I enhancer sequence in human tumor cell lines lacking class I antigen expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89 (8): 3488-3492.
65. Moskophidis D, et al. Virus persistence in acutely infected immunocompetent mice by exhaustion of antiviral cytotoxic effector T cells. *Nature* 1993; 362 (6422): 758-761.
66. Pauken KE, EJ Wherry. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol* 2015; 36 (4): 265-276.
67. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol* 2011; 12 (6): 492-499.
68. Barber DL, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006; 439: 682-687.
69. Iwai Y, et al. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 (19): 12293-12297.
70. Hirano F, et al. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Res* 2005; 65 (3): 1089-1096.
71. Sharma P, et al. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. *Nat Rev Cancer* 2011; 11 (11): 805-812.
72. Mellman I, G Coukos, G Dranoff. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature* 2011; 480 (7378): 480-489.
73. Page DB, et al. Immune modulation in cancer with antibodies. *Annu Rev Med* 2014; 65: 185-202.
74. Delyon J, et al. Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma: an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival. *Ann Oncol* 2013; 24 (6): 1697-1703.
75. Di Giacomo AM, et al. Ipilimumab and fotemustine in patients with advanced melanoma (NIBIT-M1): an open-label, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13: 879-886.
76. Madorsky-Rowdo, FP, ML Lacreu, J Mordoh. Melanoma vaccines and modulation of the immune system in the clinical setting: building from new realities. *Front Immunol* 2012; 3: 103.
77. Jaffee EM, DM Pardoll. Considerations for the clinical development of cytokine gene-transduced tumor cell vaccines. *Methods* 1997; 12 (2): 143-153.
78. Horton HM, et al. DNA vaccines for cancer therapy. *Expert Opin Investig Drugs* 1999; 8 (12): 2017-2026.
79. Mincheff M, et al. Naked DNA and adenoviral immunizations for immunotherapy of prostate cancer: a phase I/II clinical trial. *Eur Urol* 2000; 38 (2): 208-217.
80. Hicklin DJ, et al. beta2-Microglobulin mutations, HLA class I antigen loss, and tumor progression in melanoma. *J Clin Invest* 1998; 101 (12): 2720-2729.
81. Adorini L, et al. Mechanisms influencing the immunodominance of T cell determinants. *J Exp Med* 1988; 168 (6): 2091-2104.
82. Chen W, et al. Dissecting the multifactorial causes of immunodominance in class I-restricted T cell responses to viruses. *Immunity* 2000; 12 (1): 83-93.
83. Mincheff M. Immunosurveillance and immunoediting - can the immune response be made more "immunodemocratic"? *J BUON* 2009; 14 Suppl 1: S89-96.
84. Chen G, LA Emens. Chemoimmunotherapy: reengineering tumor immunity. *Cancer Immunol Immunother* 2013; 62 (2): 203-216.
85. Chen G, et al. A feasibility study of cyclophosphamide, trastuzumab, and an allogeneic GM-CSF-secreting breast tumor vaccine for HER2+ metastatic breast cancer. *Cancer Immunol Res* 2014; 2 (10): 949-961.
86. Emens LA, G Middleton. The interplay of immunotherapy and chemotherapy: harnessing potential synergies. *Cancer Immunol Res* 2015; 3 (5): 436-443.
87. Galluzzi L, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene* 2012; 31 (15): 1869-1883.
88. Zitvogel L, O Kepp, G Kroemer. Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8 (3): 151-160.
89. Sistigu A, et al. Cancer cell-autonomous contribution of type I interferon signaling to the efficacy of chemotherapy. *Nat Med* 2014; 20 (11): 1301-1309.

////////////////////////////////////

**ПРЕВЕНЦИЯ НА КОЖНИ ТУМОРИ ПРИ ОРГАН-
ТРАНСПЛАНТИРАНИ ПАЦИЕНТИ**

////////////////////////////////////

д-р Мариана Замир

Hadassah-Hebrew University Medical Center – Jerusalem

ПРЕВЕНЦИЯ НА КОЖНИ ТУМОРИ ПРИ ОРГАН-ТРАНСПЛАНТИРАНИ ПАЦИЕНТИ

д-р Мариана Замир

Hadassah-Hebrew University Medical Center – Jerusalem

ОБЗОР

В статията се анализира проблемът за повишената заболеваемост на орган-трансплантирани пациенти (ОТПи) от кожни тумори, свързана с пожизнената имуносупресия. Представени си локалните лечебни подходи при соларни кожни изменения, включващи пигментни петна, кератозни лезии и папиломатозни образувания от вирусен и невирусен тип. Поотделно се разглежда приложението на *imiquimod*, *5-fluorouracil* (5-FU) и фотодинамична терапия (PDT). Специално се представя превенцията със системни ретиноиди. Подчертава се значението на ранно запознаване с необходимост от слънцезащита, често проследяване и навременна терапевтична интервенция, като основни акценти при наблюдение на ОТПи.

Увод

За хиляди пациенти в краен стадий на органна недостатъчност трансплантацията на функциониращ орган е повратна точка в жизнения им път. Увеличената преживяемост при орган-трансплантирани пациенти (ОТПи) води до повишена заболеваемост с особено висок дял на онкологични болести – около два-три пъти по-висока от тази на общото население. В тази констелация най-често наблюдавани са кожни туморни образувания, като рискът за развитието им надвишава многократно този за имунокомпетентната популация и може да достигне стойности, 65 пъти по-високи от общото население. Диагностиката, лечението, проследяването и профилактиката на кожни

тумори (КТ) при ОТПи представляват нарастващ здравен и социален проблем, което определя сериозни икономически последици за здравната система.

Превенция чрез адаптация на имуносупресивната терапия

Органно трансплантираните пациенти се нуждаят от пожизнена имуносупресия, необходима за запазване функцията на присадения орган и предотвратяване на остро и хронично отхвърляне. Стандартната поддържаща терапия е основана на комбинация от два или три имуносупресивни лекарствени препарата от различни фармакологични групи, основните компоненти са

калциневрин-инхибитор (CNI), антипролиферативен агент и кортикостероид. Няколко различни проучвания сочат, че пациентите, получаващи тройна имunosупресивна терапия, са с повишен риск за развитие на кожна карциногенеза, в сравнение с тези, приемащи само два препарата¹. Смята се, че причината е кумулативния им фотосенсибилизиращ ефект към ултравиолетивия (UVA) спектър на слънчевата радиация, който води до увеличена фотокарциногенеза.²

Инхибиторите на таргета на *rapamycin* при бозайници (mTOR) са нова група мощни имunosупресивни агенти с антигуморни и антиангиогенни свойства, които не са нефротоксични и се свързват с ниска честота на посттрансплантационна неоплазия.^{3, 4} Действието им се осъществява чрез рецептора FKBP12. Формираният комплекс подтиска mTOR посредством свързване към субединицата mTOR1. От друга страна, mTOR-инхибиторите се причисляват към групата на антипролиферативните медикаменти поради факта, че са в състояние да предизвикат апоптоза, действайки по р53-зависим или независим механизъм. Тези особености, както и способността на mTOR-инхибиторите да блокират IL-2-зависимото вътреклетъчно сигнализиране, им придава едновременно противоракови и протектиращи отхвърлянето на присадката свойства. Имunosупресивните комбинации, базирани на mTOR-инхибитори без участие на калциневрин-инхибитор (CNI), са подходящи за пациенти с вторична бъбречна недостатъчност в следствие употребата на CNI.⁵

Според резултатите, получени от *Euvrard et al.*, преминаването от CNI-базиран имunosупресивен режим на такъв с участието на mTOR-инхибитори, понижава значително риска от развитието на нов кожен ПКК и забавя появата на нови лезии от този тип.⁶ Наблюдаваният антигуморен ефект е по-силно изразен, когато промяна-

та в имunosупресивната терапия се въвежда веднага след поява на първи кожен тумор, отколкото след възникване на множествени тумори. Проучване на *Asgari et al.*, от друга страна, не потвърди евентуална роля на mTOR-инхибиторите в първичната превенция на плоскоклетъчен карцином (ПКК) при ОТПи.⁷ Антиангиогенният ефект на mTOR-инхибиторите и подтискащото им влияние върху прогресирането на васкуларни тумори от вида на сарком на *Kaposi* (KS) ги определя като подходяща алтернатива при лечението на трансплантационно-асоцииран KS.⁸⁻¹⁰

Лимитиращ фактор за широкото им използване са страничните явления. Най-чест проблем са хиперлипидемия и миелосупресия, нерядко също протеинурия, отоци, пневмонит и нарушено зарастване на рани. Увеличената честотата на остро отхвърляне ограничава ранното включване на mTOR-инхибитори в имunosупресивния протокол след трансплантация.^{11, 12} Препоръчва се използването на mTOR-инхибитори да се започне не по-рано от 6 месеца посттрансплантационно, след стабилизиране функцията на присадения орган и зарастване на операционната рана.

Кандидати за промяна на имunosупресивното лечение са пациенти с висок риск за далечни метастази от ПКК, както и пациенти, развиващи повече от 5-10 високорискови лезии от ПКК в течение на една календарна година. Ревизия може да бъде постигната с редукция на дозите или с промяна на имunosупресивния режим.¹³ Първоначално следва да се снижат дозите до най-ниски възможни нива, осигуряващи стабилна функция на присадения орган. За пациенти с комбиниран режим евентуална алтернатива е прекратяване на един от приеманите препарати; допълнителна възможност е преминаването от CNI-базирана лекарствена комбинация към mTOR-инхи-

битор-базирана. При бъбречно трансплантирани пациенти с високорискови тумори е възможен по-агресивен подход: прекратяване на имunosупресивната терапия и връщане към диализно лечение. При чернодробно трансплантирани пациенти се препоръчва постепенно минимизиране на дозите. Всички модификации би трябвало да се ръководят, съгласуват и осъществяват от лекуващия трансплантационен екип след прецизна оценка на индивидуалния риск за всеки пациент и тумор.

Локално лечение на хронични соларни изменения

Изложените части на кожата при ОТПи много често показват хронични изменения, включващи пигментни петна, кератозни лезии и папиломатозни образувания от вирусен и невирусен тип. Голяма част от промените са пряко причинени от влияние на слънчевата радиация, а етиологията на друга част е вирусно обусловена. Характеризират се хистологично с висока степен на епидермална дисплазия. Диференцирането на подозрителни лезии невинаги е лесно, затова ранното и агресивно лечение на засегнатите кожни участъци е от изключителна важност. Лечението на индивидуална лезия не винаги предотвратява появата на нови подобни образувания, както и развитието на местен рецидив. Подходът включва последователно и циклично прилагане на различни видове локална терапия за третиране на фонови кожни промени като допълнение на хирургично отстраняване на проблемни тумори. Лезии с атипично клинично представяне и нереагиращи на стандартна местна терапия би трябвало да се биопсират рано за точна хистологична диагноза. За хистологично доказани кожен тумор се препоръчва широка ексцизия с не-

ангажирани ръбове или микрографска хирургия по *Mohs*.¹⁴

Най-често използвани за локално приложение са *imiquimod*, *5-fluorouracil* (5-FU) и фотодинамична терапия (PDT). *5-FU* е медикамент от групата на антиметаболитите, използва се в 5% концентрация под формата на крем. Приложението му е лесно и ефективно, но се ограничава от страничните явления: силна локална реакция, клинично наподобяваща повърхностно изгарян¹⁵ *5-FU* се използва най-често за третиране на предмишници и ръце, може да се комбинира с кератолитици. Продължителността на лечебния курс е 3-4 седмици, понякога достига до 6 последователни седмици. Повторно третиране за подобряване на лечебния резултат е възможна опция. Необходимо е стриктно спазване на слънцезащитно поведение и добра локална хигиена за предотвратяване на вторична инфекция.

Imiquimod е локален имуномодулятор; употребата му при ОТПи е разрешена и се счита за безопасна, без последствия за имунната система.¹⁶ Ефективността му е потвърдена хистологично в няколко различни проучвания и се смята за една от високите.^{17, 18} Най-често използван протокол е 3 пъти седмично в течение на 16 седмици; максималната повърхност за лечебен курс е 100 cm². В процеса на лечение се наблюдава локално дразнене на кожата в третирания участък, при системна абсорбция могат да се прибавят главоболие и грипоподобни симптоми. Лимитиращ фактор са сравнително дълъг лечебен курс и странични явления, водещи до нисък комплайънс от страна на пациента.

Фотодинамичната терапия използва фотосензитизиращо вещество и светлинен източник за предизвикване на фототоксична реакция. За фотосенситайзер най-често се използват *methylaminolevulinat* (MAL) и *5-aminolevulinat* (5-ALA). Предварителна

подготовка на кожния участък с локални кератолитици или механичен дебридмент, третиране с 5-ALA и червена светлина водят до по-добър и траен клиничен резултат поради по-голяма дълбочина на проникване.¹⁹ При лечение на повърхностни лезии светлината в синия спектър дава по-нисък интензитет на болката по време на процедурата. Високата ефективност на PDT при ОТПи е демонстрирана в различни проучвания.^{20, 21} Резултатите от лечение с PDT превъзхождат тези от прилагане на 5-FU²⁰; техниката може да се използва за третиране на персистентни лезии, нереагиращи на други лечения.²¹ Данните за превентивен ефект на еднократна PDT процедура върху появата на нов ПКК са противоречиви²²⁻²⁵, но според *Wiley et al.* цикличното прилагане на PDT всеки 4-8 седмици би могло да намали честотата на ПКК при ОТПи.²⁴ *Togsverd-Bo K et al.* докладват потенциална роля на PDT в първичната профилактика на кожна дисплазия при ОТПи.²⁵

Превенция със системни ретиноиди

Предвижда се единствено при рисковни пациенти със значително количество лезии от ПКК. Като такива се определят пациенти, развиващи между 5 и 10 тумора в рамките на една календарна година, но при ОТПи често прагът е по-нисък, особено при рисковни туморни локализации (скалп, преаурикуларна област, долна устна и др.).²⁶⁻³⁰ Системната ретиноидна терапия е превентивна и не може да замени хирургичното лечение. За пациенти, неподходящи или отказващи хирургия, и при пациенти с далечни метастази ретиноидите могат да бъдат предложени като палиативна мярка за намаляване на заболяемостта и смъртността в случаи на високорискови тумори³¹. Най-често използвания медикамент е *acitretine*; известен е с тератогенен ефект

(pregnancy category X) и не се използва при жени в детеродна възраст. Противопоказания са тежка рефракторна хиперлипидемия и трайно повишени чернодробни ензими. Преди започване на ретиноидна терапия трябва да се изследват липиден профил, чернодробни ензими, серумен креатинин и пълна кръвна картина; повтарят се на втора и четвърта седмица от започване на лечението и след това – веднъж месечно в течение на последващите три месеца. Терапия с *acitretine* се започва с ниска доза от 10 mg дневно, увеличава се бавно с пулсове от 10 mg на интервал от 2-4 седмици до достигане на желан ефект; обичайна таргетна доза е 20-25 mg дневно. Страничните явления са дозозависими, изразяват се в хейлит, косяпад, сухост в уста и по кожа, епистаксис при достигане на дневна доза от 20 mg. Прекъсване на лечението води до рикошетен ефект (rebound effect) с неконтролирано развитие на множествени високорискови кожни тумори за кратко време. Намаляване на дневния прием с около 25% дава възможност за продължаване на лечението и поддържане на добър превантивен ефект с минимални странични явления.^{32, 33}

Заклучение

Мониторирването на кожни тумори при ОТПи е нарастващ здравен проблем, нуждаещ се от проактивен подход. Ранно запознаване с необходимост от слънцезащита, често проследяване и навременна терапевтична интервенция са основни акценти при наблюдение на пациенти след трансплантация. Лечението на преканцерозните изменения на хронично изложената на слънчево лъчение кожа би следвало да е ранно и интензивно, а при пациенти с високорисков тумор се препоръчва редуциране на дозата на имunosупресивните агенти или преминаване към mTOR-инхибиторбазирана лекарствена комбинация.

ЛИТЕРАТУРА

1. Campistol JM, et al. Sirolimus therapy after early cyclosporine withdrawal reduces the risk for skin cancer in adult renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 581-589.
2. Perrett CM, et al. Azathioprine treatment photosensitizes human skin to ultraviolet A radiation. *Br J Dermatol* 2008; 159: 198-204.
3. Kauffman HM, et al. Maintenance immunosuppression with target -of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. *Transplantation* 2005; 80: 883-889.
4. Yakupoglu YK, et al. Individualization of immunosuppressive therapy. Sirolimus is associated with a reduced incidence of malignancy. *Transplant Proc* 2006; 38: 358-361.
5. Aranda-Dios A, et al. Sirolimus experience in heart transplantation. *Transplant Proc* 2006; 38: 2547-2549.
6. Euvrard S. et al. Sirolimus and Secondary Skin-Cancer Prevention in Kidney Transplantation. *N Engl J Med* 2012; 367: 329-339.
7. Asgari MM, et al. Sirolimus use and risk of cutaneous squamous cell carcinoma (SCC) in solid organ transplant recipients (SOTRs). *J Am Acad Dermatol* 2015 Jun 29. pii: S0190-9622(15)01728-4.
8. Stallone G, et al. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2005; 352: 1317-1323
9. Stallone G, et al. Kaposi's sarcoma and mTOR: a crossroad between viral infection neoangiogenesis and immunosuppression. *Transpl Int* 2008; 21: 825-832.
10. Lebbé C, et al. Sirolimus conversion for patients with posttransplant Kaposi's sarcoma. *Am J Transplant* 2006; 6: 2164-2168.
11. Cibrik D, et al. Randomized trial of everolimus-facilitated calcineurin inhibitor minimization over 24 months in renal transplantation. *Transplantation* 2013; 95: 933-942.
12. Mjörnstedt L, et al. Improved renal function after early conversion from a calcineurin inhibitor to everolimus: a randomized trial in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2012; 12: 2744-2753.
13. Otley CC, et al. Reduction of immunosuppression for transplant associated skin cancer: expert consensus survey. *Br J Dermatol* 2006; 154: 395-400.
14. Stasko T, et al. Guidelines for the management of squamous cell carcinoma in organ transplant recipients. *Dermatol Surg* 2004; 30 (4 pt 2): 642-650.
15. Ingham AI, Weightman W. The efficacy and safety of topical 5% 5-fluorouracil in renal transplant recipients for the treatment of actinic keratoses. *Australas J Dermatol* 2014; 55 (3): 204-208.
16. Kovach BT, Stasko T. Use of topical immunomodulators in organ transplant recipients. *Dermatol Ther* 2005; 18: 19-27.
17. Brown VL, et al. Safety and efficacy of 5% imiquimod cream for the treatment of skin dysplasia in high-risk renal transplant recipients: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Dermatol* 2005; 141: 985-993.
18. Ulrich C, et al. Successful treatment of multiple actinic keratoses in organ transplant patients with topical 5% imiquimod: a report of six cases. *Br J Dermatol* 2006; 155: 451-454.
19. Mikolajewska P, et al. Topical aminolevulinic acid and aminolevulinic acid methyl ester-based photodynamic therapy with red and violet light: influence of wavelength on pain and erythema. *Br J Dermatol* 2009; 161: 1173-1179.
20. Perrett CM, et al. Treatment of post-transplant premalignant skin disease: a randomized intrapatient comparative study of 5 fluorouracil cream and topical photodynamic therapy. *Br J Dermatol* 2007; 156: 320-328.
21. Piaserico S, et al. Topical photodynamic therapy of actinic keratosis in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2007; 39: 1847-1850.
22. Wulf HC, et al. Topical photodynamic therapy for prevention of new skin lesions in renal transplant recipients. *Acta Derm Venereol* 2006; 86: 25-28.
23. de Graaf YG, et al. Photodynamic therapy does not prevent cutaneous squamous-cell carcinoma in organ transplant recipients: results of a randomized-controlled trial. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 569-574.
24. Wiley A, Mehta S, Lee PL. Reduction in the incidence of squamous cell carcinoma in solid organ transplant recipients treated with cyclic photodynamic therapy. *Dermatol Surg* 2009; 36: 652-659.
25. Togsverd-Bo K, et al. Primary Prevention of Skin Dysplasia in Renal Transplant Recipients With Photodynamic Therapy: A Randomized Controlled Trial. *Am J Transplant* 2015. doi: 10.1111/ajt.13358.

26. Bavinck JN, et al. Prevention of skin cancer and reduction of keratotic skin lesions during acitretin therapy in renal transplant recipients: a double-blind, placebo controlled study. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1933-1938.
26. Harwood CA, et al. Low-dose retinoids in the prevention of cutaneous squamous cell carcinomas in organ transplant recipients. *Arch Dermatol* 2005; 141: 456-464.
27. DiGiovanna JJ. Retinoid chemoprevention in the high-risk patient. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39 (2 pt 3): S82-S85.
28. McKenna DB, Murphy GM. Skin cancer chemoprophylaxis in renal transplant recipients: 5 years of experience using low-dose acitretin. *Br J Dermatol* 1999; 140: 656-660.
29. George R, et al. Acitretin for chemoprevention of non-melanoma skin cancers in renal transplant recipients. *Australas J Dermatol* 2002; 43: 269-273.
30. Martinez JC, et al. Defining the course of metastatic skin cancer in organ transplant recipients: a multicenter collaborative study. *Arch Dermatol* 2003; 139: 301- 306.
31. Kovach BT, Sams HH, Stasko T. Systemic strategies for chemoprevention of skin cancers in transplant recipients. *Clin Transplant* 2005; 19: 726-734.
32. Otley CC, Stasko T, Tope WD, Lebwohl M. Chemoprevention of nonmelanoma skin cancer with systemic retinoids: practical dosing and management of adverse effects. *Dermatol Surg* 2006; 32: 562-568.

РОЛЯ НА ХИБРИДНИТЕ ОБРАЗНИ МЕТОДИ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ И *MERKEL*-КЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ

проф. д-р Ирена Костадинова, дмн¹
д-р Борислав Чаушев, дм²

¹Клиника по нуклеарна медицина, УМБАЛ Александровска – София

²Отделение по нуклеарна медицина, УМБАЛ Св. Марина – Варна

ОБЗОР

Статията е литературен обзор на медицината, основана на доказателства, за стратегиите на приложение на някои хибридни методи за изобразяване при диагностика, стадиране и рестадиране на кожен меланом (КМ) и *Merkel*-клетъчен кожен карцином. Подробно се анализира мястото на еднофотонната емисионна томография/компютър-томография (СПЕСТ/СТ) и на позитронноемисионната томография/компютър-томография (ПЕТ/КТ). При КМ в стадии I и II се разглежда приложението на сцинтиграфия на сентинелни лимфни възли. За стадиране и рестадиране при *Merkel*-клетъчен кожен карцином като метод на избор се разглежда ПЕТ/КТ-технологията с маркирани пептиди ⁶⁸Ga и ⁶⁸Ga-DOTATOC/DOTATATE.

Кожен меланом (КМ)

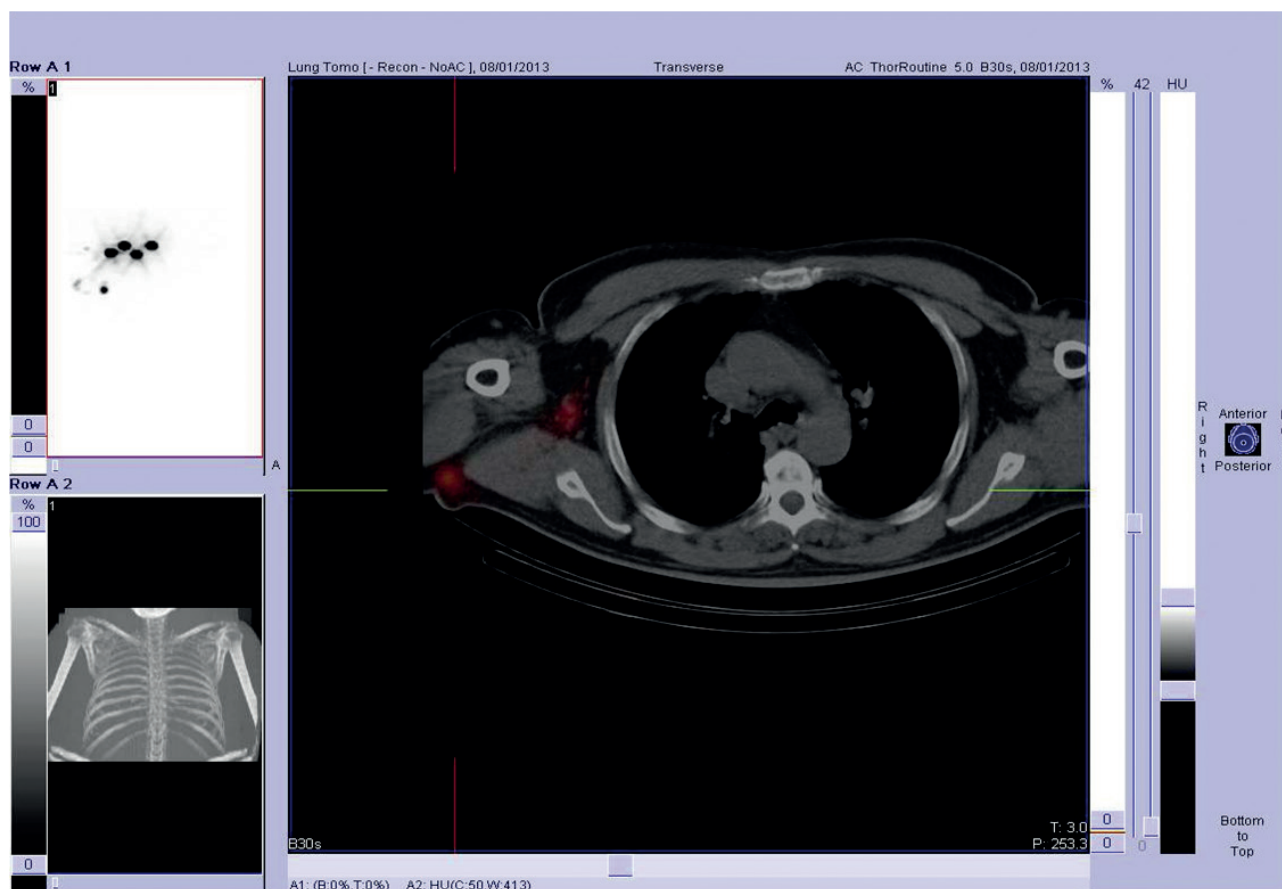
Приложение на еднофотонна емисионна томография/компютър-томография (СПЕСТ/СТ). Ранната диагноза на КМ, заедно с определянето на точния стадий на болестта, са решаващи за адекватното му лечение и шанс за оздравяване или по-дълга преживяемост. Между най-значимите прогностични фактори за развитие на болестта в ранните ѝ стадии (освен дебелина на тумора по *Breslow*, нивото по *Clark*, наличие на улцерации и др.) е и хистологичният и онкогенният статус на първия дрениращ лимфен възел – сентинелен лимфен възел (СЛВ).¹

Концепцията за неговата визуализация е, че той винаги би имал метастази, ако е започнало вече лимфогенно разпространение на болестта. По този начин хистопатологията му отразява статуса и на останалите лимфни възли от съответния лимфен регион. Така лимфосцинтиграфията е много точен (чувствителност, достигаща 100%)² и полезен метод за идентифициране на пациенти без палпаторна находка. Те биха имали полза от лимфаденектомия, когато се диагностицират метастази в първите дрениращи лимфни възли, не само за определяне на стадий на болестта³, но и за постигане на терапевтичен ефект. Данни от литературата сочат, че това

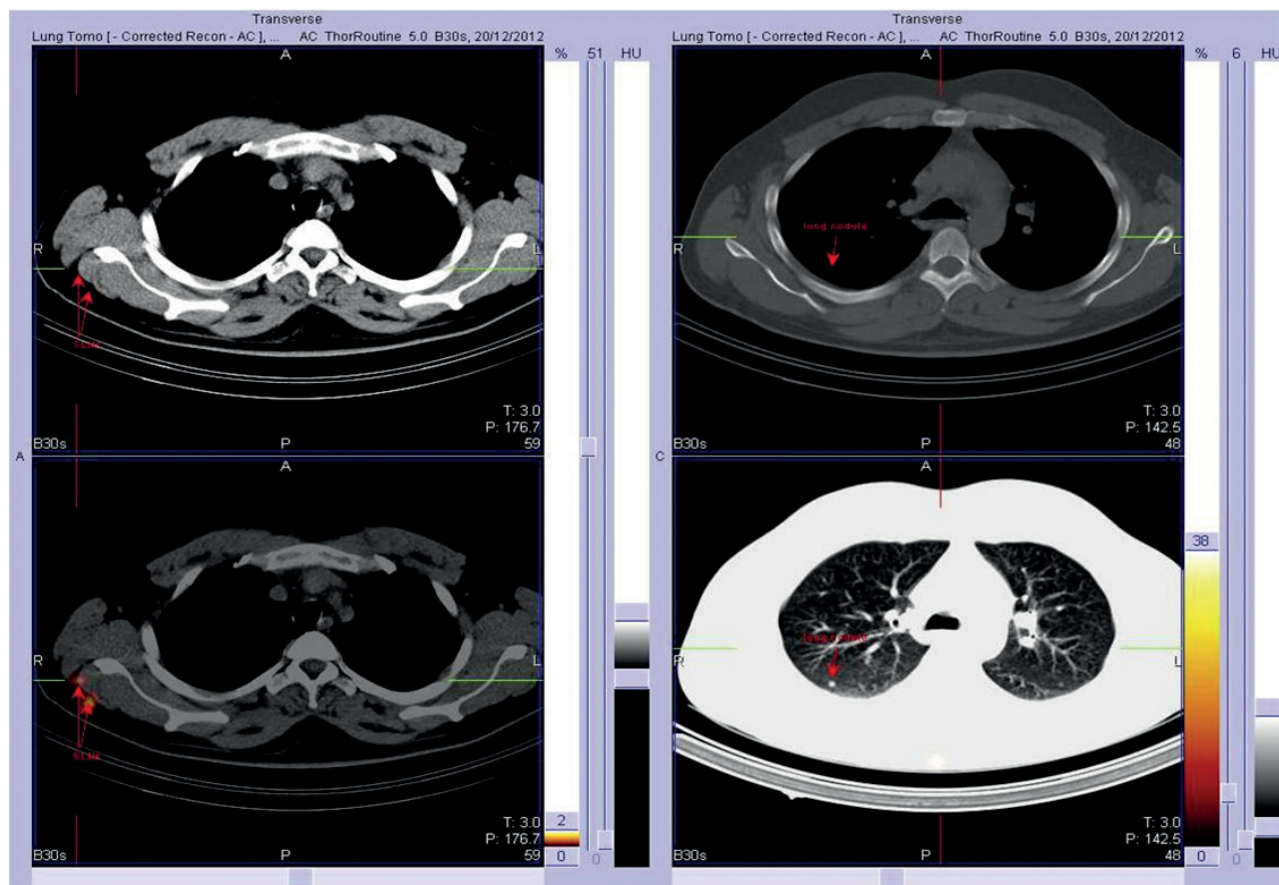
е метод на избор за визуализация на окултни метастази в лимфни възли при дебелина на тумора между 1 и 4 mm, особено когато той е разположен в областта на глава и шия или тяло, където лимфният дренаж често е непредвидим.⁴ Установено е, че благодарение на тази техника, в сравнение с палпация, се визуализират повече дрениращи лимфни басейни в 50% от случаите с КМ на тяло и в 33% от тези с КМ в областта на глава и шия.¹

Изследването е много по-точно и улеснява хирурга за детекция, отстраняване и изследване на СЛВ, ако се съчетае с чувствителна интраоперативна гама-детекторна сонда. Известно е, че наличието на макрометастази могат да доведе до липса на сцинтиграфска визуализация на СЛВ, ако той е загубил дрениращата си функция.⁵ Тогава е уместно провеждане на хибридно образно функционално-морфо-

логично изследване за изясняване на предоперативния локален статус на лимфните възли и определяне на разпространението на болестта в съседни структури, каквато е еднофотонната емисионна томография, съчетана с компютър-томография (СПЕКТ-СТ), с използване на маркирани колоидални комплекси с ⁹⁹mTc (напр. наноколоид).⁶ Напоследък тази томографска процедура се счита за много по-точна и се предпочита пред обикновенното сцинтиграфско изследване, тъй като позволява по-добро качество на получения образ, с визуализация на повече лимфни възли (до 43% от случаите) в сравнение с двуизмерното конвенционално изследване и с възможност за точната им локализация. Допълнително позволява претерапевтично стадиране с онагледяване и на други органи⁷ (Фиг. 1а и Фиг. 1б). Обобщените данни от литературата сочат, че тя е метод на



Фигура 1а. СПЕКТ-СТ при пациент с кожен меланом на гърба – визуализират се СЛВ в областта на дясна аксила и на дясна скапула (стрелки).



Фигура 16. SPECT-CT при същия пациент – данни за белодробни нодули с размер до 9 mm (образи отдясно), най-вероятно в резултат на вече развили се метастази.

избор при стадий I-II с нисък риск от далечни метастази, без клинични данни за разпространена болест, намалявайки болестността и спестявайки излишни хирургични разходи по евентуална лимфаденектомия.⁸ При болни с по-висок риск (дебелина на тумора повече от 4 mm, улцерации, висок митотичен индекс) като много ефективна, се препоръчва провеждане на позитронноемисионна томография/компютър-томография (ПЕТ/КТ), където с цялостното изображение е възможно онагледяване на всички засегнати структури.^{3,9}

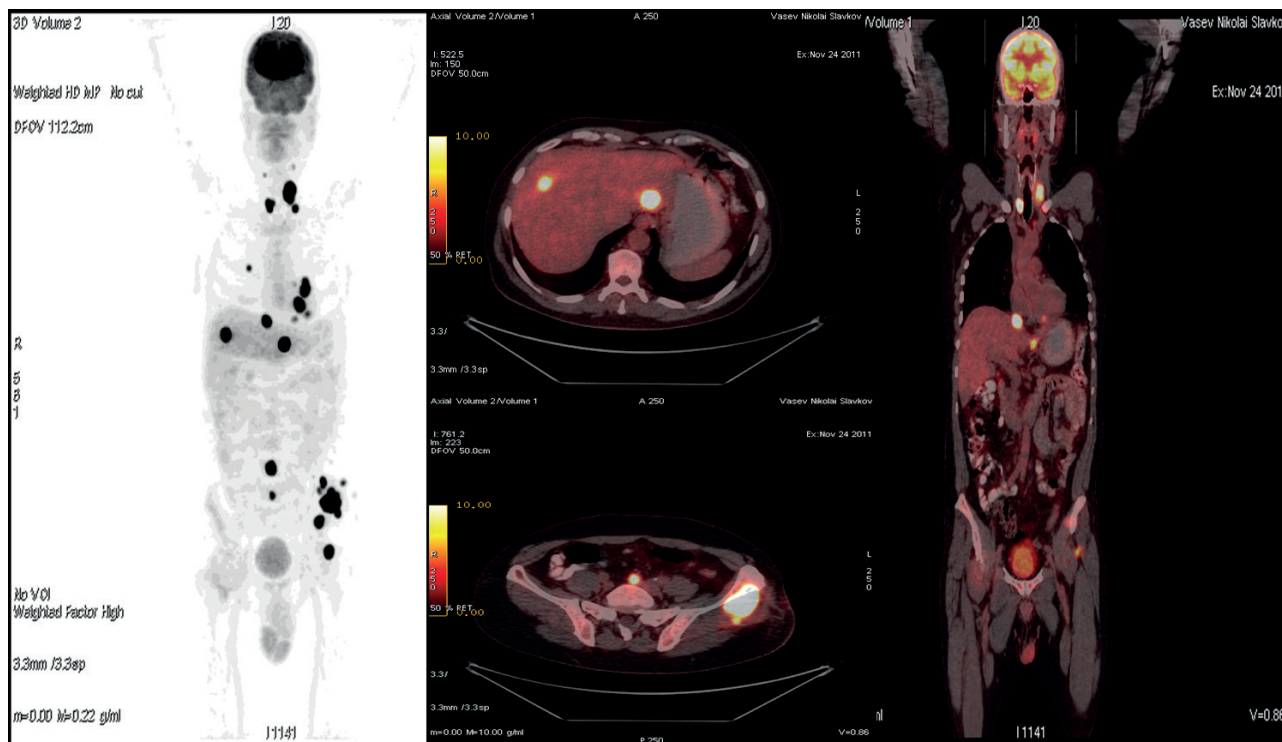
Приложение на позитронноемисионна томография/компютър-томография (ПЕТ/КТ). Роля на ПЕТ/КТ при определяне на стадий на болестта. Диагнозата на КМ обикновено се поставя след хирургична ексцизия и ПЕТ/КТ изследването няма роля при локално

туморно разпространение (Т-стадиране) поради факта, че повишената постоперативна метаболическа активност не позволява точна оценка за наличие на резидуални туморни клетки. При сравнение на 18F-FDG-ПЕТ със сцинтиграфия на СЛВ при пациенти в ранни стадии се установява много ниска чувствителност на първото изследване (0-17%)¹⁰ поради факта, че най-често се касае за микрометастази, които е трудно да бъдат визуализирани. Методът на ПЕТ/КТ е с много високи чувствителност – 100% и специфичност – 96% при метастази над 10 mm.¹¹ Изследването се препоръчва при начално стадиране на пациенти с КМ и по-висок риск (дебелина на тумора по-голяма от 2-4 mm), където 50-70% от пациентите имат вече засягане на лимфните възли и в 10% имат далечни метастази.¹²

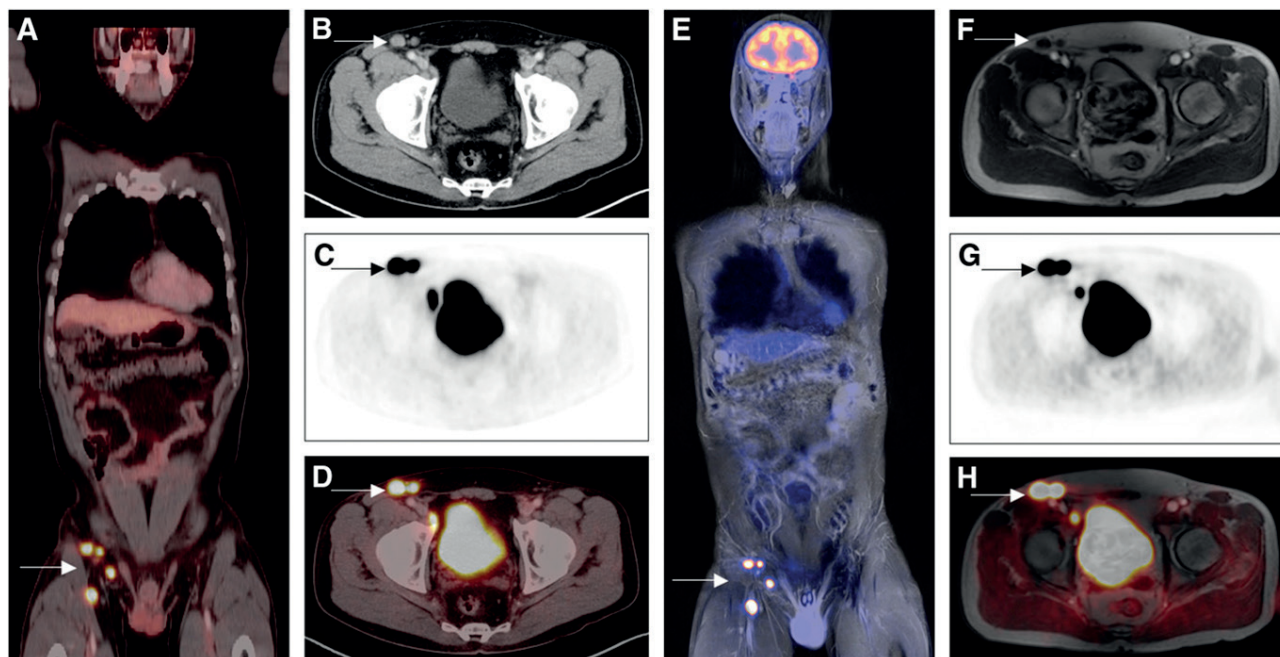
Роля на ПЕТ/КТ при рестадиране. Рецидивите са чести при КМ и тяхната ранна детекция е затруднена поради липса на надежден туморен маркер. Проспективни проучвания на пациенти със стадий I-II показват, че конвенционалните образни методи нямат съществена роля при тяхното проследяване. При пациенти със стадий III-IV сонографията, компютър-томографията (КТ) на торакс и абдомен, както и магнитнорезонансната томография (МРТ) на мозък са от съществено значение за онагледяване на рецидиви. При изследване на пациенти от стадий II-IV се установява чувствителност на тези методи, варираща между 57-81% и специфичност между 45-87%.^{13, 14}

Мета-анализи от литературата доказват, че ¹⁸F-FDG-ПЕТ и още повече – целотелесното хибридно изследване РЕТ/КТ са с по-висока чувствителност, специфичност и точност от стандартните диагностични про-

цедури при визуализация на далечни метастази, вариращи според някои автори за ПЕТ между 70% и 100%¹⁵, а за ПЕТ/КТ – до 97%, с промяна в терапията при 22-49% от болните^{16, 17} (Фиг. 2). С тези методи могат да диагностицират рецидиви около 6 месеца по-рано^{15, 18}, особено когато са разположени в трудни области за клинично или КТ-изследване, каквито са меки тъкани или неуголемени лимфни възли, и могат да подпомогнат решението за подбор на пациенти за евентуална оперативна интервенция от стадий III-IV. Прогностично значение има високата степен на натрупване на ¹⁸F-FDG чрез стандартизираното отношение на натрупване (SUV) във вторично ангажираните лимфни възли, което е негативен прогностичен фактор за болест без рецидиви.¹⁹ При лезии в бели дробове под 7 mm, в черен дроб или в мозък с ПЕТ/КТ могат да се получат фалшиво негативни резултати и в тези случаи приоритет имат другите образни методи – КТ с контраст или МРТ.⁴



Фигура 2. ПЕТ/КТ при пациент с мултиплени метастази от кожен меланом в лимфни възли, черен дроб, щитовидна жлеза, някои кости и мускули, миокард.



Фигура 3. ПЕТ/КТ и ПЕТ/МРТ при пациент с кожен меланом на десен крак с метастази в ингвинални лимфни възли с повишено натрупване на ^{18}F -FDG. От А- до D-образите са от ПЕТ/КТ, а от Е- до H-образите са от ПЕТ/МРТ, където се визуализира по-добър мекотъканен контраст.

Предимство на целотелесната ПЕТ/КТ процедура при проследяване на болестта е и възможността за детекция и на синхронни/метахронни първични тумори, които са наблюдавани при около 8% от случаите.²⁰

Хороидалният (увеален) меланом се диагностицира оптимално с МРТ или КТ с контраст, докато локалните или далечните метастази могат да се визуализират с висока точност с помощта на ПЕТ/КТ.⁴

Като перспективен хибриден образен метод за визуализация на мозъчни, чернодробни, субкутанни или костномозъчни лезии при рестадиране на меланом, на фона на сравнително ниско лъчево натоварване, се очертава ПЕТ/МРТ (Фиг. 3). С него има възможност за изобразяване на мекотъканни огнища с по-добър контраст в сравнение с УТ (МЕТ/УТ), което може да доведе и до промяна на терапевтичната стратегия.²¹

Роля на ПЕТ/КТ при проследяване на терапевтичен ефект. Целотелесното ПЕТ/КТ изследване може да играе важна роля

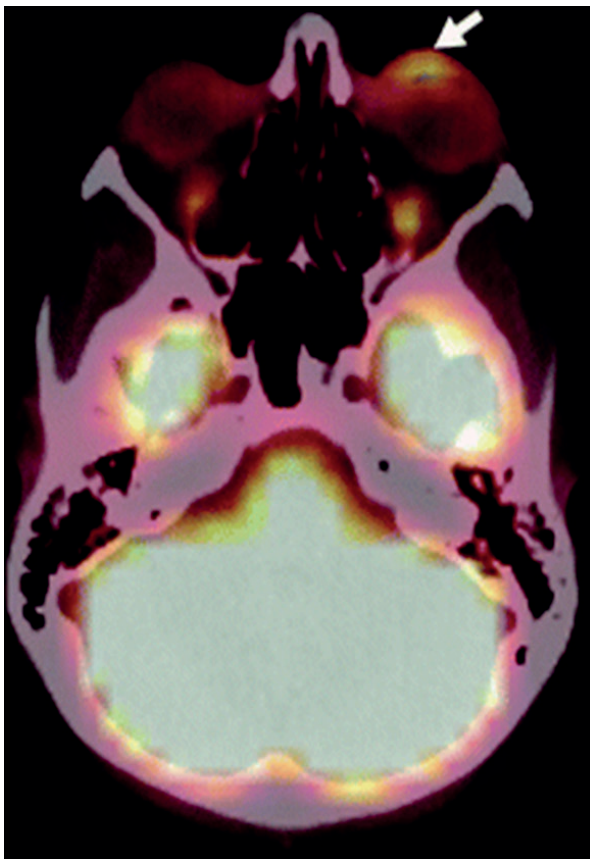
при проследяване ефекта от терапия при болни с регионални или далечни метастази, при които се провежда имуно- или химиотерапия.¹ Въпреки че при тези стадии на напреднало заболяване споменатите лечения нямат съществено въздействие върху преживяемостта, то с помощта на хибридно изследване може да се визуализира ранен терапевтичен метаболитен отговор. Със серийно проследяване на пациенти той може да се оптимизира и така изследването да има потенциално приложение в бъдеще при различни клинични проучвания с нови медикаменти.

Merkel-клетъчен карцином (МКК)

Този тумор е рядка кожна неоплазма с повишаваща се честота, с агресивно поведение и лоша прогноза. Въпреки противоречивите данни за полза от визуализацията на СЛВ, препоръката на NCCN е, че при вече

диагностицирана начална болест с оглед по-нататъшната терапия изследването може да се проведе при клинично негативни за метастази лимфни възли, преди да се вземе решение за лимфна дисекция.²² Болестта се характеризира с повишена експресия на соматостатинови рецептори, които могат да бъдат потенциална възможност, освен за таргетна радионуклидна диагностика, така и за специфична радионуклидна терапия (тераностика). Според някои проучвания за стадиране и рестадиране метод на избор за тяхната визуализация е ПЕТ/КТ-технологията с маркирани пептиди ^{68}Ga , като ^{68}Ga -DOTATOC/DOTATATE, с точност, достигаща 67-100% за доказване на костни, мекотъканни и мозъчни метастази, както и за белодробни и чернодробни лезии, ако

КТ-част на изследването се съчетае с контраст.²³ Според други автори чувствителността и специфичността при визуализация на МКК с ^{18}F -FDG-ПЕТ/КТ е по-висока – съотв. между 94-97% и 87-96%^{24, 25} (Фиг. 4), водещи до промяна на терапията в 33% от пациентите. Но ползата от едновременното визуализиране на тумора с два радиофармацевтика е във възможността за прилагане на адекватна терапия при отделния пациент, т.е. патологично повишената експресия на соматостатинови рецептори е предпоставка за успешна радионуклидна терапия със соматостатинови аналози, маркирани с $^{90}\text{Y}/^{177}\text{Lu}$, а при повишеното натрупване на ^{18}F -FDG е необходимо да се приложи и системна химиотерапия за лечение на недиференцираната част на тумора.^{22, 24}



Фигура 4. ПЕТ/КТ при пациент с Merkel-клетъчен карцином в областта на ляв клепач, който е задебелен (стрелка на лява фигура), без данни за близки или далечни метастази. Четиринадесет месеца по-късно, болната е с множество метастази в черен дроб, лимфни възли и някои кости (фигура вдясно).

Заклучение

В стадии I и II на кожен меланом може да се приложи скинтиграфия на СЛВ, докато при по-напреднали стадии – III и IV – се препоръчва ПЕТ/КТ за първично стадиране и рестадиране. При съмнение за метастази в главен мозък, черен дроб и в бели дробове с малки размери на лезиите първостепенна роля за тяхната визуализация имат МРТ, КТ или ПЕТ/МРТ.

При *Merkel*-клетъчен карцином за стадиране и рестадиране може да се приложи ПЕТ/КТ, препоръчително едновременно с ⁶⁸Ga-маркрани радиофармацевтици и ¹⁸F-FDG за определяне на адекватна терапия.

Методът на ПЕТ/КТ може да се приложи за проследяване ефекта от терапия при кожен меланом и *Merkel*-клетъчен карцином с визуализация на ранен терапевтичен метаболитен отговор.

ЛИТЕРАТУРА

1. Belhocine T, A Scott, E Sapir, et al. Role of nuclear medicine in the management of cutaneous malignant melanoma. *JNM* 2006; 6 (47): 957-967.
2. Loeffler M, M Oei. Malignant melanoma. In: PET-CT hybrid Imaging, ed. by O. Schober, W. Heindel, Thieme, New York, 2010, pp. 187-195.
3. Dummer R, A Hauschild, M Guggenheim, et al. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 (Suppl. 7): 86-91.
4. Walker R, L Jackson, A Jesson, D Delbeke. Melanoma. In: Hybrid PET-CT imaging, ed. by D. Delbeke, O. Izrael, Springer, 2010, pp. 555-570.
5. Blocklet D, et al. Nonvisualization of sentinel lymph node with lymphoscintigraphy, as a result of massive malignant invasion. *J Clin Med* 2001; 26 (12): 1013-1015.
6. Kostadinova I, Garcheva M, Kostadinov E. Hybrid imaging techniques SPECT-CT and PET-CT in the diagnostic algorithm in patients with early stage melanoma. Balkan Congress of Nuclear Medicine, Belgrade, 2013.
7. Mar M, Miller S, Kim E. Improved localization of lymphatic drainage and sentinel node with SPECT/CT hybrid imaging of head/neck lymphoscintigraphy [abstract]. *J Nucl Med* 2005; 46 (2): 500.
8. Garcheva M, Kostadinova I, Kostadinov E. Incremental role of SPECT-CT for SLN mapping in melanoma maligna. *Nuclearmedicine* 2014; 53 (2).
9. Cochran AJ, Balda BR, Starz H, et al. The Augsburg Consensus: techniques of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and completion lymphadenectomy in cutaneous malignancies. *Cancer* 2000; 89: 236-241.
10. Oncology-Melanoma. In: Clinical PET and PET-CT, ed. by Jadvar H, J. Parker, Springer, 2005, pp. 227-234.
11. Acland K, Healy C, Calonje E, et al. Comparison of PET and SLN biopsy in detection of micrometastases of primary cutaneous melanoma. *J Clin Oncology* 2001; 19 (10): 2674-2678.
12. Leong S, Wong J. Future perspectives on selective SLN sdenectomy. *Surg Clin North Am* 2000; 80 (6): 1839-1844.
13. Friedman K, R. Wahl. Clinical use of PET in the management of cutaneous melanoma. *Sem NM* 2004; 34: 242-253.
14. Stas M, Stroobans S, Dupont P, et al. 18-FDG PET scan in the staging of recurrent melanoma: additional value and therapeutic impact. *Melanoma Res* 2002; 12: 479-490.
15. Kuvshinoff BW, Kurtz C, Coit DG. Computed tomography in evaluation of patients with stage III melanoma. *Ann Surg Oncol* 1997; 4: 252-258.
16. Schwimmer J, Essner R, Patel A, et al. A review of the literature for whole-body FDG PET in the management of patients with melanoma. *Q J Nucl Med* 2000; 44: 153-167.
17. Fuster D, Chiang S, Johnson G, et al. Is ¹⁸F-FDG PET more accurate than standard diagnostic procedures in the detection of suspected recurrent melanoma? *J Nucl Med* 2004; 45: 1323-1327.
18. Eigtved A, Andersson AP, Karin Dahlström K, et al. Use of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the detection of silent metastases from malignant melanoma. *Eur J Nucl Med* 2000; 27: 70-75.
19. Lin C, A Alavi. Melanoma. In: PET and PET-CT, A Clinical Guide, II ed., Thieme, New York, 2009, pp. 181-185.

20. Harris MT, Berlangieri SU, Cebon JS, et al. Impact of 2-deoxy-2[F-18]fluoro-d-glucose positron emission tomography on the management of patients with advanced melanoma. *Mol Imaging Biol* 2005; 23: 1-5.
21. Buchbender Ch, T Heusner, Th Lauenstein, et al. Oncologic PET/MRI, Part 2: Bone Tumors, Soft-Tissue Tumors, Melanoma, and Lymphoma, *J Nucl Med* 2012; 53 (8): 1244-1252.
22. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Available at: www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/mcc.pdf (accessed on 3 December 2013).
23. Buder K, Lapa K, Kreissl M, et al. Somatostatin receptor expression in *Merkel* cell carcinoma as target for molecular imaging, 2014. Available at: www.biomedcentral.com/1471-2407/14/268
24. George A, Girault S, Testard A, et al. The impact of (18)F-FDG-PET/CT on *Merkel* cell carcinoma management: a retrospective study of 66 scans from a single institution, *Nucl Med Comm* 2014; 35 (3): 282-290.
25. Beylergil V, J Carrasquillo. Molecular imaging and therapy of *Merkel* cell carcinoma. *Cancers* 2014. Available at: www.mdpi.com/journal/cancers

////////////////////////////////////

**СЪВРЕМЕННИ ОБРАЗНИ И ХИБРИДНИ
МЕТОДИ ЗА СТАДИРАНЕ И РЕСТАДИРАНЕ
НА КОЖЕН МЕЛАНОМ – ЦЕЛОТЕЛЕСНА
МАГНИТНОРЕЗОНАНСНА ТОМОГРАФИЯ
И ПОЗИТРОННОЕМИСИОННА
МАГНИТНОРЕЗОНАНСНА ТОМОГРАФИЯ**

////////////////////////////////////

д-р Валентин Иванов

Отделение по образна диагностика, МБАЛ *Токуда Болница* – София

СЪВРЕМЕННИ ОБРАЗНИ И ХИБРИДНИ МЕТОДИ ЗА СТАДИРАНЕ И РЕСТАДИРАНЕ НА КОЖЕН МЕЛАНОМ – ЦЕЛОТЕЛЕСНА МАГНИТОРЕЗОНАНСНА ТОМОГРАФИЯ И ПОЗИТРОННОЕМИСИОННА МАГНИТОРЕЗОНАНСНА ТОМОГРАФИЯ



д-р Валентин Иванов

Отделение по образна диагностика, МБАЛ Токуда Болница – София

ОБЗОР

Цялотелесните образни методики играят важна роля при диагностика и стадиране на онкологични болести. Те участват както при дигностициране на първичния тумор, така и при определяне на N- и M-стадия на болестта. Приложението на тези методики при кожен меланом (КМ) е свързано главно със стадиране, рестадиране и оценка на терапевтичния отговор според съвременните ръководства (AJCC, (NCCN и ESMO) за диагностика и стадиране. В статията е направен обзор на индикациите, възможностите и приложението на цялотелесната магнитнорезонансна томография (МРТ) и хибридната позитронноемисионна томография/магнитнорезонансна томография (ПЕТ/МРТ) при стадиране, рестадиране и оценка на терапевтичен отговор след лечение при пациенти с КМ.

Увод

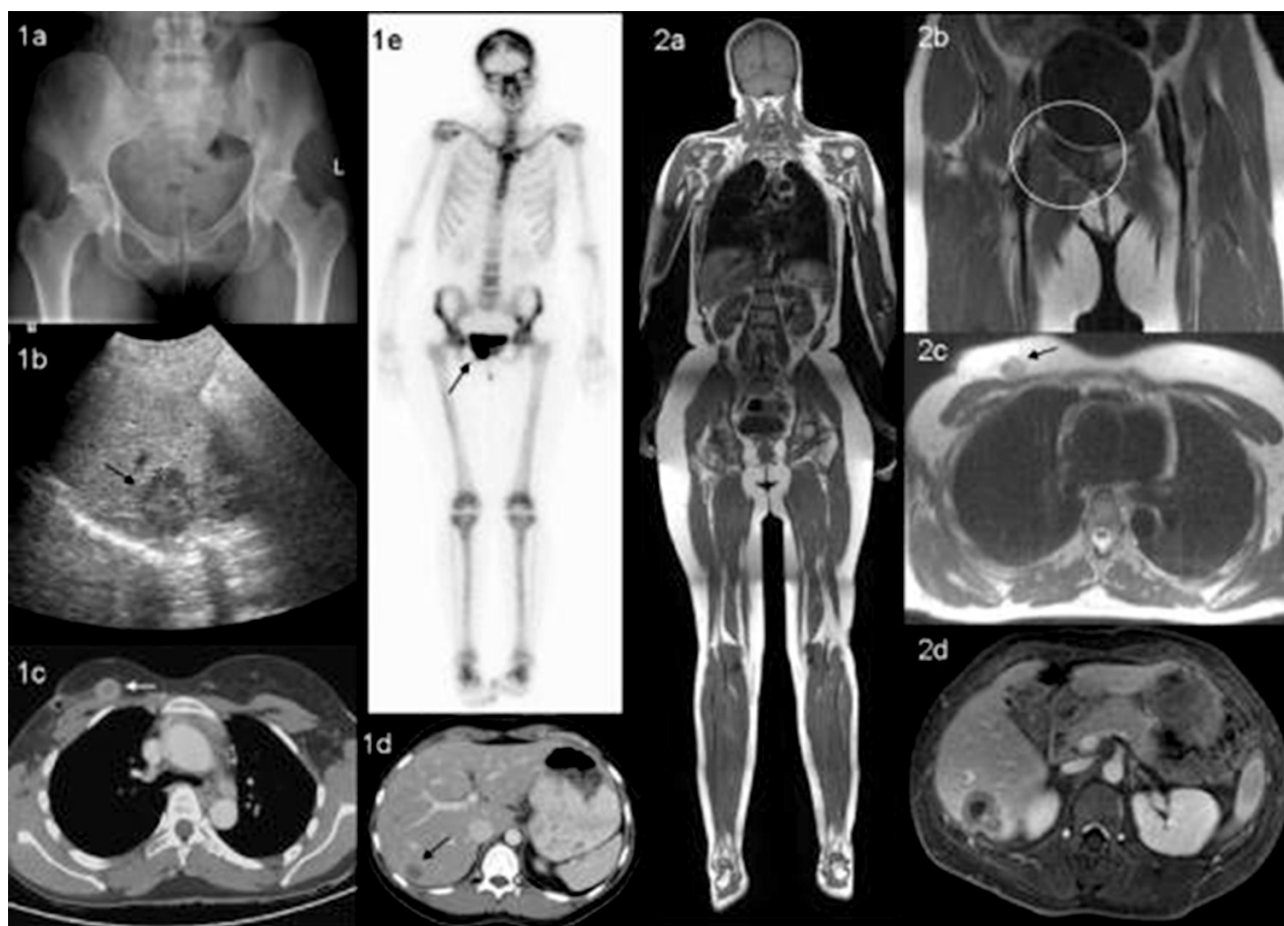
В последните години позитронноемисионната томография/компютър-томография (ПЕТ/КТ) с използването на глюкозния аналог 2-^[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) се наложи като стандартна цялотелесна образна методика при стадиране и последващо мониториране на терапевтичния отговор при много малигнени болести. Тя обаче има недостък – анатомичната информация от нискодозовия КТ, кой-

то се използва при нея, е недостатъчна. С нея трудно може да се оцени локалната туморна инвазия и да се характеризират инцидентно откритите лезии. Използването в тези случаи на магнитнорезонансна томография (МРТ) ни дава допълнителна анатомична информация с висок мекотъканен контраст, а с добавянето на дифузионна техника може да се съди за клетъчния денситет. Тази допълнителна информация помага за точна оценка на тумора.

Целотелесна МРТ за стадиране и рестадиране на кожен меланом

Образната диагностика с целотелесни методики играе важна роля при стадирането на кожен меланом (КМ). Прогнозата на този болест е пряко свързана със стадия в момента на откриването. В процеса на стадирането се включват различни образни методики като ултразвук, КТ, МРТ, ПЕТ/КТ. Тези методики много често са свързани

с продължително времетраене на изследването. Целотелесните методики за изследване (head to toe), като целотелесна МРТ (ЦТ МРТ) и ПЕТ/КТ, са оптималните образни изследвания за определяне на туморното ангажиране и разпространение в едно изследване. Предимството на ЦТ МРТ пред КТ е висока мекотъканна контрастна резолюция, липсата на радиация, покриване на цялото тяло и многопланово представяне на промените за оценка на метастази при пациенти с КМ¹ (Фиг. 1).



Фигура 1. Рестадиране на 29-годишна жена с карцином на гърда с повишени нива на серумен туморен маркер и тазова костна болка. 1a, 1b: негативна рентгенография на таз, при сцинтиграфски данни за метастаза в дясна пубисна кост. Ултразвукови данни за неясна хепатална метастатична лезия (стрелка). 1c, 1d: КТ открива рецидивен тумор в дясна гърда и потвърждава хепатална метастаза. 2a, 2b: T1-weighted ЦТ МРТ потвърждава метастаза в дясна пубисна кост (кръг). 2c, 2d: HASTE-образите потвърждават рецидив в дясна гърда (стрелка), а DCE-серията очертава хепатална метастаза.

Първоначално ЦТ МРТ е предложена за онкологичен скрининг на асимптоматични пациенти и откриване на неизвестно първично огнище. Но ефективността на ЦТ МРТ при този начин на използване трябва да бъде доказана с голяма кохорта пациенти. За първоначално стадиране на тумора ПЕТ/КТ е доказано по-точен от ЦТ МРТ при определяне на T-стадия и при оценка на лимфните възли, главно поради липса на метаболитна информация при ЦТ МРТ. С използването на мултипараметричен анализ, дифузионна техника DWI и лимфотропни контрастни материи се повишава чувствителността на ЦТ МРТ за откриване и стадиране на онкологични пациенти. Тя има предимство при тумори, които често дават далечни метастази в мозък и черен дроб, за цялостна оценка на костни метастатични промени и малигна инфилтрация на костен мозък.² В този контекст ЦТ МРТ е с висока точност при откриване на скелетни метастази и стадиране на хематологични болести – миелом и лимфоми. Използването на специфични протоколи при изследването на бели дробове и динамичните перфузионни протоколи за абдомен и таз намаляват продължителността на изследването по-малко от 45 минути.²

Цялостелната ЦТ МРТ с включване на дифузионна техника DWI се използва за оценка на мултифокални метастази. Дифузията отчита свободното движение на водните молекули в тялото. Рестрикцията на водната дифузия се свързва с разрушаването на клетъчните мембрани и тъканния целуларитет. По този начин DWI дава функционална информация, която може да се използва при откриване и характеризиране на патологични процеси. Това включва не само остър церебрален инфаркт, но и малигнени тумори. Тази допълнителна функционална информация, получена от



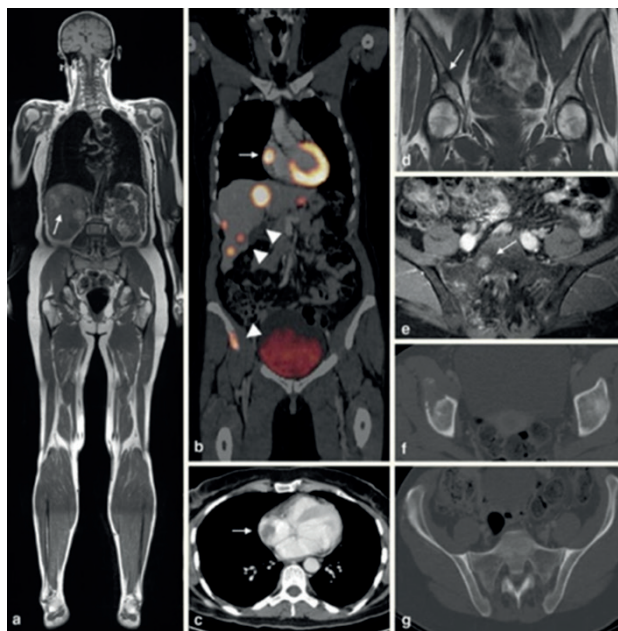
Фигура 2. Пациент с меланом и дисеминирани метастази. Костна метастатична лезия (стрелка) с размери 15 mm е открита в десен ацетабулум от (MIP) образите при DWI (a); коронарни T2-STIR-образи (b) и коронарни T1W-образи (c); тази лезия не се открива при КТ (d).

DWI, и комбинирането и с детайлна анатомична информация, получена от конвенционалните – T1, T2 и short-tau inversion recovery (STIR), ни дава възможност за попълно стадиране на тумора² (Фиг. 2). Тези предимства на ЦТ МРТ с DWI пред конвенционална МРТ и дават възможност да бъде включена в образните методики за стадиране на меланом.³

При сравняване на общата и органично локализирана точност на ¹⁸F-FDG-ПЕТ/КТ и ЦТ МРТ при стадиране на пациенти в стадий III/IV в едно проспективно изследване не се намират съществени раз-

лики при двете методики. Общата точност на ПЕТ/КТ е 86.7%, сравнена с точността на ЦТ МРТ – 78.8% ($p = 0.0007$). Методът на ПЕТ/КТ е значително по-точен при N-стадиране и диагностициране на кожни и субкутанни метастази. Методът на ЦТ МРТ е по-чувствителен от ПЕТ/КТ при диагностициране на мозъчни и хепатални метастази. Също така ЦТ МРТ е по-малко чувствителна и по-специфична от ПЕТ/КТ при диагностициране на белодробни лезии. При 41 пациенти 64% от двете методики променят терапевтичния план. При цялотелесно стадиране на метастатичен меланом се достига по-висока точност с комбинация на ПЕТ/КТ и органно-специфична ЦТ МРТ с включване на специализирани протоколи за мозък, черен дроб и костен мозък.⁴

Цялотелесните образни методики са стандартни при стадиране на метастатичен меланом. В бъдеще цялотелесните стадиращи методики ¹⁸F-FDG-ПЕТ/КТ и ЦТ МРТ все повече ще заменят мултимодалния подход, защото покриват целия телесен обем на пациента в едно изследване с точна детекция на туморното разпространение. Поради ниската чувствителност на ПЕТ за лезии под 1 cm ПЕТ/КТ не се използва при пациенти в стадий I и II на КМ, но е доказано по-информативен при диагностициране на далечни метастази, което е изключително важно при пациенти с предстояща метастазектомия. При невъзможност за провеждане на ПЕТ/КТ може като алтернатива да се проведе КТ или ЦТ МРТ с DWI за стадиране. Предварителните резултати сочат висока обща диагностична точност на двете методики, но те имат различна органно-базирана специфика – ПЕТ/КТ е по-точна при N-стадиране и при диагностициране на мекотъканни и белодробни метастази, докато ЦТ МРТ с DWI – при мозъчни, чернодробни и кости метастази⁵ (Фиг. 3).



Фигура 3. 60-годишен пациент с меланом. (a) coronal T1-weighted turbo spin echo (TSE) ЦТ МРТ открива множествени хепатални метастатични лезии. (b) ¹⁸F-FDG-ПЕТ/КТ показва патологично натрупване на [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose (FDG) в областта на десно предсърдие (стрелка), черен дроб (триъгълник), дясна илиачна кост (триъгълник). (c) КТ с контрастна материя показва метастази в дясно предсърдие. (d) T1-weighted TSE WB-MRI потвърждава нискосигналната лезия в дясна илиачна кост. (e) axial fat-saturated contrast-enhanced МРТ на таз показва и други метастатични лезии в сакрум (стрелка). (f, g) кореспондиращите КТ-образи на костен прозорец показват добре изразени остеолитични промени в дясна илиачна кост, но не се откриват морфологични промени в сакрум.

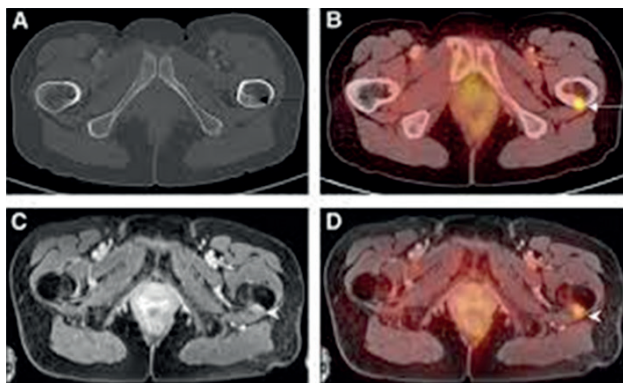
Хибридна ПЕТ/МРТ за стадиране и рестадиране на кожен меланом

Идеята за използването и комбинирането на ПЕТ с МРТ се ражда през средата на 1990 г., дори по-рано и от представянето на ПЕТ/КТ през 1998 г. S. Cherry and P. Marsden предлагат към молекулярната информация от ПЕТ да бъде добавени анатомични подробности с висок мекотъканен

контраст към хибридно ПЕТ/МРТ при експериментални изследвания.⁶ Ранните ПЕТ/МРТ системи са се състояли от отделни ПЕТ- и МРТ-елементи, свързани в общ блок на управление. Този модел намалява електромагнитните взаимодействия между отделните елементи на двата апарата, но от друга страна, разделянето им довежда до много грешки при записване и обработка на данните. Също така отделните ПЕТ и МРТ изискват отделни големи помещения и общ записващ блок. Тези недостатъци са избегнати при новото поколение интегрирани апарати, където ПЕТ-детекторите и електронните блокове са разположени в МРТ апарата. Това изисква значителни технически промени в тези компоненти за избягване на електромагнитни взаимодействия между тях. Едновременното получаване на данни от ПЕТ и МРТ скъсява времето на изследване и намалява грешките при записване.⁷

Морфологичните и молекулярните образни изследвания, като МРТ, КТ и ПЕТ, играят ключова роля в клиничната онкология, защото диагностиката, стадирането и лечението разчитат на образна находка за потвърждаването им. Всяка от тези образни методики има своите преимущества и недостатъци. Комбинирането им дава възможност за съчетаване на преимуществата им, което води до подобряване на техните диагностични възможности. Въвеждането на хибридно ПЕТ/КТ значително подобрява възможностите за диагностика и стадиране на онкологични болести, а въвеждането на (¹⁸F)-fluoro-2-deoxyglucose (FDG) ПЕТ/КТ е качествено нова стъпка в молекулярната образна диагностика. За подмяната на КТ с МРТ в тази хибридна образна диагностика се правят опити в последните години. Методът на МРТ има преимущества пред КТ, които правят възможно тя бъде заменена в хибридно образно

изследване. Предимствата на МРТ пред КТ са следните: (1) липса на йонизираща радиация – много важно условие при деца и пациенти, подложени на повтарящи се контролни прегледи; (2) МРТ в сравнение с КТ дава по-голяма възможност за получаване на образи с по-добра мекотъканна контрастна резолюция; (3) МРТ с мултипараметричен анализ (functional MRI (fMRI), и MR spectroscopy (MRS) дава допълнителна възможност за добавяне на молекулярна информация към ПЕТ и подобряване на диагностичните възможности на хибридната методика с цел оптимална диагностика на туморния процес и стадиране. От друга страна, МРТ има недостатъци, които затрудняват нейното използване: (1) по-дълго време на изследване от КТ, зависещо от използваните протоколи; (2) контраиндикации за провеждане при метални импланти или кардиостимулатори, водещи до загуба на сигнала, а от там – и неправилна интерпретация на данните от ПЕТ; (3) релативно ниска чувствителност при пулмонални лезии, независимо от създадените специални протоколи за оценка на белодробния паренхим; (4) по-висока цена на МРТ в сравнение с КТ.⁸ Методът на МРТ има по-големи възможности за промяна на тъканния контраст с промяна на някои параметри при получаване на морфологична информация от T1- и T2-секвенциите. Като допълнение на морфологичните секвенции МРТ има възможност за получаване на допълнителна молекулярна информация при използване на различни функционални техники. Измервайки целуларитета, DWI дава оценка за рестрикцията на дифузията в екстрацелуларното пространство.⁹ Като цяло, ПЕТ/МРТ може да се препоръча пред ПЕТ/КТ при тези онкологични индикации, които изискват висок тъканен контраст при диагнозата на метастатични лезии в мозък, кости и черен дроб. Последните са



Фигура 4. Пациент на 55 години с метастатичен карцином на гърда. (А) незабележима остеосклеротична лезия в областта на ляв фемур при КТ. (В) същата се диагностицира от по-добре изразено натрупване при ^{18}F -FDG ПЕТ/КТ. (С) ЦТ МРТ - T1 weighted fat-suppressed sequence добре визуализира метастатичната лезия (триъгълник). (D) кореспондиращият ПЕТ/МРТ-образ демонстрира прецизна метаболитно-анатомична корелация при хибридният метод.

много честа органна локализация на метастатична дисеминация при КМ. При клинични индикации, при които не се изисква висок тъканен контраст, се използва ПЕТ/КТ като основна диагностична методика¹⁴ (Фиг. 4).

Диагноза и T-стадий. Мястото и ролята на ПЕТ/МРТ и останалите образни и комбинирани методики при диагностика, стадиране и рестадиране на КМ се определя от техните диагностични възможности и според съвременните ръководства. Диагнозата се базира на клиничния преглед и биопсията, а туморният стадий според AJCC-класификацията се базира на улцерациите и дебелината на тумора, потвърдена от хистопатолога. Образните методи, като КТ, МРТ, и ^{18}F -FDG ПЕТ, диагностицират КМ с различна чувствителност и специфичност в зависимост от големината и локализацията. Засега няма препоръки за използване на образни и хибридни методики за първичната диагноза и стадирането на КМ.

Диагноза на N-стадий. При определяне на риска от локорегионални метастази се използва дебелината на туморната инфилтрация (AJCC класификация). При дебелина на тумора над 1 mm трябва се обсъжда биопсия на сентинелни лимфни възли (БСЛВ) с последваща локорегионална лимфна дисекция при положителни за метастази сентинелни лимфни възли. Този диагностичен алгоритъм се базира на невъзможността да се диагностицират малки или микроместази в лимфни възли при КМ от образните методики. При мета-анализ на диагностичните възможности при различни образни методики за N-стадиране при пациенти с КМ се описва по-висока чувствителност и специфичност (60% и 97%) за ултразвук в сравнение с КТ (9% и 92%), ^{18}F -FDG PET (30% и 96%) и ^{18}F -FDG ПЕТ/КТ (11% и 97%).¹⁵ Разглеждането на възможностите на ЦТ МРТ за N-стадиране при пациенти с КМ трябва да става на базата на предимствата, които тя има при диагностициране на субкутанни, костни, хепатални и мозъчни метастази. По този начин и комбинираната ПЕТ/МРТ може значително да подобри цялотелесното стадиране на КМ в едно изследване.

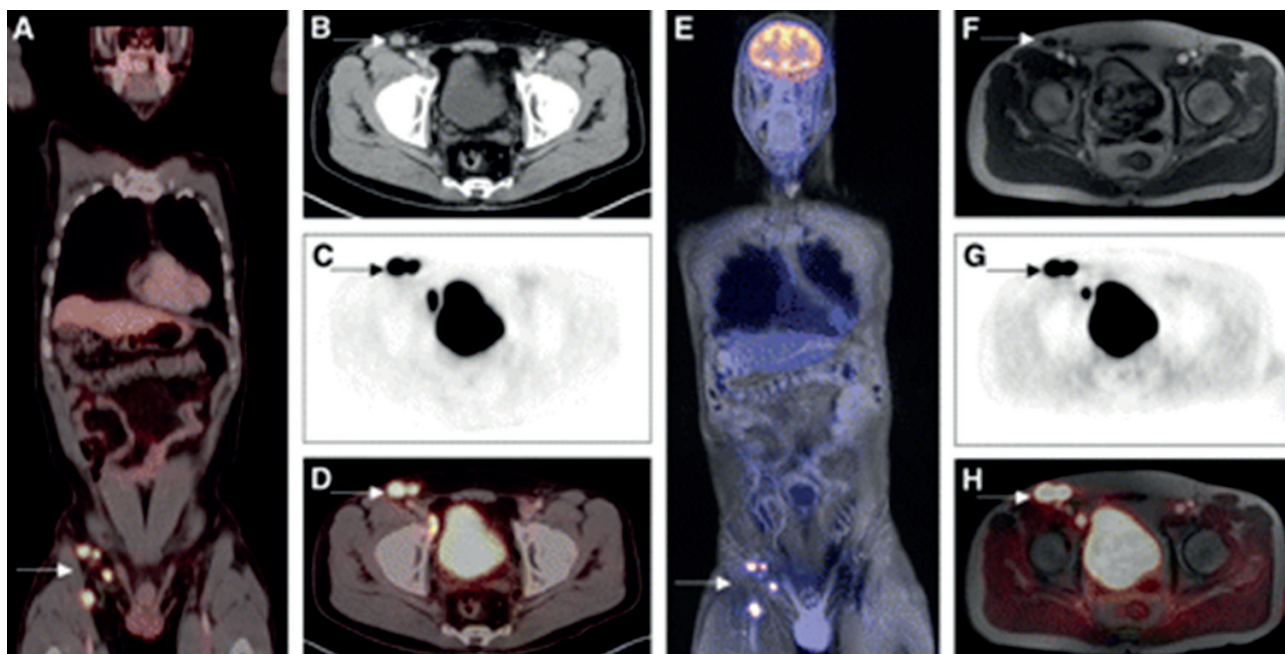
Рестадиране и мониториране на терапевтичен отговор. Рискът от рецидив при пациенти с КМ зависи от дебелината на тумора. Пациентите с дебелина до 1 mm са нискорискови (AJCC стадий 0-Ib) и се проследяват с клиничен преглед и физикално изследване на кожа и лимфни възли. Рестадирането с образни методики се препоръчва, но не е задължително при високорискови пациенти. При ретроспективно изследване на високорискови пациенти се намира, че ^{18}F -FDG ПЕТ/КТ има чувствителност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна стойност – 97% и е по-точно от туморния маркер S100 при диагностициране на туморен рецидив.

Важно е не само откриването на рецидива, но и неговото прецизно локализиране при вземане на решение за хирургично отстраняване. В едно проспективно проучване за важността на образната диагностика при вземане решение за хирургично лечение при пациенти с КМ се намира, че при 25-75% от пациентите има смяна на начина на лечение на базата на находката от ^{18}F -FDG ПЕТ/СТ.¹⁶ Методът на МРТ също играе важна роля при вземане на решение за смяна на лечението; терапията се променя при 64% от пациентите и има смяна на хирургичния подход при 10 пациенти след ново изследване с ЦТ МРТ с влючен DWI. Също така МРТ има по-висок мекотъканен контраст и е с доказано с по-висока възможност за откриване на метастатични лезии във важни органи като черен дроб и мозък, което може да промени терапевтичния подход.

Двете образни методики (^{18}F -FDG ПЕТ/КТ и МРТ) са чувствителни за промените в тъканите след локална и системна терапия. Респондерите на химиотерапия, открити с ^{18}F -FDG ПЕТ/КТ, имат по-дълъг интервал без прогресия и по-висока преживяемост от неотговорилите.¹⁴

Заклучение

Целотелесната МРТ и хибридно ПЕТ/МРТ са съвременни образни методики, които се използват както за самостоятелно стадиране и рестадиране на КМ, така и в съчетание с ПЕТ. Получената от тях морфологична и функционална информация за тумора е ценно допълнение към метаболитната информация от ПЕТ. Това прави възможно пълна и екзактна оценка на стадия на болестта, а от там – правилна преценка за лечението и отговора към него.



Фигура 5. 65-годишен пациент с патологично потвърден T4b кожен меланом на десния крак. (A) coronal whole-body ^{18}F -FDG ПЕТ/КТ. (B) КТ с контрастна материя. (C) axial ^{18}F -FDG ПЕТ. (D) axial ^{18}F -FDG ПЕТ/КТ показват множествени уголемени и натрупващи ^{18}F -FDG ингвинални лимфни възли с метастази (стрелка). (E) coronal ^{18}F -FDG ПЕТ/МРТ. (F) axial T1-weighted МРТ. (G) axial ^{18}F -FDG ПЕТ едновременно с МРТ. (H) axial ^{18}F -FDG ПЕТ/МРТ е също толкова точна, както ПЕТ/КТ, за детекция и визуализация на лимфни метастази.

ЛИТЕРАТУРА

1. Firas Mosavi, Gustav Ullenhag & Hakan Ahlstrom. Whole-body MRI including diffusion-weighted imaging compared to CT for staging of malignant melanoma. *Upsala J Med Sci* 2013; 118: 91-97.
2. Schmidt GP, Kramer H, Reiser MF. Whole-body magnetic resonance imaging and positron emission tomography-computed tomography in oncology. *Magn Reson Imag* 2007; 18(3):193-202
3. Laurent V, Trausch G, Bruot O, et al. Comparative study of two whole-body imaging techniques in the case of melanoma metastases: advantages of multi-contrast MRI examination including a diffusion weighted sequence in comparison with PET/CT. *Eur J Radiol* 2010; 75: 376-383.
4. PfannenberG C1, Aschoff P, Schanz S, et al. Prospective comparison of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography and whole-body magnetic resonance imaging in staging of advanced malignant melanoma. *Eur J Cancer* 2007; 43 (3): 557-564
5. PfannenberG C1, Schwenzer N. Whole-body staging of malignant melanoma: advantages, limitations and current importance of PET-CT, whole-body MRI and PET-MRI. *Radiologe* 2015; 55 (2): 120-126.
6. Pichler BJ, Colb A, Naegele T, Schlemmer HP. PET/MRI: Paving the way for the next generation of clinical multimodality imaging applications. *J Nucl Med* 2010; 51 (3):333-336
7. Fraum TJ, Fowler KJ, McConathy J, et al. PET/MRI for the body imager: abdominal and pelvic oncologic applications. *Abdominal Imaging* 2015; DOI: 10.1007/s00261-015-0390-3
8. Pace L, Nicolai E, Aiello M, et al. Whole-body PET/MRI in oncology: current status and clinical applications. *Clin Transl Imaging* 2013; 1: 31-44.
9. Zhong JH, Gore JC. Studies of restricted diffusion in heterogeneous media containing variations in susceptibility. *Magn Reson Med* 1991; 19: 276-284.
10. Vandecaveye V, De Keyzer F, Vander Poorten V, et al. Head and neck squamous cell carcinoma: value of diffusion-weighted MR imaging for nodal staging. *Radiology* 2009; 251: 134-146.
11. Poptani H, Gupta RK, Roy R, et al. Characterization of intracranial mass lesions with in vivo proton MR spectroscopy. *AJNR* 1995; 16: 1593-1603.
12. Gore JC, Manning HC, Quarles CC, et al. Magnetic resonance in the era of molecular imaging of cancer. *Magn Reson Imaging* 2011; 29: 587-600.
13. Buchbender C, Heusner TA, Lauenstein TC, et al. Oncologic PET/MRI, Part 1: Tumors of the brain, head and neck, chest, abdomen, and pelvis. *J Nucl Med* 2012; 53: 928-938.
14. Buchbender C, Heusner TA, Lauenstein TC, et al. Oncologic PET/MRI, Part 2: Bone tumors, soft-tissue tumors, melanoma, and lymphoma. *J Nucl Med* 2012; 53: 1244-1252.
15. Horn J, Lock-Andersen J, Sjøstrand H, Loft A. Routine use of FDG-PET scans in melanoma patients with positive sentinel node biopsy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006; 33: 887-892.
16. Strobel K, Dummer R, Steinert HC, et al. Chemotherapy response assessment in stage IV melanoma patients: comparison of 18F-FDG-PET/CT, CT, brain MRI, and tumor marker S-100B. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35: 1786-1795.

**УЛТРАЗВУКОВА ДИАГНОСТИКА НА РЕГИОНАЛНИ
ЛИМФНИ ВЪЗЛИ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ**

**д-р Иво Гергов¹
д-р Ива Гаврилова²**

¹Клиника по образна диагностика

²Клиника по онкодерматология
СБАЛО – София

УЛТРАЗВУКОВА ДИАГНОСТИКА НА РЕГИОНАЛНИ ЛИМФНИ ВЪЗЛИ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

д-р Иво Гергов¹

д-р Ива Гаврилова²

¹Клиника по образна диагностика

²Клиника по онкодерматология

СБАЛО – София

ОБЗОР

В статията са визирани различни актуални аспекти на ултразвуковата диагностика (УЗД) на регионални лимфни възли при пациенти с кожен меланом (КМ), свързани със сентинелната лимфна биопсия възли, ранното стадиране и проследяването на болестта. Подробно и сравнително се описва образната УЗД находка на нормални и патологични лимфни възли. Детайлно са представени т.нар. Берлински ултразвукови морфологични критерии на *C. Voit et al.* за пациента с КМ в стадии I и II. Дискутира се мястото на тънкоиглената аспирационна лимфна биопсия под УЗД контрол като самостоятелен избор – чувствителност 51% и специфичност 99%.

Увод

Общата заболяемост от злокачествени кожни новообразувания в България за 2011 г. по данни на Националния раков регистър възлиза на 4783 пациента годишно или 13.7% от всички злокачествени тумори. От тях с меланом (М) се диагностицират 479 пациента, което, сравнено със статистически данни за последните 50 години, бележи значително петкратно увеличение (98 пациента за 1965 г.). За същия период динамиката в данните за смъртността сочат увеличение от 62 на 159 починали пациенти годишно, като очакваната смъртност се е понижила от 67% на 32%. Ниската заболяемост (3.5/100000) води до неразпознаване или известно подценяване

на началните симптоми на малигнизация на пигментни лезии и съответно в много случаи – на закъсняла диагноза. При първичния преглед в клиничен стадий I се откриват 32.4% от пациентите, във II – 43.3%, в III – 14.9% и в IV – 9.4%.¹ Кожният меланом (КМ) се разпространява по лимфен път в 80% от случаите на метастазиране (52% самостоятелно и в 29% едновременно с хематогенно метастазиране). Честотата на лимфни метастази зависи от Т-стадия (и наличието на улцерация): при T1 – 9%, T2 – 24%, T3 – 34% и T4 – 45%. Петгодишната преживяемост на пациенти с лимфни метастази варира средно между 40% и 60% (между 30% и 70% в отделни проучвания) и зависи от стадия на пър-

вичния тумор, размера и броя на лимфните метастази.¹

Биопсия на сентинелни лимфни възли

Докато за туморния стадий е наложителна ранна диагноза, за откриването на малки и особено субклинични метастази метод на избор е биопсия на сентинелни лимфни възли (БСЛВ) – минимално инвазивна алтернатива на профилактичната лимфна дисекция. Въведена от *D. Morton* през 1992 г., БСЛВ се превърна в стандарт за ранно престадиране на пациентите от стадий I и II в стадий III.² Това води до оформяне на прогностично по-хомогенни групи с подобряване на прогнозата както в групата със, така и в тази без микрометастази. Удължава се преживяемостта без болест, а следоперативният морбидитет е по-нисък.³ Недостатъци на БСЛВ са липса на промяна в общата преживяемост след проведена оперативна интервенция. Общата преживяемост се подобрява само при пациенти със среден риск, дебелина на първичния тумор 1.5-3.5 mm в стадий T2 и T3. При тях се отчита по-добра преживяемост – около 60%, докато при пациенти с клинично доказани лимфни метастази преживяемостта е 40%. При БСЛВ се откриват положителни метастатични стражеви лимфни възли само в около 20-30%, поради което тя може да се категоризира като „излишна“ процедура при 70-80% от пациентите.

Понастоящем БСЛВ е приета за стандарт в много страни. Въпреки недостатъците си, засега тя се приема за най-добрият метод за ранна регионална диагностика и трябва да се предлага на пациента преди отстраняване на първичния тумор като част от цялостния терапевтичен план. Позитивният стражеви възел е най-важният прогностичен фактор, доказателство за

метастатичен фенотип на първичния КМ. Сравнително малкият процент на пациенти с микрометастази и ограниченията във възможността БСЛВ да се провежда при всички пациенти налага разработването на неинвазивни методи за ранна диагноза на регионални лимфни метастази.

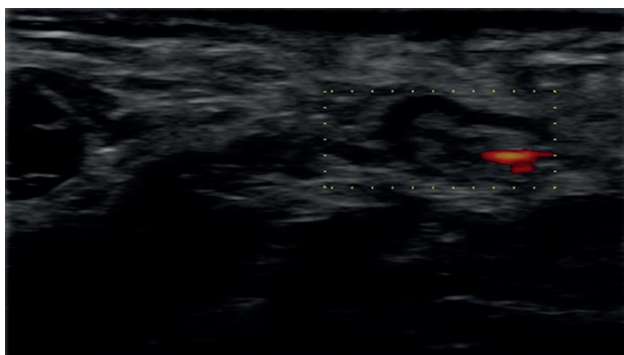
Ултразвукова диагностика на регионални лимфни възли

Ултразвуковата диагностика е широко достъпен, евтин и информативен метод в онкологичната практика. Използва се като задължителен елемент за ранното стадиране и вторично проследяване на пациенти, като подпомага и избора на хирургична тактика.

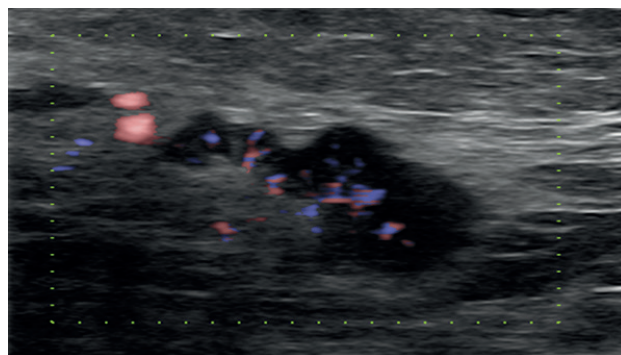
Разделителната способност на тактилото усещане при палпация на повърхностни лимфни възли е размер на възела 1-1.5 cm. Клиничният преглед на регионални лимфни възли в стадий I и II може да достига до 39% фалшиво отрицателни резултати. Разделителната способност на съвременните ехографи от 7.5-10 MHz за регионални метастази е 5 mm, а при ултразвукови апарати с диагностични възможности на трансдюсера от 10-18 MHz могат да се визуализират субкапсулни меланомни метастатични отлагания в лимфни възли много преди те да станат палпируеми и клинично откриваеми.

Ултразвуковото изследване на повърхностно разположени лимфни възли на шия, аксилни и ингвинални гънки изобразява промени в структурата им, които позволят да се разграничи метастатично ангажиране от възпалителни изменения.⁴ При ултразвуков преглед бенигнените лимфни възли са с издължена овална форма, а надлъжният размер е два пъти по-голям от напречния. Центърът на лимфните възли е хиперехогенен, отчетливо се разграничава фината хипоехогенна периферия. Дебелината на хипоехогенната

УЛТРАЗВУКОВА ДИАГНОСТИКА НА РЕГИОНАЛНИ ЛИМФНИ ВЪЗЛИ



Фигура 1. Бенигнен лимфен възел



Фигура 2. Метастатичен лимфен възел

Таблица 1. Сравнителна оценка на основни ултразвукови белези.

Бенигнени	Малигнени
Издължена форма и малък напречен размер	Овална или балонна форма и голям напречен размер
Хиперехогенен център и фина хипоехогенна периферия	Заличен център с масивна хипоехогенна периферия
Негативен <i>Doppler</i> -сигнал в периферията	Положителен <i>Doppler</i> -сигнал

периферия е около 1.5 до 2 mm. При ултразвуково изследване на нормални повърхностни лимфни възли с *Doppler* се намира положителен сигнал в хилуса на лимфния възел, където навлиза кръвоносният съд. Нерядко може да се изобразят и фини слаби разклонения към медулата. При дълбоките лимфни възли кръвоснабдяването може да се осъществява от повече от един съд, навлизащи през повече от една точка във възела. Вариации с навлизане на съдове извън хилуса при повърхностни лимфни възли нормално може да се наблюдават при не добре изразена хилусна структура¹⁴ (Фиг. 1).

При наличие на метастатично ангажиране лимфните възли променят формата си и от издължено овална те стават с овално-кръгла форма. Напречният размер нараства и се доближава до надлъжния. Хипоехогенната периферия се удебелява, често неравномерно. Хиперехогенният център намалява значително и при по-напреднало

ангажиране се заличава изцяло. Лимфният възел придобива “топковидна” форма с изцяло или почти изцяло хипоехогенна структура. При ултразвуково изследване с *Doppler* се намират изразени положителни сигнали в периферията (Фиг. 2, Табл. 1).

През 1988 г. *Solbiati et al.*, а в последствие през 1992 г. *Vassalo et al.* допълват диагностичните критерии за отиференциране на метастатични от възпалителни промени в структурите на лимфния възел. При наличие на поне два от тях се приема съмнение за метастаза в регионалния възел⁵⁻⁷:

1) форма (shape) – при възпалителен лимфен възел (ВЛВ) тя е продълговато-овална, докато при метастатичен (МЛВ) добива подчертано окръглена форма;

2) индекс на *Solbiati* – изчислява се на база съотношението между надлъжния и напречния диаметър на лимфния възел; при ВЛВ индексът е повече от 2, а при МЛВ е по-малко от 2;

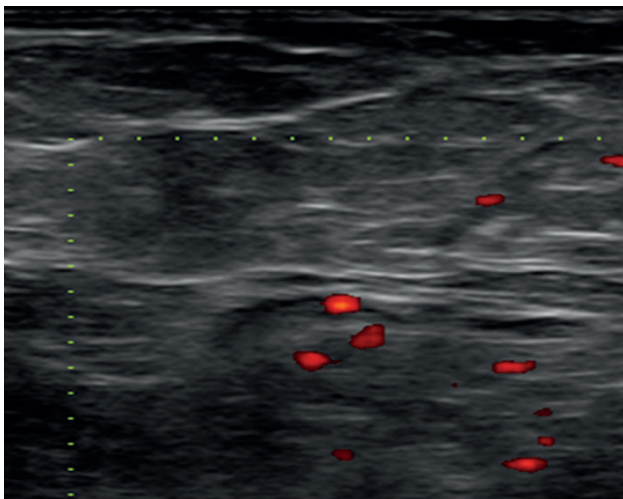
3) очертание (border) – при ВЛВ границите са на места ясно контурирани, а на места – размити, за разлика от МЛВ, при който са остро отграничени;

4) вал (margin) – при ВЛВ е слабо ехогенен и неясно представен, а при МЛВ напълно липсва или е слабо ехогенен с изразена асиметрия;

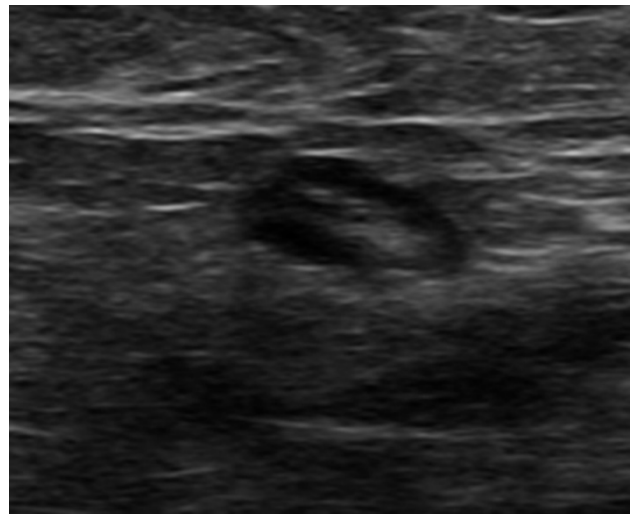
5) център (center) – ВЛВ се отличава с хиперехогенен център, докато при МЛВ е хипоехогенен;

6) хилус (hilus) – при ВЛВ се визуализира добре докато при МЛВ липсва. С отчитане на *Doppler*-сигнал могат да се регистрират нетипични съдове в лимфните възли като признак на неоваскуларизация, което затвърждава съмнението за метастаза.

През 2010 г. *C. Voit et al.* установяват на базата на обширни групи от изследвани пациенти нови, по-ранни признаци на метастатично ангажиране на лимфни възли при КМ. При лимфни възли с привидно запазена ултразвукова морфология те установяват, че появата на периферна съдова перфузия е ранен белег за малигна дисеминация (Фиг. 3). Независимо от дебелината на периферната хипоехогенна зона появата на нодули с малки размери сред нея също е насочващ белег за малигнизация (Фиг. 4).



Фигура 3. Усилване на периферната перфузия

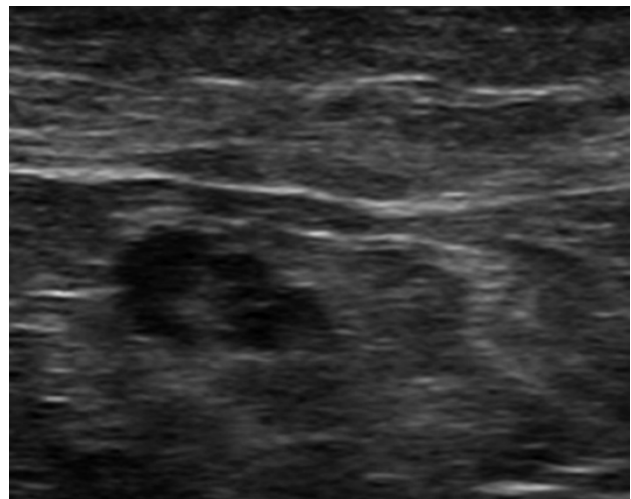


Фигура 4. Наличие на острови от слабо ехогенни зони.

Като белег за по-напреднал метастатичен процес се отчита оформянето на „гърбица“, деформираща ексцентрично възела.

Нормалният лимфен възел е с неясен и понякога трудно видим и определим контур. Подчертаният, ясно видим и разграничим, с дребни лобулирани неравности, външен контур е друг насочващ критерии (Фиг. 5).

Обобщено, *Voit et al.* определят седем морфологични ехографски признака за метастатично ангажиране на лимфни възли⁸⁻¹⁰:



Фигура 5. Промени в контура на възела.

УЛТРАЗВУКОВА ДИАГНОСТИКА НА РЕГИОНАЛНИ ЛИМФНИ ВЪЗЛИ

а) усилване на периферната перфузия (Фиг. 3);

б) наличие на острови от слабо ехогенни зони (Фиг. 4);

в) промени в контура на възела (cap structure) (Фиг. 5);

д) наличие на гърбица (hump structure);

е) загуба на централна съдова перфузия;

ф) хипоехогенен център (Фиг. 6);

г) придобиване на форма на балон (balloon-shaped lymph node) (Фиг. 7).

През 2014 г. *C. Voit et al.* след проспективно проучване за периода 2001-2010 г. върху 1000 пациента с КМ в стадии I и II затвърждават и описват трите основни ултразвукови белега, т.нар. Берлински ултразвукови морфологични критерии¹²:

(1) периферна перфузия (ПП) с чувствителност 69%;

(2) загуба на централни еха (ЗЦЕ) с чувствителност 24%;

(3) балонна форма (БФ) с чувствителност 24%.

Въз основа на посочените критерии лимфните възли се категоризира в три категории:

(1) суспектна – при поява на периферна перфузия или дискретна загуба на ехогенност;

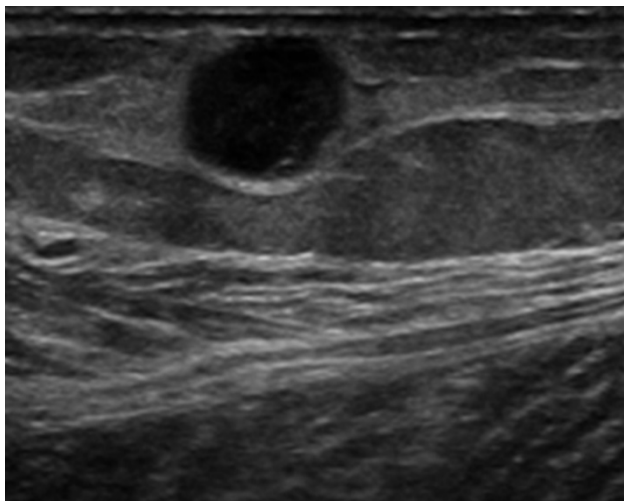
(2) малигнена – при пълна загуба на централен ехо-сигнал или наличие на балонна форма;

(3) бенигнена – при липса и на трите белега.

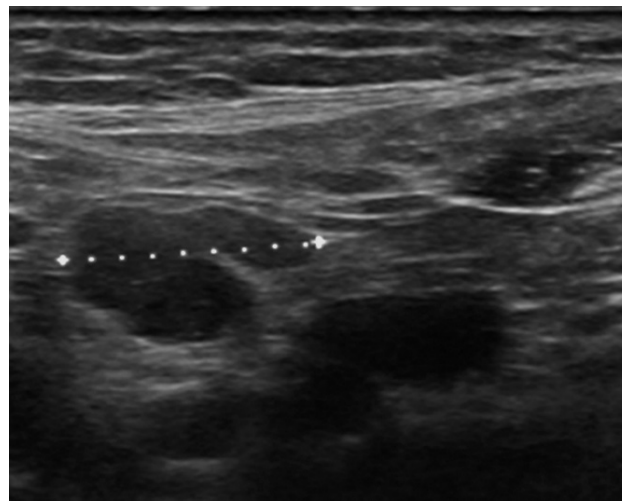
Появата на периферна съдова перфузия е израз на засилена неоваскуларизация и се смята за най-важният ранен прогностичен белег. Загубата на хиперехогенен център, промяната му в хипоехогенен и промяната във формата от издължено-овална в кръгла са по-късни ултразвукови белези за метастатично ангажиране.

Посредством ултразвукова диагностика може да бъде детектиран сентинелен лимфен възел (СЛВ) предоперативно с точност до 71%. С тънкоиглена аспирационна биопсия под ултразвуков контрол (УЗ-ТАБ) и молекулярно изследване на материала (RT-PCR) може да се селектират пациенти, подходящи за БСЛВ или радикална лимфна дисекция (РЛД). Това подпомага избора на хирургична тактика като дава възможност предоперативно да се установи има ли съмнение за метастази в СЛВ и хирургът да има готовност за едноетапна радикална дисекция, ако съмнението се потвърди.

Проучването на *C. Voit et al.* от март 2014 г. представя резултати от извършена УЗ-ТАБ, ултразвукова диагностика и откриване



Фигура 6. Придобиване формата на балон.



Фигура 7. Хипоехогенен център.

на СЛВ, както и категоризирането на находките като бенигнени, суспектни или малигнени с последваща БСЛВ. Данните показват, че посредством УЗ-ТАБ могат да бъдат открити и цитологично доказани местази с най-малък диаметър 0.3 mm в СЛВ. Методът на УЗ-ТАБ като самостоятелен избор има чувствителност – 51% и специфичност – 99%. Чувствителността нараства с увеличаване на Т-стадия, най-висока е при Т4 (76%) и при наличие на улцерация в първичния тумор (63%). Като самостоятелен метод ултразвукът е с чувствителност – 71%. Така СЛВ може да бъде намерен предоперативно с точност до 71% и класифициран като суспектен само по наличие на ранен ехографски морфологичен белег за периферна перфузия.

В ехографски локализираните суспектни СЛВ в 58% от случаите след извършване на БСЛВ хистологично се доказват микрометастази, по-малки от 0.1 mm. Това налага обсъждане на алгоритъм за предоперативно ултразвуково локализиране на СЛВ, търсене на суспектни ехографски белези с последваща УЗ-ТАБ като предоперативен стандарт. Диагностичният алгоритъм при карцином на гърда и щитовидна жлеза включва по стандарт ултразвук и УЗ-ТАБ като методи за откриване на засегнати СЛВ предоперативно. С. Voit et al. предлагат следния алгоритъм за стадиране при КМ¹²:

1. При предоперативна ултразвукова диагностика с наличие на убедителни ехографски данни за бенигнен СЛВ извършването на УЗ-ТАБ е излишна процедура; преминава се директно към оперативна интервенция за стадиране в обем БСЛВ:

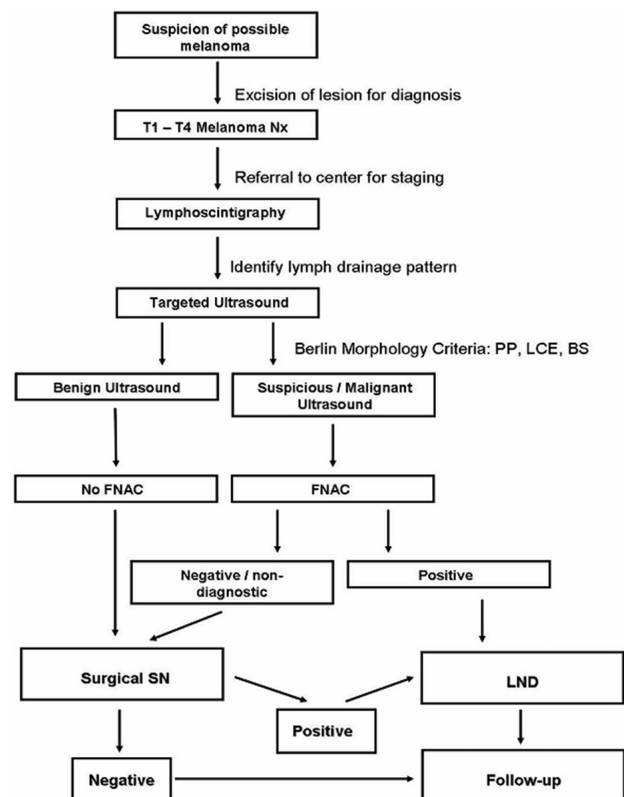
1.1 при негативен хистологично СЛВ пациентът подлежи на проследяване на регионалната лимфна област;

1.2 при позитивен СЛВ се налага повторна оперативна намеса в обем радикална лимфна дисекция (РЛВ) с последващо проследяване на регионалния лимфен басейн.

2. При предоперативна ултразвукова диагностика с данни за суспектен или малигнен СЛВ задължително се извършва предоперативно УЗ-ТАБ и при негативна находка се преминава към БСЛВ;

3. При предоперативна ултразвукова диагностика с данни за метастатичен СЛВ и позитивен резултат от УЗ-ТАБ хирургът предприема оперативна интервенция в обем радикална лимфна дисекция с последващо проследяване (Фиг. 8).

Всички пациенти с КМ подлежат на стриктно проследяване в следоперативния период. Проблемът със следоперативната фиброза, която значително затруднява тактичното усеждане при клинична диагноза на лимфни възли, може да се избегне с ултразвуково проследяване.



Фигура 8. Алгоритъм за регионална лимфна диагностика и терапия при кожен меланом (С.А. Voit et al., Eur J Cancer, 2014)

Заклучение

Ултразвуковата диагностика е достъпен и евтин метод с много приложения при пациентите с КМ – ранна диагностика и стадиране, следоперативно проследяване и ранно откриване на рецидиви в съответната лимфодренажна област. Доказано високата чувствителност на ултразвука, самостоятелно и в комбинация с УЗ-ТАБ, е основание двете методики да бъдат включени в бъдеще като стандарт в диагностичния алгоритъм при пациентите с КМ в клиничен стадий I и II.^{12, 13}

ЛИТЕРАТУРА

1. Заболеваемост от рак в България, 2010. Български национален раков регистър. Ред. Н. Димитрова, М. Вуков, З. Валерианова. Том XXI, София, 2012.
2. Morton DL, Wen D, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127 (4): 392-399.
3. Morton DL, Thompson JF, et al. Final trial report of sentinel-node biopsy versus nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 2014; 370 (7): 599-609.
4. Rossi CR, et al. The role of preoperative ultrasound scan in detecting lymph node metastasis before sentinel node biopsy in melanoma patients. *J Surg Oncol* 2003; 83 (2): 80-84.
5. Solbiati L, et al. High resolution sonography of cervical lymph nodes in head and neck cancer: criteria for differentiation of reactive versus malignant lymph nodes. Proceedings of the 74th Meeting of the Radio-logic Society of North America. Chicago, 1988
6. Vassallo P, et al. Differentiation of benign from malignant superficial lymphadenopathy: The role of high-resolution US. *Radiology* 1992; 183 (1): 215-220.
7. Vassallo P, et al. In-vitro high-resolution ultrasonography of benign and malignant lymph nodes: A sonographic-pathologic correlation. *Invest Radiol* 1993; 28 (8): 698-705.
8. Voit CA, et al. Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology prior to sentinel lymph node biopsy in melanoma patients. *Ann Surg Oncol* 2006; 13 (12): 1682-1689.
9. Voit CA, et al. Rotterdam Criteria for sentinel node(SN) tumor burden and the accuracy of ultrasound (US)-guided fine-needle aspiration cytology (FNAC): can US-guided FNAC replace SN staging in patients with melanoma? *J Clin Oncol* 2009; 27 (30): 4994-5000.
10. Voit CA, et al. Ultrasound morphology criteria predict metastatic disease of the sentinel nodes in patients with melanoma. *J Clin Oncol* 2010; 28 (5): 847-852
11. Catalano et al. Critical analysis of the ultrasonographic criteria for diagnosing lymph node metastasis in patients with cutaneous melanoma: a systematic review. *J Ultrasound Med* 2011; 30 (4): 547-560.
12. Voit CA, et al. Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology as an addendum to sentinel lymph node biopsy can perfect the staging strategy in melanoma patients. *Eur J Cancer* 2014; 50 (13): 2280-2288.
13. Rossi CR, et al. The impact of ultrasound scanning in the staging and follow-up of patients with clinical stage I cutaneous melanoma. *Eur J Cancer* 1997; 33 (2): 200-203.
14. Anderson AO, Anderson ND. Studies on the structure and permeability of the microvasculature in normal rat lymph nodes. *Am J Pathol* 1975; 80 (3): 387-418.

**СЕРУМНИ ТУМОРНИ МАРКЕРИ ПРИ МЕЛАНОМ –
НАСТОЯЩО ЗНАЧЕНИЕ И ВИЗИЯ ЗА БЪДЕЩЕТО**

**д-р Веселина Колева¹
д-р Яна Бочева, дм²**

¹ Клинична лаборатория, МБАЛ *Токуда Болница* – София

² Клинична лаборатория, УМБАЛ *Св. Марина* – Варна

СЕРУМНИ ТУМОРНИ МАРКЕРИ ПРИ МЕЛАНОМ – НАСТОЯЩО ЗНАЧЕНИЕ И ВИЗИЯ ЗА БЪДЕЩЕТО

д-р Веселина Колева¹

д-р Яна Бочева, дм²

¹ Клинична лаборатория, МБАЛ *Токуда Болница* – София

² Клинична лаборатория, УМБАЛ *Св. Марина* – Варна

ОБЗОР

Меланомът е активна метаболитна онкологична болест с висок потенциал за метастазиране при относително малък размер на първичен тумор. В процес на проучване са различни серумни биомаркери, изследвани самостоятелно или в панели, като се счита, че те “държат ключа” към значимия напредък в лечението и контрола на тумора. В настоящия преглед са представени най-задълбочено изследваните и най-често застъпени в клинични проучвания през последните десетина години серумни биомаркери. Към момента американските онкологични и дерматологични общности препоръчват единствено ензима лактатдеhidрогеназа (LDH), и то само за прогноза при напреднала метастатична болест (стадий IV). Европейското дружество по медицинска онкология препоръчва S100 за мониториране на пациенти с меланом като серумен маркер с най-добра диагностична точност. В световната онкологична практика понастоящем липсва утвърден серумен туморен маркер или комбинация от маркери за диагноза, прогноза и проследяване на тези пациенти.

Увод

За разлика от утвърдената роля на серумните туморни маркери при карцином на простата, яйчници, гърда и дебело черво, при меланом тяхното значение и полза все още са силно дискутабилни, а резултатите от проведените клинични изпитвания – с противоречиви резултати. Едновременно с това бързото развитие на терапевтичните възможности и подходите за менажиране на

меланома през последните години изискват интензивно проучване на нови кандидат-биомаркери и изграждане на диагностичен алгоритъм с добра чувствителност и специфичност. Биомаркерите могат да променят революционно процеса на откриване на нови лекарства и предсказвайки отговора към терапия, да направляват и оптимизират включването към дадено лечение само на онези пациенти, които биха имали полза от него. Когато се обсъжда меланом, из-

искването за проучване и имплементиране на нови биомаркери обхваща всички етапи: ранно откриване на болестта, сигурна диагностика, стадиране, изграждане на прогноза и предиктивна стойност за терапевтичен отговор.

Серумни биомаркери при меланом

Меланомът е активна метаболитна онкологична болест, свързана с освобождаване в циркулацията на голям брой различни биомаркери – S100, остеопонтин, меланома-инхибираща активност (MIA), хиалуронан, ламинин-1, тенасцин С, серумен колаген тип IV, 5-s-Cysteinylдопа, YKL-40, цитокини и др. Внедряването на нови аналитични технологии (като тандем масперктометрията, например) позволява откриване на редица протеини в тъкани и телесни течности, които вероятно имат значение като биомаркери. Засега обаче няма консенсусно становище и препоръка на професионалните организации за използването им в диагностиката и проследяването на пациенти с меланом. Американските онкологични и дерматологични общности (NCCN, ASCO, AAD)^{1, 3} не включват изследване на серумен маркер в алгоритмите за проследяване на пациенти с меланом, независимо от стадия на болестта. Изключение правят само за прогностичната стойност на лактат-дехидрогеназа (LDH) при напреднала метастатична болест (стадий IV). Ръководството на ESMO за мониториране на пациенти с меланом посочва като серумен маркер с най-добра диагностична точност S100.² Използването му обаче в алгоритмите за проследяване не е категорично, а е според индивидуалната преценка на лекаря. Германското и Швейцарското дружество³ препоръчват изследване на S100 в петгодишния период на проследяване при пациенти с *Breslow* > 1 mm лезия, независимо от стадия на болестта, като разликите са

в честотата и продължителността на мониторинг (през интервали от 3 до 6 месеца).

Тъй като меланомът е болест с висок потенциал за метастазиране при относително малък размер на първичен тумор, редица изследователи активно проучват различни биомаркери, изследвани самостоятелно или в панели, считайки, че те “държат ключа” към значимия напредък в лечението и контрола на тумора. Настоящият обзор представя най-добре проучените серумни маркери, които имат значение при меланом, както и тези нови молекули, на които се възлагат бъдещи надежди.

Туморен маркер S100

Основно място сред биомаркерите заема серумната концентрация на протеин S100 (S100- beta, наричан кратко S100), проучван активно през последните 20 години. Терминът S100 обхваща членовете на мултигенно семейство от нискомолекулни (9-13 kDa) калций-свързващи протеини. За първи път S100 е изолиран от говежди мозък и името му отразява неговата разтворимост в 100% сатуриран разтвор на амониев сулфат при неутрално рН.¹⁹ Понастоящем се известни 20 структурно сходни и взаимодействащи си протеини. Двете субединици S100 А и S100 В имат способността да образуват хомодимери, хетеродимери и олигодимери и са експресирани в ниски количества от редица тъкани и клетки, но във високи концентрации се експресират от нервна тъкан, меланоцити, дендритни клетки и някои тумори (меланом, шваном).

S100 не е меланом-специфичен и стойностите му могат да се повишат както при здрави индивиди, така и при пациенти с доброкачествени болести на централна нервна система (ЦНС), гастроинтестинални тумори, инфекциозни болести, СПИН. Неговата биологична функция не е добре изяснена; счита се, че се свързва и активира STK38/

СЕРУМНИ ТУМОРНИ МАРКЕРИ ПРИ МЕЛАНОМ

NDR1 протеин-киназа, която участва в клетъчната пролиферация и преживяемост. Освен това S100 димерът си взаимодейства с протеин p53 като потиска неговата функция и води до образуване на S100 инхибитори. Те, от своя страна, са таргетни молекули за разработка на нови лекарства срещу меланом. S100 се изследва рутинно в тъкани чрез имунохистохимични методи (ИНС) – основна диагностика както при първичен, така и при метастатичен меланом. В периферната кръв маркерът постъпва при некроза на меланомни клетки. Определянето на серумната му концентрация се извършва с помощта на индиректен имунохимичен анализ (ELISA, ECLIA, RIA), като тестовете не са стандартизирани спрямо WHO-стандарт. Това не позволява изграждането на единни референтни стойности и сравняване на резултатите от изследвания, проведени с различни аналитични методи. При установено повишение на маркера правилният подход включва повторно изследване след поне едноседмичен интервал, като се взема под внимание бърбечната и чернодробна функция (водят до забавен клирънс и фалшиво повишени стойности).

Редица проучвания изследват значението на маркера за диагностика, мониториране и ранно откриване на рецидив или прогресия, за оценяване на ефект от проведена терапия и за изграждане на прогноза за обща преживяемост. Макар и с различни изводи за значението и приложимостта на S100, повечето от публикациите отчитат предимството му пред използвания в миналото ензим LDH, като според някои маркерът следва да измести LDH в системата за стадиране на AJCC.²³ Липсата на одобрение от FDA (Food and Drug Administration) на S100-теста за *in vitro* диагностика при меланом в САЩ обяснява предимно европейските и азиатски проучвания върху значението на маркера при меланом.

Както вече беше споменато, подобно на LDH, S-100 е цитоплазмено разположен протеин, който няма активна секреция и попада в кръвното русло след увреждане или смърт на клетки. По тази причина повишаването на серумната концентрация на маркера при пациенти с меланом кореспондира с големината на тумора и се наблюдава най-вече при напреднал стадий на болестта, като не може да разграничи здрави контроли от пациенти в ранни стадии. Според данни, публикувани от *Perrotta et al.*¹⁸ през 2010 г., диагностичната чувствителност на S-100 в стадии I-II е едва 15%, докато в стадий IV достига 60-85%.

Макар и с ниска диагностична стойност при локализирана болест, S100 се препоръчва да бъде изследван с цел изграждане на прогноза при пациентите с меланом. Многобройни проучвания дават предимство на маркера като най-специфичен и най-чувствителен прогностичен маркер по отношение както на обща преживяемост, така и на преживяемост без болест.

В мета-анализ, обхващащ 22 проучвания с общо 3393 пациенти, публикуван от *Mocellin et al.*⁴ през 2008 г., авторите посочват S100 дори като прогностичен фактор, независим от TNM-стадий по отношение на преживяемост. Повишените стойности на маркера в момента на диагностициране на болестта се асоциират с по-лоша обща преживяемост ($p < 0.0001$). Голямата хетерогенност на проучванията, включени в този анализ, както и използването на различни аналитични методи за определяне на S100 не позволяват извеждане на категорични препоръки за включването му в ръководствата за диагностика и проследяване на меланом. В проучване на *Oberholzer et al.*²² повишените серумни нива на S100 се извеждат като дискриминативни за наличие на далечни метастази при проследяване на пациенти в стадий II- III с чувст-

вителност – 75% и специфичност – 92%. Повишените нива на S100 над 0.2 mg/l са самостоятелен независим прогностичен маркер за по-ранна поява на далечни метастази и скъсена преживяемост в групата със стадий II-III.²⁰ В проучване на *Beyeler et al.*²³ в групата на пациенти със стадий III и IV и с диагностициран рецидив след период на ремисия се отчита повишение на S100 при средно 37%, по-висок е процентът на пациенти с повишен маркер в групата със стадий IV, а само при 5.5% от болните серумният маркер е първи индикатор за рецидив. В друго голямо проучване на *D. Martenson et al.*²⁴ с включени 1027 пациенти в стадий I-III резултатите показват, че стойностите на S100 корелират с клиничния стадий. Серумните концентрации на маркера са сигнификантен и независим прогностичен фактор за преживяемост при пациенти в стадий II-III, докато при стадий I тази теза не се потвърждава.

Водеща роля сред серумните туморни маркери се полага на S100 и при мониториране на пациенти след адювантна химиотерапия за ранно откриване на рецидив. Проспективно 30 месечно прочуване на *Egberts et al.*, в което са включени 97 високорискови пациенти с меланом, сравнява значението на S100 и LDH. Резултатите от проучването показват, че и двата маркера корелират добре с клиничната изява на болестта, но не могат да предскажат наличие на метастази в регионални лимфни възли. S100 е с по-добра чувствителност за диагностика на ранни далечни метастази, за съжаление обаче не показва по-ниска честота на фалшиво положителни резултати от LDH.

Маркерът S100 се определя и като най-добър индикатор за мониториране на ефекта от лечение. В проучване на *Egberts et al.*¹³, публикувано през 2012 г., са сравнени три маркера – YKL-40, S100 и LDH,

като тестове за мониториране на пациенти с меланом в стадий IV. При авансирал метастатичен меланом (American Joint Committee on Cancer (AJCC) stage IV) прогнозата все още е лоша и средната преживяемост е само 6-12 месеца. От друга страна, разработването на нови терапевтични възможности прави много ценна възможността за откриване на пациентите, които са с по-голяма вероятност да отговорят на системно лечение. Затова и идентифицирането на прогностични фактори, които да предскажат клиничния ход на болестта, е от критично значение. Резултатите показват, че YKL-40, S100 и LDH значимо корелират със стадия. При пациенти в стадий IV изходното ниво само на S-100 се асоциира клинично значимо с отговор към терапия ($p = 0.031$), като това не е в сила за LDH ($p = 0.193$) или YKL-40 ($p = 0.186$). Авторите установяват строга зависимост между отговора към лечение и непроменената или намалената концентрация на S100 ($p = 0.003$, OR: 9.52, 95%-CI: 1.87–47.62), но не намират значима връзка между отговора на лечение и промените в серумните концентрации на LDH ($p = 0.534$) и съответно на YKL-40 ($p = 0.306$). По отношение на общата преживяемост отново само S100 има сигнификантно прогностично значение.

Лактат-дехидрогеназа (LDH)

Това е най-дълго използваният, най-широко застъпеният и най-лесният за определяне серумен туморен маркер, който се използва при стадиране и изграждане на прогноза при меланом. Лактат-дехидрогеназа е ензим, който се намира във всички клетки на човешкия организъм.¹⁹ В зависимост от комбинацията на двете полипептидни вериги (H и M) се формират пет различни изоформи, характерни за различни тъкани. Основна биологична функция на ензима в нормални клетки е да ускорява

катализирането на пируват до лактат с образуване на АТР. Аналитичното спектрофотометрично определяне на ензимната активност е лесно за изпълнение и евтино, а методите са стандартизирани и сравними. Това е и една от причините за широкото му приложение в практиката. Лактат-дехидрогеназа не е секреторен ензим и увеличението на активността му в серум е резултат на засилена клетъчна некроза, следствие на възпаление, инфаркт, хепатит, напреднал туморен процес или хемолiza. Това силно ограничава неговата диагностична специфичност. Повишението му при пациенти с меланом се свързва със степен на малигненост на тумора, но не и с наличие на далечни метастази. Използва се като прогностичен маркер за намалена преживяемост в стадий IV. Въпреки ниската чувствителност дори и при напреднала болест в стадий III и IV⁶, липсата на специфичност и прогностична стойност, както и преданалитичните несъвършенства на LDH, маркерът е включен от NCCN в панела от диагностични изследвания при пациенти в стадий IV¹ и заляга в TNM-класификацията, както и в системата за стадиране на AJCC през 2001 г., като повишените му нива определят пациента като M1, независимо от място на метастазиране.^{5, 6}

Серумен биомаркер MIA

През последните години все по-активно се проучва друг серумен маркер – MIA (Melanoma Inhibitory Activity). Касае се за нискомолекулен протеин (12 kDa), който се секретира от меланомни клетки и хондроцити, но не и от меланоцити. Счита се, че физиологичното значение на MIA е свързано с ефекти върху растежа и адхезията на клетките, като по този начин влияе върху метастазирането на меланома и развитието на хрущяла. В исторически аспект MIA е идентифициран като секреторен бел-

тък на меланомни клетки, който инхибира техния растеж *in vitro*. Експресия на MIA е наблюдавана много по-рядко в други тумори и не се установява при нормални меланоцити. Въпреки че патофизиологичната роля на MIA при меланом все още е неизвестна, предполага се, че има отношение към метастазирането на болестта. Няколко проучвания показват, че повишени плазмени нива на MIA корелират с по-напреднал стадий. Освен това повишената експресия на MIA в меланомните клетки повишава техния метастатичен потенциал в експериментални условия. Протеинът MIA подтилка адхезията на меланомни клетки към екстрацелуларния матрикс *in vitro*, включително матрикс, изграден само от фибронектин или ламинин, и по този начин спомага за метастазирането им. Също така MIA има доказана роля за растежа, прогресията и инвазията на меланома.¹⁸ Маркерът корелира със стадия на болестта, като е повишен в 85% от пациентите в стадий IV. Авторите също докладват за строга зависимост между серумна концентрация на MIA и наличие на метастази.

Липсата на маркер, който категорично да превъзхожда останалите със своята специфичност и чувствителност, е причина за търсене от изследователите на диагностични панели от няколко маркера. Комбинираното тестване на S100B/MIA показва най-висока специфичност и най-добра предиктивна стойност за прогресия и преживяемост⁷, като добавянето на LDH не я подобрява. В друго проучване⁸, акцентирайки само върху група с локализирана форма на кожен меланом, авторите правят извод, че MIA е независим предиктор за намалена обща преживяемост: пациенти с повишени стойности на маркера, макар и с локализирана болест, имат дванайсет пъти по-висок риск от смърт спрямо пациенти с нормални стойности.

Други серумни маркери при меланом

УКЛ-40. Той е секреторен протеин с молекулна маса 40kDa, който филогенетично принадлежи към семейството на хитин-подобните белтъци при бозайниците. Генът за синтез на УКЛ-40 е локализиран върху хромозома 1. Посредством микроарей-генен анализ е установена хиперекспресия на този ген при глиобластом, папиларен тироиден карцином и хондросарком. Счита се, че УКЛ-40 участва във възпалението, клетъчната пролиферация, диференциацията, защитата срещу апоптоза, стимулирането на ангиогенеза и регулацията на екстраклетъчно тъканно ремоделиране. Серумният УКЛ-40 се приема за независим прогностичен фактор за рецидив и смърт. Повишените му стойности при поставянето на диагноза са прогностични по отношение на обща преживяемост, но не и по отношение на период без рецидив. Според резултати от проспективно проучване на *Schmidt et al.* сред 234 пациенти с меланом в стадий I-II маркерът е независим прогностичен фактор както за обща преживяемост, така и за период без рецидив.²⁶ Според същото проучване серумните нива на УКЛ-40 при поставяне на диагнозата на пациенти в този стадий може да бъдат от полза при стратификация за включване в клинично изпитване, както и за постоперативно проследяване.²⁶ Маркерът показва по-слаба чувствителност при пациенти в по-висок стадий на болестта (III-IV), като едва 45% от пациентите са с повишени стойности, но това корелира с наличие на висцерални метастази и лош пърформанс статус. Според авторите предимството и перспективността на маркера са в групата пациенти в стадий I-II, докато останалите проучвани маркери (S100, MIA, LDH) показват по-добри резултати при напреднала болест (стадий III-IV).²⁶

5-S-Cysteinyl-dopa (5-S-CD). Това е прекурсор на меланина в хода на биологичния му синтез *in vivo*. Счита се, че определянето на серумни нива, а в някои проучвания – и уринни, може да се използва за мониторинг на прогресия на болестта. Подобно на повечето проучвани серумни маркери при меланом, и 5-S-CD не е подходящ за ранна диагностика и стадиране. В проучване на *Wakamatsu et al.* сред 218 пациенти се докладва чувствителност при откриване на далечни метастази – 73%, специфичност – 98% и положителна предсказваща стойност – 94%. Чувствителността на параметъра е малко по-висока при изключване от групата на ахроматичните варианти – 77%.²⁷ Според същите автори само в 5% от случаите без далечни метастази се откриват повишени стойности на маркера. При 33% повишението на 5-S-CD предшества клиничното откриване на висцерални метастази, а при 37% го съпътства. При пациенти с увеличени серумни нива пред- или следоперативно се отчита намалена обща преживяемост.^{25, 27}

В друго проучване с включени 479 пациенти в стадий I-IV (с общо 1924 определяния на маркера и петгодишно проследяване) се потвърждава приложимостта на маркера в стадий IV, както и корелацията на нивата на 5-S-CD с туморния товар. В стадий IV авторите отчитат чувствителност – 69.7%, специфичност – 61.5% и положителна предсказваща стойност – 79.3%. Проучването отчита статистически значима разлика в общата преживяемост на пациенти с нормални и повишени нива на маркера. Според авторите при 24.6% от случаите, независимо от стадия и вида, повишаването на серумния 5-S-CD предшества детекцията на метастази с конвенционални методи.²⁸ Изнесените данни за този маркер го определят като перспективен по отношение на прогноза и проследяване на пациенти с меланом. През

последните години проучвания с 5-S-CD почти не се публикуват, вероятно поради далеч по-добрите резултати, получени за S100 като серумен маркер за прогноза и проследяване.

Съдовоендотелен растежен фактор (VEGF). Съвместно с интерлевкин 8 (IL-8) и фибробластен растежен фактор (bFGF) той е маркер, обследван през последните 10 години, като според *Ugurel et al.* повишените им нива при болни с меланом корелират с туморния товар и стадия на болестта. Нещо повече – авторите считат, че VEGF и IL-8 са независим предиктор за обща преживяемост и период без рецидив. Последващи проучвания не потвърждават тези данни. Пациентите с меланом демонстрират повишени стойности на маркера, но те не корелират с прогресия на болестта и не могат да се използват за мониторинг на терапия или с прогностични цели. Маркерът VEGF има сравнително ниска чувствителност – 57%, специфичност – 78% и позитивна предсказваща стойност – 34%, но висока негативна предсказваща стойност – 90%.^{5, 29}

Тумор-асоцииран антиген 90 имунокомплекс (TA90IC). Обсъжда се като маркер при проследяване на пациенти с меланом в стадий III, получаващи адювантна терапия с ваксини.³⁰ При сравняването му с MIA и S100B *Faries et al.* отчитат най-висока честота на ранно откриване на рецидиви – 57% сред пациенти с повишен TA90IC. Мултивариационен статистически анализ в групата пациенти дефинира маркера като независим предиктор за преживяемост при ранно повишение на нивата му (между 2 седмици и 3 месеца). Липсват проучвания сред пациенти, които не са получавали терапия с ваксини.

Множество други маркери са проучвани за предикция на клинично поведе-

ние, мониторинг на лечение и прогноза при болни с меланом, като всеки от тях е свързан със спецификата на меланомната клетка. Примери за разнопосочното изследователско търсене са тирозиназа, 1DOPA/L-тирозиназа, като антигени на диференциация на меланоцитната линия, матриксни металопротеинази 1 и 9, туморна пируват-киназа M2, интерлевкин 6 и 10 и дори човешки ендегенен ретровирус K. CSPG-4 се обсъжда като потенциален маркер, откриващ резистентност към химиотерапия. Ламинин-1 в серум се свързва с пролиферация на меланомните клетки, а халурунан в серум се асоциира с туморния растеж. Някои автори обсъждат търсенето на комбинация от маркери, който подход също няма стойност и резултати до момента. Никой от маркерите на практика няма потенциала на S100 или на вече валидирания маркер LDH.

Заклучение

Понастоящем известните туморни маркери при меланом отразяват обема на туморната маса, ангиогенезния потенциал и агресивността на тумора, като позволяват по-детайлна категоризация, която е от полза за стадирането и предсказването на биологичната туморна активност. Затова, според нас, мониторирането на биомаркери спомага за правилно определяне на прогноза, за проследяване на пациенти и ранно откриване на прогресия и за индивидуализиране на терапията. Използването на серумни лабораторни маркери на всеки от етапите на развитие на болестния процес и проследяването на пациента е неинвазивно и не изисква голям финансов ресурс. Нещо повече – обосноваването на назначаване и информираното интерпретиране на подходящия серумен маркер може да има само аддитивен ефект в комплексния подход за лечение на меланом.

ЛИТЕРАТУРА

1. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Melanoma. Version 1.2015. Available at: www.nccn.com
2. Dummer R, et al. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 (Suppl. 7): vi86-vi91.
3. Trotter S, et al. A global review of melanoma follow-up guidelines. *J Clin Aesthet Dermatol* 2013; 6 (9): 18-26.
4. Mocellin S, Zavagno G, Nitti D. The prognostic value of serum S100B in patients with cutaneous melanoma: a meta-analysis. *Int J Cancer* 2008; 123 (10): 2370-2376.
5. Karagiannis P, et al. Evaluating biomarkers in melanoma. *Frontiers in Oncology*, 23 January 2015, doi: 10.3389/fonc.2014.00383
6. Balch CM, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009; 27 (36): 6199-6206. doi:10.1200/JCO.2009.23.4799
7. Sandru A, et al. Simultaneous determination of two serum tumor markers in assessing malignant melanoma patients. *J Transl Med* 2015; 13 (Suppl 1): P9
8. Sandru A, et al. Prognostic value of melanoma inhibitory activity protein in localized cutaneous malignant melanoma. *J Skin Cancer* 2014; Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/843214>
9. Weinstein D, et al. Diagnostic and prognostic biomarkers in melanoma. *J Clin Aesthet Dermatol* 2014; 7 (6): 13-24.
10. Kruijff S, et al. The current status of S-100B as a biomarker in melanoma. *Eur J Surg Oncol* 2012; 38 (4): 281-285.
11. Egberts F, et al. Prospective monitoring of adjuvant treatment in high-risk melanoma patients: lactate dehydrogenase and protein S-100B as indicators of relapse. *Melanoma Res* 2009; 19 (1): 31-35.
12. Egberts F, et al. Serum S100B and LDH are not useful in predicting the sentinel node status in melanoma patients. *Anticancer Res* 2010; 1799-1805.
13. Egberts F, et al. Comparative study of YKL-40, S-100B and LDH as monitoring tools for Stage IV melanoma. *Eur J Cancer* 2012; 48 (5): 695-702.
14. Treskova J, et al. Prognostic value of tumor markers in malignant melanoma. *EPMA* 2014; 5 (Suppl 1): A36.
15. Tarhini A, et al. Prognostic significance of serum S100B protein in high-risk surgically resected melanoma patients participating in Intergroup Trial ECOG 1694. *JCO* 2009; 27 (1): 38-44.
16. Kluger H, et al. Plasma markers for identifying patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2011; 2417-2425.
17. Domingo-Domènech J, et al. Prognostic implications of protein S-100beta serum levels in the clinical outcome of high-risk melanoma patients. *Tumor Biol* 2007; 28 (5): 264-722.
18. Perrotta R, et al. Serum markers of cutaneous melanoma. *Front Biosci (Elite Ed)* 2010; 2: 1115-1122.
19. Peric et al. Role of serum S100B and PET-CT in follow-up of patients with cutaneous melanoma. *BMC Cancer* 2011; 11: 328.
20. Molina R, et al. S-100 protein serum levels in patients with benign and malignant diseases: false-positive results related to liver and renal function. *Tumour Biol* 2002; 23 (1): 39-44.
21. Bouwhuis MG, et al. Prognostic value of serial blood S100 B determination in stage IIB-III melanoma patients: a corollary study to EORTC trial18952. *Eur J Cancer* 2011; 47 (3): 361-368.
22. Oberholzer PA, et al. Baseline staging of melanoma with unknown primary site: the value of serum s100 protein and positron emission tomography. *Dermatology* 2008; 217 (4): 351-355.
23. Beyeler M, et al. Detection of melanoma relapse: first comparative analysis on imaging techniques versus S 100 protein. *Dermatology* 2006; 213 (3): 187-191.
24. Mårtenson ED, et al. Serum S-100b protein as a prognostic marker in malignant cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 824-831.
25. Wang Ye-Nan, et al. Potential biomarkers for Malignant Melanoma. *World J Dermatol* 2013; 2 (4): 44-50.
26. Schmidt H, et al. Serum YKL-40 predicts relapse-free and overall survival in patients with American Joint Committee on Cancer stage I and II melanoma. *JCO* 2006; 24 (5): 798-804.
27. Wakamatsu K, et al, Evaluation of 5-S-cysteinyl-dopa as a marker of melanoma progression: 10 years' experience, *Melanoma Res* 2002; 12 (3): 245-253.
28. Bánfalvi T, et al. Clinical significance of 5-S-cysteinyl-dopa monitoring in patients with malignant melanoma., *Neoplasma* 2002; 49 (2): 121-125.
29. Palmer SR, et al. Circulating serologic and molecular biomarkers in malignant melanoma. *Mayo Clin Proc* 2011; 86 (10): 981-990.
30. Faries MB, et al. A Comparison of 3 tumor markers (MIA, TA90IC, S100B) in stage III melanoma patients. *Cancer Invest* 2007; 25: 285-293.

//

**МИСТЕРИОЗНИЯТ *MERKEL*-КЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ –
ДИАГНОСТИЧНИ И ТЕРАПЕВТИЧНИ СПЕЦИФИКИ**

//

доц. д-р Мария Балабанова, дм

Клиника по кожни и венерически болести,
УМБАЛ Александровска – София

МИСТЕРИОЗНИЯТ *MERKEL*-КЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ – ДИАГНОСТИЧНИ И ТЕРАПЕВТИЧНИ СПЕЦИФИКИ

доц. д-р Мария Балабанова, дм

Клиника по кожни и венерически болести,
УМБАЛ Александровска – София

ОБЗОР

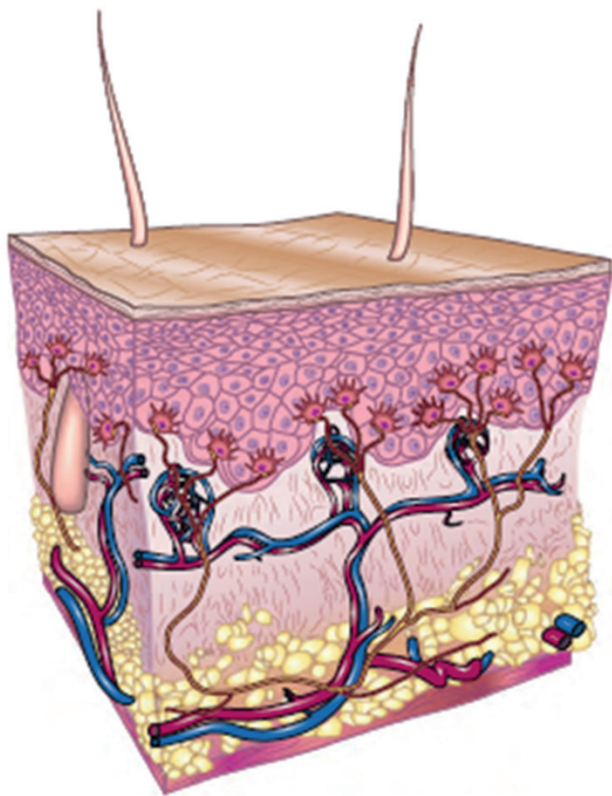
Представен е подробен литературен обзор върху съвременните схващания за *Merkel*-клетъчния кожен карцином (МКК), като рядка и специфична болест. Детайлно са разгледани моделите за етиология и патогенеза – соларна, имунологична и вирусна. Особено внимание е отделено на патологичните находки и свързаните с тях специфични имунохистохимични панели. Стадирането и оценката на прогностични фактори е свързано с избора на различни методи на лечение – хирургия, лъчелечение, химиотерапия и др.

Увод

Merkel-клетъчният карцином (МКК) е рядко срещан, но често с фатален край, невроендокринен кожен тумор. Честотата му в САЩ е приблизително 1500 случая годишно и е подобна на тази при Т-клетъчен лимфом и дерматофибросаркома протуберанс. Той е втората по честота причина за смърт от немеланомни кожни тумори след плоскоклетъчния карцином и има по-висока относителна петгодишна смъртност (46%) от кожния меланом (15%). Представлява предизвикателство в диагностично и терапевтично отношение. Една от причините за това са недостатъчното проспективни кли-

нични проучвания, проведени в тази насока, както и малкото експерти с интерес към тази рядка болест.

Merkel-клетъчният карцином носи името си поради сходство с клетките на *Merkel*, които се намират в *stratum basale* на епидермиса (Фиг. 1). Те не се виждат при стандартните хистологични оцветявания с хематоксилин и еозин. За идентифицирането им са необходими имунохистохимични или електронномикроскопски изследвания. Те са механорецептори в кожата, отговорни за чувството за допир. Малко е известно за взаимодействията им с останалите клетки на епидермиса.



Фигура 1. Вертикална структура на кожа с клетки на Merkel в базалния слой на епидермиса.

История

До 1972 г. МКК е влизал в групата на недиференцирани карциноми на кожата. През 1972 г. Tokker го нарича *трабекуларен карцином на кожата*, позовавайки се на един от хистологичните му варианти. През 1978 г. Tang and Toker наблюдават под електронен микроскоп електронно-плътни невросекреторни гранули в цитоплазмата на туморните клетки, които наподобяват тези при невроендокринните тумори. През 1980 г. DeWolf-Peeters дава името *Merkel-клетъчен карцином* поради сходството с нормалните Merkel-ови клетки, намиращи се в епидермиса. Въвеждането на имунохистохимичните методи през 1990 г. намали погрешното диагностициране на МКК като лимфом, метастатичен карцином и меланом.

Епидемиология

До 1980 г. има само единични съобщения за МКК. След въвеждането на антителата срещу цитокератин 20 (СК20) поставянето на диагнозата става по-лесно и заболяемостта се покачва драстично. Туморът се среща предимно при хора над 70-годишна възраст със светла кожа. Само 5% от всички случаи са при пациенти под 50 години. Засяга по-често мъже, в сравнение с жени.¹ В САЩ честотата му е около 1500 случая годишно², като за последните 20 години се е утроила³. Това се дължи на следните фактори: (1) подобряване на диагностиката; (2) повишаване на честотата на имunosупресирани пациенти – HIV-позитивни, след органна трансплантация, болни от левкемия; (3) застаряване на населението с увеличение на възрастните хора с предшестващо хронично излагане на слънце. Поради тези причини се очаква честотата му да продължи да се увеличава. Въпреки че се среща около 30 пъти по-рядко в сравнение с кожния меланом (КМ), МКК има по-голяма свързана с болестта петгодишна смъртност: 46%⁴ за МКК, сравнено с 12.5% за КМ⁵.

Етиология и патогенеза

Ултравиолетови лъчи. Този карцином се среща изключително при светли хора, като 94-98% от случаите са при пациенти от Кавказката раса. Наблюдава се обикновено по фотоекспонирани участъци от тялото, като глава, кожа и гръб на ръцете. Честотата му е по-висока в географски райони с по-висок ултравиолетов (УВ) индекс.¹ Пациенти, подложени на PUVA-терапия (прием на *methoxsalen* и облъчване с УВ лъчи), имат приблизително стократно по-висока честота на МКК в

сравнение с общата популация.⁶ Въпреки тази строга корелация с УВ-облъчване, приблизително 15% от всички случаи се срещат по необлъчваните участъци от тялото като седалище, гениталии или покрити с коса части на капилицума.

Имуносупресия. Рискът от МКК е значително по-голям при пациенти с HIV (13 пъти)⁷, органна трансплантация или на постоянна имуносупресивна терапия (10 пъти)⁸ и пациенти с хронична лимфоцитна левкемия (30-50-пъти)⁹. Това предполага участието на Т-клетъчния имунитет в развитието на клинично проявен МКК.

Merkel-клетъчен полиомавирус. Тази връзка с имуносупресивните състояния е насочила търсенето на вероятен патоген. През 2008 г. е установено, че наскоро откритият човешки полиомен вирус се среща при приблизително 80% от изследваните МКК и е наречен *Merkel-клетъчен полиомавирус* (MCPyV).¹⁰ Има редица доказателства за ролята на MCPyV в канцерогенезата: (1) вирусната ДНК се интегрира в генома на туморните клетки, което е характерно за всички онкогенни вируси; (2) вирусни ДНК-последователности могат да се открият в повечето МКК и много рядко при нормална кожа или в други тумори; (3) пациентите с МКК често имат антитела срещу полиомавирусния капсиден протеин в сравнение със здрави пациенти на същата възраст¹¹ (88% при пациенти с МКК срещу 53% за общата популация); (4) протеини от MCPyV, които вероятно имат роля в онкогенезата, са открити в множество МКК¹³; (5) открити са определени ДНК-последователности, които водят до неконтролируема репликация на вирусния геном.

Въпреки множеството данни, които свързват новооткрития MCPyV с МКК, ви-

русната инфекция не е може самостоятелно да причини този тумор. Заразяването с вируса става предимно в детска възраст, а МКК е рядък тумор, който възниква след 50-годишна възраст. От друга страна, наличието на MCPyV не е задължително за възникването на тумора, тъй като вирусна ДНК се открива приблизително в 20-30% от случаите.

Наскоро бе установено, че клетките на *Merkel* имат епидермален произхода, а не от невралния гребен, както се смяташе досега. Епидермалните прогениторни малигнени клетки теоритично могат да се диференцират в сквамозни или невроендокринни.

Клинична картина

Merkel-клетъчният карцином клинично се представя като бързо нарастващ, твърд, червен, розов, ливиден или с цвета на околната кожа асимптоматен възел (Фиг. 2).⁹ Най-често се среща по фотоекспонирани зони, предимно по врата и главата. При един от всеки шест пациента се наблюдава по закритите части на тялото. При 15% от случаите може да са налице лимфни или висцерални метастази при липса на клинично разпознаваем първичен тумор. Повечето МКК (56%) към момента на биопсията се диагностицират като бенигнени лезии (кисти/акнеиформени лезии). Схематично клиничната картина при лезии, които хистологично се диагностицират като МКК, може да се обобщи с акронима AEIOU: Asymptomatic, Expanding rapidly, Immune suppressed, Older than 50 years, UV-exposed fair skin. Пациентите с първичен МКК в повечето случаи (89%) имат три от тези пет характеристики.⁹



Фигура 2. Макроскопски вид на Merkel-клетъчен кожен карцином на лице и дорзална повърхност на ръка.

Диагноза и диференциална диагноза

Тъй като клиничната картина при МКК може да е доста неспецифична, диференциалната диагноза включва широк спектър от доброкачествени и злокачествени болести, в това число кисти, акне, кожен лимфом, меланом, немеланомни кожни тумори и кожни метастази. Поставянето на диагнозата е хистологично, включително и с имунохистохимия.

Стадиране и прогноза

Както и при другите тумори, стадият на МКК е от ключово значение за терапи-

ята и прогнозата. Дори без да има клинични данни за процес в лимфни възли при клиничен преглед, в 32% от случаите се откриват микроскопски метастази.¹⁴ По тази причина за точното стадиране е необходимо извършването на биопсия на сентинелни лимфни възли. Петгодишната преживяемост при хистологично верифицирани негативни лимфни възли е 76%. За сравнение, пациенти, които имат само клинично изключено ангажиране на лимфните възли, тя е 59%.

TNM-класификация по American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Първичен тумор (T).* Тх – първичен тумор не може да бъде установен; Т0 – няма данни за първичен тумор (напр. лимфна/висцерална метастаза, без да може да се открие асоцииран първичен тумор); Тis – тумор *in situ*; Т1 – тумор ≤ 2 cm в диаметър; Т2 – тумор < 2 cm, но > 5 cm в най-големия си диаметър; Т3 – тумор > 5 cm в диаметър; Т4 – първичен тумор с инвазия в кости, мускули, хрущяли или фасции.

Регионални лимфни възли (N). Nx – регионални лимфни възли не могат да бъдат оценени; N0 – без метастази в регионални лимфни възли; N1 – метастази в регионални лимфни възли; N1a – микрометастази; N1b – макрометастази; N2 – *in transit* метастази.

Далечни метастази (M). M0 – без далечни метастази; M1 – метастази отвъд регионални лимфни възли; M1a – метастази в кожа, подкожие или далечни лимфни възли; M1b – метастази в бели дробове; M1c – метастази в останалите органи.

Стадирането и асоциираната със стадияте преживяемост е представена на Табл. 1.

МИСТЕРИОЗНИЯТ *MERKEL*-КЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ

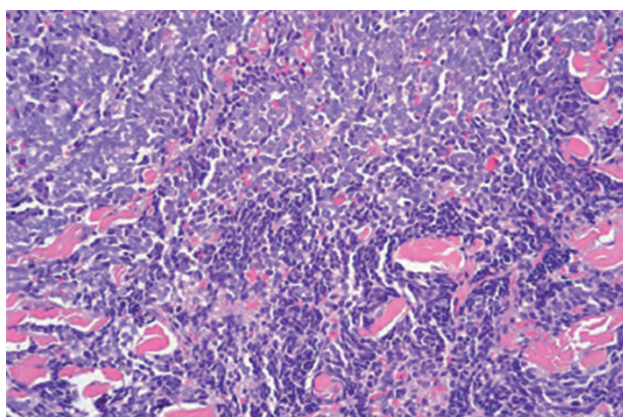
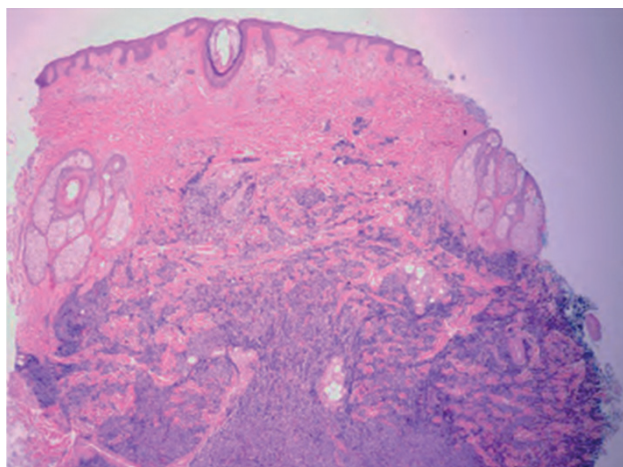
Таблица 1. Стадиране и преживяемост при Merkel-клетъчен кожен карцином.

Стадий		Описание	Преживяемост (%)		
			1-годишна	3-годишна	5-годишна
Стадий 0	0	Тумор in situ			
Стадий I Тумор ≤ 2 cm	IA	Лимфни възли (ЛВ) негативни клинично и хистологично	100	86	79
	IB	Без клинични данни за ангажиране на ЛВ (без да е извършено хистологично изследване)	90	70	60
Стадий II Тумор ≥ 2 cm	IIA	ЛВ негативни клинично и хистологично	90	64	58
	IIВ	Без клинични данни за ангажиране на ЛВ (без хистологично изследване)	81	58	49
	IIС	Първичен тумор с инвазия в кости/мускули/фасции/хрущяли	72	55	47
Стадий III Бо-лест в лимфни възли	IIIA	Микрометастази	76	50	42
	IIIB	Макрометастази (клинично или in transit)	70	34	26
Стадий IV Метастатична болест	IV	Далечни метастази	44	20	18

Хистология

Туморът се състои от еднакви по размер малки, кръгли до овални клетки с везикулозни ядра и множество малки нуклеоли. Обикновено се наблюдават множество митози и апоптотични телца. Клетките имат оскъдна цитоплазма с не добре очертани граници. Някои тумори имат разпръснати участъци от клетки с вретеновидни ядра. Клетките са разположени на пластове или оформят гнезда, инфилтриращи цялата дерма и понякога достигащи до хиподермата (Фиг. 3). Някои автори дефинират три различни хистологични варианта: трабекуларен, дребноклетъчен и междинен. Често се срещат припокриващи се характеристики като трабекуларният вариант може да бъде ограничен само в периферията на тумора.

Други характеристики включват фокална некроза, по-специално при по-големите тумори, често ангажиране на дермални лимфни съдове и разпръснати инфилтрати от лимфоцити и плазмоцити. Стромната дезмоплазия е рядко явление. Туморните клетки може да са по-големи при рецидиви след лъчелечение. В някои тумори е доказан амилоид. В някои случаи е налице аргирофилия, което се доказва при фиксация с разтвор на *Boivin*. Надлежащият епидермис е улцерирал в около 20% от случаите. Понякога е налице епидермална хиперплазия. Епидермотропизъм на туморни клетки може да се наблюдава много рядко. Засягане на епидермиса е установено при 11 от 132 пациенти в едно изследване; при два от докладваните случая туморните клетки са разположени само в епидермиса.¹⁵



Фигура 3. Микроскопска картина на Merkel-клетъчен кожен карцином.

Имунохистохимия. Клетките на МКК експресират цитокератин 20. При имунохистохимично оцветяване той се вижда като „перинуклеарна точка“. Туморните клетки са позитивни в различна сте-

пен за невроендокринните маркери като неврон-специфична енолаза, хромогранин А и синаптофизин (Табл. 2). Обикновено са отрицателни за TTF-1, S100 и левкоцитни антигени, подпомагащи разграничаването от останалите тумори с малки кръгли сини клетки. Онкопротеините на МСРyV (Т-антигени) се доказват чрез използване на моноклонални антитела. Трябва да се отбележи, че не всички МКК имат класическото СК20+/СК7- (положителни за цитокератин 20 и отрицателни за цитокератин 7).

Лечение

В терапията на МКК е необходимо да има мултидисциплинарен подход. Основните терапевтични подходи са хирургично, лъчелечение и химиотерапия. Като “златен стандарт” се приема широката ексцизия на тумора в комбинация с лъчелечение.

Хирургичната ексцизия на тумора с микроскопски негативни резекционни линии е основното лечение на първичния МКК. Постоперативното лъчелечение е свързано с по-ниска честота на рецидиви.¹⁷ Данни от няколко проучвания¹⁸ показват, че пациенти с нисък риск, при които не е необходимо провеждане на адювантно лъчелечение, са: с първичен тумор ≤ 1 cm, негативни сентинелни лимфни възли, без данни за имunosупресия, без инвазия в лимфни съ-

Таблица 2. Имунохистохимична диференциална диагноза на Merkel-клетъчен кожен карцином.

Оцветяване	МКК	Дребноклетъчен белодробен карцином	Лимфом	Меланом
СК20	+ перинуклеарно оцветяване	-	-	-
СК7	-	+	-	-
TTF-1	-	+	-	-
LCA	-	-	+	-
S100	-	-	-	+

МИСТЕРИОЗНИЯТ MERKEL-КЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ

дове от туморни клетки, чисти резекционни линии. Постоперативното лъчелечение намалява обема на хирургичната интервенция (например ампутация или ексцизия с много широки граници, изискваща кожна присадка). При микроскопски позитивни лимфни възли е необходимо да се извърши или пълна лимфна дисекция, или лъчелечение.

Лъчелечение. Туморът е лъчечувствителен. Постоперативното лъчелечение е свързано с по-ниска честота на регионални метастази в сравнение със самостоятелното хирургично лечение.¹⁷ При пациенти, при които по определени причини не може да се извърши ексцизия, самостоятелното лъчелечение дава добри резултати.²⁰

Химиотерапия. Не се препоръчва при локален карцином без метастази. Адювантната химиотерапия не е свързана с подобряване на преживяемостта. За съжаление, обикновено МКК показва резистентност към повечето терапевтични агенти. Стандартно използван режим е комбинация от *etoposide* с *carboplatin* или *cisplatin*. Приложението на химиотерапия при МКК е като палиативно лечение при дисеминирано заболяване с метастази, но носи риск от повишаване на болестността поради страничните ефекти на използваните агенти.

Проследяване

Поради високият риск от рецидиви през първите три години пациентите трябва да бъдат мониторираны на всеки три-шест месеца. Прегледите трябва да включват задълбочен соматичен и дерматологичен статус, включително изследване на лимфни възли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Agelli M, Clegg LX. Epidemiology of primary Merkel cell carcinoma in the United States. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49: 832-841.
2. Lemos B, Nghiem P. Merkel cell carcinoma: more deaths but still no pathway to blame. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 2100-2103.

3. Hodson NC. Merkel cell carcinoma: changing incidence trends. *J Surg Oncol* 2005; 89: 1-4.
4. Lemos BD, Storer, Iyer JG et al. Development of the first American Joint Committee of Cancer staging system for Merkel cell carcinoma based on prognostic factors analysis of 5,823 National Cancer Data Base cases. Doi: 10.1016/j.jaad.2010.02.056
5. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2009. Atlanta: American Cancer Society; 2009.
6. Lunder EJ, Stern RS. Merkel cell carcinomas in patients treated with methoxsalen and ultraviolet A radiation. *N Eng J Med* 1998; 339: 1247-1248.
7. Engels EA, Frisch M, Goedert JJ, et al. Merkel cell carcinoma and HIV infection. *Lancet* 2002; 359: 497-498.
8. Penn I, First MR. Merkel cell carcinoma in organ recipients: report of 41 cases. *Transplantation* 1999; 68(11): 1717-1721.
9. Health ML, Jaimes N, Lemos B, et al. Clinical characteristics of Merkel cell carcinoma at diagnosis in 195 patients: the AEIOU features. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58: 375-381.
10. Feng H, Shuda M, Chang Y, et al. Clonal integration of polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science* 2008; 319: 1096-1100.
11. Tolstov YL, Pastrana DV, Feng H, et al. Human Merkel cell polyomavirus infection II. MCV is a common human infection that can be detected by conformation capsid episode immunoassay. *Int J Cancer* 2009; 125(6):1250-1256.
12. Carter JJ, Paulson KG, Wipf GC, et al. Association of Merkel cell polyomavirus-specific antibodies with Merkel cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1510-1522.
13. Shuda M, Arora R, Kwun HJ, et al. Human Merkel cell polyomavirus infection I. MCV T antigen expression in Merkel cell carcinoma, lymphoid tissues and lymphoid tumors. *Int J Cancer* 2009; 125(6):1243-1249.
14. Gupta SG, Wang LC, Penas PF et al. Sentinel lymph node biopsy for evaluation and treatment of patients with Merkel cell carcinoma: the Dana-Faber experience and meta-analysis of the literature. *Arch Dermatol* 2006; 142: 685-690.
15. Weedon's skin pathology. 3rd edition, 2010; chapter 37; 883-885.

**МИКРОГРАФСКА ХИРУРГИЯ ПО *MOHS* –
ИНДИКАЦИИ И ТЕХНИКИ**

д-р Мариана Замир

Hadassah-Hebrew University Medical Center – Jerusalem

МИКРОГРАФСКА ХИРУРГИЯ ПО MOHS – ИНДИКАЦИИ И ТЕХНИКИ

д-р Мариана Замир

Hadassah-Hebrew University Medical Center – Jerusalem

ОБЗОР

Статията е първата публикация на български върху неизползваната в националната онкодерматология уникална техника за отстраняване на патологични процеси, нарастващи и разпространяващи се чрез периферно прорастване. Микрографската хирургия по *Mohs* (MMS) е представена във всички си индикации при базоцелуларен (БЦК) и плоскоклетъчен (ПКК) кожни карциноми. Детайлно се описва техниката на метода с маркирането на хистологичния препарат при отстраняването му и хоризонталното му секциониране за осъществяване на точен топографски и микроскопски анализ на хирургичните ръбове по цялото им протежение. Дискутира се концепцията *one brain*, заложена в основата на MMS и отговорна за неоспоримата ѝ терапевтична стойност – опериращият дерматохирург, отстраняващ тумора, е и патолог, който изследва хистологичния препарат, елиминирайки по този начин възможността за комуникативни грешки.

Увод

Микрографската хирургична техника е въведена в края на 30-те години на миналия век от *Frederic Mohs*, специалист по обща хирургия от Мадисън, Висконсин, под названието *химиохирургия*. С този термин той описва нов хирургичен подход за отстраняване на кожни туморни образувания, базиран на *in vivo* фиксация с цинково хлоридна паста на засегнатия от тумор кожен участък.¹ Широката медицинска аудитория се запознава с техниката след публикуване на резултатите от лечението на 440 пациента в *Archives of Surgery* през 1941 г.²

В началния си вид процедурата е времеемка и болезнена, възстановителният период е продължителен. В следствие техниката претърпява промени и се усъвършенства до сегашния си вид на прясно тъканна техника, ползваща замразени срезове. Днес тази дерматохирургична модалност е широко приета и утилизирана, като индикациите за прилагането ѝ непрекъснато се увеличават.

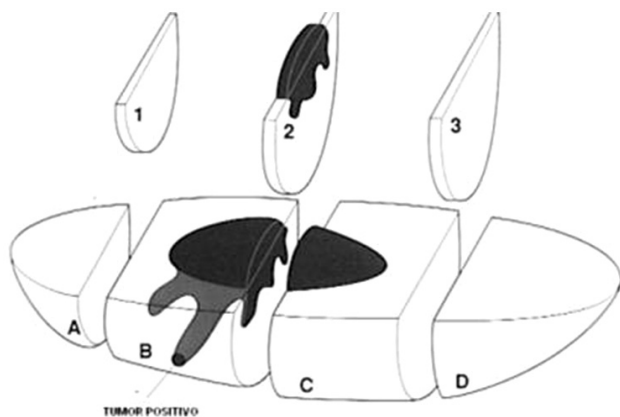
Характеристика на метода

Микрографската хирургия по *Mohs* (MMS) е уникална техника за отстраняване на патологични процеси, нарастващи и раз-

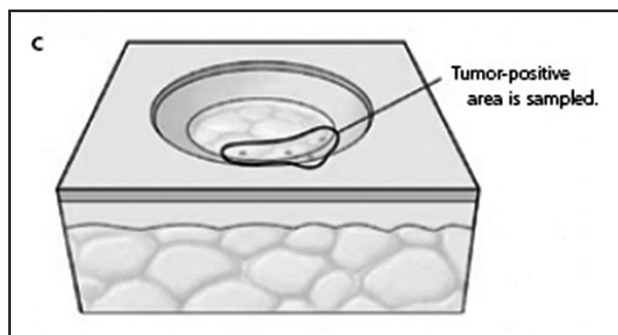
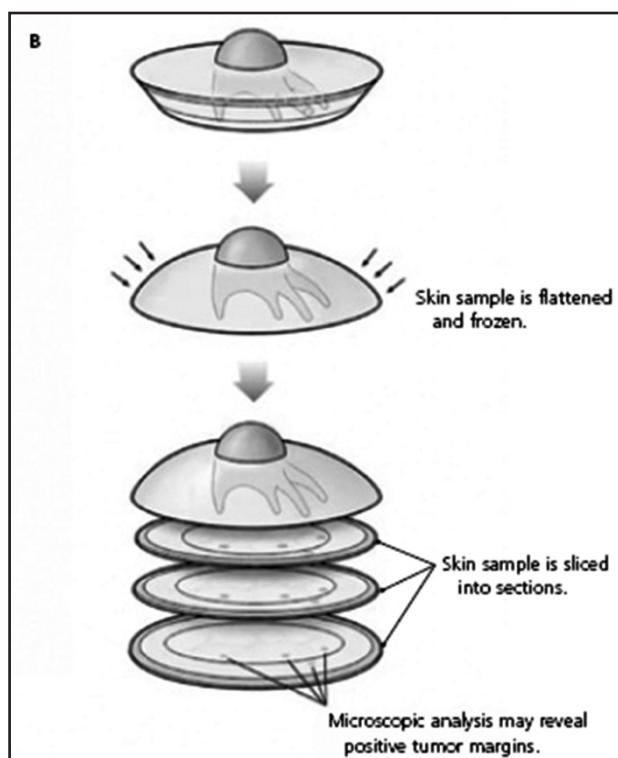
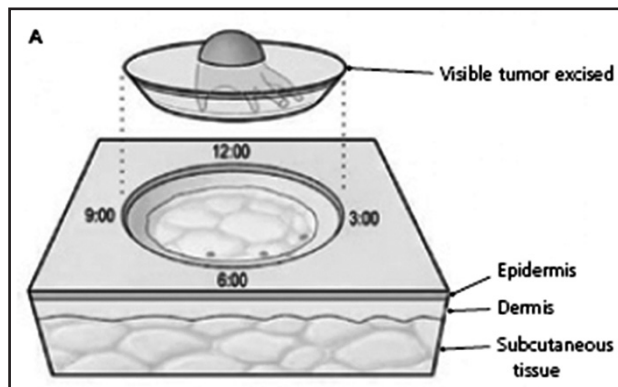
пространяващи се чрез периферно прорастване (contiguous extension). Немеланомните кожни карциноми (НМКК), базоцелуларен (БЦК) и плоскоклетъчен (ПКК), са типични представители на този вид процеси. За тях е характерен локален растеж в непосредствена близост до първичен тумор; наличие на незасегнати участъци (skip areas) в туморно легло е рядка находка, а метастазиране е по-скоро изключение; въпреки това, могат да демонстрират агресивно биологично поведение и да рецидивират. Поради тази специфика най-често отстранявани чрез MMS са НМКК с цел да се предотврати резидуален малигнен фокус, който би довел до локален рецидив.¹⁻⁴

Известно е, че при стандартна обработка на хистологична проба от фузиформена ексцизия се представят по-малко от 1.0% от хирургичните ръбове, независимо от използвания вид секционирание.⁵⁻⁷ Дори при прибягване към *breadloafing*-техника или прилагане на последователни серийни срезове, съществува вероятност да бъдат пропуснати периферни туморни разклонения, прорастващи аналогично на коренова система на дърво (Фиг. 1).

Интраоперативен анализ на вертикално секционирана замразена тъкан е възможна алтернатива, но даже и в този



Фигура 1. Схема на секционирание и туморни разклонения при НМКК.

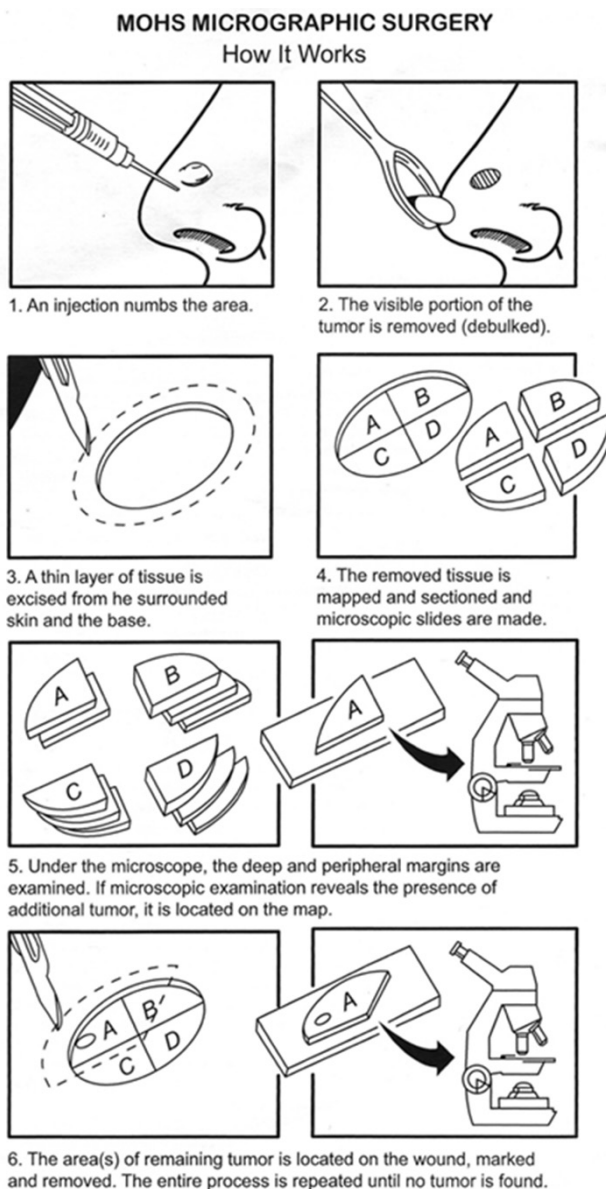


Фигура 2. Техника на MMS с хоризонтално секционирание и анализ на хирургичните ръбове.

случай не се достига до пълно представяне на хирургичните ръбове на хистологичните срезове. Микрографската хирургия по *Mohs* е единствената техника, при която се постига микроскопски контрол върху 100% от ръбовете. Уникалността на метода се състои във внимателно маркиране на хистологичния препарат при отстраняването му и хоризонталното му секциониране за осъществяване на точен топографски и микроскопски анализ на хирургичните ръбове по цялото им протежение. Цел е пълно отстраняване на тумора едновременно с максимално запазване на здравата тъкан и функцията ѝ^{5, 8-14} (Фиг. 2).

Техническо описание на метода

Хирургичната процедура обикновено се провежда в амбулаторни условия под местна упойка. След подготвяне и анестезиране на пациента при стерилни условия се пристъпва към кюретиране на туморната тъкан. Следва ексцизиране на туморното легло около 2 mm в околната тъкан по ъгъл от 45 градуса (*tangential or beveled excision*) до пълно отделяне на пробата. Препаратът се маркира, секционира и оцветява, получените хоризонтални замразени срезове се изследват обстойно микроскопски за точно идентифициране и локализация на евентуални остатъчни туморни клетки.^{5, 15-17} Ако се установи наличие на резидуален тумор, гореописаният процес се повтаря с отстраняване на допълнителен тъканен слой до достигане на “чисти” (*tumor free*) хирургични ръбове. Тогава се пристъпва към възстановяване на резултиращия тъканен дефект, съобразено със спецификата на дадената туморна локализация и на индивидуалните особености на пациента (Фиг. 3).



Фигура 3. Последователност в техниката на MMS.

Ключов момент за правилното разбиране и оценка на тази техника е концепцията *one brain*, заложената в основата ѝ и отговорна за неоспоримата ѝ терапевтична стойност – опериращият дерматохирург, отстраняващ тумора, е и патолог, който изследва хистологичния препарат, елиминирайки по този начин възможността за комуникативна грешка, присъща на мултидисциплинарните терапевтични тимове.¹⁸

Индикации за MMS

Микрографската хирургия по *Mohs* заема все по-централно място като терапевтична опция за поведение при кожни неоплазми от различен вид. Причини са niskият процент на местни рецидиви не само при третиране на първични тумори, но и в случаи с рекурентни и адвансирани лезии и възможността за максимално запазване на здравата, незасегнатата околна тъкан.¹⁹⁻²³ Микрографската хирургия по *Mohs* е средство на избор за лечение на рецидивиращи НМКК.^{9, 19-22} Друг сценарий, който изисква избор за MMS, е тумор с клинично трудно определими граници. Тумори в рискови зони с висок процент на местни рецидиви след конвенционална ексцизия, както и такива с агресивно биологично поведение и бърз растеж, особено при имunosупресирани пациенти, също подлежат на отстраняване с MMS.^{9, 11, 20-22} Методът е показан и при тумори, демонстриращи периневрално или съдово засягане, с голям начален диаметър (> 2 cm) или възникващи върху облъчван миналото кожен участък, както и за остатъчни тумори след непълно отстраняване.²² Също би следвало да се разгледа като терапевтична възможност за всеки тумор, обхващащ кожни зони, където максималното запазване на здрава тъкан е от важно значение (лице, пръсти, гениталии др.) или са естетично чувствителни.²³ Микрографската хирургия по *Mohs* се прилага широко и за отстраняване на други видове кожни малигнени тумори, като лентиго малигна, *Merkel*-клетъчен карцином, дерматофибросаркома протуберанс и себацеен карцином²⁴⁻²⁷, както и в случаи на дълбоко проникващи, инфилтриращи бенигнени лезии²⁸. Важно е да се отбележи, че идентифицирането на атипични клетки, формиращи тези тумори, рядко е трудно и неточно при използване

на замразени срезове без възможност за специални оцветявания; затова често се прибегва до „комбиниран“ подход: MMS се прилага до достигане на чисти резекционни ръбове чрез замразени срезове с последващо отстраняване на допълнителен тъканен слой, който се използва за приготвяне на постоянни парафинови срезове за окончателно потвърждаване на цялостна безостатъчната резекция.

Заклучение

В последните няколко десетилетия сме свидетели на епидемиологичен бум в заболеваемостта от кожни туморни образувания. Регистрираните НМКК в САЩ през 2006 г. са около 3.5 милиона и се очакват около 4 милиона нови случая през всяка следваща година.²⁹ Подобна тенденция се наблюдава при меланом *in situ*³⁰ с висок относителен дял на *lentigo maligna* тумори³¹. Като резултат, утилизацията на MMS се е увеличила с 400% в периода между 1995 г. и 2009 г. и към днешна дата един от всеки четири кожни тумори е третиран с MMS.³² Тази тенденция наложи създаване и утвърждаване на критерии за целесъобразно прилагане на MMS в конкретни клинични сценарии. Резултатите от съвместната работа на дерматолози и дерматохирурзи, членове на специално формирано работно звено, са публикувани през 2012 г. в *Journal of American Academy of Dermatology*²¹, а покъсно на базата на този труд е разработено приложение за смартфон, което улеснява правилното прилагане на критериите и опростява процеса на вземане на решение. Независимо от това, не бива да се забравя, че окончателната преценка за уместността на съответно терапевтично поведение трябва да се прави съвместно от лекар и пациент в светлината на комплекс от обстоятелства, представени от отделния индивид и неговата болест, съобразявайки се с волята му.

ЛИТЕРАТУРА

1. Finley EM, Ratz JL. Mohs micrographic surgery. In: Ratz JL, editor. Textbook of Dermatologic Surgery. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; 417-438.
2. Mohs FE. Chemosurgery: a microscopically controlled method of cancer excision. *Arch Surg* 1941; 42: 279-295.
3. Dinehart SM, Pollack SV. Mohs micrographic surgery for skin cancer. *Cancer Treat Rev* 1989; 16: 257-265.
4. Berlin J, Katz KH, Helm KF, et al. The significance of tumor persistence after incomplete excision of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 549-553.
5. Abide JM, Nahai F, Bennett RG. The meaning of surgical margins. *Plast Reconstr Surg* 1984; 73 (3): 492-497.
6. Zitelli JA, Mohs FE, Larson P et al. Mohs micrographic surgery for melanoma. *Dermatol Clin* 1989; 7: 833-843.
7. Zitelli JA, Moy RL, Abel E. The reliability of frozen section in the evaluation of surgical margins for melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39: 79-97.
8. Rowe DE, Carroll RJ, Day CL, Jr. Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear, and lip. Implications for treatment modality selection. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26 (6): 976-990.
9. Rowe DE, Carroll RJ, Day CL, Jr. Mohs surgery is the treatment of choice for recurrent (previously treated) basal cell carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1989; 15 (4): 424-431.
10. Smeets NW, Kuijpers DI, Nelemans P, Ostertag JU, Verhaegh ME, Krekels GA et al. Mohs' micrographic surgery for treatment of basal cell carcinoma of the face-results of a retrospective study and review of the literature. *Br J Dermatol* 2004; 151 (1): 141-147.
11. Wennberg AM, Larko O, Stenquist B. Five-year results of Mohs' micrographic surgery for aggressive facial basal cell carcinoma in Sweden. *Acta Derm Venereol* 1999; 79 (5): 370-372.
12. Ampil FL, Hardin JC, Peskind SP, Stucker FJ. Perineural invasion in skin cancer of the head and neck: a review of nine cases. *J Oral Maxillofac Surg* 1995; 53 (1): 34-38.
13. Dzubow LM, Rigel DS, Robins P. Risk factors for local recurrence of primary cutaneous squamous cell carcinomas. Treatment by microscopically controlled excision. *Arch Dermatol* 1982; 118 (11): 900-902.
14. Bath-Hextall FJ, Perkins W, Bong J, Williams HC. Interventions for basal cell carcinoma of the skin. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 1: CD003412.
15. Silverman MK, Kopf AW, Bart RS, Grin CM, Levenstein MS. Recurrence rates of treated basal cell carcinomas. Part 3: Surgical excision. *J Dermatol Surg Oncol* 1992; 18 (6): 471-476.
16. Davidson TM, Nahum AM, Haghighi P, et al. The biology of head and neck cancer. Detection and control by parallel histologic sections. *Arch Otolaryngol* 1984; 110 (3): 193-196.
17. Rapini RP. Comparison of methods for checking surgical margins. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23 (2 Pt 1): 288-294.
18. Lane JE, Kent DE. Surgical margins in the treatment of nonmelanoma skin cancer and mohs micrographic surgery. *Curr Surg* 2005; 62 (5): 518-526.
19. Paoli J, Daryoni S, Wennberg AM, Mo"lne L, Gillstedt M, Miocic , et al. 5-year recurrence rates of Mohs micrographic surgery for aggressive and recurrent facial basal cell carcinoma. *Acta Derm Venereol* 2011; 91: 689-693.
20. Mosterd K, Krekels GA, Nieman FH, Ostertag JU, Essers BA, Dirksen CD, et al. Surgical excision versus Mohs' micrographic surgery for primary and recurrent basal-cell carcinoma of the face: a prospective randomised controlled trial with 5-years' follow-up. *Lancet Oncol* 2008; 9: 1149-1156.
21. Ad Hoc Task Force, Connolly SM, Baker DR, Coldiron BM, Fazio MJ, Storrs PA, et al. Appropriate use criteria for Mohs micrographic surgery: a report of the American academy of dermatology, American college of mohs surgery, American society for dermatologic surgery association, and the American society for Mohs surgery. *J Am Acad Dermatol* 2012; 2012 (67): 531-550.
22. van Loo E, Mosterd K, Krekels GAM, et al. Surgical excision versus Mohs' micrographic surgery for basal cell carcinoma of the face: A randomised clinical trial with 10 year follow-up. *Eur J Cancer* 2014; 50: 3011-3020.
23. Muller FM, Dawe RS, Moseley H, Fleming CJ. Randomized comparison of Mohs micrographic surgery and surgical excision for small nodular basal cell carcinoma: tissue-sparing outcome. *Dermatol Surg* 2009; 35: 1349-1354.

24. Saiag P, Grob JJ, Lebbe C, et al. Diagnosis and treatment of dermatofibrosarcoma protuberans. European consensus-based interdisciplinary guideline. *Eur J Cancer* 2015; 15: 623-631.
25. Viola KV, Rezzadeh KS, Gonsalves L, et al. National utilization patterns of Mohs micrographic surgery for invasive melanoma and melanoma in situ. *J Am Acad Dermatol* 2015; 72 (6): 1060-1065.
26. Hou JL, Killian JM, Baum CL, Otley CC, et al. Characteristics of sebaceous carcinoma and early outcomes of treatment using Mohs micrographic surgery versus wide local excision: an update of the Mayo Clinic experience over the past 2 decades. *Dermatol Surg* 2014; 40 (3): 241-246.
27. Raju S, Vazirnia A, Totri C, Hata TR. Treatment of Merkel cell carcinoma of the head and neck: a systematic review. *Dermatol Surg* 2014; 40 (12): 1273-1283.
28. Behroozan DS, Goldberg LH, Glaich AS, Kaplan B, Kaye VN. Mohs micrographic surgery for deeply penetrating, expanding benign cutaneous neoplasms. *Dermatol Surg* 2006; 32 (7): 958-965.
29. Rogers HW, Weinstock MA, Harris AR, et al. Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States, 2006. *Arch Dermatol* 2010; 146: 283-287.
30. American Cancer Society. Cancer facts and figures 2012. Available at: www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-031941.pdf. Accessed March 1, 2012.
31. Swetter SM, Boldrick JC, Jung SY, et al. Increasing incidence of lentigo maligna melanoma subtypes: northern California and national trends 1990-2000. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 685-691.
32. Asgari MM, Olson JM, Alam M. Needs assessment for Mohs micrographic surgery. *Dermatol Clin* 2012; 30: 167-175.

**СЕНТИНЕЛНА ЛИМФНА ДИСЕКЦИЯ ПРИ КОЖЕН
МЕЛАНОМ И *MERKEL*-КЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ**

**Д-р Емил Костадинов¹
доц. д-р Красимир Киров, дм²**

¹ Клиника по хирургия, УМБАЛ Царица Йоанна–ИСУЛ – София

² Клиника по онкодерматология, СБАЛО – София

СЕНТИНЕЛНА ЛИМФНА ДИСЕКЦИЯ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ И *MERKEL*-КЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ

д-р Емил Костадинов¹

доц. д-р Красимир Киров, дм²

¹ Клиника по хирургия, УМБАЛ Царица Йоанна–ИСУЛ – София

² Клиника по онкодерматология, СБАЛО – София

ОБЗОР

Статията представлява съвременен ракурс към проблема за биопсия на сентинелен лимфен възел (БСЛВ) при пациенти с кожен меланом (КМ). Методът се разглежда като алтернатива на елективната регионална лимфна дисекция, като основен подход за прецизно стадиране. Детайлно се представя техниката на БСЛВ. Дискутират се данни от мета-анализ, според който при 16-20% от пациентите се установява ангажиране на СЛВ от метастаза, радикална лимфна дисекция се извършва при 97.5% от пациентите с позитивен СЛВ, а в 20% от тях са налице метастази и в други лимфни възли.

Увод

Терминът стражеви (сентинелен) лимфен възел (СЛВ) е използван през 1977 г. от уролога *Ramon Cabanías* при карцином на пенис. Съгласно хипотезата това е първият възел в локорегионалния лимфен басейн, дрениращ първичния тумор, в който с най-голяма вероятност се откриват метастази. Дефинирането му зависи от използвания метод.¹ Статусът на СЛВ отразява наличието на метастази в целия регионален лимфен басейн. През 1992 г. *D. Morton* прилага тази концепция и при болни с кожен меланом (КМ).²

Биопсия на сентинелен лимфен възел (БСЛВ) при кожен меланом

Естествената еволюция на болестта преминава от *in situ* неоплазия, през локално инвазиращ дермата тумор, лимфна дисеминация в локорегионалния лимфен басейн и развитие на далечни метастази (стадии 0-IV). Преживяемостта по стадии зависи от редица фактори, като дори някои подгрупи с лимфни метастази (стадий IIIa) могат да имат по-добра прогноза от тези без ангажиране на лимфни възли, но с по-голя-

ма дълбочина на инфилтрация по *Breslow* и наличие на разязвяване (стадий IIc). При групиране по подстадии общата петгодишна преживяемост при пациенти с локализиран първичен КМ е над 80%, при болни с локорегионални метастази е 39-70%, а при далечно разпространение – 15-20%.^{3, 4} Пациенти с единична микрометастаза имат преживяемост до 78%, докато тези с 4 и повече позитивни лимфни възли – 39%.⁵ Така наличието и броят на метастатични регионални лимфни възли е основен прогностичен фактор при пациенти с КМ. Въпреки това, понастоящем извършване на елективна регионална лимфна дисекция (ЕРЛД) при болни без клинични данни за лимфна дисеминация не се препоръчва по няколко причини: (1) метастатични лимфни възли се откриват при около 20 % от случаите – в 80% процедурата не е необходима, а пациентите са изложени на риска от ранни и дългосрочни усложнения^{6, 7}; (2) множество рандомизирани проучвания не успяват да докажат увеличаване на преживяемостта след широка ексцизия и ЕРЛД в сравнение с широка ексцизия и наблюдение до клинична поява на метастази. Повишена преживяемост се наблюдава само в подгрупата с интермедиерни меланоми с разязвяване.⁸ Методът на БСЛВ е алтернативен минимално инвазивен подход за установяване статуса на регионалния лимфен басейн.

Оперативна техника на БСЛВ

Сентинелната лимфна биопсия се извършва в един етап с широката ексцизия на КМ.¹² Предоперативно се инжектира радиофармацевтик (радионуклид $m^{99}\text{-Tc}$ Nanocol) и чрез СПЕСТ-СТ се определят регионалния лимфен басейн и СЛБ, като последният се маркира върху кожата. Дозата на радиофармацевтика зависи от интервала между натоварване и биопсия, като мак-

симално натрупване в стражевия възел се отчита между 18 и 24 часа след инжектиране. Непосредствено предоперативно около оперативния цикатрикс от ексцизионната биопсия се инжектира багрило (Patent blue). С радиоизотопна гама-сонда хирургът още един път локализира върху кожата зоната на максимална радиоактивност и планира разрез позволяващ извършване на радикална дисекция. През малък разрез от 2-4 cm хирургът с помощта на ръчната сонда и оцветяването идентифицира сентинелния възел и го изпраща за патологично изследване. Активността в отстранения възел спрямо остатъчната в полето трябва да е в съотношение 10:1. Други възли, показващи активност при повторна проверка със сонда, също се отстраняват и изпращат за хистологично изследване съгласно установените препоръки.

Обсъждане

Похватът на БСЛВ е високо чувствителна минимално инвазивна процедура, позволяваща определяне на статуса на регионалния лимфен басейн при болни с КМ. Това има важно прогностично значение и дава ключова информация при вземане на решения за провеждане на таргетна терапия. Чувствителността на техниката за откриване на СЛВ с използване на багрило е 82-86%, с използване на гама сонда – 92%, а комбинираната методика позволява точност до над 95%.⁹ Според мета-анализ на *ME Valsecchi*, 2011¹⁰, процентът на правилно установени лимфни възли е 97.3-98.6%, фалшиво негативните резултати са около 4%¹¹, а честотата на усложненията – 5-10%, което е значително по-ниско отколкото при радикална лимфна дисекция (23.2-37%)¹³. Най-чести усложнения са сером, лимфоцеле, инфекция и дехисценция на раната.

При 16-20% от пациентите се установява ангажиране на СЛВ от метастаза. Ра-

СЕНТИНЕЛНА ЛИМФНА ДИСЕКЦИЯ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

дикална лимфна дисекция се извършва при 97.5% от пациентите с позитивен СЛВ, като в 20% от тях са налице и метастази в други лимфни възли.¹⁴ Проучването Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial (MSLT-1), започнато през 1994 г., е единственото мултицентрично рандомизирано проспективно проучване, сравняващо преживяемост на пациенти след БСЛВ и регионална лимфна дисекция в сравнение с широка ексцизия, наблюдение и регионална лимфна дисекция при позитивиране на метастази. То не установява статистически значима разлика в преживяемостта при двата подхода (81% срещу 78%). Достоверна разлика има при десетгодишната преживяемост без болест (71.3% срещу 64.7%, $p = 0.01$), както и при десетгодишната преживяемост на пациенти с позитивен СЛВ в сравнение с негативен такъв (61% срещу 85%, $p < 0.001$). При болни с негативна БСЛВ и клинично негативни за метастази пациенти от групата с проследяване няма разлика в преживяемостта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Omgo E Nieweg, Pieter J Tanis, and Bin B R Kroon. The definition of a sentinel node. *Annals of Surgical Oncology* 2001; 8 (6): 538-541.
2. Morton DL, DR Wen, Wong JH et al. Technical details of Intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma, *Arch Surg* 1992; 127: 392-399.
3. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, et al. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3635-3648.
4. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-survival-rates> (25.07.2015)
5. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009; 27: 6199-6206.
6. Holmes EC, Moseley HS, Morton DL, Clark W, Robinson D, Urist MM. A rational approach to the surgical management of melanoma. *Ann Surg* 1977; 186: 481-490.
7. Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, et al. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg* 2005; 242: 302-311.
8. Balch CM, Soong S, Ross MI, et al. Long-term results of a multi-institutional randomized trial comparing prognostic factors and surgical results for intermediate thickness melanomas (1.0 to 4.0mm). Intergroup Melanoma Surgical Trial. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 87-97.
9. Morton DL, Thompson JF, Essner R, et al. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg* 1999; 230 (4): 453-463.
10. Valsecchi ME, Silbermins D, de Rosa N, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma: A meta-analysis. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1479-1487.
11. Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, et al. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg* 2005; 242: 302-311.
12. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ et al. Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med* 2006; 355: 1307-1317.
13. Marsden JR, et al. Revised U.K. guidelines for the management of cutaneous melanoma 2010. *British Journal of Dermatology* 2010; 163: 238-256.
14. Wong S, et al. Sentinel lymph node biopsy for melanoma: American Society of Clinical Oncology and Society of Surgical Oncology Joint Clinical Practice Guideline. Volume 30; number 23; august 10, 2012.

XXI ВЕК – РЕНЕСАНС В ЛЪЧЕЛЕЧЕНИЕТО ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

проф. д-р Татяна Хаджиева, дмн¹

доц. д-р Румен Габровски, дм²

доц. д-р Елица Енчева, дм³

¹Клиника по лъчелечение, УМБАЛ *Царица Йоанна*–ИСУЛ – София

²Отделение по лъчелечение, КОЦ – Шумен

³Клиника по лъчелечение, УМБАЛ *Св. Марина* – Варна

XXI ВЕК – РЕНЕСАНС В ЛЪЧЕЛЕЧЕНИЕТО ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

проф. д-р Татяна Хаджиева, дмн¹

доц. д-р Румен Габровски, дм²

доц. д-р Елица Енчева, дм³

¹Клиника по лъчелечение, УМБАЛ Царица Йоанна–ИСУЛ – София

²Отделение по лъчелечение, КОЦ – Шумен

³Клиника по лъчелечение, УМБАЛ Св. Марина – Варна

ОБЗОР

Исторически са разгледани причините за продължителното пренебрегване на лъчелечението (ЛЛ) при кожен меланом (КМ). С развитието на радиобиологични познания за КМ и високи технологии в ЛЛ стана възможно прилагане на големи дозови фракции след изясняване на ниско α/β на тумора 0.6 - 2.5. Индикациите за следоперативно ЛЛ в ложето на първичен КМ са само при избрани пациенти с близки резекционни линии, екстензивен невротропизъм и локален рецидив. Пошироко приложение намира високотехнологичното следоперативно ЛЛ след дисекция на регионални лимфни метастази. Индикациите са екстранодална инвазия и/или брой на лимфни метастази и/или определени размери на метастазата, специфични за различните регионални лимфни басейни: (i) паротидна област с ≥ 1 лимфни метастази; (ii) шиен лимфен басейн с ≥ 2 лимфни метастази и/или размер ≥ 3 cm; (iii) аксиларен басейн с ≥ 2 лимфни метастази и/или размер ≥ 4 cm; (iv) ингвинален басейн с ≥ 3 лимфни метастази и/или размер ≥ 4 cm.

Различни ръководства препоръчват за следоперативно ЛЛ на КМ следните дози: еквивалентни на ≥ 60 Gy при α/β до 2 Gy; за облъчване на лимфни басейни в аксиларна и ингвинална области – 50-55 Gy. Варира ритъмът на фракционирание: 48 Gy в 20 фракции, 30 Gy в 5 фракции за 2.5 седмици; 24Gy в 3 фракции веднъж седмично.

Палиативно лъчелечение при КМ се препоръчва при мозъчни метастази, нерезектабилни лимфни, сателитни или *in-transit* лезии. Препоръчват се различни режими на фракционирание: 20 Gy в 5 фракции, 40 Gy в 15 фракции, 30 Gy в 10 фракции, 24 Gy в 3 фракции, 8 Gy в една фракция.

Идентифицирането на генни мутации, свързани с MAPK-сигнални пътища, като BRAF, NRAS и cKIT, дават перспектива на нови комбинации с ЛЛ, свързани с намаляване на ДНК-възстановяването, активиране на клетъчната имунна система и манипулиране на клетъчния цикъл на меланомните клетки. Бъдещи фаза III рандомизирани клинични проучвания ще покажат ефективността и безопасността на подобни комбинации за по-интензивно прилагане на ЛЛ в мултидисциплинарния контрол на КМ.

Увод

През 1913 г. *Simpson* за първи път облъчва успешно тъмен невус, без да причини особено увреждане на кожата.¹ През 1939 г. *Ellis* публикува резултат от 38 болни, лекувани с 55–60 Gy за 7–10 дни, с добър резултат при 12 болни.² Следва да обърнем внимание на проучване от 1963 г. за 25-годишен опит с ЛЛ, при което петгодишната обща преживяемост (ОП) е 68% при 95 болни, сходна с тази на оперативно лечение.³ Развитието на анестезията и антибиотичното лечение извеждат оперативното лечение на преден план. Така до 1970 г. бе прието, че лъчелечението (ЛЛ) има само палиативна роля поради наложеното разбиране, че кожният меланом (КМ) е типичен прототип на лъчерезистентен тумор. Задълбочаващата се интерпретация на механизмите на меланомната карциногенеза доведе до възраждане на мястото на ЛЛ. Репутацията на най-ниско лъчечувствителна и лъчелечима болест се дължи на ранни публикации на *McKee et al.* в ерата на ниско-проникващата киловолтна рентгентерапия.⁴ Известно е, че меланомната клетка има по-висока склонност да възстановява сублетални промени в ДНК, предизвикани от радиация. Радиобиологични проучвания върху мишки показват, че ЛЛ намалява субстанция Р, което стимулира клетъчния растеж в някои меланомни клетъчни линии и с това е свързано възстановяването на туморната клетка след ЛЛ.⁵ Хипоксичните клетки, основен противник на ЛЛ, характеризиращ меланомния тумор, са другата причина за лъчерезистентност.⁷ Задълбочени *in vitro* изследвания на меланомни клетъчни линии доказаха хетерогенността на този тумор с различна лъчечувствителност, податлива на големи лъчеви фракции.⁶

Съвремените познания за туморните криви доза-ефект показват, че прилагането на по-големи от рутинните (2 Gy) дневни до-

зови фракции (ДДФ) увеличава ефекта при тумори с ниско алфа-бета ($\alpha/\beta = 0.6-2.5$ Gy, средно 1.2–1.5), каквото е установено за меланом. Вариациите на този параметър обясняват разликите в лъчечувствителността на КМ у отделния индивид.^{7,8} Комбинацията от двете важни радиобиологични характеристики – хипоксия и склонност към възстановяване (голямо рамо на кривата доза-ефект) – изясняват ползата от големи дозови фракции в историческата публикация на двама бележити съвременни радиобиолози – лекаря *Jens Overgaard* и физика *Soren Betzen*.^{7,8}

Оптималната ДДФ не е установена понастоящем, въпреки наблюдавания добър клиничен ефект над 4 Gy в единични рандомизирани и множество ретроспективни проучвания. Високите дневни дози обаче създават риск за тежки лъчеви реакции. Затова след 1970 г. високите технологии предоставят възможност за облъчване предимно на тумора, с максимално запазване на здравите тъкани около него и така възвръщат интереса към ЛЛ. Независимо от липсата на добре организирани рандомизирани проучвания, интегриращи ЛЛ в мултидисциплинарния лечебен подход, клинични факти показват, че около 23% от случаите се насочват за ЛЛ в хода на развитие на болестта. Макар и извън темата, трябва да споменем научни данни, които показват по-висока лъчечувствителност на мукозни меланомни, особено на увей и устна кухина, където оперативните техники биха довели до тежък мутилитет. В тези случаи ЛЛ и брахитерапията имат свое завоювано място, което е обект на друго изложение.

Следоперативно лъчелечение

Следоперативно лъчелечение (СЛЛ) върху ложе на първичен тумор. От изключително значение за решаване на индикации за СЛЛ е информацията от патолог за прогнос-

тичните фактори при всеки индивидуален пациент. Времето, когато отговорът беше само малигнен меланом, отдавна трябва да е отминало. Всеки лъчетерапевт трябва да разполага със следната информация, за да вземе решение за СЛЛ²⁸: дебелина по *Breslow* (mm), наличие на разязвяване, брой на митози на mm², микросателитоза (микросателитни туморни депозити, отстоящи на минимум ≤ 20 mm от основния тумор), за лезии под 1 mm – оценка по *Clark*, отстояние до резекционни линии. Контролът на резекционните линии е особено важен за лъчетерапевта, тъй като една от най-сериозните индикации за СЛЛ е R1-R2-резекция. На *Табл. 1* са представени изискванията на английските патолози за големина на резекционните линии според дебелината по *Breslow*.²⁸

Таблица 1. Изисквания на Кралското дружество на патолозите в Англия за големина на резекционните линии в зависимост от дебелината по Breslow.

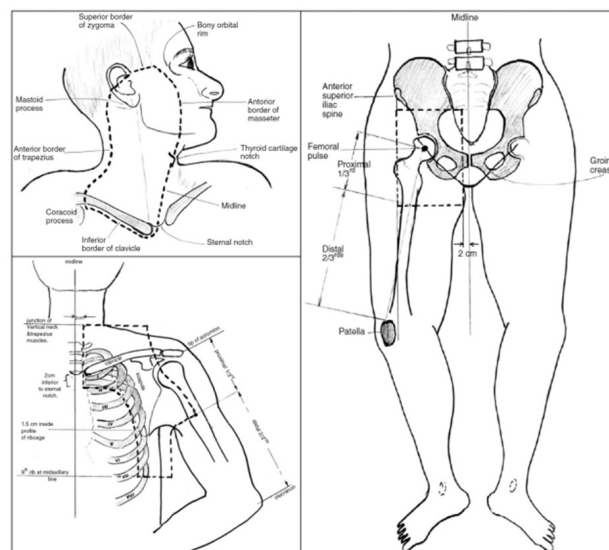
Дебелина по <i>Breslow</i>	Ексцизионни граници
Меланом <i>in situ</i>	5 mm за пълна хистологична ексцизия
< 1 mm	1 cm
> 1–< 2 mm	1-2 cm
2–4 mm	2 cm
> 4 mm	2 cm

Желателно е да има допълнителни данни и за лимфоцити, инфилтриращи тумора (TIL), ангиолимфатична инвазия (VI, LI), невротропизъм, хистологичен субтип, туморна регресия, определена като процент от общия обем, чиста дезмоплазия или разделяне на тумори с чиста дезмоплазия (индикация за следоперативно ЛЛ) или смесена с вретеновидни и/или епителоидни клетки. При липса на тази информация тя трябва да се изисква, за да се назначи ЛЛ.

Съществуват единични ретроспективни проучвания за ползата от СЛЛ при опериран първичен тумор с екстензивен невротропизъм, дълбок дезмопластичен КМ, близки резекционни граници и рецидивираща болест. Те показват, че честотата на локални рецидиви след СЛЛ намалява при болни с *Clark* и *Breslow* > 4 mm, невротропизъм, положителни или близки резекционни граници.⁹ Индикациите за СЛЛ на първичен опериран тумор зависят от риск за рецидив, лъчева токсичност и възможност за спасително лечение при рецидивирание: близки или положителни резекционни граници, ранни или множествени рецидиви, екцесивна сателитоза, дезмоплазия или невротропизъм и множествени първични лезии.¹⁰ При радикално опериран първичен тумор няма индикации за СЛЛ; ръководството на NCCN прави изключение за дезмопластичен невротропен меланом, където рискът от локален рецидив е висок.¹¹ Дезмопластичният невротропен растеж се наблюдава при 1-2% от КМ и демонстрира честота на локални рецидиви от 20% до 50% след самостоятелна локална ексцизия.⁶ В период на проучване е дали ложето на оперирания КМ в зоната на глава и шия налага облъчване поради невъзможност за резекция в широки граници. Австралийската и Новозеландска група за проучване на меланом (ANZMTG 01.09) и Транстасманската група по лъчелечение (TROG 08.09) стартираха рандомизирано проучване за ролята на адювантно ЛЛ при КМ в областта на глава и шия с невротропизъм; след локална ексцизия пациентите са рандомизирани за адювантно ЛЛ (48 Gy в 20 фракции) или наблюдение; първична цел на проучването е време до рецидив в полето на облъчване. Други ръководства препоръчват СЛЛ за намаляване на локален рецидив при следните допълнителни рискови фактори: меланом с дълбочина > 4 mm, при улцериран тумор,

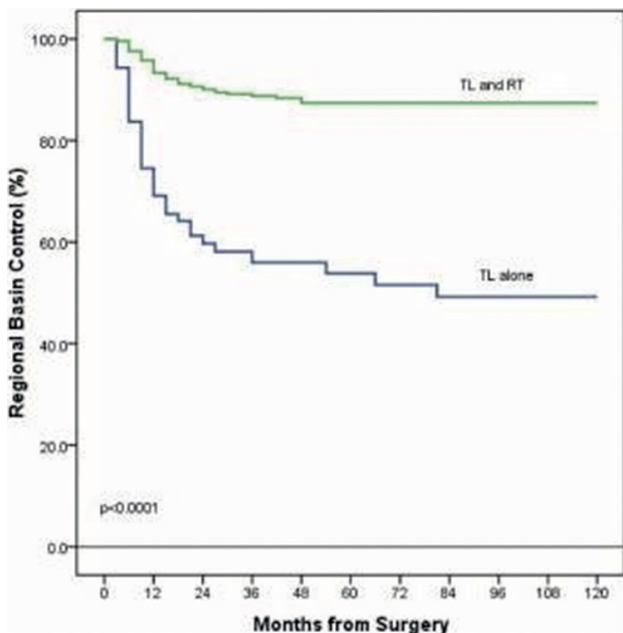
микросателитни нодули, мукозни меланоми на глава и шия, след реексизия за локален рецидив.^{10, 35} Ръководствата на NCCN и NICE препоръчват СЛЛ на първичен тумор при избрани болни с близки резекционни граници, екстензивен невротропизъм и локален рецидив.^{11, 12}

Следоперативно лъчелечение върху регионални лимфни басейни. Рецидивни след лимфна дисекция. Множество хирургически серии докладват значителна честота на локални рецидиви, която зависи от степента на ангажиране на лимфни възли. Локалните рецидиви варират от 15% до 60% (средно 30%). Честотата на локорегионални рецидиви нараства с влошаване на хистопатологичните характеристики. Най-важен прогностичен фактор е броят на ангажирани лимфни възли; честота на рецидиви между 60% и 80% се наблюдава при наличие на множество ангажирани лимфни възли или възли с диаметър над 6 см.¹³ Екстранодалното разпространение, включително фиксирани лимфни метастази, е свързано с честота на рецидивирание около 60% срещу 15% при липса.^{13, 14} Разположението на лимфния басейн също е важно: с по-висока честота на рецидиви са КМ на шия (35-45%) в сравнение с аксила (25-35%) и ингвинални зони (10-20%).¹³ Приносът на всеки отделен прогностичен фактор е приблизителен, тъй като много от тях са взаимно свързани; мултивариационен анализ на 196 пациенти с положителни шийни лимфни възли идентифицира екстранодално разпространение като прогностичен фактор за локален рецидив, но нито броят, нито размерът на ангажираните лимфни възли корелира с локални рецидиви.¹⁴ Затова основните проучвания за ефект на СЛЛ са при регионални лимфни метастази след дисекция при авансирал КМ (стадий IIIa-c). Зоните за СЛЛ са показани схематично на Фиг. 1.¹⁸ Съществуват около 20 неран-

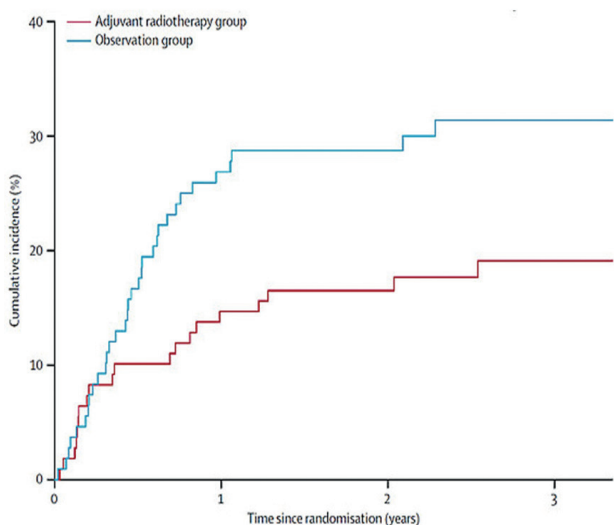


Фигура 1. Препоръчителни области (с пунктир) за следоперативно лъчелечение на аксиларни, ингвинални и шийни лимфни басейни (по Burmeister BH, et al.¹⁸, с любезното разрешение на Elsevier 2006).

домизирани ретроспективни проучвания върху общо 1700 болни, лекувани в периода 1985-2010 г.; те показват, че СЛЛ върху лимфни басейни намалява честота на рецидиви в различни области (паротидна, шия, аксила, ингвинални лимфни метастази).^{7, 8, 15, 16} Съществуват единични проспективни рандомизирани проучвания върху СЛЛ на регионални лимфни басейни. Единственото, което демонстрира ефект върху преживяемост, е това на Agarwal et. al. от 2009 г.¹⁷ върху 615 болни в стадий IIIb-c, метастазирал в различни регионални лимфни басейни; то сравнява операция и операция със СЛЛ, като показва снижение на рецидивите от 40.6% на 10.2%, повишаване на регионалния туморен контрол, на петгодишната преживяемост без метастази ($p = 0.0006$) (Фиг. 2a) и преживяемост без прогресия ($p < 0.0001$).¹⁷ Друго проучване на TROG Melanoma Trials Group¹⁸ включва 16 болници и рандомизира 217 пациенти със СЛЛ (48 Gy в 20 фракции) след лимфаден-



Фигура 2а. Резултати от рандомизирано изследване на MD Anderson Cancer Center и Roswell Park Cancer Institute върху 615 болни в стадий IIIb-c, метастазирал в различни регионални лимфни басейни: повишена преживяемост без прогресия ($p < 0.0001$) след следоперативно лъчелечение в сравнение само с лимфна дисекция (по Agarwal et. al. 2009¹⁷, с любезното разрешение на Cancer, 2009).

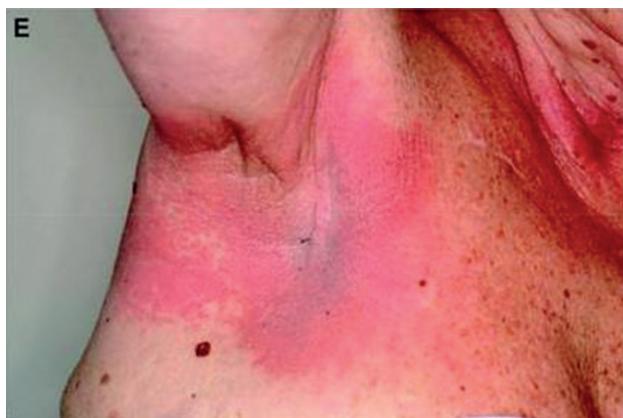


Фигура 2б. Намаляване на локалните рецидиви от 34% на 20% след следоперативно лъчелечение: резултати от TROG Melanoma Trials Group¹⁸ върху 217 след лимфаденектомия срещу самостоятелно наблюдение.

нектомия срещу самостоятелна дисекция; индикациите за СЛЛ са висок риск от рецидив, базиран на брой метастази и големи метастази¹⁸; след 40 месеца проследяване преживяемостта без рецидиви статистически достоверно се увеличава след СЛЛ, снижавайки честотата на рецидиви от 34% на 20% ($p = 0.041$) (Фиг. 2b); не се установява разлика в общата преживяемост без рецидив; основната токсичност степен 3-4 включва сером, радиационен дерматит и ранева инфекция.¹⁸

Ръководствата на NCCN¹¹ и NICE¹² препоръчват СЛЛ на регионални лимфни басейни при избрани пациенти с екстранодална инвазия и/или в зависимост от броя на лимфните метастази и/или размер за: (1) паротидна област с ≥ 1 лимфни метастази; (2) шиен лимфен басейн с ≥ 2 лимфни метастази и размер ≥ 3 cm; (3) аксиларен басейн с ≥ 2 лимфни метастази и размер ≥ 4 cm; (4) ингвинален басейн с ≥ 3 лимфни метастази и размер ≥ 4 cm. Доказано е, че СЛЛ снижава рецидивите в облъчваната област, но няма ефект върху преживяемост без болест или обща преживяемост. Ползата от СЛЛ следва да се оценява срещу риск от кожна и регионална токсичност и потенциално влошаване на качеството на живот.¹¹

Лъчеви реакции. Ограниченото приложение на адювантно лечение се отнася както до предполагаема повишена токсичност на съчетание от хирургия и ЛЛ, така и до липса на доказателства за обща преживяемост. Свързаната с лечение токсичност зависи от туморната локализация. Облъчване на хомолатерален лимфен басейн на шия се понася добре, със самоограничаващи се ранни кожни реакции и лека подкожна фиброза.¹⁹ Повишен е рискът от ранни лъчеви реакции след аксиларно (лъчев дерматит, Фиг. 3a) и късни реакции (лимфедем и фиброза, Фиг. 3b), както и при ингвинално облъчване.²⁰⁻²⁴



Фигура 3а. Типичен радиодермит при високи дневни дози в аксиларни лимфни басейни.

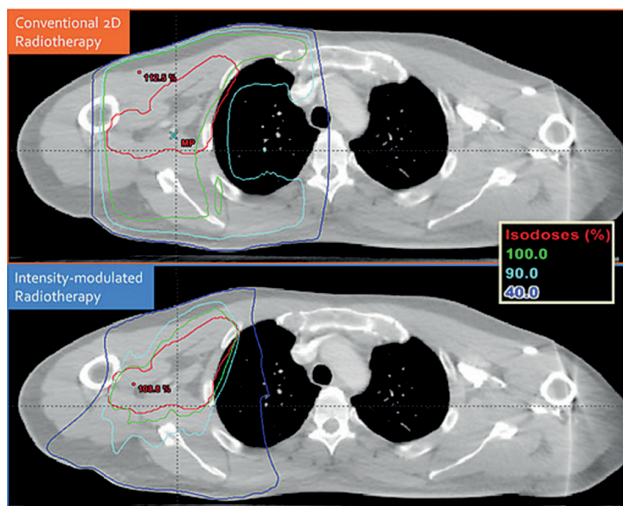


Фигура 3б. Лимфедем на ръка след аксиларна дисекция и лъчелечение на аксиларни лимфни басейни.

Отчетен е 53-58% лимфедем на ръка след аксиларна дисекция на ниво I-III и хипофракционирано адювантно ЛЛ (33 Gy в шест фракции).²¹ При друга серия, използвала сходен режим от 30 Gy в 5 фракции, честотата на лимфедем на ръка, изискващ медицински грижи, е 20%.²² Лимфедем на крак настъпва при 37% от пациентите след ингвинална лимфна дисекция и адювантно ЛЛ.²³ Проучване на TROG отчита късна токсичността от фаза II проучване, използвайки 48 Gy в 20 фракции като адювантно ЛЛ след лимфна дисекция; след минимален

период на проследяване от две години лимфедем степен 3 се съобщава при 7% от пациентите с аксиларно ангажиране и при 18% от пациентите с ингвинално и /или илиачно засягане.²⁴

Лъчелечебни техники за следоперативно лъчелечение. Най-добрите техники и режими на фракциониране все още не са установени. Следва да се съобразяват следните фактори: фракциониране в зависимост от цел на ЛЛ (радикално, палиативно), анатомична локализация и обем на облъчване (за лъчеви реакции), очаквана продължителност на живот, качество на живот, желание на болния. Прилага се различна апаратура – от ниско-проникващо киловолтно ЛЛ до най-високо-технологични практики и радиохирургия. При липса на риск за тежък лимфедем (в тяло или шия) се прилагат фракции от 4-6 Gy. При СЛЛ на аксила или ингвинална област се използват ниски дозови фракции – 1.8-2.5 Gy. В зависимост от околните нормални тъкани са подходящи всички възможни техники – двуизмерно планиране, конформално триизмерно или модулирано по интензитет ЛЛ, със или без контролирано чрез образи облъчване, с безспорно предимство на високо-технологичните методи, особено на модулирано по интензитет ЛЛ (Фиг. 4).^{8, 25} При наличие на макроскопски тумор канцерцидните дози са в границите от 66-70 Gy, като се определят биологични еквиваленти на дневни дози от 2 Gy при приемане на α/β до 2 Gy.^{26, 27} Дозите за СЛЛ трябва да са еквивалентни на ≥ 60 Gy.¹⁵ При облъчване на аксиларни и ингвинални лимфни басейни препоръчителни дози са 50-55 Gy.^{26, 27} Ритъмът на фракциониране също не е установен; някои ръководства препоръчват следните схеми: (i) 48 Gy в 20 фракции пет пъти седмично; (ii) 30 Gy в пет фракции за 2.5 седмици; (iii) 24 Gy в три фракции веднъж седмично (само RTOG 0721 протокол).^{10-12, 28} При позитивни опе-



Фигура 4. Предимство на модулираното по интензитет лъчелечение (втора картина) пред триизмерно конформално лъчелечение (първа картина) в аксиларен лимфен басейн, намаляващо дозата в бял дроб.

ративни граници се препоръчват 50.4 Gy в 21 фракции или 36 Gy в 6 фракции два пъти седмично.^{10-12, 28} Препоръките на NCCN 2015 са за СЛЛ в стадий IIIС при избрани пациенти в зависимост от локализация, размер, брой на лимфни метастази, екстракапсулна инвазия.¹⁰ Ползата от СЛЛ следва да се оценява срещу риск от кожна и регионална токсичност и потенциално редуциране на качеството на живот.¹⁰

Дефинитивно лъчелечение при lentigo maligna и лентиго меланом

Това е единствената повърхностна форма на КМ, при която поради голям размер, близост до лицеви структури и коморбидност в напреднала възраст дефинитивното ЛЛ се предпочита пред хирургия. Туморният контрол с двата метода е съизмерим, но при по-добри функционални и козметични резултати от ЛЛ.^{29, 30} Въпреки че лезиите обичайно са съвсем повърхностни и с различна по интензивност пигментация,

за радикално лечение са необходими зони на радиологична сигурност от радиус 1 cm и 0.5 cm в дълбочина.

Различни лъчетерапевтични техники могат да се използват за тази цел: повърхностна рентгенова терапия, облъчване с ускорени електрони и брахитерапия.²⁸ В серия от 150 пациенти с lentigo maligna и лентиго меланом, лекувани с повърхностна рентгенова терапия до обща доза 42-54 Gy в 10 фракции, честотата на докладвани локални рецидиви е 7% със средно време до прогресия от 45.6 месеца.³¹ По-ново ретроспективно проучване включва 593 пациенти от Швеция, лекувани с ЛЛ (дефинитивно ЛЛ при 350 пациенти, адювантно ЛЛ след частична ексцизия при 71 пациенти и адювантно ЛЛ след радикална операция при 172 пациенти) в продължение на 20 години³²; повечето пациенти са проследявани за период от повече от две години и честотата на отговор е 88%, а болшинството рецидиви са наблюдавани в рамките на две години.

Адювантно ЛЛ се прилага при по-големи лезии с неадекватни резекционни линии и при остатъчна лентиго лезия, която трудно се резецира без козметичен компромис. Локален контрол се наблюдава при 26 от 28 пациенти с лентиго меланом, лекувани само с хипофракционирано ЛЛ в зависимост от туморния размер: под 3 cm – 35 Gy в 5 фракции; 3-5 cm – 45 Gy в 10 фракции; над 5 cm – 50 Gy в 20 фракции.³³

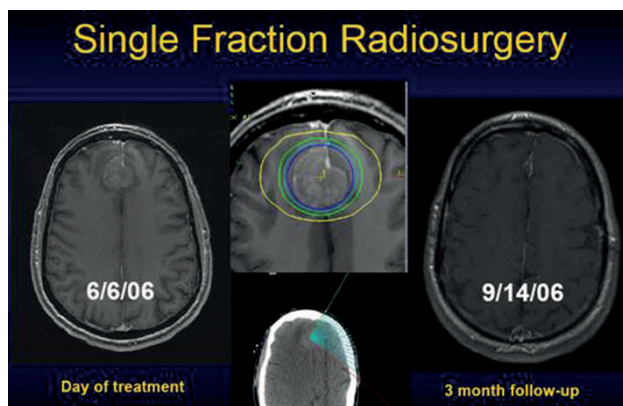
Палиативно лъчелечение

От теоретична гледна точка всички видове метастази от КМ (кожни, лимфни, костни, мозъчни и висцерални) могат да се подложат на палиативно ЛЛ. Ефективността му зависи от големината на туморната лезия и мястото на метастазиране. Според изследвания *in vitro* метастатичните лезии са по-лъчерезистентни от първичния тумор.³⁴ При кожни метастази с размери под 1 cm

вероятността за отговор е 85% и спада до 30% при лезии над 5 cm.⁷

Схемите на фракциониране не се различават от тези при други метастазирани тумори. В зависимост от метода, големината и локализацията на лезията се препоръчват различни режими на фракциониране: 20 Gy в 5 фракции, 40 Gy в 15 фракции, 30 Gy в 10 фракции и 8 Gy в една фракция.^{10-12, 35}

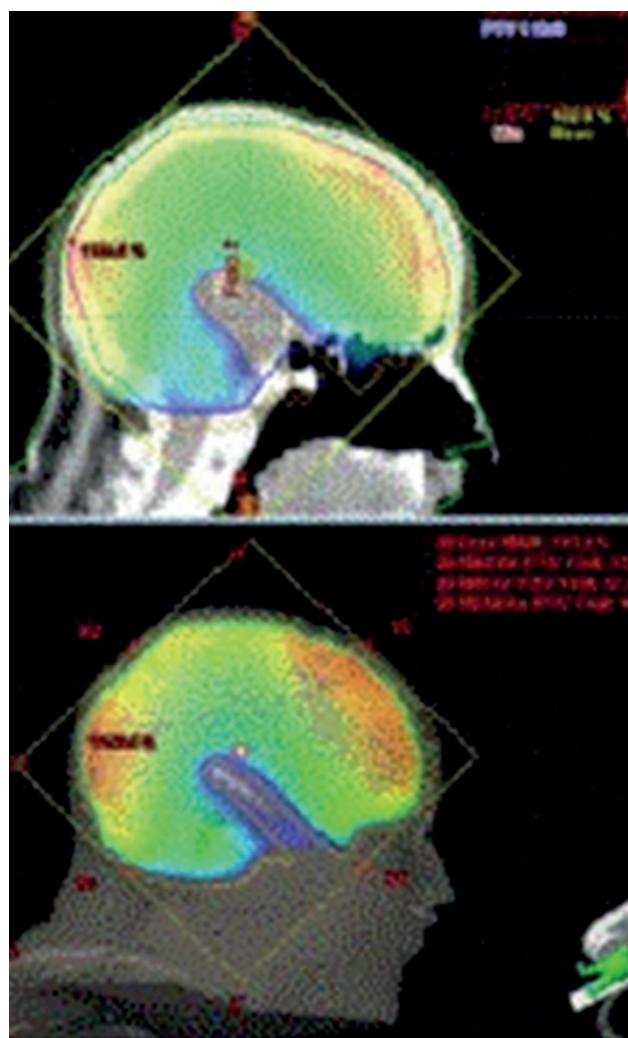
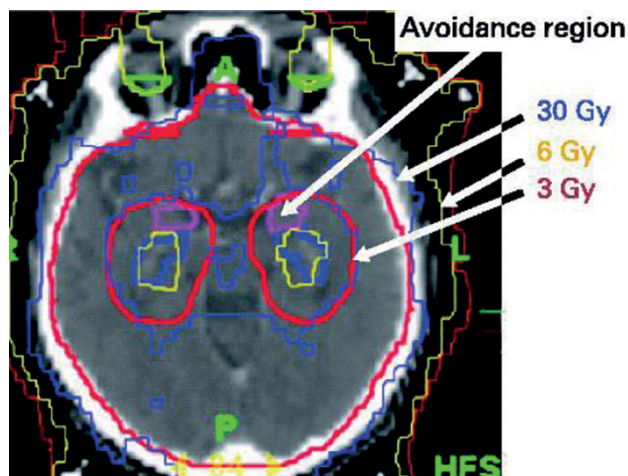
Най-проучвано в отделна серия болни е палиативно ЛЛ при мозъчни метастази. Наличието им е причина за 20-50% от смъртността от КМ. С повишен риск за метастазирание са мъже с мукозни меланоми на глава и шия и над три броя шийни лимфни метастази. Опциите за ЛЛ са няколко: стереотактична радиохирургия (СРХ) със или без облъчване на цял мозък (ОЦМ). Стереотактичната радиохирургия подобрява качеството на живот, намалявайки главоболието, смущенията в зрението и др. (Фиг. 5). Сборни резултати показват едногодишен туморен контрол от 49-90% с различна комбинация от СРХ със или без ОЦМ. Серия ретроспективни проучвания върху групи от 50-100 болни показват едногодишен туморен контрол при 49-90% след СРХ чрез линеен ускорител или гаманож.³⁶⁻³⁷



Фигура 5. Радиохирургия при мозъчни метастази от кожен меланом.

Във фаза III проучване 213 пациенти с една до три мозъчни метастази с размер до 3 cm са рандомизирани да получат СРХ със и без ОЦМ³⁸; основният показател е определяне на когнитивни промени след СРХ от 20-24 Gy или 18-22 Gy, последвани от 30 Gy; когнитивната функция е оценявана чрез магнитнорезонансна томография, оценка на качество на живот и неврофизиологични промени. На третия месец неврокогнитивната функция достоверно намалява в 91.7% след СРХ срещу 63.5% след комбинация от ОЦМ и СРХ ($p = 0.0007$); отчита се затруднение при отговоряне на въпроси, вербална възможност и др. Добавянето на ОЦМ повишава интракраниалния туморен контрол (94% и 88% съответно на трети и шести месец) в сравнение със самостоятелно СРХ (съответно 75% и 65%); то обаче не води до повишаване на средната обща преживяемост – 10.7 месеца след СРХ срещу 7.5 месеца след комбинация от ОЦМ и СРХ ($p = 0.92$). Становището на редица експерти в САЩ и Европа е, че има тенденция за намаляване на приложението на ОЦМ за сметка на СРХ, като ОЦМ се предпочита в по-късен стадий от развитие на метастази. Предлага се следният алгоритъм: при една до три мозъчни метастази – СРХ; при втори тласък с една до три мозъчни метастази – отново СРХ, а при трети рецидив на мозъчни метастази – ОЦМ.³⁹ В момента се провежда рандомизирано проучване на Националния раков институт на САЩ (NCT0137277), сравняващо СРХ или ОЦМ в оперативната кухня след екстирпация на КМ.³⁹

Очертава се становище, че ОЦМ следва да се прилага при пациенти с очаквана продължителност на живота над три месеца с техника, запазваща облъчване на хипокампус (Фиг ба, в).⁴⁰



Фигура 6 а, в. Високо-технологична лъчелечебна техника при мозъчни метастази със запазване на зоната на хипокампа за редуциране на неврокогнитивни усложнения от лъчелечение.

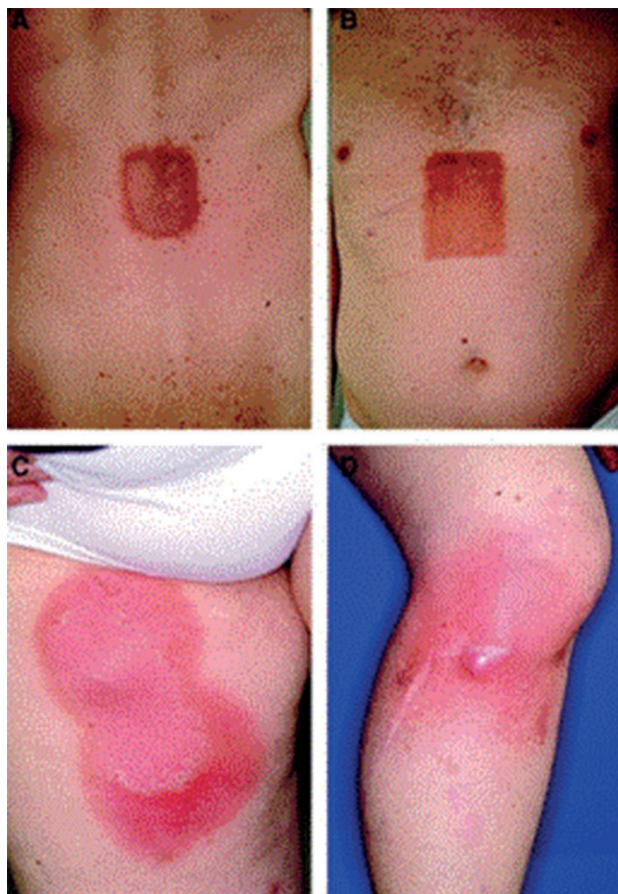
Развитие на комбинирано медикаментозно лечение и лъчелечение

Лъчелечение и химиотерапия. Проучване на едновременното прилагане на ЛЛ с *temozolomide* при мозъчни метастази от КМ не показва позитивни резултати – ниска степен на отговор от 10% и средна преживяемост от 8-9 месеца.⁴¹ Единични проучвания са проведени с едновременно ЛЛ и *interferon*; комбинираната терапия предизвика опасения за повишена токсичност на режима^{42, 43}, но други малки проучвания не потвърдиха подобни опасения при внимателно мониториране⁴⁴.

Лъчелечение и имунотерапия. Първоначални проучвания за комбиниране на ЛЛ с имунотерапия са извършени в експеримент. Изследване на *Lugade et al.*⁴⁵ документира, че ЛЛ, приложено върху миши тумори, води до повишаване на IFN- γ с по-ефективен отговор чрез цитотоксични Т-лимфоцити, които атакуват меланомни туморни клетки дори и в метастази далеч от облъчваната зона (т.нар. bystander или извънтаргетен ефект). Лъчелечението подобрява литичната чувствителност на меланомните клетки към цитотоксични Т-клетки чрез засилване на STAT1, стимулирайки апоптозата, което потвърждава хипотезата за адитивен ефект на ЛЛ и имунотерапевтични средства. Друго предклинично проучване показва, че ЛЛ е мощен фактор, подобряващ синтетичната dsRNA в *in vivo* миши меланомен модел.⁴⁶ Проучване на *Khan et al.* доказва, че *riluzole*, инхибитор на глутамат, освободен от човешки меланомни клетки, експресиращи GRM1, повишават лъчечувствителността на меланомни клетки *in vitro* и *in vivo*.⁴⁷

Лъчелечение и таргетна терапия. Предклинични проучвания показват, че *vemurafenib* действа като радосенсибилизация

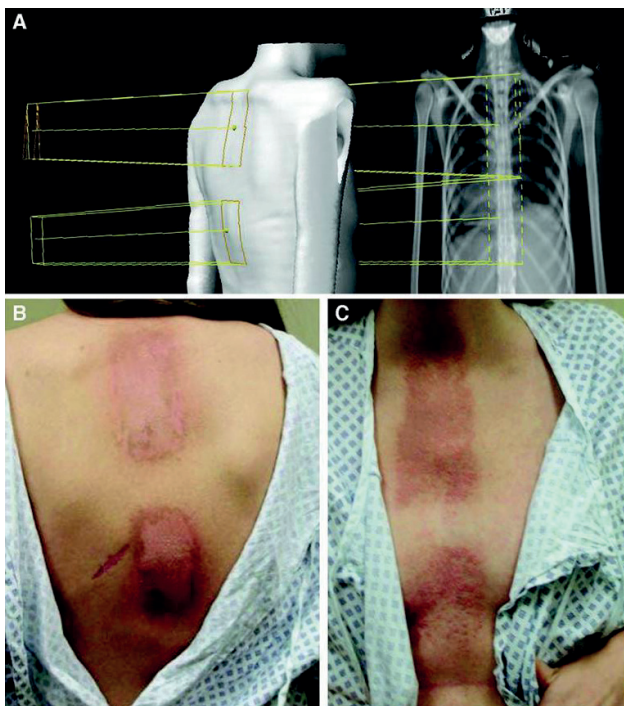
тор в туморни и нормални тъкани чрез прекъсване на сигнала на клетъчно преживяване и стимулиране на увреждането на ДНК чрез MAPK-сигналните пътища.⁴⁸⁻⁵⁰ Това се доказва и в клинични проучвания, които обаче демонстрират повишена токсичност на прилагането на *vemurafenib* заедно или преди и след ЛЛ. *Satzger et al.*⁵⁰ документират три случая на тежка кожна токсичност (Фиг. 7), а *Anker et al.*⁴⁹ цитират случай на фатален изход, дължащ се на чернодробно увреждане при пациент, лекуван в областта на гръбначния стълб с *vemurafenib* и ЛЛ (Фиг. 8 а, б). В ретроспективно проучване на 12 болни с мозъчни метастази се цитира един случай с радиационна некроза при прилагане на едновременно медикамент със радиохирургия; независимо от това, останалите болни понесат много добре комбинираното лечение с 48% пълен отговор, 27% частичен отговор, 6 месеца локален туморен контрол, като респ. 75% и 57% от отговорилите на лечението не развиват нови метастази. Тези и други сигнали за т.нар. феномен на възвръщането поставят въпроса за оптимално прилагане във времето на двата метода, особено при мозъчни метастази от КМ. Въпреки увеличаващото се разбиране на ролята на MAPK-сигналните пътища при комбиниране на двата лечебни фактора, все още много фактори се нуждаят от проучване – доза радиация, кумулативна доза, специфичност на облъчваните тъкани.⁵¹ Причината за повишената токсичност се крие в продължаващото модулиране на MAPK-пътищата и след прекратяване прилагането на лекарствата. Това следва подробно да бъде проучено, особено при болни с *BRAF*-мутантен меланом и облъчване на мозък.⁵¹ Наличието на повишена кожна токсичност при едновременно прилагане се интерпретира с фотосенсибилизационната активност на *vemurafenib* (Фиг. 9).⁵² Инхибирането на Ras/Raf/MEK-екстрацелуларния



Фигура 7. Тежка кожна реакция при едновременно прилагане на лъчелечение и *vemurafenib* (по *Satzger*⁵⁰, с любезното разрешение на JCO, 2013).

сигнал, който регулира киназите, е свързан с радиосенсибилизация, вероятно чрез прекъсване на ранния G2 клетъчен цикъл и водещ до митотична катастрофа.⁵³

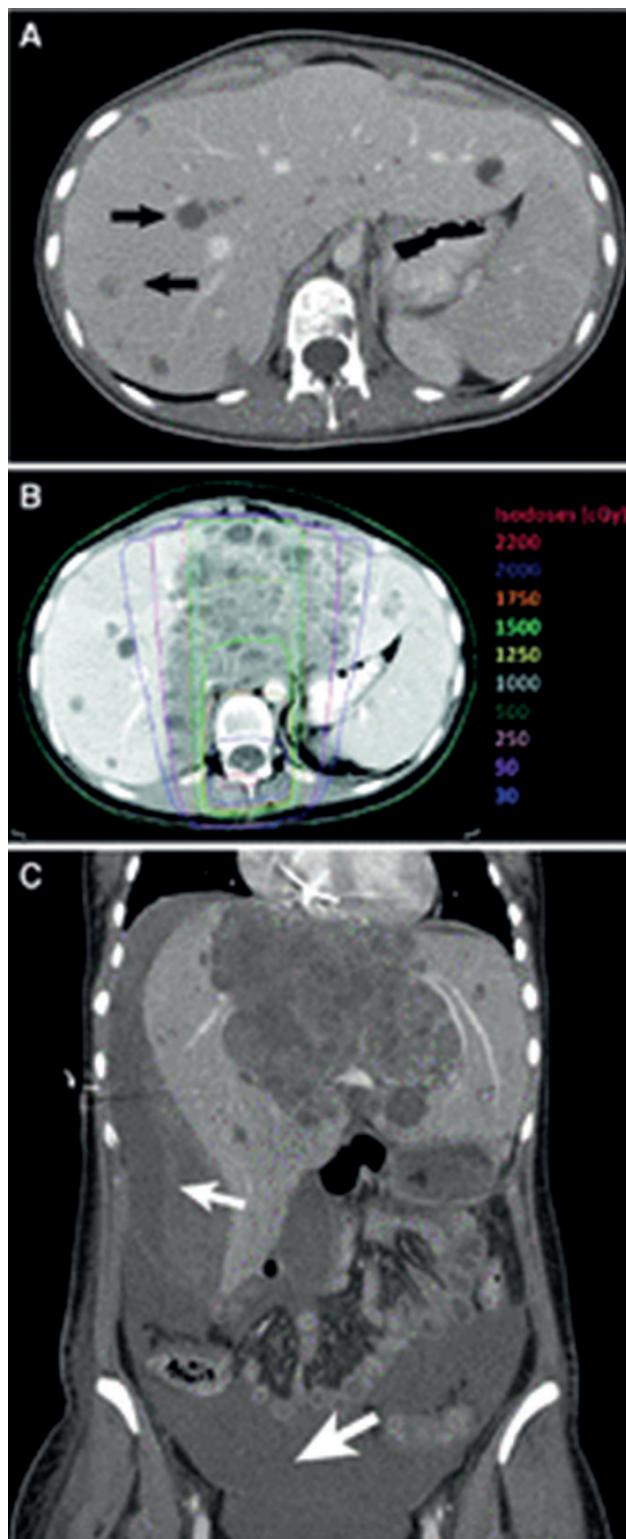
Данни за описваната свърхтоксичност не са събрани, тъй като повечето клинични проучвания изключват едновременното или непосредственото прилагане на двата метода. Реакциите са подобни на лъчевите и обикновено са ограничени или малко извън лъчевите полета и се проявяват с еритем, оток, були, ерозии, а в по-тежки случаи – с нерози и улцерации. Късните реакции са атрофия, фиброза и пигментации и продължават различно – дни, месеци, като преминават спонтанно (Фиг. 9).⁴⁹ Лечението е



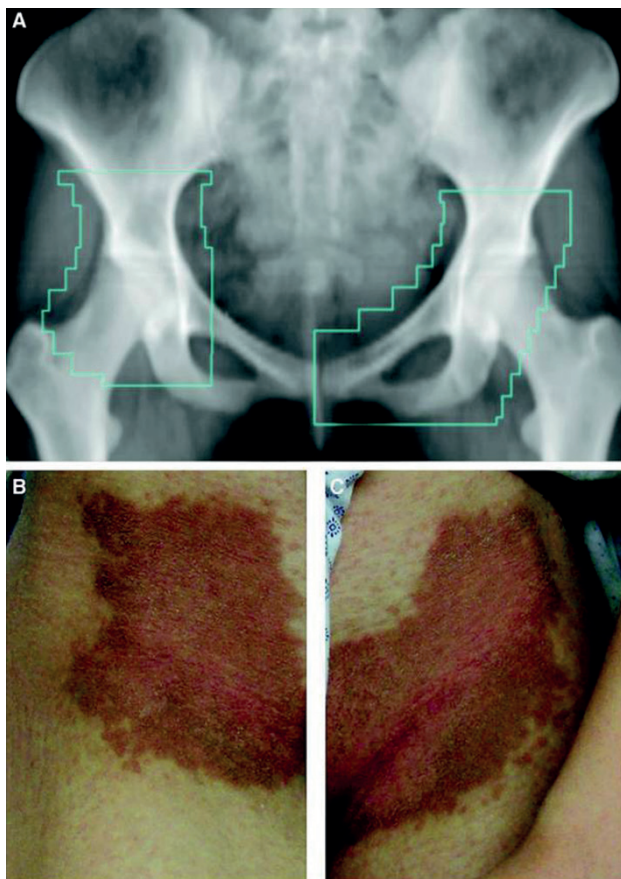
Фигура 8а. Случай на фатален изход, дължащ се на чернодробно увреждане при пациент, лекуван в областта на гръбначния стълб с *vetirafenib* и лъчелечение. Показани са лъчевият спон и пигментацията на кожата, в дълбочина е засегнат черният дроб (Фигура 8б). *Vetirafenib* е прекратен за 4 дни и пациентката е облечена с 4 x 5 Gy поради болезнени T10 - L1; след два дни *vetirafenib* е включен отново, а след две седмици се наблюдава феномен на възвръщане на кожни реакции в зоните на предишното лъчелечение (по Anker et al.⁴⁹, с любезното разрешение на JCO, 2013).

неспецифично и следва да се избягва травмиране на мястото, повишаване на температурата и слънчево излагане.¹⁰ Докато не се съберат достатъчно данни, някои водещи ръководства препоръчват интервали преди и след ЛЛ и *vetirafenib*, като точният безопасен срок се проучва.^{10, 11} Подобна препоръка дава и ръководството на Alberta Health Service, Канада, 2014 г., като включва и лечение с ЛЛ и *interferon*.³⁵ В единични проучвания се цитира, че *vetirafenib* е по-силен радиосенсибилизатор от *dabrafenib*.⁵¹

Радиоимунотерапия. Таргетната алфа-имунотерапия (targeted α -immunotherapy,



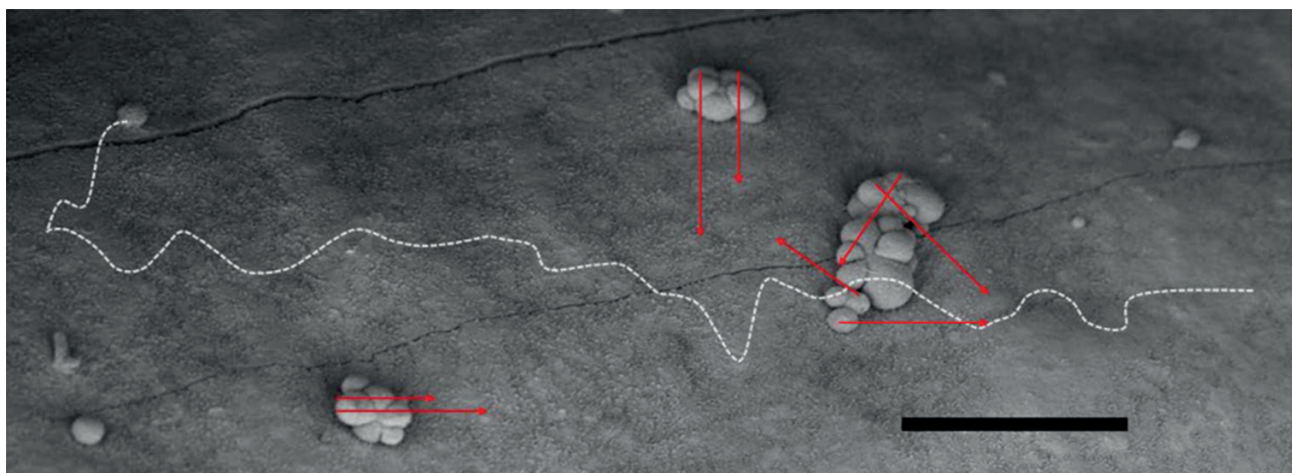
Фигура 8б. Компютър-томография на черен дроб, показваща зоната на облъчване от две срещулежащи полета с доза 4 x 5 Gy, довело до лъчево увреждане на черен дроб и летален изход.



Фигура 9. Проява на феномен на възвръщане на лъчеви реакции след прилагане на *ventriferin* (хеморагичен радиодермит в ингвинални лимфни басейни в зоната на лъчелечение преди две седмици (по Anker et al.⁴⁹, с любезното разрешение на JCO, 2013).

ТАТ) използва склонността на специфични антитела срещу карциноми да довеждат до туморните клетки α -радионуклиди за ефективна туморна смърт. Успехът на ТАТ в клинични проучвания за авансирал КМ се базира на ефекта на облъчване върху минимална остатъчна болест, с ограничени странични ефекти поради малкия пробег на α -частицата. Терапията с β -радионуклиди отдавна е заслужила своето важно място при карцином на щитовидна жлеза и при палиативно лечение на костни метастази. Алфа-частицата има по-висок радиобиологичен антигуморен ефект поради по-високо линейно предаване на енергията ѝ и по-малка прониквателна възможност, запазвайки здравите тъкани (Фиг. 10).⁵⁵

Заслужават внимание две проучвания. Първото е на Allen et al.⁵⁴ и е фаза I изпитване на α -радионуклид, конюгат на бисмут-213 ($\text{Bi}213$) с мише антитяло (9.2.27), приложен интралезионно в тумор; конюгатът атакува наличния в 90% от болните асоцииран рецептор на хондроидин-сулфат протеогликан; проучването доказва безопасността на прилагане на 25 mCi, без да се установяват усложнения.⁵⁶ Неочаквано туморната регресия е била наблюдавана още при ниски дози,



Фигура 10. Спирачният път на α -частицата е в рамките на размер на туморна клетка или сбор от клетки, при което се получава мощен канцерцииден ефект от високата плътност на йонизацията в туморната клетка, със запазване на здравите тъкани около нея.



Фигура 11. Ефект на радиоимуноterapia с α - ^{213}Bi имуноконюгат с мише антитяло (^{213}Bi -cDTPA-9.2.27) след 12 седмици; очертаванията показват големината на кожния меланом преди лечението.

което би могло да се обясни с т.нар. системна васкуларна антитуморна алфа-терапия (Фиг. 11).⁵⁴ Дифузията на конюгата през пропускливите туморни капилляри в перикапиллярното пространство позволява на антигените да се свързват с туморните клетки, α -лъчите убиват ендотелните клетки, затварят капиллярите и затрудняват храненето на тумора. При 30 болни има 10% частичен отговор, 40% стабилна облест и 13% дългосрочна преживяемост от 2-5 години.⁵⁴ Второто проучване е австралийско върху 40 болни в стадий IV и оценява ефекта и токсичността на системна α -терапия с α -имуноконюгат (^{213}Bi -cDTPA-9.2.27) след 12 седмици⁵⁷; 50% от пациентите показват стабилна болест, 12% – частичен отговор, а 30% не се повлияват в рамките на 8 седмици и загиват. Изпитвани са също радионуклиди като *astatin*-211, *actinium*-225 и други α -лъчители, все още в ранни фази на проучвания при други тумори.⁵⁵

Заклучение

Медицината, базирана на доказателства, определя следните изводи с ниво на препоръчителност В: (1) следоперативно лъчелечение на първичен кожен меланом се

препоръчва при избрани пациенти с близки резекционни линии, екстензивен невротропизъм и локален рецидив; (2) следоперативно лъчелечение при регионални лимфни метастази се препоръчва при екстранодална инвазия и/или брой на лимфни метастази и/или определени размери на метастазата за следните региони: (i) паротидна област с ≥ 1 лимфни метастази; (ii) шиен лимфен басейн с ≥ 2 лимфни метастази и/или размер ≥ 3 cm; (iii) аксиларен басейн с ≥ 2 лимфни метастази и/или размер ≥ 4 cm; (iv) ингвинален басейн с ≥ 3 лимфни метастази и/или размер ≥ 4 cm; (3) за следоперативно лъчелечение на кожен меланом се препоръчват различни дози и фракционирани (от 30 до 60 Gy, с 2-6 Gy дневна фракция) за 2.5-6 седмици, като дневните дозови фракции се съобразяват с лъчечувствителността на нормалните тъкани в облъчваните области; (4) дефинитивно лъчелечение се препоръчва като алтернатива на хирургия с по-добри козметични резултати при селектирани пациенти с лентиго малигна меланом; (5) палиативно лъчелечение при меланом има индикации при мозъчни метастази, нерезектабилни лимфни, сателитни или *in transit* лезии; (6) за палиативно лъчелечение се препоръчват различни режими на фракционирани (според метод, големина и локализация на лезията): 20 Gy в 5 фракции, 40 Gy в 15 фракции, 30 Gy в 10 фракции, 24 Gy в 3 фракции, 8 Gy в една фракция; (7) предвид високи ефективни дневни дози следва да се прилагат високотехнологични и максимално щадящи техники, особено при облъчване на зони с нисък радиационен толеранс.

В зависимост от локализацията при кожен меланом се обсъждат всички високотехнологични методи на палиативно лъчелечение – триизмерно конформално лъчелечение, модулирано по интензитет лъчелечение, радиохирургия или стереотактично телесно лъчелечение.

Други изводи от текущи проучвания, които налагат бъдещи клинични изпитвания и са с по-ниска степен на доказателственост (C, D): (1) в период на изследване е взаимодействие между таргетната терапия и палиативно лъчелечение (особено на главен мозък) поради продължаващо се бавно отмиване на медикамента по време на лъчевото въздействие; проучва се безопасният времеви интервал между двата метода поради повишена токсичност, проявяваща се с известния феномен на възвръщане на лъчеви реакции след прекратяването му; (2) в експериментален план се проучва таргетна алфа-имунотерапия (радиоимунотерапия).

ЛИТЕРАТУРА

1. Jenrette JM. Malignant melanoma: the role of radiation therapy revisited. *Semin Oncol* 1996; 23: 759-762.
2. Ellis F. Radiosensitivity of malignant melanomata. *Br J Radiol* 1939; 12: 327-352.
3. Hellriegel W. Radiation therapy for primary and metastatic melanoma. *Ann N Y Acad Sci* 1963; 100: 131-141.
4. MacKee GM, Cipollaro AC, Montgomery H. X-rays and radium in the treatment of diseases of the skin. 4th ed. Philadelphia, PA: Lea and Febiger; 1946.
5. Korcum AF, Sanlioglu S, Aksu G et al. Radiotherapy induced decreases in substance P levels may potentiate melanoma growth. *Mol Med Report* 2009; 2: 319-326.
6. Barranco SC, Romsdahl MM, Humphrey RM. The radiation response of human malignant melanoma cells grown in vitro. *Cancer Res* 1971; 31: 830-833.
7. Overgaard J, Overgaard M, Hansen V, von der Maase H. Some factors of importance in the radiation treatment of malignant melanoma. *Radiother Oncol* 1986; 5: 183-192.
8. Bentzen SM, Overgaard J, Thames HD, et al. Clinical radiobiology of malignant melanoma. *Radiother Oncol* 1989; 16: 169-182.
9. Strom T, Caudell JJ, Han D, et al. Radiotherapy influences local control in patients with desmoplastic melanoma. *Cancer* 2014; 120: 1369-1378.
10. Sacachevan Cancer Agency Provincial Melanoma Treatment Guidelines 2012. Available at: www.saskcancer.ca/Melanoma
11. NCCN Guidelines Version 1.2015 Updates Melanoma. Available at: www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#melanoma
12. NICE Guideline Melanoma: assessment and management of melanoma 2015. Available at: www.nice.org.uk/guidance/gid-cgwave0674/resources/melanoma-draft-nice-guideline2
13. Lee RJ, et al. Nodal basin recurrence following lymph node dissection for melanoma: implications for adjuvant radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 46: 467-474.
14. Shen P, et al. Is adjuvant radiotherapy necessary after positive lymph node dissection in head and neck melanomas? *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 554-559; discussion 560-561.
15. Pawlik T, Sondak V. Malignant melanoma: current state of primary and adjuvant treatment. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2003; 45: 245-264.
16. Primoz St. Role of radiotherapy in melanoma management. *Radiol Oncol* 2010; 44 (1): 1-12.
17. Agrawal S, Kane JM, 3rd, Guadagnolo BA, et al. The benefits of adjuvant radiation therapy after therapeutic lymphadenectomy for clinically advanced, high-risk, lymph node-metastatic melanoma. *Cancer* 2009; 115: 5836-5844
18. Burmeister BH, Henderson MA, Ainslie J, et al. Adjuvant radiotherapy versus observation alone for patients at risk of lymph-node field relapse after therapeutic lymphadenectomy for melanoma: a randomised trial. *Lancet Oncol* 2012; 13 (6): 589-597
19. Ang KK, et al. Postoperative radiotherapy for cutaneous melanoma of the head and neck region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 30: 795-798.
20. Stevens G et al. Locally advanced melanoma: results of postoperative hypofractionated radiation therapy. *Cancer* 2000; 88: 88-94.
21. Starritt EC, et al. Lymphedema after complete axillary node dissection for melanoma: assessment using a new, objective definition. *Ann Surg* 2004; 240: 866-874.
22. Ballo MT, et al. Adjuvant irradiation for axillary metastases from malignant melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 52: 964-997.
23. Ballo MT, et al. A critical assessment of adjuvant

- radiotherapy for inguinal lymph node metastases from melanoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 1079-1084.
24. Burmeister BH, et al. Radiation therapy following nodal surgery for melanoma: an analysis of late toxicity. *ANZ J Surg* 2002; 72: 344-348.
 25. Jones B, Dale RG, Deehan C, et al. The role of biologically effective dose (BED) in clinical oncology. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2001; 13: 71-81
 26. Moncrieff MD, Martin R, O'Brien CJ, et al. Adjuvant postoperative radiotherapy to the cervical lymph nodes in cutaneous melanoma: is there any benefit for high-risk patients? *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 3022-3722.
 27. Henderson MA, Burmeister B, Thompson JF, et al. Adjuvant radiotherapy and regional lymph node field control in melanoma patients after lymphadenectomy: results of an intergroup randomized trial (ANZMTG 01.02/TROG 02.01). [Abstract]. *J Clin Oncol* 2009; 27 (Suppl).
 28. London cancer Alliance. LCA Skin Cancer Clinical Guidelines 2014. Available at: www.londoncanceralliance.nhs.uk/media/74850/LCA_SkinClinicalGuidelines_FINAL.pdf
 29. Acland, K, Algurafi H, Allan R, et al. LCA Skin Cancer Clinical Guidelines, London Cancer Alliance 2014 Published by London Cancer Alliance 167-182.
 30. Cox J, Ang K. Radiation Oncology: Rationale, Technique, Results ISBN: 978-0-323-04971-9 Copyright 2010 by Mosby: 141-157.
 31. Christie DR, Tiver KW. Radiotherapy for melanotic freckles. *Australas Radiol* 1996; 40: 331-333.
 32. Hedblad MA, Mallbris L. Grenzray treatment of lentigo maligna and early lentigo maligna melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67 (1): 60-68.
 33. Harwood AR. Conventional radiotherapy in the treatment of lentigo maligna and lentigo maligna melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1982; 6: 310-316.
 34. Rofstad EK. Radiation sensitivity *in vitro* of primary tumors and metastatic lesions of malignant melanoma. *Cancer Res* 1992; 52: 4453.
 35. Alberta Health Service Канада Clinical Practice Guideline CU-003 version 7 2014. Available at: www.albertahealthservices.ca/hp/if-hp-cancer-guide-cu003
 36. Stone A, Cooper J, Koenig KL, Golfinos JG, Oratz R. A comparison of survival rates for treatment of melanoma metastatic to the brain. *Cancer Invest* 2004; 22: 492-497.
 37. Gaudy-Marqueste C, Regis JM, Muracciole X, et al. Gamma-Knife radiosurgery in the management of melanoma patients with brain metastases: a series of 106 patients without whole-brain radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65: 809-816.
 38. Brown PD, Asher AL, Ballman KV, et al. NCCTG N0574 (Alliance): a phase III randomized trial of whole brain radiation therapy (WBRT) in addition to radiosurgery (SRS) in patients with 1 to 3 brain metastases. *J Clin Oncol* 2015; (abstr LBA4). Available at: www.onclive.com/conference-coverage/asco-2015/
 39. Brown PD, Asher AL, Ballman KV, et al. NCCTG N0574 (Alliance): a phase III randomized trial of whole brain radiation therapy (WBRT) in addition to radiosurgery (SRS) in patients with 1 to 3 brain metastases. *J Clin Oncol* 2015; (abstr LBA4). Available at: www.onclive.com/conference-coverage/asco-2015/
 40. T. Kazda, R. Jancalek, P. Pospisil et al. Why and how to spare the hippocampus during brain radiotherapy: the developing role of hippocampal avoidance in cranial radiotherapy. *Rad Oncol* 2014; 9: 139.
 41. Schild SE, Behl D, Markovic SN, et al. Brain metastases from melanoma: Is there a role for concurrent temozolomide in addition to whole brain radiation therapy? *Am J Clin Oncol*. 2010; 33: 633-636 *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65: 809-816.
 42. Gyorki DE, Ainslie J, Joon ML, Henderson MA, Millward M, McArthur GA. Concurrent adjuvant radiotherapy and interferon-alpha2b for resected high risk stage III melanoma – a retrospective single centre study. *Melanoma Res* 2004; 14: 223-230.
 43. Conill C, Jorcano S, Domingo-Domenech J, et al. Toxicity of combined treatment of adjuvant irradiation and interferon alpha2b in high-risk melanoma patients. *Melanoma Res* 2007; 17: 304-309.
 44. Paul E, Muller I, Renner H, et al. Treatment of locoregional metastases of malignant melanomas with radiotherapy and intralesional beta-interferon injection. *Melanoma Res* 2003; 13: 611-617.
 45. Lugade AA, Sorensen EW, Gerber SA, et al. Radiation-induced IFN-gamma production within the tumor microenvironment influences antitumor immunity. *J Immunol* 2008; 180: 3132-3139.
 46. Le UM, Kaurin DG, Sloat BR, et al. Localized irradiation of tumors prior to synthetic dsRNA therapy enhanced the resultant anti-tumor activity. *Radiother Oncol* 2009; 90: 273-279.
 47. Khan AJ, Wall BA, Ahlawat S, et al. Riluzole enhances

- ionizing radiation-induced cytotoxicity in human melanoma cells that ectopically express metabotropic glutamate receptor 1 in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1807-1814.
48. Narayana, M. Mathew, M. Tam, et al. Vemurafenib and radiation therapy in melanoma brain metastases. *J Neurooncol* 2013; 113 (3): 411-416.
 49. Anker C, A. Ribas, Al. Grossmann, et al. Severe liver and skin toxicity after radiation and vemurafenib in metastatic melanoma. *JCO* 2013; 17: e283-e287.
 50. Satzger I, A Degen, H, et al. Serious skin toxicity with the combination of braf inhibitors and radiotherapy. *JCO* 2013; 31: e220-e222.
 51. Khan M, N Khan, A Almasan, et al. Future of radiation therapy for malignant melanoma in an era of newer, more effective biological agents. *Onco Targets and Therapy* 2011; 4: 137-148.
 52. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011; 364: 2507-2516.
 53. Chung EJ, Brown AP Asano H, et al. In vitro and in vivo radiosensitization with AZD6244 (ARRY-142886), an inhibitor of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase 1/2 kinase. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3050-3057.
 54. Allen BJ, Singla AA, Rizvi SM et al, Analysis of patient survival in a phase I trial of systemic targeted alpha-therapy for metastatic melanoma. *Immunotherapy* 2011; 3 (9): 1041-1050.
 55. Elgqvist J, S Frost, J Pouget, Per Albertsson. The potential and hurdles of targeted alpha therapy – clinical trials and beyond. *Frontiers in Oncology/RadiationOncology* 2014; 3: 324.
 56. Raja C, Graham P, Abbas Rizvi SM et al. Interim analysis of toxicity and response in Phase I trial of systemic targeted alpha therapy for metastatic melanoma. *Cancer Biol Ther* 2007; 6 (6): 846-852.
 57. Allen BJ, Raja C, Rizvi S, et al. Intralesional targeted alpha therapy for metastatic melanoma. *Cancer Biol Ther* 2005; 4 (12): 1318-1324.

МОЛЕКУЛЯРНО-ПАТОЛОГИЧНИ МАРКЕРИ ЗА ТУМОРЕН ОТГОВОР ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ

доц. д-р Милка Георгиева

Лаборатория по молекулярна патология,
Клиника по обща и клинична патология, УМБАЛ Св. Марина – Варна

ОБЗОР

Кожният меланом (КМ) е малигнен тумор на меланоцитите и е най-агресивната малигнена кожна неоплазма. Молекулярните патогенетични механизми все повече се изясняват благодарение на данни, получени от голям брой изследвания чрез молекулярно профилиране. Този прогрес на молекулярно ниво е транслиран в клиниката с одобряването на нови молекулярни таргетни агенти (BRAF- и MEK-киназни инхибитори) и имунни checkpoint-модулатори (цитотоксичен Т-лимфоцитен антиген 4 или CTLA-4 и PD-1 блокиращите антитела), които дават безпрецедентно подобряване на контрола на болестта и преживяемостта на пациенти с метастатичен КМ. В настоящия труд са обобщени гените, участващи в двата основни сигнални пътя – MAPK- и PI3K-сигнални пътища, допълнителни мутации в ключови гени като *KIT*, механизми на резистентност и стратегии за тяхното преодоляване, диагностични стратегии, както най-нови разработки, като геномна класификация на кожен меланом и др.

Увод

Кожният меланом (КМ) е най-агресивният кожен тумор с глобална честота от около 200000 нови случая годишно. Представява само 4% от всички типове кожни неоплазми, но е причина за около 80% от смъртните случаи, свързани с тях (около 65000 годишно). Честотата на преживяемост зависи от клиничния стадий при диагнозата, като петгодишната преживяемост е от 15% до 60% при пациенти, респективно с далечни и локални метастази.¹

Прогнозата за метастатичен КМ напоследък съществено се промени благода-

рение на одобрените киназни инхибитори *vemurafenib*², *dabrafenib*³ и *trametinib*⁴, както и на имунния checkpoint-инхибитор *ipilimumab*.^{5,6} Съвсем имунните checkpoint-инхибитори *nivolumab*⁷ и *pembrolizumab*⁸ показаха обещаващи резултати в клинични проучвания, което вероятно ще доведе до одобрението на тези агенти от регулаторните агенции.

Vemurafenib и *dabrafenib* са селективни инхибитори на мутацията BRAFV600, налична при почти половината от меланомите⁹ - те са одобрени от FDA и EMA за терапия на неоперабилен или метастати-

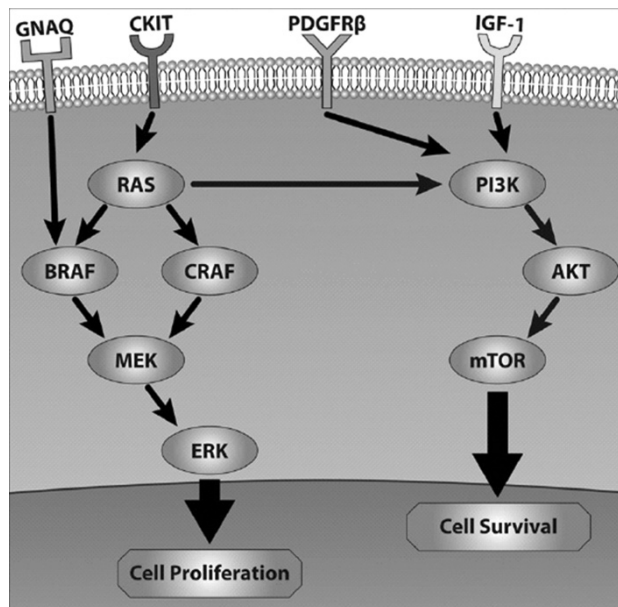
чен КМ с BRAFV600-мутация. *Trametinib* е MEK-инхибитор, постигнал подобрена преживяемост без прогресия (4.8 срещу 1.5 месеца) в сравнение с химиотерапия във фаза III рандомизирано проучване⁴ и е изследван като комбинирана терапия с *dabrafenib*. В началото на 2014 г. FDA одобри комбинацията от *dabrafenib* и *trametinib* за терапия на неоперабилен или метастатичен меланом с BRAFV600E- или V600K-мутация.

Паралелно със създаването на BRAF- и MEK-инхибиторите, имунотерапията напредна също отбеляза напредък. *Ipilimumab* е човешко IgG1-моноклонално антитяло, което блокира цитотоксичния Т-лимфоцитен антиген-4 (CTLA-4); агентът е одобрен за лечение на метастатичен КМ, тъй като постигна статистически значимо подобряване на общата преживяемост в две различни фаза III рандомизирани проучвания.^{5,6} *Nivolumab* и *pembrolizumab* са моноклонални антитела срещу PD-1 (programmed cell death-1), който инхибира Т-клетките, насочени срещу меланомни антигени; и двете показаха обещаваща клинична активност и ефект.

Сигнални пътища при меланом

Меланомът е неопластична болест, резултат от малигна трансформация на нормални меланоцити. Трансформирането им в малигнен меланом включва взаимодействия между генетични фактори, излагане на ултравиолетови (УВ) лъчи и туморната среда. Често се счита за един от най-агресивните и резистентни на лечение тумори. Меланоцитните пролиферации използват най-често MAPK- и PI3K/AKT-сигналните пътища за своя растеж и оцеляване (Фиг. 1).

Път на митоген-активирана протеинкиназа (MAPK). Физиологично се активира чрез свързване на екстрацелуларни сигнали с когнитивния им мембранен ре-



Фигура 1. MAPK и AKT са двата доминиращи сигнални пътя при меланом; регулират клетъчната пролиферация и оцеляване. MAPK-пътят води до увеличаване на клетъчната пролиферация, а AKT-пътят води до инхибиране на апоптоза и увеличено оцеляване. BRAF-димеризирането и активацията се подпомагат от RAS. ERK обикновено дава негативна обратна връзка. BRAFV600E-мутацията конститутивно активира киназата, което води до увеличена пролиферация (адаптирана от J. R. Bradish et al., *Human Pathology* 2014; 45: 1315-1326).

цептор, обикновено рецептор-тирозинкиназа (RTK). RAF-киназите са компоненти на този сигнален път и тяхното активиране изисква формиране на димери, което се подпомага от активирането на RAS. Активираните RAF-кинази фосфорилират и активират MEK1/2, който на свой ред фосфорилира и активира ERK1/2 и резултатът е клетъчна пролиферация, оцеляване и диференциация.¹⁰

Около 50% от меланомите имат активираща мутация в BRAF; най-разпространената е BRAFV600E⁹, която прави киназата конститутивно активна. BRAF-инхибиторите инхибират ERK-сигнализирането само в BRAF-мутирани тумори. При клетки с див тип (WT) BRAF и CRAF правят хомо- и хе-

теродимери при активация на RAS; BRAF-инхибитори, които се свързват с един член от димера, водят до активиране на ERK. Това се усилва при свръхекспресия на RAS, защото той подпомага RAF-димеризацията.¹¹ Всъщност повечето кожни тумори, които се развиват при пациенти, лекувани с BRAF-инхибитори, имат RAS-мутации.¹²

PI3K/АКТ/mTOR-сигнален път. Той е ключов регулатор на клетъчния растеж и протеинов синтез.^{13, 14} MAPK-сигналния път взаимодейства с PI3K/АКТ/mTOR-пътя на много места (напр. RAS директно активира PI3K) и инхибирането на един сигнален път може да активира друг сигнален път.^{13, 15} Няколко гена в тези пътища са важни при бенигнени и малигнени меланоцитни лезии (Табл. 1). В допълнение, много от мутациите, описани в Табл. 1, са свързани с доминиращ тип меланоцитни лезии.

Таблица 1. Меланомни гени и честота (адаптирана от J. R. Bradish et al., Human Pathology 2014; 45: 1315–1326).

Ген	Честота
BRAF	~ 50% кожни меланоми
NRAS	~ 50% рождени невуси
KIT	~ 25% акрални мукозни CSD меланоми
GNAQ	~ 85% сини невуси ~50% увеални меланоми
PTEN	~ 10% меланоми
NF1	~15% кожни меланоми
CDKN2A	~ 25% кожни меланоми

RAS-RAF-MEK-ERK-сигнален път. Най-често е засегнат от активиращи мутации в сравнение с всички останали.^{16, 17} Много от тези мутации корелират с характеристики на пациента и тумора. Няколко от тези мутирани гени са валидирани при пациенти като терапевтични таргети.

BRAFV600-мутации

Както и другите членове на семейството на RAF-киназите (ARAF, CRAF), BRAF е серин/треонин протеинова киназа. Общата честота на BRAF-мутации при пациенти с КМ е около 40-45%.¹⁸⁻²⁰ Открити са различни BRAFV600-мутации. Най-разпространената е резултат от субституция на валин с глутамин (BRAFV600E) и представлява 70% от детектираните BRAF-мутации.^{12, 14, 19, 21} Мутации, резултат от субституция с лизин (BRAFV600K), са втори по разпространение (~20%), докато други редки субституции включват BRAFV600D и BRAFV600R. *In vitro* изследвания показват, че всички BRAFV600-мутации водят до подчертано увеличена киназна активност на BRAF-протеина (> 200-700 пъти), както и до конститутивна активация на низходящите компоненти на RAS-RAF-MEK-ERK-сигналния път.^{22, 23}

Наличието на BRAFV600-мутации е свързано с определени молекулярни и клинични свойства. Честотата на BRAF-мутациите е 40-50% при КМ, възникващ в райони с периодично излагане на слънце (без BRAFV600K). Честотата на BRAF-мутациите е ниска при акрални (10-15%) и мукозни (~ 5%) и практически липсват при увеални меланоми.²⁴⁻²⁶ Интересен факт е, че BRAFV600-мутации също са намерени до 82% в бенигнени невуси^{27, 28}; това показва вероятна ранна роля в туморното развитие. BRAFV600-мутация е свързана с по-млада възраст при диагноза. Пациенти с метастатичен меланом с BRAFV600K-мутации са по-възрастни при диагноза и е по-вероятно първичният тумор да е възникнал чрез хронично слънчево увреждане (CSD) в сравнение с пациенти с BRAFV600E-мутации.^{29, 30} Наличието на BRAFV600K-мутация се свързва също и с по-късо време от начална диагноза до стадий IV и с по-къса преживяемост след диагноза в стадий IV в сравнение

с BRAFV600E. Доказано е, че BRAFV600K-мутирал КМ показва увеличена склонност да метастазира в мозък и бели дробове.³¹

Значението на точната класификация на КМ, съдържащи BRAF-мутация, се дължи на появата на селективните BRAF-инхибитори, които имат значително увеличан афинитет към мутирания BRAF-протеин. На пациенти, диагностицирани с напреднал стадий (III и IV), се препоръчва тестване за BRAFV600 за правилното използване на BRAF-инхибитор. Доказано е, че BRAF-инхибиторите значително подобряват преживяемостта без болест и общата преживяемост на пациенти с BRAF-мутирал КМ.³² Досега са одобрени три таргетни терапии за пациенти в стадий IV или неоперабилен меланом с BRAF-мутации. *Vemurafenib* и *dabrafenib* са мощни селективни инхибитори на BRAFV600-мутирания протеин. Предклинични изследвания показаха, че и двата агента блокират растеж, оцеляване и активиране на MAPK-сигналния път *in vitro* и *in vivo* при човешки меланомни клетъчни линии с BRAFV600-мутации.³³⁻³⁵ От друга страна, и двата агента активират MAPK-пътя и увеличават растежа *in vitro* и *in vivo* при тестване на клетъчни линии с див тип BRAF-ген, т.е. прилагане на BRAF-инхибитори на пациенти с див тип BRAF-меланомни тумори е вредно.³⁶⁻³⁸ Това доказва, че тестването е съществено за всеки пациент, за който се обсъждат тези агенти.

Trametinib е третата таргетна терапия, одобрена за лечение на пациенти с метастатичен КМ с BRAFV600-мутации. Той е селективен инхибитор на MEK1 и MEK2.³⁹ MEK-киназите регулират извънклетъчната киназа ERK, отговорна за клетъчна пролиферация. BRAFV600E- и V600K-мутациите водят до конститутивна активация на MEK1 и MEK2.⁴⁰

Комбинацията от *dabrafenib* и *trametinib* получи ускорено одобрение за ле-

чение на BRAFV600-мутирал метастатичен меланом през 2014 г. Окончателното одобрение зависи от резултатите в продължаващо фаза III проучване, сравняващо комбинирана терапия с монотерапия *dabrafenib* при пациенти с BRAFV600-метастатичен КМ (NCT01584648).⁴¹

Други BRAF-мутации

In vitro тестване на спектър мутации в BRAF, различни от V600 (BRAFNon-V600), показва, че получените мутирания протеини имат много хетерогенна киназна активност.⁴² Някои BRAFNon-V600-мутации имат много слабо увеличена киназна активност, докато други намаляват каталитичната активност на BRAF-протеина. Изглежда, че тези мутации все още водят до увеличено RAS-RAF-MEK-ERK-сигнализиране, дължащо се на увеличено формиране на димери от мутантните BRAF-протеини с други RAF-кинази (напр. CRAF).^{42, 43} За разлика от BRAFV600-мутациите, меланоми с BRAFNon-V600-мутации често имат едновременно активирани NRAS-мутации.^{44, 45} Други изследвания установяват, че меланомни клетъчни линии с BRAFNon-V600-мутации са чувствителни на MEK-инхибитори.⁴⁶ Драматична и дълготрайна чувствителност към MEK-инхибитори е докладвана при двама пациенти с BRAFL597-мутации при клинични проучвания в ранна фаза на MEK-инхибиторите *TAK-733* и *trametinib*.^{46, 47}

Освен мутации, бяха идентифицирани и няколко генни сливания (фузии) на BRAF при меланом.⁴⁸ Те са открити в тумори без BRAFV600- и NRAS-мутации; общо около 8% такива „див-тип“ тумори имат BRAF-пренареждания. Експресията на една от BRAF-фузиите води до увеличено активиране на MAPK-сигналния път, което е чувствително към *trametinib* (MEKi), но не към *vemurafenib* (BRAFi).⁴⁹

NRAS

RAS-гените (*HRAS*, *KRAS* и *NRAS*) кодират малки GTP-ази, които обикновено задействат активиране на RAS-RAF-МЕК-ERK-каскадата.⁵⁰ NRAS-мутации са открити в около 20% от кожни, в 10% – в акрални и в 5-13% – в мукозни меланоми.^{26, 51-53} Ретроспективни анализи показват, че присъствието на NRAS-мутация е свързана с по-напреднала възраст при диагноза, локализация на първичния тумор на крайниците и нодуларна хистология.^{45, 55, 56} За разлика от BRAFV600-мутации, наличието на NRAS-активираща мутация води до по-късо време за далечни метастази и по-къса преживяемост след начална диагноза.⁵⁷ Създаването на ефективни терапевтични стратегии за NRAS-мутирали меланоми е приоритет и все още нерешен проблем. МЕК-инхибитори са обещаващи при този молекулярен меланомен субтип. Известно е, че увеличено MAPK-сигнализиране и checkpoint-дерегулация на клетъчния цикъл са чести при NRAS-мутирали КМ. Затова и едновременното инхибиране на МЕК и CDK4/6 ще блокира още по-ефективно активирането на тези сигнални пътища.⁵⁸

Множество клинични проучвания са започнати за тестване на CDK4-инхибитори, като самостоятелен агент и в комбинация с МЕК-инхибитори, при NRAS-мутирал КМ (NCT01781572, NCT01037790, NCT01820364, www.clinicaltrials.gov).⁵⁹ Наличието на BRAF- или NRAS-мутации увеличава риска от развитие на мозъчни метастази при начална диагноза. PTEN-мутациите (загуба на експресия на туморсупресора PTEN) са взаимноизключващи се с NRAS-мутации; свързват се с BRAFV600-мутации и BRAF/NRAS-див тип тумори и са предиктивни за по-къса преживяемост и по-късо време до мозъчни метастази.⁶⁰

KIT-мутации и амплификации

Генът с-KIT кодира рецептор тирозин-киназа, която активира множество сигнални пътища, вкл. RAS-RAF-МЕК-ERK и PI3K-AKT-каскадите.⁶¹ KIT често има роля в патогенезата на меланом. Соматични мутации в с-KIT има главно в мукозен меланом, но са намерени и в CSD кожни и акрални меланоми.^{62, 63-67} Най-честите мутации са KITL576P (екзон 11) и KITK642E (екзон 13). Идентифицирани са и много други мутации, но често само в индивидуални пациенти.⁶⁸ Генни амплификации при див тип и с-KIT-мутантни алели също са идентифицирани при същите меланомни субтипове, където мутациите са чести.

KIT-инхибитори са стандартни терапии при други болести с чести с-KIT-мутации, като гастроинтестинални стромални тумори (GIST). Мутациите, детектирани при меланоми, предимно засягат същите екзони, които често мутират при GIST. с-KIT-мутационният статус не е идентифициран като независим предиктор за време до метастазирание или преживяемост при пациенти с метастази.⁶⁹ Голям брой случаи показват, че пациенти с метастатичен КМ имат драматично и продължително повлияване с KIT-инхибитори.⁷⁰ Молекулярно тестване за с-KIT-мутации може да идентифицира пациенти с по-голям шанс за отговор към KIT-инхибитори, но методите за тестване все още се оптимизират.

MEK1/2-мутации

Серин/треонин-киназите MEK1 и MEK2 предават сигнали надолу (downstream) от RAF-протеините. Чрез секвениране са идентифицирани мутации в MEK1/2 при около 6% от КМ.^{16, 17, 54, 71} Някои от MEK1-мутациите са силно активиращи и могат да доведат до резистентност към BRAF- и

МЕК-инхибитори.⁷² Други мутации обаче бяха детектирани при меланоми, заедно с BRAFV600-мутации, при пациенти, повлияли се от *vemurafenib*.^{73, 74} Така функционалното значение на MEK1/2-мутациите е вероятно хетерогенно, сходно със съществуващите данни за BRAFNon-V600-мутациите. Поради относително скорошното им откриване и ниска честота засега има много малко информация за демографията, туморните свойства и клиничния изход при тях.

Мутации в PI3K/АКТ-сигнален път

PI3K/АКТ-сигналният път вероятно е критичен за резистентност (с участието на RTKs) към инхибитори на RAS-RAF-МЕК-ERK-сигналният път.⁷⁵ Има много групи инхибитори, таргетиращи различни ефектори в този път.⁷⁶⁻⁸¹ Предклинични изследвания демонстрират корелация на различни генетични промени в сигналният път с чувствителност към специфичен клас агенти. Например, загуба на PTEN води до чувствителност към АКТ-инхибитори и специфични PI3K-инхибитори.⁸²

Механизми на резистентност към BRAF-инхибитори

Малка част от пациентите с BRAF-мутирал КМ не претърпяват туморна регресия след терапия с инхибитори на BRAF и МЕК. Механизмите на тази първична резистентност не са напълно изяснени, въпреки че се свързват с амплификация на регулатора на клетъчния цикъл cyclin D1, загуба на туморсупресорния ген PTEN и стромалната продукция на хепатоцитния растежен фактор.⁸³⁻⁸⁵ Освен това, независимо от високата честота на първоначални регресии с BRAF- и МЕК-инхибитори (приложени самостоятелно

или в комбинация) при BRAF-мутирал меланом, евентуалната прогресия при повечето пациенти е сериозна. Механизмите на придобита или вторична резистентност са добре характеризирани и класифицирани като МЕК-зависими и МЕК-независими.⁸⁶⁻⁸⁸ МЕК-зависимите механизми включват реактивация на ERK-MAP-киназното сигнализиране (заради гъвкава смяна между RAF-изоформите)⁷⁸, димеризация на аберантно свързани варианти на BRAFV600E⁸⁹, амплификация на BRAFV600E⁹⁰, активиращи мутации в NRAS⁹¹, увеличена експресия на COT като алтернативен активатор на MEK⁹² или активиращи мутации в MEK⁹³. МЕК-независимите механизми се представят от активиране на алтернативни сигнални пътища, като увеличено PDGFR- β -сигнализиране⁹¹ или активиране на фосфоинозитол-3-киназия (PI3K/АКТ) сигнален път чрез увеличени нива на рецептора на инсулиновия растежен фактор (IGFR1)⁷⁸. Цялостно разбиране на тези разнообразни механизми на резистентност е критично за по-нататъшното развитие на комбинирани стратегии и за индивидуализиране на терапията при пациенти с BRAF-мутирал КМ.

Както беше споменато, досега три орални таргетни терапии, инхибиращи мутирали BRAF- или МЕК-кинази, са одобрени от FDA и са доказани като ефективни терапии за пациенти с BRAF-мутирал метастатичен КМ: *vemurafenib*, *dabrafenib* и *trametinib* (като последните две са одобрени и като монотерапии, и като BRAF-МЕК-инхибиторна комбинация (*dabrafenib/trametinib*)). Честотата на началния отговор от около 50% при монотерапия с BRAF-инхибитори (със средна продължителност на отговора от 6-7 месеца) бе значително подобрена до около 60-70% (със средна продължителност на отговора от 9 месеца) с комбинацията от BRAF- и МЕК-ин-

хибитор.^{94, 95} Обезсърчаващ е фактът, че в крайна сметка се развива резистентност при по-голямата част от пациентите, лекувани с тези таргетни агенти. Понастоящем се изследват и разработват стратегии за преодоляване на този проблем, като оптимизиране инхибирането на MAPK-сигналния път (таргетиране на ERK и CDK4/6 като монотерапии и в комбинация) и използване на комбинации, които таргетират алтернативни пътища, способстващи за резистентност (PI3K/AKT). Друга обещаваща стратегия е комбиниране на таргетна с имунотерапия (вкл. *interferon*, *IL-2*, anti-CTLA-4, anti-PD-1/PD-L1); тази стратегия се базира на хипотезата, че високата честота на отговор при BRAF/MEK-инхибиторите може да бъде трансформирана във висока честота на продължителен отговор с имунотерапия. В ход са вече изследвания на комбинация с горепосочените имунотерапевтични агенти.⁹⁶

Молекулярното тестване на кожен меланом за таргетни терапии и клинични проучвания е вече рутинна практика при грижите за пациентите.

Тестване за BRAF-мутации

Молекулярното тестване на КМ за таргетни терапии и клинични проучвания е вече рутинна практика при грижите за пациентите. Тестването за BRAF-мутации е необходимо преди вземане на решение за терапия с *vemurafenib*, *dabrafenib* и *trametinib*. Всички тези лекарства са показали активност и са одобрени само за пациенти с BRAFV600-мутирал меланом. Използването на BRAF-инхибитори при BRAF-див тип може да доведе до парадоксалното активиране на MEK-ERK пътя, особено ако вече има активатор (като RAS-мутация) в клетките.⁹⁷ Значителна част (~ 10-30%) от BRAFV600-мутиралите меланомни тумори имат други

BRAFV600-активиращи мутации, най-често BRAFV600K и по-рядко – V600D или V600R. Важно е, че ефективността на BRAF- и MEK-инхибиторите изглежда се запазва при пациенти с BRAF V600K.⁹⁸⁻¹⁰⁰ За точна молекулярна диагноза при меланомни пациенти е важна адекватна проба от туморна тъкан, обработка на пробата, туморна хетерогенност и характеристики на диагностичния метод.

Съществуват различни методи за тестване на BRAF-мутации: Sanger-секвениране, пиросеквениране, мутационно-специфичен RT PCR, имунохистохимия с VE1-антитяло, специфично за V600E-мутирал BRAF и др. *Vemurafenib* е одобрен от FDA за пациенти с BRAF-мутации, детектирани с CE IVD Cobas® 4800 BRAFV600-мутационен тест (Roche Molecular Systems Inc.), като придружаваща диагностика, а *dabrafenib* и *trametinib* са одобрени с придружаващ тест THxID™ BRAF кит (bioMérieux, Inc.). Cobas® 4800 BRAFV600 Mutation Test е RT PCR-тест, планиран за качествена детекция на BRAFV600E-мутация специално в ДНК, екстрахирана от формалин-фиксирана тъкан, включена в парафин. Този тест детектира също и V600K- и V600D-мутации, но с по-ниски чувствителност и лимит на детекция и не може да отдиференцира различните мутации. Все пак Cobas има много ниска честота на грешки.^{101, 102} THxID™ BRAF Kit е IVD RT PCR-тест, планиран за качествена детекция на BRAFV600E- и V600K-мутации в проби ДНК, екстрахирана от формалин фиксирана тъкан, включена в парафин.¹⁰³ Параметри, които могат да увеличат честотата на грешки, са лоша фиксация на пробите, високо ниво на пигментация и остаряване на парафиновите блокчета. Друг важен параметър за точност на резултата е процентът на туморни клетки в пробата, който е хубаво да е висок.

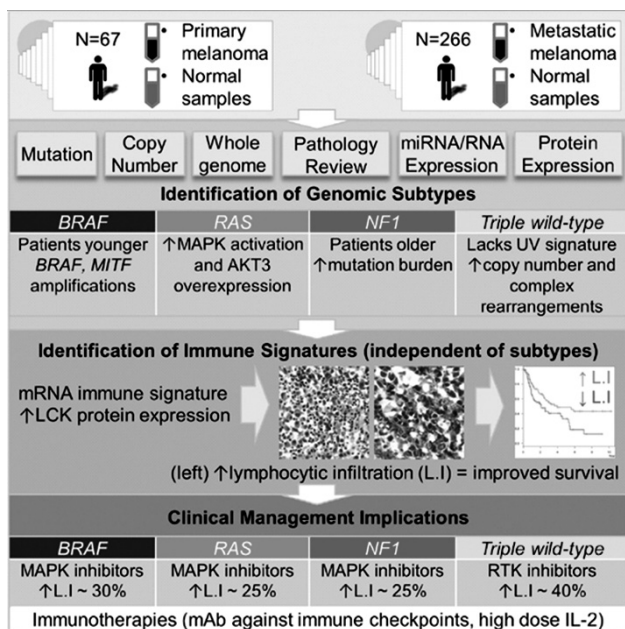
Най-нови разработки

Мутационна дихотомия при десмопластичен меланом (ДПМ). Десмопластичните меланоми са < 4% от КМ и има тенденция да се появяват в авансирал стадий на болестта. Клинично често се свързват с лентиго малигна. При сравняване с конвенционален КМ с идентична дебелина ДПМ е с намалена честота на лимфни метастази, по-висока честота на рецидивни и склонност към хематогенно разпространение в бели дробове. Това е отделен меланомен вид, хистологично типизиран в смесена и чиста форми. Субкласификацията му в чист и смесен тип е клинично значима и отразява различни генетични схеми. Има доказателства, че активиращи BRAF-, NRAS- и KIT-мутации липсват при чистия тип ДПМ. *SW Jahn et al.*, 2015, провеждат изследване за установяване на алтернативни активиращи мутации в ДПМ, отговорни за развитие на тумора и потенциално податливи на терапевтична интервенция. Получени са данни от 21 десмопластични малигнени меланом (12 чист тип и 9 смесен тип) чрез следваща генерация ампликоново секвениране (генетично панелно тестване) за активиращи мутации в 50 туморни гена (IonAmpliSeq Cancer Hotspot Panel v.2 (Thermo Fisher Scientific)). Резултатите при чистите ДПМ показват липса на мутации (50%) или наличие на мутации в тумор-супресорни гени (TP53, CDKN2A и SMAD4), поединично или в комбинация. Резултатите при смесените ДПМ са много различни, като 89% са често мутирали, а 67% имат активиращи мутации, сходни на разпространените кожни меланоми (BRAFV600 E и R, NRAS, FGFR2 и ERBB2). Клинично ДПМ, като цяло, е свързан с добра прогноза и значително намалена честота на лимфни метастази – прогностично предимство за чистия тип; това корелира добре с молекулярните резултати от разгледаното изследване, като показва

присъствие на активиращи мутации в огромната част от смесени ДПМ и липсата им при чисти ДПМ, както и демонстрира значението на субтипизирането им на чисти и смесени от молекулярна перспектива. Чистият тип е подгрупа, която се нуждае от по-нататъшни изследвания по отношение на допълнителни молекулярни активиращи механизми и геномен анализ за изясняване на онкогенните промени, развиващи туморен растеж.¹⁰⁴

Геномна класификация на кожен меланом – TCGA. Интегриран анализ на КМ установява структура за геномна класификация на четири субтипа, които могат да насочват към клинични решения за таргетни терапии. Една подгрупа от всеки геномен клас експресира имунни инфилтрационни маркери, свързани с подобрена преживяемост, и има потенциал за приложение при имунотерапия. Субкласификацията представлява най-мощният интегриран анализ на КМ (331 пациенти), установява основа за геномна класификация (BRAF, RAS, NF1, и троен див тип), идентифицира допълнителни субтипове, които имат полза от MAPK- и RTK- таргетни терапии, и идентифицира имунни сигнатури, свързани с подобрена преживяемост (Фиг. 2).

Детайлното характеризирание на биологичните основи на КМ е най-новото изследване на голям екип учени от консорциума The Cancer Genome Atlas – мултинационална кампания за създаване на атлас на генетични и епигенетични промени, инициращи различни тумори. Изследването усъвършенства и открива молекулярни подгрупи пациенти, които биха могли да имат потенциална полза от таргетни терапии, на базата на тяхната туморна генетика и помага за изясняване ролята на имунната система при меланом. За осъществяване на изследването, най-голямо досега за КМ, са събрани проби от 331 пациенти и са използ-



Фигура 2. Графично резюме на TCGA-геномна субкласификация на кожен меланом.

вани няколко молекулярни методологии. Идентифицирани са четири геномни субтипа меланом, базирани на мутации. Две подгрупи са дефинирани чрез мутации, които са чести при меланом – мутации в *BRAF*- и *RAS*-гените. От предишна хетерогенна група, в която липсват тези мутации, се появи една потенциално клинично значима подгрупа, характеризирана чрез инактивиращи мутации в ген, наречен *NF1*. Пациентите в тази *NF1*-мутирала група, съставляваща около 14% от цялата популация в изследването, са значително по-възрастни и туморите им имат значително повече мутации. Този извод ще допринесе за нови изследвания на таргетни стратегии и може би – за използване на вече одобрени терапии. Предклинични изследвания вече показаха, че някои *NF1*-мутирала клетъчни линии са чувствителни към МЕК-инхибитори, но е необходима още работа.

Четвъртата подгрупа е дефинирана от пациенти, при които липсват *BRAF*-, *RAS*- или *NF1*-мутации. Те не са с висока мута-

ционна честота, но имат някои мутации с ниска честота в гени като *сKIT* и значително повече промени в броя копия. Пробите от тази подгрупа имат нисък процент (30%) ултравиолетов тип мутационни сигнатури, докато пробите от всички останали подгрупи имат повече от 90% от тях.

Показано е също значението на телесния имунен отговор при КМ. При анализ на данни от РНК-експресия излиза, че 51% от пациентите имат високи нива на експресия на гени предимно от имунни клетки; при регионална метастатична болест тази група показва по-добра обща преживяемост отколкото пациенти със сходен стадий, но без висока експресия на имунни гени. Изводът има приложение за имунотерапия, която работи чрез освобождаване на имунния отговор към болестта. Друг извод, свързан с имунитета, е, че протеин *PD-L1*, използван за предсказване на отговора към на имунните checkpoint-инхибитори, може да бъде свръхекспресиран при меланомни клетки по генетични причини. Намерена е амплификация на *PD-L1*-гена особено при хора с *BRAFV600*-мутации. Този извод обяснява защо тестът за измерване само на *PD-L1*-експресия не е достатъчен за предсказване на отговори към *PD1/PD-L1*-таргетни терапии.¹⁰⁵

Изясняването на биологията на меланом доведе до идентифициране на терапевтични таргети и създаване на ефективни терапии. Очаква се, че продължаващите лабораторни и транслационни изследвания за описване на взаимодействия между молекулярна биология, имунология и меланом, ще доведат до прогрес и най-после – до трансформативни терапии.

Заклучение

Меланомът е агресивен и терапевтично резистентен кожен малигнен тумор, произхождащ от меланоцити. Мутации в онко-

гени (*BRAF*, *NRAS*, *SKIT*, *GNAQ* и *GNA11*) и един тумор-супресорен ген *NF1* са налични в по-голямата част от меланомите, въпреки че честотата на всеки тип мутация варира по анатомично място (напр. мукозни, кожни, увеални). МАРК-сигналният път е свръхактивиран в почти всички меланоми и е чувствителен на инхибиране с малки молекули. Взаимодействията между МАРК-сигналния път и експресията на туморни антигени и имунната инфилтрация предсказват терапевтична синергия с комбинирано молекулярно и имунно таргетиране.

ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64 (1): 9-29.
2. McArthur GA, Chapman PB, Robert C, et al. Safety and efficacy of vemurafenib in BRAFV600E and BRAFV600K mutation-positive melanoma (BRIM-3): extended follow-up of a phase 3, randomised, open-label study. *Lancet Oncol* 2014; 15 (3): 323-332.
3. Hauschild A, Grob J-J, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 380 (9839): 358-365.
4. Flaherty KT, Robert C, Hersey P, et al. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2012; 367 (2): 107-114.
5. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with Ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363 (8): 711-723.
6. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus Dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2011; 364 (26): 2517-2526.
7. Topalian SL, Sznol M, McDermott DF, et al. Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving Nivolumab. *J Clin Oncol* 2014; 32 (10): 1020-1030.
8. Hamid O, Robert C, Daud A, et al. Safety and tumor responses with LAMBROLIZUMAB (Anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med* 2013; 369 (2): 134-144.
9. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417 (6892): 949-954.
10. Lito P, Rosen N, Solit DB. Tumor adaptation and resistance to RAF inhibitors. *Nat Med* 2013; 19 (11): 1401-1409.
11. Poulidakos PI, Zhang C, Bollag G, Shokat KM, Rosen N. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature* 2010; 464 (7287): 427-430.
12. Su F, Viros A, Milagre C, et al. RAS mutations in cutaneous squamous-cell carcinomas in patients treated with BRAF inhibitors. *N Engl J Med* 2012; 366 (3): 207-215.
13. Mendoza MC, Er EE, Blenis J. The Ras-ERK and PI3K-mTOR pathways: cross-talk and compensation. *Trends Biochem Sci* 2011; 36 (6): 320-328.
14. Britten CD. PI3K and MEK inhibitor combinations: examining the evidence in selected tumor types. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71 (6): 1395-1409.
15. Sánchez-Hernández I, Baquero P, Calleros L, Chiloeches A. Dual inhibition of V600EBRAF and the PI3K/AKT/mTOR pathway cooperates to induce apoptosis in melanoma cells through a MEK-independent mechanism. *Cancer Lett* 2012; 314 (2): 244-255.
16. Krauthammer M, Kong Y, Ha BH, et al. Exome sequencing identifies recurrent somatic RAC1 mutations in melanoma. *Nat Genet* 2012; 44: 1006-1014.
17. Hodis E, Watson IR, Kryukov GV, et al. A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell* 2012; 150: 251-63.
18. Hocker T, Tsao H. Ultraviolet radiation and melanoma: a systematic review and analysis of reported sequence variants. *Hum Mutat* 2007; 28: 578-588.
19. Jakob JA, Bassett RL, Ng CS, et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer* 2012; 118: 4014-4023.
20. Lee JH, Choi JW, Kim YS. Frequencies of BRAF and NRAS mutations are different in histological types and sites of origin of cutaneous melanoma: a meta-analysis. *Br J Dermatol* 2011; 164: 776-784.
21. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1239-1246.

22. Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell* 2004; 116: 855-867.
23. Garnett MJ, Rana S, Paterson H, et al. Wild-type and mutant B-RAF activate C-RAF through distinct mechanisms involving heterodimerization. *Mol Cell* 2005; 20: 963-969.
24. Greaves WO, Verma S, Patel KP, et al. Frequency and spectrum of BRAF mutations in a retrospective, single-institution study of 1112 cases of melanoma. *J Mol Diagn* 2013; 15: 220-226.
25. Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, et al. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature* 2009; 457: 599-602.
26. Wong CW, Fan YS, Chan TL, et al. BRAF and NRAS mutations are uncommon in melanomas arising in diverse internal organs. *J Clin Pathol* 2005; 58: 640-644.
27. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet* 2003; 33: 19-20.
28. Yeh I, von Deimling A, Bastian BC. Clonal BRAF mutations in melanocytic nevi and initiating role of BRAF in melanocytic neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: 917-919.
29. Menzies AM, Haydu LE, Visintin L, et al. Distinguishing clinicopathologic features of patients with V600E and V600K BRAF-mutant metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 3242-3249.
30. Bucheit AD, Syklawer E, Jakob JA, et al. Clinical characteristics and outcomes with specific BRAF and NRAS mutations in patients with metastatic melanoma. *Cancer* 2013; 119: 3821-3829.
31. El-Osta H, Falchook G, Tsimberidou A, et al. BRAF mutations in advanced cancers: clinical characteristics and outcomes. *PLoS One* 2011; 6 (10): e25806.
32. Grimaldi AM, Cassidy PB, Leachmann S, et al. Novel approaches in melanoma prevention and therapy. *Cancer Treat Res* 2014; 159: 443-455.
33. Dienstmann R, Tabernero J. BRAF as a target for cancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem* 2011; 11: 285-295.
34. Tap WD, Gong KW, Dering J, et al. Pharmacodynamic characterization of the efficacy signals due to selective BRAF inhibition with PLX4032 in malignant melanoma. *Neoplasia* 2010; 12: 637-649.
35. Ribas A, Flaherty KT. BRAF targeted therapy changes the treatment paradigm in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 426-433.
36. Poulidakos PI, Zhang C, Bollag G, et al. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature* 2010; 464: 427-430.
37. Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature* 2010; 464: 431-435.
38. Halaban R, Zhang W, Bacchicchi A, et al. PLX4032, a selective BRAF(V600E) kinase inhibitor, activates the ERK pathway and enhances cell migration and proliferation of BRAF melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; 23: 190-200.
39. GlaxoSmithKline. Mekinist (trametinib) tablets prescribing information, January 2014. <http://www.mekinist.com/>. Accessed November, 2014.
40. Rubinstein JC, Sznol M, Pavlick AC, et al. Incidence of the V600K mutation among melanoma patients with BRAF mutations, and potential therapeutic response to the specific BRAF inhibitor PLX4032. *J Transl Med* 2010; 8: 67.
41. Schadendorf, D et al. Health-related quality of life impact in a randomised phase III study of the combination of dabrafenib and trametinib versus dabrafenib monotherapy in patients with BRAF V600 metastatic melanoma. *Eur J Cancer* 2015; 51 (7): 833-840.
42. Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell* 2004; 116: 855-867.
43. Garnett MJ, Marais R. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. *Cancer Cell* 2004; 6: 313-319.
44. Goel VK, Lazar AJ, Warneke CL, et al. Examination of mutations in BRAF, NRAS, and PTEN in primary cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 154-160.
45. Jakob JA, Bassett RL Jr, Ng CS, et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer* 2012; 118: 4014-4023.
46. Dahlman KB, Xia J, Hutchinson K, et al. BRAF(L597) mutations in melanoma are associated with sensitivity to MEK inhibitors. *Cancer Discov* 2012; 2: 791-797.
47. Falchook GS, Lewis KD, Infante JR, et al. Activity of the oral MEK inhibitor trametinib in patients with advanced melanoma: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol* 2012; 13: 782-789.

48. Palanisamy N, Ateeq B, Kalyana-Sundaram S, et al. Rearrangements of the RAF kinase pathway in prostate cancer, gastric cancer and melanoma. *Nat Med* 2010; 16: 793-798.
49. Hutchinson KE, Lipson D, Stephens PJ, et al. BRAF fusions define a distinct molecular subset of melanomas with potential sensitivity to MEK inhibition. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 6696-6702.
50. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005; 353: 2135-2147.
51. Devitt B, Liu W, Salemi R, et al. Clinical outcome and pathological features associated with NRAS mutation in cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2011; 24: 666-672.
52. Colombino M, Capone M, Lissia A, et al. BRAF/NRAS mutation frequencies among primary tumors and metastases in patients with melanoma. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2522-2529.
53. Yeh I, Bastian BC. Genome-wide associations studies for melanoma and nevi. *Pigment Cell Melanoma Res* 2009; 22: 527-528.
54. Bauer J, Curtin JA, Pinkel D, et al. Congenital melanocytic nevi frequently harbor NRAS mutations but no BRAF mutations. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 179-182.
55. Ekedahl H, Cirenajwis H, Harbst K, et al. The clinical significance of BRAF and NRAS mutations in a clinic-based metastatic melanoma cohort. *Br J Dermatol* 2013; 169: 1049-1055.
56. Ellerhorst JA, Greene VR, Ekmekcioglu S, et al. Clinical correlates of NRAS and BRAF mutations in primary human melanoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 229-235.
58. Kwong LN, Costello JC, Liu H, et al. Oncogenic NRAS signaling differentially regulates survival and proliferation in melanoma. *Nat Med* 2012; 18: 1503-1510.
59. Sheppard KE, McArthur GA. The cell-cycle regulator CDK4: an emerging therapeutic target in melanoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 5320-5328.
60. Sangeetha Ramanujam et al; Systemic therapies for melanoma brain metastases: which drug for whom and when?; *Chin Clin Oncol* 2015; 4 (2): 1-13.
61. Lennartsson J, Jelacic T, Linnekin D, et al. Normal and oncogenic forms of the receptor tyrosine kinase kit. *Stem Cells* 2005; 23: 16-43.
62. Handolias D, Salemi R, Murray W, et al. Mutations in KIT occur at low frequency in melanomas arising from anatomical sites associated with chronic and intermittent sun exposure. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; 23: 210-215.
63. Kong Y, Si L, Zhu Y, et al. Large-scale analysis of KIT aberrations in Chinese patients with melanoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1684-1691.
64. Abu-Abed S, Pennell N, Petrella T, et al. KIT gene mutations and patterns of protein expression in mucosal and acral melanoma. *J Cutan Med Surg* 2012; 16: 135-142.
65. Papaspyrou G, Garbe C, Schadendorf D, et al. Mucosal melanomas of the head and neck: new aspects of the clinical outcome, molecular pathology, and treatment with c-kit inhibitors. *Melanoma Res* 2011; 21: 475-482.
66. Abysheva SN, Iyevleva AG, Efimova NV, et al. KIT mutations in Russian patients with mucosal melanoma. *Melanoma Res* 2011; 21: 555-559.
67. Zebary A, Omholt K, Vassilaki I, et al. KIT, NRAS, BRAF and PTEN mutations in a sample of Swedish patients with acral lentiginous melanoma. *J Dermatol Sci* 2013; 72: 284-289.
68. Monsel G, Ortonne N, Bagot M, et al. c-Kit mutants require hypoxia-inducible factor 1alpha to transform melanocytes. *Oncogene* 2010; 29: 227-236.
69. Roth KG, Zabor EC, Colgan MN, et al. Prognostic implication of KIT mutations in melanoma. *J Clin Oncol* 2013; 31: Abstr. 9049.
70. Woodman SE, Davies MA. Targeting KIT in melanoma: a paradigm of molecular medicine and targeted therapeutics. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 568-574.
71. Nikolaev SI, Rimoldi D, Iseli C, et al. Exome sequencing identifies recurrent somatic MAP2K1 and MAP2K2 mutations in melanoma. *Nat Genet* 2012; 44: 133-139.
72. Emery CM, Vijayendran KG, Zipser MC, et al. MEK1 mutations confer resistance to MEK and B-RAF inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 20411-20416.
73. Shi H, Moriceau G, Kong X, et al. Preexisting MEK1 exon 3 mutations in V600E/KBRAF melanomas do not confer resistance to BRAF inhibitors. *Cancer Discov* 2012; 2: 414-424

74. Trunzer K, Pavlick AC, Schuchter L, et al. Pharmacodynamic effects and mechanisms of resistance to vemurafenib in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1767-1774.
75. Paraiso KH, Smalley KS. Making sense of MEK1 mutations in intrinsic and acquired BRAF inhibitor resistance. *Cancer Discov* 2012; 2: 390-392.
76. Atefi M, von Euw E, Attar N, et al. Reversing melanoma cross-resistance to BRAF and MEK inhibitors by co-targeting the AKT/mTOR pathway. *PLoS One* 2011; 6: e28973.
77. Shull AY, Latham-Schwark A, Ramasamy P, et al. Novel somatic mutations to PI3K pathway genes in metastatic melanoma. *PLoS One* 2012; 7: e43369.
78. Villanueva J, Vultur A, Lee JT, et al. Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and IGF-1R/PI3K. *Cancer Cell* 2010; 18: 683-695.
79. Greger JG, Eastman SD, Zhang V, et al. Combinations of BRAF, MEK, and PI3K/mTOR inhibitors overcome acquired resistance to the BRAF inhibitor GSK2118436 dabrafenib, mediated by NRAS or MEK mutations. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 909-920.
80. Kwong LN, Davies MA. Targeted therapy for melanoma: rational combinatorial approaches. *Oncogene* 2014; 33: 1-9.
81. Davies MA, Samuels Y. Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma. *Oncogene* 2010; 29: 5545-5555.
82. Kwong LN, Davies MA. Navigating the therapeutic complexity of PI3K pathway inhibition in melanoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 5310-5319.
83. Paraiso KHT, Xiang Y, Rebecca VW, et al. PTEN loss confers BRAF inhibitor resistance to melanoma cells through the suppression of BIM expression. *Cancer Res* 2011; 71: 2750-2760.
84. Smalley KS, Lioni M, Dalla Palma M, et al. Increased cyclin D1 expression can mediate BRAF inhibitor resistance in BRAF V600E-mutated melanomas. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2876-2883.
85. Straussman R, Morikawa T, Shee K, et al. Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature* 2012; 487: 500-504.
86. Salama AK, Flaherty KT. BRAF in melanoma: current strategies and future directions. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 4326-4344.
87. Fedorenko IV, Paraiso KH, Smalley KS. Acquired and intrinsic BRAF inhibitor resistance in BRAF V600E mutant melanoma. *Biochem Pharmacol* 2011; 82: 201-209.
88. Long GV, Fung C, Menzies AM, et al. Increased MAPK reactivation in early resistance to dabrafenib/trametinib combination therapy of BRAF-mutant metastatic melanoma. *Nat Commun* 2014; 5: 5694.
89. Poulidakos PI, Persaud Y, Janakiraman M, et al. RAF inhibitor resistance is mediated by dimerization of aberrantly spliced BRAF(V600E). *Nature* 2011; 480: 387-390.
90. Shi H, Moriceau G, Kong X, et al. Melanoma whole-exome sequencing identifies (V600E)B-RAF amplification-mediated acquired B-RAF inhibitor resistance. *Nat Commun* 2012; 3: 724.
91. Nazarian R, Shi H, Wang Q, et al. Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Nature* 2010; 468: 973-977.
92. Johannessen CM, Boehm JS, Kim SY, et al. COT drives resistance to RAF inhibition through MAP kinase pathway reactivation. *Nature* 2010; 468: 968-972.
93. Wagle N, Emery C, Berger ME, et al. Dissecting therapeutic resistance to RAF inhibition in melanoma by tumor genomic profiling. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3085-3096.
94. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011; 364: 2507-2516.
95. Robert C, Karaszewska B, Schachter J, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *N Engl J Med* 2015; 372: 30-39.
96. Hu-Lieskovan S, Robert L, Homet Moreno B, Ribas A. Combining targeted therapy with immunotherapy in BRAF-mutant melanoma: promise and challenges. *J Clin Oncol* 2014; 32: 2248-2254.
97. Cichowski K, Jänne PA. Drug discovery: inhibitors that activate. *Nature* 2010; 464: 358-359.
98. Rubinstein JC, Sznol M, Pavlick AC, et al. Incidence of the V600K mutation among melanoma patients with BRAF mutations, and potential therapeutic response to the specific BRAF inhibitor PLX4032. *J Transl Med* 2010; 8: 67.

99. McArthur GA, Chapman PB, Robert C, et al. Safety and efficacy of vemurafenib in BRAF(V600E) and BRAF(V600K) mutation-positive melanoma (BRIM-3): extended follow-up of a phase 3, randomised, open-label study. *Lancet Oncol* 2014; 15: 323-332.
100. Larkin J, Ascierto PA, Dreno B, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2014; 371: 1867-1876.
101. Halait H, et al. Analytical performance of a real-time PCR-based assay for V600 mutations in the BRAF gene, used as the companion diagnostic test for the novel BRAF inhibitor vemurafenib in metastatic melanoma. *Diagn Mol Pathol* 2012; 21 (1): 1-8.
102. Anderson S, et al. Multisite analytic performance studies of a realtime polymerase chain reaction assay for the detection of BRAF V600E mutations in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens of malignant melanoma. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136 (11): 1385-1391.
103. Ivan Šamija; Molecular markers for personalized approach to patients with melanoma. *Medical Sciences* 2014; 40: 69-80.
104. Stephan W Jahn et al. Mutational dichotomy in desmoplastic malignant melanoma corroborated by multigene panel analysis. *Mod Pathol* 2015; 28 (7): 895-903.
105. Akbani et al. Genomic classification of cutaneous melanoma. *Cell* 2015; 161: 1681-1696.

**АДЮВАНТНА СИСТЕМНА ТЕРАПИЯ ПРИ КОЖЕН
МЕЛАНОМ – ЗА И ПРОТИВ**

д-р Красимир Койнов

Отделение по медицинска онкология, МБАЛ *Сердика* – София

АДЮВАНТНА СИСТЕМНА ТЕРАПИЯ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ – ЗА И ПРОТИВ

д-р Красимир Койнов

Отделение по медицинска онкология, МБАЛ Сердика – София

ОБЗОР

Пациенти с кожен меланом (КМ) в стадии IIВ-С/III, провели само оперативно лечение, са с висок риск за развитие на рецидив и смърт от болестта. Системната адювантна терапия, насочена към меланомни микрометастази, е показана следоперативно, когато осигурява най-голяма възможност за излекуване преди болестта да рецидивира и да премине в напреднал неоперабилен стадий.

Множество системни терапевтични агенти са изследвани за адювантно лечение на пациенти с КМ, но ползи засега са установени само с приложението на *interferon-alfa*. В рандомизирани клинични проучвания *interferon-alfa* е тестван като част от терапевтични режими в различни дози, продължителност и начин на приложение. Няколко рандомизирани клинични проучвания и три основни мета-анализа демонстрират сигнификантни ползи за преживяемост без рецидив. Ползи по отношение на обща преживяемост са установени само в две от три проучвания на ECOG и US Intergroup, които изследват високи дози *interferon-alfa* за една година в сравнение с наблюдение (E1684) и GMK-вакцина (E1694). CTLA4-блокадата с *ipilimumab* се оценя в адювантно проучване на EORTC 18071, което публикува сигнификантно подобрене на преживяемост без рецидив, и на US Intergroup E1609. В ход са клинични проучвания с адювантно приложение на анти-PD1 антитяло, както и текущи адювантни клинични проучвания, таргетиращи пациенти с BRAF-мутирал КМ с *vemurafenib* и *dabrafenib/trametinib*. Резултатите от тези проучвания се очакват с голям интерес, тъй като могат да променят настоящия лечебен алгоритъм.

Увод

Адювантната терапия е лечение, последващо проведено радикално лечение. Назначава се при пациенти с повишен риск от развитие на бъдещ рецидив на болестта.

Целта на адювантната терапия е да предотврати поява на рецидив или ако това не е възможно, да удължи преживяемостта без рецидив (ПБР). При пациенти с кожен меланом (КМ) се препоръчва като терапевтична възможност в стадии IIВ-III.

Адювантна химиотерапия

Проведени са общо осем рандомизирани клинични проучвания за оценка на адювантна химиотерапия при пациенти с КМ. Две проучвания сравняват приложение на *dacarbazine* спрямо наблюдение^{1,2}, едно проучване сравнява *dacarbazine* с плацебо³, а друго изследва комбинацията на *dacarbazine* с VCG-вакцина спрямо наблюдение⁴. Само едно проучване оценява methyl-CCNU.⁵ Резултатите и в трите проучвания на монотерапия с *dacarbazine* показват липса на сигнификантна разлика по отношение на обща преживяемост (ОП).¹⁻³ Нещо повече, в едно от най-представителните проучвания на Central Oncology Group (USA) се установява по-ниска честота на ОП за пациенти на химиотерапия спрямо тези на наблюдение.¹ Мета-анализ, проведен от CCOPGI и включващ седем рандомизирани проучвания с адювантна химиотерапия, не показва значима разлика по отношение на честотата на смъртността след три години наблюдение (HR 0.94; 95 % CI 0.84–1.06; $p = 0.3$).²⁻⁸ Въз основа на наличните резултати от проведените проспективни рандомизирани проучвания, които не отчитат значими ползи от приложението на адювантен *dacarbazine*, следва изводът, че адювантна химиотерапия с *dacarbazine* не трябва да се прилага при пациенти с КМ.

Друго рандомизирано клинично проучване изследва ефективността на *vindesine* спрямо наблюдение в адювантна терапия на КМ.⁹ За разлика от предишно ретроспективно проучване¹⁰ анализът на получените резултати не показва сигнификантни разлики както по отношение на ПБР, така и по отношение на ОП. Следователно нито една адювантната химиотерапия досега не доказва ползи от приложението ѝ при КМ.

Levamisole

Благодарение на своите имуностимулиращи свойства антихелминтният препа-

рат *levamisole* е проучен в адювантното лечение на пациенти с КМ. Проведени са четири рандомизирани клинични проучвания, от които три са с плацебо рамо. Първото плацебо-контролирано клинично проучване, проведено от *Spitler et al.* при 203 пациенти, не показва ефект за *levamisole* по отношение на преживяемост без болест (ПББ) и ОП, както и за интервала до развитие на висцерални метастази. Продължителното наблюдение на пациентите потвърждава тези резултати.¹¹ Другите две плацебо-контролирани проучвания, съотв. със 156 и 325 пациенти, също показват липса на полза за *levamisole*.^{3,12} Четвърто, не-плацебо-контролирано проучване, проведено от NCIC (National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group) сравнява *levamisole* спрямо *levamisole* + VCG и спрямо наблюдение; след петгодишно проследяване е установена сигнификантна полза за 135 пациенти в рамото с *levamisole* по отношение на ОП (74% срещу 62%; $p = 0.0268$).¹³ Мета-анализ на петгодишните данни за преживяемостта от четирите проучвания не показва значима полза за *levamisole* по отношение на риска от смърт (RR 0.94 [95 % CI 0.75–1.20; $p = 0.6$]).¹⁴

Адювантна терапия с ваксини

Съществува анализ на осем рандомизирани клинични проучвания. Едно проучване оценява приложението на VCG-вакцина плюс алогенна меланомна вакцина спрямо CCNU.⁵ Други четири клинични проучвания изследват различни меланомни ваксини, съдържащи алогенни меланомноклетъчни лизати или облъчени меланомноклетъчни линии. В две от тези проучвания приложението на ваксини се сравнява спрямо наблюдение на пациентите.¹⁵⁻¹⁷ Едно проучване сравнява комбинация от алогенна меланомна вакцина плюс VCG спрямо самостоятелно VCG.¹⁸ Други две проучвания

изследват адювантна ваксина с *ganglioside GM2-KLH21*, като в едното се сравнява спрямо високи дози *interferon-alfa*¹⁹, а в другото – спрямо наблюдение.²⁰ Едно от проучванията, изследващи комбинацията от BCG с алогенна меланомна ваксина, не показва сигнификантна разлика по отношение на ПББ и ОП.⁵ В нито едно от проучванията с меланомно-клетъчни ваксини не са установени значими разлики по отношение на ПББ и ОП.^{5, 15, 21-24} Един подгрупов анализ в проучване SOGT-9035 показва сигнификантно удължаване на ПББ в групата с ваксина за пациентите с експресия на ≥ 2 от 5 HLA клас I молекули. HLA A2 и HLA C3 са ключовите антигени за този значим ефект.¹⁷ Две проучвания¹⁸ с алогенна меланомна ваксина *Canvaxin* не отчитат значимо подобрене на ПББ и ОП в сравнение с BCG-ваксина; изненадващо е отчетена сигнификантно по-ниска обща преживяемост за пациенти, третирани с ваксина.¹⁸ Двете проучвания, изследващи *ganglioside GM2-KLH21*, също не установяват ползи по отношение на ПББ и ОП спрямо високи дози *interferon-alfa*²⁵ или наблюдение.²⁶

В заключение, резултатите от проведените проспективни клинични проучвания с адювантни ваксини не показват сигнификантни ползи в сравнение с нелекувани пациенти или тези, получаващи CCNU, *interferon-alfa* или *IL-2*. Следователно адювантна терапия с ваксини не трябва да се прилага извън рамките на клинични проучвания.

Адювантна изолирана перфузия на крайник

Изолирана перфузия на крайник с цитостатици, най-често провеждана с хипертермия, има две различни индикации: в адювантен аспект след ексцизия на умерено до високо рисков КМ и при нерезектабилни сателитни или *in transit* метастази. Проведени са две фаза III проспективни, рандо-

мизирани клинични проучвания с адювантна хипертермична изолирана перфузия на крайник с препарата *melfhalan*. Сравнително малко немско проучване сравнява пациенти, получаващи регионална лимфна дисекция в комбинация с хипертермична (провеждана при 42° C) изолирана перфузия на крайник спрямо пациенти с широка ексцизия на първичния тумор, последвана от регионална лимфна дисекция. След набиране на 107 пациента и среден период на наблюдение от пет години и единадесет месеца проучването е преустановено поради наличието на 26 рецидива в контролното рамо, но само шест в рамото с перфузия на крайника ($p < 0.001$). Ретроспективен подгрупов анализ показва значими разлики по отношение на ПБР, особено при първични тумори с дебелина над 3 mm (4/28 рецидива (14.3%) в група с перфузии срещу 16/29 (55.2%) в контролна група). Авторите на проучването интерпретират резултатите като ясно доказателство за полза от адювантната хипертермична изолирана перфузия на крайник с *melfhalan* в сравнение със стандартно оперативно лечение.^{27, 28}

През 1998 г. е публикувано голямо проспективно рандомизирано клинично проучване на EORTC-MG (проучване 18832), меланомната група на WHO (проучване 15) и North American Perfusion Group Southwest Oncology Group (проучване 8 593). Включени са пациенти с първичен КМ с дебелина поне 1.5 mm, като в едното рамо е провеждана широка ексцизия на първичния тумор, а в другото – широка ексцизия в комбинация с адювантна хипертермична перфузия на крайника с *melfhalan*. Средната възраст на пациентите е 50 години, 68% от тях са жени и 79% от КМ са локализиранни на долни крайници. Тумор с дълбочина ≥ 3 mm е установен при 47% от пациентите. Средният период на наблюдение към датата на публикуване на резултатите е 6.4 години.

Анализът на резултатите показва тенденция (статистически незначима) към удължаване на ПБР, с малко по-малък брой *in transit* метастази (3.3% срещу 6.6 %) и метастази в регионални лимфни възли (12.6% срещу 16.7%). Не се установяват разлики в интервала до развитие на далечни метастази и по отношение на ОП. Страничните явления са по-изразени при пациенти, получаващи адювантна перфузия на крайника, спрямо тези само с хирургично лечение. Отчетени са две, свързани с лечението, ампутации на съответния крайник след хипертермична перфузия. Авторите на проучването заключават, че профилактичната изолирана перфузия на крайника с *melfhalan* не трябва да се препоръчва като стандартна терапия на пациенти с високо рисков първичен КМ на крайници.²⁹ В най-добрия случай провеждането на това лечение може да доведе до подобър локален туморен контрол, но липсват ползи за удължаване на ПБР и ОП. Затова в нито едно ръководство не се препоръчва провеждането на тази лечебна процедура.

Адювантна терапия с *interferon*

Клинични проучвания с *interferon-alfa* са провеждани с различни дози, при различни стадии на болестта и с различна продължителност. След извършените промени в класификацията на КМ резултатите от проучванията не могат да се сравняват директно по отношение на популациите. Извършените мета-анализи не показаха значими разлики между различните дози на *interferon-alfa*, различните режими и продължителност на лечение. Това означава, че не могат да се направят никакви конкретни препоръки.

Публикувани са общо 15 рандомизирани клинични проучвания, сравняващи *interferon-alfa* спрямо наблюдение. Не съществуват плацебо-контролирани проучвания. Резултатите от две проучвания по-

казват ползи по отношение на ОП^{30, 31}, а от други шест – по отношение на ПБР.^{30-34, 35} Проведени са шест системни обзора, които оценяват различни проучвания в зависимост от дата на публикуване и използвани включващи критерии. Вземайки предвид всички проучвания (отчитайки големите различия по отношение на пациентските групи и дозовите режими), настоящият мета-анализ показва сигнификантна, но малка полза за ОП и достоверна полза за ПБР.^{36, 37} По отношение на ОП *Mocellin et al.* изчисляват полза за относителния риск от 11% и “брой, необходим за третиране” от 29 пациенти (95 % CI 18–81 пациенти). Това отговаря на редукция на относителния риск с 3.4% (95 % CI 5.6–1.2 %).³⁷

Мета-анализите не показват статистическо значимо предимство както за определена доза или продължителност на лечение, така и за определен стадий на болестта. Проучване с три рамена сравнява високи дози *interferon-alfa* спрямо ниски дози и спрямо наблюдение. Резултатите са почти идентични по отношение на ПБР и ОП, като е регистрирана значимо по-висока токсичност при пациенти с високи дози. Липсват и значими разлики между двете лечебни рамена и рамото с наблюдение.³⁸ В мета-анализ на *Mocellin et al.* от 2011 г. редукцията на относителния риск е по-голяма за високите дози (25%) спрямо ниските дози (15%), но тази разлика не е сигнификантна.

Резултатите на едно от три проучвания с високи дози *interferon-alfa* при пациенти в стадий III показват сигнификантно подобрене на ПБР, докато друго проучване демонстрира подобрена ОП след начална оценка.^{31, 38, 39} По отношение на прилагане на ниски дози *interferon-alfa* при пациенти в стадий III само едно от шест проучвания установява подобрене на ПБР и ОП.^{30, 38, 40-43} Следвателно приложението на високи дози *interferon-alfa* изглежда е оправдано при па-

циенти в стадий IIIB и IIIC, въпреки увеличената токсичност.

В почти всички клинични проучвания е направен опит да се идентифицира подгрупа пациенти, имащи ползи от лечение с *interferon-alfa*. Поради противоречиви резултати наличните данни са недостатъчни за ясни препоръки. В мета-анализ на *Wheatley et al.*, анализ на проучване Sunbelt Trial⁴⁴ и обобщение на две проучвания на EORTC⁴⁵ се установяват ползи за пациенти с улцерирани първични тумори, както и за пациенти с микрометастатично ангижиране на лимфни възли.

Пегилирането на *interferon-alfa* увеличава полуживота на препарата при еднаква биологична активност и по този начин осигурява еднократно седмично приложение в сравнение с конвенционалния *interferon-alfa*. Първата оценка на пегилиран *interferon-alfa* (доза 6 µg/kg) спрямо наблюдение е проведена в проучване EORTC-18991; след седем години се отчита сигнификантно по-голям брой пациенти без рецидив в лечебното рамо (39% срещу 35%); липсват значими разлики по отношение на ОП.³⁴ В проучване EADO пегилиран *interferon-alfa* в доза 100 µg е сравнен директно с ниски дози *interferon-alfa* при 898 пациенти; след петгодишно наблюдение двете рамена са с почти еднакви честоти на ПБР (65.9% срещу 64.8%) и ОП (71.1% срещу 72.6%); наблюдавани са значимо повече странични явления с пегилиран *interferon-alfa* (отпадналоост, загуба на тегло, отклонения в лабораторните показатели); проучването не показва превъзходство за пегилирания *interferon-alfa*.⁴⁶

По време на лечението с *interferon-alfa* настъпилите дозозависими странични явления са причина за съществени ограничения в качеството на живот на пациентите, което рефлектира във високи проценти на отпаднали пациенти, достигащи до 31%³⁴ и до 15% в нискодозовите проучвания⁴³. В проучването EORTC-18952 токсичност степен 3 или 4 са

развили 46% от пациентите.³⁴ След започване на лечението пациентите често развиват грипоподобни симптоми, а по-късно – умореност, мускулни и ставни болки, депресия. Много често са докладвани повишена чувствителност по време на лечение. Наблюдавани са повишени стойности на чернодробни ензими и неутропения, както и дисфункция на щитовидна жлеза, която не е винаги обратима след спиране на лечението.

В обобщение, всички проучвания, взети заедно, с общо повече от 8000 пациенти, показват малка, но сигнификантна полза за ОП и значима полза за ПБР при пациенти, лекувани с *interferon-alfa*. До момента нито един режим с *interferon-alfa* не е показал сигнификантно предимство пред друг. По отношение на отговора към адювантна терапия с *interferon-alfa* в различни стадии на болестта данните са недостатъчни за препоръки, но все пак провеждане на адювантно лечение под стадий IIA е необосновано. Трябва да се взема под внимание влошаването на качеството на живот вследствие на настъпили странични явления (повече при високи спрямо ниски дози *interferon-alfa*). Това е особено важно в адювантното лечение, тъй като висок процент от пациентите без лечение не развиват рецидив или развиват рецидив след адювантно лечение с *interferon-alfa*. За пациенти с КМ с висок риск от рецидив адювантното лечение с *interferon-alfa* понастоящем е единственото одобрено и ефективно системно поведение. Следователно приложението на *interferon-alfa* трябва да влиза в съображение и да се дискутира с пациентите.

Адювантна биохимиотерапия

Проучването S0008 на интергрупата SWOG изследва приложението на биохимиотерапевтичен режим в продължение на 9 седмици, спрямо стандартен 52-сед-

мичен режим на високи дози *interferon-alfa*.⁴⁷ Биохимиотерапевтичният режим е включвал 3 цикъла *cisplatin/vinblastine/dacarbazine* в комбинация с ниски дози IL-2 и *interferon-alfa*. След среден период на наблюдение от 6 години се установява сигнификантно подобрене на ПБР за биохимиотерапията в сравнение с вискодозовия режим (средно 4 години срещу 1.9 години), но липсва подобрене по отношение на ОП. Наблюдавана е по-висока токсичност степен 3-4 в рамото с биохимиотерапия спрямо това с високи дози (76% срещу 64%).

Адювантна терапия с *bevacizumab*

Клиничното фаза III проучването AVAST-M изследва адювантно приложение на препарата *bevacizumab* спрямо наблюдение при 1343 пациенти с резециран КМ в стадии II и III.⁴⁸ При среден период на наблюдение от 25 месеца са отчетени сравними резултати по отношение на ОП и значимо удължаване на ПББ (HR = 0.83; 95% CI, 0.70–0.98; $p = 0.03$). Резултатите от този междинен анализ изискват продължително наблюдение за оценка на минималната полза по отношение на ПББ, както и оценка на основната цел на проучването – ОП.

Адювантна терапия след радикално отстранен рецидив

Пациенти с отстранен локален рецидив или рецидив в регионални лимфни възли подлежат също на включване в клинично проучване, наблюдение, а при тези, които не са третирани предварително, може да се проведе адювантно лечение с *interferon-alfa* или с пегилиран *interferon-alfa*.

Адювантно терапия с checkpoint-инхибитори

Две клинични проучвания (EORTC 18071 and US Intergroup E1609) изследват препарата *ipilimumab* в адювантно лечение на високо рискови пациенти с КМ. Съвсем наскоро са публикувани първите резултати от проучването EORTC 18071⁴⁹; в него са рандомизирани общо 951 пациента с КМ в стадий III, получаващи или 10 mg/kg *ipilimumab*, или плацебо през 3 седмици до общо 4 курса, след което на всеки 3 месеца до 3 години. При среден период на наблюдение от 2.74 години са отчетени 234 рецидива в рамото с *ipilimumab* спрямо 294 в плацебо групата. Средната ПБР е 26.1 месеца в групата с *ipilimumab* срещу 17.1 месеца в плацебо групата. Тригодишната ПБР е съответно 46.5% и 34.8% ($p = 0.0013$). Наблюдаваната токсичност степен 3 и 4 е с по-висока честота в групата с *ipilimumab* в сравнение с плацебо и включва гастроинтестинални (15.9% срещу 0.8%), ендокринни (8.5% срещу 0%) и чернодробни (10.6% срещу 0.2%) странични явления.

E1609 е фаза III рандомизирано клинично проучване, което изследва две дози на *ipilimumab* (10 mg/kg и 3 mg/kg) спрямо високи дози *interferon-alfa*, но все още няма публикувани резултати. В ход са клинични проучвания с анти-PD1-антитяло (EORTC 1325 и S1404)⁵⁰, като резултати се очакват да бъдат съобщени през следващите години.

Адювантна терапия с инхибитори на BRAF/MEK

BRAF-инхибиторите *vemurafenib* и *dabrafenib* са регистрирани за приложение при пациенти с авансирал КМ. COMBI-AD е текущо фаза III клинично проучване, според ClinicalTrials.gov (NCT01682083), което планира да рандомизира 852 пациенти с BRAF V600E/K-

мутация положителен КМ в стадий III на лечение с *dabrafenib* и *trametinib* спрямо плацебо⁵¹; основна цел на проучването е ПБР. От друга страна, проучване BRIM-8⁵² планира да рандомизира 725 пациенти в стадии IIС и III с BRAFV600-мутация положителен КМ на адювантен *vemurafenib* спрямо плацебо; и тук основна цел на проучването е ПБР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hill GJ, Moss SE, Golomb FM, et al. DTIC and combination therapy for melanoma: III. DTIC (NSC 45388) Surgical Adjuvant Study COG PROTOCOL 7040. *Cancer* 1981; 47: 2556-2562.
2. Veronesi U, Adamus J, Aubert C, et al. A randomized trial of adjuvant chemotherapy and immunotherapy in cutaneous melanoma. *N Engl J Med* 1982; 307: 913-916.
3. Lejeune F, Macher E, Kleeberg U, et al. An assessment of DTIC ver-sus levamisole or placebo in the treatment of high risk stage I patients after surgical removal of a primary melanoma of the skin. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 81-90.
4. Quirt IC, DeBoer G, Kersey PA, et al. Randomized controlled trial of adjuvant chemoimmunotherapy with DTIC and BCG after complete excision of primary melanoma with a poor prognosis or melanoma metastases. *Can Med Assoc J* 1983; 128: 929-933.
5. Fisher RI, Terry WD, Hodes RJ, et al. Adjuvant immunotherapy or chemotherapy for malignant melanoma. Preliminary report of the National Cancer Institute randomized clinical trial. *Surg Clin North Am* 1981; 61: 1267-1277.
6. Hansson J, Ringborg U, Lagerlof B, Strander H. Adjuvant chemotherapy of malignant melanoma. A pilot study. *Am J Clin Oncol* 1985; 8: 47-50.
7. Karakousis C, Blumenson L. Adjuvant chemotherapy with a nitrosourea-based protocol in advanced malignant melanoma. *Eur J Cancer* 1993; 29A: 1831-1835.
8. Karakousis CP, Emrich LJ. Adjuvant treatment of malignant melanoma with DTIC + estracyt or BCG. *J Surg Oncol* 1987; 36: 235-238.
9. Eigentler TK, Radny P, Hauschild A, et al. German Dermatologic Cooperative Oncology Group. Adjuvant treatment with vindesine in comparison to observation alone in patients with metastasized melanoma after complete metastasectomy: a randomized multicenter trial of the German Dermatologic Cooperative Oncology Group. *Melanoma Res* 2008; 18: 353-358.
10. Retsas S, Quigley M, Pectasides D, et al. Clinical and histologic involvement of regional lymph nodes in malignant melanoma. Adjuvant vindesine improves survival. *Cancer* 1994; 73: 2119-2130.
11. Spittler LE, Sagebiel R. A randomized trial of levamisole versus placebo as adjuvant therapy in malignant melanoma. *N Engl J Med* 1980; 303: 1143-1147.
12. Loutfi A, Shahr A, Jerry M, et al. Double blind randomized prospective trial of levamisole/placebo in stage I cutaneous malignant melanoma. *Clin Invest Med* 1987; 10: 325-328.
13. Quirt IC, Shelley WE, Pater JL, et al. Improved survival in patients with poor-prognosis malignant melanoma treated with adjuvant levamisole: a phase III study by the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 1991; 9: 729-735.
14. Petrella T, Verma S, Spithoff K, et al. Melanoma Disease Site Group. Systemic adjuvant therapy for patients at high risk for recurrent melanoma: Updated Guideline Recommendations 2009. Cancer Care Ontario Evidence-Based Series No.: 8-1, Version 3. 2009, 2009.
15. Hersey P, Coates AS, McCarthy WH, et al. Adjuvant immunotherapy of patients with high-risk melanoma using vaccinia viral lysates of melanoma: results of a randomized trial. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4181-4190.
16. Sondak VK, Liu PY, Tuthill RJ, et al. Adjuvant immunotherapy of resected, intermediate-thickness, node-negative melanoma with an allogeneic tumor vaccine: overall results of a randomized trial of the Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2058-2066.
17. Sosman JA, Unger JM, Liu PY, et al. Adjuvant immunotherapy of resected, intermediate-thickness, node-negative melanoma with an allogeneic tumor vaccine: impact of HLA class I antigen expression on outcome. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2067-2075.
18. Morton DL, Mozzillo N, Thompson JF, et al. An international, randomized, phase III trial of bacillus Calmette-Guerin (BCG) plus allogeneic melanoma vaccine (MCV) or placebo after complete resection of melanoma metastatic to regional or distant sites. ASCO Meeting 2007; (Abstract) 25: 8508.

19. Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sosman JA, et al. High-dose interferon alfa-2b significantly prolongs relapse-free and overall survival compared with the GM2-KLH/QS-21 vaccine in patients with resected stage IIB–III melanoma: results of intergroup trial E1694/S9512/C509801. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2370-2380.
20. Eggermont AM, Suci S, Ruka W, et al., EORTC MG. EORTC 18961: Post-operative adjuvant ganglioside GM2- KLH21 vaccination treatment vs observation in stage II (T3-T4N0M0) melanoma: 2nd interim analysis led to an early disclosure of the results. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2008; 26: 9004.
21. Bystryn JC, Zeleniuch-Jacquotte A, Oratz R, et al. Double-blind trial of a polyvalent, shed-antigen, melanoma vaccine. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1882-1887.
22. Wallack MK, Sivanandham M, Whooley B, et al. Favorable clinical responses in subsets of patients from a randomized, multi-institutional melanoma vaccine trial. *Ann Surg Oncol* 1996; 3: 110-117.
23. Wallack MK, Sivanandham M, Ditaranto K, et al. Increased survival of patients treated with a vaccinia melanoma oncolysate vaccine: second interim analysis of data from a phase III, multi-institutional trial. *Ann Surg* 1997; 226: 198-206.
24. Morton DL, Mozzillo N, Thompson JF, et al. An international, randomized, phase III trial of bacillus Calmette-Guerin (BCG) plus allogeneic melanoma vaccine (MCV) or placebo after complete resection of melanoma metastatic to regional or distant sites. ASCO Meeting 2007; (Abstract) 25: 8508.
25. Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sosman JA, et al. High-dose interferon alfa-2b significantly prolongs relapse-free and overall survival compared with the GM2-KLH/QS-21 vaccine in patients with resected stage IIB–III melanoma: results of intergroup trial E1694/S9512/C509801. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2370-2380.
26. Eggermont AM, Suci S, Ruka W, et al., EORTC MG. EORTC 18961: Post-operative adjuvant ganglioside GM2- KLH21 vaccination treatment vs observation in stage II (T3-T4N0M0) melanoma: 2nd interim analysis led to an early disclosure of the results. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2008; 26: 9004.
27. Ghussen F, Nagel K, Groth W, et al. A prospective randomized study of regional extremity perfusion in patients with malignant melanoma. *Ann Surg* 1984; 200: 764-768.
28. Ghussen F, Kruger I, Smalley RV, Groth W. Hyperthermic perfusion with chemotherapy for melanoma of the extremities. *World J Surg* 1989; 13: 598-602.
29. Koops HS, Vaglini M, Suci S, et al. Prophylactic isolated limb perfusion for localized, high-risk limb melanoma: results of a multicenter randomized phase III trial. European Organization for Research and Treatment of Cancer Malignant Melanoma Cooperative Group Protocol 18832, the World Health Organization Melanoma Program Trial 15, and the North American Perfusion Group Southwest Oncology Group-8593. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2906-2912.
30. Garbe C, Radny P, Linse R, et al. Adjuvant low-dose interferon {alpha}2a with or without dacarbazine compared with surgery alone: a prospective-randomized phase III DeCOG trial in melanoma patients with regional lymph node metastasis. *Ann Oncol* 2008; 19: 1195-1201.
31. Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS, et al. Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol* 1996; 14: 7–17.
32. Grob JJ, Dreno B, de la Salmoniere P, et al. Randomised trial of interferon alpha-2a as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1.5 mm without clinically detectable node metastases. French Cooperative Group on Melanoma. *Lancet* 1998; 351: 1905-1910.
33. Pehamberger H, Soyer HP, Steiner A, et al. Adjuvant interferon alfa-2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma. Austrian Malignant Melanoma Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1425-1429.
34. Eggermont AM, Suci S, Santinami M, et al, EORTC Melanoma Group. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma: final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial. *Lancet* 2008; 372: 117-126.
35. Hansson J, Aamdal S, Bastholt L, et al., Nordic Melanoma Cooperative Group. Two different durations of adjuvant therapy with intermediate-dose interferon alfa-2b in patients with high-risk melanoma (Nordic IFN trial): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2011; 12: 144-152.
36. Meier A, Satzger I, Volker B, et al. Comparison of classification systems in melanoma sentinel lymph nodes an analysis of 697 patients from a single center. *Cancer* 2010; 116: 3178-3188.
37. Mocellin S, Pasquali S, Rossi CR, Nitti D. Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 493-501.

АДЮВАНТНА СИСТЕМНА ТЕРАПИЯ ПРИ КОЖЕН МЕЛАНОМ – ЗА И ПРОТИВ

38. Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sondak VK, et al. High- and low-dose interferon alfa-2b in high-risk melanoma: first analysis of intergroup trial E1690/S9111/C9190. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2444-2458.
39. Creagan ET, Dalton RJ, Ahmann DL, et al. Randomized, surgical adjuvant clinical trial of recombinant interferon alfa-2a in selected patients with malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2776-2783.
40. Bartsch HH. Kommunikation und gemeinsame Entscheidungsfindung mit dem Krebspatienten. *Forum* 2005; 43-46.
41. Cameron DA, Cornbleet MC, Mackie RM, et al., Scottish Melanoma Group. Adjuvant interferon alpha 2b in high risk melanoma – the Scottish study. *Br J Cancer* 2001; 84: 1146-1149.
42. Cascinelli N, Belli F, Mackie RM, et al. Effect of long-term adjuvant therapy with interferon alpha-2a in patients with regional node metastases from cutaneous melanoma: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 866-869.
43. Hancock BW, Wheatley K, Harris S, et al. Adjuvant interferon in high-risk melanoma: the AIM HIGH Study – United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research randomized study of adjuvant low-dose extended-duration interferon Alfa-2a in high-risk resected malignant melanoma. *J Clin Oncol* 2004; 22: 53-61.
44. McMasters KM. The Sunbelt Melanoma Trial. *Ann Surg Oncol* 2001; 8: 41S-43S.
45. Eggermont AM, Suci S, Testori A, et al. Ulceration and stage are predictive of interferon efficacy in melanoma: Results of the phase III adjuvant trials EORTC 18952 and EORTC 18991. *Eur J Cancer* 2012; 48: 218-225.
46. Grob JJ, Jouary T, Dreno B, et al. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b (36months) versus low-dose interferon alfa-2b (18months) in melanoma patients without macrometastatic nodes: An open-label, randomised, phase 3 European Association for Dermato-Oncology (EADO) study. *Eur J Cancer* 2013; 49 (1): 166-174.
47. Flaherty LE, Moon J, Atkins MB, et al. Phase III trial of highdose interferon alpha-2b versus cisplatin, vinblastine, DTIC plus IL-2 and interferon in patients with high-risk melanoma (SWOG S0008): an intergroup study of CALGB, COG, ECOG, and SWOG. *J Clin Oncol* 2012; 30 (Suppl; Abstr. 8504).
48. Corrie PG, Marshall A, Dunn JA, et al. Adjuvant bevacizumab in patients with melanoma at high risk of recurrence (AVAST-M): preplanned interim results from a multicentre, open-label, randomised controlled phase 3 study. *Lancet Oncol* 2014; 15 (6): 620-630. Erratum in: *Lancet Oncol* 2014; 15 (7): e253 and 2014; 15 (9): e365.
49. Eggermont AM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk Stage III melanoma (EORTC 18071): a randomised, double-blind phase 3 trial. *Lancet* 2015; 16: 522-530.
50. Adjuvant immunotherapy with anti-PD-1 monoclonal antibody pembrolizumab (MK- 3475) versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma: A randomized, double-blind phase 3 trial of the EORTC Melanoma Group. Available at: adisinsight.springer.com/trials/700253975.
51. Ahn A, Eccles MR. Targeted therapy: from advanced melanoma to the adjuvant setting. *Front Oncol* 2013; 3: 205.
52. BRIM8: A Study of Vemurafenib Adjuvant Therapy in Patients With Resected Cutaneous BRAF Mutant Melanoma. Available at: www.cancer.gov/clinicaltrials/search/view?cdrid=738963&version=HealthProfessional

**ТАРГЕТНИ И ИМУНОТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ
ПРИ АВАНСИРАЛ КОЖЕН МЕЛАНОМ И КОЖНИ
ТУМОРИ – ТЕРАПЕВТИЧНИ АЛГОРИТМИ**

**доц. д-р Красимир Киров, дм¹
д-р Ася Консулова²**

¹Клиника по онкодерматология, СБАЛО – София

²Клиника по медицинска онкология, УМБАЛ *Св. Марина* – Варна

ТАРГЕТНИ И ИМУНОТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ ПРИ АВАНСИРАЛ КОЖЕН МЕЛАНОМ И КОЖНИ ТУМОРИ – ТЕРАПЕВТИЧНИ АЛГОРИТМИ

доц. д-р Красимир Киров, дм¹
д-р Ася Консулова²

¹Клиника по онкодерматология, СБАЛО – София

²Клиника по медицинска онкология, УМБАЛ Св. Марина – Варна

ОБЗОР

Лечението на кожен меланом (КМ) чрез системна химиотерапия все повече остава като палиативна опция и бива измествано от новите терапевтични стратегии, включващи приложение на имунотерапия и таргетно лечение. Подобно е положението и при лечението на *Merkel*-клетъчен кожен карцином, плоскоклетъчен и базоцелуларен карцином. В настоящата публикация са обобщени данни от клинични изпитвания с таргетна и имунотерапия при кожни тумори и е направен опит за създаване на терапевтичен алгоритъм за тяхното съвременно лечение.

Увод

След дълги години на лечение на авансирани или метастазирани кожни тумори чрез системна химиотерапия през 2010 г. започна обрат в тяхното лечение. На базата на открития в туморния геном и протеом бяха разработени и въведени в клиничната практика много таргетни препарати, някои от които постигнаха впечатляващ успех. През последните четири години приключиха фаза III проучванията на най-успешните от тях и препаратите бяха ускорено регистрирани и навлязоха в рутинната клинична практика. Дизайнът на проучванията в повечето случаи предполагаше максимално добри резултати за минимално време чрез поставяне на краткосрочни цели – подо-

браване на общ системен отговор, средна преживяемост без прогресия (ПБП) и средна обща преживяемост (ОП). За съжаление, все още няма окончателни данни за най-важния краен резултат – дългосрочната (петгодишна) преживяемост. Много голямо внимание се отделя, разбира се, на страничните реакции и токсичността от приложението на тези медикаменти. Подборът на пациентите беше ограничен до пациенти с очаквана сравнително добра краткосрочна преживяемост (ECOG 0-1, безсимптомни, особено при мозъчни метастази, и сравнително малки отклонения от биохимичните показатели). Затова в „реалния живот” терапевтичните резултати са по-лоши от тези в проучванията.

За постигане на максимална терапевтична ефективност е необходимо разработване на алгоритми, съобразени както с нормативите при регистрация на препаратите, така и с подбора (субстратификация) на пациенти. Така може максимално да се изпълнят принципите на персонализираната (прецизна) терапия: да се приложи точния препарат, на точния пациент, в точния момент.

При съставянето на алгоритми се съобразяваме с прогностичните и предиктивни фактори. В процес на проучване са потенциални биомаркери за оценка на отговор и мониториране на лечението.

Кожен меланом (КМ)

В продължение на 40 години основният метод на системно лечение при неоперабилен КМ в стадий IIIc и дисеминиран стадий IV беше химиотерапията с *dacarbazin* (DTIC) с общ системен отговор – 12% и незначима промяна на преживяемостта (средна ОП – 10 месеца и 5-10% петгодишна ОП). *Dacarbazin* беше най-често прилаган в контролната група на таргетните проучвания като база за отчитане на преимуществото на новите препарати.

Таргетна терапия. Чрез нея се блокира функцията на абнормен протеин, кодиран от мутирал ген със значима роля в канцерогенезата (*driver gene*). При КМ се установи решаващата роля на мутациите BRAF-mt, NRAS-mt, cKIT-mt и GNAQ/GNA11-mt (само при увеален меланом) в сигналния път на митоген-активираната протеин киназа (МАРК) с каскадни медиатори NRAS, BRAF, MEK и ERK. През 2012-13 г. бяха одобрени BRAF-инхибиторите *vemurafenib* и *dabrafenib*. Двата препарата имат приемлив профил на токсичност и показват еднакви възможности – общ системен отговор > 50%

(за първи път при КМ се постига толкова висок туморен отговор), медианна ПБП – 6.9 месеца, медианна ОП – 13.6 месеца.^{1,2} След бърз начален туморен отговор (след 2-3 седмици) и увеличение на медианната ПБП (в сравнение с DTIC) обаче настъпва намаляване на ефекта и прогресия на болестта. Графичните криви на ОП се доближават през третата година (затваряне на „опашката“ на графиката). Въпреки това се очаква петгодишната ОП да е > 20%. Причината е поява на резистентност към BRAF-инхибиторите и алтернативна реактивация на МАРК през MEK. Логична промяна в терапията е преминаване към MEK-инхибитори.

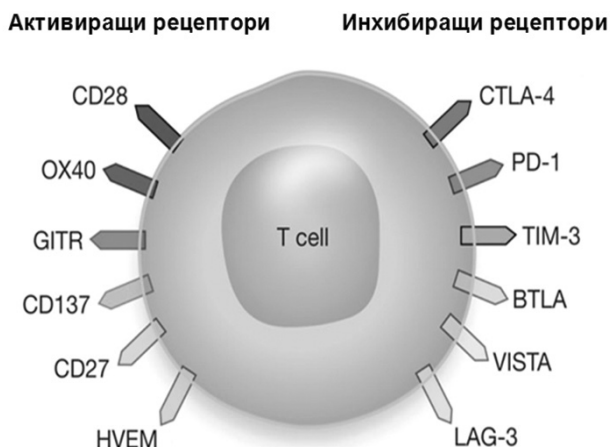
През 2014 г. беше одобрен MEK-инхибиторът *trametinib* (*cobimetinib* е все още в процес на регистрация). Резултатите от приложението на MEK-инхибитори при прогресия на болестта след приложение на BRAF-инхибитори остават скромни – 24% общ системен отговор и медианна ПБП – 4.8 месеца.³ Много по-добри са резултатите от комбинираното приложение като първа линия на BRAF- и MEK-инхибитори: общ системен отговор – 70%, средна ПБП – 13.8 месеца и медианна ОП – 28.5 месеца.⁴⁻⁶ Очаква се достигане на 30% петгодишна преживяемост. Затова комбинацията беше одобрена и се счита за „гръбнак“ (*backbone*) на съвременната таргетна терапия при КМ.

Имунотерапия. Разработвана е повече от 40 години. Причината е, че КМ е един от най-имуногенните тумори. При него са установени над 34000 генни мутации, всяка с потенциал да кодира и експресира протеин, който имунният контрол на организма да разпознае като чужд антиген (non-self) и да предизвика имунна реакция, която да унищожи клетката с мутацията. Многобройните проучвания на различни видове имунотерапии (пептид-

ТАРГЕТНИ И ИМУНОТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ

ни ваксини, цитокини, адоптивни имуно-терапии и др.) нямаха значим успех. Обратът настъпи в началото на XXI век, когато бяха проучени процесите на сенсibiliзиране на некомпетентния Т-лимфоцит (naïve) от антиген-представящите клетки (АПК) към новооткрития „чужд“ антиген. Сигналят при представянето на антигена чрез МНС-I е слаб и затова се активират костимулиращи сигнални пътища. Най-добре проучен е сигналят при лигирането на мембранните молекули CD80 (B7.1) и/или CD86 (B7.2) на АПК с рецептора CD28 на Т-лимфоцита. Така Т-лимфоцитът се превръща в ефективен имунокомпетентен CD8+ тумор-инфилтриращ лимфоцит. За да се избегне прекалено силна имунна реакция, в Т-лимфоцита се активират checkpoint-сигнални пътища, които намаляват активността и пролиферацията му (изместване на CD28 от CTLA-4) и активиране на апоптоза при свързване на PD-1-инхибиращия рецептор с лигандата PDL-1/2 на АПК. От съществено значение е експресията на лигандата PDL-1/2 и от туморните клетки; така те избягват имунния контрол.

Продължава откриването на нови сигнални пътища – активиращи (OX40-L с OX40, GITR-L с GITR) и инхибиращи (CD 80/CD 86 с CTLA-4, PD-L1 с PD1, GAL9 с TIM3, МНС I с LAG3) (Фиг. 1). Биологичната цел на баланса между активиращи и инхибиращи сигнали е да се постигне ефективна имунокомпетентност без развитие на автоимунни реакции (self-Ag tolerance). Досега в клиничната практика е въведена блокада с checkpoint-антитела (CTLA-4, PD-1) и на лиганда PD-L1/2 („блокада на блокаторите“). В широк смисъл на думата, имуноterapia също е таргетна терапия, но прицелна молекула е нормален (немутирал) рецептор на физиологично функциониращ сигнален път.



Фигура 1. Активиращи и инхибиращи рецептори на Т-лимфоцит.

През 2010 г. приключиха фаза III проучванията на анти-CTLA-4-антителата *ipilimumab* (IgG-G1) и *tremelimumab* (IgG-G2). Успешни резултати бяха регистрирани само на *ipilimumab*. В проучването с контролна група, лекувана с DTIC, общият системен отговор е скромнен – 12% (сравним с цитостатика), туморното повлияване настъпва бавно (след 2-3 месеца), но продължително и се появява малка разлика в медианната ПБП (2.9 срещу 1.7 месеца), която води до повишаване на медианната ОП с почти два месеца (11.2 срещу 9.7 месеца).⁷ Изненадата дойде след третата година, когато графиката на преживяемостта придоби форма „плато“ и дори след петата година не се промени, оставайки 20%.⁸ За първи път при КМ се отчита подобряване на дългосрочната преживяемост и графиката, сравнена с тази на преживяемостта с DTIC, остава с отворена „опашка“. *Ipilimumab* беше регистриран като препарат за първа линия при КМ с BRAF-wt.

През 2015 г. бяха регистрирани две анти-PD-1-антитела – *nivolumab* и *pembrolizumab*. Резултатите и при двата препарата са сходни (като първа линия): общ системен отговор – 38% и медианна

ПБП – 7.1 месеца.^{9, 10} Потвърди се предимството на анти-PD-1- пред анти-CTLA-4-антитялото. Превъзходство имаше и при дългосрочната преживяемост: на първа и втора година тя е съотв. 67% и 48% срещу 47% и 28% (за *ipilimumab*). Очакваната петгодишна преживяемост след терапия с анти-PD-1-антитела от 40% е възможно да не се достигне, тъй като продължи да спада след трета година от 41% (въпреки очакванията по аналогия с *ipilimumab*) на 34% на четвърта година. Туморното повлияване при анти-PD-1-антитела настъпва по-бързо, отколкото с анти-CTLA-4 антитела (средно време 2.1 месеца) и се предложи да бъдат въведени в клиничната практика като първа линия и при BRAF-mt KM.

Резултатите от комбинацията на анти-CTLA-4 с анти-PD1-антитела са още впечатляващи: общ системен отговор – 59%, медианна ПБП – 11.5 месеца и ОП на първа и втора година – 82% и 75%.¹¹ Очаква се петгодишната ОП да достигне 50%. Ограничението в приложението на комбинацията са страничните действия, като степен 3 и 4 достигат 50%.

С въвеждане на комбинациите при таргетна и имунотерапия се установява тенденция към изравняване на резултатите на

двата вида подходи по отношение на общия системен отговор и ОП (Табл. 1).

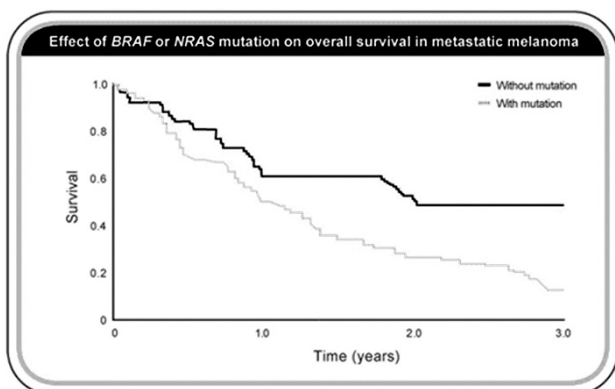
Комбинирано приложение на таргетна и имунотерапия. Започнаха проучвания на комбинация на двете стратегии (конкурентно или последователно). Целта е да се комбинира бързото и значимото туморно повлияване от таргетната терапия с дългосрочното повишение на преживяемостта, постигнато с имунотерапия.

Лечение на кожен меланом в неоперабилен стадий IIIc и IV. Алгоритъмът трябва да бъде съобразен със субстратификацията на пациентите, с възможностите на препаратите, страничните им действия и тяхната регистрация. Засега субстратификация може да се извършва на базата на прогностични и предиктивни фактори, биомаркери и туморен стадий. Прогностичните фактори определят риск от рецидив и прогноза на болестта, предиктивните – индикацията и очаквания ефект от терапията, а биомаркерите – оценка на отговор и мониториране на терапията. При KM могат да са едни и същи.

Мутациите на *NRAS* и *BRAF* са свързани с по-лоша прогноза (Фиг. 2) (понижена експресия на туморни антигени, повишена секреция на имуносупресивни цитокини в

Таблица 1. Резултати при таргетна и имунотерапия, като монотерапия и в комбинация. С ? са означени липсващи към момента данни; в скоби са неочаквано високи стойности от отделни проучвания.

	ORR %	PFS mo	mOS mo	OS 1/2/2/4/ y %	OS 5y %
DTIC	10-12	1.7	9.7	40 / ?	5-10
Ipi	12-(19)	2.9	11.2	48 (58)/32	20
BRAF _i	> 50	6.9	13.6 (18.7)	68 / 42	20 ?
MEK _i	24	4.8	?	?	?
BRAF _i + MEK _i	70-(87)	13.8	28.5	74 / 61	30 ?
PD1 _i	38	7.1	?	67 /48 / 41 /37	40 ?
PD1 _i + Ipi	59	11.5	?	82 / 75	> 50 ?



Фигура 2. Разлика в дългосрочната преживяемост при *NRAS-wt/BRAF-wt* и *NRAS-mt/BRAF-mt*. Разликата става статистически значима след първата година.

околната среда, променен енергиен метаболизъм). Те обаче са и предиктивни, както и единствено условие за провеждане на таргетна терапия с BRAF-инхибитори. Мутациите при *BRAF* са на кодон V600 и са няколко субтипа; предиктивно значение може да има точното определяне на V600E срещу V600K.

PD-L1/2-експресията при меланомни клетки също има прогностично и предиктивно значение. За позитивни се приемат случаите, когато над 5% от клетките експресират лиганда (измерени чрез автоматизиран BMS/DAKO имунохистохимичен тест). По тази причина високите нива на експресия на PD-L1/2 се считат за лош прогностичен маркер при КМ (подтискане на имунния контрол). Нивата на експресията на PD-L1/2 нямат предиктивна стойност за отговор към лечение с *ipilimumab*, но при комбинирано лечение с анти-PD1-антитела, туморното повлияване и ПБП са по-добри околкото при монотерапия с анти-PD1-антитела.¹¹

Лактат-дехидрогеназа (LDH) е най-силният прогностичен фактор в стадий IV на КМ. Повишаването на нивата му е свързано с влошаване на прогнозата и снижена

честота на отговор към провежданото лечение. Понижението на нивата на LDH съответства на туморно повлияване, така че може да бъде приеман и като предиктивен биомаркер в широк смисъл на думата.¹²

Локализацията (M1a-c), големината и броя на хематогенните метастази, съчетани с ECOG пърформанс статуса на пациента, са решаващи за краткосрочната прогноза (очаквана преживяемост от три месеца) и са основни при съставяне на алгоритъма. Прието е пациентите в стадий IV да се разделят на симптоматични и несимптоматични - това е от най-голямо значение при мозъчни и чернодробни метастази.¹²

Други фактори, свързани с клиничната форма (нодуларен срещу суперфициален), наличие на улцерация, възраст, пол, локализация на първичния тумор, са предимно прогностични, докато предиктивното им значение не е статистически значимо.

Регистрация на препаратите. В момента всички препарати и техните комбинации са одобрени от FDA и EMA, но тяхната регистрация не е завършила напълно. Очаква се всички да бъдат регистрирани с *Категория 1*, с приложение като първа и втора линия на лечение. Все още има колебание при индикация за имунотерапия с анти-PD1-антитела при BRAF-mt тумори като първа линия (*ipilimumab* е първа линия само при BRAF-wt). В България засега са регистрирани само *vemurafenib*, *dabrafenib* и *ipilimumab*.

Предложение за терапевтичен алгоритъм. Изграден е на базата на ръководството на NCCN, версия 3, 2015. Като първа стъпка се определя мутационният статус на *BRAF* (по възможност и на *cKIT*, *NRAS* и *PD-L1/2*). Пациентите се разделят на две групи: (1) група I – с очаквана преживяемост над три месеца: безсимптомни, ECOG 0-1, M1a-v, нормално или слабо повишено ниво на серумна LDH; (2) група II – с оч-

аквана преживяемост под три месеца: със симптоматика, ECOG 2-3 (по индивидуална преценка ECOG 4), M1в-с, повишено ниво на серумна LDH.

Терапевтичното поведение в група I е следното: (1) при BRAF-wt – *ipilimumab* (засега в България), анти-PD1-антитела или комбинацията им (при PD-L1/2 позитивни); при прогресия – включване в клинично изпитване, химиотерапия или симптоматично лечение; (2) при BRAF-mt – анти-PD1-антитела или в комбинацията с *ipilimumab* (при PD-L1/2-позитивни); при прогресия – BRAF-инхибитор ± MEK-инхибитор; при прогресия – включване в клинично изпитване, химиотерапия или симптоматично лечение (засега в България след прогресия от лечение с BRAF-инхибитори е възможно включване в клинично изпитване, химиотерапия или симптоматично лечение).

Терапевтичното поведение в група II е следното:

(1) при BRAF-wt – анти CTLA-4 + PD1-антитела (независимо от PD-L1/2-статус); при прогресия – включване в клинично изпитване, химиотерапия или симптоматично лечение (засега в България е възможно включване в клинично изпитване, химиотерапия или симптоматично лечение);

(2) при BRAF-mt – BRAF-инхибитор + MEK-инхибитор; при прогресия – анти-CTLA-4 + PD1-антитела (независимо от PD-L1/2-статус), включване в клинично изпитване, химиотерапия или симптоматично лечение (засега в България е възможно приложение на BRAF-инхибитор; при прогресия – включване в клинично изпитване, химиотерапия или симптоматично лечение).

Терапия при мутации на cKIT, NRAS и GNAQ/GNA11. cKIT-мутации на ехон 11 и 19 са най-чести при акрални и мукозни меланоми и са обект на таргетна терапия. Използвани са няколко агента като най-добър ефект имат *imatinib* и *nilotinib* – общ сис-

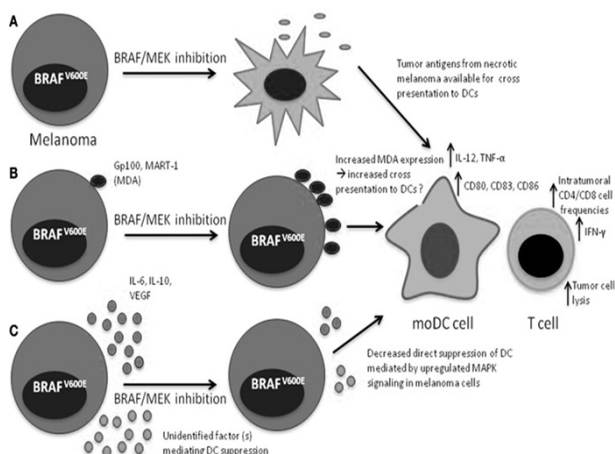
темен отговор > 20%.¹³ Тази таргетна терапия е още в процес на проучване. Най-честа причина за неуспех са случаи, когато се касае за амплификация на гена или когато мутацията се комбинира с други активиращи мутации, като най-често мутиралият статус е на NRAS (NRAS-mt).

NRAS-mt е по-рядка от BRAF-mt и двете мутации по принцип са взаимно изключващи се. При поява на резистентност към таргетно лечение с BRAF-инхибитор може да настъпи парадоксална ретроградна (upstream) регулация на BRAF – амплификация и дори мутация. Като самостоятелна мутация засега NRAS не е подходяща мишена за таргетна терапия поради различна локализация на мутациите. В процес на проучване е терапия с MEK-инхибитор (проучване NEMO), като резултатите не са много оптимистични – общ системен отговор 14%, медианна ПБП – 3.6 месеца и ОП – 12.5 месеца.¹⁴ NRAS-mt е чест при мозъчни метастази и е с по-лоша прогноза от BRAF-mt.

GNAQ/GNA11 са мутации, които се срещат само при увеален (окуларен) меланом. Установена е активация на MAPK-сигналния път без други мутации. Най-добри резултати засега има таргетна терапия с MEK-инхибитора *selumetinib* (регистриран от FDA като лекарство-сирак): общ системен отговор – 14%, медианна ОП – 12 месеца.¹⁵ Надеждна засега е таргетна терапия с инхибитора на PKC (протеин киназа C) – AEB071, самостоятелно или в комбинация с MEK-инхибитор.

В 80% от случаите метастазите са само в черен дроб, така че трябва да се имат предвид и варианти за локална терапия (оперативна, радиофреквентна аблация или интраартериална химиотерапия).

При всички гореописани мутации протичат проучвания с имунотерапия с начални резултати за общ системен отговор около 20%; в ход са проучвания и за таргетна терапия с нови таргети. Най-обещаващо



Фигура 3. Повишаване на експресията на туморни антигени и понижаване на нивата на имunosупресивни цитокини.

засега е таргетното лечение с комбинацията на MEK- в комбинация със CDK4/6-инхибитор (LEE011) при КМ с NRAS-mt.

Комплексната терапия на КМ в стадий IIIc/IV вече не е „клише“, а навлезе в нов етап. Комбинацията с таргетни агенти е необходима за имунотерапията заради експресиране на туморните антигени и намаляване на имunosупресивната микросреда около тумора (Фиг. 3).

Подобна е ситуацията и с палиативното лъчелечение на отделни метастази, което придоби нов смисъл в комбинация с имунотерапия (радиоимунотерапия) - дори и при частично разрушаване на туморните клетки се освобождават туморни антигени, необходими за стимулация на адаптивния имуноен контрол, което обяснява потенциалният синергизъм за комбиниране на двата метода на лечение.

Метастазектомията, която по-рано се считаше за безперспективна и неетична спрямо пациента и се свеждаше само до животосъхраняващи операции (оперативно премахване на мозъчни метастази или примерно метастази в черва, предизвикващи илеус), вече е с разширени индикации. Намаляването на туморната маса е много важно за ефективна таргетна и имунотерапия.

Базоцелуларен карцином (БЦК)

Този карцином е с най-висока заболяемост от всички кожни тумори, но е и с най-благоприятна прогноза. Проблематични са редки случаи на локално авансирал БЦК (около 5%) и изключително редките случаи с метастазиране. След изчерпване на възможностите на локалното лечение (оперативно и лъчетерапия) може да се премине към таргетна терапия с Hedgehog-инхибитора *vismodegib* (или с предстояща регистрация *sonidegib*). Сигналният път Hedgehog е активен през времето на ембрионалното развитие; постнатално се активира временно само при стволови клетки. Сигналният път не е напълно проучен, но е установена ключовата роля на два мембранни протеина – *patched* (PTCH) и *smoothen* (SMO). Протеинът SMO е активиращ медиатор на недобре проученото предаване на сигнала до нуклеарните транскрипционни фактори *Gli* (*glioma*), инициращи клетъчната пролиферация; за своето активиране SMO се нуждае от стерол. Ролята на протеина PTCH е да инактивира интрацелуларния стерол чрез т.нар. стеролова помпа. Автоили паракринно секретираният лиганд *sonic hedgehog* (SHH) се свързва с PTCH, блокирайки стероловата помпа и така SMO се активира. *Vismodegib* се свързва със SMO и по този начин инхибира активацията на сигналния път, независимо дали се касае за мутация в PTCH или SMO. Регистрационното проучване STEVIE установи най-добър туморен отговор в 65% (общ системен отговор – 43% при локално авансирал БЦК и 30% – при метастатичен БЦК), като при случаите с наследствен и генетично обусловен БЦК с мутация на PTCH1 (базоцелуларен невус синдром и синдром на *Gorlin-Goltz*) повлияването е пълно. Причините за резистентност са първоначална вътрешна

(intrinsic) резистентност при 48% от спорадичните БЦК. При 20% от повлиялите се БЦК в рамките на една година се появява придобита резистентност.¹⁶

Плоскоклетъчен карцином (ПКК)

Това е вторият по честота кожен тумор. В около 5% от случаите може да метастазира, предимно по лимфен път. Локално авансирани и метастатични ПКК (с изчерпана възможност за хирургия и/или лъчетерапия) подлежат на системна терапия с *cisplatin* и *5-Fluorouracil*. В България в момента за ПКК няма регистрация за таргетна терапия с EGFR-инхибитора *cetuximab*, но в рамките на клинични изпитвания има описани случаи на драматично повлияване.

Merkel-клетъчен карцином (МКК)

Той е рядък тумор, но с бързо повишаваща се заболяемост. Въпреки че първичният тумор се стадира като карцином, биологията му повече наподобява тази на КМ и стадирането на N- и M-категориите е същото като при КМ. През 2008 г. се установи, че при 80% от случаите (в Европа) МКК е причинен от полиома вирус (MSV) и сега туморът се разделя на вирус-позитивен и вирус-негативен. Само вирус-позитивните МКК експресират PD-L1 и са започнали клинични изпитвания с имунотерапия с моноклонални антитела – анти-PD-1 (*pembrolizumab*) и анти-CTLA-4 (*ipilimumab*). Друга терапия е с конюгата *lorvotuzumab mertansine* (IMGN901), който е хуманизирано анти-CD56-антитяло (NCAM) и таргетиращ микротубулите агент *maytansinoid*. Препаратът е регистриран от FDA като лекарство-сирак.

Още няколко таргетни агенти се проучват, но засега данните са ограничени поради малък брой пациенти – *imatinib*,

pazopanib, cabozantinib, oblimersen sodium (G3139) и др.

Заклучение

През последните четири години настъпи обрат в лечението на кожните тумори с въвеждането на иновативни терапии. Така кожният меланом се превърна, образно казано, от тумор без реални шансове за успех от системно лечение в „рекламно лице“ на таргетната и имунотерапията.

ЛИТЕРАТУРА

1. Grant A McArthur, et al. Safety and efficacy of vemurafenib in BRAFV600E and BRAFV600K mutation-positive melanoma (BRIM-3): extended follow-up of a phase 3, randomised, open-label study. *Lancet Oncol* 2014; publ online Febr 7, 2014.
2. Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 380 (9839): 358-365.
3. Flaherty KT, Robert C, Hersey P. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2012; 367: 107-114.
4. Long GV, Stroyakovsky DL, Gogas H, Levchenko E. COMBI-d: A randomized, double-blinded, Phase III study comparing the combination of dabrafenib and trametinib to dabrafenib and trametinib placebo as first-line therapy in patients (pts) with unresectable or metastatic BRAF^{V600E/K} mutation-positive cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2014; 32: 5s (Suppl; Abstr 9011).
5. Robert C, Karaszewska B, Schachter J, P. Rutkowski. LBA4_PR - COMBI-v: A randomised, open-label, phase III study comparing the combination of dabrafenib (D) and trametinib (T) with vemurafenib (V) as first-line in Unresectable or Metastatic BRAF V600E/K Cutaneous Melanoma. ESMO 2014.
6. Larkin J, et al Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF-Mutated Melanoma. *NEJM* 2014; 371: (20):1867-76. doi: 10.1056/NEJMoa1408868. Epub 2014 Sep 29.
7. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2011; 364 (26): 2517-2526.

ТАРГЕТНИ И ИМУНОТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ

8. Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, et al. Pooled analysis of long-term survival data from phase II and phase III trials of ipilimumab in metastatic or locally advanced, unresectable melanoma. (ESMO), Amsterdam, Netherlands, September 27-October 1, 2013. Abstract LBA24.
9. Weber J, D'Angelo, Hodi St. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015; 16 (4): 375-384.
10. Ribas A, Schachter J, Long GV et al. Phase III study of pembrolizumab (MK-3475) versus ipilimumab in patients with ipilimumab-naive advanced melanoma. AACT Abstract CT101, April 2015.
11. First randomized study evaluating Opdivo (nivolumab) + Yervoy (ipilimumab) regimen demonstrates superior efficacy versus yervoy alone in patients with previously untreated advanced melanoma phase II trial (CheckMate-069) ClinicalTrials.gov
12. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. *Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification*. *J Clin Oncol* 2009; 27 (36): 6199-206.
13. Hodi FS, Corless CL, Giobbie-Hurder A. Imatinib for melanomas harboring mutationally activated or amplified KIT arising on mucosal, acral, and chronically sun-damaged skin. *J Clin Oncol* 2013; 31 (26): 3182-31901130.
14. Dummer R, P Arenberge, PA Ascierto. TiP-NEMO: A phase 3 trial of binimetinib (MEK162) versus dacarbazine in patients with advanced NRAS-mutant melanoma. *Ann Oncol* 2014; 25 (Suppl. 4): iv374-iv393. 10.1093/annonc/mdu344
15. Carvajal RD, Sosman JA. Effect of selumetinib vs chemotherapy on progression-free survival in uveal melanoma: A randomized clinical trial. *JAMA* 2014; 311 (23): 2397-2405
16. Basset-Seguín N, Hauschild A, Grob JJ. Vismodegib in patients with advanced basal cell carcinoma (STEVE): a pre-planned interim analysis of an international, open label trial. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70198-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70198-1)
17. Rischin D. Merkel cell carcinoma: emerging biology, current approaches, and future directions. ASCO 2015, Educational book.

ПРАВА НА ОНКОЛОГИЧНИТЕ ПАЦИЕНТИ

проф. д-р Златица Петрова, дм

Катедра Здравна политика и мениджмънт, ФОЗ
Медицински университет – София

ПРАВА НА ОНКОЛОГИЧНИТЕ ПАЦИЕНТИ

проф. д-р Златица Петрова, дм

Катедра Здравна политика и мениджмънт, ФОЗ
Медицински университет – София

ОБЗОР

В статията е направен кратък преглед на признаване правата на пациента, което е поставено в началото на 20-ти век. Тогава за първи път се уреждат законово правоотношения, свързани с взаимодействието лекар и пациент, основаващи се на принципите на човешко достойнство, справедливост и безпристрастие, солидарност, професионална етика. При създаването на Световната здравна организация през 1946 г се отбелязва следното: „Постигането на най-високо достижимите стандарти на здравето е едно от фундаменталните права на всяко човешко същество...”. Днес правната уредба на правата на пациентите е застъпена широко навсякъде по света.

Разгледани са фундаментални права и здравното обслужване, подходите в европейското законодателство, регламентираните права в българското законодателство. Основен акцент е поставен върху правата на онкологично болните- здравни и социални. Подчертано е значението на познаването на факторите, определящи предпочитанията или избора на пациента, което е необходимо при ръководенето на болния при процеса на вземане на решение. Четири са факторите, които повлияват взимането на решение при онкологично болните: отношението на пациентите и надеждите им, отношението на лекаря, начина, по който информацията е представена и тежестта на риска и ползата от различните терапевтични режими.

Увод

Началото на признаване на правата на пациента е поставено в началото на ХХ век, когато за първи път се уреждат законово правоотношения, свързани с взаимодействието на лекар и пациент, основаващи се на принципите на човешко достойнство, справедливост и безпристрастност, соли-

дарност и професионална етика. Още при създаването на Световната здравна организация (СЗО) през 1946 г. се отбелязва следното: „Постигането на най-високо достижимите стандарти на здравето е едно от фундаменталните права на всяко човешко същество...”. Днес правната уредба на правата на пациентите е застъпена широко навсякъде по света.

Фундаментални права и здравно обслужване⁸

Правото на здраве за първи път е ясно изразено в преамбюла на Конституцията на СЗО от 1946 г. В Конвенцията на Съвета за Европа за човешките права и биомедицина член 1 гласи: *да защитава достойнството и идентичността на всички човешки същества и уважава техния интегритет и други фундаментални права и свободи*. В същия документ са формулирани и други права: съгласие за лечение, частен живот и право на информация, контрол върху генетиката и забрана на дискриминацията, научни изследвания, отстраняване на органи и тъкани от живи донори за трансплантация. Съветът на Европа е приел и допълнителни протоколи за клониране, трансплантация и биомедицински изследвания.

Европейската конвенция за човешки права (ECHR) е приета през 1950 г. Много страни членки на Европейски съюз (ЕС), които са субект на конвенцията, са подписали протоколи, даващи възможност на отделни граждани да представят случаи пред Европейския съд за следните човешки права: относно статуса на фетуса и аборта (чл. 2); за разпределение на ресурсите в здравните системи; за правото на смърт; за правото на свобода и сигурност (чл. 5) в контекста на психическото здраве; за право на неприкосновеност (чл. 8) при разглеждане на репродуктивните права; за право на сключване на брак и създаване на семейство.

В Европейската социална харта, ревиизирана през 1996 г., чл. 11, е определено право на защита на здравето: *да се осигуряват заведения за образование и съвети по укрепване на здравето; възможна превенция на епидемични, ендемични и други болести, както и инциденти*. Това се отнася към категорията на т.нар. „негативно право”, в които се съдържат основно пожелателни действия, без да са осигурени финансови ресурси. Трети-

рат се шест аспекта на правото на здраве: (1) осигуряване на медицински персонал и оборудване на подходяща медицинска помощ за цялото население; (2) специален достъп на уязвимите групи до здравно обслужване; (3) защитни мерки за обществено здраве (чистотата на въздуха и водата, снижаване на шума, хранителен контрол и хигиена на околната среда); (4) здравно образование; (5) ваксинации, дезинфекции и контрол на епидемии; (6) колективни органи да поемат (или поне частично) разходите за здравните услуги.

Във Великобритания се наблюдава увеличение на листите на чакащите, което показва, че явно не се осигурява правото на здраве за всеки.

В Харта 2000 на Европейската комисия за фундаментални права има седем заглавия и се съдържа цялата философия на документа: достойнство, свобода, равенство, солидарност, гражданско право, правосъдие и общи заключения: фундаментален принцип на човешкото достойнство (чл. 1); право на живот (чл. 2); право на здравно обслужване (чл. 2 и 35); интегритет на личността (чл. 3), включващ свободно и информирано съгласие, забрана на евгенични практики, забрана за ползване на човешкото тяло като източник на финансова полза, забрана на репродуктивно клониране на човешки същества; директива за клинични изпитвания (чл. 7); специфична защита на личните данни (чл. 8), вкл. Директива за защита на данните; права на детето (чл. 24); забрана на дискриминация (чл. 21); права на възрастните (чл. 25); интегриране на хората с увреждания (чл. 26).

Подходи в европейското законодателство

В европейската правна система, като цяло, могат да се обособят два законодателни подхода. В някои държави съществуват специални, самостоятелни закони за правата на пациентите. В други случаи пациентските

ПРАВА НА ОНКОЛОГИЧНИТЕ ПАЦИЕНТИ

права са уредени комплексно, но в общи нормативни актове. В някои държави началата на правната уредба, уреждаща правата на пациента, са визирани още в конституцията на съответната страна (Белгия, Унгария, Холандия, България). В държави, като Великобритания и Северна Ирландия, Германия, Франция, Дания, Холандия и Унгария и България, няма единна специална уредба на правата на пациентите, а те са уредени в различни закони (общи и специални) и кодекси – Закон за здравето (Унгария, Дания), Кодекс на народното здраве (Франция), Закон за националната здравна система (Великобритания и Северна Ирландия) и други.

В някои държави правата на пациентите са уредени в Закон за правата на пациента (Белгия, Кипър, Израел, Румъния), Закон за статуса и правата на пациентите (Финландия), Кодекс за правата на пациентите в здравните институции (Чехия). В редица държави съществуват голям брой подзаконовни нормативни актове, които допълват правната уредба на правата на пациентите (Белгия, Франция, Дания, Германия, България).

Като един от основните въпроси в материята на пациентските права се сочи проблемът за страните в правоотношението по предоставяне на медицинска помощ. Обобщено, пациентът е лице, което получава или търси медицинска помощ. В българското законодателство също се посочва легална дефиниция за пациент: *Пациент е всяко лице, което е потърсило или на което се оказва медицинска помощ* (чл. 84, ал. 1 от Закон за здравето).² В законодателството на повечето държави в Европа насрещният субект спрямо пациента се проявява в две разновидности: медицински специалист и лечебно заведение; същото се наблюдава и в българския законодателен подход. В отделните държави терминологията е сравнително различна, но основно разликата се прокарва по същността на субекта. Веднъж насрещно задължена страна в правоотноше-

нието по предоставяне на медицинска помощ е само конкретно физическо лице, а в други случаи е юридическо лице, организирано в някаква специфична правно-организационна форма. Тази разлика става дори още по-осезаема във връзка с разликата, която се прави в административно-наказателната уредба.

В правоотношението по предоставяне и получаване на медицинска помощ страните имат специфични права и задължения. Правата на пациентите могат да се разделят условно на две групи: едната група права съдържа утвърдени международни принципи, докато другата група представлява съвкупност от единични принципи, които са присъщи за отделните национални законодателства. Пациентските права с по-широка международна приложимост нямат абсолютен характер; към тези универсални права се отнасят следните единадесет: право на достъп до медицинска услуга; право на качествено медицинско обслужване; право на избор на лекуващ лекар; право на избор на здравно заведение; право на свободно напускане на здравно заведение; право на пациента да бъде информиран; право на информирано съгласие; право на поверителност на информацията, свързана с пациента; право на личен живот; право на трансплантация или отказ от трансплантация на органи и продукти от човешко тяло; право на жалба и обезщетение.

Към втората условна група може да се причислят онези пациентски права, чието приложение е ограничено в специфичните национални правни рамки; такива права са следните осем: право на пациента да бъде представяван от пациентски асоциации; право или отказ от биомедицински изследвания; право на свободно изразяване на мнение за медицинското обслужване в здравното заведение; права на пациента относно възпроизвеждането; права по време на научни изследвания или експериментално лечение; право пациентът да бъде или да не бъде в кон-

такт с други лица по време на предоставяне на болнична помощ; право на аборт; право на медицинска стерилизация и много други.

Правата на пациентите и лекарите в повечето държави от ЕС са обвързани със задължения за лекарите и/или пациентите. Разбира се, задълженията в отделните държави са конкретизирани и уредени по различен начин. Правна уредба на задълженията, както на лекарите, така и на пациентите, се среща например в Белгия, Франция, Германия, Унгария, Холандия и в България.⁸

Регламентирани права в българското законодателство

Основите на съвременното българско законодателство в сферата на правата на пациентите се поставя още в Конституцията на Република България от 1991 г.⁷ В глава втора, *Основни права и задължения на гражданите*, чл. 52, се регламентира общото и универсално право на гражданите на здравно осигуряване, гарантиращо им достъпна медицинска помощ, както и безплатно ползване на медицинско обслужване, като се препраща към специалните закони (Закон за здравето и др.). Също така се конституира, че здравеопазването на гражданите се финансира от държавния бюджет, от работодателите, от лични и колективни осигурителни вноски и други източници, като отново се препраща към специалните закони (Кодекс за социалното осигуряване, Закон за здравното осигуряване, Закон за комисията за финансов надзор и др.). Като основен принцип се прокламира, че *държавата закриля здравето на гражданите*.

Наред с общите права, Конституцията регламентира и специфични права под формата на забрана: *никой не може да бъде подлаган принудително на лечение и на санитарни мерки, освен в предвидените от*

закона случаи. Тук отново е налице препращане към специалния закон. Освен това, при тази конституционна разпоредба ясно може да се види как тя кореспондира с основни и специфични права на пациента – право на информирано съгласие, право на отказ от лечение, които по своя вид се явяват общи пациентски права, както и с корелативно свързаната специална уредба на същите тези права – в хипотезата на лица с психични разстройства и установена неспособност или при непълнолетие на пациента. Така, от една страна, едно универсално конституционно право се трансформира в общите закони като общо право, но същевременно намира и своята проекция като специално, както в общия, така и в други специални закони.

В допълнение към гореизложеното развитие на конституционното право трябва да се отбележи, че законовата уредба намира своето обемно доразвитие на ниво подзаконовни нормативни актове и от там – приложението им в реалните обществени отношения. Ето защо не случайно в редица държави, освен България, основите на законодателството, свързано с правата на пациента, се поставя още в Конституцията (например в Белгия, Испания, Унгария, Холандия). Основните права на гражданите, съответно – на пациентите, са неотменими и всяко допълнение или изменение в тях, което би противоречило на основния закон на Република България, подлежи на обявяването им за противоконституционно. В този тесен смисъл би могло да се каже, че Конституционният съд е и орган по защита правата на пациентите.

Значимостта на конституционната уредба, свързана с правата на пациентите, се допълва и с разпоредбата на чл. 5, ал. 4, според която ратифицираните международни актове, обнародвани в *Държавен вестник* и влезли в сила, стават част от националното, вътрешно право на страната. И в този смисъл международните и европейските актове в об-

ПРАВА НА ОНКОЛОГИЧНИТЕ ПАЦИЕНТИ

ластта на здравното осигуряване, здравеопазването, правата на пациентите и т.н., по които Република България е страна и ги е ратифицирала, не само стават част от вътрешното законодателство на страната, но и при противоречие с националното законодателство примат се дава на наднационалната норма.

В българското законодателство основна част от общите права на пациентите са уредени в Закон за здравето, като общ, комплексен закон.¹³ В глава трета от Закона за здравето, *Медицинско обслужване*, е уреден отделен раздел, озаглавен *Права и задължения на пациента*. Там се посочват конкретни, отделни права на пациентите, систематизирани в чл. 86, който търпи изменения и допълнения през годините. Също така в посочения по-горе раздел се дава дефиниция за пациент (чл. 84), урежда се забрана за дискриминация (чл. 85), поставя се и подробна уредба на Обществен съвет по правата на пациента към министъра на здравеопазването (чл. 86а), представителните организации за защита на правата на пациента (чл. 86б, в), а в чл. 94 законово се закрепват и задълженията на пациента.

В общия закон се уреждат и редица механизми за защита на правата на пациентите. На първо място към министъра на здравеопазването се създава Обществен съвет по правата на пациента (чл. 86а от Закон за здравето). Общественият съвет по правата на пациента е консултативен орган. Той наблюдава и анализира всички дейности, свързани с правата на пациента; изготвя ежегоден доклад по въпросите на правата на пациента и го предоставя на министъра на здравеопазването; анализира прилагането на нормативната уредба в областта на правата на пациента и изготвя предложения за изменението и допълнението ѝ, които предоставя на министъра на здравеопазването; обсъжда и дава становища по проекти на нормативни актове, свързани с правата на пациента.

Следващ способ за защита правата на пациентите представлява уредбата на т.нар. пациентски организации в качеството им на граждански представители на групи пациенти. Този способ е широко разпространен в световен мащаб и законодателството на Република България актуално (в чл. 86б и чл. 86в от Закон за здравето) урежда режима на създаване и функциониране на организациите за защита на правата на пациентите.

В чл. 93 от Закона за здравето се урежда ясен механизъм за защита на правата на пациентите пред Регионалните здравни инспекции. Така пациентът, съответно неговият родител, настойник или попечител, както и други изчерпателно изброени лица, имат право да подават жалби и сигнали до регионалната здравна инспекция при нарушаване на правата им, уредени в Закона за здравето.

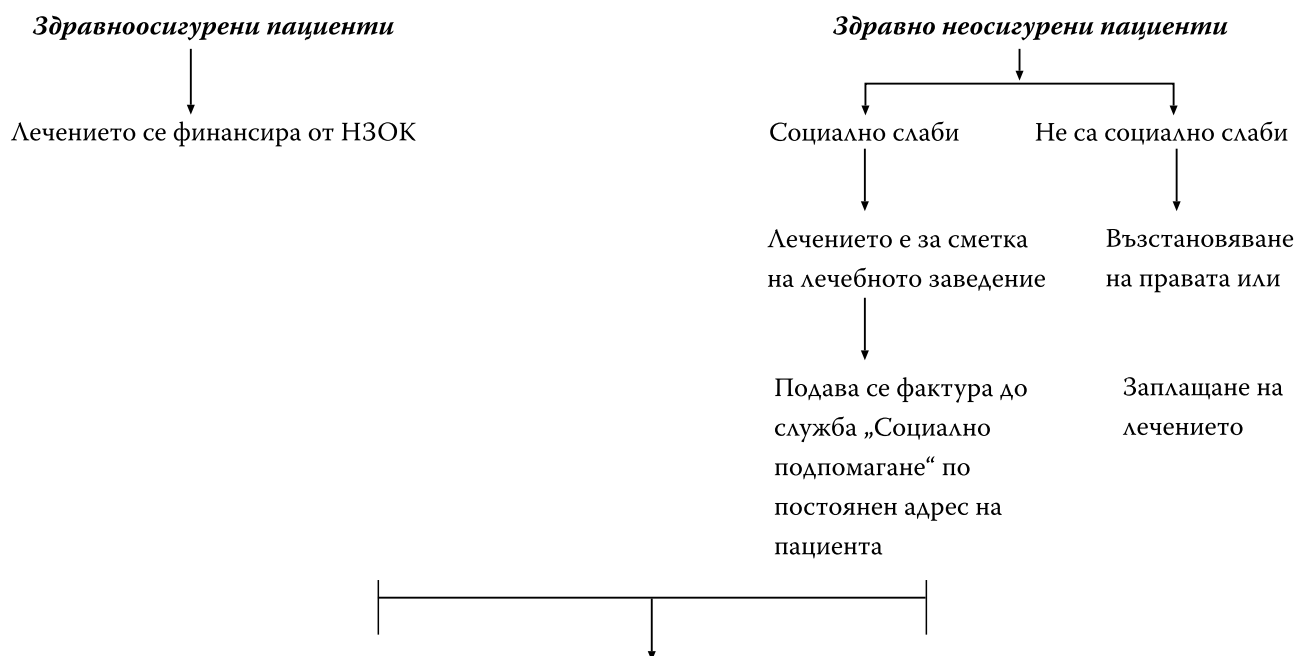
Друг административен способ за защита се осъществява чрез Изпълнителна агенция *Медицински одит* към Министерство на здравеопазването – за осъществяване на контрол върху медицинското обслужване на гражданите, включително и що се отнася до спазването на правата на пациентите в лечебните заведения.

Освен основните общи права, уредени в общия за тази област закон (Закон за здравето) съществува обширна специална нормативна уредба, състояща се от редица законови и подзаконовни нормативни актове. Сред тях съществено място заемат Закон за лечебните заведения, Закон за здравното осигуряване, Закон за лекарствените продукти в хуманната медицина, Закон за съсловните организации на лекарите и лекарите по дентална медицина, Закон за трансплантациите на тъкани, органи и клетки. В посочените законови нормативни актове се уреждат специфични обществени отношения, които, от една страна, доразвиват общите права на пациента, а от друга страна, създават нови, специални пациентски права, които се проявяват само в определни хипотези

и при изчерпателно изброени субекти. Специфични тук се явяват инструментите и механизмите за защита на правата на пациентите, както и органите със законово делегирани правомощия относно защита на правата на пациентите. Но характерно за всички органи в изпълнителната власт, ангажирани със защита на правата на пациентите, е наличието на специална компетентност. Основен способ, залегнал

в законодателството, не само на България, но и на повечето държави, при регламентиране на процедурата за защита на пациентските права, е подаването на жалба. Защитата може да се осъществи както при самосезиране, така и при сезиране, т.е. с получаване на жалба или сигнал, включително от други органи в структурата на държавната власт.

ЗДРАВНИ ПРАВА



1. *Път на пациента:* операция, хистологично изследване (или обратен вариант според конкретния случай), ако е карцином на гърда, задължително се изследва HER2.
2. *Лечението се осъществява по „Стандарт за лекарствено лечение на солидни злокачествени тумори при възрастни“, актуализиран всяка година от Българското онкологично дружество.*
3. *Място на лечение:* онкологични болници и центрове по протокол от онкологичен комитет, проведен в самата болница. Пациентът може да яви на такъв комитет в няколко болници (центрове) и да избере здравното заведение, в което да се лекува.
4. *Участие на пациента в клинични изпитвания на нови лекарства в клиниките:* ако отговаря на зададените критерии.
5. *Лечение в страна на ЕС:* НЗОК заплаща сума, отговаряща на лечението в България, а пациентът доплаща разликата.
6. *Диспансеризация (проследяване):* извършва се след приключване на операции и терапии по таблица Приложение № 11 „Обем и честота на дейностите при диспансерно наблюдение при злокачествени заболявания“ от Наредба № 40/2004 г. на МЗ, допълнена в ДВ, бр. 99 от 2012 г.
7. *Обем на прегледите:* определя се от наблюдаващия онколог.

Фигура 1. Здравни и социални права на онкологичните пациенти.

Права на онкологичните пациенти

Нуждата от национално ръководство за психосоциална подкрепа и рехабилитация в онкологията е обусловена от клиничната актуалност на интегрирането на съвременните модели за палиативно поведение със стандартите за онкологични грижи, както и на фундаменталните права съгласно Конвенция на Съвета за Европа за човешките права и биомедицина. Освен общите универсални права, бихме могли да извлечем и специфични такива, които се делят на две – здравни и социални (Фиг. 1).

Социални права на пациентите

Произлизат от диагнозата и процента на намалена работоспособност, определен от ТЕЛК: (1) защита от съкращение – чл. 1, ал. 1 от Наредба № 5 от 20.02.1987 г.; (2) други социални права: данъчни облекчения, интеграционни добавки, помощи и помощни средства са събрани на едно място: <http://oncobg.info/files/nar12.doc.pdf>.

Универсалното право на пациента да получи качествена медицинска помощ и правото на информираност създава възможност той да бъде участник при вземане на решение за неговите диагностика и лечение. В ерата на научни открития и авангардни терапии мнението и отношението на пациента придобиват все по-голямо значение¹⁰, защото са величини, неизследвани до момента, но несъмнено приемани за фактор при оценката на отговора към терапията и дори на приживяемостта. Затова болният става определяща страна в процеса на лечението като се определят нуждите и отношението му към лекарствената терапия, как те са свързани с характеристиката на пациента и динамиката в хода на лечението.

За проблема на отношението на пациента към терапията се заговаря още по-сериозно през 90-те години на XX век, когато се обръща внимание на значението на страничните ефекти от лечението. Химиотерапията като терапевтичен метод е свързана с много нежелани лекарствени реакции, които пряко повлияват качеството на живот и са фактор при формиране на отношението към терапията. Подчертава се необходимостта от познаване на отношението на пациента към терапията и влиянието на страничните ефекти от нея върху качеството му на живот. Например невропатичните симптоми са свързани с много аспекти от ежедневието и пациентите споделят чувство на депресия и загуба на целите като резултат от отказа от любимите си занимания. Това прави комуникацията с пациента по отношение на възприемането му на страничните ефекти особено важно. Проучване на Lindrey *et al.*¹² е инициентирано, за да идентифицира и сравни възприятията по отношение на нарушаването на качеството на живот от страничните ефекти на химиотерапията при пациенти с онкологична болест в сравнение с неонкологични или химионаивни пациенти: 146 онкологични пациенти и 224 неонкологично болни отговарят на въпроси за психосоциалните аспекти на страничните ефекти при химиотерапия и трябва да изброят десетте, които най-много ги притесняват. За онкологичните пациенти алоpeciaята (50%), промените във вкусовите възприятия (46%), умората (42%), засягането на работните задължения (39%), промяната на мириса (35%) са най-често отбелязваните като сериозно или много пречещи. Най-проблемните странични ефекти са гадене, алоpeciaята, умора, повръщане и промени във вкуса. При неонкологични пациенти това са финансовата тежест (82%), натоварването върху семейството (78%), повръщане (73%), задух (70%), възможността да се справят с

работните си задължения (69%), а за петте най-тежки странични ефекти са определени повръщането, тежестта върху семейството, алопецията, финансовото натоварване и гаденето. В този контекст *Stiggelbout et al.*¹⁴ показват, че много по вероятно е младите онкологични пациенти да се стремят към по-голяма продължителност на живота, отколкото по-възрастните, за които стремежът е към качество на живот и избягване на странични ефекти. Пациентите, които вярват, че ще живеят поне още шест месеца, е много по-вероятно да изберат лечение, удължаващо живота, отколкото такова за подобряване на симптомите, в сравнение с тези, които приемат, че шансът им да преживеят следващите шест месеца е по-малък от 10%. Предпочитанията към лечението на тежко болните, които са с много лоша прогноза, са определящи за тежестта на лечението, очаквания изход от него и вероятността за този изход.

Познаването на факторите, определящи предпочитанията или избора на пациента, е необходимо при ръководенето на болния в процеса на вземане на решение. Четири фактора, определени от *Richards et al.*¹⁵, повлияват взимането на решение при онкологично болни: отношението на пациентите и надеждите им, отношението на лекаря, начина, по който информацията е представена, и тежестта на риска и ползата от различните терапевтични режими. Смята се, че отношението на пациента и надеждите му се базират на минал опит, семейство, приятели, медии и други.^{15,16} Отношението на лекаря се повлиява от това, което се приема за цел на терапията – контрол на симптомите, удължаване на живота и даване на надежда.¹⁷ Редица проучвания разглеждат проблема за значението на нагласата на пациента към прилаганото му лечение и способността на лекаря да я оцени. Някои обръщат внимание и на влиянието,

което оказва начинът, по който е поднесена информацията.¹⁸⁻²⁰ Установява се, че систематизирането на информацията оказва влияние върху избора на пациента.¹⁸⁻²⁰ Природата на риска и ползата от различните режими на лечение може да повлияе върху избора на лечение на пациента, както е показано в няколко проучвания, обхващащи ранни болести. Противно на малкото проучвания за избор на терапия, няколко анализи са направени за предпочитанията на болните за лечение.^{14, 18, 24-26} В литературата предпочитанието на пациента е прието и използвано като индикация за избор на лечението му. Изборът на терапия се извършва след първоначална оценка на състоянието, като се вземат предвид различни фактори: естество, продължителност и тежест на състоянието, възраст, личностни особености и нагласи на пациента. Всички проучвания, занимаващи се с темата за отношението на пациента към прилаганото му лечение, извеждат на преден план значението на нагласата на болния към съответната терапия и макар да не предлагат еднозначен отговор, поставят въпроса за нейното влияние върху изхода от лечението и преживяемостта. Затова стойността, която има пациентът, става особено ценна.⁹

Проблеми, свързани с правата на пациентите

Независимо от регламентираните права в Българското законодателство и възможностите за съблюдаването им, съществуват все още нерешени проблеми, които създават напрежение в системата. Регламентираното право на информираност на пациента по чл. 87 от Закона за здравето гласи: *Медицинските дейности се осъществяват след изразено информирано съгласие от пациента, процес, в който информираният пациент може да направи избор за диагностиката и лечението/интервенци-*

ПРАВА НА ОНКОЛОГИЧНИТЕ ПАЦИЕНТИ

ята, които му предстоят. Създава се възможност пациентът да бъде участник при вземане на решение за неговите диагностика и лечение/интервенция. Медицинската информация се предоставя на пациента, съответно на неговия родител, настойник или попечител, своевременно и в подходящ обем и форма, даващи възможност за свобода на избора. При хирургични интервенции, обща анестезия, инвазивни и други диагностични и терапевтични методи, които водят до повишен риск за живота и здравето на пациента или до временна промяна в съзнанието му, информацията по чл. 88 на Закона за здравето и информираното съгласие се предоставят в писмена форма.

Ниската информираност на пациентите за целите, сроковете, ефектите от здравната реформа, невключването им в нея е проблем, който намира отражение в проявата на толерантност от страна на пациентите и техните близки към здравната система. Наблюдава се снижаване на общественото доверие към медицинските специалисти като цяло, към системата, както и максималистични очаквания и пасивно консумативно отношение към проблемите на здравеопазването.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ангелова Л. Наръчник на пациента с онкологични заболявания, АПОЗ, 2010.
2. Закон за здравето. Сборник нормативни актове, 4 издание, Сиби, 2011.
3. Закон за лечебните заведения. Сборник нормативни актове, 4 издание, Сиби, 2011.
4. Закон за здравното осигуряване. Обн. ДВ, бр. 70 от 19 юни 1998 г. и изменения.
5. Закон за лекарствените продукти в хуманната медицина. Обн. ДВ, бр. 31 от 13 април 2007 г. и изменения.
6. Закона за трансплантацията на органи, тъкани и клетки. Обн. ДВ, бр. 83 от 19 септември 2003 г. и изменения.
7. Конституция на Р. България. 1992.
8. Петрова, З, С. Генов. Управление на здравната система. Хелт медия, София, 2013, стр. 2010-2016.
9. Чилингирова, Н. Нови подходи в лечението на рака на белия дроб. Проект на дисертационен труд, 2015.
10. Yusuf RA, et al. Attitudes toward molecular testing for personalized cancer therapy. *Cancer* 2015; 121 (2): 243-250.
11. Sneeuw KC, et al. Evaluating the quality of life of cancer patients: assessments by patients, significant others, physicians and nurses. *Br J Cancer* 1999; 81 (1): 87-94.
12. Lindley C, et al. Patient perception of the impact and magnitude of the side-effects of chemotherapy: the Coates study revisited (Meeting abstract), ASCO Annual Meeting. 1996.
13. Lindley C, et al. Perception of chemotherapy side effects cancer versus noncancer patients. *Cancer Pract* 1999; 7 (2): 59-65.
14. Stiggelbout AM, de Haes JC. Patient preference for cancer therapy: an overview of measurement approaches. *J Clin Oncol* 2001; 19 (1): 220-230.
15. Richards MA, et al. Offering choice of treatment to patients with cancers. A review based on a symposium held at the 10th annual conference of The British Psychosocial Oncology Group, December 1993. *Eur J Cancer* 1995; 31 (1): 112-116.
16. Jansen SJ, et al. Stability of patients' preferences for chemotherapy: the impact of experience. *Med Decis Making* 2001; 21 (4): 295-306.
17. Maher EJ, et al. Treatment strategies in advanced and metastatic cancer: differences in attitude between the USA, Canada and Europe. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 23 (1): 239-244.
18. Flood AB, et al. The importance of patient preference in the decision to screen for prostate cancer. Prostate Patient Outcomes Research Team. *J Gen Intern Med* 1996; 11 (6): 342-349.
19. McQuellon RP, et al. Patient preferences for treatment of metastatic breast cancer: a study of women with early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 1995; 13 (4): 858-868.
20. Yellen SB, Cella DF. Someone to live for: social well-being, parenthood status, and decision-making in oncology. *J Clin Oncol* 1995; 13 (5): 1255-1264.

21. Fetting JH. Psychosocial aspects of breast cancer. *Curr Opin Oncol* 1991; 3 (6): 1014-1018.
22. Siminoff LA, Fetting JH. Factors affecting treatment decisions for a life-threatening illness: the case of medical treatment of breast cancer. *Soc Sci Med* 1991; 32 (7): 813-818.
23. Cassileth BR, et al. Informed consent -- why are its goals imperfectly realized? *N Engl J Med* 1980; 302 (16): 896-900.
24. Cassileth BR, et al. Information and participation preferences among cancer patients. *Ann Intern Med* 1980; 92 (6): 832-836.
25. Llewellyn-Thomas HA, McGreal MJ, Thiel EC. Cancer patients' decision making and trial-entry preferences: the effects of "framing" information about short-term toxicity and long-term survival. *Med Decis Making* 1995; 15 (1): 4-12.
26. McNeil BJ, et al. On the elicitation of preferences for alternative therapies. *N Engl J Med* 1982; 306 (21): 1259-1262.
27. Larsson G, Haglund K, Von Essen L. Distress, quality of life and strategies to 'keep a good mood' in patients with carcinoid tumours: patient and staff perceptions. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2003; 12 (1): 46-57.



МОРЕ
2015
ЭКСПЕРТЕН БОРД

ЕКСПЕРТЕН БОРД

Клинично поведение при кожен меланом

доц. д-р Ангел МИЛЕВ

СБАЛО – София

проф. д-р Асен ДУДОВ

УМБАЛ Царица Йоанна – София

д-р Борислав ЧАУШЕВ

УМБАЛ Св. Марина – Варна

д-р Валентин ИВАНОВ

МБАЛ Токуда – София

д-р Веселина КОЛЕВА

МБАЛ Токуда – София

д-р Гергана ШАЛАМАНОВА

КОЦ – Пловдив

доц. д-р Димитър КАЛЕВ

УМБАЛ Св. Марина – Варна

чл. кор. проф. д-р Драга ТОНЧЕВА

Медицински университет – София

проф. д-р Екатерина ПЕЙЧЕВА

СБАЛО – София

доц. д-р Елица ЕНЧЕВА

УМБАЛ Св. Марина – Варна

д-р Емил КОСТАДИНОВ

УМБАЛ Царица Йоанна – София

д-р Иво ГЕРГОВ

СБАЛО – София

проф. д-р Ирена КОСТАДИНОВА

УМБАЛ Александровска – София

доц. д-р Красимир КИРОВ

СБАЛО – София

д-р Красимир КОЙНОВ

МБАЛ Сердика – София

д-р Мариана ЗАМИР

Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem

доц. д-р Мария БАЛАБАНОВА

УМБАЛ Александровска – София

доц. Милка ГЕОРГИЕВА

УМБАЛ Св. Марина – Варна

проф. д-р Милчо МИНЧЕВ

СБАЛХЗ – София

д-р Надя ДИМИТРОВА

СБАЛО – София

проф. д-р Петранка ТРОЯНОВА

УМБАЛ Царица Йоанна – София

д-р Петя ПЕЕВА

КОЦ – Стара Загора

доц. д-р Румен ГАБРОВСКИ

КОЦ – Шумен

д-р Румен ЛАЗАРОВ

МБАЛ Токуда – София

проф. д-р Светлана ХРИСТОВА

УМБАЛ Александровска – София

проф. д-р Татяна ХАДЖИЕВА

УМБАЛ Царица Йоанна – София

д-р Яна БОЧЕВА

УМБАЛ Св. Марина – Варна

КЛИНИЧНО ПОВЕДЕНИЕ ПРИ МЕЛАНОМ

Текстове за продължаващо медицинско обучение

Българска. Първо издание

Редактор: *доц. д-р Димитър Калев, д.м.*

Графичен и компютърен дизайн: *Петър Желев*

"АРТ ТРЕЙСЪР" ООД
Варна, 2015

ISBN 978-619-7094-14-5



9 786197 094145

БЪЛГАРСКО
ОНКОЛОГИЧНО
ДРУЖЕСТВО



МЕДИЦИНСКИ
УНИВЕРСИТЕТ
ВАРНА



УМБАЛ
"СВ. МАРИНА"
ВАРНА



МОРЕ

2016

www.more-conference.com

МУЛТИДИСЦИПЛИНАРНИ
ОНКОЛОГИЧНИ
РАЗГОВОРИ И
ЕКСТРАКТИ

СЕДМА
НАЦИОНАЛНА
КОНФЕРЕНЦИЯ

КЛИНИЧНО
ПОВЕДЕНИЕ
ПРИ ТУМОРИ
НА ГЛАВА И ШИЯ



20–22 октомври 2016, Варна



Bristol-Myers Squibb

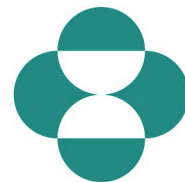
SANOFI 



NOVARTIS

caring and curing

Roche



MSD



9 786197 109404 6