



**Universiteit
Leiden**
The Netherlands

New approaches to imaging and treatment of ocular melanoma

Brouwer, N.J.

Citation

Brouwer, N. J. (2022, April 13). *New approaches to imaging and treatment of ocular melanoma*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3283451>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3283451>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).



8

Appendices

- 8.1 Dutch Summary / Nederlandse Samenvatting
- 8.2 Acknowledgements
- 8.3 Curriculum Vitae
- 8.4 List of Publications

CHAPTER 8.1 - DUTCH SUMMARY / NEDERLANDSE SAMENVATTING

NIEUWE ONTWIKKELINGEN IN BEELDVORMING EN BEHANDELING VAN OOGMELANOOM

Dit proefschrift heeft als doel om de diagnostiek van oogmelanoom te verbeteren met nieuwe beeldvormingstechnieken, en om nieuwe aangrijpingspunten te vinden voor behandeling. Zowel conjunctivamelanoom (CoM) als uveamelanoom (UM) zijn bestudeerd, twee tumortypen die betere diagnostiek en behandeling behoeven, maar elk met hun eigen genetische achtergrond en klinische presentatie. Een overkoepelend thema in meerdere projecten van dit proefschrift is ‘angiogenese’, d.w.z. vaatgroei. Dit is onderzocht om een beter begrip te krijgen over de rol van vaatvorming bij tumorgroei, bij diagnostiek, en als aangrijpingspunt voor behandeling. Door zowel UM als CoM te onderzoeken, en door zowel basale projecten als klinische projecten uit te voeren, menen wij dat dit proefschrift heeft geleid tot een beter begrip van beide tumortypen.

DEEL I – CONJUNCTIVAMELANOOM

Samenvatting en discussie

CoM is een zeldzame oogtumor die ontstaat uit pigmentcellen van de slijmvlies van het oog, met een incidentie van 0.3-0.8 per miljoen in een blanke bevolking.¹⁻⁴ Het heeft een hoge recidiefkans (van circa 40% in 5 jaar)^{1,5} en kans om uit te zaaien (circa 20% in 10 jaar)^{6,7}. Het is nodig om patiënten vroeg te diagnosticeren, en er is een grote behoefte aan betere behandelingen, met name voor uitgebreide ziekte en in het geval van uitzaaiingen.

Dit proefschrift start met een analyse van huidige patiënten met CoM (**hoofdstukken 2.1, 2.2, 2.3**). De bevindingen laten zien dat nieuwe behandelingen nodig zijn en leiden tot aanbevelingen voor het vervolgen van patiënten in de praktijk. Hierna gaan we verder met een samenvatting van de kennis over de genetische en immunologische achtergrond van CoM (**hoofdstukken 3.1, 3.2**). Dit geeft een basis voor verdere diagnostiek en prognostiek, en geeft nieuwe aangrijpingspunten voor behandeling gebaseerd op genetische en immunologische mechanismen.

CoM heeft een hoge kans op recidieven en uitzaaiingen

Betere behandeling van CoM is nodig vanwege de hoge kans op recidieven en uitzaaiingen.^{4,5} Hoewel meerdere studies dit onderwerp behandelen, zijn de meeste studies klein en rapporteren ze slechts een kort beloop. Dit is niet verwonderlijk door de zeldzaamheid van CoM en de

gefragmenteerde zorgstructuur in vele landen, maar het beperkt conclusies over prognostische eigenschappen. In Nederland zijn landelijke verwijscentra voor oogoncologie aangewezen en bestaat een landelijke oncologische registratie (OncDoc / RANK) waardoor wij een relatief groot cohort van 70 patiënten met goede gegevens over het beloop konden analyseren (**hoofdstuk 2.1**). We vonden het belang van vroege verwijzing naar expertisecentra, aangezien patiënten die hun eerste excisie in een ander centrum ontvingen, een significant hogere recidiefkans hebben. Dit kan komen door incomplete resectie of suboptimale benadering met kans op verspreiding van tumorcellen. Voor lokaal beperkte CoM vonden we dat tumorresectie alléén niet afdoende is, en dat aanvullende (adjuvante) behandeling noodzakelijk is. Er is momenteel geen data die daarbij de voorkeur geeft aan een bepaalde strategie.^{8,9} Onze benadering omvat brachytherapie (met Ru-106 applicatoren) voor bulbair laesies, en toevoeging van mitomycine-c druppels indien er (ook) primair verworven melanose (PAM) aanwezig is. Bij deze benadering zijn de uitkomsten qua recidieven en overleving gunstig vergeleken met de literatuur en dit kan dus eveneens geadviseerd worden voor andere centra.¹⁰

Tumorpigmentatie is een belangrijke eigenschap van CoM

Bij het analyseren van ons cohort aan CoM patiënten, werden wij getroffen door de variatie in klinische presentatie. CoM kan ongepigmenteerd, roze en zwart zijn, wat een uiting is van verschillende typen tumorpigmentatie. Melanine heeft een rol in melanoomvorming en gedrag – zoals bekend is van huidmelanoom en UM¹¹ – en hierdoor vroegen we ons af of kenmerken van tumorpigment bij CoM gerelateerd zijn aan tumorgedrag. Wij onderzochten pigment in een gecombineerde set van 444 CoM patiënten uit Leiden en Philadelphia (Verenigde Staten), wat opmerkelijk genoeg één van de grootste cohorten CoM is die ooit beschreven zijn. In **hoofdstuk 2.2** vonden we dat licht gepigmenteerde CoM een slechtere uitkomst hebben vergeleken met donkere laesies. Dit kan voortkomen uit eigenschappen van verschillende typen melanine,¹² maar ook van factoren die gerelateerd zijn aan behandeling zoals een vroegere herkenning en zichtbaarheid van tumorranden bij gepigmenteerde tumoren.

In **hoofdstuk 2.3** vergeleken we vervolgens de pigmentatie van oorspronkelijke CoM laesies met hun recidieven. We toonden dat recidieven vaker licht gepigmenteerd zijn dan hun oorspronkelijke laesie, maar dat elke vorm van pigmentatie kan optreden. Dit kan komen door verlies van pigmentproductie bij meer maligne pigmentcellen, of omdat primair ongepigmenteerde laesies eenvoudiger gemist worden. Aangezien de klinische uitkomst niet samenhangt met pigmentatie van recidieven (en wel met de primaire laesie), kan dit erop wijzen dat uitzaaiingen een vroeg ontstaan hebben, dat meer gerelateerd is aan de primaire laesie dan aan locale recidieven, of dat recidieven intensiever worden behandeld.

CoM patiënten hebben een lange en grondige follow-up nodig

Voor het klinisch vervolgen van CoM benadrukken wij het belang van goede follow-up en het herkennen van conjunctivale laesies. Recidieven van CoM kunnen niet alleen verschillende graden van pigmentatie hebben (hoofdstuk 2.3), maar kunnen ook optreden na meerdere jaren, zoals we laten zien met een patiënt die twee late recidieven ontwikkelde: één recidief ontstond 21 jaar na excisie en cryotherapie, het andere ontstond vier jaar na orbitale exenteratie (d.w.z. totale verwijdering van het oog en omliggende weefsels, **hoofdstuk 6.3**). Dit impliceert dat CoM onderhevig is aan ‘tumour dormancy’, d.w.z. een tijdelijke rustfase,¹³ met cellen die zich al verspreid hebben voorafgaand aan chirurgische behandeling. Goede herkenning van conjunctivale laesies tijdens het vervolgen van patiënten is daarom belangrijk voor optimale zorg. Belangrijk bij het beoordelen van conjunctivale laesies is dat klinici zich bewust moeten zijn van secundaire oorzaken van melanoom, aangezien de conjunctiva uitzaaiingen kan bevatten van elders gelokaliseerd melanoom.¹⁴ We presenteren een patiënt met een conjunctivale laesie die een metastase bleek te zijn van een huidmelanoom (**hoofdstuk 6.1**). Deze patiënt is succesvol behandeld met nieuwe doelgerichte- en immunotherapie, wat tevens het belang van deze nieuwe behandelingen toont (hoofdstuk 3.1). Illustratief bij het gegeven dat niet elke gepigmenteerde laesie van de conjunctiva kwaadaardig is, was onze observatie bij een patiënt die eerder brachytherapie ontving voor UM en later twee gepigmenteerde plekjes op de sclera ontwikkelde, dit waren geen recidieven maar plekjes die pigment-bevattende macrofagen bevatten waarbij geen verdere behandeling nodig was (**hoofdstuk 6.4**).

CoM heeft de genetische achtergrond van een niet-oogheelkundig melanoom

Recent onderzoek laat zien dat CoM mutaties heeft in genen zoals *BRAF*, *NRAS*, *NF1* en *TERT*, en dat zeldzame mutaties kunnen optreden in *KIT* en andere genen.¹⁵⁻¹⁹ Dit profiel lijkt erg op dat van huidmelanoom^{20,21} en illustreert dat CoM als tumor *buiten* het oog gelegen is, en erg verschilt van uveamelanoom (met o.a. mutaties in *GNAQ11* en *BAP1*) dat *binnen* het oog voorkomt.²²⁻²⁴ Genetische mutaties laten zien dat ultraviolette (UV) straling vermoedelijk bijdraagt aan het ontstaan van CoM, met veel C>T veranderingen en een hoge mutatielast.²⁵⁻²⁷ CoM kan echter zowel ontstaan in conjunctiva die blootstaat aan zonlicht als conjunctiva die bedekt is, wat impliceert dat UV geen noodzakelijke factor is voor de ontwikkeling van CoM.

Voorlopers van CoM, zoals nevi (moedervlekken) en primair verworven melanose (PAM),²⁸ tonen gelijksoortige mutaties als CoM, en hoewel de percentages van optreden verschillen, zijn geen volledig onderscheidende mutaties bekend.^{17,29-32} Dit beperkt het gebruik van genetica om goedaardige van kwaadaardige laesies te onderscheiden, en laat zien dat sleutelmomenten in het ontstaan van CoM nog gevonden moeten worden. Mutaties kunnen echter gebruikt worden bij gepigmenteerde laesies om een onderscheid te maken tussen een oorsprong uit de conjunctiva en de uvea, wat relevant is bij specifieke gevallen waarbij UM door het oog groeit, of in gevallen met

een onbekende primaire laesie. Zeer recente studies tonen echter ook hiervan de betrekkelijkheid, omdat UM van het voorsegment eveneens *BRAF* mutaties kunnen bevatten,³³ en omdat CoM in zeldzame gevallen ook *BAP1* mutaties toont, een kenmerk van UM.³⁴

De prognostische waarde van mutaties in CoM is momenteel beperkt door verschillende bevindingen in studies, en wordt tevens beperkt door kleine studiegroottes. Recent onderzoek toont dat *TERT* mutaties mogelijk samenhangen met het optreden van uitzaaiingen, en dat deze mutaties erg zeldzaam zijn bij goedaardige aandoeningen, waarmee dit mogelijk een belangrijke nieuwe factor wordt in de stadiering van CoM.³⁵ Een veelbelovende aanpak van genetische kenmerken van CoM is via micro-RNA (miRNA), wat - hoewel nog in de kinderschoenen - informatief kan zijn voor differentiatie en prognosticatie door vele genen tegelijkertijd te analyseren.³⁶⁻³⁸

Aanwezigheid van immuuncellen bij CoM remt tumorgroei, maar de celtypen moeten verder geïdentificeerd worden

In aanvulling op *genetica*, vormt *ontsteking* één van 'hoekstenen' van kanker en is als zodanig erkend als belangrijke factor voor ontwikkeling en gedrag van tumoren.³⁹ Tumorinfiltraat bij CoM bestaat uit verschillende celtypen, waaronder lymfocyten en macrofagen met verschillende functies. De aanwezigheid van immuuncellen is geassocieerd met een gunstige prognose bij CoM,⁴⁰⁻⁴² wat impliceert dat het immuunsysteem de tumorcellen aanpakt. Ook in dit aspect lijkt CoM op huidmelanoom, waarbij dit verschilt van UM waar ontsteking juist een teken is van maligniteit en slechtere uitkomst.⁴³

De rol van macrofagen bij CoM is nog onduidelijk, maar aangezien deze cellen angiogenese kunnen bevorderen (met name de voornamelijk aanwezige M2-type macrofagen),⁴⁴ is het waarschijnlijk dat zij een ongunstig effect hebben op groei van CoM, zoals ook bekend is van huidmelanoom en UM.⁴⁵

Een van de belangrijke regelmechanismen tussen het immuunsysteem en tumorcellen wordt gevormd door de PD-1/PD-L1 as.⁴⁶ Een cel die PD-L1 tot expressie brengt, remt een T cel die PD-1 op het oppervlak heeft. Tumorcellen maken hiervan gebruik om het immuunsysteem af te remmen. Wij toonden dat PD-L1 tot uiting komt op CoM en dat de expressie hiervan samenhangt met slechtere overleving zoals o.b.v. het mechanisme kan worden verondersteld (**hoofdstuk 3.2**). Dit komt overeen met bevindingen bij huidmelanoom.

Nieuwe behandelingsaanpakken voor CoM volgen uit genetica en immunologie

De bevindingen in tumorgenetica en immunologisch gedrag van CoM leiden tot 'doelgerichte therapie' en 'checkpoint inhibitor therapie', zoals recent al geïntroduceerd voor huidmelanoom. Nieuwe behandelingen zoals deze zijn erg nodig voor CoM waarbij conventionele behandeling niet

volstaat. Zover wij weten bestaan er geen klinische trials of grote series over dit onderwerp, maar kleine studies met CoM patiënten tonen een voordeel voor zowel lokaal uitgebreide CoM, als voor CoM met uitzaaiingen.

Doelgerichte therapie omvat *BRAF* en MEK remmers, en verschillende beschrijvingen zijn bekend waarbij CoM succesvol is behandeld (samengevat in **hoofdstuk 3.1**). In aanvulling hierop worden meerdere medicijnen momenteel in preklinische studies onderzocht (gericht tegen bijv. *KIT*, *TERT*, of *EZH2*).

Checkpoint inhibitors werken door de interactie tussen het immuunsysteem en de tumor, zoals eerder genoemd bij PD-1/PD-L1. Door het bestuderen van tumorweefsel en in vitro modellen, laten we de rationale zien voor gebruik van anti PD-1/PD-L1 medicijnen bij CoM (**hoofdstuk 3.2**). Enkele casus van patiënten die hiermee - meestal succesvol - behandeld zijn, zijn gerapporteerd in de literatuur (samengevat in **hoofdstuk 3.1**).

Nadelen bij nieuwe behandelingen voor CoM

Bij de nieuwgenoemde behandelingen moeten twee nadelen belicht worden: *resistentie* en *bijwerkingen*.⁴⁷⁻⁵⁰ Tegen het eerste punt is mogelijk een combinatie van behandelingen nodig, die verschillende pathways tegelijkertijd aanpakt. Belangrijk daarbij is een genetische screening die een gepersonaliseerde aanpak mogelijk maakt die zorgt voor de beste aansluiting tussen patiënt en therapie. Bijwerkingen van de nieuwe behandelingen moeten in de gaten worden gehouden om de therapie aan te passen, of om de bijwerkingen zélf te behandelen. Aangezien immuun-gemedieerde bijwerkingen een relatief nieuw verschijnsel zijn in de geneeskunde, vraagt dit om bewustwording onder artsen. Belangrijk hierbij is dat immuun-gemedieerde bijwerkingen het oog kunnen aandoen terwijl de middelen systemisch gegeven worden, waarbij oogartsen zich bewust moeten zijn van deze bijwerkingen bij oncologische patiënten die behandeld worden met immuuntherapie voor niet-oogheelkundige maligniteiten.⁵¹ Wij presenteren een casus van een patiënt die rosacea van het oog ontwikkelde na gebruik van checkpoint inhibitors ipilimumab en nivolumab, hetgeen goed behandeld kon worden met lokale steroïden (**hoofdstuk 6.2**).

Toekomstperspectieven

Huidige studies naar genetica en immunologie bij CoM laten zien dat er nog veel te leren is over tumorontwikkeling en gedrag. Tegelijkertijd tonen de huidige studies dat door deze kennis nieuwe behandelingen tot stand komen. Een betere karakterisering van CoM (gebaseerd op genetica, immunologie, en externe invloeden van melanine en UV straling) zullen betere prognosticering en gepersonaliseerde therapie mogelijk maken. In aanvulling op medicijnen tegen *BRAF* en MEK, en immunotherapie tegen PD-1 en CTLA4, worden nieuwe medicijnen tegen *Kit*, *NFI*, *TERT*, of *EZH2* binnenkort verwacht. Nieuwe medicijnen zullen vooral ten gunste komen van patiënten met uitzaaiingen, maar zijn mogelijk ook gunstig voor patiënten met vergevorderde lokale ziekte, als

alternatief voor uitgebreide chirurgie. Een secundair effect van de nieuwe behandelmogelijkheden is de relevantie van betere tumorstadiering. Naast stadiering gebaseerd op tumormateriaal, omvat dit het gebruik van lymfeklierstadiering door de schildwachtklier procedure⁵² en beeldvorming.

Een veelbelovende ontwikkeling in oogoncologie is het besef dat CoM een aparte ziekte-entiteit is binnen het oogmelanoom, en dat dit wereldwijd beter beseft wordt. Vroege verwijzing naar tertiaire centra dient de standaard te worden, net als het gebruik van gepaste adjuvante behandeling. Naast een direct voordeel voor huidige patiënten die de beste therapie kunnen ontvangen, maakt dit ook beter onderzoek mogelijk met grotere aantallen, wat ten goede komt aan toekomstige patiënten.

DEEL II – UVEAMELANOOM

Samenvatting en discussie

UM is de meest voorkomende soort oogmelanoom met een incidentie van 5.1-8.6 per miljoen in een blanke bevolking.^{53,54} Het omvat melanoom van de choroidea (vaatvlies), corpus ciliare (straalvormig lichaam) en iris (regenboogvlies). Tot wel 50% van de patiënten overlijdt aan uitzaaiingen,⁵⁵ wat stabiel is gebleven in de afgelopen vijf decennia.⁵⁶ Vele concepten en behandelingen die van toepassing zijn op andere typen melanoom zijn niet effectief bij UM door de specifieke genetische achtergrond en immuun-geprivilegieerde positie in het oog.⁵⁷ Het maken van een onderscheid tussen goedaardige en kwaadaardige laesies van de uvea kan lastig zijn, hoewel de eerste onschuldig zijn en er een grote behoefte is aan betere behandelingen van de laatste.

In dit deel van het proefschrift beschrijven we eerst het genetische en immunologische profiel van UM, dat erg verschilt van huidmelanoom en CoM (**hoofdstuk 3.1**). We gaan dieper in op activatie van het aan groei gerelateerde YAP1-pathway als mogelijke voorspeller van uitzaaiingen en als mogelijk behandeldoel van UM (**hoofdstuk 4.1**). Hierna bestuderen we angiogenese als belangrijke factor in het gedrag van UM en als link tussen tumorgenetica en klinische uitkomst (**hoofdstuk 4.2**). Met nieuwe beeldvormingstechnieken bij patiënten bestuderen we vasculatuur in zowel conjunctivale als uveale laesies om een onderscheid te maken tussen goedaardige en kwaadaardige ziekte (**hoofdstukken 5.1, 5.2**).

De genetische en immunologische achtergrond van UM verschilt van huidmelanoom en CoM

UM heeft een opmerkelijk genetisch profiel en immunologische achtergrond, dat erg afwijkt van wat gezien wordt bij huidmelanoom en CoM (**hoofdstuk 3.1**). UM wordt getypeerd door vroege mutaties in *GNAQ11*, en latere mutaties in *BAP1*, *EIF1AX* en *SF3B1*.⁵⁷ Er is geen rol voor UV straling bij het ontstaan van UM in het *achtersegment*, hoewel nieuwe inzichten laten zien dat UM in het *voorsegment* sporadisch een typische UV signatuur toont.⁵⁸ De aanwezigheid van immuun infiltraat is ongunstig bij UM, wat impliceert dat immuuncellen er niet in slagen tumorcellen te

vernietigen; een mogelijke verklaring volgt uit de expressie van immuunremmers zoals *Indoleamine 2,3-dioxygenase* (IDO1) en *T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains* (TIGIT), wat immuunresponsen beperkt.⁵⁹ Nieuw geïntroduceerde doelgerichte- en immuuntherapie zijn momenteel niet succesvol bij UM, wat wederom wordt toegeschreven aan een andere immuunrespons vergeleken met wat wordt gezien bij (buiten het oog gelegen) CoM en huidmelanoom.⁶⁰

Het YAP1-pathway is betrokken bij tumorgroei en biedt een nieuwe benadering voor behandeling van UM

Celgroei wordt gereguleerd door verschillende stimuli, waaronder de YAP1-pathway.⁶¹ Interessant is dat YAP1 geactiveerd wordt door de *GNAQ11* mutatie die meestal al vroeg optreedt bij UM.^{62,63} De YAP1-pathway is onlangs in de belangstelling komen te staan als mogelijk doel voor behandeling; het kan geremd worden door het reeds bestaande medicijn *verteporfine*.⁶⁴

In **hoofdstuk 4.1** bestudeerden wij de YAP1-pathway in zowel UM als CoM. We toonden dat YAP1 expressie hoger is bij UM met een ongunstig genetisch profiel en mogelijk geassocieerd is met een ongunstige klinische uitkomst. In vitro werk met verteporfine toonde een respons in meerdere UM cellijnen, maar slechts een beperkte respons bij CoM cellijnen en (traag groeiende) BAP1-negatieve UM cellijnen, wat toont dat niet alleen de onderzochte genetische achtergrond maar ook eigenschappen zoals snelheid van celgroei bepalend zijn voor medicijngevoeligheid. Hoewel verteporfine vermoedelijk niet het meest geschikt is als losstaand medicijn bij UM, is het aanpakken van de YAP1-pathway mogelijk wel geschikt als *onderdeel* van een behandeling tegen UM en geschikt om resistentie tegen andere middelen te overwinnen.

Angiogenese is gerelateerd aan tumorgenetica en ongunstige klinische uitkomst bij UM

Angiogenese is belangrijk voor het ontwikkelen van en het gedrag van UM.^{45,65} Vaten brengen voedingsstoffen en zuurstof naar een tumor, en vormen een route voor cellen om uit te zaaien. Angiogenese wordt beïnvloed door het tumormilieu aangezien immuuncellen cytokines kunnen produceren die ontsteking en vaatgroei stimuleren. Recent werd gevonden dat genetische veranderingen bij UM samenhangen met de aanwezigheid van immuuncellen⁶⁶ en daarom vroegen wij ons af of genetische veranderingen eveneens samenhangen met (markers van) angiogenese.

In **hoofdstuk 4.2** toonden we aan dat vaardichtheid gerelateerd is aan het genetische profiel, met een toegenomen vaardichtheid bij UM met het prognostisch slechte monosomie 3 / verlies van BAP1 eiwit expressie. De status van chromosoom 8q (waarbij het optreden van extra kopieën een vroege gebeurtenis is)⁶⁷ was niet gerelateerd aan vaardichtheid, wat erop wijst dat werkelijke angiogenese een latere gebeurtenis is. Toegenomen vaardichtheid was geassocieerd met expressie van meerdere factoren zoals ANGPT2, VWF en opmerkelijk genoeg minder VEGF-B (in tegenstelling tot het beter bekende VEGF-A). Een sleutelregulator van angiogenese is *Hypoxia Inducible Factor 1a* (HIF1a).⁶⁸ Medicijnen tegen HIF1a worden momenteel onderzocht bij UM⁶⁹ en wij vroegen ons

daarom af welke patiënten hiervan de meeste baat kunnen hebben. Wij toonden dat hogere expressie van HIF1a gezien wordt bij BAP1-verlies in UM. Dit geeft informatie over de ontwikkeling van UM en doet de suggestie dat tumoren met monosomie 3 / verlies van BAP1 de beste kandidaten zijn voor HIF1a therapie.⁷⁰

Klinische zuurstofwaarden in de retina verschillen tussen choroidea melanomen en nevi

Tumorzvaten worden momenteel al geanalyseerd in de klinische praktijk om een onderscheid te maken tussen goedaardige en kwaadaardige oogheelkundige laesies. Dit kan middels fluorescentie angiografie, waarbij kleurstof in de bloedvaten wordt ingespoten en vaatpatronen en lekkage van het oog worden onderzocht.^{71,72} Een nadeel van deze techniek is de invasieve aard en een beperkt gebruik bij laesies van het voorsegment, met name omdat de kleurstof erg snel lekt uit conjunctivale vaten.⁷³ Omdat delende tumorcellen een toegenomen metabolisme hebben, onderzochten we zuurstofwaarden van retinale vaten in ogen met een choroidea melanoom of naevus met een relatief nieuwe beeldvormende techniek (Oxymap T1) (**hoofdstuk 5.1**). Hoewel ogen met een choroidea naevus geen veranderingen lieten zien, vonden we afwijkende zuurstofwaarden in ogen met een choroidea melanoom, waaronder in de retina die niet over de tumor gelegen is. Deze veranderingen wijzen op afwijkend zuurstof metabolisme, ontsteking en herverdeling van bloedstroom in UM-ogen. Als diagnostische techniek zijn andere technieken momenteel meer specifiek, maar retinale oxymetrie voegt informatie toe aan deze gegevens en kan gebruikt worden bij het vervolgen van behandelings-gerelateerde (bestralings-) effecten.

OCT-Angiografie is mogelijk bij CoM en UM van het voorsegment, maar momenteel beperkt door de beeldvormende techniek en software

Een nieuwe niet-invasieve beeldvormende techniek om vaten van het oog af te beelden is OCT-Angiografie (OCTA). Hoewel ontwikkeld voor retinale vaten,⁷⁴ pasten we deze techniek toe op het voorsegment met als doel om tumorvaten in de iris en conjunctiva af te beelden (**hoofdstuk 5.2**). We toonden dat vaten kunnen worden afgebeeld, maar dat het verkrijgen van een goed beeld sterk afhangt van eigenschappen van de patiënt en tumor, zoals goede medewerking en tumorpigmentatie. Bij zowel nevi als melanomen vonden we kronkelige vaatpatronen, afwijkend van gezonde iris en conjunctiva. We vonden geen verschil in vaatdichtheid tussen goedaardige of kwaadaardige laesies. Dit werd echter mogelijk beperkt door lage aantallen en de genoemde beperkingen van de huidige beeldvormende technieken.

Toekomstperspectieven

De zoektocht naar behandelingen voor (uitgezaaide) UM gaat door. Het remmen van meerdere pathways tegelijkertijd kan problemen met huidige medicijnen overwinnen, en het aanpakken van de YAP1-pathway is een veelbelovend aspect als onderdeel van behandeling voor UM. Verteporfine, als reeds bestaand oogheelkundig medicijn, kan mogelijk ook op andere wijze gebruikt worden zoals

tumorgroei te vertragen in afwachting van (bestralings)therapie. Het immuun privilege van het oog, en intraoculaire en uitgezaaide UM, vragen om beter begrip zodat mogelijk ook de medicijnen geïntroduceerd kunnen worden die eerder de behandeling van huidmelanoom, en CoM, zo drastisch hebben verbeterd.

Nieuwe beeldvormingstechnieken zijn veelbelovend om ooglaesies niet-invasief te diagnosticeren. Voor het bestuderen van tumorvaten zijn een betere beeldresolutie en analyse software nodig om artefacten door tumorpigmentatie en laesie dikte te verhelpen. Oxymetrie van retinale vaten is mogelijk niet een toevoeging voor *diagnostiek*, maar wel een kandidaat om de *behandelreactie* te monitoren, in combinatie met structurele beeldvorming middels OCTA. Die laatste techniek kan minimale vaatafwijkingen in UM ogen tonen, en kan uitgebreid toegepast worden bij studies naar bestralingsretinopathie, wat tegenwoordig beter behandeld wordt met de introductie van vaatgroeiremmende (anti-VEGF) therapie.

REFERENTIES

1. Tuomaala S, Eskelin S, Tarkkanen A, Kivela T. Population-based assessment of clinical characteristics predicting outcome of conjunctival melanoma in whites. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(11):3399-3408.
2. Yu GP, Hu DN, McCormick S, Finger PT. Conjunctival melanoma: is it increasing in the United States? *Am J Ophthalmol.* 2003;135(6):800-806.
3. Triay E, Bergman L, Nilsson B, All-Ericsson C, Seregard S. Time trends in the incidence of conjunctival melanoma in Sweden. *Br J Ophthalmol.* 2009;93(11):1524-1528.
4. Missotten GS, Keijser S, De Keizer RJ, De Wolff-Rouendaal D. Conjunctival melanoma in the Netherlands: a nationwide study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(1):75-82.
5. Shields CL, Markowitz JS, Belinsky I, et al. Conjunctival melanoma: outcomes based on tumor origin in 382 consecutive cases. *Ophthalmology.* 2011;118(2):389-395 e381-382.
6. Tuomaala S, Kivela T. Metastatic pattern and survival in disseminated conjunctival melanoma: implications for sentinel lymph node biopsy. *Ophthalmology.* 2004;111(4):816-821.
7. Shields CL. Conjunctival melanoma: risk factors for recurrence, exenteration, metastasis, and death in 150 consecutive patients. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2000;98:471-492.
8. Wong JR, Nanji AA, Galor A, Karp CL. Management of conjunctival malignant melanoma: a review and update. *Expert Rev Ophthalmol.* 2014;9(3):185-204.
9. Vora GK, Demirci H, Marr B, Mruthyunjaya P. Advances in the management of conjunctival melanoma. *Surv Ophthalmol.* 2016.
10. Brouwer NJ, Marinkovic M, Peters FP, et al. Management of conjunctival melanoma with local excision and adjuvant brachytherapy. *Eye (Lond).* 2021;35(2):490-498.
11. Slominski RM, Zmijewski MA, Slominski AT. The role of melanin pigment in melanoma. *Exp Dermatol.* 2015;24(4):258-259.
12. Ito S, Wakamatsu K. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review. *Pigment Cell Res.* 2003;16(5):523-531.
13. Ossowski L, Aguirre-Ghiso JA. Dormancy of metastatic melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2010;23(1):41-56.
14. Kiratli H, Shields CL, Shields JA, DePotter P. Metastatic tumours to the conjunctiva: report of 10 cases. *Br J Ophthalmol.* 1996;80(1):5-8.
15. Griewank KG, Westkemper H, Murali R, et al. Conjunctival melanomas harbor BRAF and NRAS mutations and copy number changes similar to cutaneous and mucosal melanomas. *Clin Cancer Res.* 2013;19(12):3143-3152.
16. Griewank KG, Murali R, Schilling B, et al. TERT promoter mutations in ocular melanoma distinguish between conjunctival and uveal tumours. *Br J Cancer.* 2013;109(2):497-501.
17. Koopmans AE, Ober K, Dubbink HJ, et al. Prevalence and implications of TERT promoter mutation in uveal and conjunctival melanoma and in benign and premalignant conjunctival melanocytic lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(9):6024-6030.
18. Scholz SL, Cosgarea I, Susskind D, et al. NF1 mutations in conjunctival melanoma. *Br J Cancer.* 2018;118(9):1243-1247.
19. Sheng X, Li S, Chi Z, et al. Prognostic factors for conjunctival melanoma: a study in ethnic Chinese patients. *Br J Ophthalmol.* 2015;99(7):990-996.
20. Krauthammer M, Kong Y, Bacchiorchi A, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations in NF1 and RASopathy genes in sun-exposed melanomas. *Nat Genet.* 2015;47(9):996-1002.

21. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med.* 2005;353(20):2135-2147.
22. Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, et al. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature.* 2009;457(7229):599-602.
23. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, et al. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med.* 2010;363(23):2191-2199.
24. Koopmans AE, Verdijk RM, Brouwer RW, et al. Clinical significance of immunohistochemistry for detection of BAP1 mutations in uveal melanoma. *Mod Pathol.* 2014;27(10):1321-1330.
25. Rivolta C, Royer-Bertrand B, Rimoldi D, et al. UV light signature in conjunctival melanoma; not only skin should be protected from solar radiation. *J Hum Genet.* 2016;61(4):361-362.
26. Swaminathan SS, Field MG, Sant D, et al. Molecular Characteristics of Conjunctival Melanoma Using Whole-Exome Sequencing. *JAMA Ophthalmol.* 2017;135(12):1434-1437.
27. Cisarova K, Folcher M, El Zaoui I, et al. Genomic and transcriptomic landscape of conjunctival melanoma. *PLoS Genet.* 2020;16(12):e1009201.
28. Jakobiec FA. Naming the Precursors of Conjunctival Melanoma. *Am J Ophthalmol.* 2016;164:152-153.
29. Goldenberg-Cohen N, Cohen Y, Rosenbaum E, et al. T1799A BRAF mutations in conjunctival melanocytic lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(9):3027-3030.
30. Francis JH, Grossniklaus HE, Habib LA, et al. BRAF, NRAS, and GNAQ Mutations in Conjunctival Melanocytic Nevi. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(1):117-121.
31. Dratviman-Storobinsky O, Cohen Y, Frenkel S, Pe'er J, Goldenberg-Cohen N. Lack of oncogenic GNAQ mutations in melanocytic lesions of the conjunctiva as compared to uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(12):6180-6182.
32. Alessandrini L, Parrozzani R, Bertorelle R, et al. C-Kit SCF receptor (CD117) expression and KIT gene mutation in conjunctival pigmented lesions. *Acta Ophthalmol.* 2013;91(8):e641-645.
33. van Poppel NM, Vaarwater J, Mudhar HS, et al. Genetic Background of Iris Melanomas and Iris Melanocytic Tumors of Uncertain Malignant Potential. *Ophthalmology.* 2018;125(6):904-912.
34. van Poppel NM, van Ipenburg JA, van den Bosch Q, et al. Molecular Genetics of Conjunctival Melanoma and Prognostic Value of TERT Promoter Mutation Analysis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11).
35. van Ipenburg JA, Naus NC, Dubbink HJ, et al. Prognostic value of TERT promoter mutations in conjunctival melanomas in addition to clinicopathological features. *Br J Ophthalmol.* 2020:[Online ahead of print].
36. Larsen AC, Mikkelsen LH, Borup R, et al. MicroRNA Expression Profile in Conjunctival Melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(10):4205-4212.
37. Mikkelsen LH, Andersen MK, Andreassen S, et al. Global microRNA profiling of metastatic conjunctival melanoma. *Melanoma Res.* 2019;29(5):465-473.
38. van Ipenburg JA, Gillis Ing AJM, Dorssers LCJ, et al. MicroRNA Profiling in Benign and Malignant Conjunctival Melanocytic Lesions. *Ophthalmology.* 2020;127(3):432-434.
39. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-674.
40. Bobic-Radovanovic A, Latkovic Z, Marinkovic J, Radovanovic Z. Predictors of survival in malignant melanoma of the conjunctiva: a clinico-pathological and follow-up study. *Eur J Ophthalmol.* 1998;8(1):4-7.
41. Crawford JB. Conjunctival melanomas: prognostic factors a review and an analysis of a series. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1980;78:467-502.
42. Folberg R, McLean IW, Zimmerman LE. Malignant melanoma of the conjunctiva. *Hum Pathol.* 1985;16(2):136-143.
43. Bronkhorst IH, Jager MJ. Inflammation in uveal melanoma. *Eye (Lond).* 2013;27(2):217-223.

44. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol.* 2002;23(11):549-555.
45. Bronkhorst IH, Ly LV, Jordanova ES, et al. Detection of M2-macrophages in uveal melanoma and relation with survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(2):643-650.
46. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol.* 2007;19(7):813-824.
47. Ascierto PA, McArthur GA, Dréno B, et al. Cobimetinib combined with vemurafenib in advanced BRAF(V600)-mutant melanoma (coBRIM): updated efficacy results from a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(9):1248-1260.
48. Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. *N Engl J Med.* 2014;371(20):1877-1888.
49. Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 2015;372(26):2521-2532.
50. Hodi FS, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(11):1480-1492.
51. Dalvin LA, Shields CL, Orloff M, Sato T, Shields JA. CHECKPOINT INHIBITOR IMMUNE THERAPY: Systemic Indications and Ophthalmic Side Effects. *Retina.* 2018;38(6):1063-1078.
52. Esmaeli B, Rubin ML, Xu S, et al. Greater Tumor Thickness, Ulceration, and Positive Sentinel Lymph Node Are Associated With Worse Prognosis in Patients With Conjunctival Melanoma: Implications for Future AJCC Classifications. *Am J Surg Pathol.* 2019;43(12):1701-1710.
53. Singh AD, Turell ME, Topham AK. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology.* 2011;118(9):1881-1885.
54. Virgili G, Gatta G, Ciccolallo L, et al. Incidence of uveal melanoma in Europe. *Ophthalmology.* 2007;114(12):2309-2315.
55. Damato B. Progress in the management of patients with uveal melanoma. The 2012 Ashton Lecture. *Eye (Lond).* 2012;26(9):1157-1172.
56. Roelofsén CDM, Wierenga APA, van Duinen S, et al. Five Decades of Enucleations for Uveal Melanoma in One Center: More Tumors with High Risk Factors, No Improvement in Survival over Time. *Ocul Oncol Pathol.* 2021;7(2):133-141.
57. Jager MJ, Shields CL, Cebulla CM, et al. Uveal melanoma. *Nat Rev Dis Primers.* 2020;6(1):24.
58. Johansson PA, Brooks K, Newell F, et al. Whole genome landscapes of uveal melanoma show an ultraviolet radiation signature in iris tumours. *Nat Commun.* 2020;11(1):2408.
59. Robertson AG, Shih J, Yau C, et al. Integrative Analysis Identifies Four Molecular and Clinical Subsets in Uveal Melanoma. *Cancer Cell.* 2017;32(2):204-220 e215.
60. Heppt MV, Steeb T, Schlager JG, et al. Immune checkpoint blockade for unresectable or metastatic uveal melanoma: A systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2017;60:44-52.
61. Moroishi T, Hansen CG, Guan KL. The emerging roles of YAP and TAZ in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2015;15(2):73-79.
62. Yu FX, Luo J, Mo JS, et al. Mutant Gq/11 promote uveal melanoma tumorigenesis by activating YAP. *Cancer Cell.* 2014;25(6):822-830.
63. Feng X, Degese MS, Iglesias-Bartolome R, et al. Hippo-independent activation of YAP by the GNAQ uveal melanoma oncogene through a trio-regulated rho GTPase signaling circuitry. *Cancer Cell.* 2014;25(6):831-845.
64. Liu-Chittenden Y, Huang B, Shim JS, et al. Genetic and pharmacological disruption of the TEAD-YAP complex suppresses the oncogenic activity of YAP. *Genes Dev.* 2012;26(12):1300-1305.

65. Makitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivela T. Microvascular density in predicting survival of patients with choroidal and ciliary body melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40(11):2471-2480.
66. Gezgin G, Dogrusöz M, van Essen TH, et al. Genetic evolution of uveal melanoma guides the development of an inflammatory microenvironment. *Cancer Immunol Immunother.* 2017;66(7):903-912.
67. Singh N, Singh AD, Hide W. Inferring an Evolutionary Tree of Uveal Melanoma From Genomic Copy Number Aberrations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(11):6801-6809.
68. Rankin EB, Giaccia AJ. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis. *Cell Death Differ.* 2008;15(4):678-685.
69. Dong L, You S, Zhang Q, et al. Arylsulfonamide 64B Inhibits Hypoxia/HIF-Induced Expression of c-Met and CXCR4 and Reduces Primary Tumor Growth and Metastasis of Uveal Melanoma. *Clin Cancer Res.* 2019;25(7):2206-2218.
70. Brouwer NJ, Wierenga APA, Gezgin G, et al. Ischemia Is Related to Tumour Genetics in Uveal Melanoma. *Cancers (Basel).* 2019;11(7).
71. Bakri SJ, Sculley L, Singh AD. Diagnostic techniques. In: Singh AD, Damato BE, Pe'er J, Murphree AL, Perry JD, eds. *Clinical Ophthalmic Oncology.* Edinburgh, UK: Elsevier-Saunders; 2007:175-180.
72. Oosterhuis JA, van Waveren CW. Fluorescein photography in malignant melanoma. *Ophthalmologica.* 1968;156(2):101-116.
73. Meyer PA, Watson PG. Low dose fluorescein angiography of the conjunctiva and episclera. *Br J Ophthalmol.* 1987;71(1):2-10.
74. Spaide RF, Klancnik JM, Jr., Cooney MJ. Retinal vascular layers imaged by fluorescein angiography and optical coherence tomography angiography. *JAMA Ophthalmol.* 2015;133(1):45-50.

