

Słowa kluczowe: desmogleina 2, desmogleina 3, rak podstawnocomórkowy

Paweł Pietkiewicz

**EKSPRESJA DESMOGLEIN W RAKACH
PODSTAWNOKOMÓRKOWYCH
W ODNIESIENIU DO CECH KLINICZNO-HISTOLOGICZNYCH
NOWOTWORU**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Marian Dmochowski

Pracownia Autoimmunizacyjnych Dermatoz Pęcherzowych
Pracownia Histopatologii i Immunopatologii Skóry
Katedra i Klinika Dermatologii
Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2014

WYKAZ CZĘŚCIEJ UŻYWANYCH OZNACZEŃ

ADP	– autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe
AKT	– kinaza białkowa B (ang. <i>protein kinase B</i>)
AS	– alternatywne składanie genów (ang. <i>alternative splicing</i>)
BCC	– rak podstawnokomórkowy (ang. <i>basal cell carcinoma</i>)
DC	– kadheryny desmosomalne (ang. <i>desmosomal cadherins</i>)
DSGs	– desmogleiny (ang. <i>desmogleins</i>)
DSCs	– desmokoliny (ang. <i>desmocollins</i>)
EHFP	– zarodkowe komórki progenitorowe mieszka włosowego (ang. <i>embryonic hair follicle progenitors</i>)
ERK	– kinazy regulowane przez sygnały zewnątrzkomórkowe, też MEK (ang. <i>mitogen/extracellular signal-regulated kinases</i>)
H+E	– rutynowe badanie histologiczne hematoksyliną i eozyną
IgG	– immunoglobulina G
IIF	– metoda immunofluorescencyjna pośrednia (ang. <i>indirect immunofluorescence</i>)
mRNA	– informacyjny (matrycowy, przekaźnikowy) kwas rybonukleinowy (ang. <i>messenger ribonucleic acid</i>)
n	– liczba badanych
nBCC	– postać guzkowa raka podstawnokomórkowego (ang. <i>nodular BCC</i>)
NF-κB	– czynnik jądrowy κ B (ang. <i>nuclear factor κB</i>)
p38MAPK	– kinaza proteinowa p38 aktywowana mioginem (ang. <i>p38 mitogen-activated protein kinase</i>)
PBS	– bufor fosforanowy (ang. <i>phosphate – buffered saline</i>)
PF	– pęcherzyca liściasta (ang. <i>pemphigus foliaceus</i>)
PI3K	– 3-kinaza fosfatydylinozytolu (ang. <i>phosphatidylinositol-3-kinase</i>)
PV	– pęcherzyca zwykła (ang. <i>pemphigus vulgaris</i>)
r	– współczynnik korelacji rangowej Spearmana (ang. <i>Spearman's rank correlation coefficient</i>)
Ryc.	– Rycina
sBCC	– postać powierzchniowa raka podstawnokomórkowego (ang. <i>superficial BCC</i>)
SD	– odchylenie standardowe (ang. <i>standard deviation</i>)
SCC	– rak kolczystokomórkowy (ang. <i>squamous cell carcinoma</i>)
SSC	– bufor cytrynianowy (ang. <i>saline-sodium citrate buffer</i>)
STAT3	– przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji (ang. <i>signal transducer and activator of transcription</i>)
Tab.	– Tabela

LEGENDA

Nazwy genów ludzkich oznaczono kursywą i wielkimi literami (np. *DSG2*), mysich – kursywą, z wielkiej litery i dalej małymi literami (*Dsg2*). Nazwy białek ludzkich pisano wielkimi literami (DSG2). Białka mysie oznaczono z wielkiej litery i dalej małymi literami (Dsg2).

*W pracy użyto czcionki **Apolonia** autorstwa dr. Tomasza Wełny, która w zamyśle jej twórcy ma odzwierciedlać ducha pisanego języka ojczystego. Czcionka jest dostępna do pobrania pod adresem <http://www.polskalitera.pl/>*

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	9
1.1 Kadheryny desmosomalne jako rodzina białek budujących desmosom.....	9
1.2 Ekspresja DSGs w zdrowych tkankach	12
1.2.1 Zdrowy naskórek w życiu płodowym	13
1.2.2 Dojrzały zdrowy naskórek	15
1.2.3 Mieszek włosowy w życiu płodowym.....	16
1.2.4 Dojrzały mieszek włosowy.....	17
1.3 Choroby związane z DSGs, istotne dla zrozumienia ich fizjologicznej roli	20
1.4 DSGs w autoimmunizacyjnych dermatozach pęcherzowych.....	24
1.5 Nowotworzenie	31
1.5.1 Rak podstawnokomórkowy (BCC) – typy kliniczno-histologiczne	31
1.5.2 Rola czynników genetycznych, środowiskowych oraz szlaków sygnałowych w rozwoju BCC.....	37
1.5.3 Histogeneza BCC.....	46
2. CEL PRACY.....	49
3. MATERIAŁY I METODY	50
3.1 Materiał	50
3.1.1 Grupy badane.....	50
3.1.1.1 Chorzy na BCC.....	50
3.1.1.1.1 Chorzy na BCC w analizie danych epidemiologicznych BCC.....	50
3.1.1.1.2 Chorzy na BCC w analizie IHC oraz FISH	50
3.1.1.2 Grupy kontrolne w analizie IHC oraz FISH	51
3.1.2 Wycinki skórne.....	51
3.1.2.1 Mrożone skrawki skóry do badania IHC i FISH.....	52
3.1.2.2 Parafinowe skrawki skóry do badania histopatologicznego	52
3.2 Metody	52
3.2.1 Metody diagnostyczne.....	52
3.2.1.1 Badanie histopatologiczne H+E	52
3.2.2 Metody badawcze.....	53
3.2.2.1 Badanie ekspresji białek DSG2 i DSG3 poprzez barwienie IHC na skrawkach mrożonych.....	53
3.2.2.2 Badanie ekspresji mRNA <i>DSG2</i> i <i>DSG3</i> poprzez badanie FISH na skrawkach mrożonych.....	54
3.2.2.3 Analiza ilościowa reakcji IHC i FISH	55
3.2.3 Ocena mikroskopowa wraz z dokumentacją fotograficzną	56

3.2.4 Analiza statystyczna	57
3.2.4.1. Analiza statystyczna IHC i FISH.....	57
3.2.4.2. Analiza danych epidemiologicznych BCC.....	58
4. WYNIKI	59
4.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych BCC.....	59
4.2 Wyniki ekspresji DSGs.....	72
4.2.1 Ekspresja na poziomie białka.....	72
4.2.1.1 Wyniki ilościowej ekspresji DSGs	72
4.2.1.2 Wyniki jakościowej ekspresji DSGs.....	72
4.3.1 Ekspresja <i>DSGs</i> na poziomie mRNA	79
4.3.1.1 Wyniki ilościowej ekspresji <i>DSGs</i>	79
4.3.1.2 Wyniki jakościowej ekspresji <i>DSGs</i>	79
5. DYSKUSJA	87
5.1 Analiza trendów zachorowań na BCC w ośrodku poznańskim	87
5.1.1 Płeć.....	88
5.1.2 Średni wiek.....	89
5.1.3 Odległość miejsca zameldowania od ośrodka poznańskiego.....	90
5.1.4 Typy BCC	91
5.1.5 Lokalizacja BCC.....	91
5.1.6 Wielkość ośrodka zameldowania	94
5.2 Rola fizjologiczna i patologiczna DSGs w nowotworach	94
5.2.1 Rola DSGs w BCC	99
5.2.2 Ekspresja DSG2 i DSG3 w BCC w kontekście typu kliniczno-histologicznego.....	102
5.2.3 Ekspresja DSG2 i DSG3 na poziomie białka	102
5.2.3 Ekspresja <i>DSG2</i> i <i>DSG3</i> na poziomie mRNA	104
5.2.4 Choroby związane z DSGs a predyspozycja do rozwoju BCC.....	106
5.3 Heterogenność BCC, mozaicyzm, guzy kolizyjne a odrębność nBCC i sBCC.....	107
5.3.1 Obraz kliniczno-histologiczny.....	111
5.3.2 Ekspresja DSG2 i DSG3.....	112
6. WNIOSKI.....	114
STRESZCZENIE	115
ABSTRACT	118
ZAŁĄCZNIK – zgoda Komisji Bioetycznej na prowadzenie badań	121
PIŚMIENNICTWO.....	122

Część zagadnień poruszanych w poniższej pracy doktorskiej przedstawiono w następujących doniesieniach:

I. Prace opublikowane:

Pietkiewicz P., Lutkowska A., Lianeri M., Jagodzinski P.: Tamoxifen epigenetically modulates CXCL12 expression in MCF-7 breast cancer cells. *Biomed Pharmacother.* 2010; 64(1): 54-7.

Przybylski M., Kozłowska A., **Pietkiewicz P.**, Lutkowska A., Lianeri M., Jagodzinski P.: Increased CXCR4 expression in AsPCI pancreatic carcinoma cells with RNA interference-mediated knockdown of DNMT1 and DNMT3B. *Biomed Pharmacother.* 2010; 64(4): 254-8.

Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: The chancre of pemphigus on the scalp as the first symptom of mucosal-dominant pemphigus vulgaris in an elderly man taking ramipril. *Dermatol Klin.* 2011; 13(4): 235-238.

Pietkiewicz P., Torz M., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Współczesne metody leczenia pęcherzycy zwykłej z punktu widzenia początkującego lekarza. *Dermatol Klin.* 2012; 14(2): 75-81.

Gornowicz-Porowska J., **Pietkiewicz P.**, Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Immunoglobulin G4 is prevailing over immunoglobulin G1 in autoimmunity of pemphigus and bullous pemphigoid: analysis of tissue-bound antibodies in active diseases. *Centr Eur J Immunol.* 2013; 38(1): 80-91.

Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Jagielska J., Helak-Łapaj C., Kaczmarek E., Dmochowski M.: Discordant expression of desmoglein 2 and 3 at mRNA and protein levels in nodular and superficial basal cell carcinoma revealed by immunohistochemistry and fluorescent *in situ* hybridization. *Clin Exp Derm.* 2014; 39(5): 628-635.

Dmochowski M., Bowszyc-Dmochowska M., Gornowicz-Porowska J., **Pietkiewicz P.**: Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe w starości. Spersonalizowane naświetlenie zagadnienia. *Dermatol Klin.* 2014; 16(1): 25-34.

Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: A retrospective study of antihypertensives in pemphigus: a still uncharted odyssey particularly between thiols, amides and phenols. *Arch Med Sci.* 2015, 11(5) [przyjęto do druku 22 września 2013]

Gornowicz-Porowska J., **Pietkiewicz P.**, Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Contact mucosal-dominant pemphigus vulgaris in a captopril-taking woman with a history of angioedema. *An Bras Dermatol.* [przyjęto do druku 17 marca 2014]

II. Rodziały:

Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Malignancy in Relation to Autoimmune Blistering Dermatoses: Molecular and Clinical Aspects. [w:] Highlights in Skin Cancer, Pierre Vereecken ed., InTech, Rijeka, Chorwacja, 2013.

<http://www.intechopen.com/books/highlights-in-skin-cancer/malignancy-in-relation-to-autoimmune-blistering-dermatoses-molecular-and-clinical-aspects>

III. Streszczenia zjazdowe:

Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Malignancy and autoimmune blistering dermatoses: peculiarities of the issue. **V Kongres Współczesnej Onkologii, Poznań, 21-23 marca 2013 r.**

Dmochowski M., Gornowicz-Porowska J., **Pietkiewicz P.**, Kaczmarek E., Seraszek-Jaros A., Bowszyc-Dmochowska M.: An attempt to assess the expression of desmogleins 2 and 3 with fluorescent *in situ* hybridization and immunohistochemistry in basal cell carcinomas. **International Investigative Dermatology, 8th - 11th May 2013, Edinburgh, Scotland. J Invest Dermatol.** 2013; 133(Suppl 1): S56.

Gornowicz-Porowska J., **Pietkiewicz P.**, Bowszyc-Dmochowska M., Jagielska J., Helak-Łapaj C., Kaczmarek E., Dmochowski M., Adamski Z.: The discrepancies between the protein and mRNA expression level of desmoglein 2 and 3 revealed by immunohistochemistry and fluorescent *in situ* hybridization in basal cell carcinomas. **25th Bilateral Poznań-Halle Symposium "Perspectives and challenges in medicine". Poznań, Poland, 13-15 IX 2013.**

Dmochowski M., **Pietkiewicz P.**, Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M.: Intake of antihypertensives suspected, according to published reports, of triggering pemphigus by pemphigus patients: The large-scale problem. **Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology. Albuquerque, New Mexico, 07-11th May 2014. J Invest Dermatol.** 2014; 134(Suppl 1): S49.

IV. Doniesienia internetowe:

Gornowicz-Porowska J., Dmochowski M., **Pietkiewicz P.**, Bowszyc-Dmochowska M.: Zróżnicowana ekspresja desmogleiny 2 i 3 na poziomie białka i mRNA w raku podstawnokomórkowym.
<http://www.edermatologia.pl/Zroznicowana-ekspresja-desmogleiny-2-i-3-na-poziomie-bialka-i-mRNA-w-raku-podstawnokomorkowym.11722.html> (opublikowano 10 lutego 2014)

Gornowicz-Porowska J., Dmochowski M., **Pietkiewicz P.**, Bowszyc-Dmochowska M.: Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe a nowotworzenie złośliwe.
<http://www.edermatologia.pl/Autoimmunizacyjne-dermatozy-pecherzowe-a-nowotworzenie-zlosliwe.13513.html> (opublikowano 22 lipca 2014)

Praca doktorska realizowana ze wsparciem finansowym grantu UMP dla młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich:

- nr grantu: 502-14-02220351-50579,
- temat: „Ekspresja desmoglein w rakach podstawnokomórkowych w odniesieniu do cech kliniczno-histologicznych guza”,
- główny wykonawca:
lek. Paweł Pietkiewicz,
- kierownicy tematu badawczego:
dr n. med. inż. Justyna Gornowicz-Porowska,
prof. dr hab. n. med. Marian Dmochowski.

W roku 2015 lek. Paweł Pietkiewicz uzyskał stypendium doktorskie dla pracowników UMP oraz stypendium im. Michaela Hornsteina Europejskiej Akademii Dermatologii i Wenerologii (EADV).

1. WSTĘP

1.1 Kadheryny desmosomalne jako rodzina białek budujących desmosom

Kadheryny desmosomalne (DC) należą do nadrodziny kadheryn - glikoprotein przezbłonowych zależnych od jonów wapnia (*calcium-dependent adherins*), biorących udział w adhezji między sąsiadującymi komórkami poprzez zorganizowane struktury zwane desmosomami (Ryc. 1) (Angst i wsp. 2001; Bazzi i wsp. 2006; Franke 2009). Białka te uczestniczą również w określaniu sposobu i czasu komunikacji, migracji i dojrzewania określonych komórek, a w efekcie różnicowania tkanek (Gumbiner 2005; Saburi i wsp. 2005; Halbleib i wsp. 2006; Pokutta i wsp. 2007; Niessen i wsp. 2008; Delva i wsp. 2009; Hulpiau i wsp. 2009, 2011; Zhang Ying i wsp. 2011). Ponadto DC biorą udział w inicjacji adhezji pomiędzy komórkami, a także jej podtrzymywaniu niezależnie od klasycznych kadheryn (Garrod i wsp. 2002). Wszystkie kadheryny współdzielą podstawowy układ powtarzających się pozakomórkowych domen (*ectocyttoplasmic domains*, EC1-EC5), z których każda składa się z około 110 reszt aminokwasowych, usztywnionych przez 3 jony wapnia związane z nimi w regionach łączących domeny (Boggon i wsp. 2002; Ciatto i wsp. 2010; Leckband i wsp. 2012; Thiery i wsp. 2012). Każda z kadheryn posiada miejsce rozpoznawania przylegania (*cell adhesion recognition*, CAR) w obrębie pozakomórkowej N-końcowej domeny EC1, charakteryzujące się obecnością środkowej reszty alaninowej (Garrod i wsp. 2002). W skład DC, występujących w nabłonku i tkance mięśnia sercowego, wchodzi 2 nadrodziny białek: desmogleiny (DSG1-4) oraz desmokoliny (DSC1-3), posiadające w blisko 30% sekwencji aminokwasów homologicznych do tych obecnych w łańcuchach polipeptydowych klasycznych kadheryn, takich jak E- i N-kadheryny (Koch i wsp. 1992; Brennan i wsp. 2004; Bazzi i wsp. 2006; Ishii 2007; Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a). Co ciekawe, w proteomie myszy zidentyfikowano ponadto desmogleiny 5 i 6 (Dsg5, Dsg6) (Whitlock 2003).

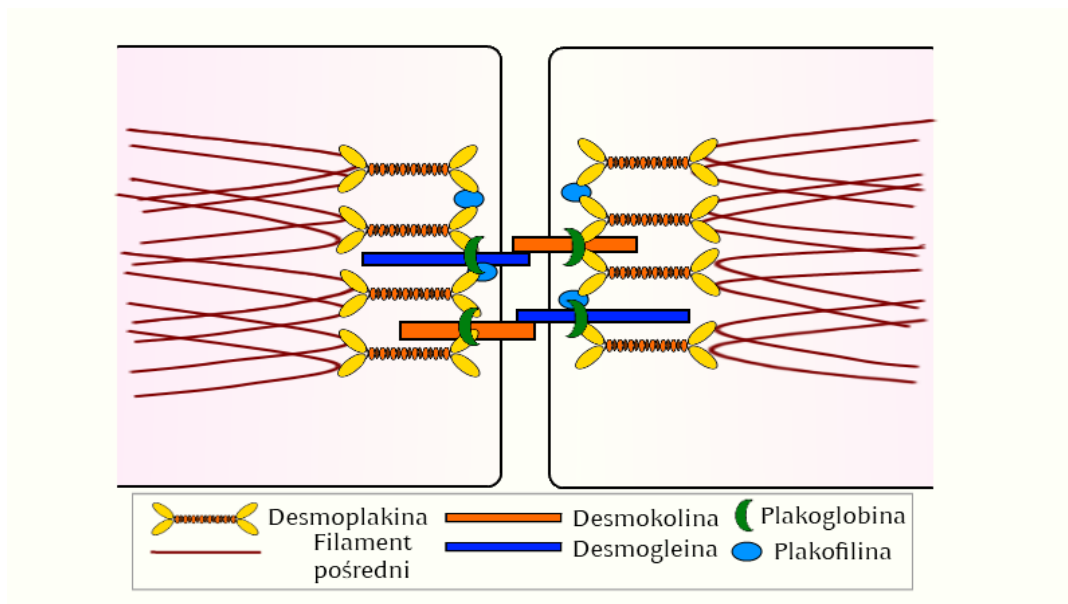
Geny kodujące DC u człowieka zlokalizowane są na ramieniu długim (q) chromosomu 18 (Hennies i wsp. 1995) i wydają się układać zgodnie z gradientem ich ekspresji nabłonkowej, co może wskazywać na ich kluczową rolę w różnicowaniu nabłonka i jego przydatków – mieszków włosowych, łożysk paznokciowych oraz gruczołów skórnych (Cserhalmi-Friedman i wsp. 2001; Garrod i wsp. 2002; Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a). Dotychczas u człowieka

dowodzono istnienia 3 genów desmokolin (*DSC1-3*) oraz 4 genów desmoglein (*DSG1-4*) (Garrod i wsp. 2002; Ishii 2007; Brennan i wsp. 2004; Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a; Saito i wsp. 2012). Każdy z produktów ekspresji genów desmokolin podlega zjawisku alternatywnego składania genów (*alternative splicing*, AS), w efekcie dając 2 warianty odpowiedniej DSC – dłuższy wariant „a” oraz krótszy wariant „b”, pozbawiony domeny śródkomórkowego segmentu kadherynowego (*intracellular cadherin segment*, ICS), czyli miejsca wiązania dla plakoglobiny (γ -kateniny; *junctional plakoglobin*, JUP) (North i wsp. 1999; Garrod i wsp. 2002; Green i wsp. 2007; Saito i wsp. 2012). Co ciekawe, o zjawisku AS donoszono również w kontekście DSGs. Opisywano 2 warianty DSG4 (izoformy 1 DSG4 i izoforma 2 DSG4), a także w pojedynczym doniesieniu wariant DSG3 – kadłubowy N-końcowy fragment określony przez badaczy nazwą Δ NDg3 (Lee J.S. i wsp. 2009). W przypadku pozostałych DSGs nie opisywano innych wariantów splicingowych, co jednak nie przeczy ich hipotetycznemu istnieniu, ze względu na powszechność zjawiska AS. Geny *DSGs* układają się w locus genowym kadheryn w następującej kolejności, w kierunku od centromeru do telomeru: *DSG1*, *DSG4*, *DSG3*, *DSG2* (Ryc. 2) (Mahoney i wsp. 2006). Współgranie kolejności genów z układem warstwowym ekspresji *DSGs* w naskórku (Mahoney i wsp. 2006), które zostało potwierdzone w obserwacjach na modelach ludzkich i zwierzęcych (Arnemann i wsp. 1993; King i wsp. 1993b; King i wsp. 1997) daje podstawy do twierdzenia, że odmiennie tkanki cechują się obecnością desmosomów o odmiennym składzie białkowym, a zatem przypuszczalnie również odmiennych biochemicznie i czynnościowo (Delva i wsp. 2009). Ze względu na względnie łatwy do uchwycenia, charakterystyczny obraz ultrastrukturalny desmosomu w mikroskopii elektronowej, struktury te były pierwszymi opisanymi przy pomocy tej metody połączeniami międzykomórkowymi w ludzkiej skórze (Peltonen i wsp. 2010). Każdy desmosom zbudowany jest z przynajmniej jednej DSC i jednej DSG, ale wydaje się, że nie istnieją żadne ograniczenia dotyczące obecności „nadprogramowych” DC w jego strukturze (North i wsp. 1996; King i wsp. 1997; Chidgey 2002). Fragmenty DC za pośrednictwem plakoglobiny, plakofiliny i desmoplakiny wiążą się z cytoszkieletem keratynowych filamentów pośrednich stabilizujących strukturę komórki (El-Amraoui i wsp. 2010). Nabłonki jednowarstwowe płaskie charakteryzują się jedynie obecnością par DSG2-DSC2, podczas gdy w nabłonkach

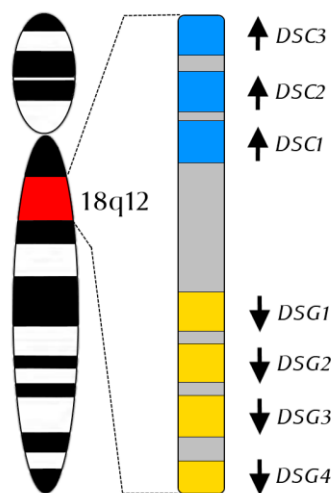
wielowarstwowych, np. naskórku czy nabłonku mieszkowym, mogą występować układy wszystkich DSGs i DSCs (Delva i wsp. 2009). Chociaż dane dotyczące ekspresji DC, zwłaszcza na poziomie mRNA są bardzo skąpe, a większość doniesień dotyczy ich ekspresji na poziomie białka (Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a), na podstawie analizy ekspresji mRNA, zasugerowano istnienie wzorca przestrzennego transkrypcji genów DC oraz hierarchiczności ekspresji konkretnych genów (King i wsp. 1997). Zauważono ponadto związek występowania konkretnych izoform DC ze stopniem zróżnicowania tkanek (Moll i wsp. 1997). Zauważono, że jedynie 2 białka z rodziny DC, mianowicie DSG2 and DSC2, można przyporządkować intensywnie dzielącym się komórkom - tworzącym nabłonki jednowarstwowe, warstwę podstawną nabłonków wielowarstwowych, pajęczynówkę, grasicę, mięsień sercowy i grudkowe komórki dendrytyczne (*FDC*) obecne w węzłach chłonnych (Nuber i wsp. 1995, 1996; Schäfer i wsp. 1994, 1996; Presland i wsp. 2000; Amagai i wsp. 2012). Dla odmiany, w komórkach nabłonków wielowarstwowych o wysokim stopniu zróżnicowania przeważają DSG1 i DSC1, którym często towarzyszą DSG3 i DSC3 (King i wsp. 1993; Theis i wsp. 1993; Arnemann i wsp. 1993; Legan i wsp. 1994; Nuber i wsp. 1996). Udowodniono, że DSGs są pierwotnie syntetyzowane w postaci nieaktywnych probiałek w siateczce endoplazmatycznej, a następnie transportowane przez strefy *cis* i *trans* aparatu Golgiego, gdzie są poddawane enzymatycznej obróbce konwertazy probiałkowej (Gornowicz-Porowska i wsp. 2010). Czynne biologicznie białka są transportowane do desmosomów lub magazynowane w okolicy połączeń przylegania (Yokouchi i wsp. 2009).

Badania nad desmosomami przez lata ogniskowały się na poznaniu struktur molekularnych zapewniających adhezję komórek – mechaniczną stabilizację nabłonków. Od późnych lat 90' badacze zwrócili uwagę na udział desmosomów i ich poszczególnych białek w różnicowaniu tkanek oraz utrzymaniu homeostazy. Obecnie w obszarze zainteresowań znajdują się zagadnienia dotyczące znaczenia zaburzonego przylegania komórkowego oraz zaburzeń komórkowych szlaków sygnałowych w rozwoju raka i zdolności do przerzutowania. Istnieją dane literaturowe sugerujące dużą aktywność proliferacyjną komórek raka podstawnokomórkowego. Stoi to w sprzeczności z obrazem klinicznym powolnego, nawet wieloletniego wzrostu guza. Istnieją przesłanki, by podejrzewać, że jego wzrost i różnicowanie może zależeć od ekspresji tkankowej DC. Czynnościowe znaczenie tych białek przylegania w adhezji komórek BCC oraz w zdolności raka

do naciekania czyni z DC użyteczne narzędzie pomocne w ocenie charakteru, potencjału wzrostowego i rokowania BCC.



Ryc. 1 Schemat budowy desmosomu. Na podstawie Fuchs i wsp. 2002.



Ryc. 2 Skupisko genów ludzkich kadheryn desmosomalnych na ramieniu długim chromosomu 18. Na podstawie: Gornowicz-Porowska i wsp. 2011b.

1.2 Ekspresja DSGs w zdrowych tkankach

DC są stałym elementem desmosomów kręgowców we wszystkich nabłonkach wielowarstwowych, nabłonkach jednowarstwowych (np. jelitowym, gruczołów sutkowych, tchawicy, pęcherza moczowego, wątroby, prostaty) i innych

tkankach, gdzie desmosomy są obecne – jak mięsień sercowy czy grasica (Amagai i wsp. 2012). Charakteryzują się one ekspresją zależną od typu komórki oraz formy organizacji tkankowej (Parrish i wsp. 1990; Buxton i Magee 1992; Koch i wsp. 1992, 1994; Buxton i wsp. 1993; King i wsp. 1993a i b, 1995, 1996, 1997). Uważane początkowo jedynie za cząsteczki adhezyjne, kadheryny są zaangażowane w wiele procesów biologicznych. Wśród nich można wymienić mechanizmy wzajemnego rozpoznawania się komórek, międzykomórkowe przesyłanie informacji, uczestnictwo w szlakach sygnałowych, udział w rozwoju tkanek, tworzeniu naczyń oraz prawdopodobnie transmisji sygnałów nerwowych (Angst i wsp. 2001). Poznanie roli DSGs, sterujących fizjologicznie różnicowaniem tkankowym w konkretnych tkankach, daje podstawy do dalszych badań nad wpływem ekspresji DC w tkankach patologicznie zmienionych, w tym objętych procesem nowotworowym.

1.2.1 Zdrowy naskórek w życiu płodowym

Badania dotyczące budowy skóry w fazie rozwoju są nieliczne i opierają się w przeważającej liczbie na obrazach mikroskopii elektronowej, a skład białkowy płodowych desmosomów i mechanizmy regulacji dojrzewania skóry nie został dotychczas dostatecznie zgłębniony. Wymienia się liczne czynniki, które mogą mieć wpływ na organizowanie się desmosomów z białek strukturalnych i ich dekompozycję. Są to: poziom i gradient jonów wapnia, regulacja enzymatyczna (aktywność kinaz/fosfataz), obróbka enzymatyczna białek, zjawisko *cross talk* z połączeniami zwierającymi oraz poziom EDGF (Yin i wsp. 2004; Leinonen i wsp. 2009; Peltonen i wsp. 2010). Medyczne bazy naukowe zawierają około 100 publikacji dotyczących budowy skóry w okresie płodowym (Peltonen i wsp. 2010).

Uważa się, że pierwsze z rzadka rozlokowane połączenia desmosomalne powstają pomiędzy warstwą podstawną naskórka a perydermą – pierwszą, spłaszczoną wierzchnią warstwą naskórka leżącą ponad warstwą podstawną, która cechuje się również zdolnością do proliferacji. Ich obecność wykazuje się już w 5-8 tygodniu życia płodowego (Holbrook i wsp. 1975; Hentula i wsp. 2001). Badanie desmosomów we wczesnym okresie płodowym (5 tydzień) z surowicą pęcherzycową nie pozwoliło uzyskać typowego obrazu “sieci rybackiej/kabaretek” (Delpech-Stewart 1971), który uzyskiwano dopiero po 11 tygodniu życia płodowego (Lane i wsp. 1985). Podczas dojrzewania płodu liczba desmosomów stopniowo

wzrasta (Hentula i wsp. 2001). W świetle powyższych badań wydaje się, że we wczesnym okresie życia płodowego, pomimo wykazania obecności desmosomów, nie można udowodnić, że w ich skład wchodzi DSGs. Co ciekawe, badanie naskórka z 8 tygodnia życia płodowego z surowicą zawierającą przeciwciała przeciwko ludzkim DSGs w obrazie uzyskanym za pomocą skanującej laserowej mikroskopii konfokalnej (*confocal laser scanning microscopy*, CLSM) wykazało punktowe świecenie równomiernie w obrębie błon komórkowych komórek warstwy postawnej i perydermy, co wskazuje na obecność DC, lecz również brak polaryzacji połączeń w komórkach warstwy podstawnej na tym etapie rozwoju (Hentula i wsp. 2001). W 11 tygodniu życia płodowego pomiędzy warstwą podstawną a perydermą tworzy się warstwa pośrednia, dająca początek nabłonkowi warstwowemu i różnicowaniu tkankowemu naskórka.

W okresie pomiędzy 9 a 20 tygodniem życia płodowego pojawia się więcej filamentów pośrednich związanych z desmosomami (Holbrook i wsp. 1975). Zauważa się, że komórki warstwy pośredniej zawierają ich więcej niż komórki warstwy podstawnej i perydermy. Co ciekawe, wraz z różnicowaniem warstwy pośredniej zauważa się ogólny spadek liczebności połączeń desmosomalnych w warstwie podstawnej i polaryzację budowy jej komórek typową dla dojrzałej skóry. Przybywa natomiast desmosomów w wyższych warstwach (Hentula i wsp. 2001). W badaniu immunofluorescencyjnym pośrednim (*indirect immunofluorescence study*, IIF) na skórze płodu w połowie II trymestru ciąży z przeciwciałami anti-DSG3 obecne jest międzykomórkowe świecenie typu *pemphigus* w obrębie warstwy podstawnej i warstwy pośredniej (Lane i wsp. 1985; Hentula i wsp. 2001). Jego ziarnisty charakter ewoluuje w IIF w jednolitą „sieć rybacką” do 21 tygodnia życia płodowego (Peltonen i wsp. 2010). Świadczy to o obecności DSG3 w desmosomach płodowych w tym okresie. DSG 1 wykrywa się w komórkach warstwy pośredniej i perydermy już w 14. tygodniu życia płodowego, natomiast warstwa podstawna nie wykazuje jej ekspresji (Kurzen i wsp. 1998). W tym samym okresie, w obrębie komórek warstwy podstawnej obserwuje się silną ekspresję DSG2, oraz niewielką jej ekspresję w obrębie perydermy (Kurzen i wsp. 1998). Zarówno w 14., jak i 18. tygodniu życia płodowego, wzorec ekspresji DSG3 pokrywa się z wzorcem ekspresji DSG2 (Kurzen i wsp. 1998).

W III trymestrze peryderma przestaje się dzielić i ulega keratynizacji, tworząc ochronną „kopertę” zrogowaciałych komórek, która następnie w wyniku utraty połączeń desmosomalnych ulega złuszczeniu do płynu owodniowego (Peltonen

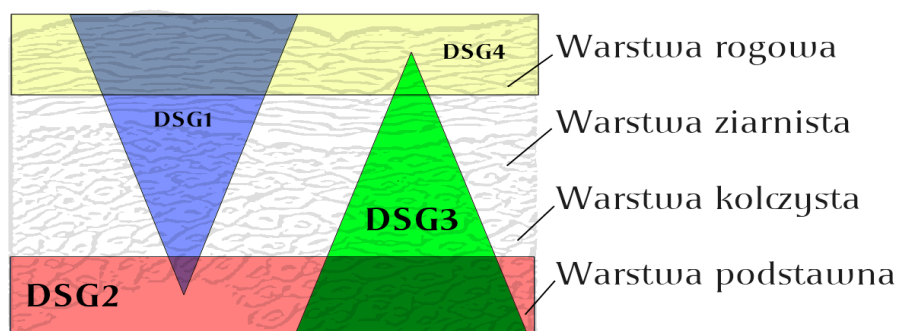
i wsp. 2010). Do 21–24 tygodnia życia płodowego, warstwa pośrednia rozwija się w warstwy: kolczystą, ziarnistą i rogową (Holbrook i wsp. 1980; Akiyama i wsp. 1999). Dwie pierwsze z nich stają się bogate w desmosomy. Skóra przypomina wówczas histologicznie skórę noworodka.

Wysunięto tezę, że istnieją mechanizmy kontrolujące ekspresję danej izoformy w perspektywie czasu i przestrzeni, w oparciu o obserwacje wysokiej homologiczności DSGs zarówno na poziomie genów, jak i białka (Mahoney i wsp. 2002). Uważa się zatem, że DSGs mogą odgrywać kluczową rolę w przyleganiu komórek podczas rozwoju płodowego (Mahoney i wsp. 2002).

1.2.2 Dojrzały zdrowy naskórek

Wzory ekspresji DSGs w naskórku zostały przedstawione graficznie na Ryc. 3. DSG1 wykazuje niską ekspresję w komórkach młodych leżących w warstwie podstawnej, stopniowo zwiększającą się wraz z ich dojrzewaniem w kierunku warstwy rogowej (Wu H. i wsp. 2003). DSG2 wykazuje najwyższą ekspresję w najniższych warstwach naskórka – tj. komórkach warstwy podstawnej, która zmniejsza się wraz z dojrzewaniem komórek (Ryc. 4A) (Brennan i wsp. 2010; Bowszyc-Dmochowska i wsp. 2010). Dowodząco, że warstwa podstawna naskórka dłoni jest bardziej bogata w DSG2 niż warstwa podstawna zdrowego naskórka innych okolic (Brennan i wsp. 2009). DSG3 wykazuje najwyższą ekspresję w warstwie podstawnej, a nagły jej zanik wraz przejściem keratynocyta do warstwy kolczystej (Ryc. 4B) (Wui i wsp. 2003; Bowszyc-Dmochowska i wsp. 2010). Wykazano pozytywną korelację ekspresji DSG2 i DSG3 w naskórku (Gornowicz-Porowska i wsp. 2011b). Występowanie DSG1 i DSG3 ogranicza się jedynie do nabłonków warstwowych (Brennan i wsp. 2010). Ekspresja DSG4 wzrasta wraz z przesuwaniem się keratynocytów z warstwy ziarnistej do wysokozróżnicowanej warstwy rogowej (Kljuic i wsp. 2003; Mahoney i wsp. 2006; Ishii 2007). Zależność ta została potwierdzona na obu poziomach biosyntezy białka (białko, mRNA) przez *Bazziego i wsp.* (Bazzi i wsp. 2006). W materiale własnym wykazano ekspresję DSG4 m.in. w przewodach wyprowadzających gruczołów potowych (Ryc. 4D). Klonowanie, wraz z oceną organizacji intronów i egzonów, mysich genów *Dsgs* ujawniło istotny konserwatywny ich układu (Mahoney i wsp. 2002). Ta sama grupa badaczy wskazywała na zróżnicowanie ekspresji *Dsgs* w tkankach płodów mysich i dorosłych osobników. Wydaje się,

że w przypadku dorosłych myszy *Dsg2* występuje w licznych tkankach, natomiast ekspresja *Dsg1* i *Dsg3* ogranicza się do wybranych tkanek (Mahoney i wsp. 2002). W związku z odrębnością ewolucyjną, w tym również na poziomie genów *DSGs*, korzystniejszy od modelu mysiego (6 *Dsgs*) dla ekstrapolacji wyników badań dla człowieka byłby dla przykładu model psi, bliższy ludzkiemu (4 *DSGs*).



Ryc. 3 Wzory ekspresji desmoglein w dojrzałym naskórku.

1.2.3 Mieszek włosowy w życiu płodowym

Skóra daje sygnał komórkom naskórka do przemiany w zawiązek włosa przed 9 tygodniem życia płodowego (Weller i wsp. 2011). Jest on litym tworem o kształcie walca, zagłębionym skośnie w skórę właściwą (Weller i wsp. 2011). Pod wpływem sygnałów przekazywanych z zawiązka włosa do skóry właściwej jego dolna część zostaje wpuklona do wewnątrz przez zgrupowanie komórek mezenchymalnych (zwane plakodą), tworząc brodawkę włosa zawierającą naczynia krwionośne odżywiające zawiązek (Sperling 1991). Plakoda pobudza komórki zawiązka włosa do różnicowania w pochewkę włosa i zstępowania wraz z brodawką włosa w głąb skóry właściwej (Harris i wsp. 2010). Mieszek włosowy w życiu płodowym posiada obszar znany jako płodowy obszar wybrzuszenia (*embryonic bulge*), zawierający komórki pluripotencjalne, o wysokiej ekspresji *DSG2* (Wu H. i wsp. 2003), posiadające zdolność samoodnowy, proliferacji i różnicowania się w komórki mieszka włosowego, gruczoły łojowe, apokrynowe, ich przewody oraz naskórek (Cotsarelis i wsp. 1990; Ma i wsp. 2004; Ohyama 2007). Płodowa macierz włosa (*embryonic hair germ*) jest odpowiednikiem warstwy podstawnej naskórka. Zawiera ona komórki macierzyste o wysokim potencjale

proliferacyjnym, które wytwarzają wewnętrzną pochewkę włosa oraz jego łądygę (Sperling 1991; Alonso i wsp. 2006).

Ekspresja DSG1 była obserwowana już w 14. tygodniu życia płodowego i lokalizowała się w obrębie wewnętrznej pochewki włosa (Kurzen i wsp. 1998). W przypadku włosów typu *lanugo*, DSG1 w lokalizowała się podobnie - w wewnętrznej pochewce włosa, podczas gdy macierz włosa i komórki opuszki tworzące włos (trichocyty) wykazywały śladową jej obecność. Komórki górnej połowy, w przeciwieństwie do dolnej połowy zewnętrznej pochewki włosa, również wykazywały ekspresję DSG1 (Kurzen i wsp. 1998). Niewielka ekspresja DSG1 obecna była także w komórkach płodowego obszaru wybrzuszenia (Kurzen i wsp. 1998). Od 14. tygodnia życia płodowego wykazywano obecność DSG2 i DSG3 w komórkach zewnętrznej pochewki mieszka włosowego, macierzy, trichocytach oraz wszystkich komórkach płodowego obszaru wyrzuszenia, lecz nie obserwowano ich w wewnętrznej pochewce włosa (Kurzen i wsp. 1998). Te obserwacje pokrywały się w przypadku zawiązków mieszków włosowych, jak i mieszkach włosowych włosów typu *lanugo*. Lokalizacja ekspresji *DSG1-3* na poziomie mRNA była analogiczna do ich ekspresji na poziomie białka (Kurzen i wsp. 1998). Brak jest danych na temat ekspresji *DSG4* na poziomie mRNA w tym okresie.

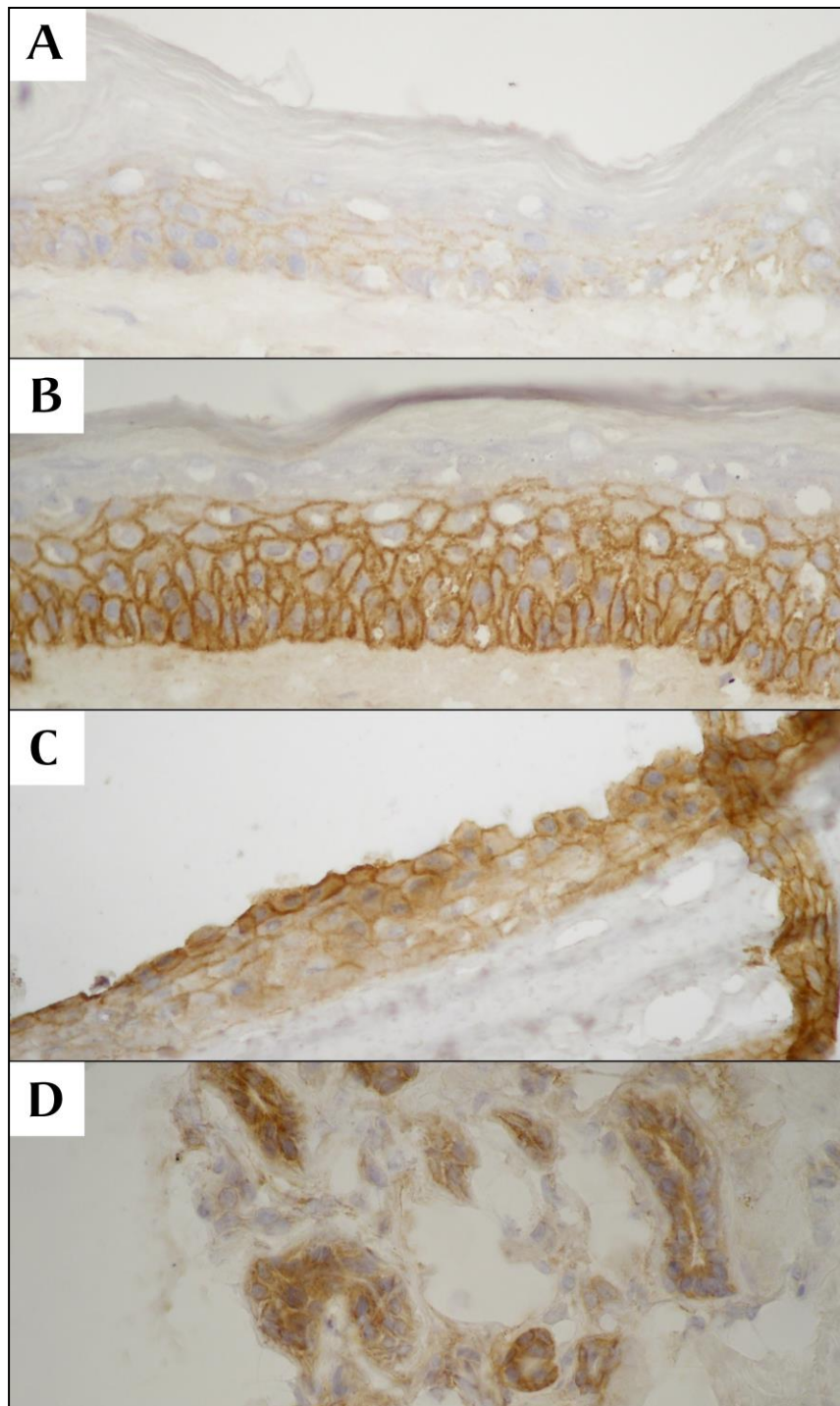
1.2.4 Dojrzały mieszek włosowy

Proces wzrostu mieszka włosowego w dojrzałej skórze przypomina jego wzrost w życiu płodowym. Pojedyncze mieszki włosowe podlegają regularnemu cyklowi wzrostu i wypadania włosów. Podaje się 3 fazy cyklu włosowego: anagen, katagen i telogen. Anagen jest pierwszą, aktywną fazę wzrostu włosa. Katagen jest krótkim okresem przejścia z fazy wzrostu do fazy spoczynku, której koniec przestającego rosnać włosa przybiera maczugowaty kształt. Telogen jest fazą spoczynku włosa, która kończy się jego wypadnięciem. Niektórzy badacze dążą do wprowadzenia czwartej fazy cyklu – egzogenu, związanego z krótkim okresem wypadania włosa. W zależności od okolicy ciała obserwuje się różny czas trwania poszczególnych faz życia włosa (Weller i wsp. 2011).

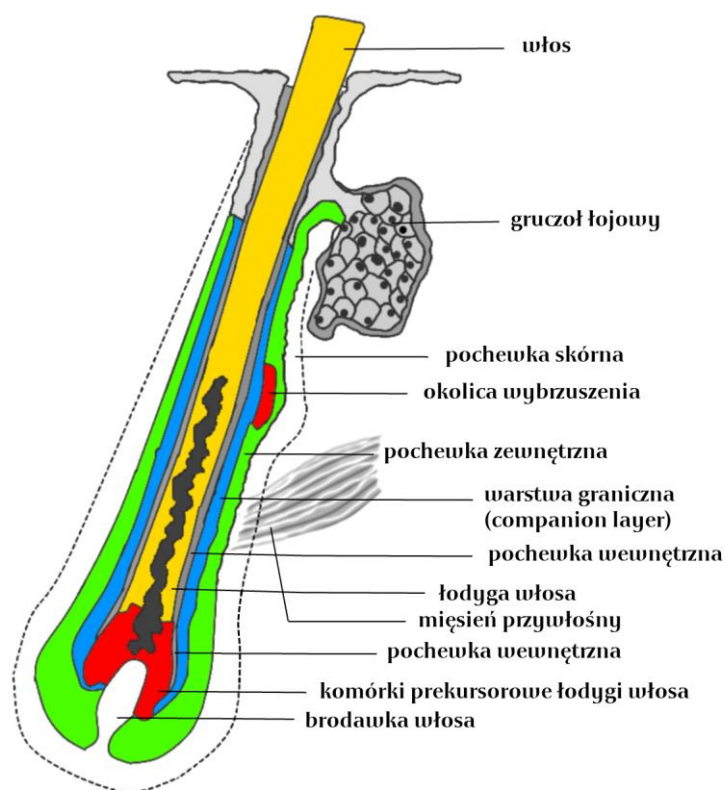
Położony u podstawy zewnętrznej pochewki włosa obszar wybrzuszenia (*bulge region*) jest odpowiednikiem płodowego obszaru wybrzuszenia. Podobnie, zawiera on komórki pluripotencjalne (Alonso i wsp. 2006). Leżąca również u podstawy zewnętrznej pochewki włosa, ale w odrębnym obszarze niż

wybrzuszenie, macierz włosa (*germinative matrix*) odpowiada płodowej macierzy włosa (Hardy 1992). Podstawa i boczne ściany mieszka włosowego po utworzeniu brodawki włosa zagłębiają się przez skórę właściwą nawet na głębokość tkanki tłuszczowej (Harris i wsp. 2010).

Mieszki włosowe wykazują ciągłość z naskórkiem zarówno pod względem budowy, jak i pochodzenia tkankowego. Na podobieństwo naskórka, komórki mieszka włosowego tworzą warstwy w oparciu o stopień zróżnicowania (Wu H. i wsp. 2003). Wzory ekspresji DSGs w dojrzałym mieszkcu włosowym zostały przedstawione graficznie na Ryc. 5. DSG1 występuje w wewnętrznej oraz najbardziej wewnętrznych warstwach zewnętrznej pochewki włosa. DSG2 ulega wysokiej ekspresji w najmniej zróżnicowanych komórkach naskórka, w tym komórkach okolicy wybrzuszenia, komórkach macierzy opuszki włosa, oraz warstwy podstawnej zewnętrznej pochewki włosa (Wu H. i wsp. 2003). Wskazywano, że jej ekspresja mieszkowa jest istotnie wyższa niż naskórkowa (Brennan i wsp. 2009). DSG3 występuje w mieszkcu włosowym w komórkach o różnym stopniu keratynizacji – wszystkich warstwach komórek zewnętrznej pochewki włosa w obszarach rogowacenia typu włosowego (Ryc. 4C) oraz we wszystkich komórkach warstwy podstawnej zewnętrznej pochewki włosa z naskórkowym typem keratynizacji, w tym obszarze lejka (*infundibulum*) (Wu H. i wsp. 2003; Dmochowski 2006). DSG3 odpowiada za kotwiczenie włosa telogenowego w mieszkcu (Dmochowski 2006). DSG4 wykazuje ekspresję w korze łodygi włosa, dolnej części nabłonka włosowego oraz górnym odcinku wewnętrznej pochewki włosa (Bazzi i wsp. 2009). Dane o ekspresji DSG4 na poziomie białka współgrają z wcześniej uzyskanymi danymi na poziomie mRNA (Bazzi i wsp. 2006). Tę DC uważa się za kluczową dla adhezji międzykomórkowej w mieszkcu włosowym z powodu jej znaczenia dla modulowania przejścia od proliferacji do różnicowania (Kljuic i wsp. 2003; Brennan i wsp. 2010).



Ryc. 4 Wzory ekspresji nabłonkowej desmoglein. Ekspresja DSG2 w dolnych warstwach naskórka (A). Ekspresja DSG3 w dolnych i środkowych warstwach naskórka (B). Ekspresja DSG3 w zewnętrznej pochewce mieszka włosowego (C). Ekspresja DSG4 w przewodach wyprowadzających gruczołów potowych (D). Powiększenie 400×, IHC.



Ryc. 5 Wzory ekspresji desmoglein w dojrzałym mieszkcu włosowym. Desmogleiny oznaczono następującymi kolorami: niebieskim – DSG1, czerwonym – DSG2, zielonym – DSG3, żółtym – DSG4. Na podstawie: Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a.

1.3 Choroby związane z DSGs, istotne dla zrozumienia ich fizjologicznej roli

Mutacje genów z rodziny *DSGs* warunkują liczne zespoły genetyczne. W 1999 roku udowodniono, że mutacje *DSG1*, związane z zaburzeniami architektury desmosomów i keratynowych filamentów pośrednich powodują dziedziczny zespół *striate palmoplantar keratoderma* (SPPK) (Rickman i wsp. 1999; Wan i wsp. 2004). Dotychczas w SPPK zidentyfikowano 16 odrębnych mutacji *DSG1*, w większości typu nonsesownego (Dua-Awereh i wsp. 2009; Hershkovitz i wsp. 2009). Pacjenci cierpiący na SPPK, w obrębie dłoni i stóp prezentują podłużne zmiany hiperkeratotyczne, zazwyczaj najbardziej nasilone w obszarach narażonych przewlekłe na tarcie i ucisk. Mimo, że zidentyfikowano 3 geny *DSG1* u myszy (*Dsg1α*, *Dsg1β*, *Dsg1γ*), dotychczas nie opisano modelu zwierzęcego tej choroby. Podejrzuwa się, że do jej zaistnienia na modelu mysim musiałoby dojść do celowanej delecji w obrębie wszystkich 3 genów o leżących blisko siebie loci (El-Amraoui i wsp. 2010). Ocena chorej skóry dłoni za pomocą mikroskopii

elektronowej udowodniła obniżenie liczności desmosomów, znaczne zmniejszenie ich wielkości i zaburzenia architektoniki w warstwach ponadpodstawnych naskórka (El-Amraoui i wsp. 2010). Ponadto na poziomie molekularnym wykazywano zmniejszenie ekspresji keratyn K5, K14 i K10, a wzrost ekspresji keratyny K16 – markera aktywności proliferacyjnej i odbudowy, co może wiązać się z niedojrzałością keratynocytów i pogrubieniem naskórka typowym dla SPPK (Wan i wsp. 2004). Drugi, niedawno opisany zespół związany z homozygotyczną mutacją *DSG1* wiąże się z zapaleniem skóry o ostrym przebiegu, alergią poliwalentną i zespołem SAM. Wykazano, że obniżenie ekspresji *DSG1* współwystępuje w nim z zwiększoną ekspresją licznych genów kodujących cytokiny związane z alergią (Samuelov i wsp. 2013; Ishida-Yamamoto i wsp. 2014).

Heterozygotyczne mutacje genowe *DSG2* oraz *DSC2*, budujących połączenia pomiędzy kardiomiocytami leżą u podłoża arytmogennej kardiomiopatii prawej komory (*arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*, ARVC). Większość z 22 opisanych mutacji *DSG2* ma charakter mutacji nonsensownych kodujących domeny EC (Awad i wsp. 2008). ARVC przeważnie dziedziczy się autosomalnie dominująco, lecz mutacje mogą mieć różny poziom penetracji u poszczególnych członków rodziny. U tych pacjentów opisuje się powiększenie i niewydolność prawej, lecz co warto podkreślić, również lewej lub obu komór serca, na co zwraca się ostatnio uwagę postulując zmianę nomenklatury tej jednostki na arytmogenną kardiomiopatię komorową (AVC) (Saguner i wsp. 2014). Zmiany w AVC mogą prowadzić do nagłej śmierci sercowej (Saguner i wsp. 2014). Chorobie towarzyszą ponadto charakterystyczne zmiany w zapisie elektrokardiograficznym z komorowymi zaburzeniami rytmu. Na poziomie tkankowym obserwuje się przebudowę mięśnia sercowego związaną z zanikiem kardiomiocytów i zastępowaniem ich przez tkankę włóknistą i tłuszczową (Awad i wsp. 2006). Obraz histologiczny kardiomiocytów pacjentów z AVC cechuje się poszerzeniem przestrzeni międzykomórkowych i zmniejszeniem liczności desmosomów (El-Amraoui i wsp. 2010). W badaniu na modelu mysim, wykazano, że utrata unikalnego C-końcowego fragmentu *Dsg2* powoduje zaburzenia stabilności *Dsg2* na powierzchni komórek, a w efekcie jego szybką endocytozę w komórce mięśnia sercowego (Chen J. i wsp. 2012). Myszy pozbawione obu kopii *Dsg2* umierają niedługo po implantacji zarodka, co wskazuje na letalny charakter mutacji (Eshkind i wsp. 2002). Uważa się, że *Dsg2* jest kluczowym białkiem utrzymującym przyleganie i czynność kardiomiocytów (Schlipp i wsp. 2014). Wydaje się,

że mutacje pojedynczego genu *DSG2* u człowieka nie powodują zaburzenia czynności naskórka, ani mieszka włosowego dzięki kompensacji *DSG2* w tych tkankach przez inne geny *DSGs* (Awad i wsp. 2006; Pilichou i wsp. 2006).

Mutacja genu *DSG4* wiąże się z zespołem *localized autosomal recessive hypotrichosis* (LAH). Wydaje się, że ta choroba o dziedziczeniu autosomalnie recesywnym występuje częściej wśród pacjentów pochodzenia pakistańskiego (Schweizer 2006). Pierwszą z opisywanych mutacji powodowała rozległą delecję fragmentu kodującego domenę EC2 oraz część domen EC1 i EC3 *DSG4* (Kljuic i wsp. 2003). Kolejne opisywane mutacje miały charakter zmiany sensu lub mutacji typu *null* (Wajid i wsp. 2007). W obrębie owłosionej skóry głowy, tułowia i kończyn pacjentów, włosy są kruche i łamliwe (Kljuic i wsp. 2003). Na owłosionej skórze głowy dodatkowo w charakterystyczny sposób się przerzedzają (Kljuic i wsp. 2003). Włosy w obrębie twarzy, okolicy łonowej i pachwinowej są w przeważnie oszczędzone przez chorobę (Kljuic i wsp. 2003). Kora włosa pacjentów z LAH wykazuje obfitą ekspresję *DSG4*. Obraz histologiczny ich skóry przedstawia poszerzenie przestrzeni międzykomórkowych na całej ciągłości naskórka poza warstwą podstawną, co można tłumaczyć obserwowanym w mikroskopii elektronowej zmniejszeniem liczności desmosomów, ich zmniejszoną wielkością i zaburzeniami struktury. Ciekawym zagadnieniem pozostaje u niektórych pacjentów nakładanie się objawów LAH z zespołem włosów paciorkowatych (*monilethrix*) (Schweizer 2006). Ta genodermatoza o dziedziczeniu autosomalnie dominującym, o manifestacji we wczesnym wieku dziecięcym, spowodowana jest mutacją genów *KRT81*, *KRT83* i *KRT86*, które kodują keratyny włosowe typu II: Hb1, Hb3 i Hb6. Postać związana z LAH, spowodowana homozygotyczną mutacją genu *DSG4* dziedziczona jest autosomalnie recesywnie (Schaffer i wsp. 2006; Shimomura i wsp. 2006; Zlotogorski i wsp. 2006). Różnice fenotypowe w poszczególnych rodzinach chorych mogą wynikać z odmiennych charakterów mutacji, współistnienia różnych mutacji czy obecności epigenetycznych czynników kontrolujących zmutowany gen *DSG4* (El-Amraoui i wsp. 2010).

Innymi jednostkami, w których etiopatogenezie *DSGs* odgrywają istotną rolę są gronkowcowe złuszczone zapalenie skóry (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, SSSS, Choroba Rittera) i liszajec zakaźny (*impetigo contagiosa*). Wytwarzana przez szczepy gronkowca toksyna – eksfoliatyna A, powoduje utratę połączeń desmosomalnych związanych z *DSG1*, co wiąże się z powstawaniem

płytkiego, podrogowego pęcherza, identycznego morfologicznie z pęcherzem podrogowym obserwowanym w PF (Amagai i wsp. 2000). Kolejnym przykładem związku infekcji z DSGs jest przykład adenowirusa ludzkiego o serotypie B, powodującego infekcje dróg oddechowych i moczowych (Wang Hongjie i wsp. 2011). Odmienne do większości ludzkich adenowirusów (serotypy A, C-F), które wiążą z receptorem dla adenowirusa *Coxsackie*, serotyp B wiąże się z DSG2 jako pierwotnym receptorem o wysokim powinowactwie, powodując przebudowę komórki nabłonka w komórkę o cechach mezenchymalnych, by w efekcie czasowo rozewrzeć połączenia międzykomórkowe w celu umożliwienia wirusowi wniknięcia do warstw skóry poniżej nabłonka i dalej do krwioobiegu (Amagai i wsp. 2012).

Nieprawidłowa ekspresja izoform DSGs powoduje zaburzenia różnicowania komórki, co ukazuje jasno, że nie są to jedynie białka zapewniające adhezję (Amagai i wsp. 2012). Ekspresja Dsg3 w powierzchniowych warstwach naskórka, gdzie w warunkach prawidłowych się jej nie obserwuje, wywołuje zaburzone różnicowanie komórek naskórka, nieprawidłową budowę warstwy kolczystej oraz zwiększoną przeznaskórkową utratę wody (*transepidermal water loss*, TEWL) (Elias i wsp. 2001). Pozbawione Dsg2 zarodki myszy obumierają w stadium blastocysty (Eshkind i wsp. 2002), natomiast ekspresja Dsg2 w powierzchniowych warstwach naskórka powoduje nasiloną proliferację oraz aktywację licznych szlaków sygnałowych - PI3K (3-kinaza fosfatydilinozytolu, *phosphatidylinositol-3-kinase*)/AKT (kinaza białkowa B, *protein kinase B*), MEK (kinazy regulowane przez sygnały zewnątrzkomórkowe, *mitogen/extracellular signal-regulated kinase*, ERK)/p38MAPK (kinaza białkowa p38 aktywowana mioginem, *p38 mitogen-activated protein kinase*), STAT3 (przebiegacz sygnału i aktywator transkrypcji, *signal transducer and activator of transcription*) i NF- κ B (czynnik jądrowy κ B, *nuclear factor κ B*) (Brennan i wsp. 2007). Powyższe obserwacje jasno dowodzą kluczowej roli DSGs w sterowaniu proliferacją i różnicowaniem keratynocytów (Amagai i wsp. 2012). Wydaje się, że własność ta wynika właśnie z aktywacji licznych ścieżek sygnałowych, których znaczenie nie jest dotychczas w pełni wyjaśnione. Jedną z nich może być ścieżka związana z plakoglobiną. Białko to, będące γ -kateniną wykazuje znaczną homologię z β -kateniną (Zhurinsky i wsp. 2000), częścią będącą elementem ścieżki sygnałowej WNT, istotnej dla proliferacji, różnicowania i rozwoju zarodkowego. DSG1 wydaje się być natomiast kluczowym białkiem sterującym warstwową organizacją naskórka i jego różnicowaniem

niezależnie od adhezji i ścieżki związanej z plakoglobiną, a w wyniku wygaszania aktywności ścieżki EGFR-ERK1/2 poprzez interakcję z erbiną (*erbin*) oraz TcTex (Getsios i wsp. 2009; Amagai i wsp. 2012; Green i wsp. 2013). Erbina - białko wiążące ErbB2, wchodząc w reakcję z DSG1 hamuje ścieżkę p38MAPK stymulując ekspresję cząstek związanych z różnicowaniem, natomiast TcTex – lekki łańcuch dyneiny, białka odpowiedzialnego za transport dośrodkowy wzdłuż mikrotubul, wiążąc się z DSG1 moduluje architekturę włókien aktywnych różnicujących się keratynocytów (Green i wsp. 2013; Harmon i wsp. 2013).

1.4 DSGs w autoimmunizacyjnych dermatozach pęcherzowych

Dowód na wpływ DC, a w szczególności DSGs na stabilność połączeń desmosomalnych, a więc i mechaniczną stabilizację tkanki został przedstawiony w oparciu o badania dwóch jednostek chorobowych – pęcherzycy zwykłej (*pemphigus vulgaris*, PV) (Ryc. 6-7) i pęcherzycy liściastej (*pemphigus foliaceus*, PF) (Ryc. 8). Krąg chorób pęcherzycy należy do autoimmunizacyjnych dermatoz pęcherzowych (ADP), u podstaw których leży obecność krążących surowicznych autooprzeciwciał wobec białek desmosomalnych nabłonka wielowarstwowego, a w efekcie powstawanie pęcherza śród-naskórkowego (Amagai 1996; Gornowicz-Porowska i wsp. 2010, 2013; Pietkiewicz i wsp. 2012, 2013a i b). Obie z tych potencjalnie śmiertelnych chorób dotyczą naskórka oraz przydatków (mieszków włosowych, gruczołów łojowych i ekrynowych), natomiast jedynie PV zajmuje również błonę śluzową (głównie błonę śluzową jamy ustnej) (Dmochowski 2007). Zmiany śluzówkowe w PV przeważnie wyprzedzają zmiany skórne, natomiast opisuje się również mniej typowe przypadki poprzedzone tzw. szankrem pęcherzycowym (Pietkiewicz i wsp. 2011; Gornowicz-Porowska i wsp. [w druku]). Wśród rozlicznych czynników przyczynowych/spustowych/podtrzymujących wymienia się leki posiadające w swojej strukturze lub potencjalnie tworzące grupy tiolowe, amidowe i fenolowe (Dmochowski i wsp. 2014a; Pietkiewicz i wsp. 2015).

Obraz histologiczny PV zmienia się w czasie. Chociaż jest charakterystyczny, nie jest typowy jedynie dla PV. Początkowo, w nieczęstym okresie pokrzywkowatym PV (zwłaszcza w opryszczkowatej odmianie PV), w warstwie brodawkowatej skóry właściwej obserwuje się mierny okołonaczyniowy naciek eozynofilowy lub mieszany eozynofilowo-neutrofilowy (Dmochowski 2006). Naskórek z rozproszonym naciekiem eozynofilów i neutrofilów wykazuje cechy

zwyrodnienia gąbczastego (*spongiosis*), a w warstwie podstawnej i kolczystej nabłonka i jego przydatków obserwuje się wakuolizację (Dmochowski 2006). W dojrzałym wykwicie PV widoczna jest ciągła szczelina pomiędzy warstwą podstawną a kolczystą w naskórku i nabłonkowych strukturach przydatków (Dmochowski 2006). Szczelina ta może zawierać eozynofile i neutrofile, a także typowo okrągłe akantolityczne keratynocyty. Komórki warstwy podstawnej nabłonka w dnie szczeliny opisywane są w literaturze anglojęzycznej jako tworzące rząd nagrobków (*row of tombstones*) (Ryc. 7). Zmiany śluzówkowe morfologicznie są tożsame ze zmianami w naskórku. Podstawa pęcherza w PV może leżeć na komórkach warstwy podstawnej pokrywającej wydłużone brodawki skórne przedstawiając obraz kosmków (Dmochowski 2006). Późna zmiana wykazuje cechy naskórkowania, zatem dno pęcherza wyściela wówczas kilka warstw keratynocytów. U pacjentów z bujającą postacią PV obserwuje się obfity naciek eozynofilowy w hiperplastycznym naskórku, który może powodować powstawanie mikroropni śródskórkowych bez wyraźnej szczeliny (Dmochowski 2006). Obraz zmian histologicznych w PF przypomina obraz naskórkującego pęcherza w PV.

W PV organizm wytwarza przeciwciała w klasie IgG przeciwko DSG3, a często także DSG1 (Amagai 1999). Przeciwciała pęcherzycowe wiążą się z desmosomami naskórka i błon śluzowych powodując powstanie wiotkiego, łatwopękającego ponadpodstawnego pęcherza wypełnionego zazwyczaj surowiczą treścią, który ewoluje w bolesną nadżerkę. U pacjentów pęcherzycowych opisywano również krzyżowe reakcje surowic z DSG4 (Dmochowski 2006). Część surowic pacjentów chorych na pęcherzycę zawiera dodatkowo przeciwciała przeciwko DSCs (DSC1-3, a i b) w klasie IgG oraz IgA (Dmochowski 2006). Obecność przeciwciał skierowanych przeciwko DSG3 i DSG1 wykazuje się również w związanej z chorobą nowotworową jednostce z grupy ADP – pęcherzycy paraneoplastycznej (Kershenovich i wsp. 2014). Przeciwciała przeciwko innym składowym desmosomu, desmoplakinom, obserwuje się w surowicach pacjentów chorujących na endemiczną postać PF (Kunte i wsp. 1997; Jiao i wsp. 1998). Wydaje się, że wyjaśnieniem tego fenomenu jest zjawisko śródcząsteczkowego i między-cząsteczkowego rozprzestrzeniania epitopów (*epitope spreading*) lub krzyżowa reakcja typu *heteroclitic*, w której dochodzi do silniejszego wiązania przez dane przeciwciało antygeny wtórne w porównaniu do antygeny pierwotnego (Dmochowski 2006).

Przeciwciała przeciwko DSG1 wytwarzane w PF powodują powstawanie płytkich pęcherzy podrogowych w obrębie naskórka, ale niezajmujących błon śluzowych. Prawdopodobnie jest to wynik ich odmiennej budowy związanej z niższym poziomem ekspresji DSG1 niż w naskórku, która kompensowana jest wyższym poziomem ekspresji DSG3 (Shirakata i wsp. 1998). Rolę autoprzeciwciał przeciwko DSGs w powstawaniu pęcherza na skutek akantolizy, czyli utraty połączeń desmosomalnych między komórkami, udowodniono na modelu mysim (Amagai i wsp. 1998). Interesującym fenomenem jest istnienie wariantu DSG1, wynikającego z AS - insercji 101 par zasad pochodzących z 3'-końcowego intronu 6 *DSG1* wprowadzającej wcześniejszy kodon stop (Mouquet i wsp. 2006). Kadłubowe białko obecne w błonie komórkowej keratynocytów, posiada sekwencję swoiście wiążącą się ze związaną z PF cząsteczką HLA (*human leucocyte antigen*, ludzki antygen leukocytarny) klasy II DRβ1*0102, przekazując sygnał proliferacyjny dla PF-swoistych autoagresywnych limfocytów T (Mouquet i wsp. 2006).

Zauważono, że łączeniu się przeciwciał pęcherzykowych z ich antygenami (DSG3, DSG1) na powierzchni keratynocytu towarzyszą aktywacje ścieżek sygnałowych. Najlepiej zbadanymi z nich są te, w których uczestniczą p38MAPK oraz plakoglobina. Wydaje się, że do aktywacji tych ścieżek sygnałowych może dochodzić dopiero po utracie połączeń pomiędzy komórkami (Hartlieb i wsp. 2014). Tym niemniej sugeruje się, że ich aktywacja może potęgować akantolizę mediowaną przeciwciałami pęcherzykowymi, a ich zablokowanie może powodować zmniejszenie aktywności choroby (Hartlieb i wsp. 2014).

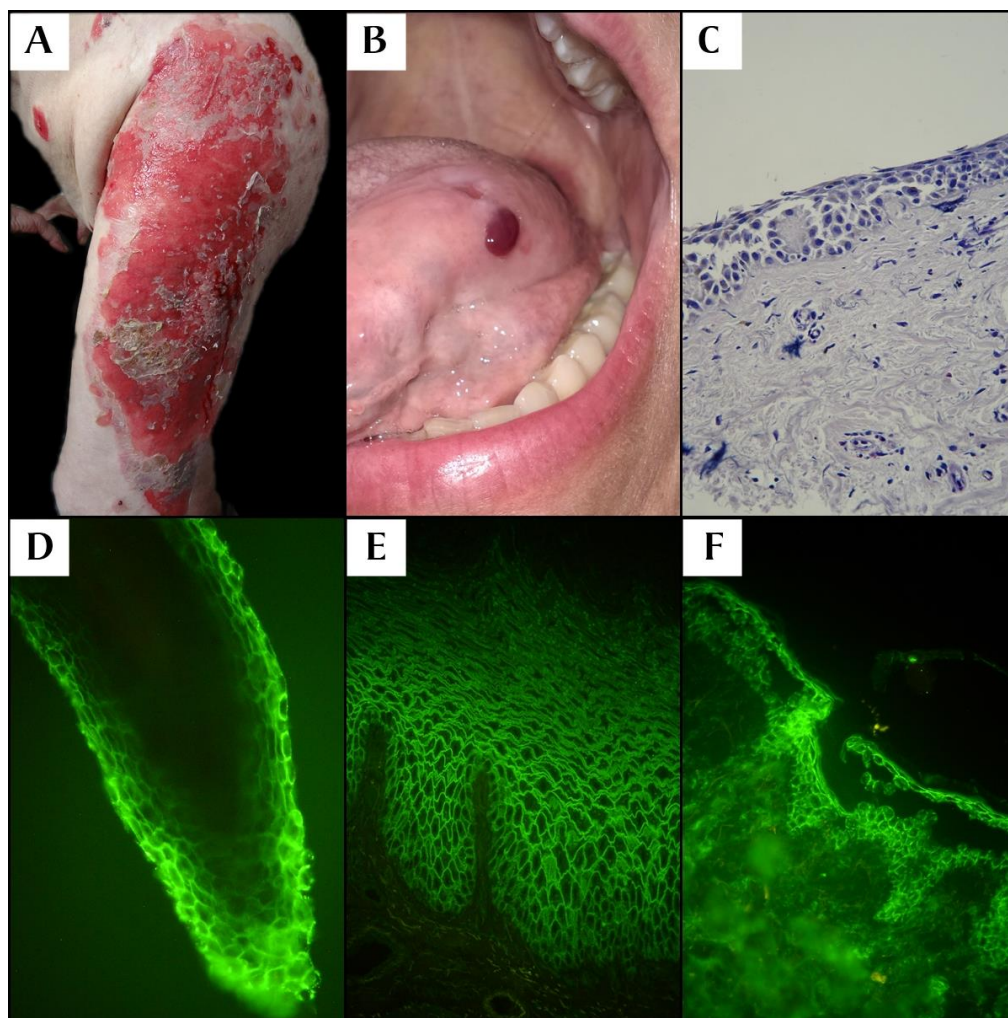
Ścieżka p38MAPK wydaje się być najważniejszą pobudzaną przez wiązanie antygen-przeciwciało w obu postaciach pęcherzicy. Odpowiada ona za regulację cyklu życiowego, w tym proliferację, różnicowanie i apoptozę (Coulthard i wsp. 2009). Obserwowano, że aktywacja p38MAPK w ludzkich keratynocytach przez przeciwciała pęcherzycowe w klasie IgG prowadzi do następczej fosforylacji kompleksu sygnałowego (*signalosome*) tworzonego przez p38MAPK i aktywowane kinazy białkowe 2/3 (*mitogen-activated protein kinase-activated protein kinases 2/3*, MAPKAPK) oraz białko szoku cieplnego (*heat shock protein*) HSP27 (Berkowitz i wsp. 2006). W efekcie, dochodzi do przebudowy cytoszkieletu aktynowego, akantolizy, oraz co ciekawe - internalizacji DSG3 i jej następczej degradacji w endosomach (Berkowitz i wsp. 2006; Zheng i wsp. 2006; Jolly i wsp. 2010; Hartlieb i wsp. 2014). Wykazano, że znaczna część niezwiązanej z desmosomami DSG3 pozostaje w cytoplazmie i kolokalizuje się z p38MAPK (Hartlieb i wsp. 2014).

Ten sam zespół badaczy wskazywał na rolę DSG3 w utrzymywaniu struktury komórki poprzez modulację przebudowy keratynowych filamentów pośrednich zależną od p38MAPK (Hartlieb i wsp. 2014). Wykazano, że komórki nabłonka pozbawione plakoglobiny w wyniku inżynierii genetycznej, były mniej podatne na akantolizę pod wpływem przeciwciał pęcherzycowych niż klasyczne komórki nabłonka. Na skutek tego doświadczenia udało się zidentyfikować szlak sygnałowy, którego elementem był protoonkogen c-Myc, którego wzrost ekspresji obserwowano w keratynocytach narażonych na przeciwciała pęcherzycowe (Williamson i wsp. 2006, 2007). Dotychczas wykazano jego rolę w procesie migracji komórek macierzystych i ich różnicowania w wyspecjalizowane komórki naskórka wielowarstwowego płaskiego rogowaciejącego (Watt 2001). Wykazywano na modelach mysich, że aktywacja c-Myc w keratynocytach warstwy podstawnej prowadzi do redukcji liczebności komórek macierzystych i intensywnego rozrostu naskórka (Arnold i wsp. 2001; Waikel i wsp. 2001; Frye i wsp. 2003), natomiast inaktywacja c-Myc wiąże się początkiem różnicowania się komórki w komórkę docelową (Kolly i wsp. 2005). Aktywacja tego protoonkogenu w komórkach warstw ponadpodstawnych wyzwała impuls do proliferacji, zaburza różnicowanie keratynocytów, zmniejsza aktywność apoptotyczną indukowaną promieniowaniem UVB oraz prowadzi do rozwoju zmian przednowotworowych (Pelengaris i wsp. 1999; Waikel i wsp. 1999).

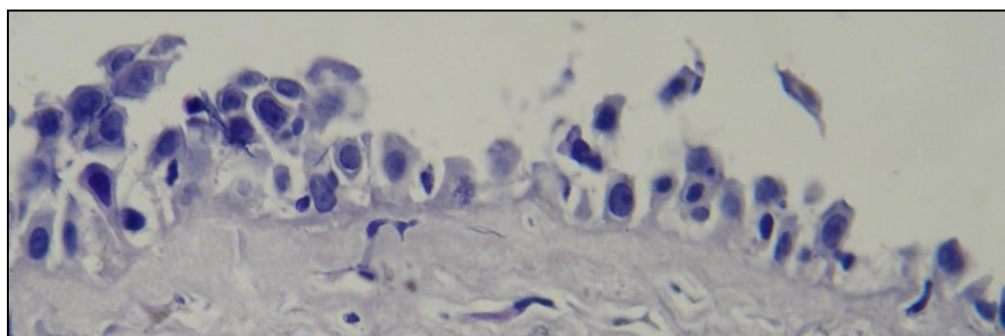
W badaniu prowadzonym nad znaczeniem Dsg2 i Dsg3 dla utrzymania połączeń międzykomórkowych wykazywano w oparciu o model PV, że przeciwciała anty-Dsg3 powodowały akantolizę, natomiast przeciwciała anty-Dsg2 miały wpływ na trwałość tych połączeń w nabłonku jelitowym Caco-2 pozbawionym Dsg3, lecz nie w naskórku (Hartlieb i wsp. 2013). Obserwacje dotyczące keratynocytów pozbawionych Dsg3, wskazywały na pewną kompensację jej funkcji przez Dsg2 poprzez zwiększenie jej ekspresji, lecz jedynie w keratynocytach warstwy podstawnej (Hartlieb i wsp. 2014).

Współcześnie pojawiają się coraz więcej argumentów za teorią, że patologiczna autoimmunizacja (w tym ADP) może współistnieć ze złośliwym nowotworzeniem (Cristaldi i wsp. 2011; Pietkiewicz i wsp. 2013a i b; Maumi i wsp. 2013), a białka przylegania międzykomórkowego stanowią naturalny łącznik pomiędzy tymi dwoma zjawiskami. Opisywano pacjentów, zdiagnozowanych pierwotnie jako chorujących na BCC lub SCC u których rozwijały się choroby z kręgu ADP (Ryc. 8) (Pietkiewicz i wsp. 2013b; Maumi i wsp. 2013). Możliwe,

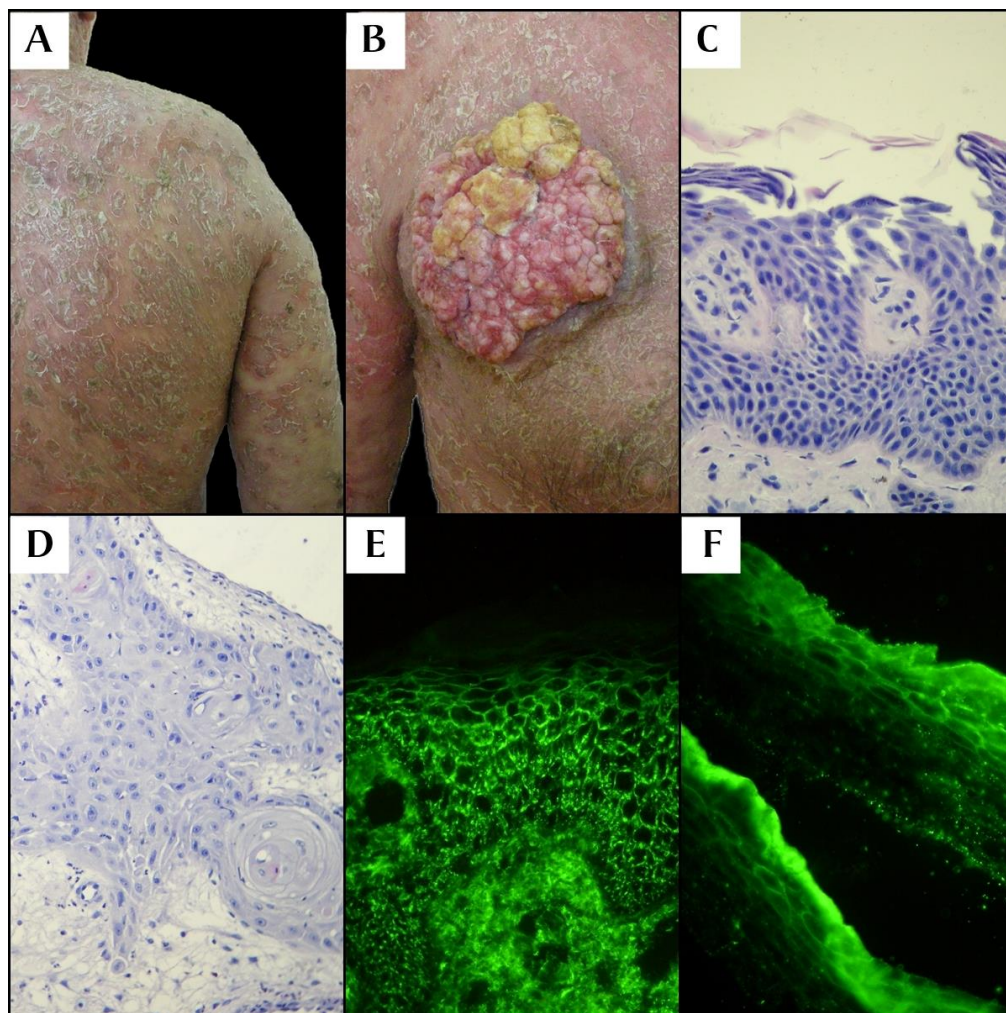
że część z tych osób była pierwotnie nieprawidłowo zdiagnozowana, a pęcherzycowe zmiany morfologiczne w badaniu histopatologicznym były uznawane przez niedoświadczonego histopatologa za cechy dysplazji, ale należy również brać pod uwagę możliwość rozwoju autoimmunizacji związanej ze złośliwym nowotworzeniem (Pietkiewicz i wsp. 2013a i b, Gornowicz-Porowska i wsp. 2014b). Wydaje się, że początkowa reakcja obronna układu immunologicznego skierowana przeciwko komórkom nowotworowym, wykazującym ekspresję swoistych białek powierzchniowych, może ulec przemodelowaniu w autoagresję poprzez zjawisko rozprzestrzeniania epitopów i efekt sąsiedztwa (*bystander effect*) (Fujinami i wsp. 2006). Spotęgowana prezentacja autoantygenów, na skutek miejscowego stanu zapalnego związanego z obecnością nowotworu, chemioterapii lub radioterapii może prowadzić do patologicznej aktywacji limfocytów T i dalej do poszerzenia puli antygenów własnych, w tym strukturalnych białek naskórka, które organizm uzna za obce (Lehmann i wsp. 1992), zwłaszcza jeśli obserwuje się nadekspresję danych antygenów w komórkach nowotworu. W przypadkach zaprzestania leczenia nowotworu lub leczenia immunosupresyjnego, wobec nasilenia osobniczych mechanizmów walki z rakiem, może dochodzić do rozwoju autoimmunizacji wobec autoantygenów (Pietkiewicz i wsp. 2013b).



Ryc. 6 Pecherzyca zwykła (*pemphigus vulgaris*, PV). Nadżerki i pęcherze w obrębie uda u pacjentki z PV przypominającą toksyczną nekrolizę naskórka (A). Krwisty pęcherz w obrębie języka u pacjentki z PV polekową (B). Obraz histologiczny zmiany śluzówkowej w PV (H+E). Widoczny pęcherz ponadpodstawny zawierający w szczelinie akantolityczne keratynocyty (C). Pęcherzycowe złogi mieszkowe w badaniu immunopatologicznym bezpośrednim na wyszarpniętym włosie (DIFh IgG4). Wykorzystano w Pietkiewicz i wsp. 2013b. (D). Surowicze pęcherzycowe przeciwciała IgG4 w badaniu IIF na przełyku małpim (E). Pęcherzycowe złogi naskórkowe w klasie IgG w badaniu DIF skóry z pogranicza zmiany PV układające się w „obraz sieci rybackiej” (*fishing net*) lub „obraz kabaretek” (*fish net stockings*). Widoczny pęcherz śródskórkowy (F).



Ryc. 7 Obraz histologiczny nabłonka w PV (H+E). Warstwa podstawna nabłonka układa się w obraz rzędu nagrobków (*row of tombstones*).



Ryc. 8 Pecherzyca liściasta (*pemphigus foliaceus*, PF) współistniejąca ze złośliwym nowotworzeniem. Zmiany pęcherzycowe w obrębie skóry pleców u pacjenta z PF. Objaw ciasta francuskiego (*puff-pastry*) (A). Rozległy egzofityczny guz SCC w obrębie klatki piersiowej (B). Pęcherz podrogowy. Akantoliza (H+E) (C). Wysokozróżnicowany SCC z zaznaczonymi perłami rogowymi (H+E) (D). Pęcherzycowe złogi naskórkowe w klasie IgG4 w badaniu DIF skóry z pogranicza zmiany PF układające się w „obraz sieci rybackiej” (*fishing net*) lub „obraz kropeł rosy na sieci pajęczej” (*dew drops on spider web*) (E). Pęcherzycowe złogi mieszkowe IgG4 w badaniu immunopatologicznym bezpośrednim na włosie wyszarpnętym ze skóry głowy (DIFh) (F). Dokumentacja fotograficzna dzięki uprzejmości prof. dr. hab. n. med. Mariana Dmochowskiego. Obrazy fluorescencyjne i obraz histopatologiczny dzięki uprzejmości dr. hab. n. med. Moniki Bowszyc-Dmochowskiej. Wykorzystano w Pietkiewicz i wsp. 2013b.

1.5 Nowotworzenie

1.5.1 Rak podstawnocomórkowy (BCC) – typy kliniczno-histologiczne

Rak podstawnocomórkowy (*basal cell carcinoma*, BCC), zwany często niezbyt udatnie „nabłoniakiem”, po raz pierwszy został opisany w literaturze medycznej w 1824 jako *ulcus rodens* (Jacob 1824). Termin „rak podstawnocomórkowy” został zaproponowany przez Krompechera w 1903r. (Rubin i wsp. 2005). Ten wolnorosnący niemelanocytowy guz pochodzenia naskórkowego jest najczęstszym nowotworem złośliwym populacji pochodzenia europejskiego, a zarazem najczęstszym (75%) nowotworem złośliwym skóry w tej grupie (Marks 1995; Tilli i wsp. 2005; Richmond-Sinclair i wsp. 2009). Zapadalność na BCC ma wynosić odpowiednio 65, 146 i 726 na 100 tys. osób w Europie, USA i Australii (Giles i wsp. 1988; Miller i wsp. 1994; Raasch i wsp. 2006). Opracowania naukowe wskazują, że ryzyko zachorowania na BCC w populacji kaukaskiej wynosi 30%, a aktualne dane wskazują na tendencję wzrostową o 3-8% rocznie od lat 60, zatem nowotwór ten wydaje się istotnym problemem społecznym (Lear i wsp. 1997; Roewert-Huber i wsp. 2007; Riefenberger i wsp. 2011). Chociaż przeważnie chorują dorośli powyżej 40 roku życia, zachorowania na BCC wśród dzieci nie należą do rzadkości (Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a; Hakverdi i wsp. 2011). Okolicami predysponowanymi do rozwoju BCC są te eksponowane na światło słoneczne – przeważnie głowa i szyja (80-85%), a szczególnie okolica nosa (20%) (Sartore i wsp. 2011). Pomimo znikomego ryzyka przerzutowania (<0.1%) (von Domarus i wsp. 1984; Snow i wsp. 1994) – głównie do węzłów chłonnych, płuc, kości i wątroby (Lo i wsp. 1991; Ting i wsp. 2005; Tilli i wsp. 2005), nabłoniak może cechować się agresywnym, naciekającym wzrostem deformując okoliczne tkanki miękkie, chrząstki, mięśnie i kości, oraz tworzyć rozległe owrzodzenia. Szacuje się, że ryzyko rozwoju BCC u pacjenta z wcześniejszym wywiadem BCC sięga 1000% ryzyka populacyjnego (Rubin i wsp. 2005). Innymi czynnikami predysponującymi do rozwoju kolejnych BCC są postacie mnogie, starszy wiek i rozmiar nowotworu powyżej 1cm średnicy (Telfer i wsp. 2008). Donoszono też, że zdiagnozowanie BCC w obrębie tułowia wiąże się z większym ryzykiem powstania nowotworu w tej samej okolicy (Telfer i wsp. 2008). Uważa się, że ryzyko powstanie kolejnego BCC w okresie 10-letnim wynosi około 46% (Richmond-Sinclair i wsp. 2009).

W oparciu o cechy histologiczne powstały liczne klasyfikacje BCC. Najbardziej rozległy podział przedstawiło dwoje badaczy amerykańskich, dzieląc BCC na 28 odmiennych podtypów (Wade i wsp. 1978). Potrzeba systematyzacji w celu opracowania właściwych algorytmów leczniczych pozwoliła na stworzenie nowej, uproszczonej klasyfikacji w oparciu nie tylko o obraz histologiczny i kliniczny, ale również o rokowanie i ryzyko wznowy nowotworu (Rippey 1998; Mosterd i wsp. 2008). Podział BCC opiera się na odmiennych cechach poszczególnych podtypów – innym sposobie wzrostu i charakterze różnicowania tkankowego. Wydaje się, że sposób wzrostu guza może mieć znaczenie dla ryzyka procesu wznowy (Vantuchová i wsp. 2006). W świetle tych obserwacji, niektórzy badacze przedstawiają hipotezę, że odmienne typy mogą mieć odmienną etiologię (McCormack i wsp. 1997; Scrivener i wsp. 2002; Raasch i wsp. 2006). Wspólnymi cechami wszystkich typów BCC obecność zaokrąglonych gniazd, kolumn lub pasm małych, aktywnych mitotycznie, zasadochłonnych komórek o okrągłym lub owalnym jądrze, przypominających komórki warstwy podstawnej naskórka (*basaloid cells*), posiadających skąpą ilość cytoplazmy. Cechują się typowym „palisadowym” układem na obwodzie ogniska BCC, otoczonego zrębem włókien kolagenowych i mucyny. W obrazie histologicznym widoczne jest często „halo” – szczelina otaczająca guz pozbawiony łączności z otoczeniem na skutek przygotowywania preparatu (artefakt preparacyjny) i braku naturalnego spoiwa łączącego komórki warstwy podstawnej z błoną podstawną – półdesmosomów (Riefenberger i wsp. 2011; Kossard i wsp. 2013). Chociaż wykazano, że komórki BCC posiadają wysoki potencjał proliferacyjny, jednak nowotwór ten cechuje się powolnym wzrostem. Tłumaczy się to większą podatnością na apoptozę komórek BCC niż innych guzów (Kerr i wsp. 1972; Heenen i wsp. 1973; Mooney i wsp. 1995; Murphy i wsp. 2002). Ogniska BCC typowo nie ulegają martwicy. W obrębie niektórych guzów mogą proliferować komórki barwnikowe wytwarzające melaninę, którą przekazują otaczającym komórkom żernym, zatem postacie z obecnością barwnika mogą klinicznie przypominać czerniaka (Kossard i wsp. 2013). Klasyfikacja WHO z 2013 roku (Kossard i wsp. 2013) dzieli BCC na następujące podtypy które szerzej będą omówione w poniższych akapitach: guzkowy (*nodularis, solidum, nBCC*) (~60-80%), powierzchniowy (*superficiale, sBCC*) (~10-30%), twarżinopodobny (*morpheiforme*) (~2%), drobnoguzkowy (*micronodularis*) (~1,5%), naciekający (*infiltrans*), rogowaciejący (*keratoticum/keratodes*), z różnicowaniem przydatkowym, barwnikowy

(*pigmentosum*), torbielowaty (*cysticum*), gruczołowy (*adenoides*) i lejkowo-torbielowaty (*infundibulocysticum*) (Kossard i wsp. 2013).

Klinicznie nBCC występuje jako wyniosły egzofityczny, czerwony bądź perłowy, połyskliwy guzek z obecnością poszerzonej siatki nacyniowej (*teleangiectasiae*) na szczycie lub/i obwodzie (Ryc. 9). Guz może tworzyć torbiele (typ torbielowaty, BCC *cysticum*) lub ewoluować w owrzodzenie, nieraz znacznych rozmiarów. Postać ta najczęściej lokalizuje się na skórze głowy (Riefenberger i wsp. 2011; Kossard i wsp. 2013). Histologicznie, ta odmiana BCC przedstawia się jako powierzchowne ognisko komórek przypominających komórki warstwy podstawnej, odchodzące od naskórka, mieszka włosowego lub przewodów potowych w głąb skóry właściwej. Najczęściej nBCC występuje w postaci mnogich ognisk oddzielonych fragmentami zdrowej skóry.

Postać sBCC cechuje się obecnością pojedynczego ogniska lub mnogich ognisk nowotworowych, o wymiarach od kilku mm do 10 cm, rozciągających się podnaskórkowo, bez nacieku warstwy siatkowatej skóry właściwej (Ryc. 10). Zmiana typu powierzchownego posiada gładkie brzegi i typowy palisadowy układ komórek. Ogniskowe włóknienie lub powierzchowne owrzodzenie czasami bywa obserwowane w centrum, a drobne perełki na marginesie zmiany (Ryc. 10A). Klinicznie sBCC przypomina ognisko wyprysku, łuszczycy czy choroby Bowena – jest płaskie, czerwone i położone w poziomie lub poniżej poziomu zdrowej skóry (Kossard i wsp. 2013).

Postać drobnoguzkowa przypomina postać guzkową – rośnie w postaci drobnych okrągłych guzków, które posiadają ledwie zaznaczony układ palisady. Typ ten może tworzyć naciek okołonерwowy. Makroskopowo, BCC drobnoguzkowy charakteryzuje się niewielkim naciekiem. Lokalizująca się przeważnie w obrębie skóry pleców płaska, dobrze odgraniczona zmiana ma kolor żółto-białawy (Kossard i wsp. 2013).

Postać twardzinopodobna tworzy rozsiane ogniska nowotworowe, o nierównych brzegach, otoczone bogatym włóknistym zrębem, często z obecnością „wypustek” i słabo zaznaczonym układem palisady. Makroskopowo jest ona nacieczoną, połyskliwą plamą, słaboodgraniczoną od zdrowej skóry i przypominającą bliznę zanikową (Riefenberger i wsp. 2011; Kossard i wsp. 2013).

Postać naciekająca BCC mikroskopowo wyróżnia się obecnością cienkich pasm i kolumn małych, ubogich w cytoplazmę komórek wnikaających pomiędzy włókna kolagenowe skóry właściwej i do niżej położonych tkanek. Zazwyczaj

nie obserwuje się w tej postaci ani typowego „palisadowania”, ani obrazu „halo”. Należy zwrócić uwagę, że przeciwnie do postaci twardzinopodobnej, włóknienie w tym typie nie występuje. Wzrost następuje wzdłuż włókien nerwowych, objawiając się niekiedy przeczulicą lub utratą czucia, zwłaszcza w obrębie twarzy. Makroskopowo ten typ nowotworu, występujący przeważnie w obrębie górnej części tułowia lub twarzy, tworzy słaboodgraniczoną od otoczenia bladą plamę (Kossard i wsp. 2013).

BCC z różnicowaniem przydatkowym jest rzadko spotykanym typem BCC. Klinicznie nie posiada cech mogących go wyróżnić na tle innych typów. W obrazie histologicznym widoczne są elementy typowe dla przydatków. Gniazda komórek podstawnych wplecione są pomiędzy elementy przypominające przewody potowe, gruczoły łojowe czy mieszki włosowe (Kossard i wsp. 2013).

Guz włóknisto-nabłonkowy (*fibroepithelioma Pinkus*) jest wyjątkową, odmienną od pozostałych zmianą przypisywaną do kategorii BCC. Klinicznie występuje w formie różowego lub cielistej barwy guzka w obrębie tułowia – zazwyczaj pojedynczo w okolicy łędźwiowo-krzyżowej. Przypomina on makroskopowo włókniaka lub znamię tłuszczakowate. Obraz histologiczny przedstawia pasma komórek podstawnych o układzie koronkowatym wpuklające się do zrębu tkanki włóknistej. Niemal nigdy nie obserwuje się utkania charakterystycznego dla BCC, choć opisywano przypadki transformacji guza Pinkusa w typowy BCC. Trwa dyskusja czy guz Pinkusa jest formą BCC, czy nie. Przez wielu autorów jest on uważany za bliższy łagodnym guzom mieszków włosowych – jak włókniak trichoblastyczny i nabłoniak włosowy, które również charakteryzują się obecnością mutacji w genie *PTCH1* (Riefenberger i wsp. 2011), do którego to twierdzenia skłania się autor rozprawy. Wśród czynników predysponujących do rozwoju guza Pinkusa wymienia się radioterapię.

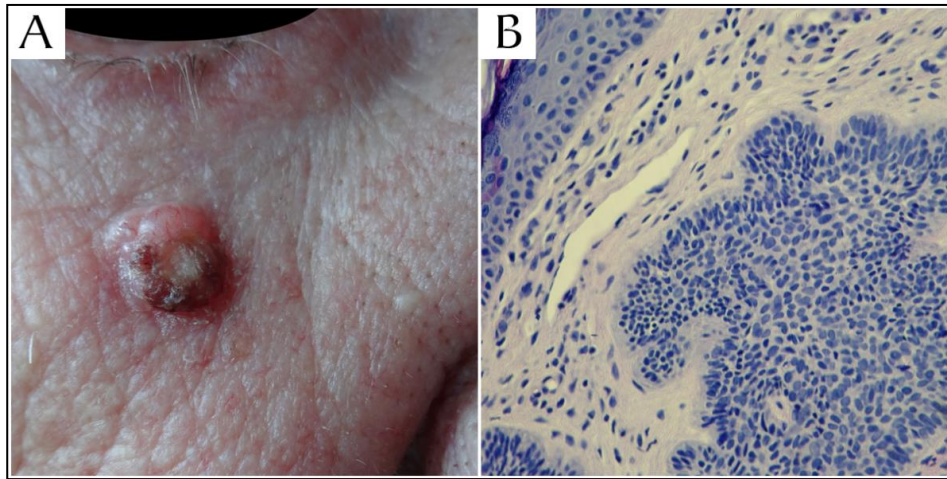
W wielu opracowaniach zwraca się uwagę na możliwość występowania różnych typów/form wzrostu guza w tym samym ognisku (10-40%), a także współwystępowania BCC z SCC pod postacią raka podstawnokolczysto-komórkowego (*carcinoma basosquamosum*) (Tilli i wsp. 2005; Madan i wsp. 2010; Pietkiewicz i wsp. 2014). Najczęstszym złożeniem wydaje się być postać guzkowa/drobnoguzkowa, natomiast rzadsze guzkowa/twardzinopodobna, czy guzkowa/gruczołowa (Sexton i wsp. 1990). Rak podstawnokolczystokomórkowy (zwany często metatypowym) występuje zazwyczaj w postaci guzka. Zmiana histologicznie ma charakter ogniskowej hiperkeratozy jak w SCC. Część autorów

uważa, że postać ta jest guzem kolizyjnym (Riefenberger i wsp. 2011). Wzrost raka podstawnokolczystokomórkowego jest agresywny, a sam nowotwór może dawać przerzuty do okolicznych węzłów chłonnych oraz przerzuty odległe (Kossard i wsp. 2013).

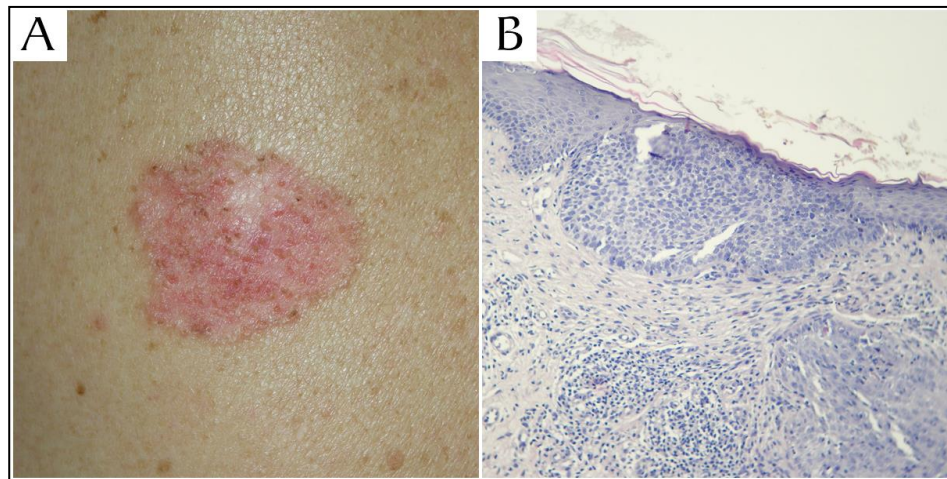
BCC rogowaciejący występuje w postaci rogowaciejącego guzka. W centrum ognisk BCC mogą występować prosaki (perły rogowe). Histologicznie guz przedstawia obraz podobny do nBCC. Rogowacenie może przebiegać warstwowo. Charakterystyczne dla postaci rogowaciejącej są ogniska wapnienia (Kossard i wsp. 2013).

Istnieją też rzadsze postaci BCC, których typ trudno ustalić w badaniu przedmiotowym. Postać torbielowata w ognisku guza posiada jedną lub więcej torbieli różnej wielkości, czasami wypełnionych mucyną. W postaci gruczołowej komórki rakowe posiadają układ siatkowaty, charakterystyczny dla tkanki gruczołowej. Pomiedzy nimi obserwuje się elementy mucynowego zrębu. Postać ta występuje często w jednym ognisku z postacią nBCC. Postać lejkowo-torbielowata charakteryzuje się występowaniem drobnych struktur przypominających lejki z położonym centralnie czopem rogowym otoczonym obwodowo komórkami podstawnymi. Gniazda BCC tego typu są połączone wypustkami z sąsiednimi gniazdami. Postać barwnikowa posiada komórki barwnikowe rozsiane w ogniskach guza – najczęściej o architekturze nBCC, sBCC, typu drobnoguzkowego lub rogowaciejącego (Ryc. 11). Melanofagi przyjmujące melaninę obecne są w zrębie otaczającym nowotwór (Kossard i wsp. 2013).

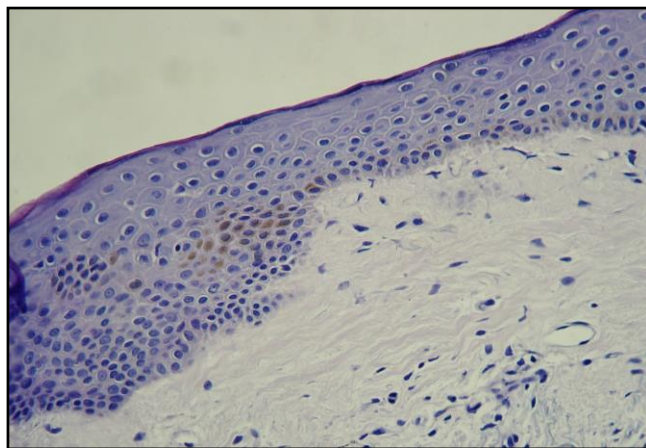
Postaci nBCC i sBCC, będące 2 głównymi typami BCC (Raasch i wsp. 2006), są przez wielu uważane za raki o niższej agresywności niż postaci drobnoguzkowa i twardzinopodobna, które wymieniane są jako typy związane z wyższym ryzykiem nawrotu (Jacobs i wsp. 1982). Postać twardzinopodobna i podstawnokolczystokomórkowa opisywane są ponadto jako czynniki wyższego ryzyka powstawania przerzutów obok rozmiaru guza powyżej 10cm², nacieku okołonewowego i wieloletniego zwlekania z usunięciem nowotworu (Walling i wsp. 2004).



Ryc. 9 Rak podstawnokomórkowy guzkowy (nBCC). Egzofityczny guzek z centralnym owrzodzeniem, z obecnością perlowego wału i teleangiektazjami (A). Zaokrąglone gniazdo komórek nowotworowych z palisadowym układem na brzegu. Powiększenie 600×, H+E (B).



Ryc. 10 Rak podstawnokomórkowy powierzchniowy (sBCC). Płaska zmiana rumieniowa w powierzchni skóry z zaznaczonym perlowym brzegiem (A). Ognisko podnaskórkowe z palisadowym układem na brzegu. Powiększenie 400×, H+E (B).



Ryc. 11 Ognisko raka podstawnokomórkowego powierzchniowego barwnikowego. Powiększenie 600×, H+E.

1.5.2 Rola czynników genetycznych, środowiskowych oraz szlaków sygnałowych w rozwoju BCC

Etiologia BCC jest wieloczynnikowa i dotychczas nie została w pełni poznana. Rolę w rozwoju tego lokalnie złośliwego nowotworu odgrywają zarówno czynniki środowiskowe, jak i genetyczne. Najważniejszym czynnikiem środowiskowym wydaje się być ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe (*ultraviolet radiation*, UV), na co wskazują dane dotyczące zapadalności na BCC w zależności od szerokości geograficznej. Najniższą zapadalność notuje się w Finlandii, natomiast najwyższą w strefie międzyzwrotnikowej (Samarasinghe i wsp. 2010). Wydaje się, że ważniejszym czynnikiem niż przewlekła ekspozycja na UV jest ekspozycja w dzieciństwie i okresowe narażenie na UV (Krickler i wsp. 1995; Rosso i wsp. 1996; Efron i wsp. 2008; Karagas i wsp. 2014). BCC występuje przeważnie w miejscach eksponowanych na światło, a do grup ryzyka należą osoby o jasnej karnacji (fototypy I, II wg skali Fitzpatricka) (Pathak i wsp. 1976; Lesiak i wsp. 2010; Riefenberger i wsp. 2011).

Promieniowanie UVB (290-320nm), o najlepiej udokumentowanym działaniu kancerogennym, powoduje uszkodzenie nici DNA i RNA w wyniku tworzenia się dimerów cyklobutano-pyrimidynowych lub dwupyrimidynowych – tj. dimerów tyminy (T), cytozyny (C) i uracylu (U), mogących powodować zaburzenia stabilności genomu podczas wadliwej naprawy enzymatycznej – najczęściej C->T i CC->TT, a w efekcie onkogenezę poprzez utratę heterozygotyczności genów supresorowych jak *TP53* czy *PTCH1* (Dourmishev i wsp. 2013; Riefenberger i wsp. 2011) lub mutacje genu telomerazy *TERT* (Griewank i wsp. 2013). Mimo to, wydaje się, że mechanizmy uszkodzenia nici DNA odgrywają większą rolę w rozwoju raka kolczystokomorkowego (*squamous cell carcinoma*, SCC) niż BCC (Tilli i wsp. 2005). UVA powoduje natomiast powstawanie reaktywnych form tlenu (Roewert-Huber i wsp. 2007), mogących uszkadzać białka szlaków sygnałowych sterujących fosforylacją/defosforylacją, a więc kluczowe dla zdolności komórek do migracji. Spośród czynników środowiskowych wymienia się również promieniowanie jonizujące, związki arsenu, chlorek winylu, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne czy związki czyszczące używane w pralniach chemicznych (Chan P.C. i wsp. 1986; Kubasiewicz i wsp. 1989; Gallagher i wsp. 1996; Karagas i wsp. 1996; Cabrera i wsp. 2003; Tilli i wsp. 2005; Martinez V.D. i wsp. 2011; Leonardi i wsp. 2012). W pojedynczym badaniu sugeruje się,

że narażenie na pyły włókna szklanego może zwiększać ryzyko BCC, jednak wyniki te uważane są za dyskusyjne (Gallagher i wsp. 1996; Tilli i wsp. 2005). Ryzyko rozwoju BCC, jakie wiązano niedawno ze stosowaniem psolarenów w PUVA-terapii wydaje się nie być powiązane z tą grupą związków chemicznych, a raczej z ekspozycją na UVA (Stern R.S. 1990; Tilli i wsp. 2005; Stern R.S. i wsp. 2012). Pojawiły się prace sugerujące związek BCC z infekcją HPV, jednak interpretacja obecności wirusa w materiale nabłoniaków pozostaje kwestią kontrowersyjną (Karagas i wsp. 1996; Harwood i wsp. 2000; Sass i wsp. 2002; Zakrzewska i wsp. 2012; Ally i wsp. 2013; Iannacone i wsp. 2013). Stan immunosupresji wymienia się jako czynnik ryzyka rozwoju BCC jako, że obserwuje się większą zapadalność na ten nowotwór w populacji pacjentów transplantologicznych i chorujących na AIDS (zespół nabytego upośledzenia odporności, *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) (Ragni i wsp. 1993; Franceschi i wsp. 1998; Moloney i wsp. 2006; Mertz i wsp. 2010). Uważa się, że ryzyko rozwoju BCC u tych pacjentów jest 10-100 razy większe od populacyjnego (Roewert-Huber i wsp. 2007). W tych przypadkach, zmiany nowotworowe częściej lokalizują się na skórze nieeksponowanej na UV (Dourmishev i wsp. 2013).

Doniesienia o roli UV w indukcji BCC są znane od lat, choć więcej informacji pojawia się w mediach na temat ryzyka rozwoju czerniaka. Moda na opalanie narastała od początku lat 50. Jej nieustająca popularność owocuje ciągłym wzrostem częstotliwości zachorowań na złośliwe nowotwory skóry. Uważa się, że uszkodzenie spowodowane przez UV ujawnia się w postaci BCC najczęściej po 20-50 latach od ekspozycji (Situm i wsp. 2008). Z tego powodu szczyt zapadalności obserwuje się u pacjentów w starszym wieku, w okolicach eksponowanych na słońce. W obliczu napływających informacji o dobroczynnych właściwościach witaminy D₃, konieczności korzystania ze słońca dla lepszej jej syntezy, a także mody, na całym świecie coraz popularniejsze stają się sztuczne źródła promieniowania UV, takie jak lampy opalające i solaria, zwłaszcza wśród młodych dorosłych i kobiet (de Vries i wsp. 2004; Delfino i wsp. 2006; Faurschou i wsp. 2007; Balk 2011). Dane epidemiczne wskazują, że 25% ekspozycji na słońce zachodzi do 18 roku życia (Balk 2011). Ze względu na spodziewane ryzyko indukcji czerniaka złośliwego, SCC i BCC, choć brak na ten temat szerszych badań (Oliphant i wsp. 1994), podnosi się temat ograniczenia nieletnim dostępu do solariów. Głos w tej sprawie zabrała nawet American Academy of Pediatrics (Balk 2011). Ustawodawcze ograniczenie w korzystaniu z solarium przez nieletnich wprowadziły już Belgia, Holandia,

Finlandia, Francja, Hiszpania, Islandia, Niemcy, Norwegia, Litwa i część krajów związkowych Wielkiej Brytanii, prowincji Kanady, stanów USA, natomiast zakaz ich używania w Brazylii i Australii („*Tanning Bed*” 2014). Podobne zmiany forsują rodzimi politycy i Rzecznik Praw Dziecka (Dobroń i wsp. 2014). Ze względu na znaczną zapadalność na BCC obowiązek edukacji, zwłaszcza najmłodszych, na temat związku tego nowotworu z promieniowaniem UV i istotności ochrony przeciwsłonecznej dla zdrowia spoczywa na pracownikach służby zdrowia (Situm i wsp. 2008). Zmiana nawyków wśród tej populacji ma istotną szansę zmniejszyć zapadalność na BCC. Pacjenci korzystający z fototerapii i fotochemioterapii wydają się świadomi szkodliwego działania UV. To promieniowanie znajduje jednak zastosowanie również w przemyśle kosmetycznym – przy wykonywaniu tzw. manicure hybrydowego, gdzie UV jest czynnikiem utwardzającym tworzywo. Opublikowano pojedyncze badania dotyczące ryzyka stosowania w tym celu lamp UV (MacFarlane i wsp. 2009; Curtis i wsp. 2013; Shipp i wsp. 2014).

Czynnikami genetycznymi mogącymi odpowiadać za powstawanie BCC są polimorfizmy genów związane z nadwrażliwością na UV, m.in. kodujących transferazę glutationu-S (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTM3*, *GSTP1*), receptor dla melanokortyny-1 (*MCR1*), czy cytochrom P450 (*CYP2D6*) (Lear i wsp. 1996, 2000; Ramachandran i wsp. 2001a i b). Uważa się, że kluczową rolę w rozwoju raka odgrywa mechanizm utraty heterozygotyczności (*loss of heterozygosity*, LOH) pojedynczej kopii genu w DNA (Gailani i wsp. 1996). Ten fenomen obserwuje się dla przykładu w SCC (Chidgey i wsp. 2007), gdzie wiąże się on ze znacznie gorszym rokowaniem (Petersen i wsp. 2000; Takebayashi i wsp. 2000). W kontekście BCC, zjawisko to zachodzi *de novo* najczęściej (69%) w obrębie ramienia długiego chromosomu 9 (9q), gdzie znajduje się locus genu *PTCH1* (9q22.3) (Teh i wsp. 2005). Jest to ludzki odpowiednik genu *Patched* występującego u wywilżni karłowatej (*Drosophila melanogaster*). Jego produktem jest białko należące do rodziny białek posiadających domeny wrażliwe na sterole (*sterole-sensing domains*, SSD), o wysokiej homologii z rodziną białkowych transporterów ABC (Ingham i wsp. 2011). Mutacja genu *PTCH1* jest tak częsta, że pojawiły się nawet sugestie, że jest ona niezbędnym warunkiem dla rozwoju BCC (Gailani i wsp. 1996; Jayaraman i wsp. 2014). Powoduje ona pośrednio hamowanie czynności białka SMOH (*Smoothened*), przezbłonowego białka sygnałowego podobnego do protonozależnych bakteryjnych białek transportowych, będącego elementem ścieżki

sygnałowej Hedgehog, która obecnie uważana jest za kluczową dla rozwoju BCC (Ingham i wsp. 2000; Taipale i wsp. 2002; Grachtchouk V. i wsp. 2003; Kasper i wsp. 2012). Białko SMOH zmieniając swoją konformację aktywuje izoformę β kinazy syntazy glikogenu 3 (*glycogen synthase kinase 3 beta*, GSK3 β), która powoduje fosforylację GLI3, białka transkrypcyjnego z obecnością domeny typu palca cynkowego. Odpowiada ono za przemieszczanie się kompleksu Su(Fu) (*Suppressor of Fused*) do jądra komórkowego, gdzie bierze on udział w regulacji genów – m.in. *WNT*, *BNP* i samego *PTCH1* (Monnier i wsp. 1998; Kise i wsp. 2009; Zhang Yan i wsp. 2013; Athar i wsp. 2014; Falkenstein i wsp. 2014). Gen *WNT* (*wingless*) bierze udział w regulacji rozwoju płodowego (u wywilżni steruje m.in. biegunowością segmentacji czy rozwojem skrzydeł), regulacji cyklu komórkowego, podziałów komórkowych oraz migracji komórek, a także onkogenezy (Wu J. i wsp. 2002). Ścieżka sygnałowa Wnt poprzez regulację aktywności GSK3 β steruje również poziomem β -kateniny, białka związanego z kadherynami zaangażowanego w rozwój mieszków włosowych (Chan E.F. i wsp. 1999; Battistella i wsp. 2014). Wskazuje się również na znaczenie aktywacji β -kateniny w naskórku dla zwiększenia ekspresji PDGFR- α i wimentyny w komórkach podścieliska oraz przebudowy macierzy pozakomórkowej i produkcję młodych włókien kolagenowych, czyli przeprogramowanie podścieliska pod BCC w stan przypominający zarodkową skórę właściwą (Collins i wsp. 2011).

Rola genu *PTCH1* dla prawidłowego funkcjonowania ścieżek sygnałowych sterujących rozwojem mieszków włosowych wydaje się być istotna dla badań nad rozwojem BCC. Dane literaturowe wskazują, że mutacje genu *PTCH1* spotykane są w 30-68% przypadków pojedynczych ognisk BCC (Bonifas i wsp. 1994; Hahn i wsp. 1999; Samarasinghe i wsp. 2010). Autosomalnie dominująco dziedziczony zespół nabłoniaków znamionowych (*basal cell naevus syndrome*, BCNS), znany też pod nazwą zespołu Gorlina-Goltza (Ryc. 12) jest wynikiem mutacji *PTCH1* o charakterze delecji, insercji, mutacji typu zmiany sensu lub mutacji nonsensownych (Gorlin i wsp. 1960; Hahn i wsp. 1996; Lindström i wsp. 2006; Joshi i wsp. 2012). Jego częstość szacuje się na 1/57000 osób (Pratt i wsp. 1987; Evans i wsp. 1991). W 80% przypadków BCNS efektem mutacji jest kadłubowe białko *PTCH1*, które nie posiada aktywności hamowania SMOH, czego efektem jest ciągła aktywność GLI3 i genów od niego zależnych (Donovan 2009). Obok zębotwórczych torbieli, torbieli naskórkowych w obrębie kończyn, punktowatych

wgłębień w obrębie podeszwy i powierzchni dłoniowej ręki (*palmar/plantar pits*), wad szkieletowych, wieloblaszkowego zwapnienia sierpu mózgu, agenezji ciała modelowatego, jedną z jego cech jest powstawanie w młodym wieku (20-30 rok życia) mnogich ognisk BCC (Gorlin 2004; Pereyra-Rodriguez i wsp. 2010; Riefenberger i wsp. 2011; Joshi i wsp. 2012). BCC w zespole BCNS są nierozróżnialne histologicznie od postaci sporadycznej BCC (Athar i wsp. 2006). W wymienionym zespole istnieje również większe ryzyko rozwoju rdzeniaka mózdzku, włókniaków i mięśniakomięsaków prążkowanokomórkowych serca oraz włókniaków jajników (Gorlin 2004; Riefenberger i wsp. 2011). W kontekście BCNS wymienia się również zespół dziedzicznych lejkowo-torbielowatych raków podstawnokomórkowych, gdzie poza mnogimi BCC nie obserwuje się żadnych cech zespołu Gorlina-Goltza (Requena i wsp. 1999; Roldán-Marín i wsp. 2014). Innym zespołem związanym z fotonadwrażliwością i predyspozycją do powstawania BCC jest *Xeroderma Pigmentosum* - rzadka grupa chorób o dziedziczeniu autosomalnym recesywnym i niejednorodnym fenotypie. Jej istotą jest defekt genów zaangażowanych w mechanizmy naprawy DNA (Lehmann A.R. i wsp. 2011; DiGiovanna i wsp. 2012; Pesz i wsp. 2014), zwiększający ryzyko rozwoju nowotworów skóry w obrębie okolic ekspozowanych na światło 1000-krotnie w porównaniu do ryzyka populacyjnego (Riefenberger i wsp. 2011). Mutacje wspomnianego wcześniej genu *TP53* (locus 17p13) odpowiadającego za produkcję czynnika transkrypcyjnego p53, będącego supresorem nowotworowym powodują, że komórka nowotworowa nie wchodzi na ścieżkę apoptozy. Białko to, odpowiada za regulację cyklu komórkowego, naprawę DNA, proces starzenia się i programowanej śmierci komórki (Benjamin i wsp. 2008; Almquist i wsp. 2011; Stacey i wsp. 2011). Mutacje pojedynczych alleli *TP53* obserwowano nawet w 53% przypadków sporadycznego BCC (Madan i wsp. 2006). Doświadczenie prowadzone przez zespół *Beaudry'ego i wsp.* na myszach pozbawionych genu *PERP* (*p53 apoptosis effector related to PMP-22*), o ekspresji regulowanej bezpośrednio przez czynnik transkrypcyjny p53, wykazało, że brak białka PERP prowadzi do rozwoju nowotworów skóry, a sama proteina może być ważnym czynnikiem supresorowym dla rozwoju nowotworu u ludzi (Beaudry i wsp. 2010). Również w przypadku uwarunkowanego genetycznie rzadkiego zespołu Rombo, sugeruje się udział wadliwych mechanizmów naprawy DNA lub/i mutację któregoś z białek regulujących cykl komórkowy (Michaëlsson i wsp. 1981; Ashinoff i wsp. 1993; van Steensel i wsp.

2001). Ten prawdopodobnie dziedziczony autosomalnie dominująco zespół cechuje się rozwojem robakowatego zaniku skóry (*atrophoderma vermiculata*), prosaków, łysieniem, rozwojem nabłoniaków włosowych (*trichoepithelioma*) (Ryc. 13), mnogich BCC oraz sinicy i rumienia obwodowych części ciała. W kontekście BCC rzadko wykrywa się mutacje genu *TP63*, którego transkryptem jest białko p63 pochodzące z rodziny białek p53 (Little i wsp. 2002; Bircan i wsp. 2006). Izoformy tego białka, będącego markerem pluripotencjalnych keratynocytów posiadają zdolność aktywacji genów TP53, a mutacje TP63 związane z UV powodują w efekcie obniżenie ekspresji p53 i upośledzenie apoptozy w komórkach guza (Liefer i wsp. 2000; Pellegrini i wsp. 2001; Little i wsp. 2002). Zespół Bazex-Dupre-Christol jest kolejnym z genetycznie uwarunkowanych zespołów związanych z rozwojem BCC (Bazex i wsp. 1966). Ze względu na podobną nomenklaturę i rozwijającą się dzięki rozwojowi technologii tendencję do używania wygodniejszych, skrótowych określeń, w tym również medycznych, mylony bywa z zespołem Bazex (*acrokeratosis neoplastica*) – rewelatorem procesu nowotworowego. W tej genodermatozie o dziedziczeniu dominującym sprzężonym z chromosomem X obserwuje się zmniejszanie wydzielania potu u mężczyzn, skąpe owłosienie, prosaki i mieszkowy zanik skóry kończyn (Castori i wsp. 2009). Dotychczas nie zidentyfikowano genu odpowiedzialnego za chorobę. Wykazano jedynie, że lokalizuje się on w obrębie locus Xq24-q27 (Vabres i wsp. 1995).

W licznych badaniach populacyjnych wymienia się kolor oczu oraz sposób opalania jako cechy fenotypowe zwiększające ryzyko rozwoju BCC. Wydaje się jednak, że za te cechy odpowiadają geny tyrozyminy (*TYR*), czynnika regulującego interferonu typu 4 (*interferon regulating factor 4, IRF4*) i receptora dla melanokortyny 1 (*melanocortin 1 receptor, MC1R*) (Gudbjartsson i wsp. 2008; Kyrgidis i wsp. 2010; Kosiniak-Kamysz i wsp. 2012). Gen *MTHFR* kodujący reduktazę metylenotetra-hydrofolianową (*methylenetetrahydrofolate reductase*) jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 1 (1p36.3) (Stern L.L. i wsp. 2000). Jego produktem białkowym jest reduktaza NADPH katalizująca przemianę 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylenotetrahydrofolianu, który bierze udział w procesach syntezy i naprawy DNA (Stern L.L. i wsp. 2000). Dotychczas wskazywano na znaczenie polimorfizmu genowego MTHFR w zwiększonym ryzyku raka sutka, odbytnicy, żołądka, pęcherza moczowego i SCC (Prinz-Langenohl i wsp. 2001; Sanyal i wsp. 2004; Han i wsp. 2004; Festa i wsp. 2005; Galván-Portillo

i wsp. 2009; Ericson i wsp. 2009; Iacopetta i wsp. 2009; Cui i wsp. 2010). Zespół polskich badaczy wykazał powiązanie polimorfizmów genu MTHFR z cechami fenotypowymi – kolorem oczu, włosów i fototypem skóry, a także wykazał znaczenie konkretnych polimorfizmów dla ryzyka BCC (Lesiak i wsp. 2011).

Białko Notch należy do rodziny białek przezbłonowych posiadających w swojej domenie wewnątrzkomórkowej liczne powtórzenia EGF-podobne (*epidermal growth factor-like repeats*). Pełni ono rolę receptora i występuje licznie w komórkach ponadpodstawnych nabłonków wielowarstwowych. Chociaż jego znaczenie w rozwoju ostrej białaczki limfatycznej T-komórkowej zostało dobrze poznane, coraz więcej badań pojawia się o roli ścieżki sygnałowej NOTCH w guzach litych, w tym BCC i SCC (Thélu i wsp. 2002; Wuest i wsp. 2007; Wang N.J. i wsp. 2011). W oparciu o badania *in vitro* sugeruje się, że aktywacja receptora Notch przyczynia się do różnicowania komórek i zatrzymania cyklu komórkowego (Lowell i wsp. 2000; Rangarajan i wsp. 2001; Nguyen i wsp. 2006). Wykazano, że supresja genu *Notch1* w mysim naskórku powoduje istotne pogrubienie warstwy podstawnej oraz powstawanie licznych BCC i zwiększoną podatność na nowotworzenie pod wpływem kancerogenów (Rangarajan i wsp. 2001; Nicolas i wsp. 2003). W oparciu o te obserwacje sugerowano, że ścieżka sygnałowa NOTCH ma hamować proces nowotworzenia BCC poprzez supresję ścieżek sygnałowych WNT/ β -katenina i Hedgehog/Gli2 (Nicolas i wsp. 2003).

Donoszono, że zwiększona zdolność do nacieku, angiogenezy i oporność na apoptozę w BCC, wiąże się z zwiększoną ekspresją fuzyny (*fuzin, C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4*) na obwodzie guza, w ośrodkach intensywnych podziałów (Itakura 2012; Ciurea i wsp. 2013; Bollag i wsp. 2013; Xu i wsp. 2013). Wcześniej, wykazywano udział CXCR4 w rozwoju licznych nowotworów, w tym BCC, wiążąc różne poziomy jego ekspresji z różnymi fenotypami BCC i raka trzustki (Przybylski i wsp. 2010; Eberl i wsp. 2012). Wskazywano również na znaczenie CXCR4 i jego ligandu - chemokiny CXCL12 - czynnika 1α pochodzenia stromalnego (*stromal cell-derived factor 1 α , SDF1 α*) w naciekaniu i neowaskularyzacji w BCC poprzez ścieżki sygnałowe Hedgehog i EGFR, co powodowało aktywację ścieżki ERK1/2-NF- κ B/IL-6 (Chen G.S. i wsp. 2006; Chu i wsp. 2009, 2013; Eberl i wsp. 2012; Itakura 2012), ale także przerzutowaniu w raku sutka i prostaty (Darash-Yahana i wsp. 2004; Pietkiewicz i wsp. 2010). Niedawne publikacje wiążą z BCC również inną chemokinę CXCR3 (CD183) (Lo B.K. i wsp.

2010; Yu Y. i wsp. 2010), której rolę wykazywano m. in. w czerniaku, raku sutki czy raku jelita (Monteagudo i wsp. 2007; Zipin-Roitman i wsp. 2007; Ma X. i wsp. 2009). Układ CXCR3/ligand bierze udział w dwóch kluczowych procesach – chemotaksji komórek nacieku zapalnego oraz angiogenezie (Liu i wsp. 2005). Nadekspresję wszystkich 3 izoform CXCR3 (CXCR3-A, CXCR3-B i CXCR3-alt), jak i ligandów receptora CXCR3 – CXCL9, CXCL10, CXCL11 wykazywano zarówno na poziomie genów, jak i białka w BCC, chociaż metodyka badania pozostaje kontrowersyjna (Liu i wsp. 2005; Yu Y. i wsp. 2010).

Trisomia chromosomu 6 ma być obserwowanym zaburzeniem chromosomalnym w przypadku BCC dającego przerzuty (Nangia i wsp. 2001). Takie agresywne postacie BCC wykazywały również ekspresję p53, Ki-67 oraz Bcl-2, choć nie wskazuje się ich jako czynników pozwalających zróżnicować postacie łagodne od agresywnych (Abdelsayed i wsp. 2000; Staibano i wsp. 2001; Ionescu i wsp. 2006).



Ryc. 12 Zespół nabłoniaków znamionowych (zespół Gorlina-Goltza). Widoczne liczne raki podstawnokomórkowe i blizny po kriochirurgicznym usuwaniu zmian.



Ryc. 13 Nabłoniak włosowy (*trichoepithelioma*) w obrębie skóry brody.

1.5.3 Histogeneza BCC

BCC przez licznych autorów dzielony jest na odrębne podtypy względem obrazu klinicznego i histologicznego. Pomimo, że nowotwór ten jest najczęstszym złośliwym nowotworem populacji pochodzenia europejskiego, dotychczas niewiele badań poświęcono zagadnieniu roli DSGs w różnicowaniu i proliferacji komórek BCC. Postacie nBCC i sBCC są najczęstszymi podtypami BCC. Występujący makroskopowo w postaci guza/guzka, bardziej inwazyjny nBCC, histologicznie występuje w postaci zaokrąglonych gniazd komórek o wyraźnie zaznaczonych marginesach zasiedlonych rzędem komórek przypominających palisadowy układ komórek warstwy podstawnej naskórka. sBCC o klinicznej manifestacji w formie plamy rumieniowej, w obrazie histologicznym tworzy wydłużony naciek o zatartych, niewyraźnych granicach rozciągający się od naskórka, aż do warstwy brodawkowatej skóry właściwej. Z reguły uważa się, że utrata połączeń międzykomórkowych jest niezbędnym elementem zdolności do naciekania i tworzenia przerzutów nowotworowych. Związek pomiędzy utratą połączeń desmosomalnych a rokowaniem klinicznym tego nowotworu pochodzenia nabłonkowego pozostaje wciąż niejasny.

Pochodzenie BCC jest zagadnieniem budzącym kontrowersje wśród badaczy. W oparciu o obecność określonych markerów i aktywność szlaków sygnałowych w komórkach tego nowotworu sugerowano możliwość jego powstawania w wyniku mutacji komórek pluripotencjalnych rezydujących w warstwie podstawnej nabłonka międzymieszkowego, okolicy wybrzuszenia oraz okolicy lejka mieszka włosowego (Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a). Obie struktury (mieszek włosowy i naskórek) wykazują zróżnicowane wzorce ekspresji kadheryn desmosomalnych w zależności od kompartmentacji i stopnia zróżnicowania komórek. Wydaje się, że BCC może wykazywać cechy komórek mieszkowych, zarówno o niskim, jak i wysokim stopniu zróżnicowania. W badaniu prowadzonym przez BenKateha i wsp. wykazano, że BCC wykazuje ekspresję białek typowych dla pochewki zewnętrznej mieszka włosowego (K5, K14, K16 i K17), przestrzeni granicznej między warstwami pochewki (*companion layer*) (K75), wewnętrznej pochewki mieszka włosowego (K26, K27, K28, K71, K72 i K74), osłonki włosa (*cuticle*) (K32, K35, K82 i K85), lecz nie trzonu włosa (K31) (BenKateh i wsp. 2013). Wykazywano w komórkach BCC również ekspresję K19, markeru wczesnego różnicowania i proliferacji nabłonka mieszkowego (BenKateh i wsp. 2013).

Ze względu na charakter wzrostu mas nowotworowych postawiono hipotezę, że nBCC mogłyby powstawać z komórek progenitorowych okolicy wybrzuszenia ze względu na podobieństwo nBCC do struktur mieszkowych, a sBCC z komórek pluripotencjalnych naskórka. Dodatkowo, zwrócono uwagę w BCC na aktywność ścieżek sygnałowych typowych dla mieszka, podsumowując, że komórki BCC przedstawiają wzorzec różnicowania odpowiadający aktywności szlaków sygnałowych typowych dla fazy telogenu (BenKateh i wsp. 2013). Niektóre BCC wykazują ekspresję keratyny K15, obecnej w komórkach okolicy wybrzuszenia (Ohyama 2007; Donovan 2009), a gen *SHH* istotny dla rozwoju mieszka włosowego jest również kluczowy dla powstawania BCC (St-Jacques i wsp. 1998; Chiang i wsp. 1999; Ohyama 2007). Utrata korelacji ekspresji DSG2 i DSG3 na poziomie białka w BCC została zaobserwowana przez *Gornowicz-Porowską i wsp.* (Gornowicz-Porowska i wsp. 2011). Z niejednolitego obrazu klinicznego i histologicznego BCC można wnioskować, że może on być zbiorem jednostek chorobowych odrębnych biochemicznie, genetycznie, a nawet etiologicznie.

Najnowsze wyniki badań zespołu *Youssefa i wsp.* wskazują na pochodzenie BCC z nabłonka międzymieszkowego (Youssef i wsp. 2010), a podobieństwa do struktur mieszkowych upatruje się w zjawisku odróżnicowywania się komórek pluripotencjalnych nabłonka międzymieszkowego w komórki fenotypowo odpowiadające zarodkowym komórkom progenitorowym mieszka włosowego (*embryonic hair follicle progenitors*, EHFP) (Youssef i wsp. 2012). O istnieniu podobnego zjawiska donoszono już w badaniach nad rakami płuca i sutka (Pacheco-Pinedo i wsp. 2011; Spike i wsp. 2012). Wskazywano na stałą aktywność ścieżki sygnałowej Hedgehog w wyniku utraty heterozygotyczności *PTCH1* lub mutacji aktywujących gen *SMOH* (Epstein 2008). Wskazywano na aktywność szlaku WNT/ β -katenina, typowego dla EHFP, która u ludzi dorosłych w normalnych warunkach ogranicza się do komórek mieszkowych i brodawek skórnych (Youssef i wsp. 2012). Kolejnym argumentem za pochodzeniem BCC z komórek pluripotencjalnych nabłonka międzymieszkowego jest obserwacja, że w wyniku mutacji aktywującej *SMOH* dochodziło w nich do aktywacji znacznej puli genów zaangażowanych w kancerogenezę (w tym ścieżki WNT), a w komórkach pluripotencjalnych opuszki do zaledwie niewielkiej części z nich (bez WNT) (Youssef i wsp. 2012). Ten fakt można tłumaczyć aktywnością licznych represorów ścieżki WNT w komórkach opuszki, które w efekcie wydają się być

odporne na kancerogenezę zależną od SMOH (Ridky i wsp. 2010; Tan i wsp. 2012). Z drugiej strony, aktywność ścieżki WNT i obecność markerów EHFP obserwowano w większości ludzkich BCC, niezależnie od typu kliniczno-histologicznego nowotworu (Youssef i wsp. 2012), więc przypuszczalnie nie inklinują one sposobu wzrostu guza. Dotychczas nie określano podatności konkretnych, odmiennych populacji komórek progenitorowych nabłonka mieszkowego na rozwój BCC w wyniku aktywacji ścieżki Hedgehog (Mascré i wsp. 2012; Schepeler i wsp. 2014). Interesujące jest, że na modelu mysim z nadekspresją epidermalną Gli1 oraz modelu z homozygotyczną mutacją unieczynnającą *Ptch1*, w BCC indukowanym urazem to jednak komórki dolnej części okolicy wybrzuszenia mieszka włosowego, w których wykazywano aktywność ścieżki sygnałowej Hedgehog, migrowały do naskórka i okolicy lejka mieszka włosowego i przyczyniały się do rozwoju BCC (Kasper i wsp. 2011).

2. CEL PRACY

Przesłanką podjęcia tematyki niniejszej rozprawy było zauważenie, że u niektórych chorych na rozliczne ADP, w tym choroby kręgu „klasycznej” pęcherzycy z autoimmunizacją wobec DSGs, współistnieje nowotworzenie złośliwe. Wobec braku w piśmiennictwie szczegółowych danych dotyczących znaczenia ekspresji desmogleiny 2 i 3 w pochodzeniu i rozwoju BCC, najczęstszego nowotworu złośliwego w populacji europejskiej, oraz ubóstwa porównawczych krajowych danych epidemiologicznych BCC podjęto badania, których celem była:

- retrospektywna analiza danych epidemiologicznych BCC pacjentów z Katedry i Kliniki Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z lat 2002-2013,
- ocena profilu skórnej ekspresji desmogleiny 2 i 3 na poziomie białka (DSG2/DSG3) i mRNA (*DSG2/DSG3*) w BCC i dwóch jego podtypach (BCC – guzkowym - nBCC i powierzchniowym - sBCC) i w zdrowym naskórku,
- porównawcza analiza ilościowa i półilościowa skórnej ekspresji białka DSG2/DSG3 i mRNA *DSG2/DSG3* poprzez, odpowiednio, barwienie immunohistochemiczne i fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* z komputerową analizą obrazu w ogniskach BCC i w zdrowym naskórku,
- ocena korelacji pomiędzy intensywnością skórnej ekspresji DSG2/DSG2 i DSG3/DSG3 w ogniskach nowotworowych (BCC, sBCC, nBCC) i w zdrowym naskórku,
- ocena skórnej ekspresji desmogleiny 2 i 3 na obu poziomach biosyntezy białka (białko, mRNA) w zależności od typu kliniczno-histologicznego BCC (sBCC, nBCC).
- analiza danych dotyczących istotności zjawisk z zakresu genomiki i proteomiki w BCC.

3. MATERIAŁY I METODY

3.1 Materiał

3.1.1 Grupy badane

3.1.1.1 Chorzy na BCC

3.1.1.1.1 Chorzy na BCC w analizie danych epidemiologicznych BCC

Grupę badaną stanowiło 2220 pacjentów Kliniki Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z lat 2002-2013 z potwierdzonym histopatologicznym rozpoznaniem BCC. Dane retrospektywne dotyczące rocznika, wieku, płci, adresu zameldowania i wielkości ośrodka, z którego pochodził pacjent, lokalizacji i typu histologicznego BCC uzyskano z dokumentacji Pracowni Histopatologii i Immunopatologii Skóry Kliniki Dermatologii (kierownik: dr hab. n. med. Monika Bowszyc-Dmochowska). Strukturę badanej grupy przedstawiono w Tab. I.

Tab. I. Struktura grupy pacjentów BCC, objętej badaniem retrospektywnym z podziałem na płeć, średni wiek i średnią odległość miejsca zameldowania od ośrodka poznańskiego.

Płeć	n	Odsetek wszystkich pacjentów [%]	Średni wiek \pm SD [lata]	Średnia odległość miejsca zameldowania od ośrodka poznańskiego \pm SD [km]
Kobiety	1093	49,35	68 \pm 13	35 \pm 48
Mężczyźni	1127	50,65	69 \pm 12	35 \pm 53
Razem	2220	100,00	68 \pm 12	35 \pm 50

3.1.1.1.2 Chorzy na BCC w analizie IHC oraz FISH

Badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu na mocy uchwały nr 898/11 z dnia 3 listopada 2011 roku (załącznik, s.118).

Grupę badaną stanowiło łącznie 84 pacjentów z różnymi typami kliniczno-histologicznymi BCC; wyodrębniono 2 podtypy BCC w zależności od rozpoznanej jednostki chorobowej (rozpoznanie określonego typu BCC każdorazowo stawiał doświadczony histopatolog na podstawie obrazu drobnowidowego preparatu przygotowanego w rutynowym barwieniu hematoksyliną i eozyną - H+E):

- Chorzy z postacią guzkową raka podstawnokomórkowego (*nodular BCC*, nBCC) stanowili ogółem 57 osób, w tym 24 (42,1%) kobiet i 33 (57,9%) mężczyzn.
- Chorzy z postacią powierzchowną raka podstawnokomórkowego (*superficial BCC*, sBCC) stanowili ogółem 27 osób, w tym 13 (48,1%) kobiet i 14 (51,9%) mężczyzn.

Preparaty opisane innym rozpoznaniem niż nBCC i sBCC, były każdorazowo wyłączone z badania.

3.1.1.2 Grupy kontrolne w analizie IHC oraz FISH

Grupy badane (nBCC i sBCC) stanowiły wzajemne pozytywne grupy kontrolne. Grupę kontrolną negatywną stanowiły wycinki mikroskopowo zdrowej skóry z marginesu usuniętych zmian nowotworowych nBCC i sBCC. Strukturę badanych grup przedstawiono w Tab. II.

Tab. II. Struktura badanej grupy IHC i FISH.

n	84
Liczebność grupy badanej	73
Liczebność grupy kontrolnej	75
Średni wiek ± SD [lata]	69 ± 1
Stosunek mężczyźni/kobiety	1,27

3.1.2 Wycinki skórne

Materiał badany stanowiły mrożone (kriostatowe) i parafinowe wycinki skóry pobierane w Katedrze i Klinice Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (UMP) w okresie od listopada 2009

do maja 2013 roku. Wycinki skórne pochodziły z rutynowych biopsji do badań diagnostycznych. Chirurgicznie wycinane zmiany nowotworowe (ogniska BCC – grupy chorych) były rutynowo usuwane wraz z marginesem zdrowej skóry (zdrowy naskórek - negatywna grupa kontrolna) w celu uzyskania optymalnej radykalności zabiegu. Zabiegi chirurgiczne wykonywały dr n. med. Małgorzata Mackiewicz-Wysocka oraz dr n. med. Daria Strzelecka-Węklar.

3.1.2.1 Mrożone skrawki skóry do badania IHC i FISH

Wycinki skórne pobrane od chorych na BCC (nBCC, sBCC) transportowano w 0,9% NaCl do pracowni, następnie zatapiano w ochronnym medium do mrożenia tkanek (Bio-Optica, Milano, Italy) i skrojono przy użyciu kriostatu (Leica CM1850UV). Do badań wykorzystywano skrawki mrożone o grubości 4 μm osadzone na mikroskopowych szkiełkach podstawowych pokrytych poli-L-lizyną (dla osiągnięcia większej przyczepności materiału do szkiełka). Zabezpieczone skrawki skóry przed wykonaniem procedury były przechowywane w stałej temperaturze -80°C . Warunki te zastosowano w celu uniknięcia enzymatycznej degradacji mRNA.

3.1.2.2 Parafinowe skrawki skóry do badania histopatologicznego

Wycinki skórne pobrane od chorych na BCC (nBCC, nBCC) utrwalono w 10% buforowanej neutralnej formalinie, zatopiono w kostki parafinowe i cięto seryjnie mikrotomem (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Niemcy) na skrawki o grubości 4 μm .

3.2 Metody

3.2.1 Metody diagnostyczne

3.2.1.1 Badanie histopatologiczne H+E

Skrawki parafinowe rutynowo zabarwiono hematoksyliną i eozyną (H+E). W obrazie histologicznym poszukiwano następujących cech charakterystycznych dla BCC:

- obecność litych, dobrze odgraniczonych ognisk zbudowanych z podobnych do komórek podstawnych naskórka, lecz nieco większych komórek,

ułożonych palisadowo na obwodzie, otoczonych szczelinami między masą guza, a zwłókniałym lub mucynowym zrębem.

Przynależność do badanych podtypów BCC określano na podstawie obrazu H+E:

- nBBC - dyskretne, dobrze zdefiniowane guzki i pasma komórek bazaloidalnych w warstwie brodawkowatej i siateczkowatej skóry właściwej, które mogą ogniskowo wykazywać połączenie do przyległego naskórka.
- sBCC – guzki i pasma komórek bazaloidalnych proliferujące równoległe do naskórka i wykazujące „szczelinowate” wycofanie do otaczającego podścieliska. Komórki mogą także proliferować wzdłuż struktur mieszkowych.

3.2.2 Metody badawcze

Skórną ekspresję białek DSG2 oraz DSG3 oceniano za pomocą immunohistochemii (IHC), natomiast skórną ekspresję mRNA DSG2 i DSG3 oceniano za pomocą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH), odpowiednio w ognisku BCC oraz drobnowidowo zdrowej skórze z marginesu wyciętej zmiany.

3.2.2.1 Badanie ekspresji białek DSG2 i DSG3 poprzez barwienie IHC na skrawkach mrożonych

Immunohistochemiczną analizę przeprowadzono stosując standardową metodę peroksydazową ze znakowaniem streptawidyną. Łącznie przeanalizowano 26 próbek. Na badane skrawki nakrapiano 3% roztwór nadtlenu wodoru w celu zahamowania aktywności endogennej peroksydazy, po czym przez 5 minut inkubowano w wilgotnej komorze (20°C). Dla odślonięcia większej liczby determinant antygenowych badane skrawki były trawione przez 5 minut w wilgotnej komorze (20°C) komercyjnie dostępną proteinazą K (Dako, Grostrup, Dania). Do badań IHC wykorzystano dostępne komercyjnie mysie przeciwciała monoklonalne przeciwko ludzkiej DSG2 (anty-DSG2, AbD Serotec, Kidlington, Oxford, Wielka Brytania) oraz DSG3 (anty-DSG3, Invitrogen, Carlsbad, Kalifornia, USA; pełnowartościowym immunogenem była dla nich zewnątrzkomórkowa domena ludzkiej DSG3) oraz zestaw wizualizacyjny LSAB+ System HRP

Visualization Kit (Dako, Grostrup, Dania). Szkiełka podstawowe z badanymi skrawkami inkubowano w roztworze przeciwciał o stężeniu 1:100 przez 1 godzinę (20°C). Po inkubacji szkiełka przepłukiwano zbuforowanym roztworem soli fizjologicznej o pH 7,2 (*phosphate buffered saline*, PBS). Skrawki były następnie poddawane 15-minutowej inkubacji ze streptawidyną sprzężoną z peroksydazą chrzanową (Streptavidin-HRP), po czym wybarwiane diaminobenzzydynam (DAB+ chromogen). Skrawki wybarwiono następnie hematoksyliną Harrisa (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), płukano pod bieżącą wodą przez 10 minut, odwadniano w gradiencie alkoholu etylowego - po 2 minuty kolejno w każdym stężeniu: 70%, 80%, 96%, 98%, płukano przez 2 minuty w ksylenie, a następnie po osuszeniu nakrywano szkiełkiem nakrywkowym przytwierdzanym balsamem kanadyjskim. Dla badania IHC przeprowadzono odpowiednie procedury kontrolne (analiza obrazu uzyskanego bez użycia sondy, ocena IHC skrawków od pacjentów chorujących na chorobę Bowena, rógowacenie słoneczne, rógowacenie łojotokowe).

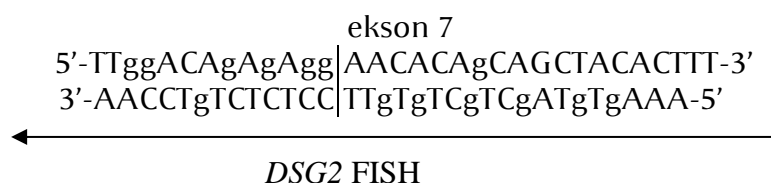
3.2.2.2 Badanie ekspresji mRNA *DSG2* i *DSG3* poprzez badanie FISH na skrawkach mrożonych

Łącznie przeanalizowano 58 próbek. Mrożone skrawki osuszano, po czym płukano przez 20 minut w roztworze 95% alkoholu etylowego. Badane skrawki, po osuszeniu były trawione przez 20 minut w wilgotnej komorze (37°C) komercyjnie dostępną proteinazą K (Dako, Grostrup, Dania), po czym opłukiwane dwukrotnie po 5 minut w buforze SCC. Skrawki były kolejno odwadniane w roztworze alkoholu etylowego 70% (1 minuta) i 98% (1 minuta) w temperaturze pokojowej. Do badań FISH wykorzystano sondy zaprojektowane przy współpracy z TIB Molbiol (Berlin, Niemcy). Przy wyborze sekwencji nukleotydowej do projektowanych sond opierano się na informacjach z bazy GenBank (ludzkie *DSG2* mRNA NM_001943.3 GI: 189181754; ludzkie *DSG3* mRNA NM_001944.2 GI: 119964717). Aminowy koniec łańcucha (N-koniec, 5') polipeptydu wyznakowano 6-karboksyfluoresceiną (6-FAM; fluorescencja zielona)/5-karboksytetrametylorodaminą (5-TAMRA; fluorescencja czerwona).

Do badania użyto sond mRNA oligonukleotydowych o składzie nukleotydowym przedstawionym poniżej:

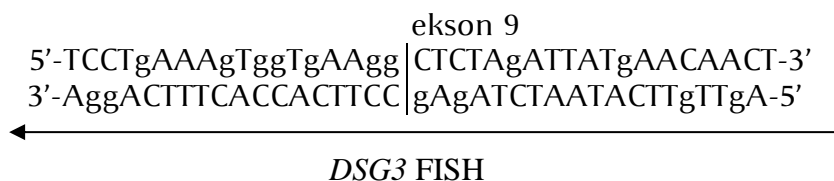
Sonda dla *DSG2* umieszczona na antysensownej nici mRNA w obrębie miejsca łączenia eksonu 6 i eksonu 7

5'-5-TAMRA-AAAgTgTAgCTgCTgTgTTCCTCTCTgTCCAA-3'



Sonda dla *DSG3* umieszczona na antysensownej nici mRNA w obrębie miejsca łączenia eksonu 8 i eksonu 9

5'-6-FAM-AgTTgTTCATAATCTAgAgCCTTCACCACTTTCaggA-3'



Hybrydyzację z 30µl odpowiedniej sondy prowadzono inkubując płytki w wilgotnej komorze w cieplarni, początkowo w 75°C przez 40 minut dla denaturowania nici mRNA, a następnie w 37°C przez 24 godziny dla uzyskania wiązania z sondą. Po tym czasie płytki były przepłukiwane buforem SSC (*saline-sodium citrate buffer*) – 5 minut w temperaturze pokojowej, 5 minut w 75°C i 1 minutę ponownie w temperaturze pokojowej. Po osuszeniu, skrawki były zakrapiane kroplą glicerolu i pokrywane szkiełkiem nakrywkowym. Dla badania FISH przeprowadzono odpowiednie procedury kontrolne (analiza obrazu uzyskanego bez użycia sondy, ocena FISH skrawków od pacjentów chorujących na zapalenie mieszków włosowych, rogowacenie słoneczne).

3.2.2.3 Analiza ilościowa reakcji IHC i FISH

Cyfrowe zapisy obrazów mikroskopowych uzyskanych w wyniku przeprowadzonych badań IHC i FISH wykrywających ekspresję *DSG2/DSG2* i *DSG3/DSG3* zostały poddane analizie numerycznej przy użyciu specjalistycznych programów komputerowych. Intensywność sygnału IHC została zmierzona

ilościowo przy użyciu cyfrowej analizy obrazu mikroskopowego za pomocą oprogramowania do ilościowej oceny morfometrycznej „*HSV Filter*” opracowanego w Zakładzie Bioinformatyki i Biologii Obliczeniowej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Helak-Łapaj, 2012).

Intensywność ekspresji białek mierzono w procentach reakcji DSG2/DSG3 za pomocą poniższego wzoru:

$$\text{Intensywność sygnału IHC} = \frac{\text{pole powierzchni pozytywnej reakcji}}{\text{pole powierzchni badanej}} \times 100\%$$

Intensywność sygnału FISH została zmierzona ilościowo przy użyciu cyfrowej analizy obrazu mikroskopowego za pomocą komercyjnego oprogramowania do ilościowej oceny morfometrycznej „*ImageJ*” (2013; wersja 1.48k; www.rsweb.nih.gov/ij/). Do obliczeń użyto poniższego wzoru:

$$\begin{aligned} \text{Intensywność sygnału FISH} \\ &= \text{zintegrowana gęstość} \\ &- (\text{pole powierzchni badanego naskórka} \\ &\times \text{średnia wartość fluorescencji tła}) \end{aligned}$$

Każdorazowo do oceny IHC/FISH wybierano najbardziej optymalny fragment preparatu, cechujący się:

- największą wizualną intensywnością reakcji,
- w przypadku typów BCC - obecnością cech nowotworu,
- w przypadku skóry drobnowidowo zdrowej z marginesu zmiany - nieobecnością cech nowotworu,
- możliwym brakiem artefaktów preparacyjnych.

3.2.3 Ocena mikroskopowa wraz z dokumentacją fotograficzną

Do badań mikroskopowych, zarówno histopatologicznych, immunohistochemicznych, jak i immunofluorescencyjnych wykorzystano mikroskop świetlny BX40 (Olympus, Tokio, Japonia), wyposażony w adapter fluorescencyjny i sprzężony z aparatem cyfrowym Olympus, drukarką termosublimacyjną Olympus oraz ekranem Panasonic. Zdjęcia obrazów

drobnowidowych utrwalono cyfrowo kamerą Olympus C-4000 Zoom (Olympus, Tokio, Japonia) w celu oceny intensywności pozytywnego sygnału immunohistochemicznego (powiększenie 400×) i immunofluorescencyjnego (powiększenie 600×) - odpowiednio poziomu ekspresji białka i mRNA (dzięki uprzejmości dr n. med. Moniki Bowszyc-Dmochowskiej).

Półilościowa ocena intensywności barwienia IHC i FISH dokonana została przez dwóch niezależnych badaczy. Ustanowiono następującą skalę reakcji:

„-” brak komórek z ekspresją badanych białek

„+” słabo pozytywna ekspresja badanych białek

„++” średnio pozytywna ekspresja badanych białek

„+++” silnie pozytywna ekspresja badanych białek

3.2.4 Analiza statystyczna

Opracowanie statystyczne wykonano przy użyciu specjalistycznego oprogramowania „*Statistica PL 10.0*” (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA) dzięki uprzejmości dr. n. med. Michała Michalaka w Katedrze i Zakładzie Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (kierownik: prof. dr hab. n. med. Jerzy Moczko). Część obliczeń statystycznych wykonano w Zakładzie Bioinformatyki i Biologii Obliczeniowej (kierownik: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Kaczmarek) przy Katedrze Patomorfologii Klinicznej UM w Poznaniu. Wyniki uznano za istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

3.2.4.1. Analiza statystyczna IHC i FISH

Ocenę ekspresji DSG2/DSG2 oraz DSG3/DSG3 pomiędzy zdrowym naskórkiem z marginesu nBCC, a zdrowym naskórkiem z marginesu sBCC przeprowadzono przy użyciu testu t-Studenta. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu Wilcoxona dla par obserwacji: DSG2/DSG3 w ogniskach BCC i DSG2/DSG3 w marginesie zdrowej tkanki na obu poziomach ekspresji (białko, mRNA). Porównanie ekspresji DSG2/DSG3 w ogniskach typu nBCC oraz DSG2/DSG3 w ogniskach typu sBCC na obu poziomach ekspresji (białko, mRNA) wykonano za pomocą testu Manna-Whitneya (tzw. testu Wilcoxona dla dwóch próbek). Oceny korelacji DSG2/DSG3 w marginesie zdrowej tkanki, BCC

i podtypach (nBCC, sBCC) na obu poziomach ekspresji (białko, mRNA) dokonano za pomocą testu korelacji rangowej Spearmana (ρ Spearmana).

3.2.4.2. Analiza danych epidemiologicznych BCC

Analizę statystyczną zmiany zapadalności na BCC w danej lokalizacji (owłosiona skóra głowy, nieowłosiona skóra głowy, szyja, tułów, kończyna górna, kończyna dolna) względem pozostałych lokalizacji oraz zmiany zapadalności na dany typ BCC (*solidum*, *superficiale*, *adenoides*, *cicatrisans*, typ mozaikowy, inne rzadkie typy) przeprowadzono przy użyciu testu χ^2 dla trendu. Różnice w liczności typów BCC w grupie kobiet i mężczyzn, różnice w rozkładzie płci w zależności od wielkości populacji w miejscu zamieszkania, oraz różnice w rozkładzie BCC i sBCC w poszczególnych grupach roczników oceniono za pomocą testu χ^2 z korektą Yatesa. Wielkość ośrodka zamieszkania pacjenta podzielono ustalając wartości graniczne zaludnienia: 1, 10, 50, 100 i 500 tysięcy mieszkańców. Różnice w lokalizacji BCC oraz typie BCC w zależności od średniego wieku pacjenta oceniono za pomocą testem Kruskala-Wallisa. Oceny korelacji wieku pacjenta od pokonywanej odległości z miejsca zameldowania do ośrodka poznańskiego dokonano za pomocą testu korelacji rangowej Spearmana (ρ Spearmana).

Opisane badania wykonano w Pracowni Histopatologii i Immunopatologii Skóry Kliniki Dermatologii (kierownik: dr hab. n. med. Monika Bowszyc-Dmochowska), Pracowni Autoimmunizacyjnych Dermatyz Pęcherzowych (kierownik: prof. dr hab. n. med. Marian Dmochowski) i Zakładzie Bioinformatyki i Biologii Obliczeniowej (kierownik: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Kaczmarek) UM w Poznaniu.

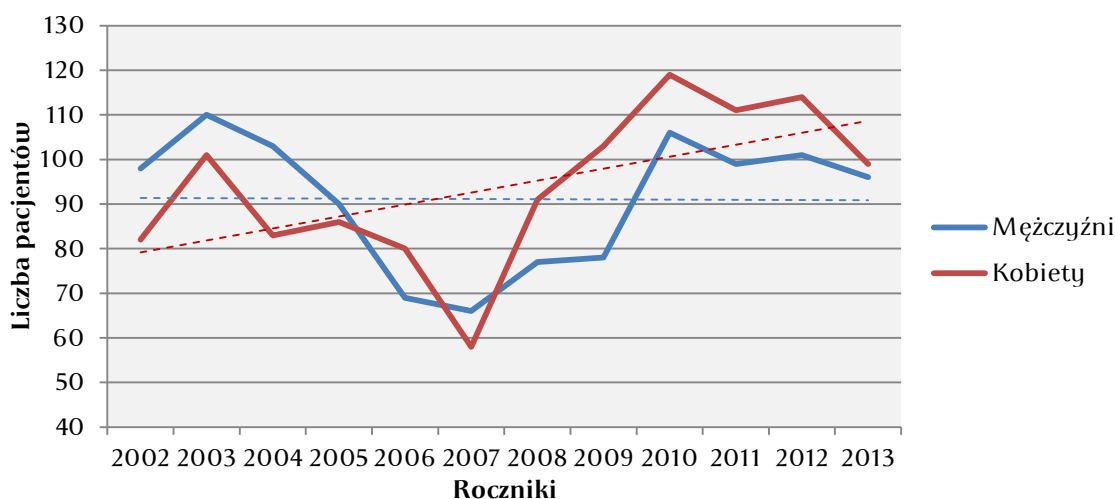
4. WYNIKI

4.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych BCC

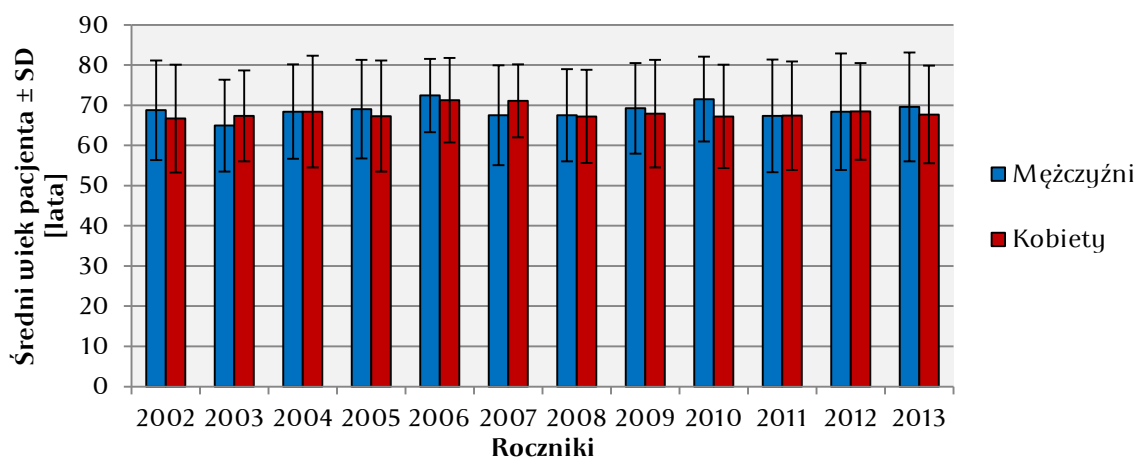
Liczbę pacjentów oraz ich średni wiek z rozdziałem na płeć w poszczególnych latach przedstawiono odpowiednio na Ryc. 14 i Ryc. 15. Medianę odległości pokonywanej przez pacjenta z miejsca zameldowania do ośrodka poznańskiego w poszczególnych latach przedstawiono na Ryc. 16. Rozkład procentowy odnotowywanych typów BCC w badanej grupie przedstawiono na Ryc. 17. Liczba BCC danych typów z rozbiem na poszczególne roczniki została przedstawiona na Ryc. 18. Rozkład występowania danego typu BCC dla poszczególnych płci przedstawiono na Ryc. 19. Pomiedzy grupą kobiet i grupą mężczyzn wykazano znaczącą różnicę liczby BCC *cicatrisans* ($p=0,0003$), lecz nie nBCC ($p=0,3739$), sBCC ($p=0,5205$), BCC *adenoides* ($p=0,8216$) i rzadkich typów ($p=0,4817$). Liczbę BCC w danej lokalizacji w poszczególnych rocznikach przedstawiono na Ryc. 20. Odsetek BCC w obrębie nieowłosionej skóry głowy przedstawiono na Ryc. 21. Odsetek BCC danego typu w określonych lokalizacjach przedstawiono na Ryc. 22. Liczbę BCC w danej lokalizacji dla całej badanej grupy, mężczyzn i kobiet przedstawiono na Ryc. 23-25. Lokalizację dwóch najczęstszych typów (nBCC i sBCC) przedstawiono odpowiednio na Ryc. 26 i Ryc. 27. Rozkład wiekowy dla obu podtypów przedstawiono na Ryc. 26. Wykazano znaczące różnice w rozkładzie nBCC i sBCC dla pięćdziesięciolatek ($p=0,0274$) i osiemdziesięciolatek ($p=0,0062$) względem rozkładu populacyjnego. Nie wykazano istotnych różnic dla grupy <30 lat ($p=1$), trzydziestolatek ($p=0,5835$), czterdziestolatek ($p=0,7864$), sześćdziesięciolatek ($p=1$), siedemdziesięciolatek ($p=0,91$) i pacjentów powyżej 90 lat życia ($p=0,8889$).

Wykazano znaczący wzrost zapadalności na BCC w badanych latach w obrębie owłosionej skóry głowy ($p=0,0212$), szyi ($p<0,0001$), tułowia ($p<0,0001$), kończyny górnej ($p<0,0001$) i dolnej ($p<0,0001$), a istotny spadek zapadalności w obrębie nieowłosionej skóry głowy ($p=0,001$) (Ryc. 29-34). Wykazano znaczący spadek zapadalności na nBCC ($p<0,0001$), BCC *adenoides* ($p=0,0236$) i BCC *cicatrisans* ($p<0,0209$), a znaczący wzrost zapadalności na sBCC ($p<0,0001$) i BCC typu mozaikowego ($p=0,0038$) względem pozostałych typów BCC (Ryc. 35-39). Nie wykazano istotnej statystycznie zmiany zapadalności na rzadkie typy BCC ($p=0,811$) (Ryc. 40). Wykazano istotnie niższy średni wiek pacjentów z sBCC w stosunku do pacjentów z nBCC ($p=0,033$), sBCC w stosunku do pacjentów z BCC

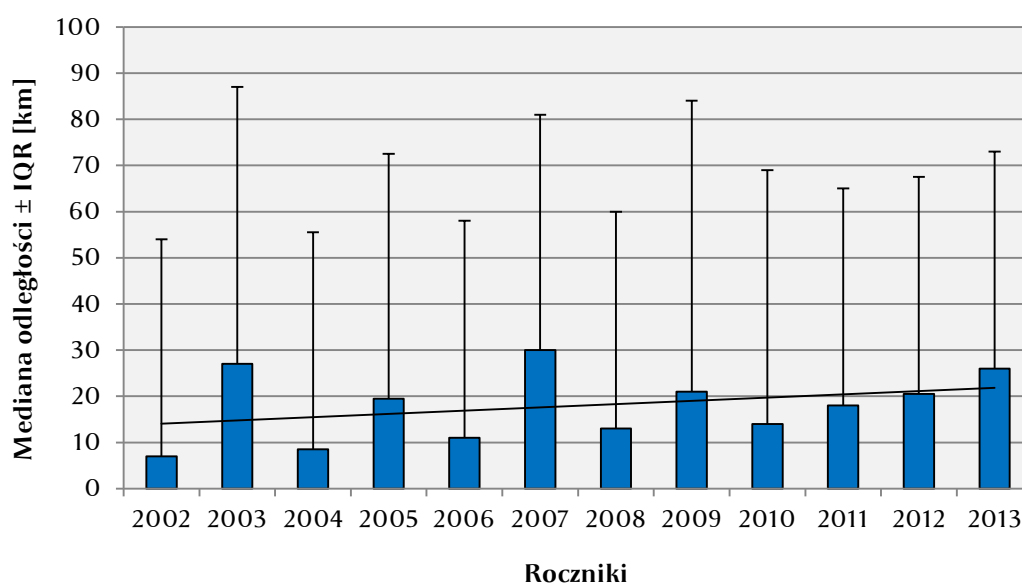
cicatriscans ($p=0,0037$) oraz sBCC w stosunku do innych rzadkich typów BCC ($p=0,049$) (Ryc. 41). Wykazano również istotnie niższy średni wiek pacjenta u którego BCC lokalizował się w obrębie tułowia wobec pacjenta z BCC w obrębie owłosionej skóry głowy ($p=0,0001$) i nieowłosionej skóry głowy ($p=0,0001$) oraz pacjenta z BCC w obrębie kończyny dolnej wobec głowy owłosionej ($p=0,0087$) (Ryc. 42). Dowiedziono istnienia negatywnej korelacji wieku pacjenta i pokonywanej przez niego odległości z miejsca zameldowania do ośrodka poznańskiego ($r=-0,1758$; $p<0,0001$) (Ryc. 43). Nie wykazano istotnych różnic w rozkładzie płci wśród pacjentów z ośrodków >500tys. ($p=0,2579$), 100-500tys. ($p=0,3693$), 50-100tys. ($p=0,0871$), 10-50tys. ($p=0,7068$), 1-10tys. ($p=0,3006$) i poniżej 1tys. mieszkańców ($p=0,0759$) (Ryc. 44).



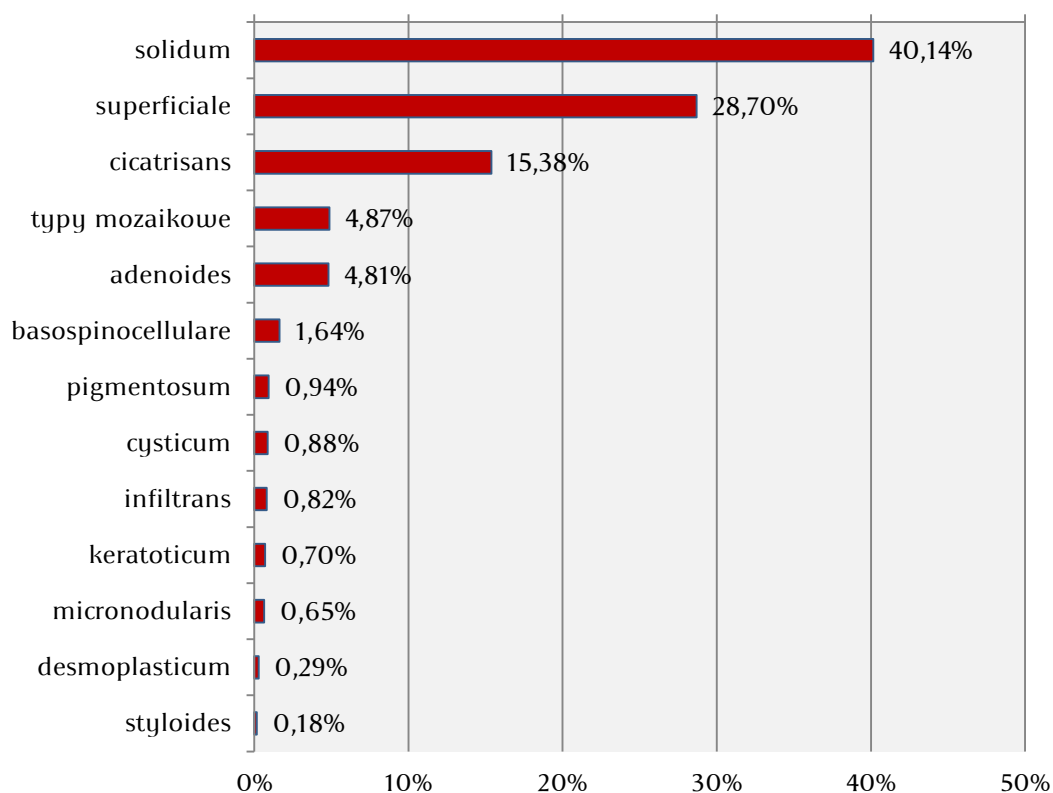
Ryc. 14 Roczna liczba pacjentów z BCC z ośrodka poznańskiego w latach 2002-2013 (n=2220). Oznaczono linie trendów.



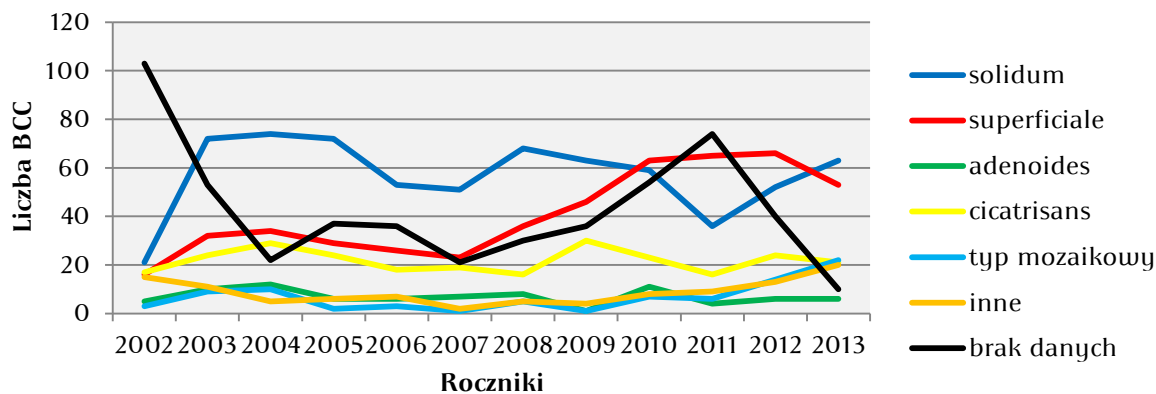
Ryc. 15 Średni wiek pacjentów w zależności od płci w latach 2002-2013 (n=2053).



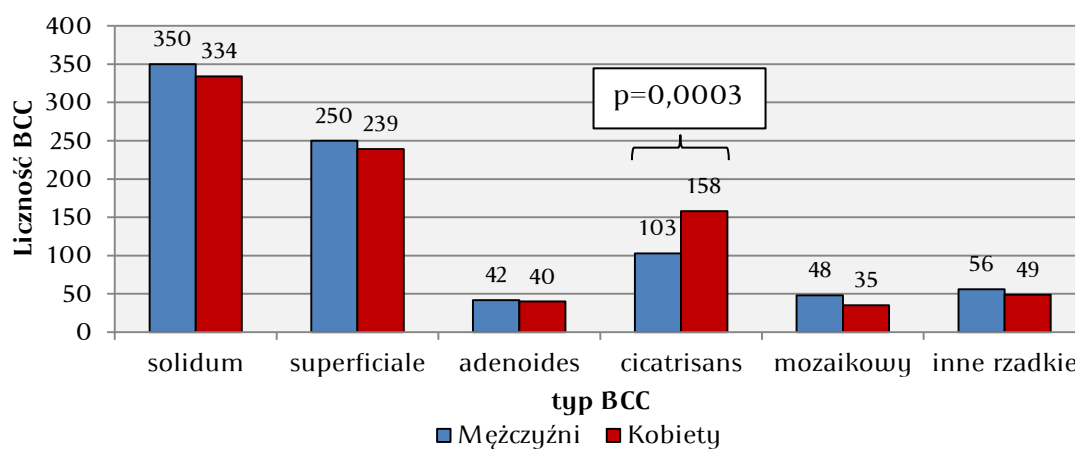
Ryc. 16 Mediana odległości miejsca zameldowania od ośrodka poznańskiego w latach 2002-2013 (n=2168). Ukazano linię trendu wzrostowego.



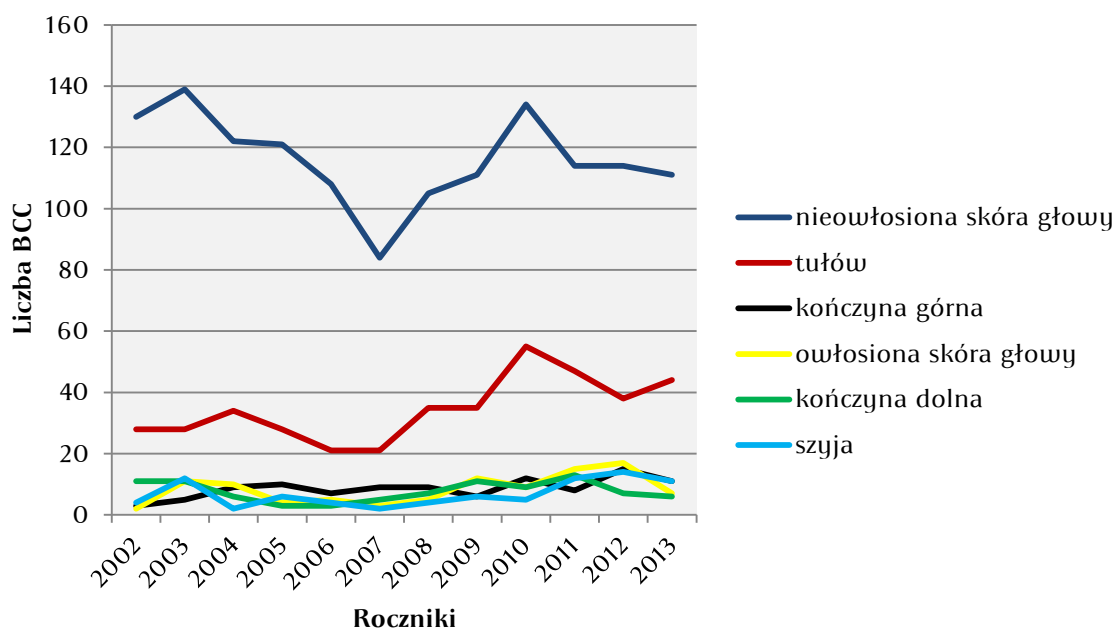
Ryc. 17 Rozkład procentowy odnotowywanych typów BCC w latach 2002-2013 (n=1704).



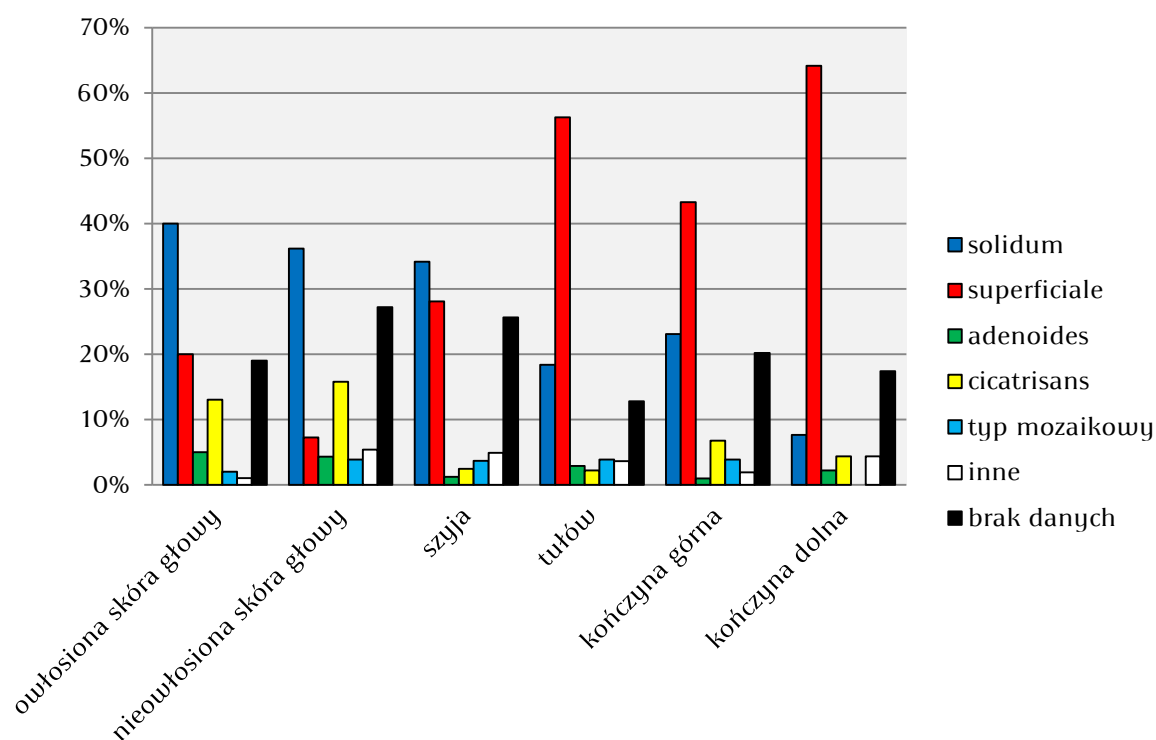
Ryc. 18 Występowanie danych typów BCC w latach 2002-2013 (n=1704).



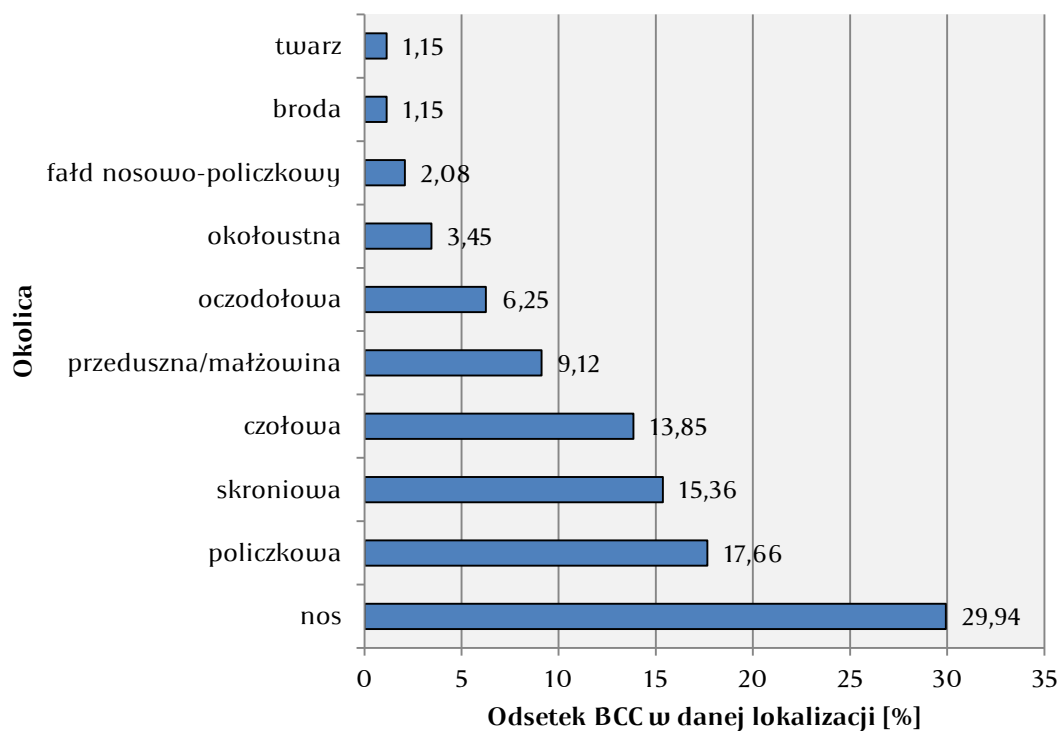
Ryc. 19 Występowanie danego typu BCC z podziałem na płeć w latach 2002-2013 (n=1704). Znacząca różnica rozkładu BCC *cicatrisans* pomiędzy płciami (test χ^2 z korektą Yatesa).



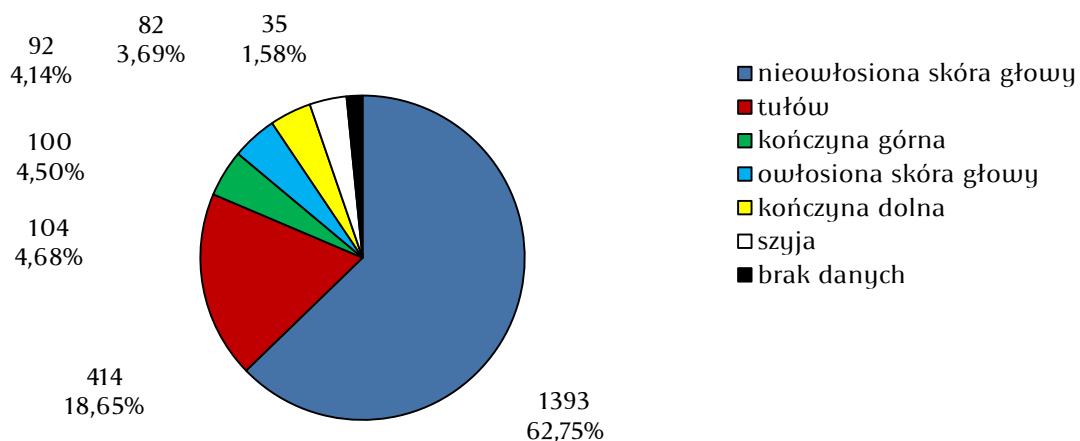
Ryc. 20 Lokalizacja BCC w latach 2002-2013 (n=2185).



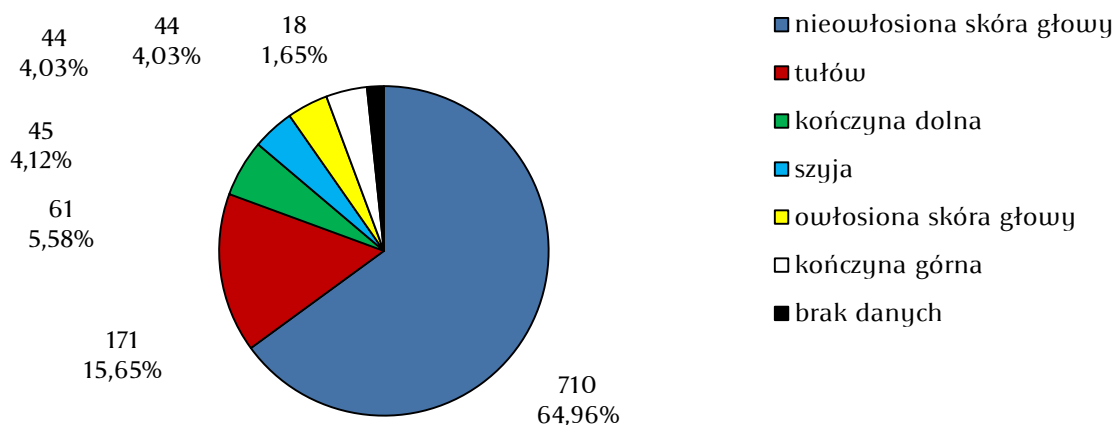
Ryc. 21 Lokalizacja BCC z rozróżnieniem na typy histologiczne w latach 2002-2013.



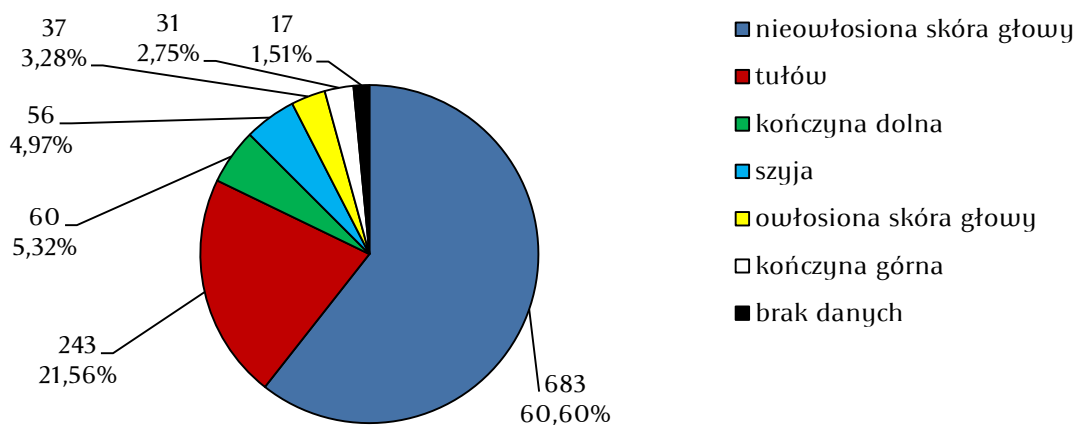
Ryc. 22 Lokalizacja BCC w obrębie nieowłosionej skóry głowy u pacjentów z lat 2002-2013 (n=1393).



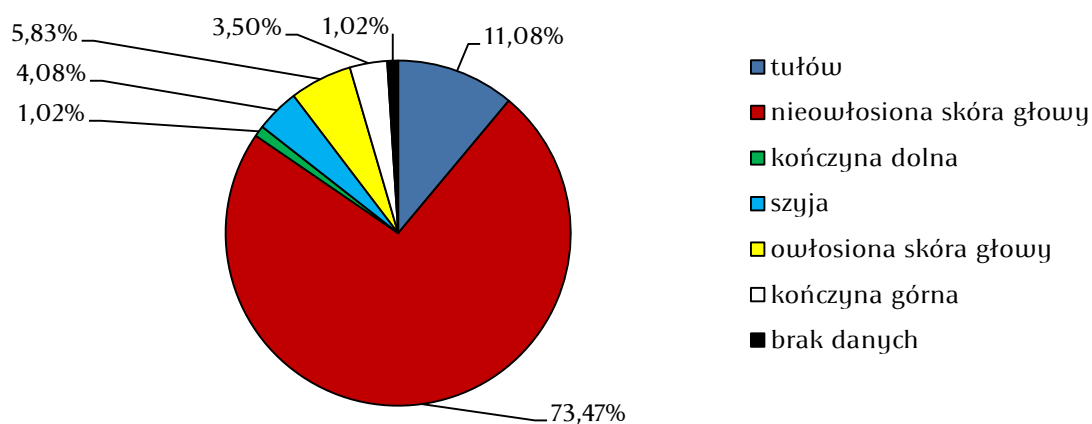
Ryc. 23 Lokalizacja BCC w latach 2002-2013 (n=2220).



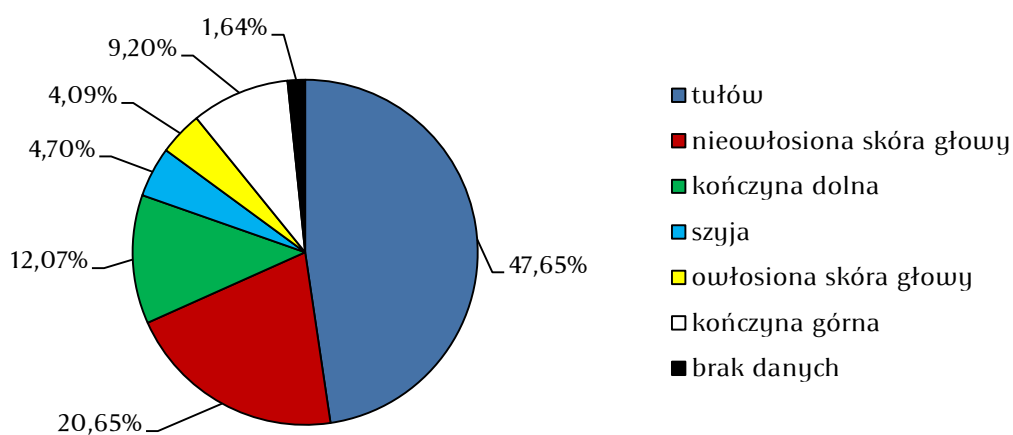
Ryc. 24 Lokalizacja BCC u kobiet w latach 2002-2013 (n=1093).



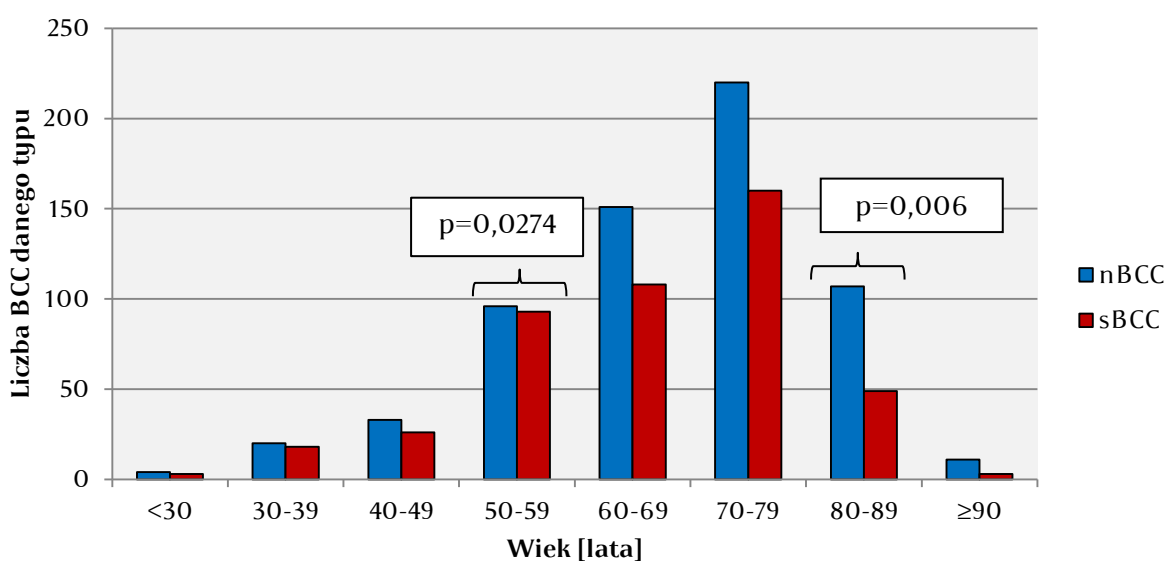
Ryc. 25 Lokalizacja BCC u mężczyzn w latach 2002-2013 (n=1127).



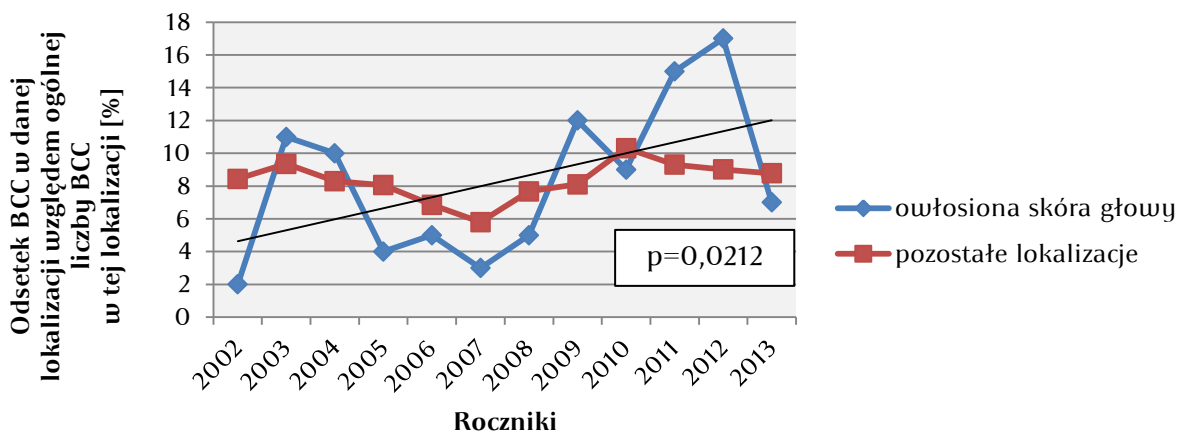
Ryc. 26 Lokalizacja nBCC w latach 2002-2013 (n=686).



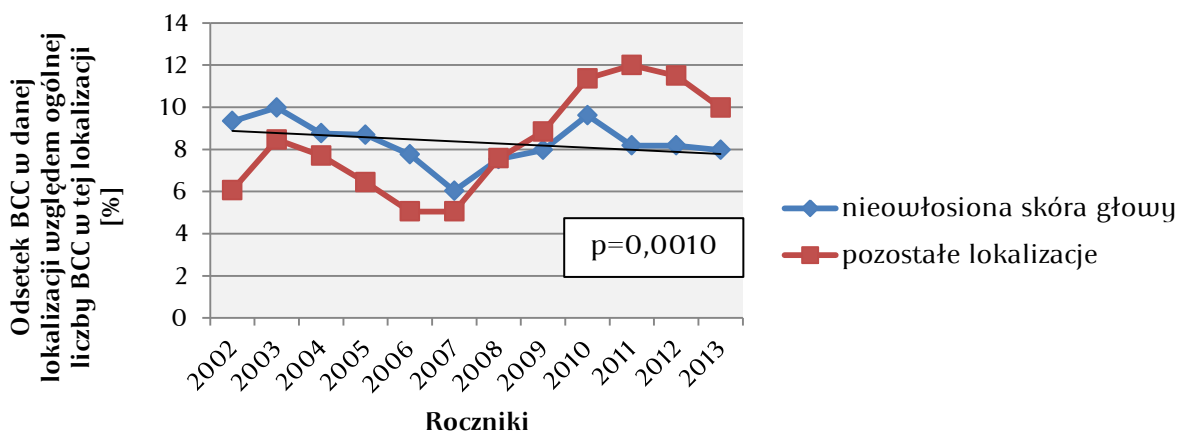
Ryc. 27 Lokalizacja sBCC w latach 2002-2013 (n=489).



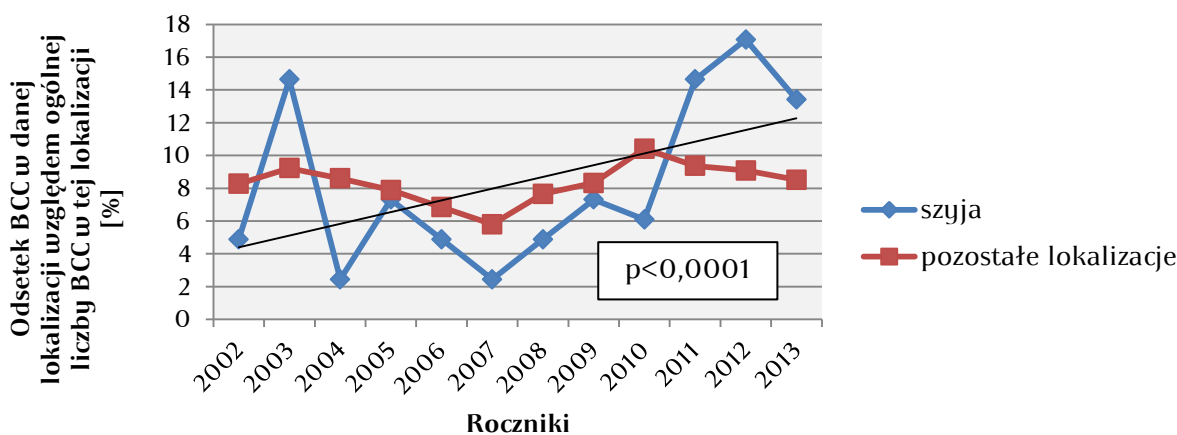
Ryc. 28 Liczba zachorowań na nBCC i sBCC w grupach wiekowych w latach 2002-2013 (n=1102). Oznaczono populacje wiekowe o istotnych różnicach proporcji nBCC/sBCC wobec całej grupy badanej.



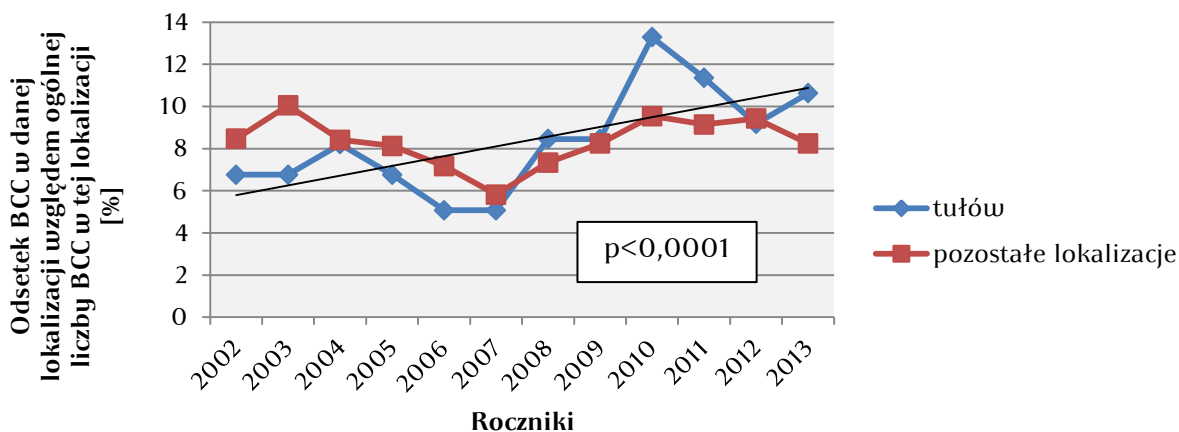
Ryc. 29 Znaczący wzrost liczby BCC w obrębie owłosionej skóry głowy względem pozostałych lokalizacji w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



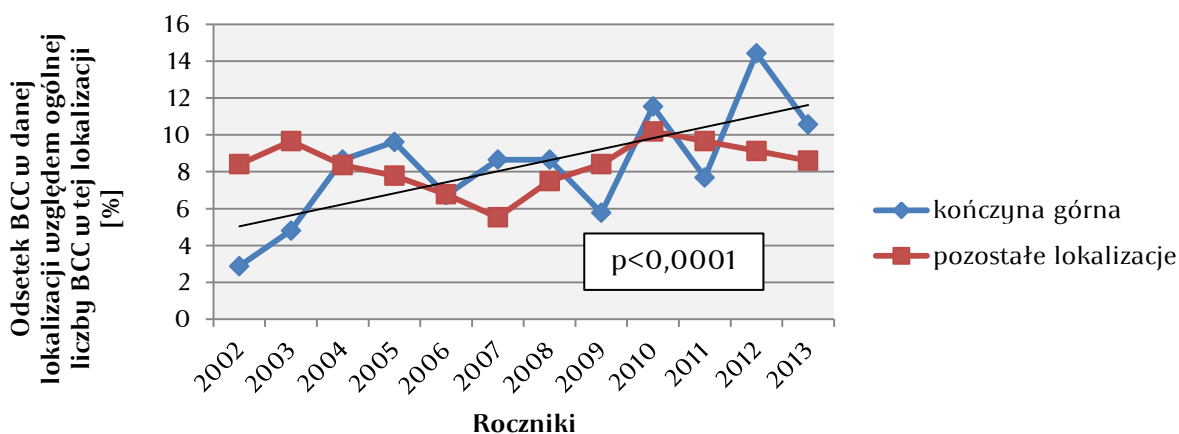
Ryc. 30 Znaczący spadek liczby BCC w obrębie nieowłosionej skóry głowy względem pozostałych lokalizacji w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



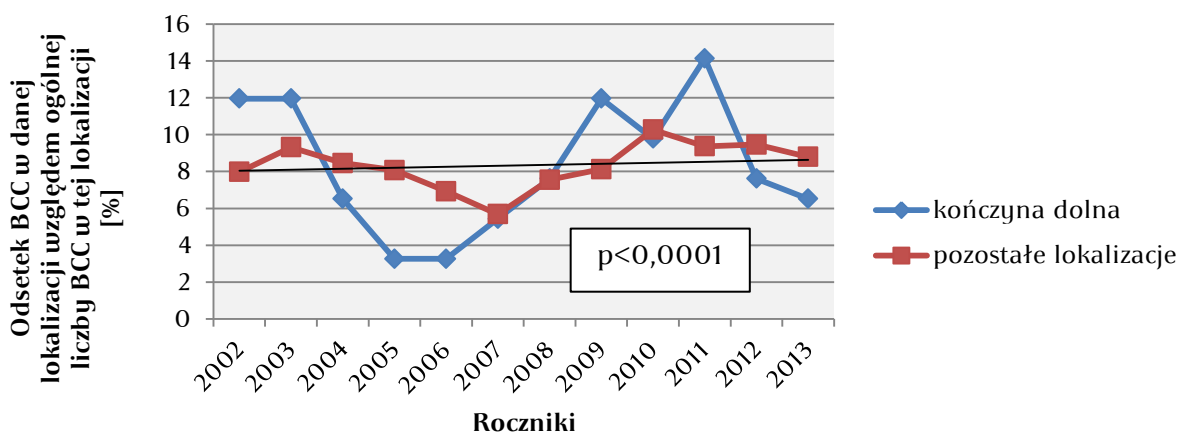
Ryc. 31 Znaczący wzrost liczby BCC w obrębie szyi względem pozostałych lokalizacji w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



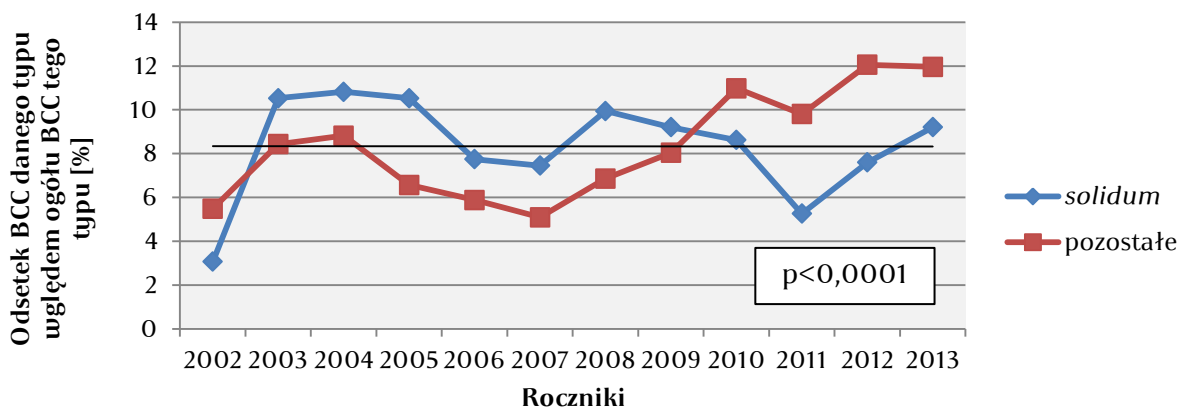
Ryc. 32 Znaczący wzrost liczby BCC w obrębie tułowia względem pozostałych lokalizacji w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



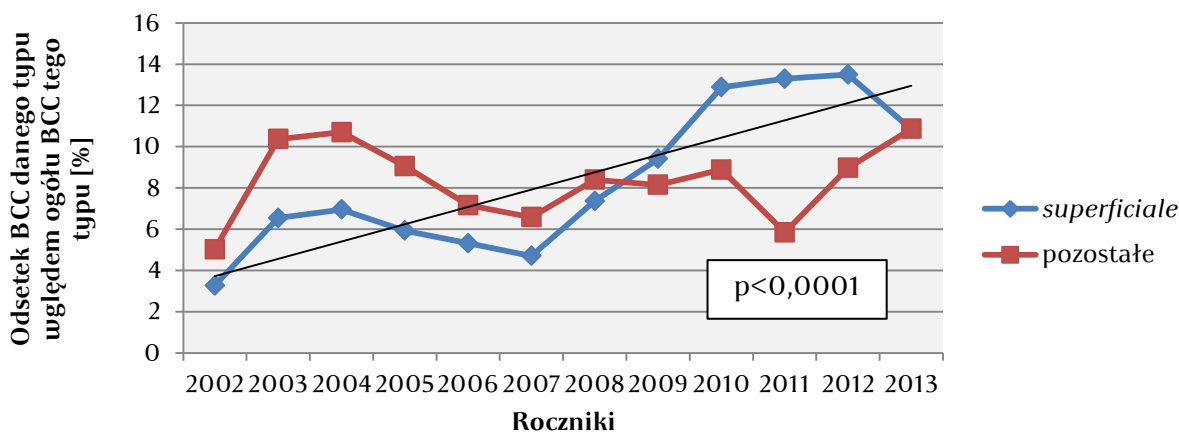
Ryc. 33 Znaczący wzrost liczby BCC w obrębie kończyny górnej względem pozostałych lokalizacji w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



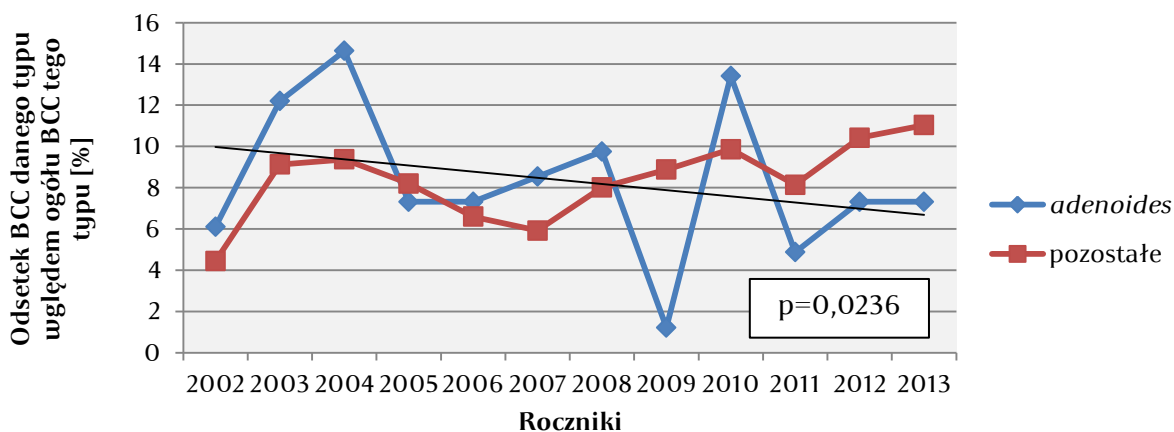
Ryc. 34 Znaczący wzrost liczby BCC w obrębie kończyny dolnej względem pozostałych lokalizacji w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



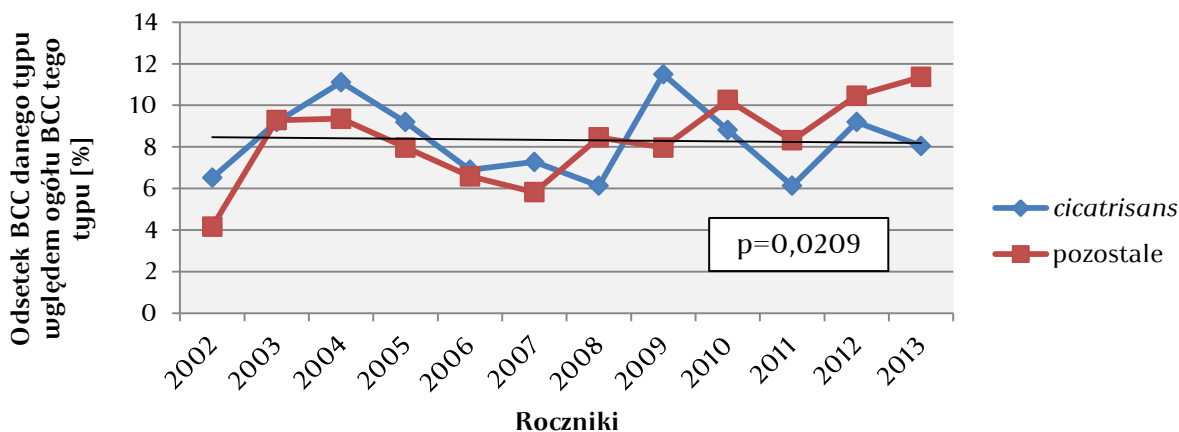
Ryc. 35 Znaczący spadek liczby BCC *solidum* (nBCC) względem pozostałych typów w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



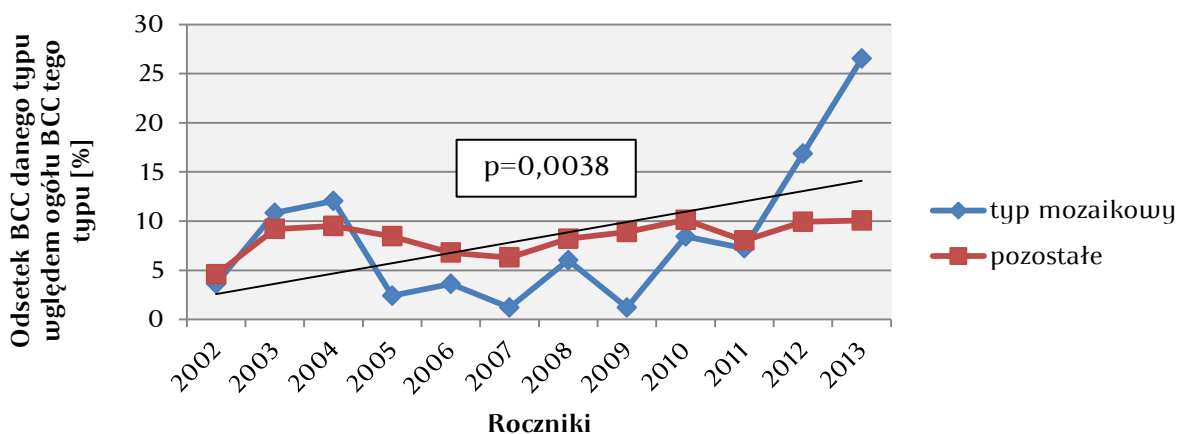
Ryc. 36 Znaczący wzrost liczby BCC *superficiales* (sBCC) względem pozostałych typów w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



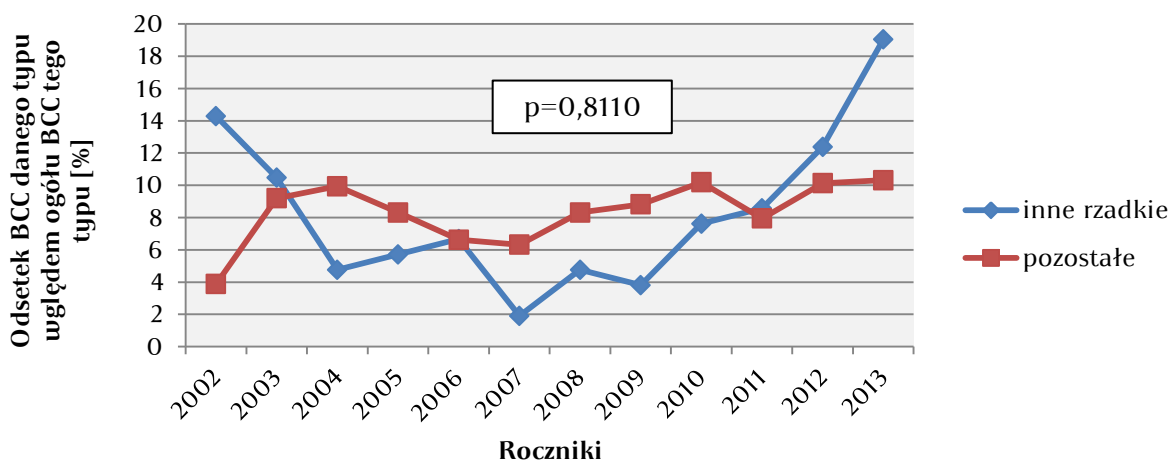
Ryc. 37 Znaczący spadek liczby BCC *adenoides* względem pozostałych typów w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



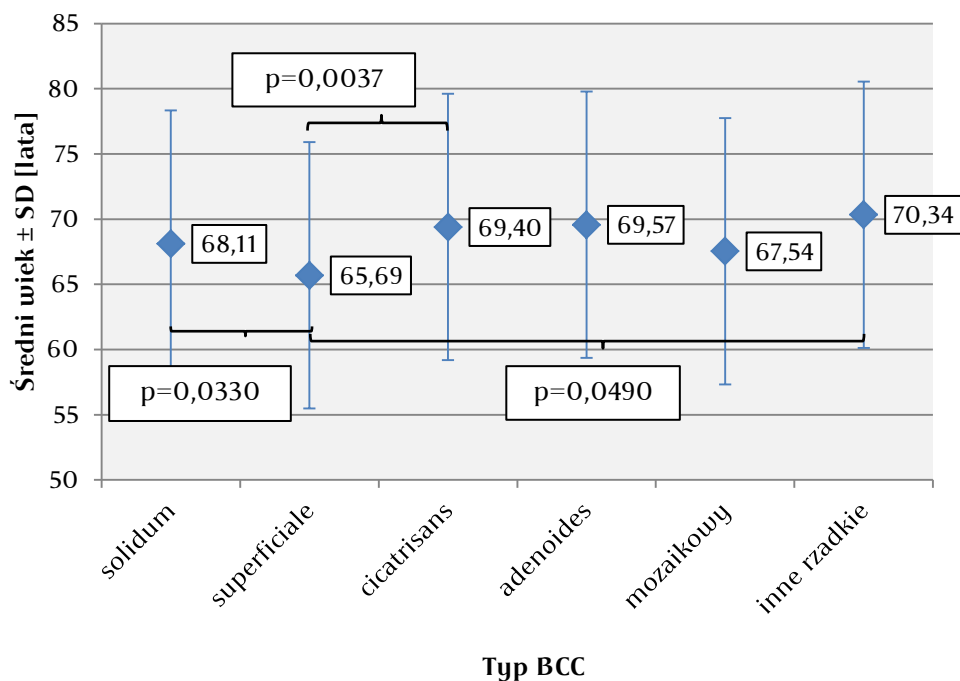
Ryc. 38 Znaczący spadek liczby BCC *cicatrisans* względem pozostałych typów w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



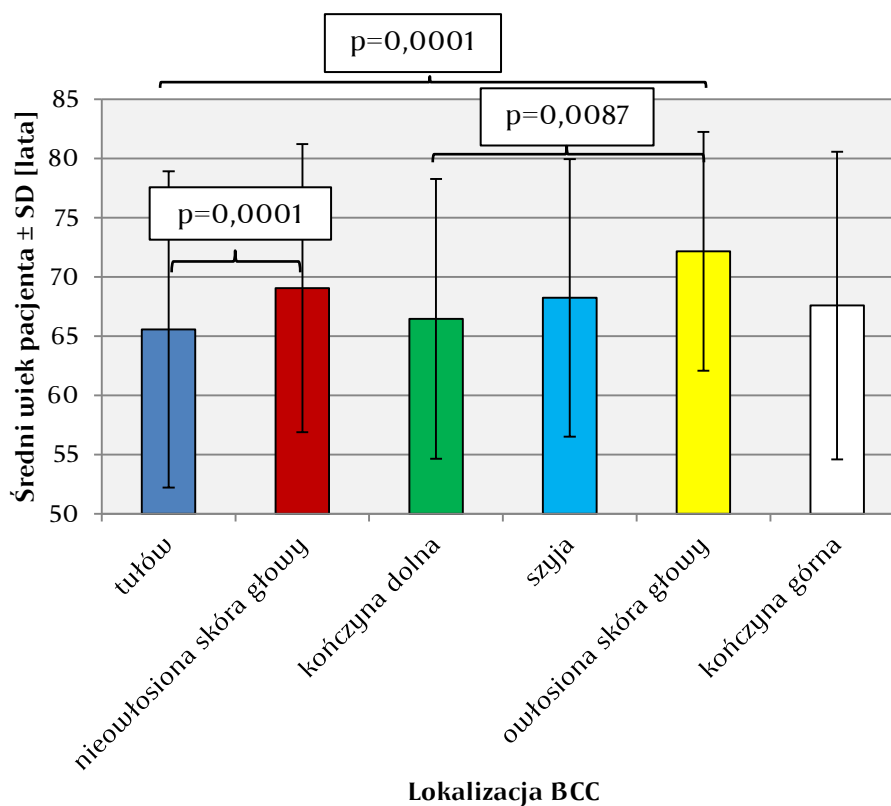
Ryc. 39 Znaczący wzrost liczby BCC typu mozaikowego względem pozostałych typów w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Oznaczono linię trendu.



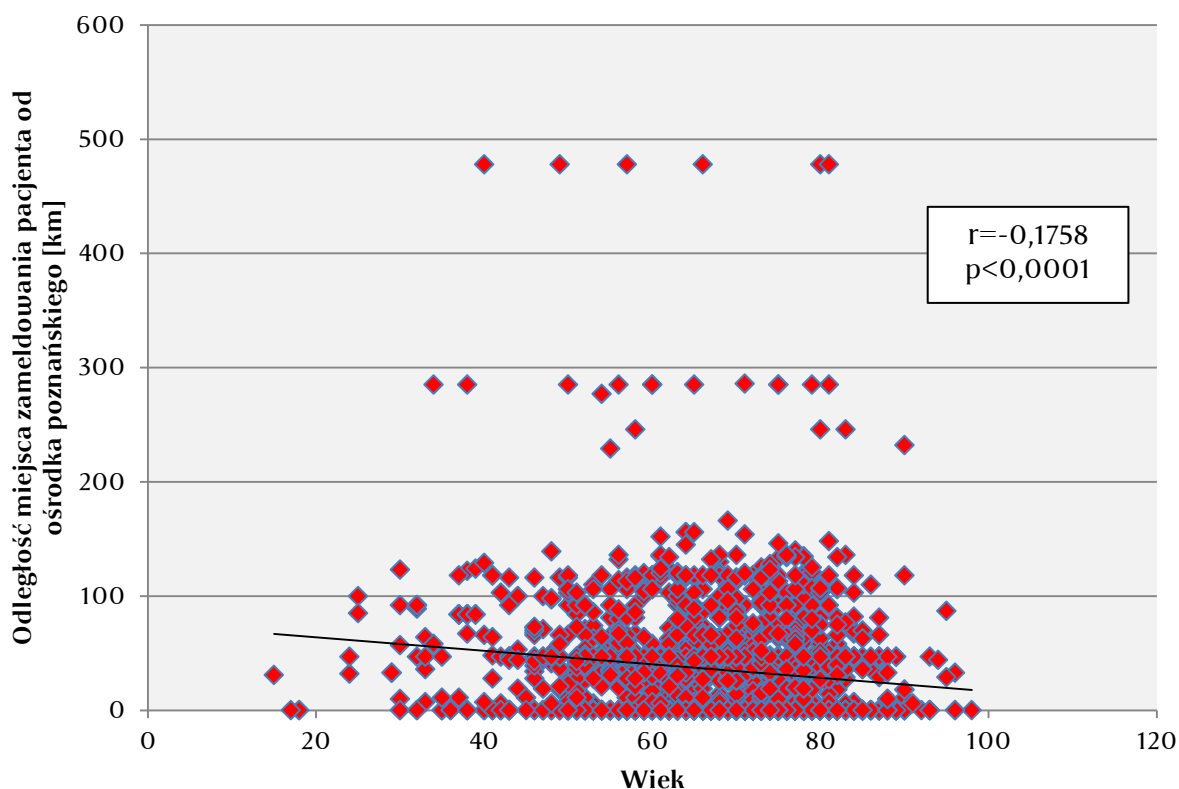
Ryc. 40 Zależność liczby rzadkich typów BCC względem pozostałych typów w latach 2002-2013 (test χ^2 dla trendu). Brak istotności statystycznej.



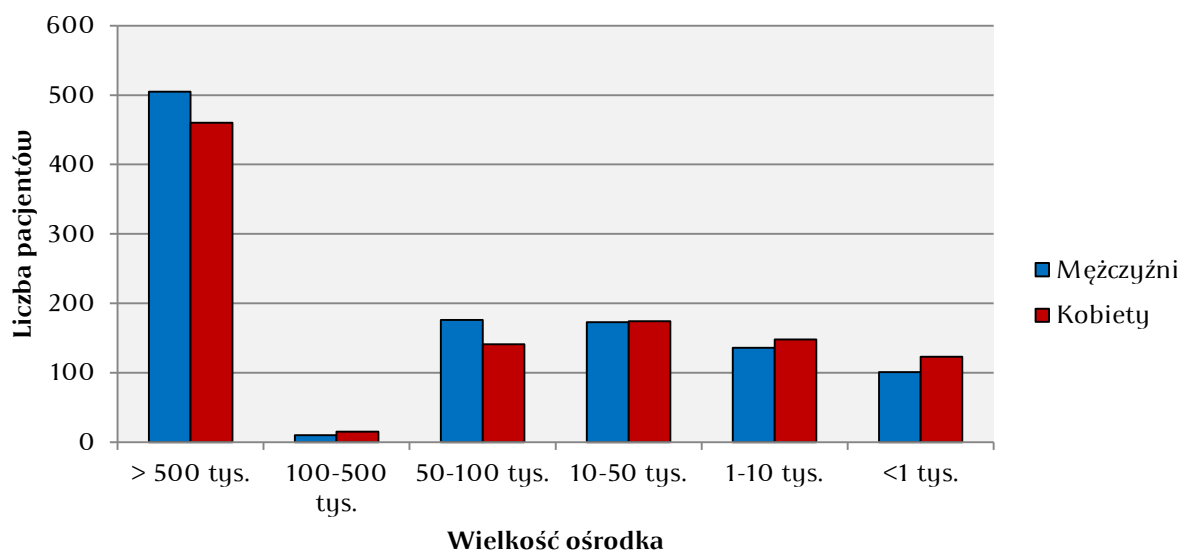
Ryc. 41 Istotna zależność średniego wieku pacjentów w od typu BCC oceniona testem Kruskala-Wallisa.



Ryc. 42 Istotne zależności lokalizacji BCC od średniego wieku pacjenta ocenione testem Kruskala-Wallisa.



Ryc. 43 Znacząca negatywna zależność wieku pacjenta od pokonywanej odległości z miejsca zameldowania do ośrodka poznańskiego w latach 2002-2013 oceniana testem korelacji rangowej Spearmana (n=2007).



Ryc. 44 Rozkład wielkości populacji ośrodka zamieszkania pacjentów z lat 2002-2013 (n=2162).

4.2 Wyniki ekspresji DSGs

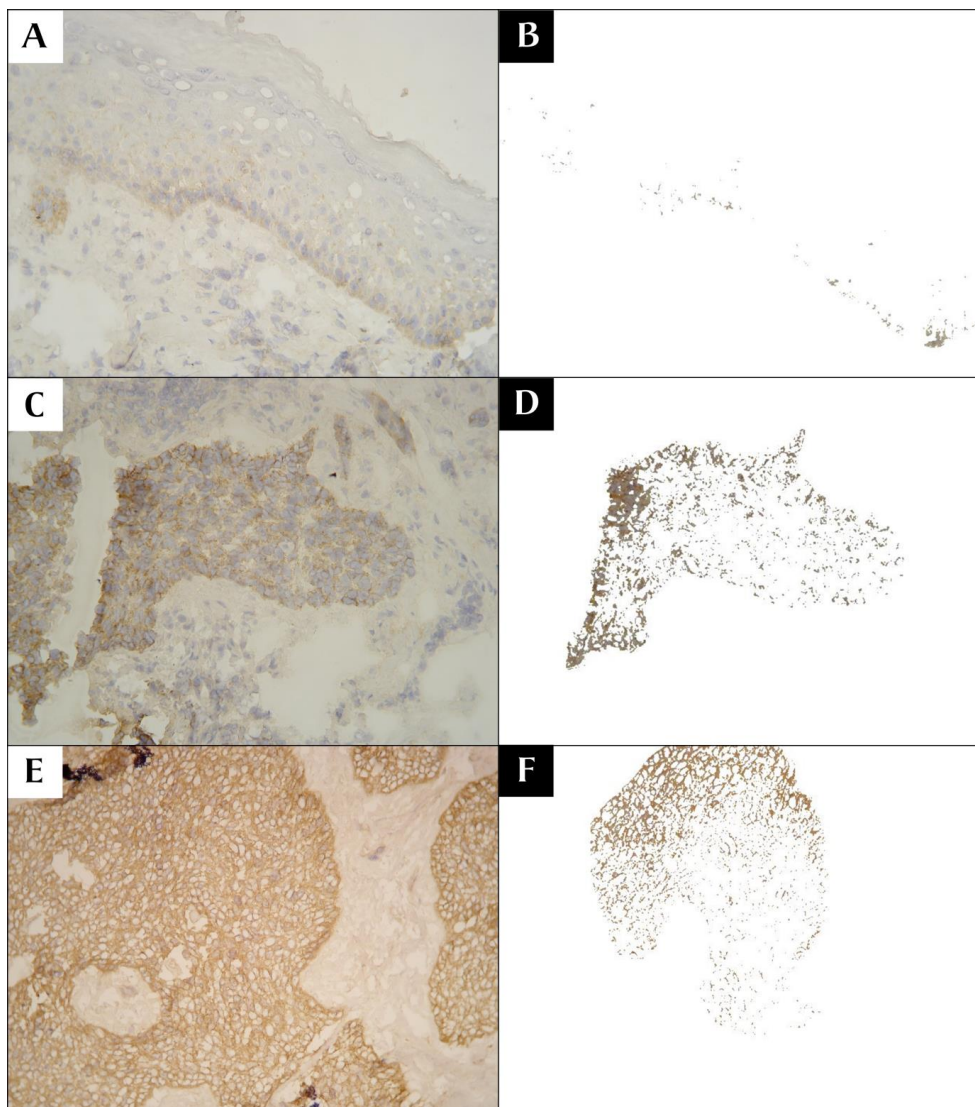
4.2.1 Ekspresja na poziomie białka

4.2.1.1 Wyniki ilościowej ekspresji DSGs

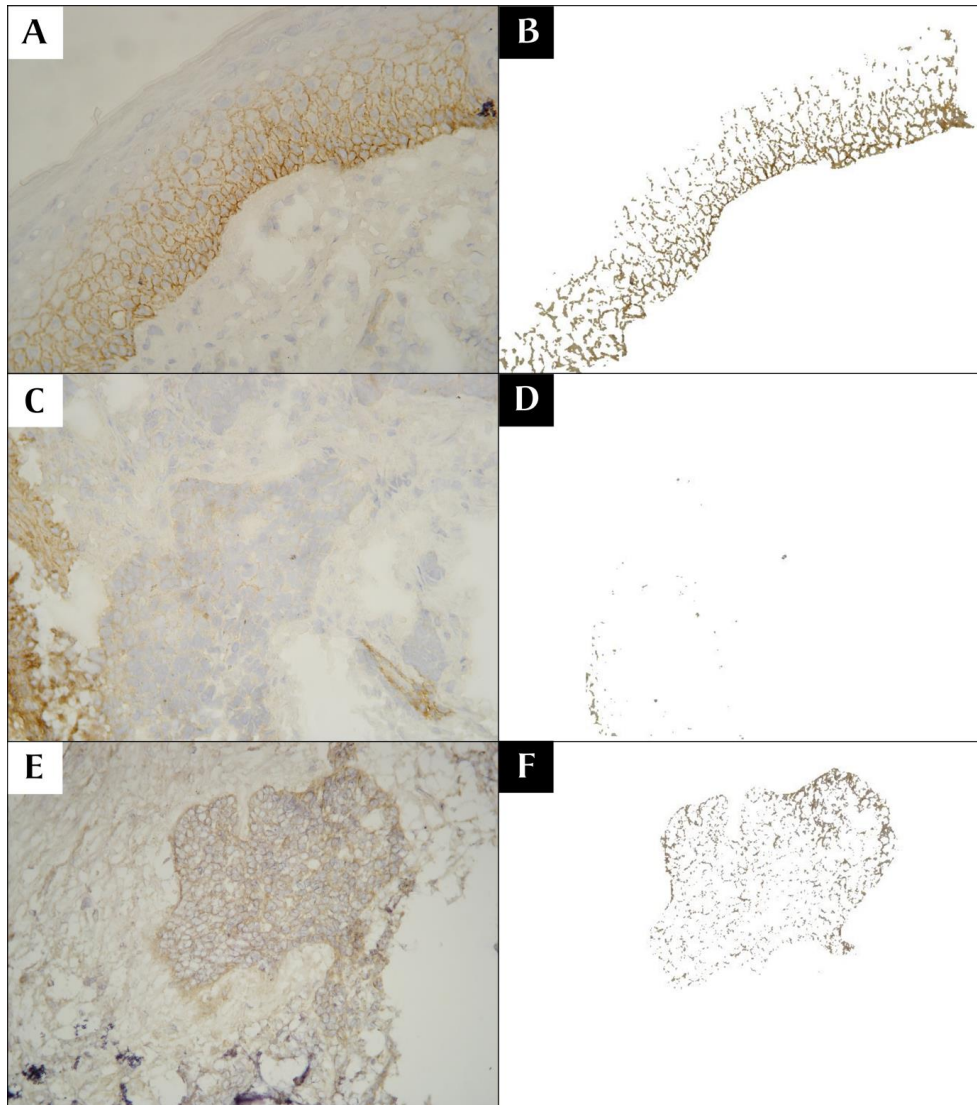
Ilościowa analiza sygnałów IHC (Ryc. 45-47, Tab. III) wykazała znaczące różnice w ekspresji DSG2 i DSG3 w BCC i zdrowym naskórku. Ekspresja DSG2 była znacząco wyższa w BCC niż w naskórku ($p=0,0429$), a DSG3 znacząco niższa w BCC niż w naskórku ($p=0,0035$). Podobnie, w nBCC wykazano wyższą ekspresję DSG2 ($p=0,0335$) i DSG3 ($p=0,0013$) niż w naskórku. W sBCC nie wykazano tych różnic dla ekspresji DSG2 ($p=0,0547$) i DSG3 ($p=0,7343$) wobec naskórka. Pomiędzy oboma typami BCC (nBCC, sBCC) nie wykazano istotnych różnic w ekspresji DSG2 ($p=0,6541$) i DSG3 ($p=0,0783$). Wykazano istotną pozytywną korelację ekspresji DSG2 i DSG3 w naskórku ($r=+0,6715$; $p=0,0002$) (Ryc. 48), która była nieobecna w BCC ($r=+0,1412$; $p=0,0585$), sBCC ($r=+0,4295$; $p=0,0553$) i nBCC ($r=+0,023$; $p=0,562$). Nie wykazano różnic w ekspresji DSG2 ($p=0,7491$) i DSG3 ($p=0,1392$) pomiędzy grupami kontrolnymi.

4.2.1.2 Wyniki jakościowej ekspresji DSGs

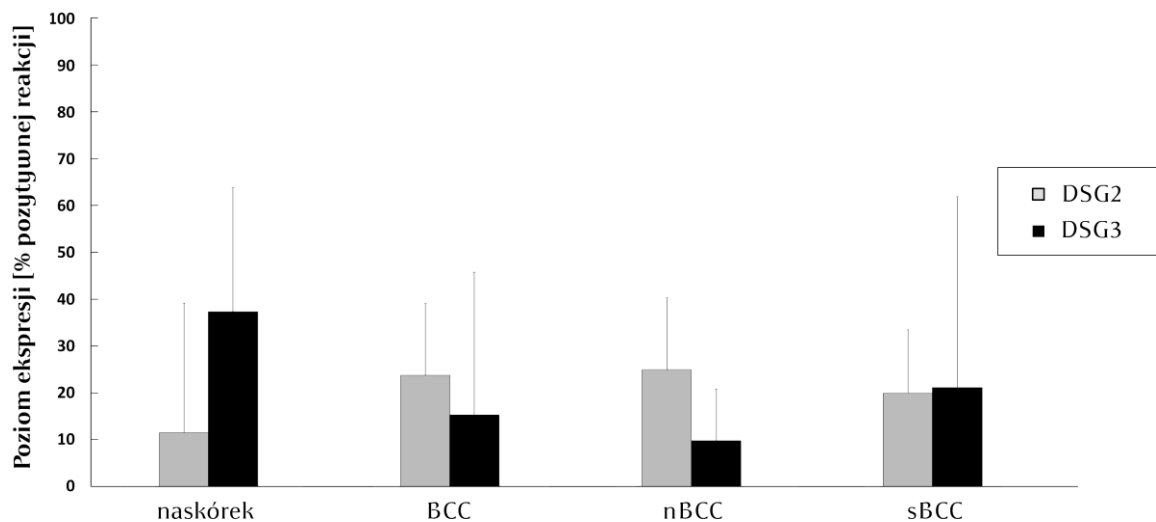
DSG2 w zdrowym naskórku lokalizowała się w jego dolnych warstwach (Ryc. 4A), podczas gdy DSG3 wykazywała ekspresję w dolnych i środkowych warstwach naskórka (Ryc. 4B). DSG2 wykazywała ekspresję w przestrzeniach międzykomórkowych w nBCC, bardziej zaznaczoną na obwodzie nowotworu (Ryc. 49), natomiast w sBCC ekspresję homogeną na całym przekroju gniazd (Ryc. 50). DSG3 wykazywała zbliżony, homogeny wzór ekspresji w przestrzeniach międzykomórkowych na całym przekroju gniazd nowotworowych obu typów BCC, jednak o wyraźnie mniejszym nasileniu w sBCC (Ryc. 51-52).



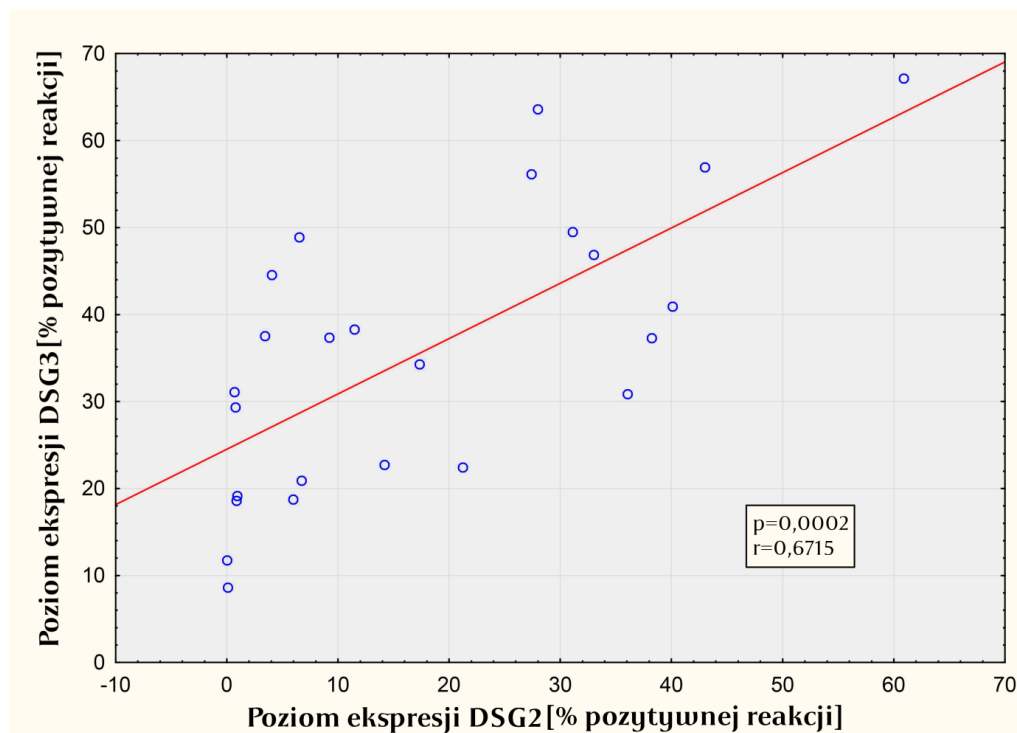
Ryc. 45 Ekspresja DSG2 na poziomie białka w zdrowym naskórku i tkance BCC. Ekspresja DSG2 na poziomie białka w zdrowym naskórku (A) i sygnał przetworzony cyfrowo (B). Ekspresja DSG2 na poziomie białka w sBCC (C) i sygnał przetworzony cyfrowo (D). Ekspresja DSG2 na poziomie białka w nBCC (E) i sygnał przetworzony cyfrowo (F). Powiększenie 400×, IHC. Analiza komputerowa obrazów IHC dzięki uprzejmości dr n. med. Celiny Helak-Łapaj.



Ryc. 46 Ekspresja DSG3 na poziomie białka w zdrowym naskórku i tkance BCC. Ekspresja DSG3 na poziomie białka w zdrowym naskórku (A) i sygnał przetworzony cyfrowo (B). Ekspresja DSG3 na poziomie białka w sBCC (C) i sygnał przetworzony cyfrowo (D). Ekspresja DSG3 na poziomie białka w nBCC (E) i sygnał przetworzony cyfrowo (F). Powiększenie 400×, IHC. Analiza komputerowa obrazów IHC dzięki uprzejmości dr n. med. Celiney Helak-Łapaj.



Ryc. 47 Poziom ekspresji (mediana, rozstęp kwartylowy) DSG2 i DSG3 na poziomie białka w zdrowym naskórku, BCC oraz jego postaciach nBCC i sBCC. Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014

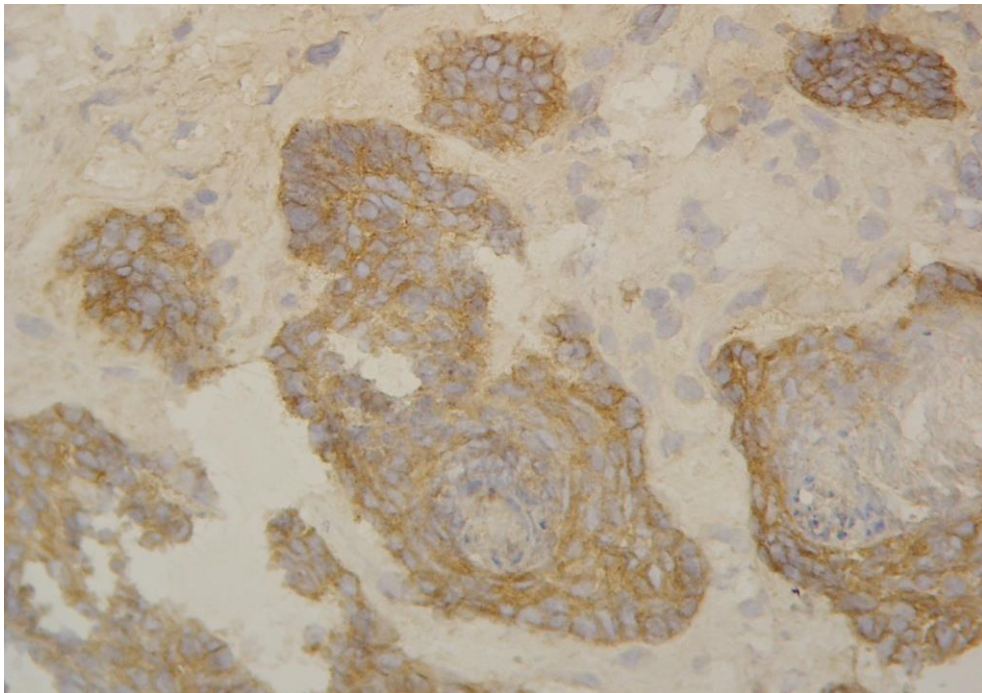


Ryc. 48 Istotna pozytywna korelacja ekspresji DSG2 i DSG3 na poziomie białka w zdrowym naskórku. Współczynnik korelacji rangowej Spearmana oceniający siłę zależności. Zaznaczono linię trendu. Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014

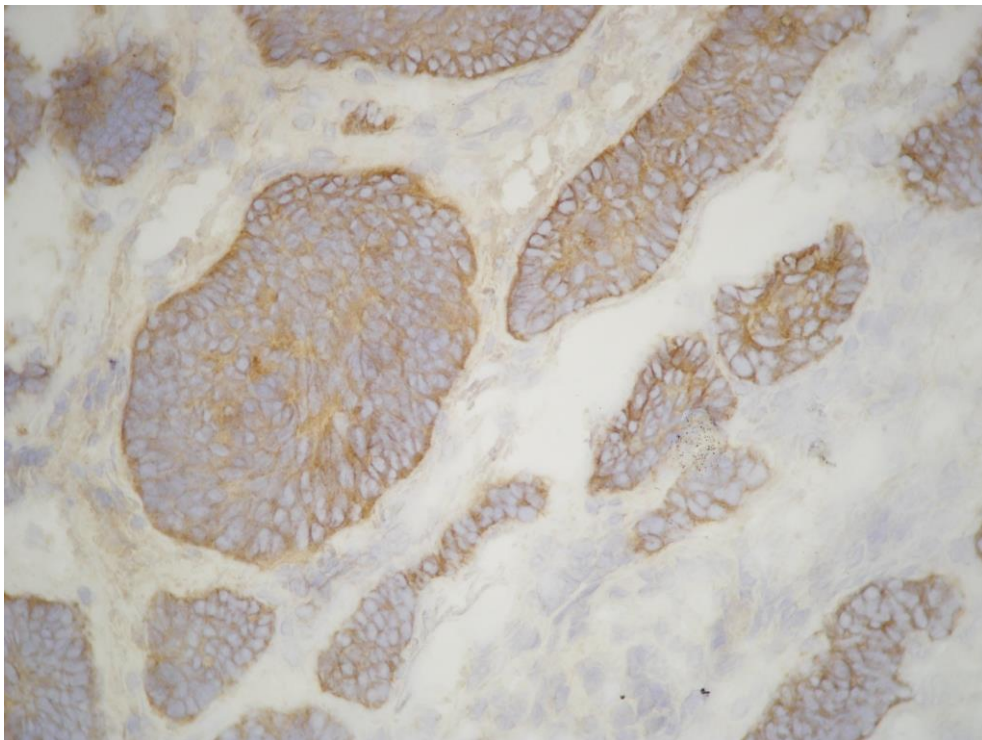
Tabela III. Analiza statystyczna ekspresji DSG2 i DSG3 (IHC).

Badana grupa	Liczba badanej grupy (n)	Ekspresja [% pozytywnej reakcji]				Istotność statystyczna	
		DSG2		DSG3		Ekspresja DSG2	Ekspresja DSG3
		Mediana	IQR	Mediana	IQR		
naskórek	25	11,49	27,69	-	-	BCC vs. naskórek ^w	BCC vs. naskórek ^w
	26	-	-	37,33	26,45	p=0,0429*	p=0,0035*
BCC	26	23,73	15,35	15,28	30,55	nBCC vs. sBCC ^{MW}	nBCC vs. sBCC ^{MW}
nBCC	17	24,94	15,35	9,77	10,98	nBCC vs. naskórek ^w	nBCC vs. naskórek ^w
sBCC	9	19,91	13,63	21,10	40,75	sBCC vs. naskórek ^w	sBCC vs. naskórek ^w

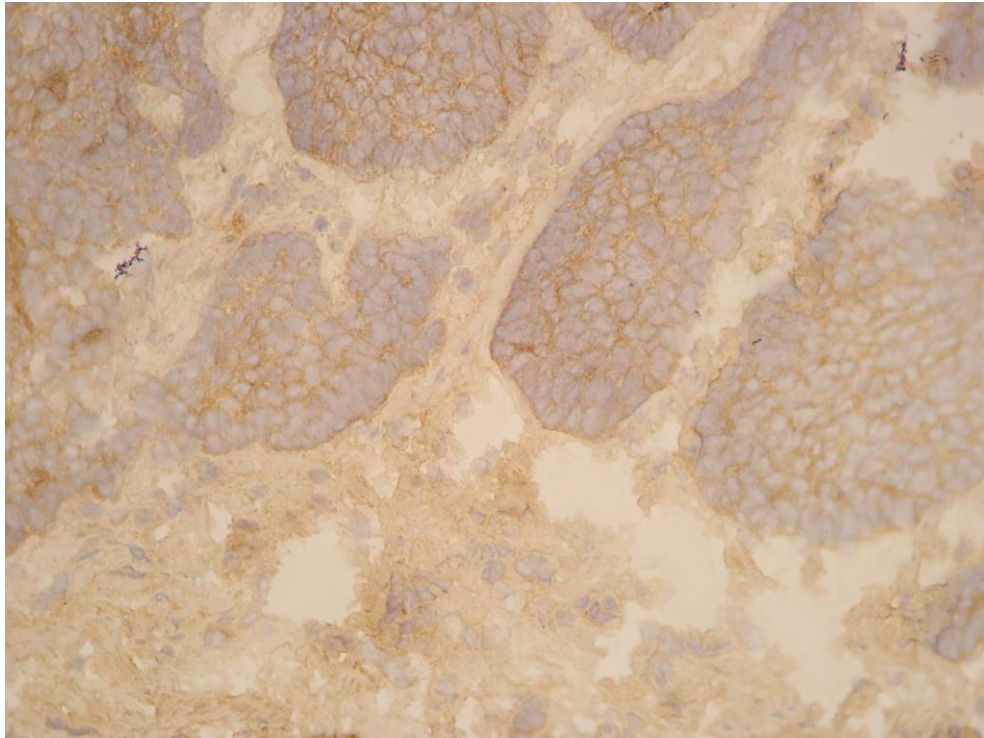
BCC – rak podstawonokomórkowy (*basal cell carcinoma*), **DSG2** – desmogleina 2, **DSG3** – desmogleina 3, **IHC** – badanie immunohistochemiczne, **IQR** – rozstęp kwartylowy, ^{MW} – test Manna-Whitneya, **nBCC** – typ guzkowy BCC (*BCC nodularis*), **sBCC** – typ powierzchniowy BCC (*BCC superficiale*); ^w – test Wilcozona dla par obserwacji. Istotność statystyczną zależności oznaczono *
Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014.



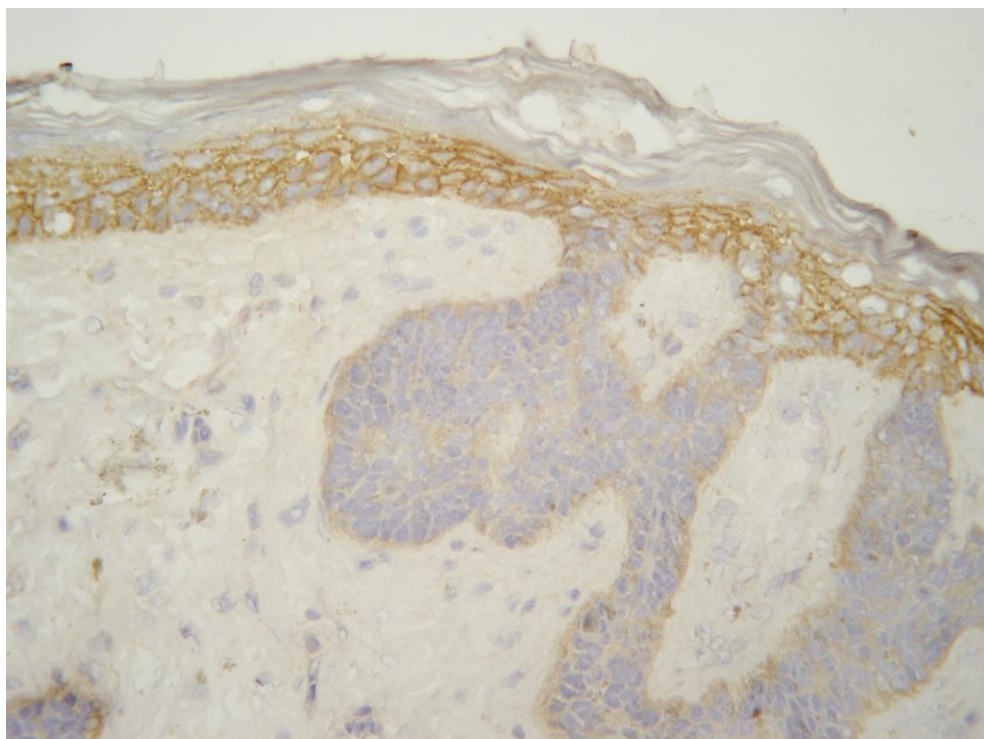
Ryc. 49 DSG2 wybarwiająca się w przestrzeniach międzykomórkowych na obwodzie nBCC (IHC).



Ryc. 50 DSG2 wybarwiająca się homogenicznie w przestrzeniach międzykomórkowych na całym przekroju sBCC (IHC).



Ryc. 51 DSG3 wybarwiająca się homogenicie w przestrzeniach międzykomórkowych na całym przekroju nBCC (IHC).



Ryc. 52 DSG3 wybarwiająca się homogenicie wyraźnie w przestrzeniach międzykomórkowych naskórka, natomiast śladowo w ogniskach sBCC (IHC).

4.3.1 Ekspresja *DSGs* na poziomie mRNA

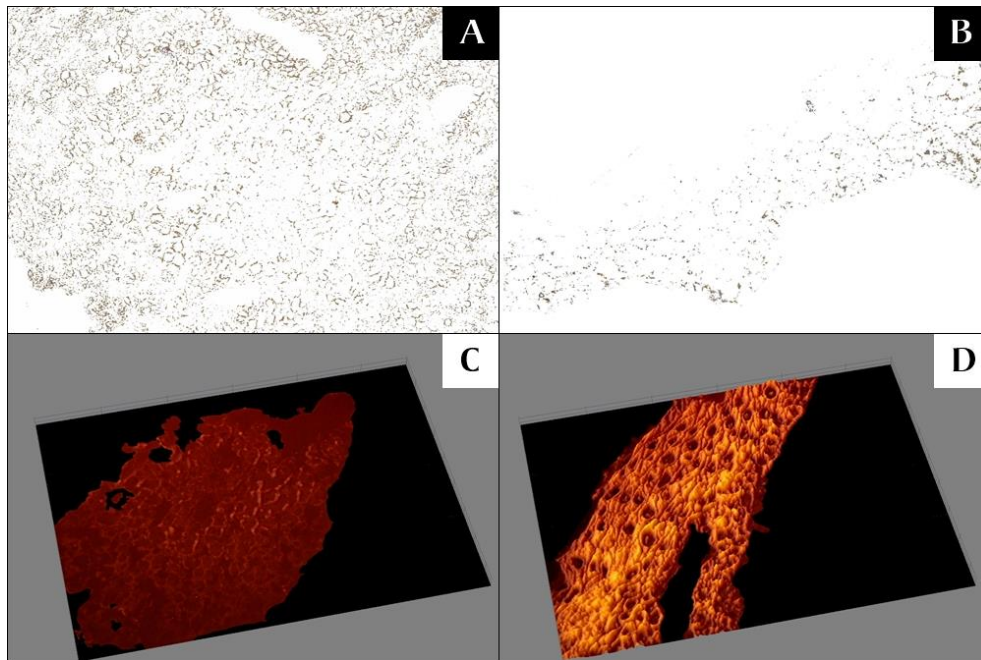
4.3.1.1 Wyniki ilościowej ekspresji *DSGs*

Ilościowa analiza intensywności fluorescencji (Ryc. 53-55, Tab. IV) wykazała, że ekspresja *DSG2* była istotnie wyższa w BCC ($p=0,0011$) oraz w nBCC ($p=0,0024$) niż w naskórku. W sBCC nie wykazano istotnych różnic w ekspresji *DSG2* względem naskórka ($p=0,0522$). Nie wykazano istotnych różnic w ekspresji *DSG3* względem naskórka w BCC ($p=0,3726$), nBCC ($p=0,4973$) oraz sBCC ($p=0,6387$), ani różnic w ekspresji *DSG3* pomiędzy oboma typami ($p=0,9545$). Wykazano istotną pozytywną korelację ekspresji *DSG2* i *DSG3* w zdrowym naskórku ($r=+0,509$; $p=0,0021$) (Ryc. 56) i BCC ($r=+0,3833$; $p=0,0259$) (Ryc. 57). Nie obserwowano korelacji ekspresji *DSG2* i *DSG3* w nBCC ($r=+0,2065$; $p=0,3428$) i sBCC ($r=+0,5454$; $p=0,0874$). Nie wykazano różnic w ekspresji *DSG2* ($p=0,9822$) i *DSG3* ($p=0,6447$) pomiędzy grupami kontrolnymi.

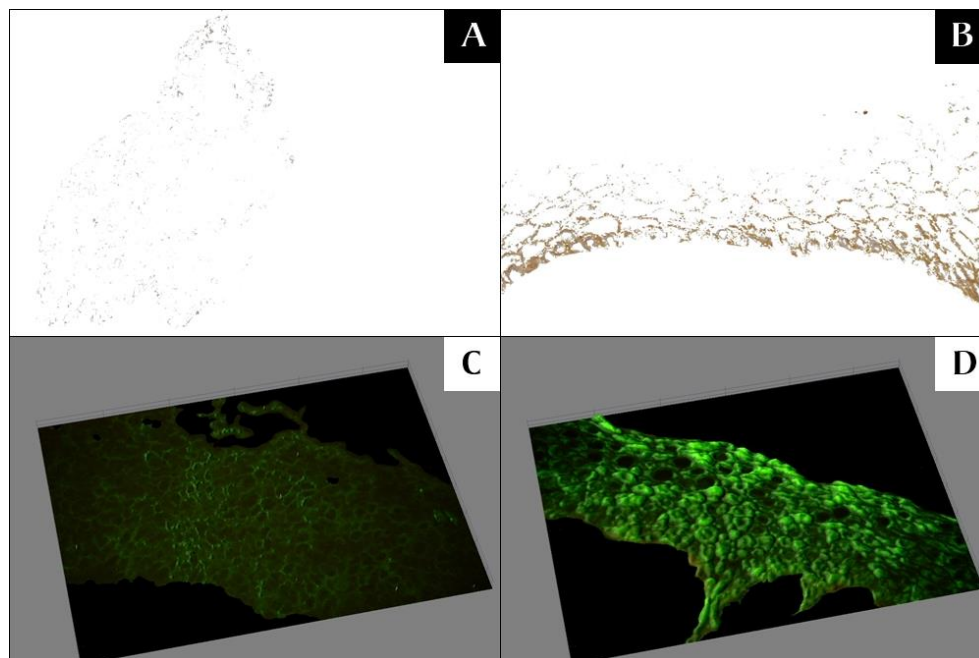
4.3.1.2 Wyniki jakościowej ekspresji *DSGs*

Świecenie *DSG2* mRNA obserwowane w komórkach warstwy podstawnej i środkowych warstw zdrowego naskórka miało charakter cytoplazmatyczny (Ryc. 58). Świecenie cytoplazmatyczne *DSG3* mRNA wykazano natomiast w środkowych i wyższych warstwach zdrowego naskórka (Ryc. 59).

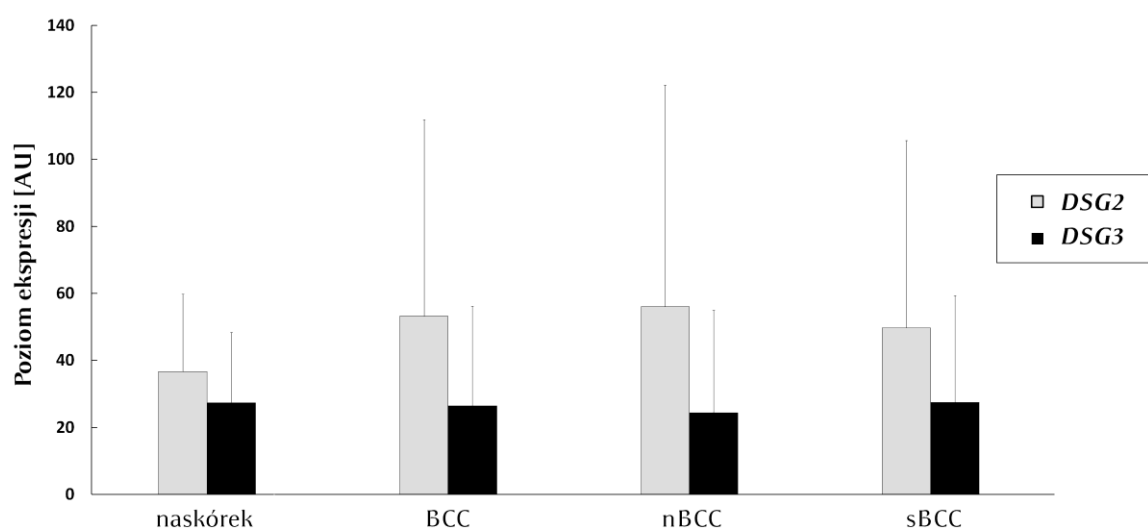
W nBCC obserwowano homogeny typ świecenia *DSG3*, które wydawało się bardziej nasilone w środkowych obszarach gniazd guza, a mniej w obrzeżu gniazd, natomiast margines guza w wielu przypadkach posiadał wyraźny liniowy kontur w barwieniu immunofluorescencyjnym 6-FAM (Ryc. 60). Tymczasem w sBCC świecenie *DSG3* było równomierne na całym przekroju guza, lecz umiejscawiało się bardziej na obwodzie komórek nowotworowych (Ryc. 61). W obu typach BCC ekspresja *DSG2* była wyższa na obwodzie gniazd niż w ich centrum (Ryc. 62), choć w niektórych przypadkach obserwowano również równomierne świecenie na całym przekroju sBCC (Ryc. 63).



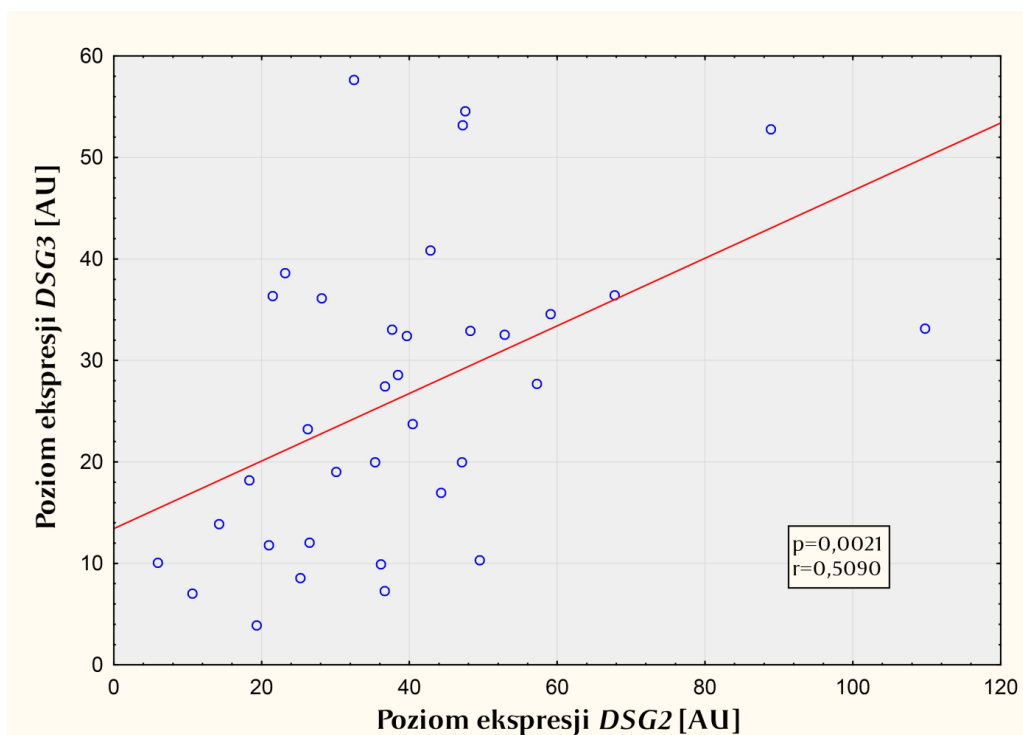
Ryc. 53 Ekspresja DSG2 na poziomie białka i mRNA w tkance BCC i zdrowym naskórku - obrazy przetworzone cyfrowo. Wizualizacja siły sygnału. Ekspresja DSG2 na poziomie białka w tkance BCC (IHC) (A). Ekspresja DSG2 na poziomie białka w zdrowym naskórku (IHC) (B). Ekspresja DSG2 na poziomie mRNA w tkance BCC. (FISH; 5-TAMRA) (C). Ekspresja DSG2 na poziomie mRNA w zdrowym naskórku (FISH; 5-TAMRA) (D). Analiza komputerowa obrazów immunohistochemicznych dzięki uprzejmości dr n. med. Celiny Helak-Łapaj. Wykorzystano w doniesieniu zjazdowym Dmochowski i wsp. 2013.



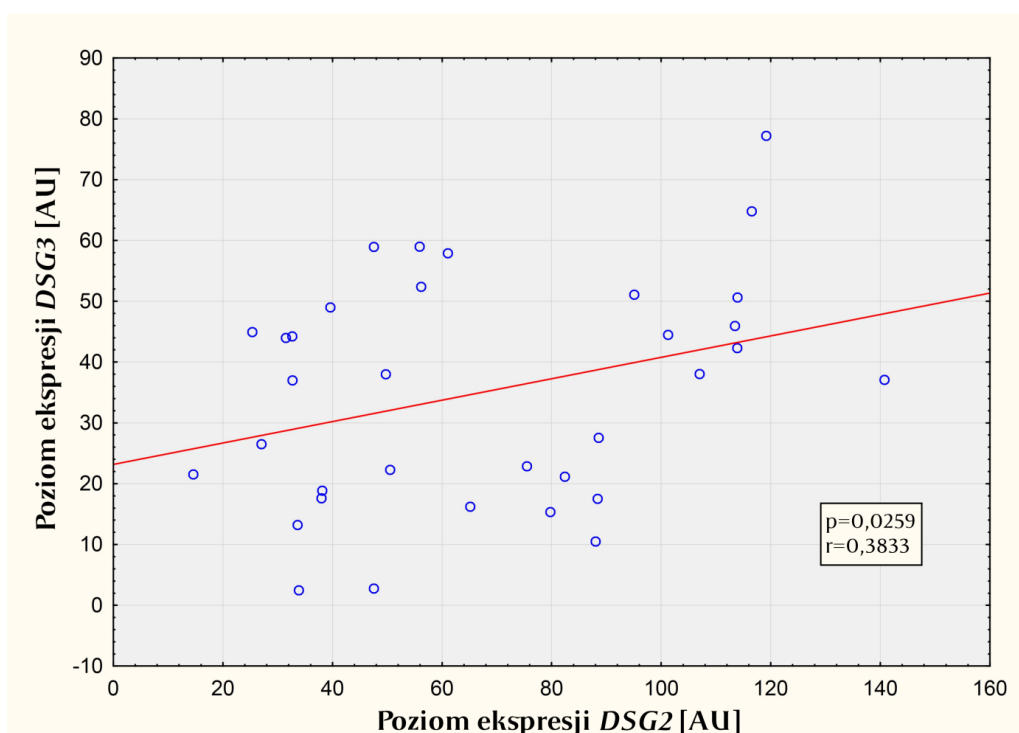
Ryc. 54 Ekspresja DSG3 na poziomie białka i mRNA w tkance BCC i zdrowym naskórku - obrazy przetworzone cyfrowo. Wizualizacja siły sygnału. Ekspresja DSG3 na poziomie białka w tkance BCC (IHC) (A). Ekspresja DSG3 na poziomie białka w zdrowym naskórku (IHC) (B). Ekspresja *DSG3* na poziomie mRNA w tkance BCC (FISH; 6-FAM) (C). Ekspresja *DSG3* na poziomie mRNA w zdrowym naskórku (FISH; 6-FAM) (D). Analiza komputerowa obrazów immunohistochemicznych dzięki uprzejmości dr n. med. Celiny Helak-Łapaj. Wykorzystano w doniesieniu zjazdowym Dmochowski i wsp. 2013.



Ryc. 55 Poziom ekspresji (mediana, rozstęp kwartyłowy) *DSG2* i *DSG3* na poziomie mRNA w zdrowym naskórku, BCC oraz jego postaciach nBCC i sBCC. Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014.



Ryc. 56 Istotna pozytywna korelacja ekspresji *DSG2* i *DSG3* na poziomie mRNA w zdrowym naskórku. Współczynnik korelacji rangowej Spearmana oceniający siłę zależności. Zaznaczono linię trendu. Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014.

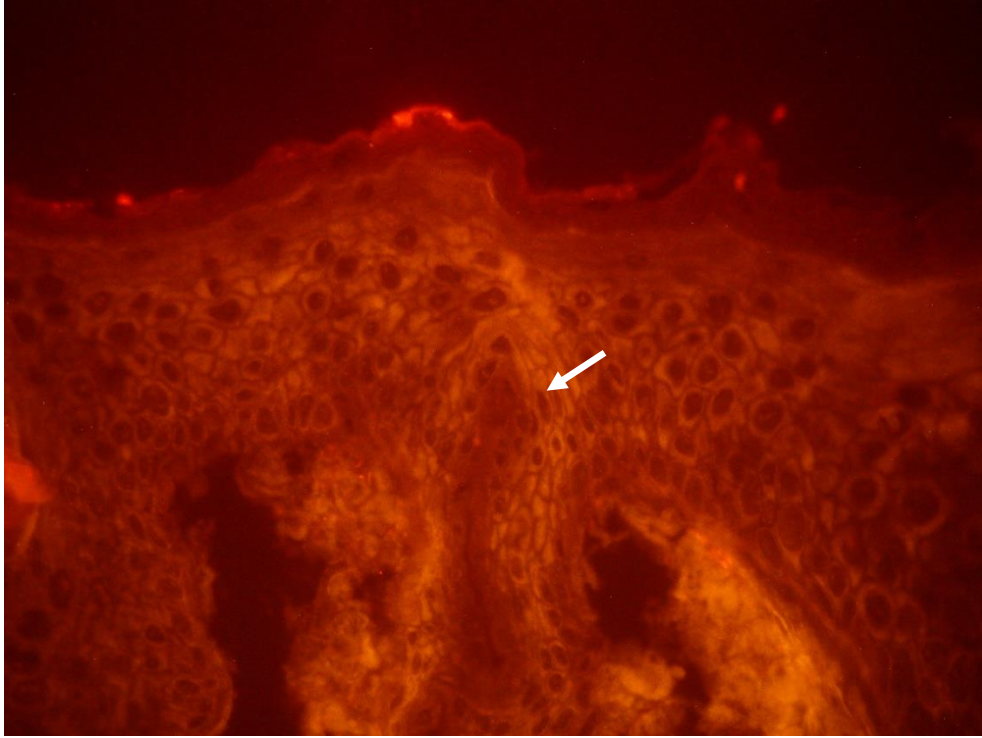


Ryc. 57 Istotna pozytywna korelacja ekspresji *DSG2* i *DSG3* na poziomie mRNA w BCC. Współczynnik korelacji rangowej Spearmana oceniający siłę zależności. Zaznaczono linię trendu. Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014.

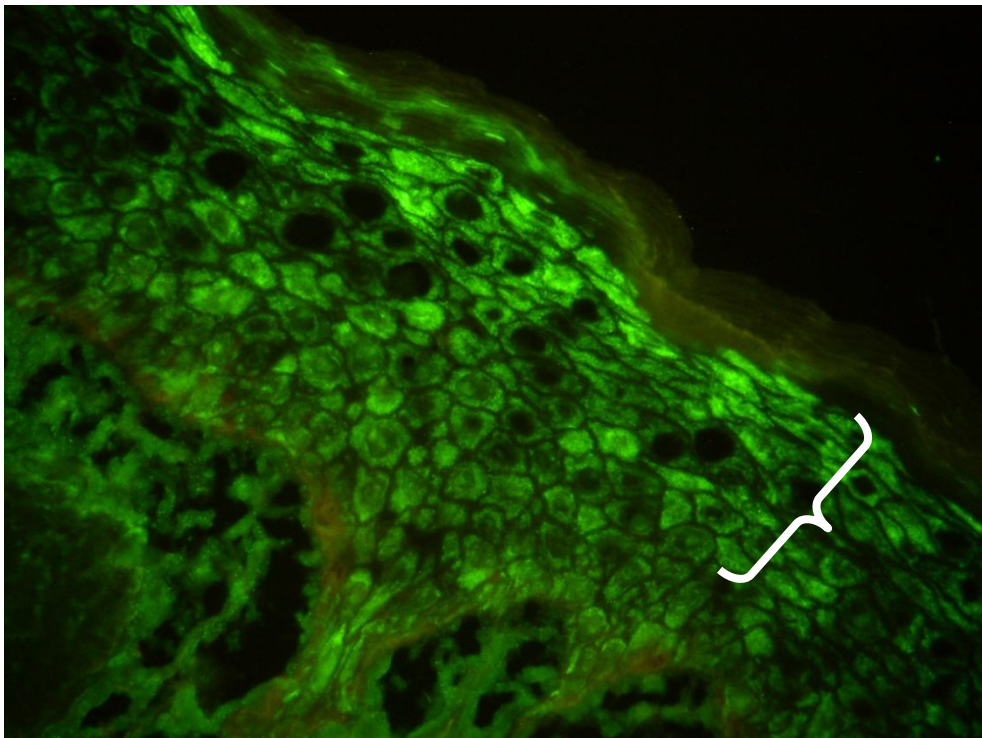
Tabela IV. Analiza statystyczna ekspresji DSG2 i DSG3 (FISH).

Badana grupa	Liczebność badanej grupy (n)	Ekspresja [AU]				Istotność statystyczna	
		DSG2		DSG3		Ekspresja DSG2	Ekspresja DSG3
		Mediana	IQR	Mediana	IQR		
naskórek	40	36,67	23,09	-	-	BCC vs. naskórek ^W	BCC vs. naskórek ^W
	49	-	-	27,34	21,08	p=0,0011*	p=0,3726
BCC	40	53,21	58,67	-	-	nBCC vs. sBCC ^{MW}	nBCC vs. sBCC ^{MW}
	47	-	-	26,50	29,70	p=0,6860	p=0,9545
nBCC	27	59,90	70,29	-	-	nBCC vs. naskórek ^W	nBCC vs. naskórek ^W
	32	-	-	24,40	30,58	p=0,0024*	p=0,4973
sBCC	13	49,72	55,90	-	-	sBCC vs. naskórek ^W	sBCC vs. naskórek ^W
	15	-	-	27,55	31,73	p=0,0522	p=0,6387

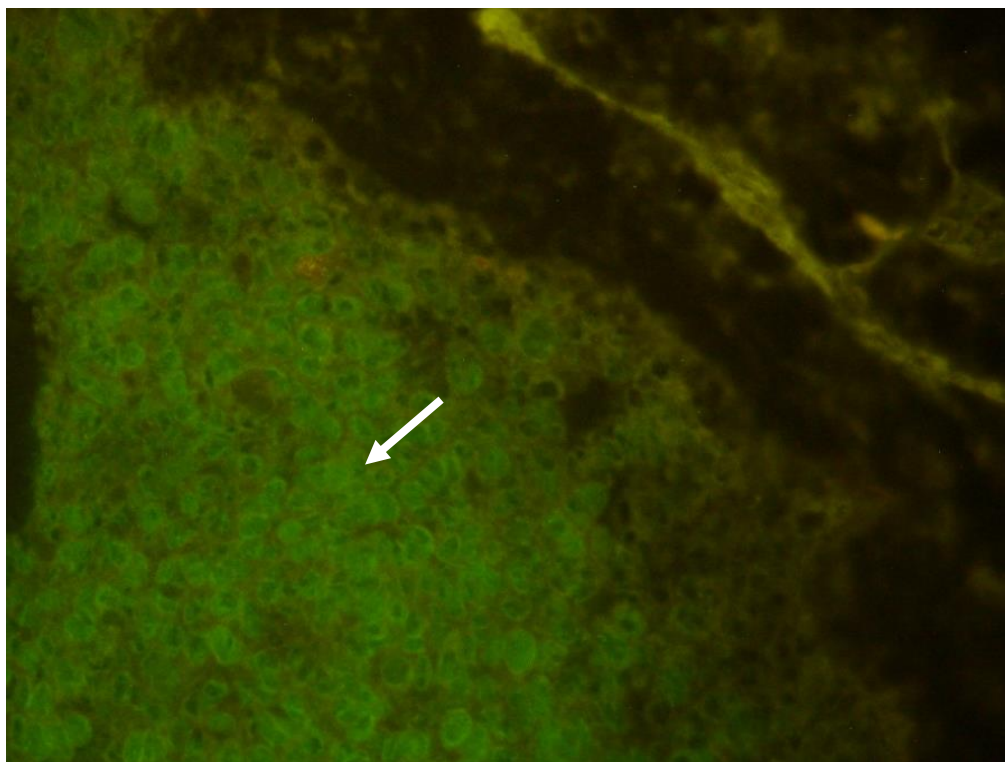
AU – jednostka arbitralna, (*arbitrary unit*), **BCC** – rak podstawonokomórkowy (*basal cell carcinoma*), **DSG2** – desmogleina 2 mRNA, **DSG3** – desmogleina 3 mRNA, **IQR** – rozstęp kwartylowy, **FISH** – badanie metodą immunofluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (*fluorescent in situ hybridization*), ^{MW} – test Manna-Whitneya, **nBCC** – typ guzkowy BCC (*BCC nodularis*), **sBCC** – typ powierzchniowy BCC (*BCC superficiale*); ^W – test Wilcoxona dla par obserwacji. Istotność statystyczną zależności oznaczono *
Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014.



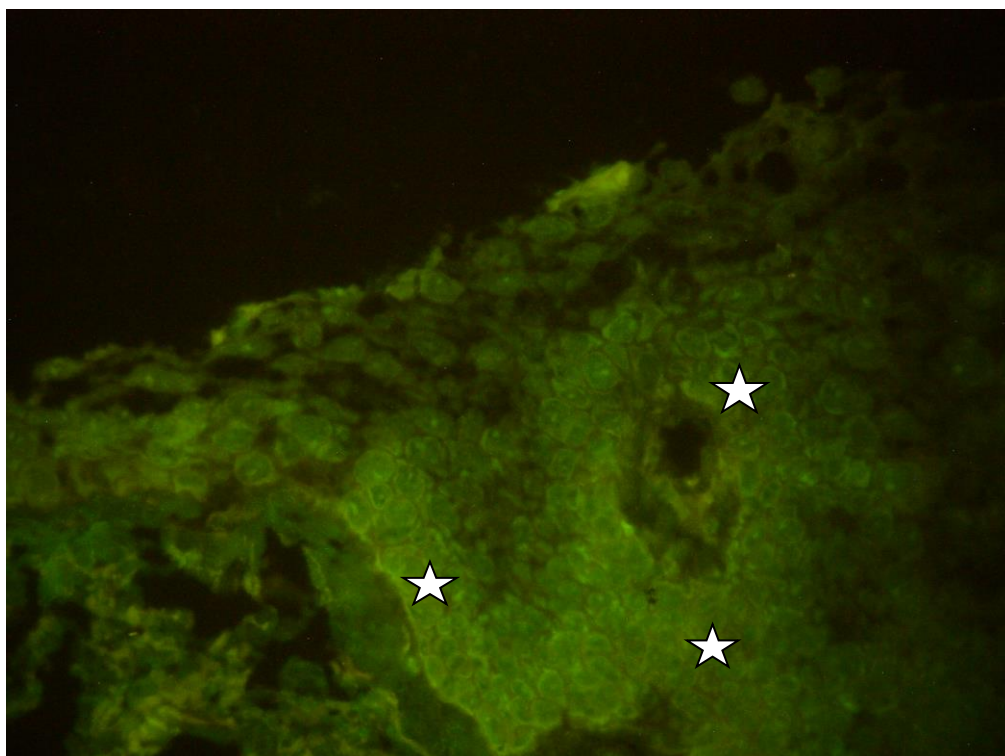
Ryc. 58 Ekspresja *DSG2* widoczna wyraźnie w warstwie podstawnej i środkowych warstwach zdrowego naskórka (strzałka). Cytoplazmatyczny typ świecenia. Powiększenie 600x, 5-TAMRA, FISH.



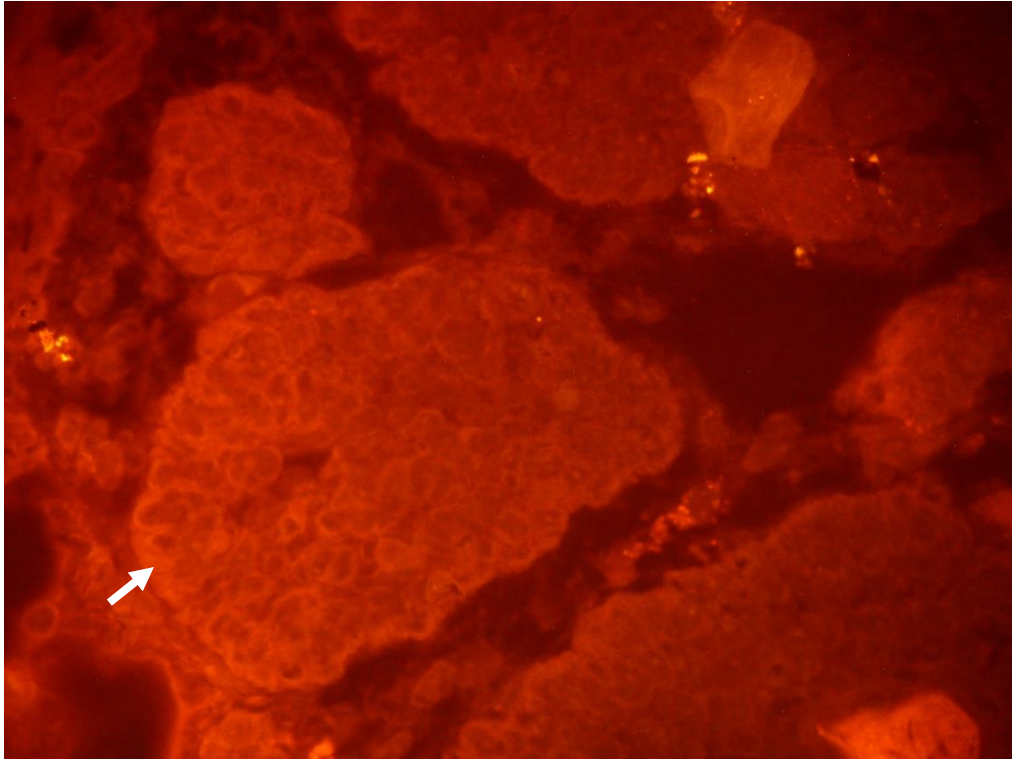
Ryc. 59 Przeważająco cytoplazmatyczna ekspresja *DSG3* widoczna w niektórych obszarach pośrednich i górnych warstw zdrowego naskórka (klamra). Powiększenie 600x, 6-FAM, FISH. Opublikowano w doniesieniu zjazdowym Dmochowski i wsp. 2013.



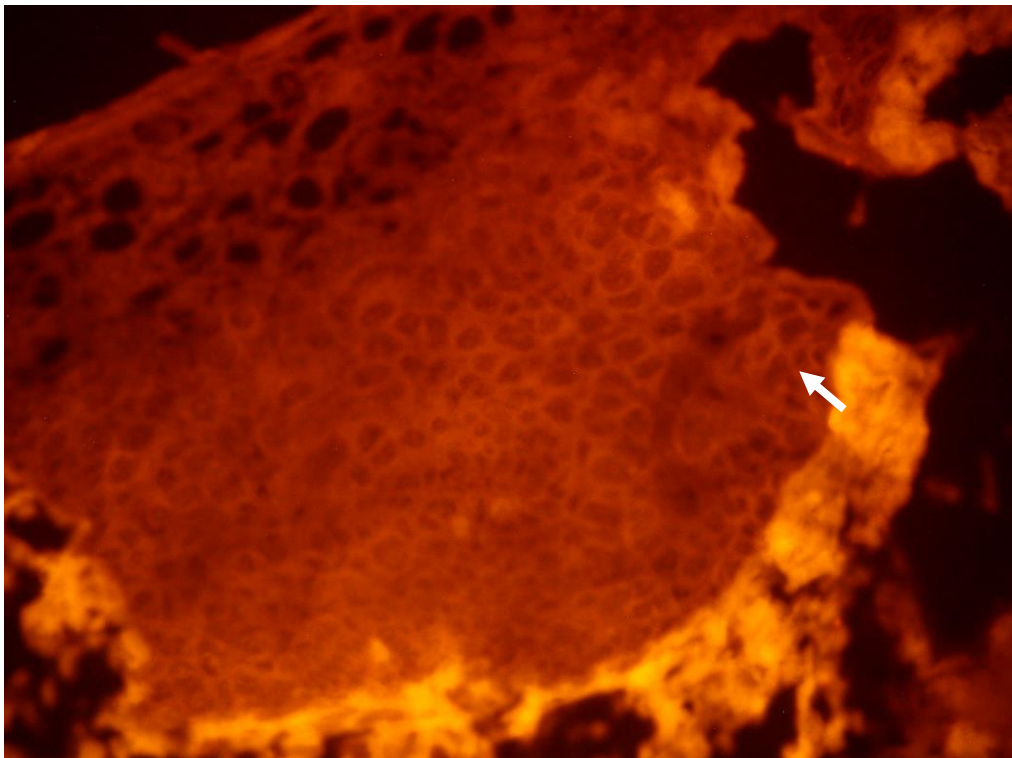
Ryc. 60 Komórkowa ekspresja *DSG3* o charakterze przeważająco homogennym, bardziej intensywna w centrum gniazda nBCC (strzałka). Powiększenie 600×, 6-FAM, FISH. Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014.



Ryc. 61 Komórkowa, przeważająco homogenna ekspresja *DSG3* w całej tkance sBCC (gwiazdy). Powiększenie 400×, 6-FAM, FISH.



Ryc. 62 Przeważająco cytoplazmatyczna ekspresja *DSG2* bardziej intensywna na obwodzie gniazda nBCC (strzałka). Powiększenie 600×, 5-TAMRA, FISH. Opublikowano w Pietkiewicz i wsp. 2014.



Ryc. 63 Przeważająco cytoplazmatyczna ekspresja *DSG2* widoczna w tym przypadku zarówno w centrum, jak i na obwodzie sBCC (strzałka). Zazwyczaj ekspresja *DSG2* występowała bardziej intensywnie na obwodzie gniazda tego typu BCC. Powiększenie 600×, 5-TAMRA, FISH.

5. DYSKUSJA

5.1 Analiza trendów zachorowań na BCC w ośrodku poznańskim

Określenie „nieczerniakowy nowotwór skóry” (*nonmelanoma skin cancer*, NMSC) używane w badaniach epidemiologicznych wydaje się terminem szkodliwym. Około 80% nowotworów z tej grupy stanowi BCC, zatem dane epidemiczne przypisane tej grupie pacjentów są trudne do interpretacji ze względu na odmienność etiologiczną, genetyczną, kliniczną i inne rokowanie SCC i BCC (Surdu 2014). Sformułowanie NMSC może być zwodnicze interpretacyjnie, sugerując mniejszą istotność medyczną BCC. Jednak świadomość skomplikowanej biologii guzów ze spektrum BCC nie pozwala na lekceważenie BCC, nawet w kontekście czerniaka. Z drugiej strony określenie „nowotwór głowy i szyi” (*head and neck cancer*, HNC), stosowany głównie w odniesieniu do SCC, również zasadniczo, zwłaszcza w kontekście skórnym, dotyczy BCC. Ze względu na nieprecyzyjność, wydaje się, że powinien być zastępowany bardziej precyzyjnymi wybiórczymi określeniami, dla przykładu - rak kolczystokomórkowy głowy i szyi (*head and neck SCC*, HNSCC).

BCC jest najczęstszym złośliwym nowotworem populacji pochodzenia europejskiego (Richmond-Sinclair i wsp. 2009). Pomimo braku jednolitego systemu raportowania nowotworów, w oparciu o dostępne dane, na całym świecie obserwuje się wzrost zapadalności na BCC (Lear i wsp. 1997; de Vries i wsp. 2004; Nasser 2005; Delfino i wsp. 2006; Roewert-Huber i wsp. 2007; Bath-Hextall i wsp. 2007; Riefenberger i wsp. 2011; Flohil i wsp. 2013; Demirseren i wsp. 2014). Postępowaniem z wyboru, w przypadku większości pacjentów jest usunięcie chirurgiczne nowotworu z marginesem zdrowej skóry (Riefenberger i wsp. 2011). Chociaż nowotwór ten w rzadkich przypadkach bywa śmiertelny, to biorąc pod uwagę zapadalność, wysokie ryzyko wznowy sięgające 26–67% (Farhi i wsp. 2007) i koszty związane z leczeniem poszczególnych pacjentów, generuje on znaczą część kosztów systemów opieki zdrowotnej.

Ostatnie zmiany przepisów zaproponowane przez ministra zdrowia i przyjęte przez Sejm RP (Dziennik Ustaw RP, 2014), dotyczące pakietu kolejkowego, szybkiej ścieżki diagnostyki i terapii pacjentów z podejrzeniem nowotworu (tzw. pakiet onkologiczny i zielona karta onkologiczna), mające w zamyśle skrócić czas oczekiwania na wizytę u specjalisty pacjenta chorującego na nowotwór złośliwy.

Tymczasem, w efekcie uzyskano wydłużenie drogi pacjenta z BCC do specjalisty dermatologa i wenerologa poprzez konieczność wystawienia skierowania przez lekarza rodzinnego od 1 stycznia 2015 (Dziennik Ustaw RP, 2014). Nowe przepisy są ponadto przyczyną wielu wątpliwości interpretacyjnych, mogących mieć wpływ na przeżywalność konkretnych pacjentów onkologicznych kosztem innych. Niejasne pozostaje, który pacjent ma pierwszeństwo w diagnostyce i leczeniu – ten będący już pod opieką onkologa, czy ten posiadający zieloną kartę? Ponadto wydaje się, że wymagania stawiane przez Ministerstwo Zdrowia lekarzom Podstawowej Opieki Zdrowotnej są niedostosowane do warunków logistycznych placówek (m.in. wiele nieinformatyzowanych dotychczas placówek; średnia wieku lekarza w Polsce powyżej 60 lat; nadmierne obciążenie lekarza sprawozdawczością; zmniejszająca się liczba lekarzy w Polsce) (Wróblewska 2015). Znaczna część kosztów diagnostyki (m.in. tomografii komputerowej, tomografii rezonansu magnetycznego, badań endoskopowych) została przerzucona na lekarzy rodzinnych, przy niemal niezmiennym ich finansowaniu. Ponadto, nowotwory złośliwe skóry, poza czerniakiem, którego leczenie pozostaje w Polsce w gestii onkologów, nie zostały uwzględnione ustawowo w wykazie nowotworów złośliwych, których podejrzenie upoważnia pacjenta do włączenia do programu szybkiej diagnostyki. W wielu przypadkach zdarza się, że pacjent z nowotworem skóry zgłasza się do specjalisty, kiedy nowotwór ma charakter drążący (zwany dawniej *ulcus rodens*, *ulcus terebrans*), zajmuje rozległy obszar lub nacieka już głębsze tkanki. Te wszystkie zmiany organizacji służby zdrowia mogą przyczynić się do zwiększonej umieralności m.in. na SCC (o znacznej przecież agresywności i tendencji do przerzutowania), raka z komórek Merkla oraz rzadkie przerzutowe postaci BCC, pomimo nawet wczesnego wykrycia, ze względu na wydłużony czas oczekiwania na konsultację onkologiczną, specjalistyczną diagnostykę i leczenie (Dziennik Ustaw RP, 2014; Kobańska 2015). Wydaje się również, że stopień zaawansowania nowotworu skóry u pacjenta, którego droga do specjalisty wydłuży się, mógłby wiązać się z koniecznością przeprowadzenia rozleglejszego zabiegu chirurgicznego.

5.1.1 Płeć

Pomimo danych literaturowych sugerujących znaczną przewagę przypadków BCC wśród mężczyzn (M/F ratio ca. 2,0), w badanej grupie proporcje rozkładały się

niemal po równo wśród obu płci (M/F ratio=1,03) (Czarnecki i wsp. 1992; Cho i wsp. 1999; Ceylan i wsp. 2003; Bath-Hextall i wsp. 2004; Neale i wsp. 2007; Raasch i wsp. 2006; Coups i wsp. 2008; Wu S. i wsp. 2013). Możliwe, że procentowy udział płci wynikał ze specyfiki ośrodka, gdzie już wcześniej, w badaniu na mniejszej grupie pacjentów z lat 1997-2002 obserwowano przewagę kobiet (Deja i wsp. 2004), podobnie jak w ośrodku łódzkim (Lesiak i wsp. 2010), czy w badaniu duńskim (Flohil i wsp. 2013), lecz nie ośrodku katowickim (Juszko-Piekut i wsp. 2013). BCC jest chorobą występującą preferencyjnie u osób starszych, a średnia długość życia kobiety w Wielkopolsce, wg danych GUS z lat 2012-2013, jest o prawie 8 lat wyższa niż średnia długość życia mężczyzny, co może tłumaczyć te dysproporcje (Sańko 2013). O ile w latach 2002-2005 wśród pacjentów z BCC, przeważali mężczyźni, to od 2007 roku obserwuje się wyraźny ogólny wzrost zachorowań na BCC, zwłaszcza wśród kobiet. W 2010 roku obserwowano około 2-krotny wzrost liczby BCC wśród obu płci w porównaniu do roku 2007. Wydaje się, że przynajmniej za część wzrostu odpowiadać może większa świadomość konieczności poszukiwania pomocy lekarskiej w przypadku obserwowania przez pacjenta podejranej zmiany oraz większa wykrywalność BCC wynikająca z lepszej organizacji opieki nad pacjentem. Ewolucja algorytmów leczniczych, od krioterapii, elektrokoagulacji czy laseroterapii do wycięcia chirurgicznego zmianą metodą klasyczną czy mikrochirurgii Mohsa, uregulowanie prawne konieczności wykonania badania histologicznego usuwanej chirurgicznie zmiany, koszt badania, jak i zmiany procedur zabiegów raportowanych do Narodowego Funduszu Zdrowia, z pewnością spowodowały, że część wielkopolskich dermatologów i wenerologów nie usuwała BCC samodzielnie, a kierowała pacjenta do Poradni Chirurgicznej lub stworzonej właśnie pod koniec poprzedniej dekady sekcji dermatochirurgicznej przyklinicznej Poradni Dermatologicznej, przekształconej w 2013 roku w Pracownię Dermatochirurgii Kliniki Dermatologii UMP. Rola promocji zachowań prozdrowotnych i edukacji, w oparciu o ocenę ich skuteczności w badaniu duńskim, prawdopodobnie jest znikoma (Flohil i wsp. 2013).

5.1.2 Średni wiek

Średni wiek u obu płci wynosił 68 lat (kobiety: 68 lat, mężczyźni: 69 lat), nie zmienił się od poprzedniego raportowanego okresu, i mieścił się w zakresie opisywanym jako szczyt zachorowalności, czyli 40-80 lat (Deja i wsp. 2004; Lesiak

i wsp. 2010; Chinem i wsp. 2011; Demirseren i wsp. 2014). Taki rozstęp wynika z faktu zauważonego przez zespół badaczy australijskich, że w strefie umiarkowanej, do której należy Polska, średni wiek pacjenta z BCC jest wyższy niż w pasie międzyzwrotnikowym, co ma wynikać z zależnej od szerokości geograficznej różnicy w narażeniu na promieniowanie UV (Czarnecki i wsp. 1992; Revenga Arranz i wsp. 2004; Gloster i wsp. 2006). Uznając BCC za chorobę osób starszych, można wysnuć wniosek, że hipotetycznie każdy człowiek żyjący odpowiednio długo zachorowałby na BCC, podobnie jak na pemfigoid pęcherzowy (Dmochowski i wsp. 2014b).

5.1.3 Odległość miejsca zameldowania od ośrodka poznańskiego

Odległość jaką pacjenci musieli pokonać do ośrodka poznańskiego była dla obu płci zbliżona i wynosiła około 35km. Z obserwacji wykresu odległości miejsca zameldowania pacjenta od ośrodka poznańskiego wynika, że z kolejnymi latami ośrodek obejmuje opieką więcej pacjentów z coraz dalej położonych miejscowości. Wiek pacjenta i prawdopodobnie pośrednio z nim związany stan zdrowotny pacjenta mogą być ważnymi czynnikami, które ograniczają możliwości dotarcia do ośrodka. Jest to zagadnienie szczególnie ważne w kontekście dużej zapadalności na BCC u osób w wieku podeszłym i zjawiska starzenia się społeczeństwa. Istnieje wiele czynników, które mogą powodować, że pacjent z BCC nie decyduje się na usunięcie nowotworu. Pierwszy z nich, to nieświadomość choroby – BCC rozwija się przez wiele lat i może być przez osobę starszą przeoczony lub zignorowany. Jeśli już pojawią się objawy, czy to w postaci krwawienia, czy w postaci zniekształcającego nacieku nowotworowego, pacjent może je lekceważyć i nie szukać pomocy. Wyróżnia się postać „BCC z zaprzeczenia”, gdzie pacjenci zgłaszają się do lekarza bardzo późno, z zaawansowanymi zmianami nowotworowymi, pod wpływem presji ze strony członków rodziny (Jaworek i wsp. 2012). Nowotwory wraz z chorobami układu sercowo-naczyniowego są dwiema wiodącymi przyczynami umieralności wg danych WHO i Eurostatu (WHO 2014; Eurostat 2014). Wypieranie choroby, również w przypadku starszego pacjenta, jest sposobem obrony przed złą informacją (Vos i wsp. 2007; Zaghi i wsp. 2014). Inną przyczyną dla której starszy pacjent nie będzie poszukiwał pomocy jest zwiększona zapadalność w tej grupie na zespoły otępienne. Taki pacjent, by być zdiagnozowany i leczony, będzie wymagał pomocy rodziny lub asystenta, który będzie go potrafił zmotywować do leczenia i będzie mu towarzyszył

w drodze do ośrodka zdrowia. W 2004 roku otwarto dla Polaków rynek pracy w Unii Europejskiej (UE), a wielu Polaków w wieku produkcyjnym wyjechało w celach zarobkowych, pozostawiając starszych krewnych w kraju (Rządowa Rada Ludnościowa 2012). Starszy, niesamodzielny pacjent, pozbawiony opieki i mający trudności z zajmującym nieraz cały dzień dojazdem z miejsca zamieszkania do szpitala, nie zdecyduje się na diagnostykę czy leczenie BCC. Prawdopodobnie to właśnie otwarcie europejskiego rynku pracy odpowiada za wyraźny spadek liczby BCC w latach 2005-2008. Wraz z wydłużeniem średniej długości życia w społeczeństwie, wydaje się, że problemy związane z diagnostyką i leczeniem nowotworów złośliwych będą stopniowo narastały (Wojciechowska i wsp. 2013).

5.1.4 Typy BCC

Najczęstszymi typami BCC obserwowanymi w badanych latach były kolejno nBCC i sBCC. Chociaż w dużym pojedynczym badaniu francuskim obserwowano przewagę sBCC nad nBCC (Bernard i wsp. 2008), to wydaje się, że wynikało to raczej z konstrukcji metodyki badawczej, a notowane przez innych badaczy odsetki były zbliżone do uzyskanych przez autora (Bastiaens i wsp. 1998; Scrivener i wsp. 2002; Deja i wsp. 2004; Lesiak i wsp. 2010; Ferreira i wsp. 2013; Juszko-Piekut i wsp. 2013). Na podstawie wykresu oceniającego częstość zachorowania na dany typ w kolejnych latach widać ponad dwukrotny wzrost zapadalności na sBCC w drugiej połowie badanego okresu względem pierwszej. Jest prawdopodobne, że może być to związane ze zmianą strategii terapeutycznej i kierowaniem pacjentów z rejonu do chirurgicznego usunięcia zmiany w zgodzie efektywnością kosztową i nowymi regulacjami prawnymi, związanymi z rozliczeniami z Narodowym Funduszem Zdrowia. Fakt, że we wszystkich badanych typach BCC, poza BCC *cicatriscans* obserwowano przewagę mężczyzn może wynikać z rolniczego charakteru Wielkopolski. Hipotetycznie w tej grupie przewaga płci męskiej może być efektem większej ekspozycji na UV związanej z pracami rolnymi.

5.1.5 Lokalizacja BCC

BCC najczęściej lokalizował się w obrębie nieowłosionej skóry głowy, następnie kolejno – tułowia, kończyny górnej, owłosionej skóry głowy, kończyny dolnej i szyi. Zmiany o nieustalonej lokalizacji liczyły poniżej 2% ogółu BCC i wydaje się, że liczba tych przypadków w kolejnych latach malała, w związku

z coraz większą dbałością o dokumentację związaną m.in. ze staraniami o uzyskanie certyfikatu jakości PN-EN ISO 9000:2009 (TÜV Rheinland) przez Szpital Kliniczny im. Heliodora Świącickiego w Poznaniu. Zauważalny jest trend zwiększonej częstości występowania zmian w obrębie tułowia i zmniejszonej w obrębie głowy w kolejnych raportowanych okresach (Bastiaens i wsp. 1998; Scrivener i wsp. 2002; Deja i wsp. 2004; Ferreira i wsp. 2013). Wydaje się prawdopodobne, że za to zjawisko mogą odpowiadać zmiany obyczajowe (w tym moda), zmiany w sposobie spędzania wolnego czasu i większa dbałość o wizerunek, którego elementem jest zadbana twarz, a więc potencjalnie większa powszechność stosowania ochrony przeciwsłonecznej w tej najczęstszej dla BCC lokalizacji. Wydaje się ponadto, że może istnieć pewien wzorzec występowania BCC związany z dziedziczeniem rodzinnym, co sygnalizuje pojedyncze doniesienie opisujące rodzinną skłonność do występowania BCC w tej samej lokalizacji w trzech kolejnych pokoleniach (Stoner i wsp. 2012). Najczęstszą lokalizacją w obrębie nieowłosionej skóry głowy (blisko 30% przypadków) był nos, następnie policzek, okolice skroniowa i czołowa, przeduszna/małżowinowa, oczodołowa, okołoustna itd. Obserwacje te nie odbiegają od wcześniej opisywanych i sugeruje się, że mogą mieć bezpośredni związek z narażeniem określonych okolic na UV (Cho i wsp. 1999; Tiftikcioğlu i wsp. 2006; Seretis i wsp. 2010; Janjua i wsp. 2012; Demirseren i wsp. 2014).

BCC *cicatrisans* był trzecim pod względem częstości nowotworem w obrębie głowy, a w pozostałych lokalizacjach trzecie miejsce zajmowały typy mozaikowe. W innym opracowaniu donoszono, że typy mozaikowe występują istotnie częściej w obrębie głowy (Ghanadan i wsp. 2014), przypuszczalnie w wyniku sukcesywnych mutacji genowych związanych z UV. W badaniu prowadzonym w tutejszym ośrodku w latach 1997-2002, jak i badaniu z ośrodka łódzkiego, nie wykazywano istotnych zależności pomiędzy typem histologicznym BCC, a wiekiem badanych pacjentów (Deja i wsp. 2004; Lesiak i wsp. 2010). Przypuszczalnie mogło to wynikać z małej liczby pacjentów objętej badaniami. W obecnym badaniu taką zależność obserwowano dla sBCC, na który pacjenci zapadali w istotnie młodszym wieku niż na nBCC, BCC *cicatrisans* czy inne rzadkie formy BCC, co jest zgodne z obserwacjami francuskiej grupy badaczy (Scrivener i wsp. 2002). W świetle tych wyników nie jest zaskakujące, że zauważono istotnie młodszy wiek pacjentów, u których BCC występował w obrębie tułowia (najczęstszej lokalizacji sBCC) wobec wieku pacjentów z BCC owłosionej i nieowłosionej skóry głowy (najczęstszych

lokalizacji nBCC), ale i istotnie młodszy wiek pacjentów z BCC w obrębie kończyny dolnej wobec wieku pacjentów z BCC głowy owłosionej. Proporcje nBCC i sBCC różniły się znacząco w dwóch grupach wiekowych od rozkładu w pozostałych grupach, gdzie proporcja sBCC/nBCC wyniosła 0,72. Wśród pięćdziesięciolatków odnotowano zbliżoną liczbę obu typów (sBCC/nBCC=0,97), natomiast wśród osiemdziesięciolatków znacząco spadł odsetek sBCC względem nBCC (sBCC/nBCC=0,46), co wynika zapewne z wcześniejszej manifestacji sBCC, a późniejszej nBCC. Związek istotnie młodszego wieku pacjentów z sBCC wobec innych typów BCC był już wcześniej obserwowany, choć wskazywano na istnienie wyraźniejszej tendencji wśród kobiet (McCormack i wsp. 1997; Raasch i wsp. 2006). W badanym materiale wykazano większą częstość zachorowań na BCC *cicatrisans* wśród kobiet. Nie jest wykluczone, że fakt ten może być związany z udziałem mechanizmów zależnych od estrogenów (Rogers i wsp. 1988) lub męskich hormonów płciowych. Wydaje się, że nowotworzenie zależne od estrogenów w BCC mogłoby zależeć od zaburzeń proporcji ekspresji receptorów estrogenowych (ER α /ER β), a kluczową rolę w tym procesie miałyby odgrywać cyklina D1 (Mancuso i wsp. 2009). Zaobserwowano wzrostowy trend występowania zachorowań na BCC we wszystkich badanych okolicach, poza nieowłosioną skórą głowy, gdzie notowano istotny spadek. Podobne dane dotyczące lat 1973-2009 przedstawił zespół duński, wykazując postępujący wzrost udziału BCC tułowia u obu płci oraz wzrost udziału BCC kończyn dolnych u kobiet wśród wszystkich odnotowywanych przypadków BCC (Flohil i wsp. 2013). Możliwe, że świadomość społeczna związku opalania z czerniakiem oraz udarem cieplnym spowodowała, chociaż częściową zmianę nawyków – tj. stosowania kremów z filtrem UV oraz nakrycia głowy zarówno u dzieci, jak i dorosłych w okresie letnim. Hipotetycznie, trend spadkowy odsetków nBCC, BCC *adenoides*, BCC *cicatrisans* i trend wzrostowy odsetków sBCC i BCC typu mozaikowego może się wiązać z większym znaczeniem zwiększonej aktywności na powietrzu czy ewolucją ubioru. Analizowana dokumentacja medyczna nie pozwoliła na określenie roli tych czynników. Rola sztucznych źródeł światła UV w kontekście tych wyników i długiego rozwoju BCC wydaje się wciąż mało istotna z racji względnie niedawnego pojawienia się tych urządzeń Polsce po okresie transformacji ustrojowej.

5.1.6 Wielkość ośrodka zameldowania

Nie obserwowano istotnych różnic w zakresie udziału obu płci w zależności od wielkości populacji miejsca zamieszkania. Wydaje się, że większy odsetek mężczyzn w ośrodkach powyżej 50 tys. mieszkańców wynika z większej łatwości dostępu do lekarza potrafiącego zdiagnozować BCC i przekazać pacjenta do ośrodka poznańskiego, ale także większej świadomości czym jest nowotwór i jakie mogą być konsekwencje braku leczenia. Większy odsetek kobiet wśród pacjentów zameldowanych w ośrodkach poniżej 10tys. mieszkańców może wynikać z odmiennych dla obu płci priorytetów. Wydaje się, że w miejscowościach rolniczych wciąż aktualne mogą być postawy mieszkańców związane z większym znaczeniem wartości materialnych niż zdrowia członków rodziny, profilaktyki zdrowotnej czy edukacji, co może skutkować brakiem, opóźnieniem lub niechęcią do kontaktu z lekarzem (Wachowiak 1999). Istotną rolę w unikaniu kontaktu z lekarzem może potencjalnie odgrywać również obawa przed ujawnieniem choroby w nieanonimowym środowisku wiejskim, która mogłaby być przyczyną wstydu i rodzić ostracyzm sąsiedzki. Z drugiej strony, w Wielkopolsce jako regionie rolniczym, kobiety są zaangażowane w prace rolne, zatem można przypuszczać, że otrzymują wyższą dawkę kumulacyjną promieniowania UV niż kobiety żyjące w mieście, co może wpływać na zwiększoną zapadalność na BCC wśród tej płci w małych miejscowościach.

5.2 Rola fizjologiczna i patologiczna DSGs w nowotworach

Rozwój nowotworu jest złożonym i wieloetapowym procesem, w który zaangażowane są białka połączeń międzykomórkowych i składniki połączenia skórno-naskórkowego, mogące odgrywać kluczową rolę w procesie przerzutowania i naciekania (Tselepis i wsp. 1998; Pietkiewicz i wsp. 2013b). W świetle danych sugerujących, że 90% nowotworów człowieka ma pochodzenie nabłonkowe, wydaje się, że utrata/modulowanie połączeń międzykomórkowych i składowych połączenia skórno-naskórkowego jest pierwszą barierą jaką pokonać musi nowotwór aby posiadać zdolność do naciekania tkanek (Pietkiewicz i wsp. 2013b). Poznanie mechanizmów związanych z DC rządzących przemianą nowotworową wydaje się warunkiem koniecznym dla skutecznej diagnostyki i tworzenia strategii leczniczych nowotworów pochodzenia nabłonkowego. Zmiany struktury, rozmieszczenia i funkcji połączeń międzykomórkowych, w tym desmosomów, mają

związek z nowotworzeniem oraz zdolnością nowotworu do naciekania i przerzutowania (Teh i wsp. 2011), jednak dane dotyczące roli tych struktur w samym rozwoju nowotworów są dość skąpe. Wydaje się, że sama utrata połączeń desmosomalnych nie powoduje jeszcze zaburzonego różnicowania komórki w komórkę nowotworową, a przemiana nowotworowa wynika raczej ze swoistych zmian spowodowanych całkowitym brakiem desmosomów (Beaudry i wsp. 2010).

Donoszono, że 61% pacjentów z rozpoznaniem SCC głowy i szyi wykazuje podwyższoną ekspresję DSG3 w tkankach nowotworowych w porównaniu do zdrowych tkanek (Chen Y.J. i wsp. 2007). Obserwacje ekspresji DSG3 w SCC przełyku potwierdziły związek zwiększonej jej ekspresji ze stopniem dojrzałości komórek nowotworowych, agresywnością guza, ale i obecnością przerzutów węzłowych (Fang i wsp. 2014). Zauważono, że podwyższona ekspresja DSG3 w cytoplazmie wiązała się z istotnie gorszym rokowaniem (Fang i wsp. 2014). W SCC odbytu sugerowano, że obecność DSG1 w błonach komórkowych guza jest związana z znacząco krótszym czasem przeżycia chorych (Myklebust i wsp. 2012). Zespół badaczy chińskich oceniający ekspresję poszczególnych DSGs w SCC jamy ustnej wskazywał na jej obniżenie i przesunięcie białek z puli desmosomalne do cytoplazmatycznej w odniesieniu do DSG1 i DSG3 (Xin i wsp. 2014). Ten sam zespół obserwował zwiększoną ekspresję DSG2 w cytoplazmie komórek na obwodzie nowotworu (Xin i wsp. 2014). W SCC jamy ustnej wskazywano na znaczący związek obniżenia ekspresji DSG3 z agresywnością guza – jego niskim zróżnicowaniem, cechami histologicznymi inwazyjności i większym ryzykiem przerzutów węzłowych (Xin i wsp. 2014). Ocena ekspresji *DSG3* i *DSG2* na poziomie mRNA w SCC jamy ustnej wykazała, że jedynie podwyższona ekspresja *DSG3* względem zdrowego nabłonka wiąże się z agresywnością (grading), natomiast ekspresja *DSG2* nie koreluje z żadną cechą kliniczno-histologiczną nowotworu (Brown i wsp. 2014). Podobnie, podwyższoną ekspresję *DSG3* mRNA wykazywano w SCC płuca, lecz niską w gruczolakoraku (Savci-Heijink i wsp. 2009). Analogiczne wyniki – tj. podwyższoną ekspresję *DSG3* w badaniu IHC zespół obserwował w SCC płuca, a jej brak w rakach drobnokomórkowym i olbrzymiokomórkowym płuca, rakowiaku i śródbłoniaku (Savci-Heijink i wsp. 2009). W przypadku raka płuca wykazywano ponadto, że brak ekspresji *DSG3* wiąże się z niekorzystnym rokowaniem niezależnie od typu histologicznego nowotworu (Fukuoka i wsp. 2007; Trivedi i wsp. 2013). Znany jest związek

obniżenia ekspresji lub mutacji czynnościowej genu E-kadheryny dla unieczynnienia połączeń przylegania i uzyskiwania zdolności do migracji przez komórki nowotworowe (Vasioukhin 2012; Vlad-Fiegen i wsp. 2012). Doświadczenie prowadzone przez zespół (Baron i wsp. 2012) wykazało, że komórki naskórka myszy *Dsg3*^{-/-} wykazują zaburzenia przylegania *in vitro*, ale i zaburzony wzrost SCC we wszczepie allogenicznym, co wskazuje na możliwość udziału *Dsg3* w rozwoju tkanki rakowej. Na modelu mysim SCC wywołanego przez przewlekłe napromienianie UVB nie wykazano zaburzeń apoptozy pod wpływem tego promieniowania, ani różnic w rozwoju nowotworu wobec grupy kontrolnej (Baron i wsp. 2012). Na udział *Dsg3* w mechanizmach nie związanych bezpośrednio z demosomem wskazywały obserwacje współwystępowania obniżenia jej ekspresji z zaburzeniami ekspresji E-kadheryny i obniżeniem aktywności ścieżki sygnałowej p-Src w komórkach warstwy podstawnej naskórka z okolicy pęcherza w PV (Tsang i wsp. 2010, 2012). Analogicznie, nadekspresja *DSG3* powodowała powstanie komórek fenotypowo zbliżonych do tych, ze zwiększoną aktywnością ścieżki sygnałowej Src, które występują w SCC, co miałoby być dowodem na kluczową rolę *DSG3* w tej ścieżce (Tsang i wsp. 2010; Pietkiewicz i wsp. 2013b). W tym kontekście interesujące wyniki ekspresji przedstawił chiński zespół badaczy zajmujących się brodawczakiem odwróconym (*papilloma inversum*) (Huang i wsp. 2010). Ten częsty guz jam nosa i zatok przynosowych, traktowany jako stan przednowotworowy, oraz rozwijający się w nim SCC wykazywały podwyższoną ekspresję *DSG3* (Kotulska-Kliś i wsp. 2009; Huang i wsp. 2010). Istnieją doniesienia wskazujące, że *DSG3* jest czynnościowo onkogenem i ułatwia wzrost guza poprzez wpływ na ścieżkę *DSG3*-plakoglobina-TCF/LEF (Chen Y.J. i wsp. 2013). Zespół badaczy badający konsekwencje knock-outu genu *DSG3* w komórkach SCC *in vitro* i komórkach wszczepu ksenogenicznego SCC obserwował przesunięcie plakoglobiny z cytoplazmy do jądra komórkowego oraz istotną jej interakcję z czynnikiem transkrypcyjnym TCF, a w efekcie wygaszenie aktywności ścieżki TCF/LEF i obniżenie ekspresji kontrolowanych przez nią genów (w tym *c-Myc*, *CCND1* [genu cykliny D1] i *MMP-7*), co wiązało się z ograniczeniem wzrostu komórek, zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie G₀/G₁, zmniejszeniem potencjału naciekania i przemieszczania się komórek (Chen Y.J. i wsp. 2013). Tym bardziej zastanawiające są wyniki badania ekspresji *DSG3* w SCC jamy ustnej, w którym wykazano istotne obniżenie ekspresji *DSG3* w tkance raka wobec

zdrowego nabłonka (Wang L. i wsp. 2007; Xin i wsp. 2014). Ezryna jest białkiem z rodziny ERM (ezryna-radyksyna-moezyna), łączącym mikrofilamenty aktynowe z białkami błony komórkowej i zaangażowanym w procesy przylegania międzykomórkowego, regulację cyklu życiowego, migrację komórek i przekazywanie sygnałów (Zeng i wsp. 2006). Sugerowano, że DSG3 miałyby ułatwiać migrację komórek SCC przełyku w mechanizmie fosforylacji ezryny mediowanej przez kinazę białkową C (*protein kinase C*, PKC) oraz w skutek regulacji czynności protoonkogenu *c-Jun/AP-1* (*activator protein*, białko aktywujące 1), który jest regulatorem apoptozy poprzez ścieżkę sygnałową N-końcowych kinaz *Jun* (*Jun N-terminal kinases*, JNK) (Brown i wsp. 2014; Kitagawa i wsp. 2014; Schumacher i wsp. 2014). Warto zauważyć, że w tym nowotworze ekspresja DSG1 i DSG2 nie zmieniają się, ale białka te w postaci niezwiązanej z desmosomami koncentrują się w cytoplazmie i okolicy jądra komórkowego (Brennan i wsp. 2009). Dotychczas nie wyjaśniono jaka może być rola DSGs w określonych kompartmentach. *Brennan i wsp.* wykazywali, że *Dsg2* posiada sekwencję, z którą łączy się kaweolina 1 (*caveolin-1*, *Cav-1*), główne białko kaweoli – wyspecjalizowanych mikrowgłębieni błony komórkowej, które uczestniczą w procesie rotacji składu białek błonowych oraz przekazywaniu sygnałów pomiędzy komórkami (Krajewska i wsp. 2004; Brennan i wsp. 2012). W badaniu *in vitro* wiązanie to, warunkowało funkcjonalność *Dsg2* dla adhezji komórek nabłonka. Ten sam zespół badaczy zaobserwował, że *Dsg2* jest enzymatycznie trawiona na 2 fragmenty – ektodomenę 95kDa i przezbłonowy fragment 65kDa, który wraz z *Dsg2* pełnej długości umiejscowiony jest w tzw. tratwach lipidowych (raftach lipidowych, *lipid rafts*) błony komórkowej (Kordowiak i wsp. 2011; Brennan i wsp. 2012). W wyniku zaburzeń struktury tratw lipidowych, dochodziło do przesunięcia *Dsg2* do frakcji niezwiązanej z tratwami i akumulacji tego białka (Brennan i wsp. 2012). Co ciekawe, na modelu *in vivo* transgenicznej myszy z nadekspresją *Dsg2* komórki nowotworów skóry wykazywały podwyższone stężenie produktów proteolizy *Dsg2*, co może wskazywać na wpływ produktów jej rozpadu na organizowanie się i/lub utrzymywanie struktury desmosomów (Brennan i wsp. 2012). Co więcej, związek *Dsg2* z *Cav-1* może sugerować istnienie mechanizmu regulacji sygnałów promitotycznych i modulacji ekspresji cząstek adhezyjnych istotnych dla przemiany nowotworowej i zachowania nowotworu (Brennan i wsp. 2012). Podobny obraz

koncentracji DSG2 jak w SCC przełyku obserwowano w raku żołądka (zwłaszcza typu rozlanego, o charakterze *linitis plastica*), gdzie donoszono o związku obniżonej ekspresji DSG2 z niską dojrzałością komórek rakowych, obrazem klinicznym guza i gorszym rokowaniem nowotworu (Biedermann K. i wsp. 2005; Yashiro i wsp. 2006). Związek obrazu klinicznego i gorszego rokowania z obniżoną ekspresją DSG2 potwierdzono również w przypadku raka prostaty (Barber i wsp. 2014). Badacze oceniający ekspresję DSG2 w czerniaku złośliwym podkreślali, że jest ona obecna na powierzchni błony komórkowej kilku linii nowotworu w formie niezwiązanej z połączeniem międzykomórkowym (Schmitt i wsp. 2007). Dowodzą, że w czerniaku złośliwym DSG2 wydaje się być supresorem migracji, a obniżenie jej ekspresji na poziomie mRNA, wiąże się z nasileniem ekspresji genów związanych z migracją (m.in. genu kodującego sekretograninę II) (Peitsch i wsp. 2014). W raku jelita wykazywano zwiększoną ekspresję DSG2 względem zdrowego nabłonka (Kamekura i wsp. 2014), chociaż dowodzą, że obniżenie jej ekspresji w zdrowym nabłonku zmniejsza wrażliwość komórek nabłonka na apoptozę (Nava i wsp. 2007). Wykazano, że obserwowana w SCC skóry zwiększona ekspresja DSG2 częściej towarzyszy tzw. SCC wysokiego ryzyka i większemu ryzyku powstawania przerzutów (Kurzen i wsp. 2003). W badaniu na mysim modelu naskórka, charakteryzującego się ekspresją Dsg2 w komórkach wszystkich jego warstw, wykazywano rozrost i pogrubienie naskórka, którym towarzyszyła skłonność do powstawania brodawczaków (Brennan i wsp. 2007). Ocena ekspresji DSG2 na komercyjnie dostępnym panelu skrawków nowotworów wykonana przez (Brennan i wsp. 2009) pozwoliła na wykrycie zwiększonej jej ekspresji w BCC, SCC, przewodach wyprowadzających gruczolakoraka, rakach gruczołu potowego i łojowego, lecz nie w włókniakomięśniku i czerniaku złośliwym (Brennan i wsp. 2009). Wykazano, że utrata połączeń desmosomalnych, poprzedzająca utratę połączeń przylegania powoduje nabycie takich cech fenotypowych, które promują rozwój nowotworu: obniżonej zdolności do adhezji związanej z desmosomami, zwiększonej zdolności przeżycia i rekrutowania komórek nacieku zapalnego w SCC indukowanym promieniowaniem UVB w mysich komórkach naskórka pozbawionych ekspresji *Perp* (*p53 apoptosis effector related to PMP-22*) oraz zwiększoną zdolność do miejscowego naciekania w przypadku komórek neuroendokrynych nowotworów trzustki transgenicznych myszy *Rip1Tag2* pozbawionych ekspresji desmoplakiny (*Dsp*) (Dusek i wsp. 2011). Dalsza dekompozycja połączeń

przylegania w guzach jest związana z upośledzeniem zależnej od nich adhezji oraz zwiększoną zdolnością do naciekania i dawania przerzutów odległych, czyli cechami typowymi dla agresywnych form nowotworów (Dusek i wsp. 2011).

Wyniki badań dotyczących znaczenia poziomu ekspresji cząstek budujących desmosom dla zachowania różnych nowotworów człowieka są niejednoznaczne (Beaudry i wsp. 2010). Z tego powodu konieczne są dalsze badania na poziomie genetycznym na modelach zwierzęcych *in vivo* (np. humanizowanych myszach z knock-outem genów DSGs) nad znaczeniem zmian garnituru białek desmosomalnych dla kancerogenezy. Udowodniono, że obniżenie ekspresji składowych desmosomu, a w szczególności DC, poprzedza przemianę nowotworową i wiąże się z zaburzeniem jego czynności (Teh i wsp. 2011). Część badaczy wskazywała na użyteczność analizy ekspresji białek na poziomie mRNA w diagnostyce i klasyfikacji nowotworów. Wydaje się, że znaczenie poziomu ekspresji mRNA jest jedynie powiązane z ekspresją na poziomie białka i nie wpływa na zachowanie samego nowotworu. Prawdopodobnie to właśnie poziomy białek i ich interakcje kierują procesami wewnątrz komórki. Tym niemniej, w świetle przypuszczalnej roli zaburzeń ekspresji DSGs w nowotworzeniu w BCC wydaje się zasadnym oceniać jakościowo zarówno ekspresję na poziomie białka, jak i mRNA, czego (wedle najlepszej wiedzy autora) nie dokonał dotychczas żaden zespół badaczy.

5.2.1 Rola DSGs w BCC

W świetle związku ekspresji DC ze stopniem dojrzewania tkanek oraz zdolnością komórek do proliferacji, zasadną wydaje się hipoteza, że mutacje genowe DC mogą powodować zaburzenia dojrzewania i proliferacji komórek nabłonka i mieszków włosowych (Cserhalmi-Friedman i wsp. 2001; Smith i wsp. 2004). Argumentu przemawiającego za nią dostarczyły ponadto doświadczenia prowadzone na modelu mysim K1-hDsg3 przez Merritt i wsp. (Merritt i wsp. 2002), gdzie w wyniku mutacji nonsensownej Dsg3 pojawiały się zmiany w różnicowaniu naskórkowym i skąpe owłosienie. W 12 tygodniu badania obserwowano znaczne pogrubienie naskórka, hiperkeratozę, parakeratozę, spongiozę, poszerzenie warstwy ziarnistej oraz akantozę w górnych warstwach naskórka. Autorzy badania sugerowali, że naskórek badanych myszy przedstawiał cechy charakterystyczne dla chorób rozrostowych skóry.

Badania prowadzone w ostatnim dziesięcioleciu ujawniły, że rezerwuarem komórek macierzystych mieszków włosowych jest region wybrzuszenia. Podejrzewano, że z tych komórek okolicy wybrzuszenia, jak i komórek pluripotencjalnych naskórka, pod wpływem zmian genetycznych mogą rozwijać się klonalnie komórki nowotworowe, w tym również BCC (Ghadially 1961; Kore-eda i wsp. 1998; Ohya 2007; Grachtchouk M. i wsp. 2011). Obecnie, jako źródło BCC, wskazuje się na komórki okolicy lejka (Youssef i wsp. 2010, 2012). Wydaje się, że istnieje bezpośredni związek pomiędzy typem kliniczno-histologicznym BCC, a rodzajem komórki z której powstaje nowotwór oraz jej zaprogramowaną aktywnością ścieżki sygnałowej Hedgehog (Grachtchouk M. i wsp. 2011). Obserwacja, że młode, aktywnie dzielące się komórki warstwy podstawnej i ponadpodstawnej wykazują wysoką ekspresję odpowiednio DSG2 i DSG3, jak i wcześniej sugerowane pochodzenie BCC z komórek okolicy wybrzuszenia mieszków włosowych (Zackheim 1964; Harris i wsp. 2010), dają podstawy do poszukiwania związku pomiędzy DSGs a tym nowotworem.

W kontekście patogenezy BCC wymienia się rolę mutacji komórek pluripotencjalnych, które znane są ze zdolności do proliferacji, samoodnowy i różnicowania w wyspecjalizowane komórki. Istnieją doniesienia sugerujące w oparciu o wyniki oceny ekspresji genów z użyciem macierzy cDNA oraz oceny poziomu miRNA w różnych klinicznie odrębnych typach BCC, że zróżnicowanie fenotypowe postaci tego nowotworu może być odbiciem zróżnicowania wzorców ekspresji genów (Yu M. i wsp. 2008; Heffelfinger i wsp. 2012). Wydaje się zatem możliwe, że odmienne typy BCC mogą wywodzić się z różnych źródeł. Badania nad pochodzeniem BCC (m.in. dotyczące białka K15 i genu *SHH*) sugerowały, że może on mieć związek z mieszkowymi komórkami progenitorowymi, komórkami progenitorowymi nabłonka międzymieszkowego, okolicy lejka (*infundibulum*), czy gruczołów łojowych (Youssef i wsp. 2010; Grachtchouk M. i wsp. 2011). Ponadto, niedawne doniesienia wskazują na obecność komórek multipotencjalnych, odrębnych od komórek pluripotencjalnych naskórka pod względem ekspresji białek (nestyna, I α 6), w zrębie ekrynowych gruczołów potowych, które były uważane dotychczas za przydatki o niskim potencjale proliferacyjnym (Biedermann T. i wsp. 2010; Lu i wsp. 2012; Nagel i wsp. 2013). Multipotencjalne komórki nabłonkowe wybrzuszenia, gruczołów łojowych i warstwy podstawnej nabłonka międzymieszkowego posiadają wspólne cechy, w tym ekspresję białek K5, K14 i p63 oraz bliski związek z błoną podstawną

(Fuchs 2009). Komórki te spoczywają w warstwie podstawnej nabłonków wielowarstwowych i opuszczają ją podczas różnicowania (Fuchs 2009). Ten proces jest mediowany po części przez składniki błony podstawnej – lamininę i integryny oraz poprzez błonowe białka powierzchni komórki, które sterują polaryzacją komórki, jej umocowaniem do błony podstawnej, rozmnażaniem, cyklem życiowym i zdolnością do przemieszczania się (Marthiens i wsp. 2010; Margadant i wsp. 2010). Co ciekawe, komórki progenitorowe naskórka wykazują wyższą ekspresję E-kadheryny w połączeniu zwierającym oraz, co ważniejsze w kontekście prowadzonego badania, zmniejszoną liczebność desmosomów (Jamora i wsp. 2003).

Ocena ekspresja DC na różnym poziomie biosyntezy białka (białko, mRNA) była przedmiotem badań licznych nowotworach narządów wewnętrznych, gdzie udowodniono, że obniżona lub podwyższona ekspresja danej DC jest czynnikiem prognostycznym w przeżywalności u pacjentów z danym nowotworem. Podobne badania były prowadzone w SCC, natomiast w BCC oceniano ekspresję DSG2 i DSG3 na poziomie białka, wykazując utratę korelacji ich ekspresji (Gornowicz-Porowska i wsp. 2011b). Ekspresja białek adhezyjnych w BCC była badana dotychczas jedynie w odniesieniu do 3 białek z grupy DSGs (DSG2, DSG3, DSG4), a w konkretnych nowotworach badano przeważnie ekspresję pojedynczych białek. W BCC wykazano dotychczas obniżenie poziomu ekspresji DSG3 (Gornowicz-Porowska i wsp. 2009; Bowszyc-Dmochowska i wsp. 2010, Gornowicz-Porowska i wsp. 2014a) oraz podwyższenie ekspresji DSG2 (Brennan i wsp. 2009; Greinert 2009; Gornowicz-Porowska i wsp. 2014a). Badania ekspresji DSG4 nie wykazywały istotnego znaczenia tego białka w BCC (własne niepublikowane dane). Nie podejmowano dotychczas próby odpowiedzi na pytanie czy konkretny garnitur białek desmosomalnych może być związany z określonym podtypem BCC. Sugerowano, że nBCC miałyby wywodzić się z mieszkowych, a sBCC z międzymieszkowych komórek pluripotencjalnych (Grachtchouk M. i wsp. 2011). Biologia komórek rakowych BCC pozostaje wciąż zagadkową kwestią. Badacze wciąż nie wiedzą jakie molekularne cechy tego nowotworu wiążą się z jego obrazem morfologicznym oraz charakterem wzrostu. Potencjalne różnice garniturów białek desmosomalnych pomiędzy różnymi postaciami BCC mogą prowadzić w przyszłości do stworzenia nowej klasyfikacji BCC opartej na podstawach biologii molekularnej, jak ma to miejsce w przypadku nowotworów układu krwiotwórczego. W celu zgłębiania roli DSGs w rozwoju BCC

niezbędne wydaje się poznanie danych dotyczących ekspresji tych cząsteczek na różnych etapach biosyntezy białka. Pełniejsze poznanie mechanizmów rządzących adhezją komórek nowotworowych i ich biologią, otwiera drogę do poszukiwania interakcji pomiędzy ekspresją badanych genów, a szlakami sygnałowymi, które mogą na nie potencjalnie wpływać.

5.2.2 Ekspresja DSG2 i DSG3 w BCC w kontekście typu kliniczno-histologicznego

DSGs znane są nauce od lat 80., a ich rola w adhezji międzykomórkowej jest już dobrze udokumentowana (Amagai i wsp. 2012). Tymczasem, znaczenie konkretnych DSGs dla rozwoju nowotworów budzi kontrowersje i wciąż ogniskuje uwagę badaczy. Dotychczasowe badania dotyczące ekspresji białek desmosomalnych w złośliwym nowotworzeniu rodzą sprzeczne wyniki. W jednych nowotworach o wysokim potencjale naciekania i przerzutowania obserwuje się ich zwiększoną ekspresję, podczas gdy w innych agresywnych rakach pochodzenia nabłonkowego wykazuje się zmniejszenie ich ekspresji (Brennan i wsp. 2009). W niniejszym manuskrypcie określono arbitralnie poziom istotności testów na $p < 0,05$. Wydaje się, że w przyszłości, punkt odcięcia dla poziomu istotności może być adaptowany do rodzaju testu i liczebności grupy badanej (Wehrens i wsp. 2012).

5.2.3 Ekspresja DSG2 i DSG3 na poziomie białka

Dane dotyczące profili ekspresji tkankowej DSG2 i DSG3 w BCC i jego dwóch najczęstszych podtypach rzucają nowe światło na sposób wzrostu tego nowotworu. Współcześnie uważa się, że DSG2 jest białkiem związanym z proliferacją i niskim stopniem zróżnicowania komórki, a więc markerem agresywnych form nowotworów (Kurzen i wsp. 2003; Brennan i wsp. 2009). Uzyskane w tym badaniu wyniki w BCC stoją w zgodności z wynikami dotychczas uzyskanymi przez innych badaczy (Brennan i wsp. 2009; Greinert 2009; Bowszyc-Dmochowska i wsp. 2010; Gornowicz-Porowska i wsp. 2011; Dmochowski i wsp. 2013). Zwiększoną ekspresję DSG2 wobec jej ekspresji naskórkowej obserwowano również w postaci nBCC, jako że tworzyła większość materiału badanego. Tendencji tej nie zauważono w przypadku postaci sBCC, która wydaje się mniej agresywna klinicznie niż nBCC. Za tą tezę przemawiać mogą obserwacje dotyczące wpływu zwiększonej ekspresji Dsg2 na aktywację licznych ścieżek sygnałowych

sterujących proliferacją i programowaną śmiercią komórki, jak PI3K/AKT, p38MAPK, STAT3 i NF- κ B (Brennan i wsp. 2009). Przeciwnie do DSG2, DSG3 wydaje się być związana z wysokim stopniem zróżnicowania komórek, niskim potencjałem proliferacyjnym oraz niskim potencjałem migracji keratynocytów (Hartlieb i wsp. 2013). Pomimo tego, że ekspresja DSG3 w sBCC wydaje się wielkością o dużej zmienności, poziomy jakie osiąga są zbliżone do obserwowanych w zdrowym naskórku, podczas gdy zarówno w BCC, jak i postaci nBCC obserwuje się istotnie mniejszą ekspresję DSG3 niż w naskórku. Ze względu na małą licznosc grupy sBCC w badaniu IHC (9 pacjentów) do wyników dotyczących różnic pomiędzy tym typem a naskórkiem oraz sBCC a nBCC należałoby podchodzić ostrożnie. Jakkolwiek obniżenie ekspresji DSG3 wiąże się z lokalną agresywnością BCC, jednak obniżenie/brak adhezji zależnej od DSG3 nie jest warunkiem wystarczającym dla komórek BCC dla całkowitego oddzielenia się (Bowszyc-Dmochowska i wsp. 2010). Muszą istnieć czynniki niezależne od DSG3, które utrzymują typowy palisadowego układu komórek na obwodzie BCC, a których brak w keratynocytach pozbawionych adhezji zależnej od DSG3 w PV (Bowszyc-Dmochowska i wsp. 2010). DSG2 zarówno w nBCC, jak i sBCC wykazywała ekspresję w przestrzeniach międzykomórkowych, przy czym w nBCC lokalizowała się ona wyraźniej na obwodzie nowotworu (Ryc. 49-50). Podobny wzorec ekspresji opisywali inni badacze w SCC (Kurzen i wsp. 2003). DSG3 wykazywała zbliżony, międzykomórkowy wzór ekspresji homogenicznie na całym przekroju obu typów BCC (Ryc. 51-52). Obecność DSG2 na obrzeżach rosnącego guza może hipotetycznie sugerować istnienie dotychczas nieopisanego mechanizmu wiążącego DSG2 z modelowaniem podścieliska ułatwiającym wzrost BCC. Istnieją doniesienia ukazujące zależność ekspresji Gli1 – białka będącego elementem ścieżki sygnałowej Hedgehog od poziomu Dsg2 (Grachtchouk M. i wsp. 2013). Dla lepszego poznania mechanizmów rządzących nowotworzeniem w BCC, w przyszłości warto byłoby zestawzić ekspresję przestrzenną DSG2 i DSG3 z miejscową aktywnością zaangażowanych w ich ekspresję, jak i wzajemnie sprzężonych, ścieżek sygnałowych WNT/ β -katenina i p38MAPK (Wahl i wsp. 2000; Guardavaccaro i wsp. 2012).

5.2.3 Ekspresja *DSG2* i *DSG3* na poziomie mRNA

Badanie FISH wycinków skórnych jest uważane za technicznie trudne ze względu na wyraźną autofluorescencję włókien kolagenowych (Sujobert i wsp. 2013). W grupie BCC, zgodnie z oczekiwaniami, zwiększonej ekspresji *DSG2* względem naskórka towarzyszyła zwiększona ekspresja *DSG2* względem naskórka na poziomie mRNA. Co ciekawe, ekspresja *DSG3* przeważała w pośrednich i górnych warstwach zdrowego naskórka, odmiennie niż ekspresja *DSG3*, która dotyczyła warstwy podstawnej. Potencjalnie ekspresja *DSG3* w tej lokalizacji mogłaby sugerować udział *DSG3* w mechanizmach regulujących morfologię keratynocytów w tych warstwach oraz znaczenie *DSG3* dla ekspresji składowych desmosomów. Wydaje się ponadto, że niska ekspresja *DSG3* w niższych warstwach naskórka mogłaby sugerować istotniejsze znaczenie mechanizmów epigenetycznych w ekspresji *DSG3*. W nBCC ekspresja *DSG3* miała charakter cytoplazmatyczny, homogenny, o względnie większym nasileniu w środkowych częściach gniazd guza (Ryc. 60), podczas gdy w sBCC ekspresja *DSG3* miała charakter cytoplazmatyczny, homogenny i równomierny na całym przekroju guza (Ryc. 61). W obu typach BCC ekspresja *DSG2* wydawała się względnie wyższa na obwodzie gniazd, niż w ich centrum (Ryc. 62-63), co wydaje się pozostawać w zgodności z obserwacjami Colmonta i wsp., którzy dowodzili, że niewielka populacja komórek posiadających marker mieszkowych komórek wybrzuszenia CD200(+)CD45(-) (Eckert i wsp. 2013), lokalizująca się w skupiskach na obwodzie BCC, jest odpowiedzialna za jego wzrost oraz jest w stanie odtworzyć architekturę guza po ksenotransplantacji komórek (Colmont i wsp. 2013). Podobne obserwacje na temat lokalizacji ośrodków wzrostu guza w nBCC i sBCC sugerowały inne zespoły badaczy (Baum i wsp. 1993; Tilli i wsp. 2002). Ta ekspresja przestrzenna *DGS2* wynika prawdopodobnie z faktu, że wraz z przemieszczaniem się w stronę centrum guza komórki BCC ulegają zróżnicowaniu lub/i zmniejsza się ich aktywność proliferacyjna na skutek hipoksji i w wyniku ograniczenia im dostępu do składników odżywczych (Grimwood i wsp. 1986). Wydaje się, że obserwowane różnice w ekspresji *DSG2* mogą świadczyć o obecności w guzach BCC obszarów niejednorodnych czynnościowo (Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a), co może współgrać z obserwowanymi w seryjnych skrawkach w badaniu H+E danego guza cechami nie jednego, a licznych odmian histologicznych BCC.

Koleraacja ekspresji *DSG2* i *DSG3* w grupie BCC obecna na poziomie mRNA, ale nieobecna na poziomie białka może być wyjaśniona istnieniem niepoznanych jeszcze mechanizmów regulujących biosyntezę tych białek w ogniskach BCC poprzez miejscową kontrolę czynników translacyjnych lub potranskrypcyjną lub/i potranslacyjną modyfikację związaną ze złożonym procesem syntezy i transportu nieaktywnych prekursorów oraz biologicznie aktywnych dojrzałych białek w cytoplazmie oraz w desmosomach na powierzchni keratynocytu (np. endocytoza, dekompozycja desmosomów czy czynniki zmieniające epitopy desmogleinowe) (Bowszyc-Dmochowska i wsp. 2010). W SCC wykazano rolę białek z rodziny ADAM (*A Disintegrin And Metalloproteinase*) i EGFR (*epidermal growth factor receptor*) w internalizacji, magazynowaniu i obróbce czynnościowej *DSG2* (Klessner i wsp. 2009). Donoszono również o możliwości obróbki *DSG2* i *DSG1* w komórkach nabłonkowych przez białka z rodziny kaspaz i metaloproteinaz (Dusek i wsp. 2006; Cirillo i wsp. 2008). Należy zauważyć, że nie wszystkie komórki nowotworowe prezentują jednolitą intensywność ekspresji *DSGs*. Dla lepszego poznania roli konkretnej ekspresji garnituru cząstek adhezyjnych w tkankach BCC na poziomie białka i mRNA wskazane byłoby przeprowadzenie oceny rozmieszczenia czasowego, przestrzennego i organizacyjnego tych cząstek w różnych fragmentach BCC.

Ze względu na możliwość zachodzenia zjawiska AS, należy założyć istnienie licznych transkryptów genów *DSGs*, które nie zostały dotychczas opisane, a mogą mieć znaczenie dla genetyki i morfologii BCC. Z tego względu, do oceny znaczenia AS w BCC proponuje się przeprowadzenie badania za pomocą mikromacierzy oligonukleotydowych zawierających egzony *DSGs* (Nagao i wsp. 2005; Kechris i wsp. 2008; Brosseau i wsp. 2010, 2014).

Pochodzenie BCC pomimo licznych badań pozostaje wciąż zagadnieniem budzącym kontrowersje. Dotychczas nie wykazano, czy ten nowotwór nabłonkowy wywodzi się z górnej części lejka mieszka włosowego czy nabłonka międzymieszkowego. Możliwym wytłumaczeniem różnic w profilach ekspresji *DSG2* i *DSG3* w nBCC i sBCC jest odmienne pochodzenie tych dwóch typów, zgodnie z teorią mówiącą, że BCC jest zbiorem różnych jednostek chorobowych (Lesiak i wsp. 2010; Ghanadan i wsp. 2014). Tematami, które będą musiały być objęte badaniami w przyszłości są: podatność poszczególnych populacji komórek pluripotencjalnych na indukcję kancerogenezy w BCC za pośrednictwem poszczególnych ścieżek sygnałowych, czynniki wpływające na kliniczno-

histologiczny typ wzrostu BCC, istota heterogenności populacji komórek w zależności od lokalizacji przestrzennej w ognisku BCC, znaczenie wpływu mikrośrodowiska podścieliska na typ histologiczny BCC oraz istota zjawiska AS w tkankach BCC i podścielisku.

Po zbiorczej analizie ekspresji DSG2/DSG2 i DSG3/DSG3 technikami IHC i FISH z cyfrową analizą obrazu w nBCC i sBCC sugeruje się, że w BCC zjawiska w zakresie proteomiki, a nawet epigenetyczne, mogłyby być istotniejsze patogenetycznie od zjawisk z zakresu genomiki (Botchkarev 2014).

5.2.4 Choroby związane z DSGs a predyspozycja do rozwoju BCC

Chociaż nie donoszono dotychczas o zwiększonej predyspozycji do rozwoju nowotworów u pacjentów z zaburzeniami funkcji desmosomów w różnych jednostkach chorobowych – zespołach uwarunkowanych genetycznie, chorobach infekcyjnych czy AVC, to fakt ten może wynikać z rzadkości wymienionych chorób lub obniżenia długości życia, a wobec tego ograniczeniem czasu niezbędnego do ujawnienia takiej skłonności (Dusek i wsp. 2011). Dla wytłumaczenia braku obserwowanego zwiększonego ryzyka nowotworzenia sugeruje się również, że zaburzenia czynności i struktury desmosomu mogą mieć związek z kancerogenezą jedynie w określonych okolicznościach, jak mutacje określonych zespołów genów, czy addycyjny charakter zaburzeń czynności określonych składowych desmosomu (Dusek i wsp. 2011). Z tego powodu, należałoby objąć obserwacją tę grupę pacjentów pod kątem predyspozycji do rozwoju nowotworów, a być może także stworzyć hodowle tkankowe z pobranych od nich komórek w celu stosowania ich w badaniach nad nowotworzeniem (Dusek i wsp. 2011). *Dusek i wsp.* wspominają także o braku skłonności do rozwoju nowotworów u pacjentów z chorobami z autoimmunizacji. Argumentami przeciw tej tezie są liczne obserwacje, w tym własne, współistnienia złośliwego nowotworzenia z zespołami z autoimmunizacji (Dmochowski 2006; Iwashita i wsp. 2007; Chruśliński i wsp. 2009; Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a; Pietkiewicz i wsp. 2012, 2013a i b). Pęcherzyca paraneoplastyczna jest znanym rewelatorem neoplazji, jednak wśród lekarzy niska jest świadomość, że choroby z kręgu pęcherzycy, gdzie dochodzi do rozwoju autoagresji właśnie wobec białek desmosomalnych, pomimo braku przymiotnika „paraneoplastyczny” mogą również być związane z procesem nowotworowym. Zakłada się, że choroba z autoimmunizacji może

poprzedzać rozwój nowotworu, może z nim współistnieć jednocześnie, rozwijać się po jego wystąpieniu, a nawet po jego usunięciu. W wielu przypadkach trudno uchwycić zależność czasową obu jednostek, ponieważ rozwój autoagresji, jak nowotworzenie, jest procesem wielostopniowym. Wydaje się, że dalsze badania na temat kancerogenezy w warunkach patologicznej autoimmunizacji mogłyby rzucić więcej światła na tę zależność, która jest obecnie szeroko dyskutowana w kręgach badaczy-klinicystów zajmujących się białkami desmosomalnymi.

5.3 Heterogenność BCC, mozaicyzm, guzy kolizyjne a odrębność nBCC i sBCC

Mozaicyzm BCC, czyli występowanie utkania różnych typów BCC w obrębie tego samego nowotworu, oraz ewentualna odrębność nBCC i sBCC, odzwierciedlają zaskakującą heterogenność BCC, mogącą wynikać z nowych mutacji wpływających na odróżnicowanie lub zróżnicowanie komórki nowotworowej poprzez modulację aktywności szlaków sygnałowych czy ekspresji genów i białek. W badaniu retrospektywnym, w materiale własnym, obserwuje się znaczący względny wzrost zapadalności na typy mozaikowe, co może mieć związek z większą ich wykrywalnością, ale i ze wzrostem popularności opalania, a więc i przewlekłego narażenia na promieniowanie UV. Dane irańskie wskazują na znaczną odmienność lokalizacji i wielkości BCC mozaikowych od innych typów (Turhan-Haktanir i wsp. 2010). BCC mozaikowy wydaje się dotyczyć 11-39% BCC (Russell wsp. 1999; Cohen i wsp. 2006; Madan i wsp. 2010) i ponad 40% BCC, które wymagają reoperacji (Cohen i wsp. 2006). Zwraca się również uwagę, że typy mozaikowe znacznie częściej w swoich strukturach posiadają komponentę typów bardziej agresywnych niż łagodniejszych (Cohen i wsp. 2006), w związku z czym zaliczne są do typów potencjalnie agresywnych (Turhan-Haktanir i wsp. 2010).

Współistnienie guzów różnego pochodzenia w tej samej zmianie określane jest pojęciem guza kolizyjnego (*collision tumour*). Uważa się, że pomocnymi narzędziami o niskiej inwazyjności są dermatoskopia, mikroskopia konfokalna oraz optyczna tomografia koherencyjna wysokiej rozdzielczości, pozwalająca na różnicowanie typów BCC (Hussain i wsp. 2015). Jest możliwe, że techniki nanoskopowe, jak STED (*stimulated emission depletion*), okażą się pomocne do zrozumienia biologii BCC (Korczyński 2015). Umożliwiają one ocenę struktur, które pozostają niewidoczne gołym okiem. Owe złożenia mogą być wyzwaniem zarówno dla klinicysty oceniającego zmianę wizualnie, jak histopatologa

opisującego biopłat BCC. Opisywano współistnienie BCC z wrodzonym znamieniem barwnikowym (Cichewicz i wsp. 2014), z czerniakiem (*melanoma*) (Piérard i wsp. 1997; Hirakawa i wsp. 1998; Papa i wsp. 2006; Braun-Falco 2007; R. King i wsp. 2007; McGregor i wsp. 2008; Sharma i wsp. 2013), z plamą soczewicowatą złośliwą (Wang Hao i wsp. 2003; Belisle i wsp. 2005; Hassan i wsp. 2013), torbielakiem potowym (Jayaprakasam i wsp. 2012), włókniakożółtakiem (Alves i wsp. 2010), nerwiakowłókniakiem (Boyd i wsp. 1994), z SCC (Proia i wsp. 2006), z SCC i czerniakiem (Cornejo i wsp. 2013) czy nabłoniakiem mieszkowym (*trichoepithelioma*) (Wallace i wsp. 1997; Martinez C.A. i wsp. 2004; Borzęcki i wsp. 2013). Opisywano przypadki rozwoju tego guza w bliźnie i znamieniu łojotokowym (Hauschild i wsp. 2008), ziarniniaku twarzy (*granuloma faciale*) (Kamalpour i wsp. 2009), znamieniu skórnym (Taira i wsp. 1992), znamieniu błękitnym (Litak i wsp. 2009), znamieniu mieszkowym (*trichofolliculoma*) (Boran i wsp. 2007), naczyniaku płaskim typu *port-wine stain* (*port-wine haemangioma*, PWS) (Ryc. 54) (Sarkany i wsp. 1965; Sagi i wsp. 1984; Magaña-García i wsp. 1988; Duhra i wsp. 1991; Kim i wsp. 2004; Jasim i wsp. 2004; Silapunt i wsp. 2004; Natkunarajah i wsp. 2009) czy plamie bielacej (*vitiligo*) (Arnon i wsp. 2008; Rustemeyer i wsp. 2011). Obserwowano również współwystępowanie BCC z trądem (Ratoosh i wsp. 1994) oraz, obserwowane również w materiale własnym, z twardziną układową (Ryc. 55) (Song i wsp. 2000).

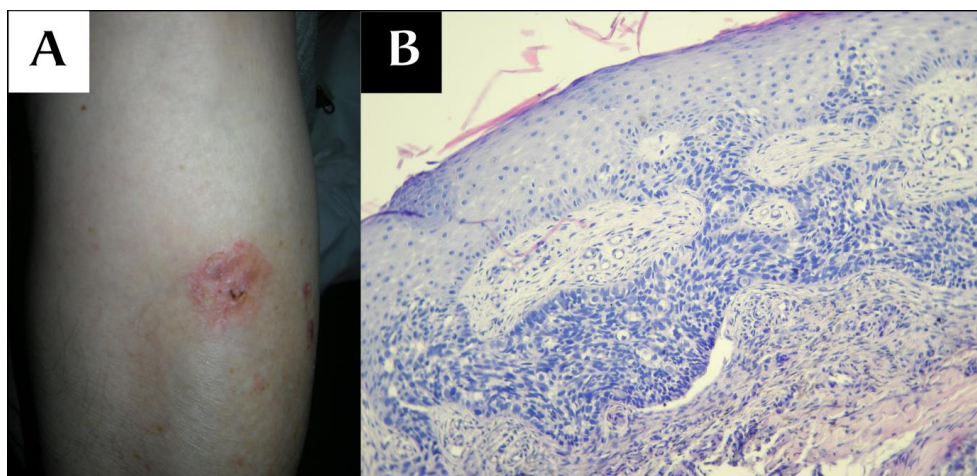
Zapewnie w pojedynczych przypadkach współistnienie tych zmian może być uważane za przypadkowe, natomiast liczne doniesienia o konkretnych złożeniach (jak BCC/MM, BCC/SCC, BCC/PWS) powinny skłonić do poszukiwania mechanizmów wiążących ze sobą symultaniczny lub sekwencyjny rozwój tych zmian (Lee Y.T. i wsp. 2013). Hipotetyzuje się, że obie zmiany mogą mieć to samo pochodzenie (Donovan 2009). W świetle badań IHC wydaje się, że zmiany BCC/SCC wynikają z różnicowania się guzów z jednego ogniska nowotworu (Jones i wsp. 1997). Raka podstawnokolczystokomórkowy, metatypowy – bez wyraźnej linii przejścia pomiędzy BCC a SCC jest odmienny od guza kolizyjnego. Możliwe, że różne komponenty guza ulegają różnicowaniu w skutek różnic w aktywności ścieżek sygnałowych GLI, PTCH, Hedgehog i WNT, co można wnioskować z odmiennej ich aktywności w BCC, nabłoniakach włosowych, hamartoma o komórkach przypominających mieszkowe, włókniakach trichoblastycznych czy oblakach skóry (Donovan 2009; Grachtchouk M. i wsp. 2013). W przypadku złożenia BCC/PWS i BCC/bielactwo, uważa się, że za część przypadków

ma odpowiadać odpowiednio naświetlanie promieniowaniem rentgenowskim i promieniowaniem UV.

Termin rak podstawnokolczystokomórkowy, ze względu na nieprecyzyjność jest przez różnych badaczy różnie interpretowany. W niektórych przypadkach jest on używany właśnie na określenie guzów kolizyjnych BCC/SCC, w innych BCC keratoticum/BCC z różnicowaniem mieszkowym, albo używany wymiennie z terminem BCC metatypowy (Saldanha i wsp. 2003). Panuje natomiast zgodność, że atypia o typie SCC średniego/wysokiego stopnia lub komponenta SCC w BCC są związane z wyższym ryzykiem przerzutowania i miejscowej wznowy (Johnson i wsp. 1989; Bowman i wsp. 2003; Sendur i wsp. 2004; Lima i wsp. 2012). Wydaje się natomiast, że niewielkiego stopnia atypia nie ma wpływu na zachowanie BCC i bywa nierzadko obserwowana w BCC z różnicowaniem mieszkowym (Saldanha i wsp. 2003).



Ryc. 64 Ognisko BCC w obrębie naczyniaka płaskiego typu *port-wine stain* (*port-wine haemangioma*) u mężczyzny długotrwanie leczonego immunosupresyjnie glikokortykosteroidami doustnie, metotreksatem domięśniowo i leflunomidem doustnie z powodu reumatoidalnego zapalenia stawów (strzałka). Opublikowano w Gornowicz-Porowska i wsp. 2011a.



Ryc. 65 Rak podstawnokomórkowy powierzchniowy w obrębie podudzia u pacjentki chorującej na twardzinę układową. Obraz kliniczny nowotworu. (A). Obraz histopatologiczny zmiany. Barwienie rutynowe H+E (B).

5.3.1 Obraz kliniczno-histologiczny

Różnice fenotypowe i histologiczne są podstawą klasyfikacji typów BCC. Argumentem przemawiającym za odmiennością dwóch powyższych typów jest odmienność ich obrazów klinicznych. nBCC cechuje się wzrostem guzowatym, obecnością poszerzonych naczyń i tendencją do tworzenia centralnego owrzodzenia, podczas gdy sBCC rośnie w poziomie skóry i przyjmuje postać plamy rumieniowej, a teleangiektazje są w tej postaci zazwyczaj nieobecne. Chociaż komórki wszystkich typów BCC w obrazie histologicznym mają zbliżoną morfologię, a nowotwór posiada typowy „palisadowy” układ komórek na obwodzie ogniska, to jednak obie postaci różnią się głębokością i architekturą nacieku. sBCC wykazuje ponadto tendencję do zlewania się ognisk.

Odmienność nBCC i sBCC dotyczy także średniego wieku diagnozy. W obecnym badaniu istotnie młodsi pacjenci zapadali na sBCC niż nBCC, co koreluje z wynikami uzyskanymi przez *Bastiaensa i wsp.* (Bastiaens i wsp. 1998). Fakt ten, może sugerować istnienie różnic w przebiegu kancerogenezy pomiędzy tymi podtypami.

W kontekście odmienności kliniczno-histologicznej nBCC i sBCC należy wspomnieć również o ich odmiennej lokalizacji obserwowanej w badaniu retrospektywnym. nBCC zajmuje nieowłosioną i owłosioną skórę głowy oraz szyję razem w ponad 80% przypadków, a tułów w ponad 10%. Zupełnie inaczej proporcje te prezentują się dla sBCC, który zajmuje w blisko 50% przypadków tułów, a nieco ponad 20% głowę i szyję. Podobne proporcje występowania tych typów podawali inni badacze (McCormack i wsp. 1997; Bastiaens i wsp. 1998; Scrivener i wsp. 2002; Tiftikcioğlu i wsp. 2006; Ceilley i wsp. 2006; Neale i wsp. 2007; Lesiak i wsp. 2010; Ferreira i wsp. 2013). Można podejrzewać, że w odmiennej dystrybucji podtypów odgrywa rolę odmienność histologiczno-molekularna różnych okolic ciała. Hipotetycznie, biorąc pod uwagę możliwość pochodzenia BCC z komórek progenitorowych przydatków skóry, należy wziąć pod uwagę rolę takiego czynnika jak dystrybucja przestrzenna przydatków. Od grubości skóry w danej okolicy mogłoby natomiast zależeć narażenie na mutacje związane z promieniowaniem UV. Co ciekawe, BCC nie lokalizuje się w obrębie powierzchni podeszwowej stóp i dłoniowej rąk, gdzie nie występują mieszki włosowe. Za odmienność morfologiczną w skali mikro- i makroskopowej hipotetycznie może także odpowiadać polimorfizm komórek progenitorowych. Chociaż wymienione czynniki

mogłyby wpływać na predyspozycję do występowania danego typu w konkretnej lokalizacji, to wciąż pozostaje niejasne znaczenie czynników indukujących BCC dla powstania określonego typu. Uważa się, że nBCC jest zależny od przewlekłej ekspozycji na promieniowanie UV, a sBCC od ekspozycji przerywanej (Bastiaens i wsp. 1998). Nie obserwuje się jednak zwiększonej zapadalności na nBCC w obrębie dłoni czy ramion, co może sugerować istnienie w tej okolicy mechanizmów ochronnych.

Wciąż niejasne pozostaje pochodzenie obu typów. Chocóż obecnie przeważa opinia, że BCC pochodzi z komórek progenitorowych nabłonka międzymieszkowego (Youssef i wsp. 2012), to wykazywano również rolę komórek okolicy wybrzuszenia w rozwoju BCC (Kasper i wsp. 2011). Należy zwrócić uwagę, że komórki progenitorowe nabłonka międzymieszkowego nie tworzą jednolitej populacji, zatem wydaje się, że wciąż nie przedstawiono argumentów wystarczających do obalenia hipotezy o odmiennym pochodzeniu typów BCC.

5.3.2 Ekspresja DSG2 i DSG3

Chociaż niewielu badaczy podejmowało próby wyjaśniania odmienności typów BCC, można podejrzewać, że różnice kliniczno-histologiczne pomiędzy typami mogą wynikać z różnic na poziomie molekularnym. W badaniu, nBCC wykazuje istotnie wyższą ekspresję DSG2 i znacząco niższą ekspresję DSG3 wobec zdrowego naskórka, podczas gdy pomiędzy sBCC i zdrowym naskórkiem nie wykazuje się znaczących różnic w ekspresji tych DSGs. Wydaje się zatem, że nBCC, w przeciwieństwie do sBCC, posiada duży potencjał proliferacyjny, niskie zróżnicowanie i dużą zdolność do naciekania, a cechy te mogą potencjalnie być rezultatem odmiennie niż w sBCC aktywności ścieżek sygnałowych. Z drugiej jednak strony, w licznych BCC można obserwować cechy kilku typów w zależności od miejsca biopsji (guzy kolizyjne).

Wydaje się, że w obu typach wzór ekspresji DSG2 i DSG3 był podobny na różnych poziomach biosyntezy białka - DSG2 i DSG2 obecne na obwodzie nowotworu, DSG3 na całym przekroju. Różnice w ekspresji DSG3 (homogenna ekspresja w sBCC, dośrodkowy rosnący gradient w nBCC) mogą decydować o odmiennym zachowaniu obu typów, związanym np. z międzykomórkową komunikacją pomiędzy nowotworem a komórkami podścieliska. Chociaż uważa się, że mutacje genu PTCH są w większości przypadków nieodzownym warunkiem

rozwoju BCC, niezależnie od typu, to wydaje się, że różnice morfologiczne mogą być spowodowane odmienną aktywnością licznych ścieżek sygnałowych. W tym kontekście można zwrócić uwagę na zwiększoną aktywność ścieżek MEK/p38MAPK, PI3K/AKT, STAT3 i NF- κ B pod wpływem zwiększonej ekspresji DSG2 (Brennan i wsp. 2007). Ścieżka p38MAPK ma mieć ponadto istotne znaczenie dla internalizacji DSG3 w endosomy, a więc i zmniejszoną jej ekspresją na powierzchni, co ma mieć znaczenie dla przebudowy cytoszkieletu komórki nowotworowej (Hartlieb i wsp. 2014). Obecność DSG2 na obrzeżach rosnącego guza może sugerować istnienie dotychczas nieopisanego mechanizmu wiążącego DSG2 z modelowaniem podścieliska ułatwiającym wzrost BCC. Za takim związkiem może przemawiać doniesienie ukazujące zależność ekspresji Gli1 – białka będącego elementem związanej z BCC ścieżki sygnałowej Hedgehog, od poziomu Dsg2 (Grachtchouk M. i wsp. 2013). Dla lepszego poznania mechanizmów rządzących nowotworzeniem w BCC, w przyszłości należałoby zestawić ekspresję przestrzenną DSG2 i DSG3 z miejscową aktywnością zaangażowanych w ich ekspresję, jak i wzajemnie sprzężonych, ścieżek sygnałowych WNT/ β -katenina i p38MAPK (Wahl i wsp. 2000; Guardavaccaro i wsp. 2012), modulujących aktywność mitotyczną, apoptotyczną i różnicowanie komórek poszczególnych typów BCC. Dotychczas ich znaczenie dla morfologii i rozwoju tego nowotworu nie zostało w pełni wyjaśnione.

6. WNIOSKI

- Retrospektywna analiza danych chorych na BCC z Katedry i Kliniki Dermatologii UMP zdaje się potwierdzać istnienie wzrostowego trendu zapadalności na BCC wśród obu płci. Ponieważ BCC *cicatrisans* występuje w analizowanym materiale istotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn, mogłoby to sugerować, że hormony płciowe byłyby jednym z czynników wpływających na rozwój tego typu.
- Wydaje się, że nowotworzenie w BCC jest związane z zaburzonym profilem ekspresji DSG2/DSG2 i DSG3/DSG3, wyraźniejszym na poziomie białka, przy czym ekspresja DSG2/DSG3 zdaje się nie być stałą cechą komórek nowotworowych BCC, lecz zapewne jest zależna od architektury nowotworu (nBCC/sBCC) i oddziaływań nowotwór – podścielisko nacieku nowotworowego (mikrośrodowisko nowotworowe).
- Zwiększona ekspresja DSG2 na poziomie białka, jak i mRNA w nBCC może potwierdzać znaczenie DSG2 w proliferacji komórek BCC, natomiast obniżona ekspresja DSG3 na poziomie białka w nBCC wskazuje na możliwe znaczenie DSG3 w różnicowaniu komórek BCC.
- Przemiana nowotworowa wydaje się wiązać z utratą korelacji ekspresji DSG2 i DSG3 w BCC i obu jego badanych podtypach (nBCC, sBCC) względem ekspresji tych białek w zdrowym naskórku.
- Wydaje się, że proces nowotworowy w nBCC jest odmienny od tego charakteryzującego sBCC ze względu na istotne różnice w profilu ekspresji DSG2/DSG2 i DSG3/DSG3 w nBCC i sBCC.
- Uzyskane wyniki zdają się sugerować, że w BCC zjawiska w zakresie proteomiki, a nawet epigenetyczne, mogłyby być istotniejsze patogenetycznie od zjawisk z zakresu genomiki.

Ekspresja desmoglein w rakach podstawno komórkowych w odniesieniu do cech kliniczno-histologicznych nowotworu

STRESZCZENIE

Rak podstawnokomórkowy (basal cell carcinoma, BCC) jest najczęstszym złośliwym nowotworem populacji pochodzenia europejskiego, o licznych podtypach odmiennych klinicznie i histologicznie, z których najczęstszymi są typ guzkowy (nBCC) i powierzchniowy (sBCC). Przymuszcza się zaburzenia ekspresji desmoglein, białek biorących udział w tworzeniu połączeń desmosomalnych pomiędzy keratynocytami i zaangażowanych w liczne szlaki sygnałowe, mogą modulować wzrost tego nowotworu nabłonkowego. W związku z powyższym, podjęto badania, których celem była:

- retrospektywna analiza danych epidemiologicznych BCC pacjentów z Katedry i Kliniki Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (UMP) z lat 2002-2013,
- ocena profilu skórnej ekspresji desmogleiny 2 i 3 na poziomie białka (DSG2/DSG3) i mRNA (*DSG2/DSG3*) w BCC i dwóch jego podtypach (BCC guzkowym - nBCC i powierzchniowym - sBCC) i w zdrowym naskórku,
- porównawcza analiza ilościowa i półilościowa skórnej ekspresji białka DSG2/DSG3 i mRNA *DSG2/DSG3* poprzez, odpowiednio, barwienie immunohistochemiczne i fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* z komputerową analizą obrazu w ogniskach BCC i w zdrowym naskórku,
- ocena korelacji pomiędzy intensywnością skórnej ekspresji DSG2/DSG2 i DSG3/DSG3 w ogniskach nowotworowych (BCC, sBCC, nBCC) i w zdrowym naskórku,
- ocena skórnej ekspresji desmogleiny 2 i 3 na obu poziomach biosyntezy białka (białko, mRNA) w zależności z typem kliniczno-histologicznym BCC (sBCC, nBCC),
- analiza danych dotyczących istotności zjawisk z zakresu genomiki i proteomiki w BCC.

Materiał badawczy stanowiło 2220 pacjentów Kliniki Dermatologii UMP z lat 2002-2013 z potwierdzonym histopatologicznym rozpoznaniem BCC. Badaniami IHC i FISH objęto 84 pacjentów chorujących na różne typy kliniczno-histologiczne BCC (27 pacjentów z sBCC, 57 pacjentów z nBCC). Grupę kontrolną negatywną

stanowiły wycinki mikroskopowo zdrowej skóry z marginesu usuniętych zmian nowotworowych nBCC i sBCC. Materiał do badań stanowiły skrawki mrożone skóry. Zastosowano następujące metody diagnostyczne i badawcze:

- badanie histologiczne skrawków parafinowych barwionych H+E,
- badanie DSG2 i DSG3 w naskórku i tkankach nowotworu na skrawkach mrożonych metodą IHC streptawidyna/peroksydaza chrzanowa,
- badanie *DSG2* i *DSG3* mRNA w naskórku i tkankach nowotworu na skrawkach mrożonych metodą FISH z komplementarnymi sondami molekularnymi znakowanymi odpowiednio 5-TAMRA dla *DSG2* i 6-FAM dla *DSG3*,
- cyfrowa analiza nasilenia ekspresji DSG2 i DSG3 przy użyciu oprogramowania „*HSV Filter*”,
- cyfrowa analiza nasilenia ekspresji *DSG2* i *DSG3* mRNA przy użyciu oprogramowania „*ImageJ*”.

W analizie retrospektywnej danych epidemiologicznych BCC w badanych latach wykazano wzrost zapadalności na BCC u obu płci. Wykazano, że wśród obu płci najczęstszym typem BCC był nBCC, a kolejnym pod względem częstości sBCC. Najczęstszą lokalizacją sBCC był tułów, natomiast nBCC i BCC *cicatrisans* nieowłosiona skóra głowy. BCC *cicatrisans* w analizowanym materiale występuje istotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn. Wykazano, że sBCC występuje znacząco częściej w młodszej grupie wiekowej niż nBCC, BCC *cicatrisans* i typy rzadkie. Analiza statystyczna wykazała znaczące różnice w ekspresji DSG2 i DSG3 w BCC i zdrowym naskórku. W BCC i nBCC, ale nie sBCC, ekspresja DSG2 była znacząco wyższa, a DSG3 znacząco niższa niż w naskórku. Pomiędzy oboma typami BCC (nBCC, sBCC) nie wykazano istotnych różnic w ekspresji DSG2 i DSG3. Wykazano istotną pozytywną korelację ekspresji DSG2 i DSG3 w naskórku, która była nieobecna w BCC, sBCC i nBCC. W BCC i nBCC, lecz nie w sBCC, ekspresja *DSG2* na poziomie mRNA była istotnie wyższa niż w naskórku. Nie wykazano istotnych różnic w ekspresji *DSG3* mRNA względem naskórka w BCC, nBCC oraz sBCC, ani różnic w ekspresji *DSG3* mRNA pomiędzy oboma typami. Wykazano istotną pozytywną korelację ekspresji *DSG2* i *DSG3* mRNA w zdrowym naskórku i BCC, lecz nie w nBCC i sBCC. Na podstawie uzyskanych wyników wysunięto następujące wnioski:

-
- Retrospektywna analiza danych chorych na BCC z Katedry i Kliniki Dermatologii UMP zdaje się potwierdzać istnienie wzrostowego trendu zapadalności na BCC wśród obu płci. Ponieważ BCC *cicatrisans* występuje w analizowanym materiale istotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn, mogłoby to sugerować, że hormony płciowe byłyby jednym z czynników wpływających na rozwój tego typu.
 - Wydaje się, że nowotworzenie w BCC jest związane z zaburzonym profilem ekspresji DSG2/DSG2 i DSG3/DSG3, wyraźniejszym na poziomie białka, przy czym ekspresja DSG2/DSG3 zdaje się nie być stałą cechą komórek nowotworowych BCC, lecz zapewne jest zależna od architektury nowotworu (nBCC/sBCC) i oddziaływań nowotwór – podścielisko nacieku nowotworowego (mikrośrodowisko nowotworowe).
 - Zwiększona ekspresja DSG2 na poziomie białka, jak i mRNA w nBCC może potwierdzać znaczenie DSG2 w proliferacji komórek BCC, natomiast obniżona ekspresja DSG3 na poziomie białka w nBCC wskazuje na możliwe znaczenie DSG3 w różnicowaniu komórek BCC.
 - Przemiana nowotworowa wydaje się wiązać z utratą korelacji ekspresji DSG2 i DSG3 w BCC i obu jego badanych podtypach (nBCC, sBCC) względem ekspresji tych białek w zdrowym naskórku.
 - Wydaje się, że proces nowotworowy w nBCC jest odmienny od tego charakteryzującego sBCC ze względu na istotne różnice w profilu ekspresji DSG2/DSG2 i DSG3/DSG3 w nBCC i sBCC.
 - Uzyskane wyniki zdają się sugerować, że w BCC zjawiska w zakresie proteomiki, a nawet epigenetyczne, mogłyby być istotniejsze patogenetycznie od zjawisk z zakresu genomiki.

Expression of desmogleins in basal cell carcinomas in relation to tumor clinical/histological features

ABSTRACT

Basal cell carcinoma (BCC) is the most common malignancy in Caucasians. It has many subtypes of distinct clinical and histological features, yet nodular (nBCC) and superficial (sBCC) are the commonest ones. The discordance in expression of desmogleins, proteins participating in desmosomal adhesion interlinking keratinocytes and diverse signaling pathways, might possibly regulate the tumorigenesis of this epithelial cancer. Thus, study aimed at:

- retrospective analysis of epidemiologic data on BCC patients diagnosed in 2002-2013 at the Department of Dermatology, Poznan University of Medical Sciences (PUMS), Poznan, Poland,
- analysis of skin expression profiles of desmoglein 2 and 3 on protein (DSG2, DSG3) and mRNA (*DSG2*, *DSG3*) levels in microscopically healthy epidermis, BCC and its two subtypes – nBCC and sBCC,
- quantitative and semiquantitative evaluation of selected desmosomal cadherins (desmoglein 2 and 3) at protein level (DSG2, DSG3) – with immunohistochemical study (IHC) and at mRNA level (*DSG2*, *DSG3*) – with fluorescent hybridization *in situ* (FISH), with digital morphometric software in BCC nests and microscopically healthy epidermis,
- analysis of correlation between skin expression intensities of DSG2/*DSG2* and DSG3/*DSG3* in BCC nests (BCC, sBCC, nBCC) and healthy epidermis,
- analysis of correlation of desmoglein 2 and 3 expression at both protein biosynthesis levels (protein, mRNA) with clinical/histopathological BCC type (sBCC, nBCC),
- data analysis on significance of genomic and proteomic phenomena in BCC.

Retrospective study was based on medical data of 2220 patients (1093 man, 1127 woman) histologically diagnosed as having BCC at Department of Dermatology, PUMS, between 2002 and 2013. 84 frozen sections from patients with various clinical/histological subtypes of BCC (27 sBCCs, 57 nBCCs) were analyzed with IHC and FISH study. Microscopically healthy epidermis from skin margins of routinely excised nBCC and sBCC lesions formed negative

control group. Material for examination involved frozen sections of the skin. In this study following diagnostic and research methods were used:

- histological hematoxylin and eosin staining (H+E) on skin sections,
- immunohistochemical staining using peroxidase/streptavidin method to detect DSG2 and DSG3 in epidermis and BCC tissue,
- FISH with mRNA-targeted fluorescence-labelled oligonucleotide probes (5-TAMRA for *DSG2*, 6-FAM for *DSG3*) to detect *DSG2* and *DSG3* in epidermis and BCC tissue,
- digital analysis of DSG2 and DSG3 expression intensity with morphometric software '*HSV Filter*',
- digital analysis of *DSG2* and *DSG3* mRNA expression intensity with morphometric software '*ImageJ*'.

Retrospective analysis of BCC epidemiologic data showed sex-independent increased incidence of BCC in 2002-2013 period. In both sexes, sBCC was the prevalent type of BCC and sBCC was the following one. sBCC was localized mainly on the trunk, while nBCC and BCC *cicatrisans* favored the face. BCC *cicatrisans* affected woman significantly more frequent than man in analyzed material. Significantly younger patients suffered from sBCC than from nBCC, BCC *cicatrisans* and rare BCC types. Statistical analysis revealed significant differences between DSG2 and DSG3 expression in BCC tissue and healthy epidermis. BCC and nBCC, but not sBCC, showed significantly greater expression of DSG2 and lower expression of DSG3 than healthy epidermis. There were no significant differences in DSG2 and DSG3 expression between the BCC subtypes (nBCC, sBCC). There was a significant positive correlation between DSG2 and DSG3 in epidermis, that was absent in BCC, sBCC and nBCC. In BCC and nBCC, but not sBCC, *DSG2* mRNA expression was significantly greater than in epidermis. There were no significant differences in *DSG3* mRNA expression between epidermis and BCC, epidermis and nBCC, epidermis and sBCC, nor significant differences in *DSG3* mRNA expression between both types. There was a positive significant correlation between *DSG2* and *DSG3* mRNA in healthy epidermis and BCC, but not in nBCC and sBCC. Abovementioned results allowed to draw the following conclusions:

- Retrospective study on BCC data from Chair and Department of Dermatology of PUMS seem to confirm the existence of an upward trend

in BCC incidence in both sexes. As BCC *cicatrisans* occurs significantly more often in woman than man in analyzed material, that might suggest that the sex hormones could be one of the factors influencing this BCC type development.

- Cancerogenesis seem to be associated with distorted DSG2/DSG2 and DSG3/DSG3 expression profiles, more pronounced on protein level, while expression of DSG2/DSG3 seems not to be a consistent feature of BCC neoplastic cells, yet might possibly be dependent on cancer architecture (nBCC/sBCC) and mutual relation between the neoplasm itself and the stroma (neoplasm microenvironment).
- Enhanced DSG2 expression on both protein and mRNA levels in nBCC might prove the role of DSG2 in BCC cell proliferation, whereas decreased DSG3 expression on protein level in nBCC signalizes a possible role of DSG3 in BCC cell differentiation.
- Cancerogenesis seem to be associated with loss of correlation of DSG2/DSG3 expression in BCC and both its subtypes (nBCC, sBCC) in relation to their epidermal expression.
- It seems, that cancerogenesis in nBCC differs from the one in sBCC due to significant discrepancies in DSG2/DSG2 and DSG3/DSG3 expression profiles in nBCC and sBCC.
- Results obtained here seem to suggest that in BCC proteomic, or even epigenetic, phenomena might be more pathogenetically relevant than genomic ones.

ZAŁĄCZNIK – zgoda Komisji Bioetycznej na prowadzenie badań



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 898/11

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentyisty (Dz. U. 1997, Nr 28, poz. 152); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych wymagań Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2005, Nr 57, poz. 500); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 4 listopada 2008r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. Nr 201, poz. 1247), kierując się Zasadami Prawidłowego Prowadzenia Badań Klinicznych – GCP – opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: 03 listopada 2011 r.

**rozpatrzyła wniosek, który przedstawiła Pani: mgr inż. Justyna Gornowicz
oraz Pan dr hab. Marian Dmochowski**

w sprawie prowadzenia badań w

**Pracowni Histopatologii i Immunopatologii Skóry Katedry i Kliniki
Dermatologii UM w Poznaniu**

**Temat badań: "Ekspresja desmoglein (DSG2, DSG3, DSG4) w rakach
podstawnokomórkowych w zależności od cech histologicznych guza".**

**Komisja wyraziła zgodę na zmianę osoby głównego badacza w ww. badaniu na Pana
lek. med. Pawła Pietkiewicza.**

**Jednocześnie Komisja przyjęła do wiadomości informację o zmianie tematu ww.
badań na następujący:**

**„Ekspresja desmoglein w rakach podstawnokomórkowych w odniesieniu do cech
kliniczno-histologicznych nowotworu”.**

**Stosowana metodyka badawcza pozostaje bez zmian - Uchwała Komisji Bioetycznej
nr 557/11 z dnia 16.06.2011r.**

UNIWERSYTET MEDYCZNY
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
WYDZIAŁ LEKARSKI II
DEKANAT
60-812 Poznań, ul. Bukowska 70, II ptr., D-2
tel. 061 8547 131; 132, fax 061 8547 133
http://www.ump.edu.pl

Przewodniczący Komisji

Za zgodność z oryginałem Prof. zw. dr hab. med. Zygmunt Przybylski

Poznań, dnia 12.12.2011 r.

PIŚMIENNICTWO

- Abdelsayed R.A., Guijarro-Rojas M., Ibrahim N.A., Sanguenza O.P.: Immunohistochemical evaluation of basal cell carcinoma and trichopilioma using Bcl-2, Ki67, PCNA and P53. *J Cutan Pathol.* 2000; 27(4): 169-75.
- Akiyama M., Smith L.T., Yoneda K., Holbrook K.A. i wsp.: Periderm cells form cornified cell envelope in their regression process during human epidermal development. *J Invest Dermatol.* 1999; 112(6): 903-9.
- Ally M.S., Tang J.Y., Arron S.T.: Cutaneous human papillomavirus infection and basal cell carcinoma of the skin. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(6): 1456-8.
- Almquist L.M., Karagas M.R., Christensen B.C., Welsh M.M., i wsp.: The role of TP53 and MDM2 polymorphisms in TP53 mutagenesis and risk of non-melanoma skin cancer. *Carcinogenesis.* 2011; 32(3): 327-30.
- Alonso L., Fuchs E.: The hair cycle. *J Cell Sci.* 2006; 119(Pt 3): 391-3.
- Alves R., Ocaña J., Vale E., Correia S. i wsp.: Basal cell carcinoma and atypical fibroxanthoma: an unusual collision tumor. *J Am Acad Dermatol.* 2010; 63(3): e74-6.
- Amagai M.: Pemphigus: autoimmunity to epidermal cell adhesion molecules. *Adv Dermatol.* 1996; 11: 319-52; discussion 353.
- Amagai M., Nishikawa T., Noursari H.C., Anhalt G.J. i wsp.: Antibodies against desmoglein 3 (pemphigus vulgaris antigen) are present in sera from patients with paraneoplastic pemphigus and cause acantholysis in vivo in neonatal mice. *J Clin Invest.* 1998; 102(4): 775-82.
- Amagai M.: Autoimmunity against desmosomal cadherins in pemphigus. *J Dermatol Sci.* 1999; 20(2): 92-102.
- Amagai M., Matsuyoshi N., Wang Z.H., Andl C. i wsp.: Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. *Nat Med.* 2000; 6(11): 1275-7.
- Amagai M., Stanley J.R.: Desmoglein as a target in skin disease and beyond. *J Invest Dermatol.* 2012; 132(3Pt 2): 776-84.
- Angst B.D., Marcozzi C., Magee A.I.: The cadherin superfamily: diversity in form and function. *J Cell Sci.* 2001; 114(Pt 4): 629-41.
- Arnemann J., Sullivan K.H., Magee A.I., King I.A. i wsp.: Stratification-related expression of isoforms of the desmosomal cadherins in human epidermis. *J Cell Sci.* 1993; 104(Pt 3): 741-50.
- Arnold I., Watt F.M.: c-Myc activation in transgenic mouse epidermis results in mobilization of stem cells and differentiation of their progeny. *Curr Biol.* 2001; 11(8): 558-68.
- Arnon O., Mamelak A.J., Goldberg L.H.: Basal cell carcinoma arising in a patient with vitiligo. *J Drugs Dermatol.* 2008; 7(11): 1075-6.
- Ashinoff R., Jacobson M., Belsito D.V.: Rombo syndrome: a second case report and review. *J Am Acad Dermatol.* 1993; 28(6): 1011-4.
- Athar M., Tang X., Lee J.L., Kopelovich L. i wsp.: Hedgehog signalling in skin development and cancer. *Exp Dermatol.* 2006; 15(9): 667-77.
- Athar M., Li C., Kim A.L., Spiegelman V.S. i wsp.: Sonic hedgehog signaling in basal cell nevus syndrome. *Cancer Res.* 2014; 74(18): 4967-4975.
- Awad M.M., Dalal D., Cho E., Amat-Alarcon N. i wsp.: DSG2 mutations contribute to arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Am J Hum Genet.* 2006; 79(1): 136-42.
- Awad M.M., Calkins H., Judge D.P.: Mechanisms of disease: molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2008; 5(5): 258-67.
- Balk S.J.: Ultraviolet radiation: a hazard to children and adolescents. *Pediatrics.* 2011; 127(3): e791-817.
- Barber A.G., Castillo-Martin M., Bonal D.M., Rybicki B.A. i wsp.: Characterization of desmoglein expression in the normal prostatic gland. Desmoglein 2 is an independent prognostic factor for aggressive prostate cancer. *PLoS One.* 2014; 9(6): e98786
- Baron S., Hoang A., Vogel H., Attardi L.D.: Unimpaired skin carcinogenesis in desmoglein 3 knockout mice. *PLoS One.* 2012; 7(11): e50024.
- Bastiaens M.T., Hoefnagel J.J., Bruijn J.A., Westendorp R.G. i wsp.: Differences in age, site distribution, and sex between nodular and superficial basal cell carcinoma indicate different types of tumors. *J Invest Dermatol.* 1998; 110(6): 880-4.
- Bath-Hextall F., Bong J., Perkins W., Williams H.: Interventions for basal cell carcinoma of the skin: systematic review. *BMJ.* 2004; 329(7468): 705.
- Bath-Hextall F., Leonardi-Bee J., Smith C., Meal A. i wsp.: Trends in incidence of skin basal cell carcinoma. Additional evidence from a UK primary care database study. *Int J Cancer.* 2007; 121(9): 2105-8.
- Battistella M., Carlson J.A., Osio A., Langbein L. i wsp.: Skin tumors with matrical differentiation: lessons from hair keratins, beta-catenin and PHLDA-1 expression. *J Cutan Pathol.* 2014; 41(5): 427-36.
- Baum H.P., Meurer I., Unteregger G.: Ki-67 antigen expression and growth pattern of basal cell carcinomas. *Arch Dermatol Res.* 1993; 285(5): 291-5.
- Bazex A., Dupré A., Christol B.: [Follicular atrophoderma, baso-cellular proliferations and hypotrichosis]. *Ann Dermatol Syphiligr (Paris).* 1966; 93(3): 241-54.
- Bazzi H., Getz A., Mahoney M.G., Ishida-Yamamoto A. i wsp.: Desmoglein 4 is expressed in highly differentiated keratinocytes and trichocytes in human epidermis and hair follicle. *Differentiation.* 2006; 74(2-3): 129-40.
- Bazzi H., Demehri S., Potter C.S., Barber A.G. i wsp.: Desmoglein 4 is regulated by transcription factors implicated in hair shaft differentiation. *Differentiation.* 2009; 78(5): 292-300.
- Beaudry V.G., Jiang D., Dusek R.L., Park E.J. i wsp.: Loss of the p53/p63 regulated desmosomal protein Perp promotes tumorigenesis. *PLoS Genet.* 2010; 6(10): e1001168.

-
- Belisle A., Gautier M.S., Ghozali F., Plantier F. i wsp.: A collision tumor involving basal cell carcinoma and lentigo maligna melanoma. *Am J Dermatopathol.* 2005; 27(4): 319-21.
- Benjamin C.L., Melnikova V.O., Ananthaswamy H.N.: P53 protein and pathogenesis of melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2008; 624: 265-82.
- BenKath A., Reed S.H., Bowden P.E., Patel G.K.: Defining and targeting differentiation pathways in non-melanoma skin cancer. 2013 International Investigative Dermatology Meeting, 8-11th May 2013 Edinburg, Scotland. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(Suppl 1): S74.
- Berkowitz P., Hu P., Warren S., Liu Z. i wsp.: p38MAPK inhibition prevents disease in pemphigus vulgaris mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103(34): 12855-60.
- Bernard P., Dupuy A., Sasco A., Brun P. i wsp.: Basal cell carcinomas and actinic keratoses seen in dermatological practice in France: a cross-sectional survey. *Dermatology.* 2008; 216(3): 194-9.
- Biedermann K., Vogelsang H., Becker I., Plaschke S. i wsp.: Desmoglein 2 is expressed abnormally rather than mutated in familial and sporadic gastric cancer. *J Pathol.* 2005; 207(2): 199-206.
- Biedermann T., Pontiggia L., Böttcher-Haberzeth S., Tharakan S. i wsp.: Human eccrine sweat gland cells can reconstitute a stratified epidermis. *J Invest Dermatol.* 2010; 130(8): 1996-2009.
- Bircan S., Candir O., Kapucoglu N., Baspinar S. The expression of p63 in basal cell carcinomas and association with histological differentiation. *J Cutan Pathol.* 2006; 33(4): 293-8.
- Boggon T.J., Murray J., Chappuis-Flament S., Wong E. i wsp.: C-cadherin ectodomain structure and implications for cell adhesion mechanisms. *Science.* 2002; 296(5571): 1308-13.
- Bollag W.B., Hill W.D.: CXCR4 in epidermal keratinocytes: crosstalk within the skin. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(11): 2505-8.
- Bonifas J.M., Bare J.W., Kerschmann R.L., Master S.P. i wsp.: Parental origin of chromosome 9q22.3-q31 lost in basal cell carcinomas from basal cell nevus syndrome patients. *Hum Mol Genet.* 1994; 3(3): 447-8.
- Boran C., Parlak A.H., Erkol H.: Collision tumour of trichofolliculoma and basal cell carcinoma. *Australas J Dermatol.* 2007; 48(2): 127-9.
- Borzęcki A., Szponar-Bojda A., Szubstarski F.: Trichepithelioma - trudności diagnostyczne. *Przeegl Dermatol.* 2013; 100(4): 110-17.
- Botchkarev V.: Epigenetic mechanisms controlling epidermal development and differentiation. State of the Art Lecture. Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology. Albuquerque, New Mexico, 07-11th May 2014.
- Bowman P.H., Ratz J.L., Knoepp T.G., Barnes C.J. i wsp.: Basosquamous carcinoma. *Dermatol Surg.* 2003; 29(8): 830-2; discussion 833.
- Bowszyc-Dmochowska M., Gornowicz J., Seraszek-Jaros A., Kaczmarek E. i wsp.: Quantitative digital morphometry reveals decreased expression of desmoglein 3, but increased expression of desmoglein 2, in basal cell carcinomas. 40th Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research. 9-11th Sept 2010, Helsinki, Finland. *J Invest Dermatol.* 2010; 130(Suppl 2): S23.
- Boyd A.S., Rapini R.P.: Cutaneous collision tumors. An analysis of 69 cases and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 1994; 16(3): 253-7.
- Braun-Falco M.: Combined malignant melanoma and basal cell carcinoma tumor of the intermingled type. *J Cutan Pathol.* 2007; 34(9): 731-5.
- Brennan D., Hu Y., Klujuic A., Choi Y. i wsp.: Differential structural properties and expression patterns suggest functional significance for multiple mouse desmoglein 1 isoforms. *Differentiation.* 2004; 72(8): 434-49.
- Brennan D., Hu Y., Joubeh S., Choi Y.W. i wsp.: Suprabasal Dsg2 expression in transgenic mouse skin confers a hyperproliferative and apoptosis-resistant phenotype to keratinocytes. *J Cell Sci.* 2007; 120(Pt 5): 758-71.
- Brennan D., Mahoney M.G.: Increased expression of Dsg2 in malignant skin carcinomas: A tissue-microarray based study. *Cell Adh Migr.* 2009; 3(2): 148-54.
- Brennan D., Hu Y., Medhat W., Dowling A. i wsp.: Superficial dsg2 expression limits epidermal blister formation mediated by pemphigus foliaceus antibodies and exfoliative toxins. *Dermatol Res Pract.* 2010; 2010:410278.
- Brennan D., Peltonen S., Dowling A., Medhat W. i wsp.: A role for caveolin-1 in desmoglein binding and desmosome dynamics. *Oncogene.* 2012; 31(13): 1636-48.
- Brosseau J.P., Lucier J.F., Lapointe E., Durand M. i wsp.: High-throughput quantification of splicing isoforms. *RNA.* 2010; 16(2): 442-9.
- Brosseau J.P., Lucier J.F., Lamarche A.A., Shkreta L. i wsp.: Redirecting splicing with bifunctional oligonucleotides. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(6): e40.
- Brown L., Waseem A., Cruz I.N., Szary J. i wsp.: Desmoglein 3 promotes cancer cell migration and invasion by regulating activator protein 1 and protein kinase C-dependent-Ezrin activation. *Oncogene.* 2014; 33(18): 2363-74.
- Buxton R.S., Magee A.I.: Structure and interactions of desmosomal and other cadherins. *Semin Cell Biol.* 1992; 3(3): 157-67.
- Buxton R.S., Cowin P., Franke W.W., Garrod D.R. i wsp.: Nomenclature of the desmosomal cadherins. *J Cell Biol.* 1993; 121(3): 481-3.
- Cabrera H.N., Gómez M.L.: Skin cancer induced by arsenic in the water. *J Cutan Med Surg.* 2003; 7(2): 106-11.
- Castori M., Castiglia D., Passarelli F., Paradisi M.: Bazex-Duprè-Christol syndrome: an ectodermal dysplasia with skin appendage neoplasms. *Eur J Med Genet.* 2009; 52(4): 250-5.
- Ceilley R.I., Del Rosso J.Q.: Current modalities and new advances in the treatment of basal cell carcinoma. *Int J Dermatol.* 2006; 45(5): 489-98.
- Ceylan C., Oztürk G., Alper S.: Non-melanoma skin cancers between the years of 1990 and 1999 in Izmir, Turkey: demographic and clinicopathological characteristics. *J Dermatol.* 2003; 30(2): 123-31.
-

-
- Chan E.F., Gat U., McNiff J.M., Fuchs E.: A common human skin tumour is caused by activating mutations in beta-catenin. *Nat Genet.* 1999; 21(4): 410–3.
- Chan P.C., Haseman J.K., Boorman G.A., Huff J. i wsp.: Forestomach lesions in rats and mice administered 3-chloro-2-methylpropene by gavage for two years. *Cancer Res.* 1986; 46(12 Pt 1): 6349–52.
- Chen G.S., Yu H.-S., Lan C.C., Chow K.C. i wsp.: CXCR4 chemokine receptor CXCR4 expression enhances tumorigenesis and angiogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2006; 154(5): 910–8.
- Chen J., Nekrasova O.E., Patel D.M., Klessner J.L. i wsp.: The C-terminal unique region of desmoglein 2 inhibits its internalization via tail-tail interactions. *J Cell Biol.* 2012; 199(4): 699–711.
- Chen Y.J., Chang J.T., Lee L., Wang H.M. i wsp.: DSG3 is overexpressed in head neck cancer and is a potential molecular target for inhibition of oncogenesis. *Oncogene.* 2007; 26(3): 467–76.
- Chen Y.J., Lee L.Y., Chao Y.K., Chang J.T. i wsp.: DSG3 facilitates cancer cell growth and invasion through the DSG3-plakoglobin-TCF/LEF-Myc/cyclin D1/MMP signaling pathway. *PloS One.* 2013; 8(5): e64088.
- Chiang C., Swan R.Z., Grachtchouk M., Bolinger M. i wsp.: Essential role for sonic hedgehog during hair follicle morphogenesis. *Dev Biol.* 1999; 205(1): 1–9.
- Chidgey M.: Desmosomes and disease: an update. *Histol Histopathol.* 2002; 17(4): 1179–92.
- Chidgey M., Dawson C.: Desmosomes: a role in cancer? *Br J Cancer.* 2007; 96(12): 1783–7.
- Chinem V.P., Miot H.A.: Epidemiology of basal cell carcinoma. *An Bras Dermatol.* 2011; 86(2): 292–305.
- Cho S., Kim M.H., Whang K.K., Hahm J.H.: Clinical and histopathological characteristics of basal cell carcinoma in Korean patients. *J Dermatol.* 1999; 26(8): 494–501.
- Chruśliński A., Niškiewicz I., Puchała A., Zajkowska M. i wsp.: Przypadek śluzówkowo-skórnej odmiany pęcherzycy zwykłej w przebiegu raka płaskonabłonkowego w obrębie jamy ustnej leczonego radioterapią. *Dermatol Klin.* 2009; 11(1): 37–41.
- Chu C.Y., Cha S.T., Lin W.C., Lu P.H. i wsp.: Stromal cell-derived factor-1alpha (SDF-1alpha/CXCL12)-enhanced angiogenesis of human basal cell carcinoma cells involves ERK1/2-NF-kappaB/interleukin-6 pathway. *Carcinogenesis.* 2009; 30(2): 205–13.
- Chu C.Y., Sheen Y.S., Cha S.T., Hu Y.F., i wsp.: Induction of chemokine receptor CXCR4 expression by transforming growth factor- β 1 in human basal cell carcinoma cells. *J Dermatol Sci.* 2013; 72(2): 123–33.
- Ciatto C., Bahna F., Zampieri N., VanSteenhouse H.C. i wsp.: T-cadherin structures reveal a novel adhesive binding mechanism. *Nat Struct Mol Biol.* 2010; 17(3): 339–47.
- Cichewicz A., Czajkowski R.: Ognisko raka podstawonabłonkowej skóry w znamieniu barwnikowym wrodzonym (guz kolizyjny) - opis przypadku. *Polska Akademia Dermatologii i Wenerologii. IX Sympozjum Naukowo-Szkoleniowe "Dermatologia 2014 - oczekiwania i potrzeby"*, 29.05.2014-1.06.2014, Wisła, Polska.
- Cirillo N., Lanza M., De Rosa A., Cammarota M. i wsp.: The most widespread desmosomal cadherin, desmoglein 2, is a novel target of caspase 3-mediated apoptotic machinery. *J Cell Biochem.* 2008; 103(2): 598–606.
- Ciurea M.E., Cernea D., Georgescu C.C., Cotoi O.S. i wsp.: Expression of CXCR4, MMP-13 and β -catenin in different histological subtypes of facial basal cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol.* 2013; 54(4): 939–51.
- Cohen P.R., Schulze K.E., Nelson B.R.: Basal cell carcinoma with mixed histology: a possible pathogenesis for recurrent skin cancer. *Dermatol Surg.* 2006; 32(4): 542–51.
- Collins C.A., Kretschmar K., Watt F.M.: Reprogramming adult dermis to a neonatal state through epidermal activation of β -catenin. *Development.* 2011; 138(23): 5189–99.
- Colmont C.S., Benketah A., Reed S.H., Hawk N.V. i wsp.: CD200-expressing human basal cell carcinoma cells initiate tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110(4): 1434–9.
- Cornejo K.M., Deng A.C.: Malignant melanoma within squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma: is it a combined or collision tumor?--a case report and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 2013; 35(2): 226–34.
- Cotsarelis G., Sun T.T., Lavker R.M.: Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell.* 1990; 61(7): 1329–37.
- Coulthard L.R., White D.E., Jones D.L., McDermott M.F. i wsp.: p38MAPK: stress responses from molecular mechanisms to therapeutics. *Trends Mol Med.* 2009; 15(8): 369–79.
- Coups E.J., Manne S.L., Heckman C.J.: Multiple skin cancer risk behaviors in the U.S. population. *Am J Prev Med.* 2008; 34(2): 87–93.
- Cristaldi E., Malaguarnera G., Rando A., Malaguarnera M.: A Possible Link Between Autoimmunity and Cancer. [w:] *Autoimmune Disorders - Pathogenetic Aspects* [Internet]. Mavragani C. ed., InTech, Rijeka, Chorwacja; 2011 (cytowane 27 września 2014).
<http://www.intechopen.com/books/autoimmune-disorders-pathogenetic-aspects/a-possible-link-between-autoimmunity-and-cancer>
- Cserhalmi-Friedman P.B., Frank J.A., Ahmad W., Panteleyev A.A. i wsp.: Structural analysis reflects the evolutionary relationship between the human desmocollin gene family members. *Exp Dermatol.* 2001; 10(2): 95–9.
- Cui L.H., Shin M.H., Kweon S.S., Kim H.N. i wsp.: Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with gastric and colorectal cancer in a Korean population. *BMC Cancer.* 2010; 10(1): 236.
- Curtis J., Tanner P., Judd C., Childs B. i wsp.: Acrylic nail curing UV lamps: High-intensity exposure warrants further research of skin cancer risk. *J Am Acad Dermatol.* 2013; 69(6): 1069–70.
- Czarnecki D., Collins N., Meehan C., O'Brien T. i wsp.: Basal-cell carcinoma in temperate and tropical Australia. *Int J Cancer.* 1992; 50(6): 874–5.
- Darash-Yahana M., Pikarsky E., Abramovitch R., Zeira E. i wsp.: Role of high expression levels of CXCR4 in tumor growth, vascularization, and metastasis. *FASEB J.* 2004; 18(11): 1240–2.
-

- Deja M., Teresiak E., Buczyńska-Górna M., Karaś A. i wsp.: Analysis of the appearance of different histological types of basal cell carcinoma, localization of the lesions, the age and sex of patients. *Postep Derm Alergol.* 2004; 21(5): 231–9.
- Delfino S., Innocenzi D., Di Lorenzo G., Scalvenzi M. i wsp.: An increase in basal cell carcinoma among the young: an epidemiological study in a middle-south Italian population. *Anticancer Res.* 2006; 26(6C): 4979–83.
- Delpech-Stewart A.: An immunofluorescent study of antigenic structures in the development of human epidermis. *J Histochem Cytochem.* 1971; 19(10): 627–9.
- Delva E., Tucker D.K., Kowalczyk A.P.: The desmosome. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009; 1(2): a002543.
- Demirseren D.D., Ceran C., Aksam B., Demirseren M.E. i wsp.: Basal cell carcinoma of the head and neck region: a retrospective analysis of completely excised 331 cases. *J Skin Cancer.* 2014; 2014: 858636.
- De Vries E., Louwman M., Bastiaens M., de Gruijil F. i wsp.: Rapid and continuous increases in incidence rates of basal cell carcinoma in the southeast Netherlands since 1973. *J Invest Dermatol.* 2004; 123(4): 634–8.
- DiGiovanna J.J., Kraemer K.H.: Shining a light on xeroderma pigmentosum. *J Invest Dermatol.* 2012; 132(3 Pt 2): 785–96.
- Dmochowski M.: Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe. Wydawnictwo Naukowe Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego; Poznań, 2006. <http://www.dmochowski.com.pl>
- Dmochowski M.: Body orifices and mucous membranes in pemphigus vulgaris. *Dermatol Klin.* 2007; 9(2): 124–31.
- Dmochowski M., Gornowicz-Porowska J., Pietkiewicz P., Kaczmarek E. i wsp.: An attempt to assess the expression of desmogleins 2 and 3 with fluorescent in situ hybridization and immunohistochemistry in basal cell carcinomas. 2013 International Investigative Dermatology Meeting, 8-11th May 2013 Edinburg, Scotland. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(Suppl 1): S56.
- Dmochowski M., Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M.: Intake of antihypertensives suspected, according to published reports, of triggering pemphigus by pemphigus patients: The large-scale problem. Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology. Albuquerque, New Mexico, 07-11th May 2014. *J Invest Dermatol.* 2014a; 134(Suppl 1): S49.
- Dmochowski M., Bowszyc-Dmochowska M., Gornowicz-Porowska J., Pietkiewicz P.: Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe w starości. Spersonalizowane naświetlenie zagadnienia. *Dermatol Klin.* 2014b; 16(1): 25–34.
- Dobroń K., Karabasz M.: Solarium tylko dla dorosłych. Poślowie szykują zmiany. [Internet]. Głos Wielkopolski. 5 sierpnia 2014 (cytowane 16 września 2014). <http://www.gloswielkopolski.pl/artukul/3529307.solarium-tylko-dla-doroslych-poslowie-szykuja-zmiany.id.t.html?cookie=1>
- Donovan J.: Review of the hair follicle origin hypothesis for basal cell carcinoma. *Dermatol Surg.* 2009; 35(9): 1311–23.
- Dourmishev L.A., Rusinova D., Botev I.: Clinical variants, stages, and management of basal cell carcinoma. *Indian Dermatol Online J.* 2013; 4(1): 12–7.
- Dua-Awreh M.B., Shimomura Y., Kraemer L., Wajid M. i wsp.: Mutations in the desmoglein 1 gene in five Pakistani families with striate palmoplantar keratoderma. *J Dermatol Sci.* 2009; 53(3): 192–7.
- Duhra P., Foulds I.S.: Basal-cell carcinoma complicating a port-wine stain. *Clin Exp Dermatol.* 1991; 16(1): 63–5.
- Dusek R.L., Getsios S., Chen F., Park J.K. i wsp.: The differentiation-dependent desmosomal cadherin desmoglein 1 is a novel caspase-3 target that regulates apoptosis in keratinocytes. *J Biol Chem.* 2006; 281(6): 3614–24.
- Dusek R.L., Attardi L.D.: Desmosomes: new perpetrators in tumour suppression. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11(5): 317–23.
- Dziennik Ustaw RP, Poz. 1138. Ustawa z dnia 22 lipca 2014 r. o zmianie ustawy o świadczeniach opieki zdrowotnej finansowanych ze środków publicznych oraz niektórych innych ustaw. [Internet]. 2014 (cytowane 28 lutego 2015). <http://dziennikustaw.gov.pl/du/2014/1138/1>
- Eberl M., Klingler S., Mangelberger D., Loipetzberger A. i wsp.: Hedgehog-EGFR cooperation response genes determine the oncogenic phenotype of basal cell carcinoma and tumour-initiating pancreatic cancer cells. *EMBO Mol Med.* 2012; 4(3): 218–33.
- Eckert R.L., Adhikary G., Balasubramanian S., Rorke E.A. i wsp.: Biochemistry of epidermal stem cells. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1830(2): 2427–34.
- Efron P.A., Chen M.K., Glavin F.L., Kays D.W. i wsp.: Pediatric basal cell carcinoma: case reports and literature review. *J Pediatr Surg.* 2008; 43(12): 2277–80.
- El-Amraoui A., Petit C.: Cadherins as Targets for Genetic Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010; 2(1): a003095.
- Elias P.M., Matsuyoshi N., Wu H., Lin C. i wsp.: Desmoglein isoform distribution affects stratum corneum structure and function. *J Cell Biol.* 2001; 153(2): 243–9.
- Epstein E.H.: Basal cell carcinomas: attack of the hedgehog. *Nat Rev Cancer.* 2008; 8(10): 743–54.
- Ericson U., Sonestedt E., Ivarsson M.I.L., Gullberg B. i wsp.: Folate intake, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, and breast cancer risk in women from the Malmö diet and cancer cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18(4): 1101–10.
- Eshkind L., Tian Q., Schmidt A., Franke W.W. i wsp.: Loss of desmoglein 2 suggests essential functions for early embryonic development and proliferation of embryonal stem cells. *Eur J Cell Biol.* 2002; 81(11): 592–8.
- „Eurostat | Causes of death statistics - Statistics Explained”. 2014. http://epp.eurostat.ec.europa.eu/statistics_explained/index.php/Causes_of_death_statistics

- Evans D.G., Farndon P.A., Burnell L.D., Gattamaneni H.R. i wsp.: The incidence of Gorlin syndrome in 173 consecutive cases of medulloblastoma. *Br J Cancer*. 1991; 64(5): 959–61.
- Falkenstein K.N., Vokes S.A.: Transcriptional regulation of graded hedgehog signaling. *Semin Cell Dev Biol*. 2014; 33C: 73–80.
- Fang W.K., Chen B., Xu X.E., Liao L.D. i wsp.: Altered expression and localization of desmoglein 3 in esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Histochem*. 2014; 116(5): 803–9.
- Farhi D., Dupin N., Palangié A., Carlotti A. i wsp.: Incomplete excision of basal cell carcinoma: rate and associated factors among 362 consecutive cases. *Dermatol Surg*. 2007; 33(10): 1207–14.
- Faurschou A., Wulf H.C.: Ecological analysis of the relation between sunbeds and skin cancer. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2007; 23(4): 120–5.
- Ferreira F.R., Pevide B. da C., Rodrigues R.F., Nascimento L.F.C. i wsp.: Differences in age and topographic distribution of the different histological subtypes of basal cell carcinoma, Taubaté (SP), Brazil. *An Bras Dermatol*. 2013; 88(5): 726–30.
- Festa F., Kumar R., Sanyal S., Undén B. i wsp.: Basal cell carcinoma and variants in genes coding for immune response, DNA repair, folate and iron metabolism. *Mutat Res*. 2005; 574(1-2): 105–11.
- Flohil S.C., Seubring I., van Rossum M.M., Coebergh J.W.W. i wsp.: Trends in basal cell carcinoma incidence rates: a 37-year Dutch observational study. *J Invest Dermatol*. 2013; 133(4): 913–8.
- Franceschi S., Dal Maso L., Arniani S., Crosignani P. i wsp.: Risk of cancer other than Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in persons with AIDS in Italy. *Cancer and AIDS Registry Linkage Study*. *Br J Cancer*. 1998; 78(7): 966–70.
- Franke W.W.: Discovering the molecular components of intercellular junctions--a historical view. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009; 1(3): a003061.
- Frye M., Gardner C., Li E.R., Arnold I. i wsp.: Evidence that Myc activation depletes the epidermal stem cell compartment by modulating adhesive interactions with the local microenvironment. *Development*. 2003; 130(12): 2793–808.
- Fuchs E., Raghavan S.: Getting under the skin of epidermal morphogenesis. *Nat Rev Genet*. 2002; 3(3): 199–209.
- Fuchs E.: Finding one's niche in the skin. *Cell Stem Cell*. 2009; 4(6): 499–502.
- Fujinami R.S., von Herrath M.G., Christen U., Whitton J.L.: Molecular mimicry, bystander activation, or viral persistence: infections and autoimmune disease. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(1): 80–94.
- Fukuoka J., Dracheva T., Shih J.H., Hewitt S.M. i wsp.: Desmoglein 3 as a prognostic factor in lung cancer. *Hum Pathol*. 2007; 38(2): 276–83.
- Gailani M.R., Leffell D.J., Ziegler A., Gross E.G. i wsp.: Relationship between sunlight exposure and a key genetic alteration in basal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1996; 88(6): 349–54.
- Gallagher R.P., Bajdik C.D., Fincham S., Hill G.B. i wsp.: Chemical exposures, medical history, and risk of squamous and basal cell carcinoma of the skin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1996; 5(6): 419–24.
- Galván-Portillo M.V., Cantoral A., Oñate-Ocaña L.F., Chen J. i wsp.: Gastric cancer in relation to the intake of nutrients involved in one-carbon metabolism among MTHFR 677 TT carriers. *Eur J Nutr*. 2009; 48(5): 269–76.
- Garrod D.R., Merritt A.J., Nie Z.: Desmosomal cadherins. *Curr Opin Cell Biol*. 2002; 14(5): 537–45.
- Getsios S., Simpson C.L., Kojima S., Harmon R. i wsp.: Desmoglein 1-dependent suppression of EGFR signaling promotes epidermal differentiation and morphogenesis. *J Cell Biol*. 2009; 185(7): 1243–58.
- Ghadially F.N.: The role of the hair follicle in the origin and evolution of some cutaneous neoplasms of man and experimental animals. *Cancer*. 1961; 14: 801–16.
- Ghanadan A., Abbasi A., Rabet M., Abdollahi P. i wsp.: Characteristics of mixed type basal cell carcinoma in comparison to other BCC subtypes. *Indian J Dermatol*. 2014; 59(1): 56–9.
- Giles G.G., Marks R., Foley P.: Incidence of non-melanocytic skin cancer treated in Australia. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1988; 296(6614): 13–7.
- Gorlin R.J., Goltz R.W.: Multiple nevoid basal-cell epithelioma, jaw cysts and bifid rib. A syndrome. *N Engl J Med*. 1960; 262: 908–12.
- Gorlin R.J.: Nevoid basal cell carcinoma (Gorlin) syndrome. *Genet Med*. 2004; 6(6): 530–9.
- Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Seraszek A., Kaczmarek E. i wsp.: Zmniejszona ekspresja białka desmogleiny 3, ujawniona ilościową morfometrią cyfrową, w rakach podstawnkomórkowych a patogeneza pęcherzycy zwykłej. *Dermatol Klin* 2009; 11(4): 191–94.
- Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Od autoprzeciwiactw do powstania pęcherza – przewodzenie sygnałów w pęcherzycy zwykłej i liściastej. *Dermatol Klin* 2010; 12(2): 117–23.
- Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Desmosomal Cadherins in Basal Cell Carcinomas. [w:] *Skin Cancer Overview*. Yaguang Xi ed., InTech, Rijeka, Chorwacja, 2011a. <http://www.intechopen.com/books/skin-cancer-overview/desmosomal-cadherins-in-basal-cell-carcinomas>
- Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Seraszek-Jaros A., Kaczmarek E. i wsp.: Loss of correlation between intensities of desmoglein 2 and desmoglein 3 expression in basal cell carcinomas. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2011b; 19(3): 150–5.
- Gornowicz-Porowska J., Pietkiewicz P., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Immunoglobulin G4 is prevailing over immunoglobulin G1 in autoimmunity of pemphigus and bullous pemphigoid: analysis of tissue-bound antibodies in active diseases. *Cent Eur J Immunol*. 2013; 38(1): 80–91.
- Gornowicz-Porowska J., Dmochowski M., Pietkiewicz P., Bowszyc-Dmochowska M.: Zróżnicowana ekspresja desmogleiny 2 i 3 na poziomie białka i mRNA w raku podstawnkomórkowym. 2014a. <http://www.edermatologia.pl/Zroznicowana-ekspresja-desmogleiny-2-i-3-na-poziomie-bialka-i-mRNA-w-raku-podstawnkomorkowym,11722.html> (opublikowano 10 lutego 2014; cytowane 30 września 2014)

-
- Gornowicz-Porowska J., Dmochowski M., Pietkiewicz P., Bowszyc-Dmochowska M.: Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe a nowotworzenie złośliwe. 2014b.
<http://www.edermatologia.pl/Autoimmunizacyjne-dermatozy-pecherzowe-a-nowotworzenie-zlosliwe.13513.html>
(opublikowano 22 lipca 2014; cytowane 30 września 2014)
- Gornowicz-Porowska J., Pietkiewicz P., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Contact mucosal-dominant pemphigus vulgaris in a captopril-taking woman with a history of angioedema. *An Bras Dermatol*. [przyjęto do druku 17 marca 2014]
- Grachtchouk M., Pero J., Yang S.H., Ermilov A.N. i wsp.: Basal cell carcinomas in mice arise from hair follicle stem cells and multiple epithelial progenitor populations. *J Clin Invest*. 2011; 121(5): 1768–81.
- Grachtchouk M., Wilbert D., Pero J., Fiehlet K. i wsp.: Oncogene addiction distinguishes malignant from benign skin tumors caused by deregulated Hedgehog signaling. 2013 International Investigative Dermatology Meeting, 8-11th May 2013, Edinburg, Scotland. *J Invest Dermatol*. 2013; 133(Suppl 1): S75.
- Grachtchouk V., Grachtchouk M., Lowe L., Johnson T. i wsp.: The magnitude of hedgehog signaling activity defines skin tumor phenotype. *EMBO J*. 2003; 22(11): 2741–51.
- Green K.J., Simpson C.R.: Desmosomes: new perspectives on a classic. *J Invest Dermatol*. 2007; 127(11): 2499–2515.
- Green K.J., Niessen C.M., Godsel L.M., Kulesz-Martin M.F.: Montagna Symposium 2012: Keeping it all together—adhesion, the cytoskeleton, and signaling in morphogenesis and tissue function. *J Invest Dermatol*. 2013; 133(5): 1124–8.
- Greiner R.: Skin cancer: new markers for better prevention. *Pathobiology*. 2009; 76(2): 64–81.
- Griewank K.G., Murali R., Schilling B., Schimming T. i wsp.: TERT promoter mutations are frequent in cutaneous basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. *PLoS ONE*. 2013; 8(11): e80354.
- Grimwood R.E., Ferris C.F., Mercill D.B., Huff J.C.: Proliferating cells of human basal cell carcinoma are located on the periphery of tumor nodules. *J Invest Dermatol*. 1986; 86(2): 191–4.
- Guardavaccaro D., Clevers H.: Wnt/ β -catenin and MAPK signaling: allies and enemies in different battlefields. *Sci Signal*. 2012; 5(219): pe15.
- Gudbjartsson D.F., Sulem P., Stacey S.N., Goldstein A.M. i wsp.: ASIP and TYR pigmentation variants associate with cutaneous melanoma and basal cell carcinoma. *Nat Genet*. 2008; 40(7): 886–91.
- Gumbiner B.M.: Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005; 6(8): 622–34.
- Hahn H., Wicking C., Zaphiropoulos P.G., Gailani M.R. i wsp.: Mutations of the human homolog of *Drosophila* patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell*. 1996; 85(6): 841–51.
- Hahn H., Wojnowski L., Miller G., Zimmer A.: The patched signaling pathway in tumorigenesis and development: lessons from animal models. *J Mol Med (Berl)*. 1999; 77(6): 459–68.
- Hakverdi S., Balci D.D., Dogramaci C.A., Toprak S. i wsp.: Retrospective analysis of basal cell carcinoma. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2011; 77(2): 251.
- Halbleib J.M., Nelson W.J.: Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis. *Genes Dev*. 2006; 20(23): 3199–214.
- Han J., Colditz G.A., Samson L.D., Hunter D.J.: Polymorphisms in DNA double-strand break repair genes and skin cancer risk. *Cancer Res*. 2004; 64(9): 3009–13.
- Hardy M.H.: The secret life of the hair follicle. *Trends Genet*. 1992; 8(2): 55–61.
- Harmon R.M., Simpson C.L., Johnson J.L., Koetsier J.L. i wsp.: Desmoglein-1/erbin interaction suppresses ERK activation to support epidermal differentiation. *J Clin Invest*. 2013; 123(4): 1556–70.
- Harris P.J., Takebe N., Ivy S.P.: Molecular conversations and the development of the hair follicle and basal cell carcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010; 3(10): 1217–21.
- Hartlieb E., Kempf B., Partilla M., Vigh B. i wsp.: Desmoglein 2 is less important than desmoglein 3 for keratinocyte cohesion. *PLoS One*. 2013; 8(1): e53739.
- Hartlieb E., Rötzer V., Radeva M., Spindler V. i wsp.: Desmoglein 2 compensates for desmoglein 3 but does not control cell adhesion via regulation of p38 mitogen-activated protein kinase in keratinocytes. *J Biol Chem*. 2014; 289(24): 17043–53.
- Harwood C.A., Suretheran T., McGregor J.M., Spink P.J. i wsp.: Human papillomavirus infection and non-melanoma skin cancer in immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J Med Virol*. 2000; 61(3): 289–97.
- Hassan Z., Ahmad F., Brackley P.: Recurrent lentigo maligna melanoma commingling the tumour nests of a basal cell carcinoma. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg*. 2013; 66(8): e227–8.
- Hauschild A., Breuninger H., Kaufmann R., Kortmann R.D. i wsp.: Short German guidelines: basal cell carcinoma. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2008; 6(Suppl 1): S2–4.
- Heenen M., Achten G., Galand P.: Autoradiographic analysis of cell kinetics in human normal epidermis and basal cell carcinoma. *Cancer Res*. 1973; 33(1): 123–7.
- Heffelfinger C., Ouyang Z., Engberg A., Leffell D.J. i wsp.: Correlation of global microRNA expression with basal cell carcinoma subtype. *G3 Bethesda*. 2012; 2(2): 279–86.
- Helak-Łapaj C.: Metody analizy komputerowej ekspresji reakcji immunohistochemicznej i histochemicznej oraz ocena struktur w badaniach mikroskopowych. Rozprawa doktorska. Poznań, 2012.
<http://www.wbc.poznan.pl/dlibra/doccontent?id=245828&from=FBC>
- Hennies H.C., Küster W., Mischke D., Reis A.: Localization of a locus for the striated form of palmoplantar keratoderma to chromosome 18q near the desmosomal cadherin gene cluster. *Hum Mol Genet*. 1995; 4(6): 1015–20.
-

- Hentula M., Peltonen J., Peltonen S.: Expression profiles of cell-cell and cell-matrix junction proteins in developing human epidermis. *Arch Dermatol Res.* 2001; 293(5): 259–67.
- Hershkovitz D., Lugassy J., Indelman M., Bergman R. i wsp.: Novel mutations in DSG1 causing striate palmoplantar keratoderma. *Clin Exp Dermatol.* 2009; 34(2): 224–8.
- Hirakawa E., Miki H., Kobayashi S., Nomura Y., Ohmori M.: Collision tumor of cutaneous malignant melanoma and basal cell carcinoma. *Pathol Res Pract.* 1998; 194(9): 649–53.
- Holbrook K.A., Odland G.F.: The fine structure of developing human epidermis: light, scanning, and transmission electron microscopy of the periderm. *J Invest Dermatol.* 1975; 65(1): 16–38.
- Holbrook K.A., Odland G.F.: Regional development of the human epidermis in the first trimester embryo and the second trimester fetus (ages related to the timing of amniocentesis and fetal biopsy). *J Invest Dermatol.* 1980; 74(3): 161–8.
- Huang C.C., Lee T.J., Chang P.H., Lee Y.S. i wsp.: Desmoglein 3 is overexpressed in inverted papilloma and squamous cell carcinoma of sinonasal cavity. *The Laryngoscope.* 2010; 120(1): 26–9.
- Hulpiau P., van Roy F.: Molecular evolution of the cadherin superfamily. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; 41(2): 349–69.
- Hulpiau P., van Roy F.: New insights into the evolution of metazoan cadherins. *Mol Biol Evol.* 2011; 28(1): 647–57.
- Hussain AA, Themstrup L, Jemec GBE. Optical coherence tomography in the diagnosis of basal cell carcinoma. *Arch Dermatol Res.* 2015; 307(1): 1–10.
- Iacopetta B., Heyworth J., Girschik J., Grieu F. i wsp.: The MTHFR C677T and deltaDNMT3B C-149T polymorphisms confer different risks for right- and left-sided colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2009; 125(1): 84–90.
- Iannacone M.R., Gheit T., Waterboer T., Giuliano A.R. i wsp.: Case-control study of cutaneous human papillomavirus infection in basal cell carcinoma of the skin. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(6): 1512–20.
- Ingham P.W., Nystedt S., Nakano Y., Brown W. i wsp.: Patched represses the hedgehog signalling pathway by promoting modification of the smoothed protein. *Curr Biol.* 2000; 10(20): 1315–8.
- Ingham P.W., Nakano Y., Seger C.: Mechanisms and functions of hedgehog signalling across the metazoa. *Nat Rev Genet.* 2011; 12(6): 393–406.
- Ionescu D.N., Arida M., Jukic D.M.: Metastatic basal cell carcinoma: four case reports, review of literature, and immunohistochemical evaluation. *Arch Pathol Lab Med.* 2006; 130(1): 45–51.
- Ishida-Yamamoto A., Igawa S.: Genetic skin diseases related to desmosomes and corneodesmosomes. *J Dermatol Sci.* 2014; 74(2): 99–105.
- Ishii K.: Identification of desmoglein as a cadherin and analysis of desmoglein domain structure. *J Invest Dermatol.* 2007; 127(E1): E6–7.
- Itakura E.: The role of cytokines and chemokines in the development of basal cell carcinoma. [w:] *Basal cell carcinoma.* Madan V., ed., InTech, Rijeka, Chorwacja, 2012.
<http://www.intechopen.com/books/howtoreference/basal-cell-carcinoma/the-role-of-cytokines-and-chemokines-in-the-development-of-basal-cell-carcinoma>
- Iwashita K., Matsuyama T., Akasaka E., Mizutani K. i wsp.: The incidence of internal malignancies in autoimmune bullous diseases. *Tokai J Exp Clin Med.* 2007; 32(1): 42–7.
- Jacob A.: Observations reporting an ulcer of peculiar character, which attacks the eyelids and the other parts of the face. *Dublin Hosp Rep.* 1824; (4): 232–9.
- Jacobs G.H., Rippey J.J., Altini M.: Prediction of aggressive behavior in basal cell carcinoma. *Cancer.* 1982; 49(3): 533–7.
- Jasim Z.F., Woo W.K., Walsh M.Y., Handley J.M.: Multifocal basal cell carcinoma developing in a facial port wine stain treated with argon and pulsed dye laser: a possible role for previous radiotherapy. *Dermatol Surg.* 2004; 30(8): 1155–7.
- Jaworek A.K., Trybus M., Pastuszczyk M., Skowron M. i wsp.: Ogromny rak podstawokomórkowy skóry głowy owłosionej (fenomen Monakowa) - opis przypadku. *Przegl Dermatol.* 2012; 99(4): 327.
- Jayaprakasam A., Rene C.: A benign or malignant eyelid lump--can you tell? An unusual collision tumour highlighting the difficulty differentiating a hidrocystoma from a basal cell carcinoma. *BMJ Case Rep.* 2012; 2012.
- Jayaraman S.S., Rayhan D.J., Hazany S., Kolodney M.S.: Mutational landscape of basal cell carcinomas by whole-exome sequencing. *J Invest Dermatol.* 2014; 134(1): 213–20.
- Jiao D., Bystryjn J.C.: Antibodies to desmoplakin in a patient with pemphigus foliaceus. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 1998; 11(2): 169–72.
- Johnson B.F., Moore P.J., Goepel J.R., Slater D.N.: Basosquamous carcinoma, a wolf in sheep's clothing? Report of 3 cases. *Postgrad Med J.* 1989; 65(768): 750–1.
- Jolly P.S., Berkowitz P., Bektas M., Lee H.E. i wsp.: p38MAPK signaling and desmoglein-3 internalization are linked events in pemphigus acantholysis. *J Biol Chem.* 2010; 285(12): 8936–41.
- Jones M.S., Helm K.F., Maloney M.E.: The immunohistochemical characteristics of the basosquamous cell carcinoma. *Dermatol Surg.* 1997; 23(3): 181–4.
- Joshi P.S., Deshmukh V., Golgire S.: Gorlin-Goltz syndrome. *Dent Res J.* 2012; 9(1): 100–6.
- Juszko-Piekut M., Moździerz A., Kołosza Z., Królikowska-Jeruzalska M., i wsp.: Incidence of melanoma and non-melanoma skin cancer in the inhabitants of the Upper Silesia, Poland. [w:] *Highlights in skin cancer.* Vereecken P. ed., InTech, Rijeka, Chorwacja, 2013.
<http://www.intechopen.com/books/highlights-in-skin-cancer/incidence-of-melanoma-and-non-melanoma-skin-cancer-in-the-inhabitants-of-the-upper-silesia-poland>

-
- Kamalpour L., Gammon B., Larsen F., Cashman R. i wsp.: A finding of granuloma faciale associated with basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol.* 2009; 36(10): 1103–4.
- Kamekura R., Kolegraff K.N., Nava P., Hilgarth R.S. i wsp.: Loss of the desmosomal cadherin desmoglein-2 suppresses colon cancer cell proliferation through EGFR signaling. *Oncogene.* 2014; 33(36): 4531–6.
- Karagas M.R., McDonald J.A., Greenberg E.R., Stukel T.A. i wsp.: Risk of basal cell and squamous cell skin cancers after ionizing radiation therapy. For The Skin Cancer Prevention Study Group. *J Natl Cancer Inst.* 1996; 88(24): 1848–53.
- Karagas M.R., Zens M.S., Li Z., Stukel T.A., i wsp.: Early-onset basal cell carcinoma and indoor tanning: a population-based study. *Pediatrics.* 2014; 134(1): e4–12.
- Kasper M., Jaks V., Are A., Bergström Å. i wsp.: Wounding enhances epidermal tumorigenesis by recruiting hair follicle keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108(10): 4099–104.
- Kasper M., Jaks V., Hohl D., Toftgård R.: Basal cell carcinoma - molecular biology and potential new therapies. *J Clin Invest.* 2012; 122(2): 455–63.
- Kechris K., Yang Y.H., Yeh R.F.: Prediction of alternatively skipped exons and splicing enhancers from exon junction arrays. *BMC Genomics.* 2008; 9: 551.
- Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R.: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972; 26(4): 239–57.
- Kershenovich R., Hodak E., Mimouni D.: Diagnosis and classification of pemphigus and bullous pemphigoid. *Autoimmun Rev.* 2014; 13(4-5): 477–81.
- Kim B.S., Lee J.B., Jang H.S., Kwon Y.W. i wsp.: Multiple basal cell carcinomas arising in a port-wine stain with a remote history of therapeutic irradiation. *J Dermatol.* 2004; 31(10): 820–3.
- King I.A., Arnemann J., Spurr N.K., Buxton R.S.: Cloning of the cDNA (DSC1) coding for human type 1 desmocollin and its assignment to chromosome 18. *Genomics.* 1993a; 18(2): 185–94.
- King I.A., Tabiowo A., Purkis P., Leigh I. i wsp.: Expression of distinct desmocollin isoforms in human epidermis. *J Invest Dermatol.* 1993b; 100(4): 373–9.
- King I.A., Sullivan K.H., Bennett R., Buxton R.S.: The desmocollins of human foreskin epidermis: identification and chromosomal assignment of a third gene and expression patterns of the three isoforms. *J Invest Dermatol.* 1995; 105(3): 314–21.
- King I.A., O'Brien T.J., Buxton R.S.: Expression of the „skin-type” desmosomal cadherin DSC1 is closely linked to the keratinization of epithelial tissues during mouse development. *J Invest Dermatol.* 1996; 107(4): 531–8.
- King I.A., Angst B.D., Hunt D.M., Kruger M. i wsp.: Hierarchical expression of desmosomal cadherins during stratified epithelial morphogenesis in the mouse. *Differ Res Biol Divers.* 1997; 62(2): 83–96.
- King R., Lyons J., Meyers A.L., Googe P.B. i wsp.: Primary invasive melanoma and basal cell carcinoma (collision tumor) with blue nevus-like cutaneous metastases. *J Cutan Pathol.* 2007; 34(8): 629–33.
- Kise Y., Morinaka A., Teglund S., Miki H.: Sufu recruits GSK3beta for efficient processing of Gli3. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 387(3): 569–74.
- Kitagawa N., Inai Y., Higuchi Y., Iida H. i wsp.: Inhibition of JNK in HaCaT cells induced tight junction formation with decreased expression of cytokeratin 5, cytokeratin 17 and desmoglein 3. *Histochem Cell Biol.* 2014; 142(4): 389–99.
- Klessner J.L., Desai B.V., Amargo E.V., Getsios S. i wsp.: EGFR and ADAMs cooperate to regulate shedding and endocytic trafficking of the desmosomal cadherin desmoglein 2. *Mol Biol Cell.* 2009; 20(1): 328–37.
- Kljiuc A., Bazzi H., Sundberg J.P., Martinez-Mir A. i wsp.: Desmoglein 4 in hair follicle differentiation and epidermal adhesion: evidence from inherited hypotrichosis and acquired pemphigus vulgaris. *Cell.* 2003; 113(2): 249–60.
- Koblańska M. Nowotwory skóry wyłączone z szybkiej ścieżki onkologicznej – stanowisko prof. Joanny Maj – konsultanta krajowego w dziedzinie dermatologii i wenerologii. [Internet]. *eDermatologia.pl* 2015 (cytowane 28 lutego 2015). <http://www.edermatologia.pl/Nowotwory-skory-wylaczone-z-szybkiej-sciezki-onkologicznej-stanowisko-prof-Joanny-Maj-konsultanta-krajowego-w-dziedzinie-dermatologii-i-wenerologii.15903.html>
- Koch P.J., Goldschmidt M.D., Zimbelmann R., Troyanovsky R. i wsp.: Complexity and expression patterns of the desmosomal cadherins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89(1): 353–7.
- Koch P.J., Franke W.W.: Desmosomal cadherins: another growing multigene family of adhesion molecules. *Curr Opin Cell Biol.* 1994; 6(5): 682–7.
- Kolly C., Suter M.M., Müller E.J.: Proliferation, cell cycle exit, and onset of terminal differentiation in cultured keratinocytes: pre-programmed pathways in control of c-Myc and Notch1 prevail over extracellular calcium signals. *J Invest Dermatol.* 2005; 124(5): 1014–25.
- Korczyński J.: Nobel 2014 – jak mikroskopia stała się nanoskopią, czyli kilka słów o wysokorozdzielczej mikroskopii STED [Seminarium]. Poznań, Polska, 12.03.2015.
- Kordowiak A.M., Kordowiak S.: Traktwy lipidowe - mikrodomeny błon biologicznych. *Post Biol Komorki.* 2011; 38(2): 231–45.
- Kore-eda S., Horiguchi Y., Ueda M., Toda K. i wsp.: Basal cell carcinoma cells resemble follicular matrix cells rather than follicular bulge cells: immunohistochemical and ultrastructural comparative studies. *Am J Dermatopathol.* 1998; 20(4): 362–9.
- Kosiniak-Kamysz A., Pośpiech E., Wojas-Pelc A., Marcińska M. i wsp.: Potential association of single nucleotide polymorphisms in pigmentation genes with the development of basal cell carcinoma. *J Dermatol.* 2012; 39(8): 693–8.
- Kossard S., Epstein Jr. E.H., Cerio R., Yu L.L. i wsp.: Basal cell carcinoma. WHO classification of tumours of soft tissue and bone [Internet]. 4. edycja, Lyon: World Health Organization; 2013. s. 13–19. <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb6/bb6-chap1.pdf>
-

- Kotulska-Kliś M., Jaśkiewicz-Burnejko E.: Brodawczak odwrócony nosa i zatok przynosowych leczony endoskopowo w materiale Klinicznego Oddziału Otolaryngologicznego 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką we Wrocławiu w latach 2006–2008. *Otolaryngol Pol.* 2009; 63(7): 50–3.
- Krajewska W.M., Maśłowska I.: Caveolins: structure and function in signal transduction. *Cell Mol Biol Lett.* 2004; 9(2): 195–220.
- Kricker A., Armstrong B.K., English D.R., Heenan P.J.: Does intermittent sun exposure cause basal cell carcinoma? a case-control study in Western Australia. *Int J Cancer.* 1995; 60(4): 489–94.
- Kubasiewicz M., Starzyński Z.: Case-referent study on skin cancer and its relation to occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. I. Study design. *Pol J Occup Med.* 1989; 2(3): 221–8.
- Kunte C., Barbosa J.M., Wolff H., Meurer M.: [Brazilian pemphigus foliaceus (fogo selvagem)]. *Hautarzt.* 1997; 48(4): 228–33.
- Kurzen H., Moll I., Moll R., Schäfer S. i wsp.: Compositionally different desmosomes in the various compartments of the human hair follicle. *Differentiation.* 1998; 63(5): 295–304.
- Kyrgidis A., Tzellos T.G., Vahtsevanos K., Triaridis S.: New concepts for basal cell carcinoma. Demographic, clinical, histological risk factors, and biomarkers. A systematic review of evidence regarding risk for tumor development, susceptibility for second primary and recurrence. *J Surg Res.* 2010; 159(1): 545–56.
- Lane A.T., Helm K.F., Goldsmith L.A.: Identification of bullous pemphigoid, pemphigus, laminin, and anchoring fibril antigens in human fetal skin. *J Invest Dermatol.* 1985; 84(1): 27–30.
- Lear J.T., Heagerty A.H., Smith A., Bowers B. i wsp.: Multiple cutaneous basal cell carcinomas: glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1) and cytochrome P450 (CYP2D6, CYP1A1) polymorphisms influence tumour numbers and accrual. *Carcinogenesis.* 1996; 17(9): 1891–6.
- Lear J.T., Smith A.G.: Basal cell carcinoma. *Postgrad Med J.* 1997; 73(863): 538–42.
- Lear J.T., Smith A.G., Strange R.C., Fryer A.A.: Detoxifying enzyme genotypes and susceptibility to cutaneous malignancy. *Br J Dermatol.* 2000; 142(1): 8–15.
- Leckband D., Sivasankar S.: Biophysics of cadherin adhesion. *Subcell Biochem.* 2012; 60: 63–88.
- Lee J.S., Yoon H.K., Sohn K.C., Back S.J. i wsp.: Expression of N-terminal truncated desmoglein 3 (Δ NDg3) in epidermis and its role in keratinocyte differentiation. *Exp Mol Med.* 2009; 41(1): 42–50.
- Lee Y.T., Ghanem A.M., Kim J.T., Kim J.D.: A basosquamous cell carcinoma of the periorbital region arising from a chronic wound created by laser ablation of a basal cell carcinoma. *J Craniofac Surg.* 2013; 24(6): e617–9.
- Legan P.K., Yue K.K., Chidgey M.A., Holton J.L. i wsp.: The bovine desmocollin family: a new gene and expression patterns reflecting epithelial cell proliferation and differentiation. *J Cell Biol.* 1994; 126(2): 507–18.
- Lehmann A.R., McGibbon D., Stefanini M.: Xeroderma pigmentosum. *Orphanet J Rare Dis.* 2011; 6: 70.
- Lehmann P.V., Forsthuber T., Miller A., Sercarz E.E.: Spreading of T-cell autoimmunity to cryptic determinants of an autoantigen. *Nature.* 1992; 358(6382): 155–7.
- Leinonen P.T., Hägg P.M., Peltonen S., Jouhilahti E.M. i wsp.: Reevaluation of the normal epidermal calcium gradient, and analysis of calcium levels and ATP receptors in Hailey-Hailey and Darier epidermis. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(6): 1379–87.
- Leonardi G., Vahter M., Clemens F., Goessler W. i wsp.: Inorganic arsenic and basal cell carcinoma in areas of Hungary, Romania, and Slovakia: a case-control study. *Environ Health Perspect.* 2012; 120(5): 721–6.
- Sartore L., Lancerotto L., Salmasso M., Giatsidis G. i wsp.: Facial basal cell carcinoma: analysis of recurrence and follow-up strategies. *Oncol Rep.* 2011; 26(6): 1423–9.
- Lesiak A., Slowik-Rylska M., Rogowski-Tylman M., Sysa-Jedrzejowska A. i wsp.: Risk factors in Central Poland for the development of superficial and nodular basal cell carcinomas. *Arch Med Sci.* 2010; 6(2): 270–5.
- Lesiak A., Norval M., Wodz-Naskiewicz K., Pawliczak R. i wsp.: An enhanced risk of basal cell carcinoma is associated with particular polymorphisms in the VDR and MTHFR genes. *Exp Dermatol.* 2011; 20(10): 800–4.
- Liefer K.M., Koster M.I., Wang X.J., Yang A. i wsp.: Down-regulation of p63 is required for epidermal UV-B-induced apoptosis. *Cancer Res.* 2000; 60(15): 4016–20.
- Lima N.L., Verli F.D., de Miranda J.L., Marinho S.A.: Basosquamous carcinoma: histopathological features. *Indian J Dermatol.* 2012; 57(5): 382–3.
- Lindström E., Shimokawa T., Toftgård R., Zaphiropoulos P.G.: PTCH mutations: distribution and analyses. *Hum Mutat.* 2006; 27(3): 215–9.
- Litak J., Behroozan D., Binder S.: Co-existing basal cell carcinoma and blue nevus in an African-American woman. *J Cutan Pathol.* 2009; 36(10): 1114–6.
- Little N.A., Jochemsen A.G.: p63. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002; 34(1): 6–9.
- Liu L., Callahan M.K., Huang D., Ransohoff R.M.: Chemokine receptor CXCR3: an unexpected enigma. *Curr Top Dev Biol.* 2005; 68: 149–81.
- Lo B.K., Yu M., Zloty D., Cowan B. i wsp.: CXCR3/ligands are significantly involved in the tumorigenesis of basal cell carcinomas. *Am J Pathol.* 2010; 176(5): 2435–46.
- Lo J.S., Snow S.N., Reizner G.T., Mohs F.E. i wsp.: Metastatic basal cell carcinoma: report of twelve cases with a review of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 1991; 24(5 Pt 1): 715–9.
- Lowell S., Jones P., Le Roux I., Dunne J. i wsp.: Stimulation of human epidermal differentiation by delta-notch signalling at the boundaries of stem-cell clusters. *Curr Biol.* 2000; 10(9): 491–500.
- Lu C.P., Polak L., Rocha A.S., Pasolli H.A. i wsp.: Identification of stem cell populations in sweat glands and ducts reveals roles in homeostasis and wound repair. *Cell.* 2012; 150(1): 136–50.
- Ma X., Norsworthy K., Kundu N., Rodgers W.H. i wsp.: CXCR3 expression is associated with poor survival in breast cancer and promotes metastasis in a murine model. *Mol Cancer Ther.* 2009; 8(3): 490–8.

- MacFarlane D.F., Alonso C.A.: Occurrence of nonmelanoma skin cancers on the hands after UV nail light exposure. *Arch Dermatol.* 2009; 145(4): 447–9.
- Madan V., Hoban P., Strange R.C., Fryer A.A. i wsp.: Genetics and risk factors for basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2006; 154(Suppl 1): 5–7.
- Madan V., Lear J.T., Szeimies R.M.: Non-melanoma skin cancer. *The Lancet.* 2010; 375(9715): 673–85.
- Magaña-García M., Magaña-Lozano M.: Multiple basal cell carcinomas arising in port-wine haemangiomas. *Br J Dermatol.* 1988; 119(3): 393–6.
- Mahoney M.G., Simpson A., Aho S., Uitto J., Pulkkinen L.: Interspecies conservation and differential expression of mouse desmoglein gene family. *Exp Dermatol.* 2002; 11(2): 115–25.
- Mahoney M.G., Hu Y., Brennan D., Bazzi H. i wsp.: Delineation of diversified desmoglein distribution in stratified squamous epithelia: implications in diseases. *Exp Dermatol.* 2006; 15(2): 101–9.
- Mancuso M., Gallo D., Leonardi S., Pierdomenico M. i wsp.: Modulation of basal and squamous cell carcinoma by endogenous estrogen in mouse models of skin cancer. *Carcinogenesis.* 2009; 30(2): 340–7.
- Margadant C., Charafeddine R.A., Sonnenberg A.: Unique and redundant functions of integrins in the epidermis. *FASEB J.* 2010; 24(11): 4133–52.
- Marks R.: An overview of skin cancers. Incidence and causation. *Cancer.* 1995; 75(2 Suppl): 607–12.
- Marthiens V., Kazanis I., Moss L., Long K. i wsp.: Adhesion molecules in the stem cell niche--more than just staying in shape? *J Cell Sci.* 2010; 123(Pt 10): 1613–22.
- Martinez C.A., Priolli D.G., Piovesan H., Waisberg J.: Nonsolitary giant perianal trichoepithelioma with malignant transformation into basal cell carcinoma: report of a case and review of the literature. *Dis Colon Rectum.* 2004; 47(5): 773–7.
- Martinez V.D., Vucic E.A., Becker-Santos D.D., Gil L. i wsp.: Arsenic exposure and the induction of human cancers. *J Toxicol.* 2011; 2011: 431287.
- Mascre G., Dekoninck S., Drogat B., Youssef K.K. i wsp.: Distinct contribution of stem and progenitor cells to epidermal maintenance. *Nature.* 2012; 489(7415): 257–62.
- Maumi Y., Suzaki R., Ito N., Sawada M., i wsp.: Squamous cell carcinoma of the soft palate associated with autoantibodies to desmoglein 1 and 3. *Dermatol Pract Concept.* 2013; 3(4): 55–7.
- McCormack C.J., Kelly J.W., Dorevitch A.P.: Differences in age and body site distribution of the histological subtypes of basal cell carcinoma. A possible indicator of differing causes. *Arch Dermatol.* 1997; 133(5): 593–6.
- McGregor D.H., Cherian R., Romanas M.M., Ulusarac O. i wsp.: Amelanotic malignant melanoma: two collision tumors presenting as basal cell carcinoma and atypical fibroxanthoma. *Ann Clin Lab Sci.* 2008; 38(2): 157–62.
- Merritt A.J., Berika M.Y., Zhai W., Kirk S.E. i wsp.: Suprabasal desmoglein 3 expression in the epidermis of transgenic mice results in hyperproliferation and abnormal differentiation. *Mol Cell Biol.* 2002; 22(16): 5846–58.
- Mertz K.D., Proske D., Kettelhack N., Kegel C. i wsp.: Basal cell carcinoma in a series of renal transplant recipients: epidemiology and clinicopathologic features. *Int J Dermatol.* 2010; 49(4): 385–9.
- Michaëlsson G., Olsson E., Westermarck P.: The Rombo syndrome: a familial disorder with vermiculate atrophoderma, milia, hypotrichosis, trichoepitheliomas, basal cell carcinomas and peripheral vasodilation with cyanosis. *Acta Derm Venereol.* 1981; 61(6): 497–503.
- Miller D.L., Weinstock M.A.: Nonmelanoma skin cancer in the United States: incidence. *J Am Acad Dermatol.* 1994; 30(5 Pt 1): 774–8.
- Moll I., Kurzen H., Langbein L., Franke W.W.: The distribution of the desmosomal protein, plakophilin 1, in human skin and skin tumors. *J Invest Dermatol.* 1997; 108(2): 139–46.
- Moloney F.J., Comber H., Conlon P.J., Murphy G.M.: The role of immunosuppression in the pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2006; 154(4): 790–1.
- Monnier V., Dussillol F., Alves G., Lamour-Isnard C. i wsp.: Suppressor of fused links fused and cubitus interruptus on the hedgehog signalling pathway. *Curr Biol.* 1998; 8(10): 583–6.
- Monteagudo C., Martin J.M., Jorda E., Llobart-Bosch A.: CXCR3 chemokine receptor immunoreactivity in primary cutaneous malignant melanoma: correlation with clinicopathological prognostic factors. *J Clin Pathol.* 2007; 60(6): 596–9.
- Mooney E.E., Ruis Peris J.M., O'Neill A., Sweeney E.C.: Apoptotic and mitotic indices in malignant melanoma and basal cell carcinoma. *J Clin Pathol.* 1995; 48(3): 242–4.
- Mosterd K., Krekels G.A., Nieman F.H., Ostertag J.U. i wsp.: 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(12): 1149–56.
- Mouquet H., Farci S., Joly P., Maillère B. i wsp.: A truncated alternative spliced isoform of human desmoglein 1 contains a specific T cell epitope binding to the pemphigus foliaceus-associated HLA class II DRβ1*0102 molecule. *J Immunol.* 2006; 177(9): 6517–26.
- Murphy M., Mabruk M.J., Lenane P., Liew A. i wsp.: Comparison of the expression of p53, p21, Bax and the induction of apoptosis between patients with basal cell carcinoma and normal controls in response to ultraviolet irradiation. *J Clin Pathol.* 2002; 55(11): 829–33.
- Myklebust M.P., Fluge Ø., Immervoll H., Skarstein A. i wsp.: Expression of DSG1 and DSC1 are prognostic markers in anal carcinoma patients. *Br J Cancer.* 2012; 106(4): 756–62.
- Nagao K., Togawa N., Fujii K., Uchikawa H. i wsp.: Detecting tissue-specific alternative splicing and disease-associated aberrant splicing of the PTCH gene with exon junction microarrays. *Hum Mol Genet.* 2005; 14(22): 3379–88.
- Nagel S., Rohr F., Weber C., Kier J. i wsp.: Multipotent nestin-positive stem cells reside in the stroma of human eccrine and apocrine sweat glands and can be propagated robustly in vitro. *PLoS One.* 2013; 8(10): e78365.

-
- Nangia R., Sait S.N., Block A.W., Zhang P.J.: Trisomy 6 in basal cell carcinomas correlates with metastatic potential: a dual color fluorescence in situ hybridization study on paraffin sections. *Cancer*. 2001; 91(10): 1927–32.
- Nasser N.: Epidemiology of basal cell carcinomas in Blumenau, SC, Brazil, from 1980 to 1999. *An Bras Dermatol*. 2005; 80(4): 363–8.
- Natkunarajah J., Cliff S.: Thorium X treatment: multiple basal cell carcinomas within a port-wine stain. *Clin Exp Dermatol*. 2009; 34(5): e189–91.
- Nava P., Laukoetter M.G., Hopkins A.M., Laur O. i wsp.: Desmoglein-2: a novel regulator of apoptosis in the intestinal epithelium. *Mol Biol Cell*. 2007; 18(11): 4565–78.
- Neale R.E., Davis M., Pandeya N., Whiteman D.C. i wsp.: Basal cell carcinoma on the trunk is associated with excessive sun exposure. *J Am Acad Dermatol*. 2007; 56(3): 380–6.
- Nguyen B.C., Lefort K., Mandinova A., Antonini D. i wsp.: Cross-regulation between Notch and p63 in keratinocyte commitment to differentiation. *Genes Dev*. 2006; 20(8): 1028–42.
- Nicolas M., Wolfer A., Raj K., Kummer J.A. i wsp.: Notch1 functions as a tumor suppressor in mouse skin. *Nat Genet*. 2003; 33(3): 416–21.
- Niessen C.M., Gottardi C.J.: Molecular components of the adherens junction. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1778(3): 562–71.
- North A.J., Chidgey M.A., Clarke J.P., Bardsley W.G. i wsp.: Distinct desmocollin isoforms occur in the same desmosomes and show reciprocally graded distributions in bovine nasal epidermis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93(15): 7701–5.
- North A.J., Bardsley W.G., Hyam J., Bornslaeger E.A. i wsp.: Molecular map of the desmosomal plaque. *J Cell Sci*. 1999; 112(Pt 23): 4325–36.
- Nuber U.A., Schäfer S., Schmidt A., Koch P.J. i wsp.: The widespread human desmocollin Dsc2 and tissue-specific patterns of synthesis of various desmocollin subtypes. *Eur J Cell Biol*. 1995; 66(1): 69–74.
- Nuber U.A., Schäfer S., Stehr S., Rackwitz H.R. i wsp.: Patterns of desmocollin synthesis in human epithelia: immunolocalization of desmocollins 1 and 3 in special epithelia and in cultured cells. *Eur J Cell Biol*. 1996; 71(1): 1–13.
- Ohyama M.: Hair follicle bulge: a fascinating reservoir of epithelial stem cells. *J Dermatol Sci*. 2007; 46(2): 81–9.
- Oliphant J.A., Forster J.L., McBride C.M.: The use of commercial tanning facilities by suburban Minnesota adolescents. *Am J Public Health*. 1994; 84(3): 476–8.
- Pacheco-Pinedo E.C., Durham A.C., Stewart K.M., Goss A.M. i wsp.: Wnt/ β -catenin signaling accelerates mouse lung tumorigenesis by imposing an embryonic distal progenitor phenotype on lung epithelium. *J Clin Invest*. 2011; 121(5): 1935–45.
- Papa G., Grandi G., Pascone M.: Collision tumor of malignant skin cancers: a case of melanoma in basal cell carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2006; 202(9): 691–4.
- Parrish E.P., Marston J.E., Matthey D.L., Measures H.R. i wsp.: Size heterogeneity, phosphorylation and transmembrane organisation of desmosomal glycoproteins 2 and 3 (desmocollins) in MDCK cells. *J Cell Sci*. 1990; 96(Pt 2): 239–48.
- Pathak M.A., Jimbow K., Szabo G., Fitzpatrick T.B.: Sunlight and melanin pigmentation. [w:] *Photochemical and photobiological reviews*. Smith K.C. ed., Plenum Press, New York, USA, 1976.
http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4684-2574-1_5
- Peitsch W.K., Doerflinger Y., Fischer-Colbrie R., Huck V. i wsp.: Desmoglein 2 depletion leads to increased migration and upregulation of the chemoattractant secretoneurin in melanoma cells. *PLoS One*. 2014; 9(2): e89491.
- Pelengaris S., Littlewood T., Khan M., Elia G. i wsp.: Reversible activation of c-Myc in skin: induction of a complex neoplastic phenotype by a single oncogenic lesion. *Mol Cell*. 1999; 3(5): 565–77.
- Pellegrini G., Dellambra E., Golisano O., Martinelli E. i wsp.: p63 identifies keratinocyte stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(6): 3156–61.
- Peltonen S., Raiko L., Peltonen J.: Desmosomes in developing human epidermis. *Dermatol Res Pract*. 2010; 2010: 698761.
- Pereyra-Rodriguez J.J., Bernabeu-Wittel J., Conejo-Mir J.: Multiple palmar pits and basal cell carcinomas. *CMAJ*. 2010; 182(11): E533.
- Pesz K.A., Bieniek A., Gil J., Laczanska I., Karpinski P., Makowska I., Trusewicz A., Sasiadek M.M.: Polymorphisms in nucleotide excision repair genes and basal cell carcinoma of the skin. *Int J Dermatol*. 2014. doi: 10.1111/ijd.12156. [Epub ahead of print]
- Petersen S., Aninat-Meyer M., Schlüns K., Gellert K. i wsp.: Chromosomal alterations in the clonal evolution to the metastatic stage of squamous cell carcinomas of the lung. *Br J Cancer*. 2000; 82(1): 65–73.
- Piérard G.E., Faza'a B., Henry F., Kamoun M.R. i wsp.: Collision of primary malignant neoplasms on the skin: the connection between malignant melanoma and basal cell carcinoma. *Dermatology*. 1997; 194(4): 378–9.
- Pietkiewicz P., Lutkowska A., Lianeri M., Jagodzinski P.: Tamoxifen epigenetically modulates CXCL12 expression in MCF-7 breast cancer cells. *Biomed Pharmacother*. 2010; 64(1): 54–7.
- Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: The chancre of pemphigus on the scalp as the first symptom of mucosal-dominant pemphigus vulgaris in an elderly man taking ramipril. *Dermatol Klin*. 2011; 13(4): 235–8.
- Pietkiewicz P., Torz M., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M. i wsp.: Współczesne metody leczenia pęcherzycy zwykłej z punktu widzenia początkującego lekarza. *Dermatol Klin*. 2012;14(2):75–81.
- Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Malignancy and autoimmune blistering dermatoses: peculiarities of the issue. V Kongres Współczesnej Onkologii – Next Generation, 21-23 marca 2013r., Poznań, Polska.
-

- Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: Malignancy in relation to autoimmune blistering dermatoses: molecular and clinical aspects. [w:] Highlights in skin cancer. Vereecken P. ed., InTech, Rijeka, Chorwacja, 2013.
<http://www.intechopen.com/books/howtoreference/highlights-in-skin-cancer/malignancy-in-relation-to-autoimmune-blistering-dermatoses-molecular-and-clinical-aspects>
- Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Jagielska J. i wsp.: Discordant expression of desmoglein 2 and 3 at the mRNA and protein levels in nodular and superficial basal cell carcinoma revealed by immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. *Clin Exp Dermatol.* 2014; 39(5): 628–35.
- Pietkiewicz P., Gornowicz-Porowska J., Bowszyc-Dmochowska M., Dmochowski M.: A retrospective study of antihypertensives in pemphigus: a still uncharted odyssey particularly between thiols, amides and phenols. *Arch Med Sci.* 2015, 11(5) [w druku].
- Pilichou K., Nava A., Basso C., Beffagna G. i wsp.: Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation.* 2006; 113(9): 1171–9.
- Pokutta S., Weis W.I.: Structure and mechanism of cadherins and catenins in cell-cell contacts. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007; 23: 237–61.
- Pratt M.D., Jackson R.: Nevoid basal cell carcinoma syndrome. A 15-year follow-up of cases in Ottawa and the Ottawa Valley. *J Am Acad Dermatol.* 1987; 16(5 Pt 1): 964–70.
- Presland R.B., Dale B.A.: Epithelial structural proteins of the skin and oral cavity: function in health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000; 11(4): 383–408.
- Prinz-Langenohl R., Fohr I., Pietrzik K.: Beneficial role for folate in the prevention of colorectal and breast cancer. *Eur J Nutr.* 2001; 40(3): 98–105.
- Proia A.D., Selim M.A., Reutter J.C., Michon J.J.: Basal cell-signet-ring squamous cell carcinoma of the eyelid. *Arch Pathol Lab Med.* 2006; 130(3): 393–6.
- Przybylski M., Kozłowska A., Pietkiewicz P., Lutkowska A. i wsp.: Increased CXCR4 expression in AsPC1 pancreatic carcinoma cells with RNA interference-mediated knockdown of DNMT1 and DNMT3B. *Biomed Pharmacother.* 2010; 64(4): 254–8.
- Raasch B.A., Buettner P.G., Garbe C.: Basal cell carcinoma: histological classification and body-site distribution. *Br J Dermatol.* 2006; 155(2): 401–7.
- Ragni M.V., Belle S.H., Jaffe R.A., Duerstein S.L. i wsp.: Acquired immunodeficiency syndrome-associated non-Hodgkin's lymphomas and other malignancies in patients with hemophilia. *Blood.* 1993; 81(7): 1889–97.
- Ramachandran S., Fryer A.A., Smith A.G., Lear J.T. i wsp.: Basal cell carcinomas: association of allelic variants with a high-risk subgroup of patients with the multiple presentation phenotype. *Pharmacogenetics.* 2001a; 11(3): 247–54.
- Ramachandran S., Fryer A.A., Strange R.C.: Genetic factors determining cutaneous basal cell carcinoma phenotype. *Med Pediatr Oncol.* 2001b; 36(5): 559–63.
- Rangarajan A., Talora C., Okuyama R., Nicolas M. i wsp.: Notch signaling is a direct determinant of keratinocyte growth arrest and entry into differentiation. *EMBO J.* 2001; 20(13): 3427–36.
- Ratoosh S.L., Cohen P.R., Troncso P.: Cutaneous-malignancy and leprosy. Report of a patient with *Mycobacterium leprae* and basal cell carcinoma concurrently present in the same lesion. *J Dermatol Surg Oncol.* 1994; 20(9): 613–8.
- Requena L., Fariña M.C., Robledo M., Sanguenza O.P. i wsp.: Multiple hereditary infundibulocystic basal cell carcinomas: a genodermatosis different from nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Arch Dermatol.* 1999; 135(10): 1227–35.
- Richmond-Sinclair N.M., Pandeya N., Ware R.S., Neale R.E. i wsp.: Incidence of basal cell carcinoma multiplicity and detailed anatomic distribution: longitudinal study of an Australian population. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(2): 323–8.
- Rickman L., Simrak D., Stevens H.P., Hunt D.M. i wsp.: N-terminal deletion in a desmosomal cadherin causes the autosomal dominant skin disease striate palmoplantar keratoderma. *Hum Mol Genet.* 1999; 8(6): 971–6.
- Ridky T.W., Khavari P.A.: The hair follicle bulge stem cell niche resists transformation by the hedgehog pathway. *Cell Stem Cell.* 2010; 6(4): 292–4.
- Riefenberger J., Ruzicka T.: Rak podstawonokomórkowy (BCC). [w:] *Dermatologia Braun-Falco.* 2. wydanie. Gliški W., ed., Czelej, Lublin, Polska, 2011.
- Rippey J.J.: Why classify basal cell carcinomas? *Histopathology.* 1998; 32(5): 393–8.
- Roewert-Huber J., Lange-Asschenfeldt B., Stockfleth E., Kerl H.: Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2007; 157(Suppl 2): 47–51.
- Rogers G.S., Flowers J.L., Pollack S.V., McCarty K.S.: Determination of sex steroid receptor in human basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol.* 1988; 18(5 Pt 1): 1039–43.
- Roldán-Marín R., Leal-Osuna S., Lammoglia-Ordiales L., Toussaint-Caire S.: Infundibulocystic basal cell carcinoma: dermoscopic findings and histologic correlation. *Dermatol Pract Concept.* 2014; 4(3): 51–4.
- Rosso S., Zanetti R., Martinez C., Tormo M.J. i wsp.: The multicentre south European study „Helios”. II: Different sun exposure patterns in the aetiology of basal cell and squamous cell carcinomas of the skin. *Br J Cancer.* 1996; 73(11): 1447–54.
- Rubin A.I., Chen E.H., Ratner D.: Basal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 2005; 353(21): 2262–9.
- Russell E.B., Carrington P.R., Smoller B.R.: Basal cell carcinoma: a comparison of shave biopsy versus punch biopsy techniques in subtype diagnosis. *J Am Acad Dermatol.* 1999; 41(1): 69–71.
- Rustemeyer J., Gunther L., Deichert L.: A rare association: basal cell carcinoma in a vitiliginous macula. *Oral Maxillofac Surg.* 2011; 15(3): 175–7.

-
- Rządowa Rada Ludnościowa: Sytuacja demograficzna Polski: raport 2011-2012 [Internet]. Warszawa, 2012. <http://inf.stat.gov.pl/Raport.pdf>
- Saburi S., McNeill H.: Organising cells into tissues: new roles for cell adhesion molecules in planar cell polarity. *Curr Opin Cell Biol.* 2005; 17(5): 482–8.
- Sagi E., Aram H., Peled I.J.: Basal cell carcinoma developing in a nevus flammeus. *Cutis.* 1984; 33(3): 311–2, 318.
- Saguner A.M., Brunckhorst C., Duru F.: Arrhythmogenic ventricular cardiomyopathy: A paradigm shift from right to biventricular disease. *World J Cardiol.* 2014; 6(4): 154–74.
- Saito M., Tucker D.K., Kohlhorst D., Niessen C.M. i wsp.: Classical and desmosomal cadherins at a glance. *J Cell Sci.* 2012; 125(Pt 11): 2547–52.
- Saldanha G., Fletcher A., Slater D.N.: Basal cell carcinoma: a dermatopathological and molecular biological update. *Br J Dermatol.* 2003; 148(2): 195–202.
- Samarasinghe V., Madan V., Lear J.T.: Focus on Basal Cell Carcinoma. *J Skin Cancer.* 2010; 2011: e328615.
- Samuelov L., Sarig O., Harmon R.M., Rapaport D. i wsp.: Desmoglein 1 deficiency results in severe dermatitis, multiple allergies and metabolic wasting. *Nat Genet.* 2013; 45(10): 1244–8.
- Sanyal S., Festa F., Sakano S., Zhang Z. i wsp.: Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer. *Carcinogenesis.* 2004; 25(5): 729–34.
- Sańko W. Raport dotyczący udziału seniorów w życiu publicznym województwa wielkopolskiego [Internet]. Poznań: Wspólnota Robocza Związków Organizacji Socjalnych, Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej; 2013: 1–30. http://urzoz.org.pl/download/RAPORT_woj.wielkopolskie.pdf
- Sarkany L., Caron G.A.: Basal-cell epithelioma on a portwine stain. *Br J Dermatol.* 1965; 77: 16–9.
- Sass U., Theunis A., Noël J.C., André J. i wsp.: Multiple HPV-positive basal cell carcinomas on the abdomen in a young pregnant woman. *Dermatology.* 2002; 204(4): 362–4.
- Savci-Heijink C.D., Kosari F., Aubry M.C., Caron B.L. i wsp.: The role of desmoglein-3 in the diagnosis of squamous cell carcinoma of the lung. *Am J Pathol.* 2009; 174(5): 1629–37.
- Schäfer S., Koch P.J., Franke W.W.: Identification of the ubiquitous human desmoglein, Dsg2, and the expression catalogue of the desmoglein subfamily of desmosomal cadherins. *Exp Cell Res.* 1994; 211(2): 391–9.
- Schäfer S., Stumpp S., Franke W.W.: Immunological identification and characterization of the desmosomal cadherin Dsg2 in coupled and uncoupled epithelial cells and in human tissues. *Differ Res Biol Divers.* 1996; 60(2): 99–108.
- Schaffer J.V., Bazzi H., Vitebsky A., Witkiewicz A. i wsp.: Mutations in the desmoglein 4 gene underlie localized autosomal recessive hypotrichosis with monilethrix hairs and congenital scalp erosions. *J Invest Dermatol.* 2006; 126(6): 1286–91.
- Scheepeler T., Page M.E., Jensen K.B.: Heterogeneity and plasticity of epidermal stem cells. *Dev Camb Engl.* 2014; 141(13): 2559–67.
- Schlipp A., Schinner C., Spindler V., Vielmuth F. i wsp.: Desmoglein-2 interaction is crucial for cardiomyocyte cohesion and function. *Cardiovasc Res.* 2014; [Epub ahead of print]
- Schmitt C.J., Franke W.W., Goerdts S., Falkowska-Hansen B. i wsp.: Homo- and heterotypic cell contacts in malignant melanoma cells and desmoglein 2 as a novel solitary surface glycoprotein. *J Invest Dermatol.* 2007; 127(9): 2191–206.
- Schumacher M., Schuster C., Rogon Z.M., Bauer T. i wsp.: Efficient keratinocyte differentiation strictly depends on JNK-induced soluble factors in fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 2014; 134(5): 1332–41.
- Schweizer J.: More than one gene involved in monilethrix: intracellular but also extracellular players. *J Invest Dermatol.* 2006; 126(6): 1216–9.
- Scrivener Y., Grosshans E., Cribier B.: Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtype. *Br J Dermatol.* 2002; 147(1): 41–7.
- Sendur N., Karaman G., Dikicioglu E., Karaman C.Z. i wsp.: Cutaneous basosquamous carcinoma infiltrating cerebral tissue. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2004; 18(3): 334–6.
- Seretis K., Thomaidis V., Karpouzis A., Tamiolakis D. i wsp.: Epidemiology of surgical treatment of nonmelanoma skin cancer of the head and neck in Greece. *Dermatol Surg.* 2010; 36(1): 15–22.
- Sexton M., Jones D.B., Maloney M.E.: Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. Study of a series of 1039 consecutive neoplasms. *J Am Acad Dermatol.* 1990; 23(6 Pt 1): 1118–26.
- Sharma S., Agrawal U., Gupta P., Bhatnagar A. i wsp.: Malignant melanoma and basal cell carcinoma of the face: a rare coexistence. *Ann Saudi Med.* 2013; 33(3): 304–6.
- Shimomura Y., Sakamoto F., Kariya N., Matsunaga K. i wsp.: Mutations in the desmoglein 4 gene are associated with monilethrix-like congenital hypotrichosis. *J Invest Dermatol.* 2006; 126(6): 1281–5.
- Shipp L.R., Warner C.A., Ruggieberg F.A., Davis L.S.: Further investigation into the risk of skin cancer associated with the use of uv nail lamps. *JAMA Dermatol.* 2014; 150(7): 775–6.
- Shirakata Y., Amagai M., Hanakawa Y., Nishikawa T. i wsp.: Lack of mucosal involvement in pemphigus foliaceus may be due to low expression of desmoglein 1. *J Invest Dermatol.* 1998; 110(1): 76–8.
- Silapunt S., Goldberg L.H., Thurber M., Friedman P.M.: Basal cell carcinoma arising in a port-wine stain. *Dermatol Surg.* 2004; 30(9): 1241–5.
- Situm M., Buljan M., Bulat V., Lugović Mihić L. i wsp.: The role of UV radiation in the development of basal cell carcinoma. *Coll Antropol.* 2008; 32(Suppl 2): 167–70.
- Smith C., Zhu K., Merritt A., Picton R. i wsp.: Regulation of desmocollin gene expression in the epidermis: CCAAT/enhancer-binding proteins modulate early and late events in keratinocyte differentiation. *Biochem J.* 2004; 380(Pt 3): 757–65.
- Snow S.N., Sahl W., Lo J.S., Mohs F.E. i wsp.: Metastatic basal cell carcinoma. Report of five cases. *Cancer.* 1994; 73(2): 328–35.
-

- Song J.S., Bae S.K., Park S.Y., Park W.: A case of basal cell carcinoma of the skin in a patient with systemic sclerosis. *Rheumatol Int.* 2000; 20(1): 39–40.
- Sperling L.C.: Hair anatomy for the clinician. *J Am Acad Dermatol.* 1991; 25(1 Pt 1): 1–17.
- Spike B.T., Engle D.D., Lin J.C., Cheung S.K. i wsp.: A mammary stem cell population identified and characterized in late embryogenesis reveals similarities to human breast cancer. *Cell Stem Cell.* 2012; 10(2): 183–97.
- Stacey S.N., Sulem P., Jonasdottir A., Masson G. i wsp.: A germline variant in the TP53 polyadenylation signal confers cancer susceptibility. *Nat Genet.* 2011; 43(11): 1098–103.
- Staibano S., Lo Muzio L., Pannone G., Scalvenzi M. i wsp.: Interaction between bcl-2 and P53 in neoplastic progression of basal cell carcinoma of the head and neck. *Anticancer Res.* 2001; 21(6A): 3757–64.
- Stern L.L., Mason J.B., Selhub J., Choi S.W.: Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2000; 9(8): 849–53.
- Stern R.S.: Genital tumors among men with psoriasis exposed to psoralens and ultraviolet A radiation (PUVA) and ultraviolet B radiation. The Photochemotherapy Follow-up Study. *N Engl J Med.* 1990; 322(16): 1093–7.
- Stern R.S., PUVA Follow-Up Study.: The risk of squamous cell and basal cell cancer associated with psoralen and ultraviolet A therapy: a 30-year prospective study. *J Am Acad Dermatol.* 2012; 66(4): 553–62.
- St-Jacques B., Dassule H.R., Karavanova I., Botchkarev V.A. i wsp.: Sonic hedgehog signaling is essential for hair development. *Curr Biol.* 1998; 8(19): 1058–68.
- Stoner P.L., Barber M.F.: Site-specific inheritance of basal cell carcinoma. *Cutis.* 2012; 90(5): 252–4.
- Sujobert P., Cuccuini W., Vignon-Pennamen D., Martin-Garcia N. i wsp.: Evidence of differentiation in myeloid malignancies associated neutrophilic dermatosis: a fluorescent in situ hybridization study of 14 patients. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(4): 1111–4.
- Surdu S. Non-melanoma skin cancer: occupational risk from UV light and arsenic exposure. *Rev Environ Health.* 2014;29(3):255–64.
- Taipale J., Cooper M.K., Maiti T., Beachy P.A.: Patched acts catalytically to suppress the activity of Smoothed. *Nature.* 2002; 418(6900): 892–7.
- Taira J.W., Flaming J.A., Weigand D.A.: Basal cell carcinoma and melanocytic nevus in the same lesion. *Cutis.* 1992; 49(1): 40–2.
- Takebayashi S., Ogawa T., Jung K.Y., Muallem A. i wsp.: Identification of new minimally lost regions on 18q in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2000; 60(13): 3397–403.
- Tan D.W.M., Barker N.: Stem cell reprogramming as a driver of basal cell carcinoma. *Nat Cell Biol.* 2012; 14(12): 1246–7.
- Tanning bed. Wikipedia, the free encyclopedia [Internet]. 2014 (cytowane 16 września 2014). http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Tanning_bed&oldid=622895363
- Teh. M.T., Blaydon D., Chaplin T., Foot N.J. i wsp.: Genomewide single nucleotide polymorphism microarray mapping in basal cell carcinomas unveils uniparental disomy as a key somatic event. *Cancer Res.* 2005; 65(19): 8597–603.
- Teh M.T., Parkinson E.K., Thurlow J.K., Liu F. i wsp.: A molecular study of desmosomes identifies a desmoglein isoform switch in head and neck squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2011; 40(1): 67–76.
- Telfer N.R., Colver G.B., Morton C.A.: Guidelines for the management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2008; 159(1): 35–48.
- Theis D.G., Koch P.J., Franke W.W.: Differential synthesis of type 1 and type 2 desmocollin mRNAs in human stratified epithelia. *Int J Dev Biol.* 1993; 37(1): 101–10.
- Thélu J., Rossio P., Favier B.: Notch signalling is linked to epidermal cell differentiation level in basal cell carcinoma, psoriasis and wound healing. *BMC Dermatol.* 2002; 2(1): 7.
- Thiery J.P., Engl W., Viasnoff V., Dufour S.: Biochemical and biophysical origins of cadherin selectivity and adhesion strength. *Curr Opin Cell Biol.* 2012; 24(5): 614–9.
- Tiftikcioglu Y.O., Karaaslan O., Aksoy H.M., Aksoy B. i wsp.: Basal cell carcinoma in Turkey. *J Dermatol.* 2006; 33(2): 91–5.
- Tilli C.M., Stavast-Koey A.J., Ramaekers F.C., Neumann H.A.: Bax expression and growth behavior of basal cell carcinomas. *J Cutan Pathol.* 2002; 29(2): 79–87.
- Tilli C.M., Van Steensel M.A., Krekels G.A., Neumann H.A. i wsp.: Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2005; 152(6): 1108–24.
- Trivedi S., Mattos J., Gooding W., Godfrey T.E. i wsp.: Correlation of tumor marker expression with nodal disease burden in metastatic head and neck cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013; 149(2): 261–8.
- Tsang S.M., Liu L., Teh M.T., Wheeler A. i wsp.: Desmoglein 3, via an interaction with E-cadherin, is associated with activation of Src. *PLoS One.* 2010; 5(12): e14211.
- Tsang S.M., Brown L., Lin K., Liu L. i wsp.: Non-junctional human desmoglein 3 acts as an upstream regulator of Src in E-cadherin adhesion, a pathway possibly involved in the pathogenesis of pemphigus vulgaris. *J Pathol.* 2012; 227(1): 81–93.
- Tselepis C., Chidgey M., North A., Garrod D.: Desmosomal adhesion inhibits invasive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95(14): 8064–9.
- Turhan-Haktanir N., Dilek F.H., Demir Y., Sahin O.: Presence of interferon regulatory factor-1 in aggressive and nonaggressive histological variants of basal cell carcinoma specimens. *J Cutan Aesthetic Surg.* 2010; 3(1): 34–7.
- Vabres P., Lacombe D., Rabinowitz L.G., Aubert G. i wsp.: The gene for Bazex-Dupré-Christol syndrome maps to chromosome Xq. *J Invest Dermatol.* 1995; 105(1): 87–91.
- Van Steensel M.A., Jaspers N.G., Steijlen P.M.: A case of Rombo syndrome. *Br J Dermatol.* 2001; 144(6): 1215–8.

- Vantuchová Y., Čuřík R.: Histological types of basal cell carcinoma. *Scr Medica Brno*. 2006; 79(5-6): 261–70.
- Vasioukhin V.: Adherens junctions and cancer. *Subcell Biochem*. 2012; 60: 379–414.
- Vlad-Fiegen A., Langerak A., Eberth S., Müller O.: The Wnt pathway destabilizes adherens junctions and promotes cell migration via β -catenin and its target gene cyclin D1. *FEBS Open Bio*. 2012; 2: 26–31.
- Von Domarus H., Stevens P.J.: Metastatic basal cell carcinoma. Report of five cases and review of 170 cases in the literature. *J Am Acad Dermatol*. 1984; 10(6): 1043–60.
- Vos M.S., de Haes J.C.: Denial in cancer patients, an explorative review. *Psychooncology*. 2007; 16(1): 12–25.
- Wachowiak A.: Kobieta wiejska w Polsce w latach dziewięćdziesiątych. Wybrane aspekty charakterystyki socjologicznej. [w:] *Roczniki Socjologii Rodziny* 1999, (9):51-63.
<http://repozytorium.amu.edu.pl/jspui/handle/10593/4410>
- Wade T.R., Ackerman A.B.: The Many Faces of Basal-Cell Carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol*. 1978; 4(1): 23–8.
- Wahl J.K. 3rd, Nieset J.E., Sacco-Bubulya P.A., Sadler T.M. i wsp.: The amino- and carboxyl-terminal tails of (beta)-catenin reduce its affinity for desmoglein 2. *J Cell Sci*. 2000; 113(Pt 10): 1737–45.
- Waikel R.L., Wang X.J., Roop D.R.: Targeted expression of c-Myc in the epidermis alters normal proliferation, differentiation and UV-B induced apoptosis. *Oncogene*. 1999; 18(34): 4870–8.
- Waikel R.L., Kawachi Y., Waikel P.A., Wang X.J. i wsp.: Deregulated expression of c-Myc depletes epidermal stem cells. *Nat Genet*. 2001; 28(2): 165–8.
- Wajid M., Bazzi H., Rockey J., Lubetkin J. i wsp.: Localized autosomal recessive hypotrichosis due to a frameshift mutation in the desmoglein 4 gene exhibits extensive phenotypic variability within a pakistani family. *J Invest Dermatol*. 2007; 127(7): 1779–82.
- Wallace M.L., Smoller B.R.: Trichoepithelioma with an adjacent basal cell carcinoma, transformation or collision? *J Am Acad Dermatol*. 1997; 37(2 Pt 2): 343–5.
- Walling H.W., Fosko S.W., Geraminejad P.A., Whitaker D.C. i wsp.: Aggressive basal cell carcinoma: presentation, pathogenesis, and management. *Cancer Metastasis Rev*. 2004; 23(3-4): 389–402.
- Wang Hao, Benda P.M., Piepkorn M.W. Parasitism of basal cell carcinoma by lentigo maligna melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2003; 48(5 Suppl): S92–4.
- Wang Hongjie, Li Z.Y., Liu Y., Persson J. i wsp.: Desmoglein 2 is a receptor for adenovirus serotypes 3, 7, 11 and 14. *Nat Med*. 2011; 17(1): 96–104.
- Wang L., Liu T., Wang Y., Cao L. i wsp.: Altered expression of desmocollin 3, desmoglein 3, and beta-catenin in oral squamous cell carcinoma: correlation with lymph node metastasis and cell proliferation. *Virchows Arch*. 2007; 451(5): 959–66.
- Wang N.J., Sanborn Z., Arnett K.L., Bayston L.J. i wsp.: Loss-of-function mutations in Notch receptors in cutaneous and lung squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(43): 17761–6.
- Wan H., Dopping-Hepenstal P.J., Gratian M.J., Stone M.G. i wsp.: Striate palmoplantar keratoderma arising from desmoplakin and desmoglein 1 mutations is associated with contrasting perturbations of desmosomes and the keratin filament network. *Br J Dermatol*. 2004; 150(5): 878–91.
- Watt F.M.: Stem cell fate and patterning in mammalian epidermis. *Curr Opin Genet Dev*. 2001; 11(4): 410–7.
- Wehrens R, Franceschi P.: Thresholding for biomarker selection in multivariate data using Higher Criticism. *Mol Biosyst*. 2012; 8(9): 2339–46.
- Weller R., Hunter J., Savin J., Dahl M.: Dermatologia wybranych okolic ciała. [w:] *Dermatologia kliniczna*. Chodorowska G. red., Czelej, Lublin, Polska, 2011.
- Whitlock N.V.: Genomic sequence analysis of the mouse desmoglein cluster reveals evidence for six distinct genes: characterization of mouse DSG4, DSG5, and DSG6. *J Invest Dermatol*. 2003; 120(6): 970–80.
- WHO | Cancer Fact sheet N°297 [Internet]. (cytowane 20 września 2014).
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
- Williamson L., Suter M.M., Olivry T., Wyder M. i wsp.: Upregulation of c-Myc may contribute to the pathogenesis of canine pemphigus vulgaris. *Vet Dermatol*. 2007; 18(1): 12–7.
- Wojciechowska U., Didkowska J., Koćmiel A.: Nowotwory złośliwe w Polsce jako problem zdrowia publicznego. *Stud Demogr*. 2013; 1(161): 153–66.
- Wróblewska K. PPOZ: kiedy zabraknie lekarzy? [Internet]. *Medekspres.pl* 2015 (cytowane 28 lutego 2015).
<http://www.medekspres.pl/system/ppoz-kiedy-zabraknie-lekarzy/56195/>
- Wuest M., Dummer R., Urosevic M.: Induction of the members of Notch pathway in superficial basal cell carcinomas treated with imiquimod. *Arch Dermatol Res*. 2007; 299(10): 493–8.
- Wu H., Stanley J.R., Cotsarelis G.: Desmoglein isotype expression in the hair follicle and its cysts correlates with type of keratinization and degree of differentiation. *J Invest Dermatol*. 2003; 120(6): 1052–7.
- Wu J., Cohen S.M.: Repression of Teashirt marks the initiation of wing development. *Development*. 2002; 129(10): 2411–8.
- Wu S., Han J., Li W.Q., Li T. i wsp.: Basal-cell carcinoma incidence and associated risk factors in US women and men. *Am J Epidemiol*. 2013; 178(6): 890–7.
- Xin Z., Yamaguchi A., Sakamoto K.: Aberrant expression and altered cellular localization of desmosomal and hemidesmosomal proteins are associated with aggressive clinicopathological features of oral squamous cell carcinoma. *Virchows Arch*. 2014; 465(1): 35–47.
- Xu C.Z., Wang P.H., Yan X.J., Wang T. i wsp.: Expression of CXCR4 is associated with progression and invasion in patients with nasal-surface basal cell carcinoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2013; 75(6): 332–41.
- Yashiro M., Nishioka N., Hirakawa K.: Decreased expression of the adhesion molecule desmoglein-2 is associated with diffuse-type gastric carcinoma. *Eur J Cancer*. 2006; 42(14): 2397–403.
- Yin T., Green K.J.: Regulation of desmosome assembly and adhesion. *Semin Cell Dev Biol*. 2004; 15(6): 665–77.

-
- Yokouchi M., Saleh M.A., Kuroda K., Hachiya T. i wsp.: Pathogenic epitopes of autoantibodies in pemphigus reside in the amino-terminal adhesive region of desmogleins which are unmasked by proteolytic processing of prosequence. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(9): 2156–66.
- Youssef K.K., Van Keymeulen A., Lapouge G., Beck B. i wsp.: Identification of the cell lineage at the origin of basal cell carcinoma. *Nat Cell Biol.* 2010; 12(3): 299–305.
- Youssef K.K., Lapouge G., Bouvrée K., Rorive S. i wsp.: Adult interfollicular tumour-initiating cells are reprogrammed into an embryonic hair follicle progenitor-like fate during basal cell carcinoma initiation. *Nat Cell Biol.* 2012; 14(12): 1282–94.
- Yu M., Zloty D., Cowan B., Shapiro J. i wsp.: Superficial, nodular, and morpheiform basal-cell carcinomas exhibit distinct gene expression profiles. *J Invest Dermatol.* 2008; 128(7): 1797–805.
- Yu Y., Merlino G.: Roles for aberrant CXCR3 signaling in basal cell carcinoma. *Am J Pathol.* 2010; 176(5): 2088–91.
- Zackheim H.S.: Comparative cutaneous carcinogenesis in the rat. Differential response to the application of anthramine, methylcholanthrene, and dimethylbenzanthracene. *Oncology.* 1964; 17: 236–46.
- Zaghi S., Ghasri P., Busse P., Clark J. i wsp.: Extensive basal cell carcinoma of the face: an extreme case of denial. *Ear Nose Throat J.* 2014; 93(6): E40–4.
- Zakrzewska K., Regalbuto E., Pierucci F., Arvia R. i wsp.: Pattern of HPV infection in basal cell carcinoma and in perilesional skin biopsies from immunocompetent patients. *Virology.* 2012; 9(1): 309.
- Zeng H., Xu L., Xiao D., Zhang H. i wsp.: Altered expression of ezrin in esophageal squamous cell carcinoma. *J Histochem Cytochem.* 2006; 54(8): 889–96.
- Zhang Yan, Fu L., Qi X., Zhang Z. i wsp.: Structural insight into the mutual recognition and regulation between Suppressor of Fused and Gli/Ci. *Nat Commun.* 2013; 4: 2608.
- Zhang Ying, Thomas G.L., Swat M., Shirinifard A. i wsp.: Computer simulations of cell sorting due to differential adhesion. *PloS One.* 2011; 6(10): e24999.
- Zheng C., Lin Z., Zhao Z.J., Yang Y. i wsp.: MAPK-activated protein kinase-2 (MK2)-mediated formation and phosphorylation-regulated dissociation of the signal complex consisting of p38, MK2, Akt, and Hsp27. *J Biol Chem.* 2006; 281(48): 37215–26.
- Zhurinsky J., Shtutman M., Ben-Ze'ev A.: Plakoglobin and beta-catenin: protein interactions, regulation and biological roles. *J Cell Sci.* 2000; 113(Pt 18): 3127–39.
- Zipin-Roitman A., Meshel T., Sagi-Assif O., Shalmon B. i wsp.: CXCL10 promotes invasion-related properties in human colorectal carcinoma cells. *Cancer Res.* 2007; 67(7): 3396–405.
- Zlotogorski A., Marek D., Horev L., Abu A. i wsp.: An autosomal recessive form of monilethrix is caused by mutations in DSG4: clinical overlap with localized autosomal recessive hypotrichosis. *J Invest Dermatol.* 2006; 126(6): 1292–6.