

# Udział ekspresji cyklin w patogenezie odmiany powierzchniowej i guzkowej raka podstawnocomórkowego

The role of cyclin expression in superficial and nodular type of basal cell carcinoma

Aleksandra Lesiak<sup>1</sup>, Małgorzata Słowik-Rylska<sup>1</sup>, Cezary Jochymśki<sup>2</sup>, Wojciech Kozłowski<sup>2</sup>, Anna Sysa-Jędrzejowska<sup>1</sup>, Michał Rogowski-Tyلمان<sup>1</sup>, Jarosław Bogaczewicz<sup>1</sup>, Joanna Narbutt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

<sup>2</sup>Zakład Patomorfologii Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie, kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Wojciech Kozłowski

Post Dermatol Alergol 2008; XXV, 4: 157–163

## Streszczenie

**Wprowadzenie:** Rak podstawnocomórkowy (ang. *basal cell carcinoma* – BCC) należy do najczęściej występujących nowotworów skóry u ludzi i stanowi poważny problem współczesnej medycyny. W zależności od cech morfologicznych wyróżnia się kilka postaci BCC, z których najczęściej pojawia się forma powierzchniowa (pBCC) i guzkowa (gBCC). Prawidłowa ekspresja białek regulatorowych cyklu komórkowego, do których należą cykliny, jest jednym z niezbędnych czynników warunkujących właściwą proliferację komórek. Wykazano, że dysregulacja ekspresji białek kontrolujących fazy cyklu komórkowego odgrywa kluczową rolę w patogenezie nowotworów, w tym BCC.

**Cel:** Celem pracy była ocena różnic w ekspresji cykliny D1, A, B1 u chorych z postacią powierzchniową i guzkową raka podstawnocomórkowego.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiły 22 osoby rasy kaukaskiej, u których za pomocą badania histopatologicznego rozpoznano powierzchnową (n=11, grupa 1.) bądź guzkową (n=11, grupa 2.) postać BCC. We wszystkich pobranych wycinkach skóry ze zmian chorobowych określano średnią liczbę komórek wykazujących ekspresję cykliny D1, A, B1 (metoda immunohistochemiczna). Wycinki skóry pobrane od 4 zdrowych ochotników stanowiły grupę kontrolną.

**Wyniki:** Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję cykliny D1 i A była istotnie większa w grupie pBCC i gBCC niż w porównywanej grupie kontrolnej. Analizując komórki z ekspresją cykliny B1, stwierdzono istotnie mniejszą ich liczbę zarówno w grupie pBCC, jak i gBCC w porównaniu z grupą kontrolną. Obserwowano także, że liczba komórek cykliny D1(+) była istotnie wyższa w odmianie pBCC niż w gBCC. Nie stwierdzono natomiast różnic między ekspresją cykliny A i B1 a typem histopatologicznym BCC.

**Wnioski:** Uzyskane wyniki wykazujące odmienną ekspresję cykliny D1 w postaci powierzchniowej i guzkowej BCC mogą świadczyć o odmiennych mechanizmach rozwoju tych najczęstszych postaci raków podstawnocomórkowych.

**Słowa kluczowe:** rak podstawnocomórkowy, cykl komórkowy, cykliny, patogeneza.

## Abstract

**Introduction:** Basal cell carcinoma (BCC) is one of the most frequent human skin cancers and its occurrence is important for current health service. Based on histological and clinical pictures many BCC forms are distinguished, among which nodular (nBCC) and superficial (sBCC) forms are mainly noted. Normal expression of regulatory cell cycle proteins, mainly cyclins, are required for appropriate cell proliferation. It was reported that dysregulation in their expression is involved in human skin carcinomas including BCC development.

**Aim:** The aim of the study was to compare the expression in cyclin D1, A, B1 in patients with sBCC and nBCC.

**Material and methods:** The study group consisted of 22 Caucasians with histologically confirmed superficial (n=11, group 1) or nodular (n=11, group 2) BCC form. In all BCC specimens the mean number of cyclin D1(+), A(+) and B1(+) cells was counted (immunohistochemistry). Additionally, 4 skin samples taken from healthy volunteers served as controls (group 3).

---

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Aleksandra Lesiak, Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź, tel. +48 42 686 79 81, faks +48 42 688 45 65, e-mail: lesiak\_ola@interia.pl

**Results:** The mean number of cyclin D1(+) and A(+) cells was significantly higher in sBCC and nBCC than in the control group. A significantly lower number of cyclin B1(+) cells was noted in groups 1 and 2 when compared to the controls. The number of cyclin D1(+) cells was statistically higher in sBCC than in nBCC. Expression of other cyclins did not differ between the two BCC subtypes.

**Conclusions:** The obtained results indicating distinct expression of cyclin D1 partially testify other mechanisms of sBCC and nBCC development.

## Wprowadzenie

Ostatnio zaobserwowano znaczny wzrost zachorowań na raki skóry, co wiąże się ze zwiększoną ekspozycją ludzi na słoneczne promieniowanie ultrafioletowe, a także z powszechnym korzystaniem ze sztucznych źródeł promieniowania światła [1–3].

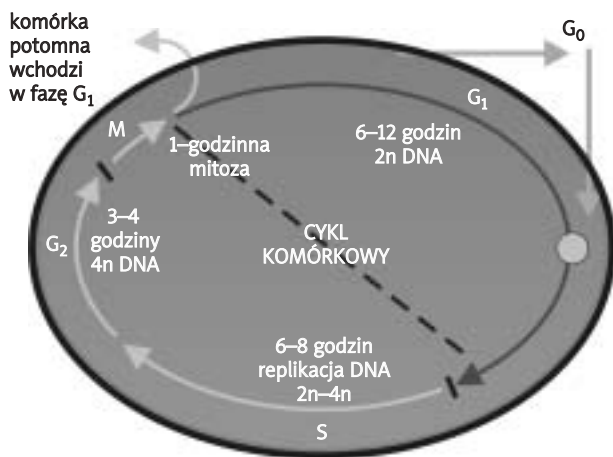
Ekspozycji na promieniowanie UV towarzyszy synteza endorfin oraz witaminy D. Niekiedy jednak wraz z ekspozycją na promieniowanie UV dochodzi do powstania natychmiastowych działań niepożądanych, do których zalicza się rozwój rumienia i oparzenia skóry, a także obniżenie odporności na rozwój infekcji bakteryjnych i wirusowych skóry. Do odległych niekorzystnych działań promieniowania ultrafioletowego należą przyspieszone starzenie się skóry (ang. *photoaging*) oraz rozwój nowotworów skóry. Zdolność promieniowania UV do indukowania tych procesów bez wątplenia wiąże się z jego właściwościami immunomodulującymi, prowadzącymi do supresji nabytej odpowiedzi immunologicznej [4, 5].

Niemelanocytowe raki skóry (ang. *nonmelanoma skin cancer* – NMSC) – rak podstawnkomórkowy (ang. *basal cell carcinoma* – BCC) i kolczystokomórkowy (ang. *squamous cell carcinoma* – SCC) – jako najczęściej występujące u ludzi stanowią poważny problem współczesnej medycyny, mimo że śmiertelność związana z nimi jest na istotnie niższym poziomie w porównaniu z innymi nowotworami [6].

Rak podstawnkomórkowy stanowi ok. 80% wszystkich nowotworów skóry. Charakteryzuje się miejscową złośliwością i powolnym wzrostem. Najczęstszą lokalizacją jest skóra wcześniej niezmienniona, jednak ekspozycja na działanie promieniowania UV, tj. skóra głowy i szyi [7, 8]. Około 15% BCC lokalizuje się na tułowiu, czyli w okolicy zazwyczaj niepoddawanej ekspozycji na promieniowanie UV. Uznaje się, że ok. 60% BCC występujących na skórze tułowia stanowi postać powierzchowna (pBCC), natomiast spośród raków podstawnkomórkowych lokalizujących się na głowie i szyi przeważa (ok. 90%) postać guzkowa (gBCC) [9–11].

Cykl komórkowy jest szeregiem reakcji prowadzących do rozwoju organizmów przez regulację wzrostu, różnicowania, starzenia się i śmierci komórki [12]. Do mechanizmów kontrolujących ten cykl należą liczne cykliczne kinazy serynowo-treoninowe (ang. *cyclin dependent kinase* – CDK) oraz ich podjednostki regulatorowe – cykliny. Występują także liczne endogenne inhibitory CDK, warunkujące m.in. prawidłowe działanie tych białek w poszczególnych fazach cyklu, a także fosforylację specyficznych substratów [13]. Cykl komórkowy składa się z następujących po sobie faz – G<sub>1</sub>, S (faza syntezy DNA), G<sub>2</sub> i M (mitozy) (ryc. 1). W fazie G<sub>1</sub> występują intensywne procesy anaboliczne i proliferacja komórek. W regulacji tego procesu biorą udział syntezowane w tym czasie cykliny A, B, D oraz CDK, m.in. CDK2, CDK4, CDK6, a także białka będące inhibitorami kinaz – p16, p21, p27, retinoblastoma (pRB) i czynnik transkrypcyjny E2F. Cykliny z grupy D (głównie D1) odpowiadają za przebieg fazy G<sub>1</sub>, cyklina A steruje przebiegiem syntezy DNA, podczas gdy cyklina B1 odgrywa istotną rolę w fazie G<sub>2</sub> cyklu komórkowego [14–16]. W fazie G<sub>1</sub> wyróżnia się fazę G<sub>0</sub>, tzw. stanu zrównoważonego metabolizmu, w którym komórki znajdują się w funkcjonalnym spoczynku, wykazując niski poziom syntezy mRNA, białek i enzymów. Długość fazy S wyznaczona jest czasem trwania replikacji DNA. W tej fazie rozpoczyna się synteza cykliny A oraz histonów. Po zakończeniu fazy syntezy komórka wchodzi w fazę G<sub>2</sub>, podczas której zachodzi sprawdzenie prawidłowości replikacji i naprawa źle sparowanych zasad. W tym czasie następuje także synteza białek niezbędnych do dalszego funkcjonowania, m.in. białek wrzecionopodziałowego (tubuliny) [12].

Prawidłowa ekspresja białek cyklu komórkowego jest niezbędna do właściwej proliferacji komórek. Dysregulacja mechanizmów i ekspresji białek kontrolujących fazy



Ryc. 1. Fazy cyklu komórkowego

cyklu komórkowego pełni kluczową funkcję w patogenezie nowotworów skóry, w tym raków podstawnkomórkowych [17, 18].

Ze względu na uznaną heterogenność kliniczną i histopatologiczną raków podstawnkomórkowych zwraca uwagę możliwość nieco odmiennego szlaku ich powstawania, dlatego też uzasadnione wydaje się prowadzenie badań analizujących udział białek regulujących przebieg cyklu komórkowego w rozwoju BCC, z uwzględnieniem jego podtypów histologicznych.

### Cel pracy

Celem pracy była ocena różnic w ekspresji cykliny D1, A, B1 u chorych z postacią powierzchniową i guzkową raka podstawnkomórkowego.

### Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły 22 osoby rasy kaukaskiej (12 mężczyzn, 10 kobiet, średnia wieku 65,5 roku) z I–IV fototypem skóry ocenianym wg skali Fitzpatricka [19], z rozpoznaną na podstawie badania histopatologicznego odmianą powierzchniową bądź guzkową raka podstawnkomórkowego. Pacjentów leczono w Przychodni Poradni Kliniki Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 2000–2006. Jednostu z 22 (5 mężczyzn, 6 kobiet, średnia wieku 63 lata) stanowili chorzy z postacią powierzchniową BCC – grupa 1., a kolejnych 11 pacjentów (7 mężczyzn, 4 kobiety, średnia wieku 66 lat) – z postacią guzkową – grupa 2. We wszystkich przypadkach w wycinkach skóry pobranych ze zmian chorobowych określano ekspresję białek regulujących przebieg cyklu komórkowego, tj. cykliny D1, A, B1 przy zastosowaniu metody immunohistochemicznej. Dodatkowo 4 zdrowych ochotników (2 mężczyzn, 2 kobiety, średnia wieku 42 lata) z I–IV fototypem skóry (grupa 3.), od których pobierano wycinki skóry, stanowiły grupę kontrolną do przeprowadzonych analiz immunohistochemicznych. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Bioetycznej UM w Łodzi, a wszyscy pacjenci wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu. Kliniczną charakterystykę badanych osób przedstawiono w tab. 1.

### Metodyka oznaczeń immunohistochemicznych

Pobrane tkanki umieszczano w 10-procentowym roztworze formaldehydu i zatapiano w parafinie, a następnie krojono na skrawki o grubości 2–3 µm, na których przeprowadzano odczyny immunohistochemiczne. Po odparafinowaniu w szeregu ksyleneń i odwodnieniu w szeregu alkoholi skrawki płukano w kilku zmianach wody destylowanej. W celu odzyskania antygenowości tkanek oraz otwarcia drogi dla przeciwciał skrawki gotowano w buforze odstaniającym o pH 6,9 lub 11 (Dako Cytomation, Target Retrieval Solution – TRS) w kuchen-

Tab. 1. Charakterystyka kliniczna pacjentów i wolontariuszy

Grupa	Liczba osób	Średni wiek (lata)	Płeć K/M	Fototyp		
				I/II	III	IV
1.	11	63	6/5	4	5	2
2.	11	66	4/7	4	6	1
3.	4	42	2/2	1	2	1

K – kobiety, M – mężczyźni

ce mikrofalowej przy następujących poziomach mocy – 360 W (2 × 6 min), 180 W (2 × 5 min), 90 W (2 × 5 min). Po wystudzeniu skrawki płukano 2-krotnie w 0,05-molowym buforze TRIS (Tris-buffered saline – TBS, Dako Cytomation) o pH 7,6 przez 5 min. Celem zablokowania aktywności endogennej peroksydazy skrawki inkubowano przez 30 min w 0,3-procentowym roztworze nadtlenu wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Następnie poddano je całkowitej inkubacji z pierwotnymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko następującym antygenom – cyklina D1, A i B1. Przeciwciała pierwotne rozpuszczono w rozcieńczalniku zawierającym komponentę blokującą tło (Dako Cytomation, Antibody Diluent with Background Reducing Components). Inkubację przeprowadzono w komorze wilgotnej w temp. 4°C (inkubacja całkowita) oraz w temperaturze pokojowej (inkubacja 1-godzinna). Po inkubacji skrawki 2-krotnie płukano w buforze TBS, a następnie, żeby uwidocznić reakcję antygen-przeciwciała, stosowano odpowiednie systemy detekcyjne EnVision/HRP/DAB+ dla mysich oraz króliczych przeciwciał pierwotnych (Dako Cytomation). Po 30-minutowej inkubacji skrawków z użyciem wtórnego przeciwciała znakowanego peroksydazą chrzanową przeprowadzano reakcję enzymatyczną, stosując substrat dla peroksydazy – tetrachlorek 3,3-diaminobenzyny (DAB). Po zakończeniu reakcji immunohistochemicznej jądra komórkowe podbarwiano hematoksyliną wg Meyera (2 min), a następnie odwadniano w wielu alkoholach o zwiększających się stężeniach, przeprowadzono przez wiele ksyleneń i zaklejano DPX. Korzystając z powyżej opisanej procedury immunohistochemicznej, kontrolę negatywną stanowiły skrawki, w których pierwotne przeciwciała zastąpiono buforem TBS. Szczegółową charakterystykę stosowanych przeciwciał przedstawiono w tab. 2. Następnie preparaty podbarwiano hematoksyliną, odparowywano i przykrywano szkiełkami nakrywkowymi. Negatywną kontrolę stanowiły skrawki, które nie były inkubowane z pierwszorzędowym przeciwciałem. Liczbę komórek wykazujących ekspresję jądrową poszczególnych białek zliczano w powiększeniu 400× przy zastosowaniu programu komputerowego SIS analysis (Olympus, Japonia). Średnią liczbę komórek z dodatnią ekspresją badanych bia-

**Tab. 2.** Specyfikacja przeciwciał stosowanych w metodzie immunohistochemicznej

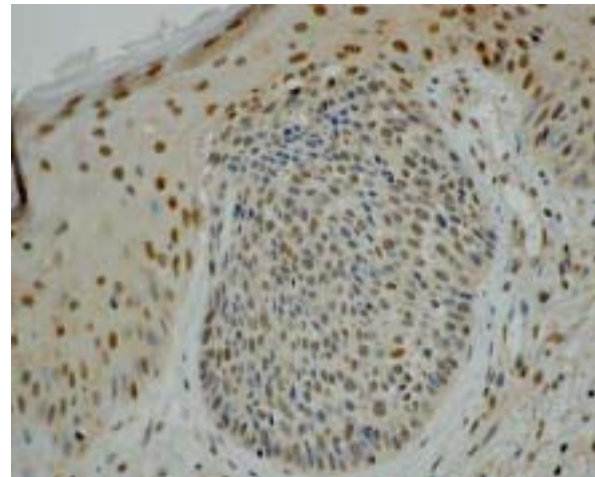
Antygen	Klon	Rodzaj surowicy	Rozcieńczenie/rodzaj buforu odstaniającego
cyklina D1	HD-11	mysia monoklonalna	1:200 TRS pH 9
cyklina A	H-432	królicza monoklonalna	1:200 TRS pH 9
cyklina B1	GNS1	mysia monoklonalna	1:200 TRS pH 9

TRS – Target Retrieval Solution

tek na 100 analizowanych komórek w trzech różnych polach widzenia obliczano u każdego pacjenta w guzie, a u zdrowych ochotników w naskórku.

#### Analiza statystyczna

W celu porównań statystycznych poza obliczeniem średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego posłużono się obliczaniem mediany, dolnego, górnego kwartyla, wartości minimum i maksimum. Do oceny istotności różnic badanych parametrów (liczby komórek, w których ekspresji ulegały cyklina D1, A i B1) między dwoma grupami zastosowano test U Manna-Whitneya. W celu uniknięcia błędów związanych z powtarzaną aplikacją testu U Manna-Whitneya, przy jednoczesnym porównywaniu kilku grup, do oceny istotności różnic zastosowano test Kruskala-Wallisa. Dla wszystkich porównań i korelacji istotność statystyczną uznawano przy  $p < 0,05$ .



**Ryc. 2.** Ekspresja cykliny D1 w komórkach guza w grupie 1. (powiększenie 400×)

#### Wyniki

##### Cyklina D1

Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję cykliny D1 w biopsjach pobranych z postaci powierzchniowej raka podstawnocomórkowego wynosiła 18,5/100 komórek (5,3–39, odchylenie standardowe – OS 10,9), z postaci guzkowej 9,6/100 komórek (0,0–43,3, OS 13,3), a z grupy kontrolnej 0,3/100 komórek (0,0–0,7, OS 0,3). Analizując liczbę komórek wykazujących ekspresję cykliny D1, stwierdzono istotnie większą ich liczbę w wycinkach pobranych z pBCC (grupa 1.) i gBCC (grupa 2.) niż w porównywanej grupie kontrolnej ( $p < 0,05$ ). Liczba komórek wykazujących ekspresję cykliny D1 była istotnie większa w odmianie powierzchniowej BCC niż w postaci guzkowej ( $p = 0,04$ ) (tab. 3., ryc. 2.).

**Tab. 3.** Średnia liczba komórek z ekspresją analizowanych białek w badanych grupach

Badane białko	Średnia arytmetyczna	Mediana	Min.-maks.	Dolny kwartyl	Górny kwartyl	Odchylenie standardowe
<b>Grupa 1. (odmiana powierzchniowa BCC), n=11</b>						
cyklina D1	18,5	17,5	5,3–39,3	7,7	28,3	10,9
cyklina A	7,9	8,7	2,0–13,0	4,6	10,0	3,4
cyklina B1	4,6	2,3	0,0–16,3	0,3	7,7	5,5
<b>Grupa 2. (odmiana guzkowa BCC), n=11</b>						
cyklina D1	9,6	0,7	0,0–43,3	0,0	17,3	13,6
cyklina A	11,2	11,7	1,6–24,3	3,3	15,0	7,6
cyklina B1	18,3	11,0	0,3–62,3	3,7	31,7	19,3
<b>Grupa 3. (kontrolna), n=4</b>						
cyklina D1	0,3	0,3	0,0–0,7	0,2	0,5	0,3
cyklina A	2,3	2,3	1,3–3,3	1,8	2,8	0,8
cyklina B1	44,2	44,5	39,0–49,0	41,0	47,0	4,1



### Cyklina A

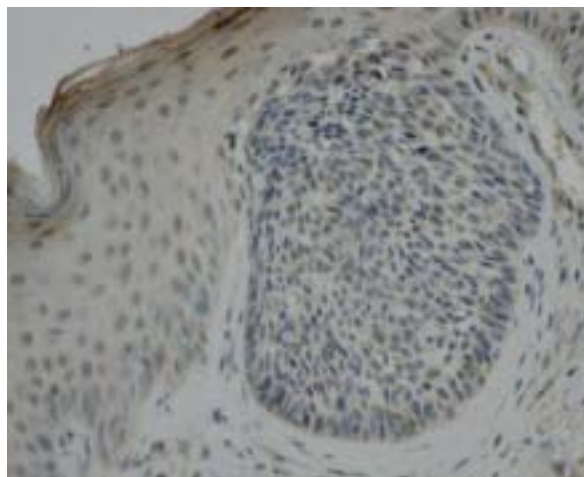
Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję cykliny A w biopsjach pobranych z postaci powierzchniowej raka podstawnocomórkowego wynosiła 7,9/100 komórek (2,0–13,0, OS 3,4), z postaci guzkowej 11,2/100 komórek (1,6–24,3, OS 7,6), a w grupie kontrolnej 2,3/100 komórek (1,3–3,3, OS 0,8). Liczba komórek wykazujących ekspresję cykliny A była istotnie większa w grupie 1. i 2. w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio  $p=0,01$ ,  $p=0,04$ ). Nie stwierdzono różnic między ekspresją cykliny A a typem histopatologicznym BCC ( $p>0,05$ ) (tab. 3., ryc. 3.).

### Cyklina B1

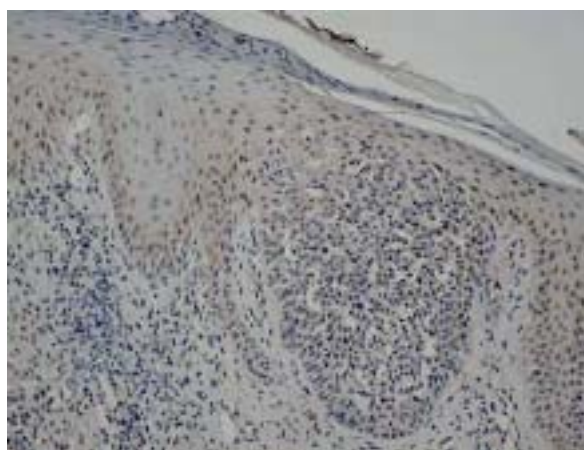
Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję cykliny B1 w biopsjach pobranych z postaci powierzchniowej raka podstawnocomórkowego wynosiła 4,6/100 komórek (0–16,3, OS 5,5), z postaci guzkowej 18,3/100 komórek (0,3–62,3, OS 19,3), podczas gdy w grupie kontrolnej była najwyższa i wynosiła 44,3/100 komórek (39,0–49,0, OS 4,1). Istotnie statystycznie niższą ich liczbę wykazano zarówno w grupie pBCC, jak i gBCC w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio  $p=0,004$ ,  $p=0,02$ ). Również w tym przypadku nie stwierdzono różnic między ekspresją cykliny B1 a typem histopatologicznym BCC ( $p>0,05$ ) (tab. 3., ryc. 4.).

### Omówienie

Prawidłowa ekspresja białek cyklu komórkowego okazuje się niezbędna do właściwej proliferacji komórek. Przejście komórki przez kolejne fazy cyklu kontrolowane jest przez wiele mechanizmów, w których istotną rolę odgrywają kinazy cyklinozależne. Wiele danych piśmiennictwa wskazuje, że akumulacja uszkodzeń na poziomie genów, prowadząca do dysregulacji ekspresji kodowanych białek cyklu komórkowego, pełni kluczową funkcję w procesie skórnej kancerogenezy [17, 20, 21]. Przechodzenie komórki przez poszczególne fazy cyklu jest sterowane przez cykliny, cyklinozależne kinazy oraz ich inhibitory. Mutacje w genach kodujących białka regulatorowe cyklu komórkowego stwierdzono w różnych rodzajach nowotworów. W komórkach prawidłowych CDK, kierując cyklem komórkowym, ulegają fosforylacji i defosforylacji, tj. procesom, które są niezbędne dla prawidłowego podziału komórki. Choć CDK są obecne przez cały czas, to jednak ich aktywność jest ograniczona do ściśle określonych punktów czasowych cyklu komórkowego. Cykliny w odróżnieniu od CDK są syntetyzowane jedynie podczas określonych faz cyklu komórkowego i po aktywacji zależnych od siebie kinaz ulegają szybkiej degradacji. Maksymalne stężenie cyklin występuje w metafazie/anafazie mitozy, po czym ulega ono zmniejszeniu na skutek trawienia ich przez proteazy. Regulacja stężenia cyklin odgrywa kluczową rolę w prawidłowym funkcjonowaniu cyklu komórkowego [22]. Na początku fazy  $G_1$  syntetyzowana jest cyklina D1 regulująca aktywność kinaz CDK4 i CDK6. Kolejny etap tego procesu stanowi synteza



Ryc. 3. Ekspresja cykliny A w komórkach guza w grupie 1. (powiększenie 400×)



Ryc. 4. Ekspresja cykliny B1 w komórkach guza w grupie 1. (powiększenie 200×)

DNA sterowana przez pojawienie się kompleksu cykliny A i kinazy CDK2 w sąsiedztwie replikującego materiału genetycznego jądra. W następnym etapie (faza  $G_2$ ) główną rolę odgrywa cyklina B1. Aktywny kompleks cykliny B1/CDK1 jest czynnikiem promującym mitozę, a jego inaktywacja powoduje wyjście komórki z mitozy. Degradacja cykliny B1 w końcowych fazach mitozy wprowadza komórkę w fazę  $G_1$  kolejnego cyklu.

Powszechnie uznanym zjawiskiem jest zaburzenie ekspresji tych niezbędnych regulatorów cyklu komórkowego w rakach skóry [23]. Do chwili obecnej większość badań było jednak przeprowadzanych w warunkach *in vitro* bądź na modelach zwierzęcych [24–27]. Tylko w pojedynczych pracach analizowano ekspresję tych białek w warunkach *in vivo* w niemelanocytowych rakach skóry.

Wyniki badań przeprowadzonych na modelu zwierzęcym oceniających ekspresję cykliny D1 w stanach przed-

rakowych oraz rakach kolczystokomórkowych wykazały istotnie wyższą ekspresję tego białka w rakach niż w stanach je poprzedzających [24]. Z tymi wynikami zgodne są również obserwacje innych autorów [25–27], którzy nadekspresję tej proteiny wykazali w raku kolczystokomórkowym (model zwierzęcy). Dane te wskazują na istotny udział cykliny D1 w rozwoju i progresji NMSC. Inohara i wsp. [28], przeprowadzając badanie w kierunku obecności cyklin D1 w wycinkach skóry pochodzących z *histiocytoma*, raka kolczystokomórkowego i czerniaka, wykazali obecność tej proteiny jedynie w guzach złośliwych, uznając tym samym cyklinę D1 za marker złośliwości guza. Inni autorzy [29], badając liczbę kopii genu dla cykliny D1 i jej ekspresję w różnych postaciach czerniaka, stwierdzili pozytywną korelację między obecnością tego białka a złośliwością nowotworu. Autorzy sugerują, że cyklina D1 może być uznana za onkogen w *melanoma malignum*, który być może w przyszłości stanie się celem strategii terapeutycznych.

Liang i wsp. [30], analizując ekspresję cykliny D1 w 127 przypadkach raków podstawnokomórkowych, wykazali jej obecność w ponad 50% BCC, przy jednoczesnym braku ekspresji w niezmięnionej chorobowo tkance otoczenia guza. Podobne wyniki uzyskali Staibano i wsp. [31], którzy badając 60 wycinków pobranych z różnych typów histopatologicznych BCC, odnotowali zwiększoną liczbę komórek cykliny D1(+) w połowie przypadków oraz dodatnią korelację między nasileniem jej ekspresji a agresywnością guza. Analogiczne zależności wykazano w badaniu własnym, obserwując nadekspresję cykliny D1 w bioptatach pobranych od osób z BCC. Ponadto stwierdzono większą liczbę komórek wykazujących ekspresję cykliny D1 w odmianie powierzchniowej niż guzkowej BCC, co może świadczyć o większym uszkodzeniu mechanizmów naprawczych komórki w tym typie histopatologicznym guza.

Do chwili obecnej jedynie w pojedynczych pracach analizowano udział ekspresji cykliny A i B w nowotworach skóry. W badaniach Tran i wsp. [32] wykazano wyższą ekspresję tych białek w czerniaku w porównaniu ze znamionami melanocytowymi. Autorzy wykazali pozytywną korelację między ekspresją cyklin a inwazyjnością czerniaka, co ma istotne znaczenie w dalszym rokowaniu. W kolejnym eksperymencie ten sam zespół badaczy, analizując zmiany o typie rogowiatka kolczystokomórkowego i SCC, odnotował zwiększoną ekspresję cykliny A i B w obu grupach, jednak nie stwierdził różnic w ekspresji białek między tymi jednostkami chorobowymi. Autorzy sugerowali, że w rozwoju obu typu zmian dochodzi do dysregulacji mechanizmów kontrolujących cykl komórkowy [33]. Nadekspresję cykliny A obserwowano również w zmianach o typie rogowacenia słonecznego, chorobie Bowena i rakach kolczystokomórkowych. Badacze wykazali istotny wzrost poziomu jej ekspresji wraz ze zwiększeniem agresywności zmian chorobowych, z największym jej nasileniem w przypadkach nisko zróżnicowanych raków kolczy-

stokomórkowych [34]. W dostępnym piśmiennictwie brakuje danych analizujących ekspresję cyklin A i B w rakach podstawnokomórkowych.

W przeprowadzonym badaniu własnym stwierdzono istotnie większą liczbę komórek wykazujących ekspresję cykliny A w obu typach BCC w porównaniu z grupą kontrolną, w której nie obserwowano ekspresji tego białka. Uzyskane wyniki wskazują na dysregulację cyklu komórkowego w rakach podstawnokomórkowych, prowadzącą do jego zahamowania.

Zmniejszony w porównaniu z grupą kontrolną poziom ekspresji cykliny B1 w pBCC i gBCC może również przemawiać za zahamowaniem cyklu komórkowego w jego początkowych fazach (G1 i S), w których rozpoczyna się synteza tego białka. Różnice w ekspresji cykliny B w analizowanej grupie BCC w odniesieniu do agresywnych raków skóry (SCC, MM) potwierdzają mniejszą agresywność raków podstawnokomórkowych.

Uzyskane wyniki wykazujące odmienną ekspresję cykliny D1 w postaci powierzchniowej i guzkowej BCC mogą świadczyć o odmiennych mechanizmach rozwoju tych najczęstszych postaci raków podstawnokomórkowych.

*Praca finansowana z funduszy statutowych UM nr 503-1-1019 oraz pracy własnej nr 502-11-725.*

#### Piśmiennictwo

1. Poorsattar SP, Hornung RL. UV light abuse and high-risk tanning behavior among undergraduate college students. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 375-9.
2. Stryker JE, Yaroch AL, Moser RP, et al. Prevalence of sunless tanning product use and related behaviors among adults in the United States: results from a national survey. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 387-90.
3. Neale R, Davis M, Pandeya N, et al. Basal cell carcinoma on the trunk is associated with excessive sun exposure. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 380-6.
4. Garssen J, van Loveren H. Effects of ultraviolet exposure on the immune system. *Crit Rev Immunol* 2001; 21: 359-97.
5. Grant WB, Holick MF. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern Med Rev* 2005; 10: 94-111.
6. Shemesh S, Spencer JM, Phelps RG. Pattern of development of basal versus squamous cell carcinoma. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 40-4.
7. Diffey BL. Analysis of the risk of skin cancer from sunlight and solarium in subjects living in northern Europe. *Photodermatol* 1987; 4: 118-26.
8. Lovatt TJ, Lear JT, Bastrilles J, et al. Associations between ultraviolet radiation, basal cell carcinoma site and histology, host characteristics, and rate of development of further tumors. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52: 468-73.
9. McCormack CJ, Kelly JW, Dorevitch AP. 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: 593-6.
10. Bastiaens MT, Hoefnagel JJ, Bruijn JA, et al. Differences in age, site distribution, and sex between nodular and superficial basal cell carcinoma indicate different types of tumors. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 880-4.

11. Kuzmina N, Talme T, Lapins J, Emtestam L. Non-invasive preoperative assessment of basal cell carcinoma of nodular and superficial types. *Skin Res Technol* 2005; 11: 196-200.
12. Lo Muzio L, Staibano S, Pannone G, et al. Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in sporadic odontogenic keratocysts and odontogenic keratocysts associated with the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Dent Res* 1999; 78: 1345-53.
13. Wohlbold L, Larochelle S, Liao JC, et al. The cyclin-dependent kinase (CDK) family member PNQALRE/CCRK supports cell proliferation but has no intrinsic CDK-activating kinase (CAK) activity. *Cell Cycle* 2006; 5: 546-54.
14. Kim AL, Athar M, Bickers DR, Gautier J. Ultraviolet-B-induced G1 arrest is mediated by downregulation of cyclin-dependent kinase 4 in transformed keratinocytes lacking functional p53. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 818-24.
15. Gambichler T, Skrygan M, Hyun J, et al. Cytokine mRNA expression in basal cell carcinoma. *Arch Dermatol Res* 2006; 298: 139-41.
16. Bhoumik A, Fichtman B, Derossi C, et al. Suppressor role of activating transcription factor 2 (ATF2) in skin cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 1674-9.
17. Tilli CM, Van Steensel MA, Krekels GA, et al. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2005; 152: 1108-24.
18. Adolphe C, Hetherington R, Ellis T, Wainwright B. Patched1 functions as a gatekeeper by promoting cell cycle progression. *Cancer Res* 2006; 66: 2081-8.
19. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988; 124: 869-71.
20. Soufir N, Molés JP, Vilmer C, et al. P16 UV mutations in human skin epithelial tumors. *Oncogene* 1999; 18: 5477-81.
21. Moloney FJ, Comber H, Conlon PJ, Murphy GM. The role of immunosuppression in the pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2006; 154: 790-1.
22. Schafer KA. The cell cycle: a review. *Vet Pathol* 1998; 35: 461-78.
23. Kuźbicki L, Aładowicz E, Chwirot BW. Cyclin-dependent kinase 2 expression in human melanomas and benign melanocytic skin lesions. *Melanoma Res* 2006; 16: 435-44.
24. Bianchi AB, Fischer SM, Robles AI, et al. Overexpression of cyclin D1 in mouse skin carcinogenesis. *Oncogene* 1993; 8: 1127-33.
25. Balasubramanian S, Ahmad N, Jeedigunta S, Mukhtar H. Alterations in cell cycle regulation in mouse skin tumors. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 243: 744-8.
26. Robles AI, Conti CJ. Early overexpression of cyclin D1 protein in mouse skin carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1995; 16: 781-6.
27. Zhang SY, Liu SC, Goodrow T, et al. Increased expression of G1 cyclins and cyclin-dependent kinases during tumor progression of chemically induced mouse skin neoplasms. *Mol Carcinog* 1997; 18: 142-52.
28. Inohara S, Kitagawa K, Kitano Y. Expression of cyclin D1 and p53 protein in various malignant skin tumors. *Dermatology* 1996; 192: 94-8.
29. Sauter ER, Yeo UC, von Stemm A, et al. Cyclin D1 is a candidate oncogene in cutaneous melanoma. *Cancer Res* 2002; 62: 3200-6.
30. Liang SB, Furihata M, Takeuchi T, et al. Overexpression of cyclin D1 in nonmelanocytic skin cancer. *Virchows Arch* 2000; 436: 370-6.
31. Staibano S, Lo Muzio L, Pannone G, et al.; Association of directors of anatomic and surgical pathology. DNA ploidy and cyclin D1 expression in basal cell carcinoma of the head and neck. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 805-13.
32. Tran TA, Ross JS, Carlson JA, Mihm MC Jr. Mitotic cyclins and cyclin-dependent kinases in melanocytic lesions. *Hum Pathol* 1998; 29: 1085-90.
33. Tran TA, Ross JS, Boehm JR, Carlson JA. Comparison of mitotic cyclins and cyclin-dependent kinase expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. *J Cutan Pathol* 1999; 26: 391-7.
34. Brasanac D, Boricic I, Todorovic V, et al. Cyclin A and beta-catenin expression in actinic keratosis, Bowen's disease and invasive squamous cell carcinoma of the skin. *Br J Dermatol* 2005; 153: 1166-75.