

©Borgis

\*Mariola Wyględowska-Kania<sup>1</sup>, Joanna Gola<sup>2</sup>, Anna Fila-Daniłow<sup>3</sup>, Dominika Wcisło-Dziadecka<sup>4</sup>, Ligia Brzezińska-Wcisło<sup>1</sup>, Urszula Mazurek<sup>2</sup>

## Badania molekularne nieczerniakowych nowotworów skóry

## Molecular studies of non-melanoma skin cancers

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Dermatologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. med. Ligia Brzezińska-Wcisło

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Biologii Molekularnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Kierownik Katedry: prof. dr hab. med. Urszula Mazurek

<sup>3</sup>Katedra i Zakład Genetyki Medycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Kierownik Katedry: prof. dr hab. med. Jan Kowalski

<sup>4</sup>Katedra Kosmetologii, Zakład Badań Strukturalnych Skóry Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Kierownik Katedry: dr hab. Krzysztof Jasik

### Streszczenie

**Wstęp.** Różnicowanie rogowiaka kolczystokomórkowego (KA) od raka kolczystokomórkowego (SCC) oraz raka podstawokomórkowego (BCC) w niektórych przypadkach może być problematyczne. Prowadzone badania molekularne mają na celu wytypowanie diagnostycznych i prognostycznych markerów uzupełniających diagnostykę kliniczną oraz wyznaczenie nowych celów terapeutycznych. Metaloproteiny (MMPs) odgrywają istotną rolę w progresji i metastazie nowotworów. Ich aktywność katalityczna jest hamowana przez ich tkankowe inhibitory (TIMPs). Ze względu na duże znaczenie MMPs są przedmiotem coraz większej liczby badań klinicznych, także w dermatologii.

**Materiał i metody.** Materiałem do badań były wycinki z centrum guzów BCC, SCC i KA oraz skóry prawidłowej. Tkanki poddano ekstrakcji RNA i przeprowadzono analizę transkryptomów techniką ekspresyjnych mikromacierzy oligonukleotydowych HGU133A (Affymetrix).

**Wyniki.** Wykazano znaczne podobieństwo molekularne KA do raków kolczystokomórkowych. Grupa raków podstawokomórkowych wykazała heterogenność z podziałem na dwie podgrupy o zróżnicowanej liczbie kopii mRNA genu MMP10 i MMP2. Transkrypty genu kodującego MMP1 wykazywały znaczne zwiększenie stężenia we wszystkich badanych grupach w odniesieniu do kontroli.

**Wnioski.** Wzrost liczby kopii mRNA genu kodującego MMP10 oraz spadek MMP2 mogą kandydować do miana markera prognostycznego u chorych z BCC. Potencjalnym uniwersalnym celem terapii molekularnie ukierunkowanej w leczeniu nieczerniakowych raków skóry jest gen kodujący metaloproteinazę 1.

Słowa kluczowe: ekspresyjne mikromacierze oligonukleotydowe, raki nieczerniakowe skóry, metaloproteiny

### Summary

**Introduction.** Differentiation of keratoacanthoma (KA) from squamous cell carcinoma (SCC) and basal cell carcinoma (BCC) in some cases may be problematic. Molecular studies are conducted to assign the additional diagnostic and prognostic markers and to appoint new therapeutic targets. Metalloproteinases (MMPs) play an important role in tumour progression and metastasis. Their catalytic activity is inhibited by their tissue inhibitors (TIMPs). Because of the importance of metalloproteinases many trials are conducted, including dermatological studies.

**Materials and methods.** Tissue samples were obtained from the centre area of BCC, SCC and KA tumours. Transcriptomes of studied samples were appointed with the use expression oligonucleotide microarray technique.

**Results.** Keratoacanthoma demonstrated considerable molecular similarity to SCC. The group of BCC showed heterogeneity and was divided into two subgroups characterized by different mRNA copy numbers of the MMP10 and MMP2 genes. The transcripts of the gene MMP1 showed a significant increase in all studied groups comparing to controls.

**Conclusions.** The increase of MMP10 and decrease of MMP2 mRNA copies could become prognostic markers in patients with cutaneous basal cell carcinoma. Universal potential therapeutic target in non-melanoma skin lesions is metalloproteinase 1 gene.

Key words: expression oligonucleotide microarray, non-melanoma skin cancers, metalloproteinases

## WSTĘP

Wśród diagnozowanych nieczerniakowych raków skóry najczęściej występują rak podstawnokomórkowy (ang. *basal cell carcinoma* – BCC) i rak kolczystokomórkowy (ang. *carcinoma spinocellulareae* – SCC). BCC charakteryzuje się niskim stopniem złośliwości histologicznej i klinicznej, powolnym wzrostem oraz bardzo rzadkim przerzutowaniem (1, 2). Klinicznie zmiany są wysoce zróżnicowane i mogą mieć charakter powierzchniowy, bliznowaciejący, barwnikowy, twarżinopodobny, guzkowy i wrzodziejący (3, 4). SCC wywodzi się z komórek naskórka i powstaje na podłożu stanów przedrakowych. Odznacza się szybką dynamiką wzrostu i tworzeniem przerzutów. Rogowiak kolczystokomórkowy skóry (ang. *keratoacanthoma* – KA) jest zmianą o cechach rozrostu rzekomonowotworowego (5, 6). W większości przypadków ma przebieg łagodny, wykazując tendencję do samoistnej regresji. W niektórych przypadkach może jednak wykazywać cechy kliniczne i histologiczne typowe dla raka kolczystokomórkowego (obserwacje własne). Istnieje zatem wiele kontrowersji, czy zaliczyć rogowiaka kolczystokomórkowego do zmian o charakterze łagodnym, czy w niektórych przypadkach do wczesnej fazy raka kolczystokomórkowego (7-10).

Połączenie analizy cech fenotypowych różnicujących nieczerniakowe raki skóry z analizą molekularną zwiększa precyzję diagnostyki klinicznej, a także umożliwia poznanie zmian i zależności zachodzących w komórkach nowotworowych, dając szansę wdrożenia celowanego leczenia – często nazywanego terapią molekularnie ukierunkowaną. W ostatnich latach opublikowano dużo prac, w których opisywane są spektakularne wyniki badań przedklinicznych i klinicznych otwierające nowe możliwości leczenia nowotworów, uwzględniające heterogenność zmian nowotworowych, definiowaną na podstawie wyników analizy molekularnej (11, 12). Połączenie leczenia blokującego różne cele molekularne z terapią cytotoksyczną jest jedną z nowszych strategii leczenia przeciwnowotworowego. Badania molekularne nieczerniakowych nowotworów skóry mają na celu wytypowanie diagnostycznych i prognostycznych markerów uzupełniających diagnostykę kliniczną oraz potencjalnych celów terapeutycznych (13-15).

**Pośród wielu genów zaangażowanych w rozwój i progresję nowotworów istotną rolę odgrywają geny kodujące metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej** (ang. *matrix metalloproteinases* – MMPs) (16-17). MMPs są to enzymy proteolityczne warunkujące przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej, jak również modulujące dostępność i aktywność cytokin, czynników wzrostu oraz ich receptorów (18). Poprzez swój wpływ na strukturę macierzy zewnątrzkomórkowej MMPs uczestniczą w progresji i metastazie nowotworów. Aktywność metaloproteinaz jest kontrolowana zarówno na poziomie ekspresji genów (czynniki epigenetyczne, mikro-RNA czy interferencyjny RNA), jak i na poziomie aktywności enzymatycznej, która jest modulowana przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz

– TIMPs (ang. *tissue inhibitors of metalloproteinases*) (18). Zachowanie równowagi pomiędzy MMPs i TIMPs pełni istotną rolę w utrzymaniu homeostazy. Na przykład liczne badania wykazały, że MMP9 działa głównie jako promotor inwazji nowotworu i tworzenia przerzutów, natomiast TIMP-1 jest inhibitorem aktywności proteolitycznej metaloproteinaz, hamując progresję nowotworu (19). Ze względu na duże znaczenie, MMPs są przedmiotem coraz większej liczby badań klinicznych. Terapeutyczne zastosowanie inhibitorów metaloproteinaz może pomóc w leczeniu wielu chorób, w których obserwuje się znaczne zmiany na poziomie MMPs (20).

Celem tej pracy była ocena stopnia zróżnicowania molekularnego nieczerniakowych nowotworów skóry oraz wyznaczenie profilu stężeń mRNA MMPs i TIMPs i wytypowanie mRNA, które mogą stanowić uzupełnienie diagnostyki klinicznej zmian nieczerniakowych skóry lub potencjalny cel terapeutyczny w terapii przeciwnowotworowej.

## MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto grupę 16 chorych – 9 kobiet i 7 mężczyzn, w wieku od 61-92 lat ( $74,3 \pm 10,4$ ) diagnozowanych i leczonych w Klinice i Katedrze Dermatologii SUM w Katowicach. Na podstawie obrazu klinicznego i wyniku badania patomorfologicznego w siedmiu przypadkach rozpoznano raka podstawnokomórkowego, w sześciu rogowiaka kolczystokomórkowego oraz w trzech przypadkach raka kolczystokomórkowego. Od chorych pobrano wycinki do oceny patomorfologicznej i molekularnej z centrum guza oraz marginesów zdrowych tkanek. Tkanki pobrane z marginesów, w których nie stwierdzono komórek nowotworowych, zostały zakwalifikowane jako materiał porównawczy (kontrola). Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego (KNW-6501-86/08).

## Analiza molekularna

Z wycinków wyizolowano całkowity RNA z zastosowaniem odczynnika TRIZOL (Invitrogen Life Technologies, Kalifornia, USA), zgodnie z protokołem producenta. Ekstrakty całkowitego RNA zostały oczyszczone z wykorzystaniem zestawu RNeasy Mini Kit (Qiagen GmbH, Niemcy), a następnie poddane ocenie ilościowej i jakościowej (21). Transkrypty badanych guzów zostały wyznaczone techniką mikromacierzy oligonukleotydowych HGU-133A (Affymetrix Inc., Kalifornia, USA), z zastosowaniem skanera GeneArray Scanner G2500A (Agilent Technologies, Kalifornia, USA) (21). Analizę statystyczną rozpoczęto od normalizacji metodą RMA (ang. *Robust Multi-array Average*) polegającej na przekształceniu logarytmicznym wartości sygnału fluorescencji dla każdego transkryptu ( $\log_2$ ) w programie RMA Express (<http://rmaexpress.bmbolstad.com>). Następnie przeprowadzono grupowanie transkryptomów na podstawie zbliżonych wartości znormalizowanych sygnałów fluorescencji metodą aglomeracji hierarchicznej za pomocą programu

Statistica v 8.0 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA) i analizy głównych składowych – PCA (ang. *Principal Component Analysis*) za pomocą platformy Gene Spring 12.0 (Agilent Technologies Inc., Kalifornia, USA). Geny różnicujące badane grupy wycinków od skóry prawidłowej wyznaczono z wykorzystaniem platformy Gene Spring 12.0, przy założeniu, że istotność statystyczna  $p < 0,05$ , a wielokrotność różnicy  $FC \geq 3,0$  ( $FC$  – ang. *fold change*).

## WYNIKI

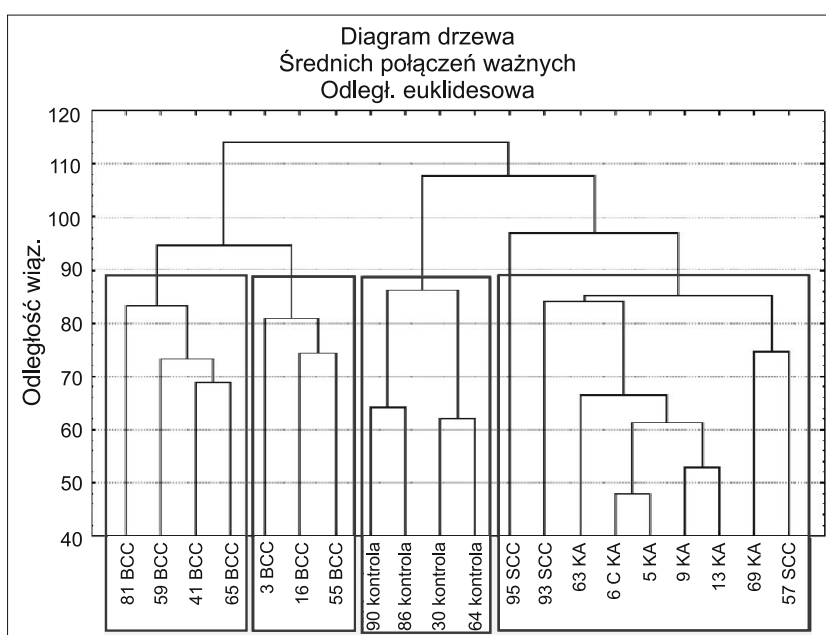
Część eksperymentalną pracy wykonano w 2 etapach. W pierwszym etapie oceniono zgodność grupowania wycinków na podstawie kryteriów molekularnych, obrazów klinicznych i wyników histopatologicznych. W drugim etapie przeprowadzono analizę porównawczą transkryptomów genów kodujących MMPs i TIMPs oraz wytypowano mRNA, które mogłyby stanowić uzupełniający marker diagnostyczny i cel terapeutyczny w nieczerniakowych nowotworach skóry.

### Ocena zgodności grupowania chorych na podstawie analizy klinicznej, histopatologicznej i molekularnej

Sygnaly fluorescencji 20 transkryptomów (6 KA, 3 SCC, 7 BCC oraz 4 kontroli) znormalizowano metodą RMA. Na podstawie grupowania analizowanych wycinków przeprowadzonego techniką aglomeracji hierarchicznej metodą średnich połączeń ważonych z zastosowaniem odległości euklidesowych oraz na podstawie analizy głównych składowych (PCA) wyłoniono następujące grupy badane: I-BCC (wycinki nr 3, 16, 55), II-BCC (81, 59, 41, 65), KA i SCC (95, 96, 63, 6, 5, 9, 13, 69, 57), K (90, 86, 30, 64) (ryc. 1). W celu wytypowania markerów różnicujących zmiany KA od SCC wyodrębniono je jako osobne grupy badane.

### Typowanie genów różnicujących nieczerniakowe nowotwory skóry

Geny różnicujące wytypowano dla KA, SCC i BCC w odniesieniu do kontroli. Następnie oceniono siłę różnicowania wyselekcjonowanych genów. Analizę porównawczą rozpoczęto od porównania profilu stężeń 37 ID (ID – numer identyfikacyjny zestawu sond na mikromacierzy komplementarnych do określonego mRNA) mRNA metaloproteinaz (MMP) i ich inhibitorów (TIMP) wyznaczonych techniką mikromacierzy oligonukleotydowych z zastosowaniem płytek HGU-133A (Affymetrix) oraz jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA (tab. 1). Pośród genów różnicujących największym wzrostem stężenia mRNA w porównaniu do kontroli charakteryzowała się grupa raków podstawnokomórkowych BCC-I oraz grupa raków kolczystokomórkowych (SCC) (ryc. 2). Transkrypty genu kodującego MMP1 wykazywały znaczne zwiększenie stężenia we wszystkich badanych grupach w odniesieniu do kontroli (tab. 2). Stężenie mRNA tego genu było najwyższe w grupie raków kolczystokomórkowych. W przypadku MMP10 zaobserwowano wzrost we wszystkich grupach za wyjątkiem grupy BCC-II. Dla raków podstawnokomórkowych (niezależnie od podgrupy) charakterystyczny był statystycznie znamienny wzrost mRNA MMP11. Grupę BCC-I charakteryzował wzrost stężenia mRNA TIMP3, jednak tylko dla jednego zestawu sond. Natomiast grupę BCC-II, podobnie jak grupę KA, charakteryzował znamienny statystycznie spadek stężenia transkryptów genu MMP2. Charakterystyczną cechą KA było także znamienne statystyczne zmniejszenie się stężenia mRNA TIMP3. Jednak, podobnie jak w przypadku BCC-I, różnicę tę odnotowano tylko dla jednego zestawu sond. W przypadku pozostałych genów grupa KA wykazywała podobieństwo molekularne do raków kolczystokomórkowych.



Ryc. 1. Wynik grupowania hierarchicznego metodą średnich połączeń ważonych z odległością euklidesową transkryptomów (22283 ID mRNA) wycinków skóry zakwalifikowanych do analizy porównawczej. W kolejności od lewej: grupa BCC II, grupa BCC I, grupa kontrolna, grupa KA + SCC.

Tabela 1. Liczba ID mRNA metaloproteinaz i ich inhibitorów różnicujących transkryptomy nieczerniakowych nowotworów skóry od skóry prawidłowej, wyznaczona metodą jednoczynnikowej wariacji ANOVA wskazującej istotność statystyczną różnicy (p) i jej siłę.

P		p < 0,05	p < 0,02	p < 0,01	p < 0,005	p < 0,001
Liczba mRNA	37	13	8	5	2	1

## DYSKUSJA

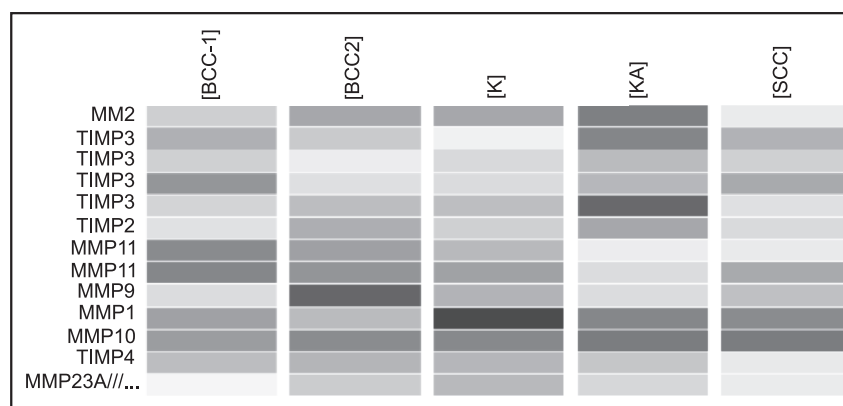
Nieczerniakowe nowotwory skóry ze względu na dość liczne występowanie w populacji stanowią duży problem zdrowotny (22). Raki kolczystokomórkowe skóry mogą dawać wczesne przerzuty najczęściej do

okolicznych węzłów chłonnych. Z uwagi na niekiedy występujące kliniczne i histologiczne trudności w różnicowaniu KA od SCC poszukuje się uzupełniających molekularnych markerów diagnostycznych. Dotychczasowe badania molekularne dostarczyły wielu informacji, jednak znalezienie optymalnych markerów molekularnych uzupełniających diagnostykę kliniczną nieczerniakowych nowotworów skóry oraz potencjalnych celów terapeutycznych nastęrcza wiele trudności (14). Prawdopodobnie jest to spowodowane odmiennym podejściem do badań poszczególnych grup badawczych, a także odmiennością molekularną poszczególnych próbek kwalifikowanych do określonej grupy badanej.

Znaczenie metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w rozwoju i przerzutowaniu nowotworów

Tabela 2. Wielokrotność różnicy stężenia mRNA MMPs i TIMPs w poszczególnych grupach badanych w odniesieniu do kontroli. p-value – graniczny poziom istotności statystycznej; FC (ang. *fold change*) – wielokrotność różnicy; \*FC ≥ 3,0; zmiana – kierunek zmiany stężenia transkryptów (↑ – wzrost, ↓ – spadek); ID – numer identyfikacyjny zestawu sond na mikromacierzy komplementarnych do określonego mRNA.

mRNA		p-value	BCC-I vs K		BCC-II vs K		KA vs K		SCC vs K	
symbol	ID		FC	Zmiana	FC	zmiana	FC	zmiana	FC	Zmiana
MMP1	204475_at	0,0001	29,05*	↑	21,77*	↑	46,23*	↑	42,07*	↑
MMP2	201069_at	0,0095	1,53	↓	3,38*	↓	4,78*	↓	1,91	↓
MMP9	203936_s_at	0,0441	1,83	↑	2,00	↓	1,82	↑	2,35	↑
MMP10	205680_at	0,0121	5,09*	↑	1,04	↑	14,51*	↑	12,60*	↑
MMP11	203876_s_at	0,0168	4,69*	↑	3,29*	↑	1,52	↑	1,36	↑
MMP11	203878_s_at	0,0038	6,16*	↑	4,63*	↑	2,07	↑	1,06	↑
MMP23	207118_s_at	0,0219	1,68	↓	2,13	↓	1,99	↓	1,56	↓
TIMP2	203167_at	0,0051	1,16	↓	2,12	↓	2,22	↓	1,09	↓
TIMP3	201147_s_at	0,0210	1,86	↑	1,29	↓	2,19	↓	1,81	↑
TIMP3	201148_s_at	0,0422	1,08	↑	1,29	↓	1,76	↓	1,08	↑
TIMP3	201149_s_at	0,0228	3,057*	↑	1,36	↑	1,26	↓	2,31	↑
TIMP3	201150_s_at	0,0060	1,23	↓	2,26	↓	4,76*	↓	1,82	↓
TIMP4	206243_at	0,0190	2,42	↓	2,57	↓	2,29	↓	1,57	↓



Ryc. 2. Mapa ciepła (*heatmap*) obrazująca stężenie transkryptów różnicujących badane grupy w porównaniu do kontroli. Kolor jasny przedstawia średni poziom fluorescencji danego transkryptu we wszystkich badanych transkryptach, zmiana barwy na ciemniejszą (aż do czarnej) obrazuje stopień różnicowania sygnału fluorescencji od wartości średniej. BCC – I: 1 podgrupa raków podstawnkomórkowych; BCC – II: 2 podgrupa raków podstawnkomórkowych; SCC: raki kolczystokomórkowe; KA – rogowiaki kolczystokomórkowe; K – kotrola.

zostało dość dobrze poznane (23). Jednak badania dotyczące zmian transkryptomów tych genów w rakach nieczerniakowych skóry jak do tej pory nie były kompletne (24). W niniejszej pracy badania przeprowadzono techniką ekspresyjnych mikromacierzy oligonukleotydowych, która umożliwia jednocześnie zbadanie aktywności transkrypcyjnej 14 500 genów i wielu modyfikacji potranskrypcyjnych (22 286 mRNA) w jednej próbce. W pierwszym etapie przeprowadzono grupowanie transkryptomów badanych wycinków, które ujawniło pewne cechy molekularne wspólne dla rogowiaków kolczystokomórkowych i raków kolczystokomórkowych, a także heterogenność molekularną w grupie raków podstawnokomórkowych.

**Wykazane podobieństwo molekularne rogowiaków kolczystokomórkowych do raków kolczystokomórkowych może wskazywać na możliwość zezłośliwienia tych zmian.** Poznanie czynników decydujących o przejściu rogowia kolczystokomórkowego w raka kolczystokomórkowego mogłoby w przyszłości umożliwić włączenie celowanej terapii molekularnie ukierunkowanej. Możliwość zastosowania terapii celowanej wraz z rozwojem technik biotechnologicznych staje się coraz bardziej realna (25).

Zgodnie z wynikami klasteryzacji hierarchicznej badane raki podstawnokomórkowe podzielono na dwie podgrupy, co umożliwiło zbadanie odmienności molekularnych raków podstawnokomórkowych. Odmienność ta nie była uzależniona od postaci klinicznej badanych guzów. Jednak u osób, od których pobrano materiał zakwalifikowany w badaniach molekularnych jako BCC-I, oprócz usuniętej zmiany (włączonej do badań molekularnych) zaobserwowano współwystępowanie innych zmian skórnych zarówno o charakterze nowotworowym, jak i przednowotworowym. Niezależnie od podgrupy we wszystkich rakach podstawnokomórkowych stwierdzono wzrost aktywności MMP11. Stanowi to odrębną cechę molekularną tych raków w odróżnieniu od raków kolczystokomórkowych i rogowiaków kolczystokomórkowych. Badania te potwierdzają wcześniejsze wyniki uzyskane przez Cribier i wsp. (26), którzy wykazali obecność białka MMP11 w rakach podstawnokomórkowych. Natomiast odmienność molekularna BCC dotyczyła spadku ekspresji genu MMP2 w podgrupie BCC-II. Badania Dumas i wsp. przeprowadzone techniką immunohistochemiczną również wykazały spadek ekspresji MMP2 w BCC (27). Co ciekawe, również w grupie rogowiaków kol-

czystokomórkowych będących zmianami rzekomonowotworowymi zaobserwowano spadek ekspresji genu MMP2, co przemawia za tym, że może on kandydować do miana markera prognostycznego BCC. Ponadto we wszystkich badanych grupach, za wyjątkiem grupy BCC-II, stwierdzono znamienny wzrost ekspresji MMP10. Badania Justilien i wsp. wykazały, że enzym ten jest nie tylko kluczowy w inwazji i metastazie nowotworów, ale także jest on kluczowym czynnikiem dla nowotworowych komórek macierzystych raka płuc u myszy (28), co może tłumaczyć zwiększoną tendencję do nowotworzenia u osób z grupy BCC-I. Z drugiej jednak strony należy zwrócić uwagę na fakt, że taka hipoteza nie tłumaczy zwiększonej ekspresji MMP10 w rogowiakach kolczystokomórkowych, które są zmianami rzekomonowotworowymi. Warto podkreślić, że wielokrotność różnicy zmiany w odniesieniu do kontroli była zbliżona w przypadku zmian KA i SCC oraz większa niż w przypadku BCC-I. Być może w tym przypadku jest to cecha molekularna zmian KA i SCC, natomiast wzrost w grupie BCC-I jest jednak powiązany ze zwiększoną tendencją do nowotworzenia. Zatem wzrost liczby kopii mRNA MMP10 oraz spadek MMP2 mogą stanowić uzupełniające markery prognostyczne u chorych z rakiem podstawnokomórkowym skóry.

We wszystkich badanych grupach stwierdzono znamienny wzrost ekspresji MMP1. Podobnie jak w przypadku MMP10, wielokrotność różnicy zmiany w odniesieniu do kontroli była zbliżona w przypadku KA i SCC. Jednak charakterystyczne jest to, że niezależnie od typu histologicznego liczba transkryptów MMP1 w zmianach nieczerniakowych była kilkudziesięciokrotnie większa niż w kontroli. Metaloproteinaza 1 może zatem stać się potencjalnym uniwersalnym celem terapeutycznym niezależnie od typu histologicznego zmiany nieczerniakowej.

## WNIOSKI

Profil stężeń mRNA MMPs i TIMPs może stanowić uzupełniający marker diagnostyczny nieczerniakowych raków skóry. Wzrost liczby kopii mRNA genu kodującego MMP10 oraz spadek mRNA MMP2 mogą kandydować do miana markera prognostycznego u chorych z BCC. Potencjalnym uniwersalnym celem terapii molekularnie ukierunkowanej w leczeniu nieczerniakowych raków skóry jest gen kodujący metaloproteinazę 1.

## PIŚMIENNICTWO

1. Archontaki M, Korkolis DP, Arnoglannaki N et al.: Giant Basal cell carcinoma: clinicopathological analysis of 51 cases and review of the literature. *Anticancer Res* 2009; 29(7): 2655-2663.
2. Roewert-Huber J, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E et al.: Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2007; 157: 47-51.
3. Buljan M, Bulat V, Situm M et al.: Variations in clinical presentation of basal cell carcinoma. *Acta Clin Croat* 2008; 47(1): 25-30.
4. Van der Geer S, Ostertag JU, Krekels GA: Treatment of basal cell carcinomas in patients with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23(3): 308-313.

5. Pattee SF, Silvis N: Keratoacanthoma developing in sites of previous trauma: A report of two cases and review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48(2): 35-38.
6. Ramos LM, Cardoso SV, Loyola AM et al.: Keratoacanthoma of the interior lip: review and report of case with spontaneous regression. *J Appl Oral Sci* 2009; 17(3): 262-265.
7. Beham A, Regauer S, Soyer HP et al.: Keratoacanthoma: a clinically distinct variant of well differentiated squamous cell carcinoma. *Adv Anat Pathol* 1998; 5(5): 269-280.
8. Narbutt J, Słowik-Rylska M, Joss-Wichman E et al.: Molekularne podstawy rozwoju niemelano cytowych raków skóry. *Prz Dermatol* 2007; 94(6): 677-682.
9. Perez-Ordóñez B, Beauchemin M, Jordan RC: Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and Neck. *J Clin Pathol* 2006; 59(5): 445-453.
10. Southey MC, Young MA, Whitty J et al.: Molecular pathologic analysis enhances the diagnosis and management of Muir-Torre syndrome and gives insight into its underlying molecular pathogenesis. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(7): 936-941.
11. Krawczyk P, Czekajka-Chehab E, Wojas-Krawczyk K et al.: Molekularne terapie celowane w niedrobnokomórkowym raku płuca. *Forum Medycyny Rodzinnej* 2009; 3(1): 16-26.
12. Wojtkiewicz MZ, Sierko E: Leczenie celowane u chorych na raka jelita grubego. *Onkologia w praktyce klinicznej* 2007; 3(6): 286-297.
13. Bock VL, Lyons JG, Huang XX et al.: BRM and BRG1 subunits of the SWI/SNF chromatin remodelling complex are downregulated upon progression of benign skin lesions into invasive tumours. *Br J Dermatol* 2011; 164(6): 1221-1227.
14. Van Haren R, Feldman D, Sinha AA: Systematic comparison of nonmelanoma skin cancer microarray datasets reveals lack of consensus genes. *Br J Dermatol* 2009; 161(6): 1278-1287.
15. Harradine KA, Ridd K, Saunier EF et al.: Elevated cutaneous Smad activation associates with enhanced skin tumor susceptibility in organ transplant recipients. *Clin Cancer Res* 2009; 15(16): 5101-5107.
16. Kwiatkowski P, Godlewski J, Śliwińska-Jewsiewicka A et al.: Rola metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w procesie inwazji nowotworu. *Pol Ann Med* 2008; 15(1): 43-50.
17. Łapka A, Drąg J, Goździalska A et al.: Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej w gładkach. *Post Psychiatr Neurol* 2008; 17(3): 207-211.
18. Bogaczewicz J, Sysa-Jędrzejowska A, Woźniacka A: Rola metaloproteinaz macierzy w pierwotnych układowych zapaleniach naczyń. *Pol Merk Lek* 2008; 24: 85-89.
19. Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Szmitkowski M: Znaczenie metaloproteinaz oraz ich inhibitorów w raku żołądka. *Postepy Hig Med Dosw* 2009; 63: 258-265.
20. Hayashi R, Jin X, Cook GR: Synthesis and Evaluation of Novel Heterocyclic MMP Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2007; 17(24): 6864-6870.
21. Gola J, Wyględowska-Kania M, Kruszewska-Rais C et al.: TNF-induced signalization in differentiation of keratoacanthoma from basocellular skin carcinoma. *Farm Przegl Nauk* 2011; 8(2): 14-20.
22. Lee W, Black J, Alberg AJ: Non-melanoma skin cancer and the risk of second primary cancers: A systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(7): 1686-1695.
23. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z: Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. *Cell* 2010; 141: 52-67.
24. Zlatarova ZI, Softova EB, Dokova KG et al.: Expression of matrix metalloproteinase-1, -9, -13, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in basal cell carcinomas of the eyelid. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012; 250(3): 425-431.
25. Włodarkiewicz A, Sobjanek M, Michajłowski M et al.: Strategie molekularne w leczeniu raków skóry. *Przegl Dermatol* 2012; 99: 120-124.
26. Cribier B, Noacco G, Peltre B et al.: Expression of stromelysin 3 in basal cell carcinomas. *Eur J Dermatol* 2001; 11(6): 530-533.
27. Dumas V, Kanitakis J, Charvat S et al.: Expression of basement membrane antigens and matrix metalloproteinases 2 and 9 in cutaneous basal and squamous cell carcinomas. *Anticancer Res* 1999; 19(4B): 2929-2938.
28. Justilien V, Regala RP, Tseng I et al.: Matrix Metalloproteinase-10 Is Required for Lung Cancer Stem Cell Maintenance, Tumor Initiation and Metastatic Potential. *PLoS ONE* 2012; 7(4) e35040: 1-12.

otrzymano/received: 22.08.2012  
 zaakceptowano/accepted: 28.09.2012

Adres/address:  
 \*Mariola Wyględowska-Kania  
 Katedra i Klinika Dermatologii  
 Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
 ul. Francuska 20/24, 40-027 Katowice  
 tel.: +48 (32) 259-15-81  
 e-mail: kikderm@sum.katowice.pl