

Streszczenie

Wstęp

Raki skóry to grupa najczęściej występujących nowotworów złośliwych, a zapadalność na nie stale wzrasta, czemu sprzyja starzenie się społeczeństwa, zwiększona ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe związane ze zmianą stylu życia, zmniejszenie grubości warstwy ozonowej w atmosferze oraz rosnąca liczba pacjentów poddawanych leczeniu immunosupresyjnemu. Rak podstawnokomórkowy i kolczystokomórkowy stanowią istotny problem kliniczny, terapeutyczny i socjo-ekonomiczny. Rak podstawnokomórkowy to najczęściej występujący rak skóry, charakteryzuje się powolnym wzrostem, ale nieleczony ma tendencję do naciekania okolicznych struktur, co może prowadzić do destrukcji otaczających tkanek, prowadząc do szpecących zniekształceń i obniżenia jakości życia. Rak kolczystokomórkowy, drugi pod względem częstości występowania, w dużej mierze powstaje na podłożu stanów przedrakowych, wykazuje tendencję do inwazyjnego wzrostu i cechuje się wyższym potencjałem do tworzenia przerzutów. Ryzyko to szacuje się na około 10-30%. Rogowacenie słoneczne to zmiany skórne uważane kiedyś za stan przednowotworowy, według najnowszych danych powinny być uznawane za raka kolczystokomórkowego in situ, czyli raka nie przekraczającego błony podstawnej naskórka.

Nestyna jest białkiem należącym do VI typu filamentów pośrednich, bierze udział w organogenezie i metabolizmie komórkowym, uczestniczy w organizacji cytoszkieletu. Ekspresję nestyny stwierdzono pierwotnie w neuroepitelialnych komórkach macierzystych, a dalsze badania wykazały, że ulega ona ekspresji także w innych tkankach. Stwierdzono także, że odgrywa istotną rolę w patogenezie niektórych nowotworów oraz w procesie angiogenezy. W niezmiętej skórze nestyna ulega ekspresji w komórkach torebki łącznotkankowej mieszka włosowego oraz w brodawce włosa. W czerniaku zwiększona ekspresja wiąże się z agresywnym przebiegiem i gorszym rokowaniem. W niemelanocytowych nowotworach skóry wyniki badań są niejednoznaczne.

Cel pracy

Celem pracy była ocena ekspresji nestyny w masie ocenianych zmian oraz w naczyniach krwionośnych podścieliska rogowacenia słonecznego, raka podstawnokomórkowego i

kolczystokomórkowego. Jako cel wyznaczono również porównanie otrzymanych wyników z markerami śródbłonkowymi CD31 i CD34 oraz markerem proliferacji Ki-67.

Material i metody

Do analizy włączono materiał tkankowy pobrany od 118 pacjentów leczonych w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2015-2019. Badaną grupę stanowiło 32 pacjentów z potwierdzonym histologicznie rakiem kolczystokomórkowym skóry, 47 osób z rozpoznaniem raka podstawnokomórkowego. Grupę kontrolną stanowiło 39 pacjentów z rogowaceniem słonecznym. Po dokonaniu oceny histologicznej przeprowadzono badania immunohistochemiczne z wykorzystaniem przeciwciał CD31 (nr kat. IR610, ready-to-use, Dako, Glostrup, Dania), CD34 (nr kat. IR632, ready-to-use, Dako), Nestin (nr kat. OBT1610, 1:100, BIO-RAD, Hercules, Kalifornia, Stany Zjednoczone) oraz Ki-67 (mysie, monoklonalne przeciwciało, nr kat. IR626, klon MIB-1, ready-to-use, Dako) w celu określenia ekspresji nestyny, oceny gęstości naczyń krwionośnych oraz oceny ekspresji antygenu Ki-67. Oceny ekspresji dokonano przy użyciu półilościowej skali wg Remmele (IRS) uwzględniającej natężenie reakcji barwnej i odsetek komórek wykazujących reakcję. Do oceny unaczynienia wykorzystano metodę poszukiwania 3 miejsc o największej gęstości naczyń i zliczania ich w wybranych „hot spotach”.

Wyniki

Ekspresję nestyny w masie ocenianych zmian stwierdzono w 11% BCC oraz w 44% SCC, nie stwierdzono jej natomiast w żadnym przypadku rogowacenia słonecznego. Ekspresja nestyny w komórkach śródbłonka naczyń jest istotnie wyższa w raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym niż w rogowaceniu słonecznym, nie stwierdzono natomiast istotnej różnicy między BCC i SCC. Ekspresja antygenu Ki-67 w raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym jest wyższa niż w rogowaceniu słonecznym, nie stwierdzono natomiast istotnej różnicy między BCC i SCC. Podobnie gęstość naczyń krwionośnych CD31⁺ oraz CD34⁺ jest istotnie wyższa w raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym w porównaniu z rogowaceniem słonecznym, nie stwierdzono natomiast istotnej różnicy między BCC i SCC. Wykazano dodatnią korelację między ekspresją nestyny a CD31 oraz CD34 w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym.

Wnioski

Średnia gęstość naczyń krwionośnych wykazujących ekspresję nestyny, CD31 i CD34 jest istotnie wyższa w raku podstawnkomórkowym i kolczystokomórkowym w porównaniu z rogowaceniem słonecznym. Nie wykazano natomiast różnicy między SCC i BCC. Podobnie ekspresja antygenu Ki-67 w raku podstawnkomórkowym i kolczystokomórkowym jest wyższa niż w rogowaceniu słonecznym, nie stwierdzono natomiast istotnej różnicy między BCC i SCC. Powyższe wyniki potwierdzają korelację między nasiloną angiogenezą a stopniem złośliwości zmian. Dodatkowo wykazano dodatnią korelację między ekspresją nestyny a CD31 oraz CD34 w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnkomórkowym i kolczystokomórkowym, dlatego wydaje się, że nestyna może być użytecznym markerem angiogenezy w AK, BCC i SCC. Zauważono także, że nestyna ulega ekspresji w małych naczyniach krwionośnych, natomiast CD31 i CD34 wykazują ekspresję w małych i dużych naczyniach, dlatego wydaje się, że nestyna może być znaczącym markerem neoangiogenezy, ale teza ta wymaga dalszych badań.

Abstract

Introduction

Skin cancers are the most common type of malignancy, and its incidence continues to increase, driven by an aging population, increased exposure to ultraviolet radiation associated with lifestyle changes, the thinning of the atmospheric ozone layer and the increasing number of patients receiving immunosuppressive therapy. Basal cell and squamous cell carcinomas are a significant clinical, therapeutic, and socio-economic problem. Basal cell carcinoma is the most common skin cancer. It is characterized by slow growth, but if left untreated it tends to infiltrate surrounding structures, which can lead to the destruction of surrounding tissues, leading to disfiguring deformities and reduced quality of life. Squamous cell carcinoma, the second most common skin cancer, is most often formed on the basis of precancerous conditions, tends to grow invasively, and has a higher potential for metastasis. This risk is estimated at around 10-30%. Actinic keratosis are skin lesions that used to be considered as a pre-cancerous condition, according to the latest data they should be considered as squamous cell carcinoma in situ, i.e. cancer that does not cross the basement membrane of the epidermis.

Nestin is a protein belonging to the VI type of intermediate filaments, participates in organogenesis, cellular metabolism and cytoskeletal organization. Nestin was originally expressed in neuroepithelial stem cells, but further research has shown that it is also expressed in other tissues. It has also been found to play an important role in the pathogenesis of some cancers and in the process of angiogenesis. In intact skin, nestin is expressed in the cells of the connective tissue capsule of the hair follicle and in the hair papilla. In melanoma, increased expression is associated with an aggressive course and worse prognosis. In nonmelanoma skin cancers, research results are inconclusive.

Aim of the study

The aim of the study was to evaluate the expression of nestin in the mass of the assessed lesions and in the blood vessels of actinic keratosis, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. The aim was also to compare the obtained results with the endothelial markers CD31 and CD34 and the proliferation marker Ki-67.

Material and methods

The analysis included tissue material collected from 118 patients treated at the Department and Clinic of Dermatology, Venereology and Allergology of the Medical University in Wrocław in 2015-2019. The study group consisted of 32 patients with histologically confirmed squamous cell carcinoma, 47 patients with a diagnosis of basal cell carcinoma. The control group consisted of 39 patients with actinic keratosis. Following histological evaluation, immunohistochemistry was performed using antibodies CD31 (cat. no. IR610, ready-to-use, Dako, Glostrup, Denmark), CD34 (cat. no. IR632, ready-to-use, Dako), Nestin (cat. no. OBT1610, 1:100, BIO-RAD, Hercules, California, USA) and Ki-67 (mouse monoclonal antibody, Cat. No. IR626, clone MIB-1, ready-to-use, Dako) to determine expression nestin, assessment of blood vessel density and assessment of expression of the Ki-67 antigen. Expression was assessed using a semi-quantitative Remmele scale (IRS) that considers the intensity of the color reaction and the percentage of cells showing a reaction. To assess vascularity, the method of searching for 3 places with the highest vascular density and counting them in selected "hot spots" was used.

Results

Nestin expression in tumor cells was found in 11% of BCC and in 44% of SCC, but not in any case of actinic keratosis. Nestin expression in vascular endothelial cells was significantly

higher in basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma than in actinic keratosis, but there was no significant difference between BCC and SCC. Ki-67 antigen expression in basal cell and squamous cell carcinoma was higher than in actinic keratosis, but there was no significant difference between BCC and SCC. Similarly, the density of CD31⁺ and CD34⁺ blood vessels was significantly higher in basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma compared to actinic keratosis, but there was no significant difference between BCC and SCC. A positive correlation has been shown between nestin expression and CD31 and CD34 in actinic keratosis, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma.

Conclusions

The average density of blood vessels expressing nestin, CD31 and CD34 was significantly higher in basal cell and squamous cell carcinoma compared to actinic keratosis. However, there was no difference between SCC and BCC. Similarly, expression of the Ki-67 antigen in basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma was higher than in actinic keratosis, but there was no significant difference between BCC and SCC. The above results confirm the correlation between increased angiogenesis and level of malignancy. In addition, a positive correlation was found between nestin expression and CD31 and CD34 in actinic keratosis, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma, therefore it seems that nestin may be a useful marker of angiogenesis in AK, BCC and SCC. It was also noted that nestin was expressed in small blood vessels, while CD31 and CD34 were expressed in small and large vessels, therefore it seems that nestin may be a significant marker of neoangiogenesis, but this thesis requires further research.