

# Spis treści

Wykaz skrótów .....	9
<b>1. Wstęp</b> .....	13
1.1. Budowa skóry.....	13
1.1.1. Naskórek .....	13
1.1.2. Błona podstawna .....	16
1.1.3. Skóra właściwa .....	17
1.1.3.1. Kolageny .....	17
1.1.3.2. Glikoaminoglikany .....	20
1.1.4. Tkanka podskórna .....	21
1.1.5. Przydatki skóry .....	21
1.2. Nowotwory .....	23
1.2.1. Nowotwory skóry .....	24
1.2.2. Nieczerniakowe nowotwory skóry .....	26
1.2.3. Rak podstawnokomórkowy .....	26
1.2.3.1. Historia i epidemiologia .....	26
1.2.3.2. Klasyfikacja raka podstawnokomórkowego .....	28
1.2.3.3. Czynniki sprzyjające powstaniu raka podstawnokomórkowego .....	30
1.2.3.4. Molekularne podłoże rozwoju raka podstawnokomórkowego .....	32
1.2.3.4.1. Rola mutacji genu <i>RAS</i> w patomechanizmie raka podstawnokomórkowego .....	32
1.2.3.4.2. Rola mutacji w genie <i>P53</i> w patomechanizmie raka podstawnokomórkowego .....	33
1.2.3.4.3. Rola szlaku sygnałowego Hedgehog w patomechanizmie raka podstawnokomórkowego.....	34
1.2.3.4.4. Rola cykliny D1 w patomechanizmie raka podstawnokomórkowego .....	35
1.2.3.4.5. Rola ekspresji pojednostki <i>hTR</i> genu telomerazy w patomechanizmie raka podstawnokomórkowego.....	37
1.2.3.4.6. Rola ekspresji białka KI-67 i $\beta$ kateniny w patomechanizmie raka podstawnokomórkowego.....	37
1.2.3.4.7. Rola COX-2 w patomechanizmie raka podstawnokomórkowego .....	38

1.2.3.4.8. Rola apoptozy w rozwoju raka podstawnocomórkowego.....	39
1.2.3.4.9. Angiogeneza w rozwoju i progresji raka podstawnocomórkowego .....	39
1.2.3.5. Diagnostyka raka podstawnocomórkowego .....	41
1.2.3.6. Leczenie raka podstawnocomórkowego .....	41
1.3. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej.....	47
1.3.1. Budowa metaloproteinaz .....	48
1.3.2. Regulacja ekspresji <i>MMPs</i> .....	50
1.3.3. Specyfika substratowa <i>MMPs</i> .....	53
1.3.4. Fizjologiczna aktywność <i>MMPs</i> .....	57
1.3.5. Aktywność <i>MMPs</i> w stanach patologicznych .....	57
1.3.6. Rola <i>MMPs</i> w procesie rozwoju nowotworu.....	58
1.3.7. Rola <i>MMPs</i> w patogenezie raka podstawnocomórkowego .....	59
<b>2. Cel pracy .....</b>	<b>61</b>
<b>3. Materiał i metody .....</b>	<b>63</b>
3.1. Pacjenci .....	63
3.2. Metody .....	64
3.2.1. Izolacja RNA z biopatów skóry pobranych od pacjentów .....	64
3.2.2. Pomiar stężenia całkowitego RNA i ocena czystości próbek.....	64
3.2.3. Reakcja odwrotnej transkrypcji RT ( <i>Reverse Transcription</i> ).....	65
3.2.4. Łańcuchowa reakcja polimerazy – PCR ( <i>Polimerase Chain Reaction</i> )..	66
3.2.4.1. Amplifikacja fragmentu genu <i>COL1A1</i> .....	66
3.2.4.2. Amplifikacja fragmentu genu <i>COL3A1</i> .....	67
3.2.4.3. Amplifikacja fragmentu genu <i>COL4A4</i> .....	67
3.2.4.4. Amplifikacja fragmentu genu <i>MMP-2</i> .....	67
3.2.4.5. Amplifikacja fragmentu genu <i>MMP-9</i> .....	67
3.2.4.6. Amplifikacja fragmentu genu <i>ACTB</i> .....	68
3.2.5. Elektroforeza produktów uzyskanych w wyniku reakcji PCR w żelu agarozowym.....	68
3.2.6. Analiza statystyczna.....	69
<b>4. Wyniki .....</b>	<b>71</b>
4.1. Rozkłady badanych parametrów .....	71
4.2. Zależność ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, kolagenu typu III, kolagenu typu IV oraz <i>MMP-2</i> i <i>MMP-9</i> w raku podstawnocomórkowym guzkowym i odmianie naciekającej BCC pomiędzy próbkami tkanki nowotworowej (T), a próbkami tkanki zdrowej pobranej z marginesu guza (NT) od tych samych pacjentów .....	77

4.3. Zależność ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, kolagenu typu III, kolagenu typu IV oraz MMP-2 i MMP-9 oznaczanych w tkance nowotworowej (T), w raku podstawnokomórkowym guzkowym w stosunku do raka naciekającego oraz tych samych parametrów oznaczanych w tkance zdrowej pobranej z marginesu guza (NT) raka guzkowego w stosunku do raka naciekającego .....	80
4.4. Zależność ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, kolagenu typu III, kolagenu typu IV oraz MMP-2 i MMP-9 w raku podstawnokomórkowym guzkowym i odmianie naciekającej pomiędzy tkanką nowotworową (T), a tkanką zdrową, pobraną z marginesu guza (NT) u pacjentów w poszczególnych przedziałach wiekowych .....	83
4.5. Zależność ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, kolagenu typu III, kolagenu typu IV oraz MMP-2 i MMP-9 w raku podstawnokomórkowym guzkowym i naciekającym pomiędzy tkanką nowotworową (T), a tkanką zdrową pobraną z marginesu guza (NT) u pacjentów wg podziału na rodzaje fototypów w skali Fitzpatricka (fototyp II, fototyp III, fototyp IV).....	88
4.6. Zależność ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, kolagenu typu III, kolagenu typu IV oraz MMP-2 i MMP-9 w raku podstawnokomórkowym guzkowym i odmianie naciekającej BCC pomiędzy tkanką nowotworową (T), a tkanką zdrową pobraną z marginesu guza (NT) u pacjentów, w zależności od lokalizacji guza na głowie (G) i tułowi (Tł) .....	93
4.7. Zależność ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, kolagenu typu III, kolagenu typu IV oraz MMP-2 i MMP-9 w raku podstawnokomórkowym guzkowym i odmianie naciekającej pomiędzy tkanką nowotworową (T), a tkanką zdrową pobraną z marginesu guza (NT) u pacjentów w zależności od płci .....	97
4.8. Zależność pomiędzy wzrostem ekspresji mRNA dla MMP-2 i spadkiem ekspresji mRNA dla kolagenu typu IV, w raku guzkowym i odmianie naciekającej BCC .....	102
4.9. Zależność pomiędzy wzrostem ekspresji mRNA dla MMP-9 i spadkiem ekspresji mRNA dla kolagenu typu IV, w raku guzkowym i odmianie naciekającej BCC .....	103
4.10. Zależność pomiędzy wzrostem ekspresji mRNA dla MMP-2 i wzrostem ekspresji mRNA dla kolagenu typu I, w raku guzkowym i naciekającej odmianie BCC .....	104
<b>5. Dyskusja .....</b>	<b>105</b>
5.1. Rak podstawnokomórkowy.....	105
5.2. Ekspresja mRNA dla kolagenu typu I, III, IV i MMP-2 i MMP-9 .....	107

5.3. BCC guzkowy a odmiana naciekająca .....	110
5.4. Wiek pacjentów .....	111
5.5. Fototyp skóry .....	112
5.6. Lokalizacja guza.....	113
5.7. Płeć pacjentów .....	114
5.8. Wzrost ekspresji mRNA dla MMP-2 a spadek ekspresji mRNA dla kolagenu typu IV .....	115
5.9. Wzrost ekspresji mRNA dla MMP-9 a spadek ekspresji mRNA dla kolagenu typu IV .....	115
5.10. Wzrost ekspresji mRNA dla MMP-2 a wzrost ekspresji mRNA dla kolagenu typu I .....	116
5.11. Molekularne markery procesu powstawania nowotworu .....	116
<b>6. Wnioski</b> .....	119
<b>Piśmiennictwo</b> .....	121
<b>Aneks</b> .....	141
1. Metody biologii molekularnej użyte w prezentowanej pracy.....	141
1.1. Izolacja RNA z homogenatu tkanek – zasada metody.....	141
1.2. Reakcja odwrotnej transkrypcji RT-PCR (Reverse Transcription PCR) – zasada metody.....	142
1.3. Łańcuchowa reakcja polimerazy – PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) – zasada metody.....	143
1.4. Elektroforeza DNA w żelu agarozowym – zasada metody.....	144
2. Wykaz odczynników .....	147
3. Bufory i roztwory.....	148
4. Wykaz aparatury wykorzystanej do badań.....	149
Streszczenie .....	155
Abstract .....	157
Indeks .....	159