

# Ekspresja receptora dla witaminy D oraz reduktazy metylenotetrahydrofolianowej w rakach podstawnocomórkowych

## Vitamin D receptor and methylenetetrahydrofolate reductase expression in skin basal cell carcinomas

Aleksandra Lesiak<sup>1</sup>, Karolina Wódz-Naśkiewicz<sup>2</sup>, Rafał Pawliczak<sup>2</sup>, Michał Rogowski-Tylman<sup>1</sup>, Anna Sysa-Jędrzejowska<sup>1</sup>, Michał Sobjanek<sup>3</sup>, Adam Włodarkiewicz<sup>3</sup>, Joanna Narbutt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

<sup>2</sup>Zakład Immunopatologii Katedry Alergologii, Immunologii i Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Rafał Pawliczak

<sup>3</sup>Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jadwiga Roszkiewicz

Przegl Dermatol 2010, 97, 313–318

### STRESZCZENIE

#### SŁOWA KLUCZOWE:

rak podstawnocomórkowy, ekspresja VDR i MTHFR, kancerogeneza.

#### KEY WORDS:

basal cell carcinoma, VDR and MTHFR expression, cancerogenesis.

#### ADRES DO KORESPONDENCJI:

dr n. med. Aleksandra Lesiak  
Klinika Dermatologii  
i Wenerologii  
Uniwersytet Medyczny  
w Łodzi  
ul. Krzemienicka 5  
94-017 Łódź  
e-mail: lesiak\_ola@interia.pl

**Wprowadzenie.** Dane z literatury wskazują na udział receptora dla witaminy D (ang. *vitamin D receptor* – VDR) w rozwoju nowotworów narządów wewnętrznych oraz raków skóry. W pojedynczych pracach analizowano rolę reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (ang. *metylenetetrahydrofolate reductase* – MTHFR), której nieprawidłowa aktywność związana jest z indukcją kancerogenezy.

**Cel pracy.** Ocena stężenia 25(OH)D oraz parathormonu w surowicy u pacjentów z rakiem podstawnocomórkowym (ang. *basal cell carcinoma* – BCC), a także analiza ekspresji VDR i MTHFR w biopsjach ze zmian skórnych typu BCC.

**Materiał i metodyka.** Badaniem objęto grupę 79 chorych z BCC oraz 46 wolontariuszy stanowiących grupę kontrolną. U wszystkich badanych oznaczano stężenie witaminy D i parathormonu w surowicy, natomiast u 44 pacjentów z BCC oraz 30 wolontariuszy pobierano biopsje skóry celem oznaczenia ekspresji VDR i MTHFR.

**Wyniki.** Stężenie 25(OH)D było statystycznie istotnie wyższe w grupie kontrolnej niż u chorych na BCC ( $p = 0,0026$ ), podczas gdy stężenie parathormonu w surowicy pacjentów z BCC było istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną ( $p < 0,0001$ ). U chorych na BCC wykazano istotnie wyższą ekspresję VDR niż w grupie kontrolnej ( $p < 0,001$ ). Taką samą zależność obserwowano w odniesieniu do ekspresji MTHFR, która była istotnie wyższa w biopsjach skóry pobranych ze zmian typu BCC w porównaniu z grupą kontrolną ( $p < 0,01$ ).

**Wnioski.** Na podstawie wyników badań własnych nie można jednoznacznie określić roli VDR i MTHFR w rozwoju raków podstawnocomórkowych skóry, jakkolwiek wiele argumentów przemawia za ich istotnym udziałem w procesie kancerogenezy. Stąd też uzasadnione jest prowadzenie dalszych, kompleksowych i wielośrodkowych badań celem poznania złożonej etiopatogenezy BCC.

## ABSTRACT

**Introduction.** Literature data indicate the role of vitamin D receptor (VDR) in the development of internal organs and skin cancers. There are also scarce data on the impact of abnormal activity of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) on induction of cancerogenesis.

**Objective.** To assess 25(OH)D and parathormone concentration in sera of patients with BCC and to analyse VDR and MTHFR expression in BCC lesions.

**Material and methods.** The study group consisted of 79 BCC patients and 46 healthy subjects. Vitamin D and parathormone serum level was assessed in all subjects whereas VDR and MTHFR expression was evaluated in biopsies taken from 44 BCC patients and 30 healthy subjects.

**Results.** 25(OH)D serum level was significantly higher in the control group than in BCC patients ( $p = 0.0026$ ), whereas parathormone serum concentration was higher in BCC patients ( $p < 0.0001$ ). In BCC patients significantly higher VDR expression was found in comparison to healthy subjects ( $p < 0.001$ ). The same finding was noted in regard to MTHFR expression, which was higher in biopsies taken from BCC lesions than in the control group ( $p < 0.01$ ).

**Conclusions.** Our results indicate that although the role of VDR and MTHFR in the development of basal cell carcinoma is not unequivocal, a lot of evidence testifies to their essential impact on carcinogenesis. Thus, further complex and multicentre studies are required for complete understanding of BCC pathogenesis.

## WPROWADZENIE

W ostatnich latach ukazało się wiele prac wskazujących na przeciwnowotworowe właściwości witaminy D związane z jej aktywnością biologiczną i zdolnością do hamowania proliferacji oraz regulacji różnicowania się komórek. Dane z piśmiennictwa wskazują również, że niedobór witaminy D łączy się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju niektórych nowotworów narządów wewnętrznych, a także chorób autoimmunologicznych [1]. Połączenie aktywnej formy witaminy D z jej naturalnym ligandem, którym jest receptor dla witaminy D (ang. *vitamin D receptor* – VDR) nasila apoptozę komórek nowotworowych, a także, jako czynnik transkrypcyjny, reguluje aktywność ponad 60 genów odpowiedzialnych za procesy różnicowania się komórek oraz efekty antyproliferyacyjne [2, 3]. W badaniach eksperymentalnych wykazano zwiększoną ekspresję VDR w komórkach m.in. nowotworów piersi, prostaty, trzustki, jelita grubego oraz tarczycy [4, 5]. Zwiększoną ekspresję tego białka stwierdzono ponadto w komórkach niemelanocytowych raków skóry, tj. raków podstawno- (ang. *basal cell carcinoma* – BCC) oraz kolczystokomórkowych (ang. *squamous cell carcinoma* – SCC) [6].

Zinser i wsp. [7] w badaniu na modelu zwierzęcym wykazali, że u myszy pozbawionych ekspresji

VDR i poddanych działaniu chemicznego kancerogenu w 85% przypadków dochodzi do rozwoju raków skóry, głównie SCC. U zwierząt z prawidłową ekspresją tego receptora rozwój nowotworów obserwowano zaledwie w 17% przypadków. Wyniki tych obserwacji wskazują na istotną rolę VDR w procesie nowotworzenia [7].

Reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (ang. *methylenetetrahydrofolate reductase* – MTHFR) jest enzymem odgrywającym istotną rolę w metabolizmie folianów. Związki te są niezbędne w procesach naprawy DNA ulegającego uszkodzeniu pod wpływem promieniowania ultrafioletowego. Ponadto wykazano, że foliany biorą udział w regulacji proliferacji keratynocytów oraz innych komórek ulegających szybkim podziałom. Substratem dla MTHFR jest białko wewnątrzkomórkowe, 5,10-metylenotetrahydrofolian, który pełni istotną rolę w syntezie i naprawie DNA jądra komórkowego, podczas gdy w osoczu stwierdza się produkt reakcji enzymatycznej – 5-metylenotetrahydrofolian niezbędny do syntezy metioniny i metylacji DNA. Naprawa uszkodzeń DNA jest kluczowym zjawiskiem chroniącym organizm przed rozwojem nowotworów [8–12].

Nieprawidłowa aktywność MTHFR została uznana za jeden z czynników biorących udział w kancerogenezie. W chwili obecnej pojedyncze prace wska-

zują na udział polimorfizmów w genie kodującym MTHFR w rozwoju niemelanocytowych raków skóry [13].

## CEL PRACY

Przytoczone powyżej informacje, wskazujące na udział zarówno witaminy D, jak i receptora VDR oraz enzymu MTHFR w patogenezie nowotworów, stanowiły przesłankę do przeprowadzenia badań własnych oceniających stężenie 25(OH)D oraz parathormonu w surowicy u pacjentów z BCC, a także poziom ekspresji VDR i MTHFR w biopsjach skóry pobranych od chorych na raka podstawnocomórkowego.

## MATERIAŁ I METODYKA

Badaniem objęto grupę 79 chorych z potwierdzonym histopatologicznie BCC (41 kobiet, 38 mężczyzn, średni wiek 60,2 roku, fototyp skóry: I/II – 20 osób, III – 52 osoby, IV – 7 osób) leczonych w Katedrze i Klinice Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 2005–2008 oraz 46 wolontariuszy stanowiących grupę kontrolną (21 kobiet, 25 mężczyzn, średni wiek 58,4 roku, fototyp skóry: I/II – 10 osób, III – 28 osób, IV – 8 osób) [14]. Żadna z badanych osób nie była biorcą przeszczepu, nie była leczona lekami immunosupresyjnymi ani nie chorowała na inny nowotwór. U wszystkich badanych oznaczano w miesiącach wczesnowiosennych (kwiecień–maj) stężenie witaminy D i parathormonu w surowicy, natomiast u 44 pacjentów z BCC oraz 30 wolontariuszy pobierano biopsje skóry celem oznaczenia ekspresji VDR i MTHFR. Wycinki pobierano wyłącznie ze zmian typu BCC zlokalizowanych w górnej części policzka. U wolontariuszy pobierano biopsje skóry z analogicznej lokalizacji. Stężenia 25(OH)D i parathormonu w surowicy nie oznaczano.

### Metoda Western blot

Pobrane biopsaty skóry zostały umieszczone w 0,5 ml buforu lizującego, zawierającego 0,25-procentowy Triton X-100 oraz Complete (inhibitor proteaz, Roche, Szwajcaria). Następnie komórki poddano sonifikacji, trzykrotnie przez 15 sekund, a potem odwirowywano (3 minuty, 14 000 rpm). Do pomiaru stężenia całkowitego białka w lizatach komórek użyto zestawu BCA Protein Assay Kit (Pierce, Rockford, USA). Próbkę zawierającą 50 µg białka przed naniesieniem elektroforezą były denaturowane w buforze próbkowym (95°C, 5 minut) zawierającym DDT, a następnie rozdzielane w 10% żelu poliakrylamidowym SDS-PAGE, w buforze Tris-glycine SDS. Rozdzielone białka przenoszono

w polu elektrycznym na membranę PVDF (Millipore, Billerica, USA). Po transferze membranę blokowano w 5% mleku odtłuszczonym z dodatkiem 0,1% Tween20, w temperaturze 4°C, przez 12 godzin. W celu wykrycia białka zastosowano poliklonalne kozie przeciwciała pierwszorzędowe (SantaCruz Biotechnology, Santa Cruz, USA) skierowane swoiście przeciwko ludzkiemu MTHFR (1 : 200) oraz mysie przeciwciała pierwszorzędowe (SantaCruz Biotechnology, Santa Cruz, USA) skierowane swoiście przeciwko ludzkiemu VDR (1 : 200). Jako przeciwciał drugorzędowych użyto oślich przeciwciał znakowanych HRP (1 : 20000) skierowanych przeciwko kozim IgG (Jackson ImmunoResearch Laboratory, Suffolk, Wielka Brytania) lub oślich przeciwciał znakowanych HRP (1 : 20000) skierowanych przeciwko mysim (Jackson ImmunoResearch Laboratory Suffolk, Wielka Brytania). W celu uwidocznienia uzyskanych prążków użyto ECL Plus Western Blotting Detection Reagents (GE Healthcare, Chalfont St. Giles, Wielka Brytania) oraz system do wizualizacji chemiluminescencji ChemiImager™ System (Alpha Innotech, San Leandro, Kanada). Gęstość optyczna (IDV) prążków była analizowana przy użyciu oprogramowania ChemiImager™ Software (Alpha Innotech San Leandro, Kanada).

### Oznaczenie stężenia witaminy D i parathormonu

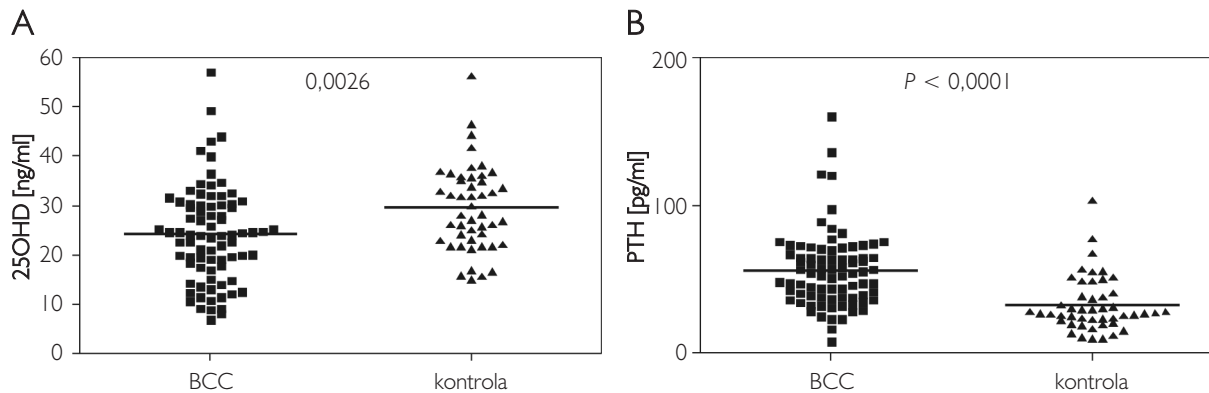
Surowica przechowywana była w temperaturze -25°C do chwili przeprowadzenia oznaczeń. Stężenie witaminy D oznaczano metodą *radioimmunoassay* (BioSource Europe S.A. Nivelles, Belgium), a parathormonu metodą immunochemiluminescencji (IMMULITE Turbointact PTH, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles USA).

### Analiza statystyczna

W celu porównań statystycznych, poza obliczeniem średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego, posłużono się obliczeniem mediany, dolnego i górnego kwartyła, wartości minimum i maksimum. Do oceny istotności różnic badanych parametrów pomiędzy dwoma grupami zastosowano test *U* Manna-Whitneya. Dla wszystkich porównań i korelacji istotność statystyczną uznawano przy  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Stężenie 25(OH)D było statystycznie istotnie wyższe w grupie kontrolnej niż u chorych na BCC (mediana 29,5 ng/ml *vs* mediana 24,2 ng/ml,  $p = 0,0026$ ). U 28 (35,4%) spośród 79 chorych na BCC stężenie witaminy D było poniżej wartości 20 ng/ml, u 30 (38%) chorych było w granicach 20–30 ng/ml,



Rycina 1. Stężenie 25(OH)D (A) oraz parathormonu (PTH) (B) w surowicy chorych na BCC oraz w grupie kontrolnej  
 Figure 1. 25(OH)D (A) and parathormone (PTH) (B) serum concentration in BCC patients and healthy controls

Tabela 1. Ekspresja VDR i MTHFR w badanych grupach wyrażona w jednostkach gęstości optycznej (IDV)  
 Table 1. VDR and MTHFR expression in examined groups expressed as integrated density value (IDV)

	VDR (IDV)			MTHFR (IDV)		
	mediana	dolny kwartyl	górny kwartyl	mediana	dolny kwartyl	górny kwartyl
BCC	$1,42 \times 10^6$	$0,98 \times 10^6$	$2,41 \times 10^6$	$7,97 \times 10^6$	$5,90 \times 10^6$	$11,15 \times 10^6$
Kontrola	$0,44 \times 10^6$	$0,18 \times 10^6$	$0,67 \times 10^6$	$5,31 \times 10^6$	$2,82 \times 10^6$	$6,66 \times 10^6$

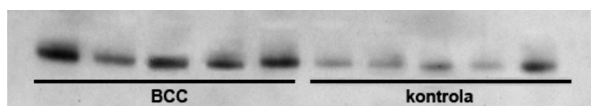
podczas gdy u pozostałych 21 (26,6%) osób poziom był wyższy od 30 ng/ml. W grupie kontrolnej stężenie 25(OH)D poniżej 20 ng/ml wykazano u 5 (10,9%) osób, u 20 (43,5%) było pomiędzy 20 ng/ml a 30 ng/ml, natomiast u 21 (45,5%) – powyżej 30 ng/ml (ryc. 1. A). Stężenie parathormonu w surowicy u pacjentów z BCC było istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną (56,05 pg/ml vs 32,7 pg/ml,  $p < 0,0001$ ) (ryc. 1. B).

We wszystkich analizowanych biopsjach wykazano ekspresję VDR. U chorych na BCC była ona istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej (mediana  $1,4 \times 10^6$  IDV vs mediana  $0,4 \times 10^6$  IDV,  $p < 0,001$ ). Taką samą zależność obserwowano w odniesieniu do ekspresji MTHFR, która była istotnie wyższa w biopsjach skóry pobranych ze zmian typu BCC w porównaniu z grupą kontrolną (mediana  $7,9 \times 10^6$  IDV vs mediana  $5,3 \times 10^6$  IDV,  $p < 0,01$ ) (tab. 1, ryc. 2. i 3.).

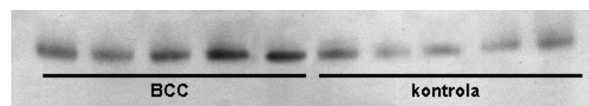
## OMÓWIENIE

Kalcytriol ma swoje receptory nie tylko w kościach, ale również w innych tkankach, między

innymi w komórkach układu immunologicznego, krwiotwórczego, skóry, w mięśniach oraz komórkach różnych nowotworów, np. czerniaka. Aktywna postać witaminy D działa w nich jako czynnik antyproliferacyjny oraz proróżnicujący [15, 16]. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano związki pomiędzy niedoborem witaminy D a rozwojem pewnych chorób, do których należą m.in. niektóre nowotwory (np. rak piersi, trzustki, jelita grubego), cukrzyca typu 2, choroby autoimmunologiczne, choroba niedokrwienności serca czy nadciśnienie tętnicze [17, 18]. W ostatnio opublikowanej pracy Asgari i wsp. [19] wykazali związek pomiędzy zwiększonym ryzykiem rozwoju BCC a wysokim stężeniem witaminy D w okresie poprzedzającym rozpoznanie nowotworu o 11 lat. Oceniając ryzyko rozwoju BCC, autorzy stwierdzili, że podwyższenie stężenia witaminy D o 1 ng/ml zwiększało to ryzyko o 2%. Przeciwnie wyniki uzyskano w badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro*, w których wykazano zahamowanie wzrostu BCC pod wpływem wysokich stężeń witaminy D [20]. Van Dam i wsp. oraz Gandini i wsp. nie wykazali także związku pomiędzy rozwojem raków kolczystokomórkowych a spożyciem witaminy D w codziennej diecie [21, 22].



Rycina 2. Ekspresja MTHFR w biopsjach pobranych ze zmian typu BCC oraz w w grupie kontrolnej – metoda Western blot  
 Figure 2. MTHFR expression in BCC lesions and in control group – Western blot analysis



Rycina 3. Ekspresja VDR w biopsjach pobranych ze zmian typu BCC oraz w w grupie kontrolnej – metoda Western blot  
 Figure 3. VDR expression in BCC lesions and in control group – Western blot analysis



W badaniu własnym oceniano stężenie 25-hydroksycholekalcyferolu w surowicy chorych na BCC, ponieważ stężenie tego związku odpowiada rzeczywistemu zaopatrzeniu organizmu w witaminę D. Ponadto, zgodnie z danymi z piśmiennictwa, jego ocena przewyższa pomiary innych form [23, 24]. Uzyskane w pracy własnej stężenie 25(OH)D było istotnie niższe u chorych na BCC niż w grupie kontrolnej, jednak u większości osób z obu grup stwierdzono stężenie poniżej 30 ng/ml. Obserwacja ta wymaga jednak ostrożnej interpretacji ze względu na przewagę pacjentów starszych wiekowo, u których najczęściej stwierdza się tendencję do występowania niedoborów witaminy D [25]. Mimo to statystycznie istotna różnica pomiędzy badanymi grupami może sugerować, że niedobór witaminy D jest jednym z czynników odgrywających rolę w rozwoju raków podstawnkomórkowych. Ze względu na brak dostępnych w ogólnosiwiatowym piśmiennictwie danych analizujących stężenie 25(OH)D w surowicy u chorych z już rozwiniętym BCC w porównaniu z grupą kontrolną, dobraną pod względem wieku, płci i fototypu skóry, prezentowane wyniki własne wydają się interesujące i są przesłanką do prowadzenia dalszych badań. Miałyby one na celu ocenę stężenia witaminy D u pacjentów z BCC i jego związku z ryzykiem ujawnienia się zmian nowotworowych. Obniżone stężenie 25(OH)D z równoczesnym wzrostem stężenia parathormonu może również przemawiać za udziałem tej witaminy w złożonym procesie skórnej kancerogenezy.

Reichrath i wsp. [26] wykazali, że ekspresja receptora VDR, a także ekspresja jego mRNA, jest istotnie silniejsza w wycinkach pobranych ze zmian typu BCC niż w skórze pozornie zdrowej, pobranej z okolicy zmian chorobowych, bądź w skórze zdrowej pobranej od osób z grupy kontrolnej. Autorzy na podstawie przeprowadzonych obserwacji zasugerowali, że nasilona ekspresja VDR jest związana z procesami regulacji wzrostu BCC. Uzyskane wyniki własne są zgodne z obserwacjami Reichratha i wsp. [26], wykazano w nich również istotny wzrost ekspresji VDR w biopsjach pobranych z ognisk BCC w porównaniu z osobami zdrowymi. Na podstawie dostępnej wiedzy nie jest obecnie możliwe ustalenie, czy nasilona ekspresja tego receptora ma związek ze zdolnością syntezy kalcytriolu z witaminy D przez raki podstawnkomórkowe. Sugeruje się, że nasilona ekspresja VDR może być związana z obecnością polimorfizmów w genie kodującym VDR, które stwierdza się u chorych na BCC, co funkcjonalnie wiąże się z syntezą częściowo nieaktywnej formy białka, które nie ma zdolności wiązania się z ligandem. Uznaje się, że nasilona ekspresja receptora, mimo upośledzenia jego funkcji, jest mechanizmem protekcyjnym. Hipoteza ta nazwana została przez

Reichratha i wsp. sprzężeniem zwrotnym [27]. Również w rakach kolczystokomórkowych obserwowano nasiloną ekspresję receptora VDR [28]. Nie stwierdzono jednak korelacji pomiędzy tym parametrem a histopatologicznym typem ani stopniem złośliwości SCC. Obserwowano, że inkubacja linii komórkowych wywodzących się z SCC z kalcytriolem prowadziła do supresji proliferacji komórek, co jest pośrednim dowodem na rolę VDR w patogenezie SCC oraz stanowi przesłankę do testowania analogów witaminy D w terapii niemelanocytowych raków skóry. Na podstawie przeprowadzonych badań podobne wnioski wysunęli Kamradt i wsp. [29], którzy wykazali istotną rolę witaminy D w patogenezie SCC i BCC.

Podsumowując dane z literatury i wyniki badań własnych, nie można jednoznacznie określić roli VDR i MTHFR w rozwoju raków podstawnkomórkowych skóry, jakkolwiek wiele argumentów przemawia za ich istotnym udziałem w procesie kancerogenezy. Stąd wydaje się, że niezwykle potrzebne i uzasadnione jest prowadzenie dalszych, kompleksowych i wielośrodkowych badań celem poznania złożonej etiopatogenezy BCC.

Praca finansowana z funduszu prac statutowych UM w Łodzi nr 503-1152-1 oraz projektu MNiSW nr NN402474731.

## Piśmiennictwo

1. **Holick M.F.:** Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2002, 9, 87-98.
2. **Raimondi S., Johansson H., Maisonneuve P., Gandini S.:** Review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Carcinogenesis* 2009, 30, 1170-1180.
3. **Schwartz G.G., Hall M.C., Stindt D., Patton S., Lovato J., Torti F.:** Phase I/II study of 19-nor-1 $\alpha$ -25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub> (paricalcitol) in advanced, androgen-insensitive prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005, 11, 8680-8685.
4. **Bouillon R., Eelen G., Verlinden L., Mathieu C., Carmeliet G., Verstuyf A.:** Vitamin D and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006, 102, 156-162.
5. **Köstner K., Denzer N., Müller C.S., Klein R., Tilgen W., Reichrath J.:** The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer Res* 2009, 29, 3511-3536.
6. **Bikle D.D.:** Vitamin D receptor, UVR and skin cancer: a potential protective mechanism. *J Invest Dermatol* 2008, 128, 2357-2361.
7. **Zinser G.M., Sundberg J.P., Welsh J.:** Vitamin D(3) receptor ablation sensitizes skin to chemically induced tumorigenesis. *Carcinogenesis* 2002, 23, 2103-2109.
8. **Larsson S.C., Giovannucci E., Wolk A.:** Folate intake, MTHFR polymorphisms, and risk of esophageal, gastric, and pancreatic cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2006, 131, 1271-1283.
9. **Blount B.C., Mack M.M., Wehr C.M., MacGregor J.T., Hiatt R.A., Wang G. i inni.:** Folate deficiency causes uracil

- misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94, 3290-3295.
10. **Choi S.W., Kim Y.I., Weitzel J.N., Mason J.B.:** Folate depletion impairs DNA excision repair in the colon of the rat. *Gut* 1998, 43, 93-99.
  11. **Branda R.F., Blickensderfer D.B.:** Folate deficiency increases genetic damage caused by alkylating agents and gamma-irradiation in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Res* 1993, 53, 5401-5408.
  12. **Wei Q., Shen H., Wang L.E., Duphorne C.M., Pillow P.C., Guo Z. i inni:** Association between low dietary folate intake and suboptimal cellular DNA repair capacity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003, 12, 963-969.
  13. **Laing M.E., Dicker P., Moloney F.J., Ho W.L., Murphy G.M., Conlon P. i inni:** Association of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of squamous cell carcinoma in renal transplant patients. *Transplantation* 2007, 15, 113-116.
  14. **Fitzpatrick T.B.:** The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988, 124, 869-871.
  15. **Grant W.B., Strange R.C., Garland C.F.:** Sunshine is good medicine. The health benefits of ultraviolet-B induced vitamin D production. *J Cosmet Dermatol* 2004, 2, 86-98.
  16. **Lehmann B., Querings K., Reichrath J.:** New relevance of vitamin D3 metabolism in the skin. *Hautarzt* 2004, 55, 446-452.
  17. **Ortlepp J.R., Lauscher J., Hoffmann R., Hanrath P., Joost H.G.:** The vitamin D receptor gene variant is associated with the prevalence of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Diabet Med* 2001, 18, 842-845.
  18. **Barthel H.R., Scharla S.H.:** Benefits beyond the bones: vitamin D against falls, cancer, hypertension and autoimmune diseases. *Dtsch Med Wochenschr* 2003, 128, 440-446.
  19. **Asgari M.M., Tang J., Warton M.E., Chren M.M., Quesenberry C.P. Jr, Bikle D., Horst R.L. i inni:** Association of prediagnostic serum vitamin D levels with the development of basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol* 2010, 130, 1438-1443.
  20. **Xiao T.Z., Tang J.Y., Wu A., Shpall E., Khaimsky I., So P. i inni:** Hedgehog signaling of BCC is inhibited by vitamin D: implication for a chemopreventive agent against BCC carcinogenesis. *J Invest Dermatol* 2009, 129, S32.
  21. **Van Dam R.M., Huang Z., Giovannucci E., Rimm E.B., Hunter D.J., Colditz G.A. i inni:** Diet and basal cell carcinoma of the skin in a prospective cohort of men. *Am J Clin Nutr* 2000, 71, 135-141.
  22. **Gandini S., Raimondi S., Gnagnarella P., Doré J.F., Maisonneuve P., Testori A.:** Vitamin D and skin cancer: a meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009, 45, 634-641.
  23. **Holick M.F.:** The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites. *J Nutr* 1990, 120 (Suppl. 11), 1464-1469.
  24. **Millen A.E., Bodnar L.M.:** Assessment of vitamin D in population-based studies. *Am J Clin Nutr* 2008, 87, 1079S.
  25. **Holick M.F.:** Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2002, 9, 87-98.
  26. **Reichrath J., Kamradt J., Zhu X.H., Kong X.F., Tilgen W., Holick M.F.:** Analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors VDR in basal carcinoma. *Am J Pathol* 1999, 155, 583-589.
  27. **Reichrath J., Kamradt J., Zhu X.H., Kong X.F., Tilgen W., Holick M.F.:** Analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors (VDR) in basal cell carcinoma. *Am J Pathol* 1999, 155, 583-589.
  28. **Reichrath J., Rafi L., Rech M., Mitschele T., Meineke V., Gärtner B.C. i inni:** Analysis of the vitamin D system in cutaneous squamous cell carcinomas. *J Cutan Pathol* 2004, 31, 224-231.
  29. **Kamradt J., Rafi L., Mitschele T., Meineke V., Gärtner B.C., Wolfgang T., i inni:** Analysis of the vitamin D system in cutaneous malignancies. Recent results. *Cancer Res* 2003, 164, 259-269.

**Otrzymano:** 21 IX 2010 r.

**Zaakceptowano:** 29 IX 2010 r.