

# Znaczenie analizy wybranych haplotypów genu *EVER2* w rogowaceniu słonecznym

## The role of analysis of *EVER2* haplotypes in actinic keratosis

Agnieszka Kalińska-Bienias<sup>1</sup>, Grażyna Kostrzewa<sup>2</sup>, Magdalena Malejczyk<sup>3</sup>, Rafał Płoski<sup>2</sup>, Sławomir Majewski<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika Dermatologii i Immunodermatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>2</sup>Zakład Genetyki Medycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>3</sup>Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Przeł Dermatol 2016, 103, 102–108

DOI: 10.5114/dr.2016.59131

### STRESZCZENIE

**SŁOWA KLUCZOWE:**  
haplotypy, rogowacenie słoneczne, geny *EVER*.

**KEY WORDS:**  
haplotypes, actinic keratosis, *EVER* genes.

**Wprowadzenie.** Polimorfizmy genów *EVER* są związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia rogowacenia słonecznego, raków kolczystokomórkowych skóry oraz raka szyjki macicy.

**Cel pracy.** Celem pracy była analiza haplotypów genu *EVER2* u 65 pacjentów z licznymi ogniskami rogowacenia słonecznego (≥ 5 ognisk) oraz u 274 osób zdrowych. Oceniono również częstość występowania haplotypów w zależności od wybranych parametrów klinicznych.

**Materiał i metodyka.** Do analizy haplotypów włączono te polimorfizmy *917A>T* (rs7208422), *988-4G>T* (rs62079073) i *1107G>A* (rs12452890), które w dostępnych danych z piśmiennictwa były znamienne związane z rogowaceniem słonecznym i rakami kolczystokomórkowymi skóry. Genotypowanie próbek krwi pacjentów i grupy kontrolnej wykonano techniką łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem odczynników firmy Applied Biosystems.

**Wyniki.** U pacjentów z rogowaceniem słonecznym i w grupie kontrolnej najczęściej stwierdzanymi haplotypami były haplotypy AGG i TGA. Haplotyp TG (*-917A>T* i *-988-4G>T*), zawierający allel promujący T polimorfizmu *-917A>T*, występował istotnie częściej wśród pacjentów, u których choroba wystąpiła przed 70. rokiem życia (0,6117 vs 0,417;  $p = 0,029$ ) oraz zauważono istotną statystycznie przewagę występowania tego haplotypu u pacjentów, którzy mieli większą rozległość zmian skórnych (0,6085 vs 0,414;  $p = 0,029$ ). Haplotyp TA (*-988-4G>T* i *-1107G>A*), który zawiera allel protekcyjny polimorfizmu *-988-4G>T*, występował tylko u pacjentów z rogowaceniem słonecznym, natomiast nie pojawiał się u pacjentów ze współistniejącymi rakami kolczystokomórkowymi (wynik na granicy istotności statystycznej:  $p = 0,059$ ).

**Wnioski.** Uzyskane w pracy wyniki przekonują o konieczności wykonywania badania haplotypów w ocenie predyspozycji genetycznej do stanów przedrakowych i raków skóry.

### ABSTRACT

**Introduction.** Polymorphisms of *EVER* genes are related to increased risk of actinic keratosis (AK), squamous skin cancers (SCC) and cervical cancer.

### ADRES DO KORESPONDENCJI:

Agnieszka Kalińska-Bienias  
Klinika Dermatologii  
i Immunodermatologii  
Warszawski Uniwersytet  
Medyczny  
ul. Koszykowa 82 A  
02-008 Warszawa  
tel.: +48 606 618 564  
e-mail:  
agnieszka.kalinska@interia.pl

**Objective.** The aim of this study was to analyze the haplotypes of the *EVER2* gene in 65 subjects with  $\geq 5$  actinic keratoses and in 274 controls. The correlations between *EVER2* haplotype and selected clinical parameters in patients with actinic keratosis were also evaluated.

**Material and methods.** The analysis involved polymorphisms  $-917A>T$  (rs7208422),  $-988-4G>T$  (rs62079073) and  $-1107G>A$  (rs12452890), which obtained statistically significant results in previous published studies of patients with actinic keratosis and squamous skin cancers. The full blood samples of patients and controls were genotyped using real-time polymerase chain reaction with reagents from Applied Biosystems.

**Results.** In a group of patients with AK and the controls the most frequent haplotypes were AGG and TGA. Haplotype TG ( $-917A>T$  and  $-988-4G>T$ ) containing the promoter T allele of  $917A>T$  was more frequent in patients who had AK onset before the age of 70 years (0.6117 vs. 0.417;  $p = 0.029$ ) and with more extensive skin lesions (0.6085 vs. 0.414;  $p = 0.029$ ). Haplotype TA ( $-988-4G>T$  and  $-1107G>A$ ), containing the protective G allele of  $-988-4G>T$ , was observed only in patients with AK. There was no presence of haplotype TA in patients with coexisting SCC (the result was near statistical significance,  $p = 0.059$ ).

**Conclusions.** The results of the study suggest the necessity of analysis of haplotypes in evaluation of predisposition to precancerous skin lesions and skin cancers.

## WPROWADZENIE

Najczęstszym stanem przedrakowym, na podłożu którego rozwijają się raki kolczystokomórkowe (ang. *squamous cell carcinoma* – SCC), jest rogowacenie słoneczne (ang. *actinic keratosis* – AK). Dane z piśmiennictwa wskazują, że w procesie powstawania AK znaczenie mają nie tylko czynniki środowiskowe, lecz także genetyczne lub wirusowe, choć danych dotyczących podłoża genetycznego AK jest niewiele. Szczegółowa analiza ustalonych i potencjalnych czynników ryzyka wystąpienia AK ma aktualnie szczególnie istotne znaczenie praktyczne, ponieważ w ostatnich dekadach liczba zachorowań na AK u ludzi rasy kaukaskiej znacznie się zwiększyła [1]. Szacunkowe dane wskazują, że w Polsce w ciągu ostatniego półwiecza liczba nowych przypadków AK wzrosła aż 5-krotnie, choć należy podkreślić, że nie istnieją polskie rejestry występowania AK [1, 2].

Niewątpliwie głównym czynnikiem środowiskowym w rozwoju AK jest nadmierna ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe (ang. *ultraviolet radiation* – UVR), przy czym prawdopodobieństwo ich powstawania wiąże się z kumulacyjną dawką promieniowania UV, a także z ekspozycją na jego sztuczne źródła. Znaczenie mają również czynniki modulujące odpowiedź na UVR, takie jak fototyp skóry, rasa, rude lub jasne włosy, niebieskie oczy, piegi oraz zamieszkiwanie w miejscach dużego nasłonecznienia. Oznacza to, że nie każda osoba ma identyczną skłonność

do powstawania AK. W ostatnich latach zidentyfikowano wiele genów odpowiedzialnych za modyfikowanie ryzyka wystąpienia rogowacenia słonecznego. Początkowo w badaniach genetycznych skupiono się na poszukiwaniu genów i ich zaburzeń w tkankach nowotworowych, gdzie stwierdzono, że za rozwój ognisk AK odpowiada duże uszkodzenie DNA keratynocytów [1]. Pierwszym poznany genem, który został powiązany z AK, był gen *TP53*, w obrębie którego stwierdzono powstające *de novo*, charakterystyczne dla UVR mutacje typu C→T i CC→TT [3]. Kolejnym etapem badań jest poszukiwanie predyspozycji genetycznej do powstawania AK ocenianej jako zmienność polimorficzna (ang. *single nucleotide polymorphism* – SNP) [4, 5]. Ostatnio zainteresowanie naukowców skupiło się na genach *EVER*. Wybór tych genów wiąże się z faktem wykrycia ich mutacji w *Epidermodysplasia verruciformis*, genetycznie uwarunkowanych rakach skóry spowodowanych zakażeniem swoistymi wirusami brodawczaka ludzkiego (ang. *human papilloma virus* – HPV) [6]. Dodatkowym, ważnym czynnikiem wskazującym na możliwy udział genów *EVER* w kancerogenezie jest zaangażowanie HPV w rozwój AK u pacjentów bez *Epidermodysplasia verruciformis* [7]. Ponadto wyniki badań analizy sprzężeń genomu wykazały silny związek pomiędzy AK a niestabilnością genomową w regionie chromosomu 17q, na którym położone są między innymi geny *EVER* [8]. W naszych poprzednich ana-

lizach wykazaliśmy, że polimorfizmy genu *EVER2* są powiązane ze zwiększonym ryzykiem rozwoju AK oraz progresją do raka kolczystokomórkowego [9, 10]. Analiza haplotypów genów *EVER* dotychczas nie była wykonywana.

## CEL PRACY

Celem pracy była ocena predyspozycji genetycznej w powstawaniu AK na podstawie analizy haplotypów genu *EVER2*. Do badania włączono haplotypy genu *EVER2* zbudowane z polimorfizmów, które w dostępnych danych z piśmiennictwa były znacząco związane z AK i SCC.

## MATERIAŁ I METODYKA

Analizowano 65 pacjentów z AK, w tym 37 kobiet i 28 mężczyzn. Średni wiek pacjentów wynosił 75,68 ± 6,22 roku, mediana 75, zakres od 61,0 do 91,0 lat. Wszyscy pacjenci mieli liczne AK (≥ 5 ognisk), stwierdzone w trakcie przeprowadzanych badań lub w wywiadzie. Zebrano dane kliniczne dotyczące wieku wystąpienia AK, czasu trwania choroby, rozległości zmian skórnych, współwystępowania SCC, fototypu skóry i przewlekłej ekspozycji na promieniowanie UV (częste spędzanie czasu na powietrzu, wyjazdy do krajów o dużym nasłonecznieniu, niestosowanie filtrów przeciwsłonecznych i korzystanie z solariów). Pacjenci mieli ogniska AK zlokalizowane na twarzy (policzki, nos, czoło), uszach, skarpie, grzbietach rąk, klatce piersiowej i na plecach. Średni czas trwania choroby wynosił 7,88 ± 6,06 roku (mediana 5 lat, zakres od 6 miesięcy do 25 lat). Pierwsze zmiany wystąpiły średnio w wieku 67,8 ± 7,99 roku (mediana 69, zakres od 44. do 89. roku życia). Grupa kontrolna obejmowała 274 osoby (137 kobiet, 137 mężczyzn), które były poddane testom na ustalenie ojcostwa w Zakładzie Genetyki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i wyraziły pisemną zgodę na anonimowe wykorzystanie swojego DNA do celów naukowych. Dokładny wiek osób z grupy kontrolnej nie był znany, ale wiadomo, że były to osoby młodsze w porównaniu z pacjentami. Ze względu na badaną predyspozycję genetyczną właściwe dobranie wieku w tym przypadku nie wpływało istotnie na wyniki analiz.

Na podstawie wyników otrzymanych w dostępnych badaniach dotyczących częstości występowania polimorfizmów genu *EVER2* za pomocą programu PLINK [11] obliczono frekwencje poszczególnych haplotypów u pacjentów z AK i w grupie kontrolnej oraz oceniono ich związek z parametrami klinicznymi. W badaniach DNA izolowano z próbek krwi pełnej pobranej na kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) przy użyciu komercyjnego zestawu NucleoMag fir-

my Macherey-Nagel, Bethlehem w USA. Próbkę krwi poddano genotypowaniu przy użyciu łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. *real time-polymerase chain reaction* – RT-PCR) przy użyciu zestawów o numerach katalogowych C\_3068817\_10, C\_3068816\_10 i 4331349 rs073AHS1DR0 SNP AbD zaprojektowanych przez producenta (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Reakcję przeprowadzono w aparacie 7500 Real Time PCR System firmy Applied Biosystems. Próbkę o znanych genotypach losowo weryfikowano metodą sekwencjonowania. Reakcje łańcuchowe polimerazy przeprowadzono w aparacie GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Wellesley, USA) o następującym składzie mieszaniny reakcyjnej: 5,5 pmol/l każdego ze znaczników (ang. *primer*), 3,2 lL dNTP, 300 ng genomowego DNA, 1 lL MgCl<sub>2</sub> w stężeniu 25 mmol/l i 3 U polimerazy Taq DNA (Fermentas, Wilno, Litwa). Do sekwencjonowania użyto BidDye Terminator v3.1 zgodnie z protokołem zaleconym przez producenta na analizatorze ABI PRISM 3130XL (Applied Biosystems).

Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Wszyscy pacjenci wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu.

## Analiza statystyczna

Jako próg istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Za pomocą programu PLINK wyznaczono 5 haplotypów, tj. ATA, AGG, AGA, TGG, TGA, zbudowanych z polimorfizmów 917A>T (rs7208422), 988-4G>T (rs62079073) i 1107G>A (rs12452890) genu *EVER2*. W haplotypach litery oznaczają odpowiednio: pierwsza litera polimorfizm -917A>T, druga -988-4G>T, trzecia -1107G>A. U pacjentów z AK i w grupie kontrolnej najczęściej stwierdzanymi haplotypami były haplotypy AGG i TGA, natomiast ze względu na niską frekwencję odrzucono kombinację TTG, która występowała z częstością rzadszą niż 0,01 w obu grupach. Analiza porównawcza nie wykazała istotnych różnic w rozkładzie haplotypów (tab. 1). Przeprowadzono analizy częstości haplotypów w zależności od wybranych parametrów klinicznych u pacjentów z AK. Do analiz wybrano parametry, które wykazywały znamienność statystyczną we wcześniejszych pracach, tj. wiek wystąpienia AK, rozległość zmian skórnych, współwystępowanie SCC oraz fototyp skóry i wywiad przewlekłej ekspozycji na UVR. Badaniu poddano haplotypy zbudowane z polimorfizmów -917A>T i -988-4G>T oraz z polimorfizmów -988-4G>T i -1107G>A, które utworzyły łącznie 8 wariantów (AT, TT, AG, TG,

**Tabela 1.** Częstość występowania poszczególnych haplotypów badanych polimorfizmów genu *EVER2* u pacjentów z rogowacieniem słonecznym (AK) i w grupie kontrolnej (GK)**Table 1.** Haplotype frequencies of polymorphisms of *EVER2* gene in patients and controls

Haplotypy			Wartość p	Częstość występowania haplotypów	
rs7208422	rs62079073	rs12452890		AK	GK
A	T	A	0,678	0,05635	0,06465
A	G	G	0,402	0,3189	0,3517
A	G	A	0,125	0,09409	0,06216
T	G	G	0,148	0,08692	0,05782
T	G	A	0,627	0,4437	0,4637

TG, GG, TA, GA). W analizach wykazano istotnie częstsze występowanie haplotypu TG (-917A>T i -988-4G>T) u pacjentów, u których choroba wystąpiła przed 70. rokiem życia (0,6117 vs 0,417;  $p = 0,029$ ), oraz stwierdzono istotną statystycznie przewagę występowania tego haplotypu u pacjentów, którzy mieli większą rozległość zmian skórnych, tj. występowania ognisk AK przynajmniej w 3 różnych okolicach (0,6085 vs 0,414;  $p = 0,029$ ) (tab. 2). Wskazuje to na rolę konfiguracji TG w AK. Analiza częstości występowania haplotypów *EVER2* u pacjentów w zależności od współistnienia SCC wykazała, że haplotyp TA utworzony z polimorfizmów -988-4G>T i -1107G>A występował tylko u pacjentów z AK, natomiast nie pojawiał się u pacjentów ze współistniejącymi SCC (wynik na granicy istotności statystycznej,  $p = 0,059$ ) (tab. 3). Haplotyp AG zbudowany z polimorfizmów (-917A>T i -988-4G>T) był częściej stwierdzany u pacjentów, u których choroba wystąpiła poniżej 70. roku życia, w porównaniu z pacjentami, u których AK pojawiło się w później-

szym wieku, a różnica ta była istotna statystycznie (0,5141 vs 0,3138;  $p = 0,023$ ). Częstość tego haplotypu była natomiast istotnie większa u chorych z mniejszą rozległością AK (mniej niż 3 okolice) (0,5146 vs 0,3201;  $p = 0,027$ ). Nie stwierdzono znamienności statystycznej zależności pomiędzy występowaniem któregośkolwiek z haplotypów a fototypem skóry. Analiza częstości występowania haplotypów *EVER* w zależności od wywiadu przewlekłej ekspozycji na UVR wykazała, że haplotypy AT utworzone z polimorfizmów 917A>T i -988-4G>T oraz TG utworzony z polimorfizmów -988-4G>T i -1107G>A były zdecydowanie częstsze u pacjentów z AK, którzy negowali przewlekłą ekspozycję na promieniowanie UV (odpowiednio  $p = 0,007$ ,  $p = 0,046$ ) (tab. 4).

## OMÓWIENIE

Haplotyp to w genetyce zestaw polimorfizmów pojedynczych nukleotydów położonych na tej samej chromatydzie, który dziedziczy się jako zestaw

**Tabela 2.** Częstość występowania haplotypów genu *EVER2* w zależności od wieku wystąpienia rogowacenia słonecznego i rozległości choroby**Table 2.** Haplotypes of *EVER2* gene frequencies with respect to age at which disease occurred and extent of skin lesions

Haplotypy		Wartość p	Częstość występowania haplotypów				
			< 70. roku życia	≥ 70. roku życia	p	< 3 okolice	≥ 3 okolice
<b>rs7208422</b>	<b>rs62079073</b>						
A	T	0,989	0,03766	0,03812	0,954	0,03901	0,03703
T	T	0,898	0,0313	0,03541	0,951	0,03242	0,0344
A	G	0,023	0,5141	0,3148	0,027	0,5146	0,3201
T	G	0,029	0,6117	0,417	0,029	0,414	0,6085
<b>rs62079073</b>	<b>rs12452890</b>						
T	G	0,845	0,01363	0,01715	0,349	0,005672	0,02272
G	G	0,198	0,4419	0,3502	0,069	0,4693	0,3384
T	A	0,777	0,06415	0,07469	0,572	0,08183	0,06061
G	A	0,287	0,4803	0,558	0,067	0,4432	0,5783

**Tabela 3.** Częstość występowania haplotypów genu *EVER2* w zależności od współistnienia raków kolczystokomórkowych skóry  
**Table 3.** Haplotypes of *EVER2* gene frequencies with respect to co-existence with squamous cell cancers

Haplotypy		Wartość p	Częstość występowania haplotypów	
			AK i SCC	AK
<b>rs7208422</b>	<b>rs62079073</b>			
A	T	0,256	0	0,04777
T	T	0,287	0	0,04223
A	G	0,847	0,4231	0,4022
T	G	0,529	0,5769	0,5078
<b>rs62079073</b>	<b>rs12452890</b>			
T	G	0,387	0	0,01938
G	G	0,452	0,4474	0,3806
T	A	0,059	0	0,08728
G	A	0,660	0,5526	0,5127

**Tabela 4.** Częstość występowania haplotypów genu *EVER2* w zależności od fototypu skóry i przewlekłej ekspozycji na promieniowanie słoneczne w wywiadzie  
**Table 4.** Haplotypes of *EVER2* gene frequencies with respect to skin phototype and chronic UVR exposure

Haplotypy		Wartość p	Częstość występowania haplotypów				
			fototyp I	fototyp II i III	p	przew. UV(+)	przew. UV(-)
<b>rs7208422</b>	<b>rs62079073</b>						
A	T	0,322	0,06172	0,02601	0,007	0,006886	0,1046
T	T	0,294	0,009709	0,04542	0,614	0,028	0,04539
A	G	0,898	0,4145	0,4026	0,573	0,4233	0,3704
T	G	0,899	0,5141	0,526	0,516	0,5418	0,4796
<b>rs62079073</b>	<b>rs12452890</b>						
T	G	0,959	0,01613	0,01514	0,046	0,00349	0,04231
G	G	0,649	0,371	0,4055	0,285	0,4196	0,337
T	A	0,305	0,09677	0,05629	0,119	0,05036	0,1129
G	A	0,929	0,5161	0,5231	0,812	0,5266	0,5078

sprzężonych ze sobą alleli. Dane z piśmiennictwa wskazują, że w predyspozycji do powstawania nowotworów znaczenie mogą mieć nie tylko polimorfizmy genów, lecz także odpowiednie ich konfiguracje, czyli haplotypy [12]. Ponadto wiadomo, że niektóre polimorfizmy, chociaż położone w różnej odległości w obrębie jednego lub różnych genów, mogą mieć działanie synergistyczne, co potwierdza udział kilku niezależnych alleli w patogenezie choroby nowotworowej. W zestawieniu haplotypu allele mogą mieć charakter protekcyjny i chronić przed nowotworami lub promujący i wpływać na rozwój nowotworu [13]. Z tego powodu w najnowszych pracach, w których poszukuje się wariantów genetycz-

nych odpowiedzialnych za powstawanie różnych pozaskórnych nowotworów złośliwych człowieka, przeprowadza się dodatkowo analizę haplotypów. Dotychczas jednak opublikowano jedynie nieliczne prace, w których oceniano haplotypy w stanach przedrakowych lub rakach skóry, pomimo licznych badań dotyczących zmienności w obrębie wielu genów, takich jak protoonkogeny, geny supresorowe, kontrolujące apoptozę lub regulujące naprawę DNA.

W aktualnie dostępnych kilku pracach dotyczących genów *EVER* wykazano, że obecność polimorfizmów genów *EVER1* i *EVER2* sprzyja występowaniu AK, SCC oraz raka szyjki macicy. W przypadku skórnej kancerogenezy związek ten dotyczył poli-

morfizmu TT i allelela T 917A>T (rs7208422) oraz polimorfizmu TT, TG i allelela T 988-4G>T. W rakach szyjki macicy zależności te stwierdzono pomiędzy wieloma polimorfizmami, przy czym były one najsilniejsze z polimorfizmem rs9893818, rs2290907 i rs16970849. Wszystkie te wyniki uzyskano u pacjentów, którzy nie mieli istotnych zaburzeń immunologicznych [9, 10, 14, 15]. Należy podkreślić, że w opublikowanym w 2015 r. badaniu przeprowadzonym u pacjentów leczonych immunosupresyjnie z powodu przeszczepów narządowych, u których dodatkowo występowała SCC, nie stwierdzono zaburzeń genów *EVER*, co pokazuje, że ich udział w kancerogenezie może być jeszcze przedmiotem dyskusji [16]. W przedstawionej pracy analizowaliśmy haplotypy genu *EVER2* złożone z polimorfizmów, które uzyskały istotność statystyczną w poprzednich naszych pracach oraz w dostępnych badaniach nad AK i SCC. Do obecnych badań włączono w sumie 13 haplotypów, które otrzymały częstość powyżej 0,001, w tym 5 haplotypów złożonych z trzech alleli polimorfizmów 917A>T, 988-4G>T i 1107G>A, 4 haplotypy złożone z dwóch alleli polimorfizmów 917A>T i 988-4G>T oraz 4 haplotypy złożone z 988-4G>T i 1107G>A. Stwierdzono, że zarówno w grupie pacjentów, jak i w grupie kontrolnej najczęstsze były haplotypy AGG i TGA, choć nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy nimi. Haplotyp TG (917A>T, 988-4G>T) zawierający allel promujący T 917A>T był istotnie częstszy u pacjentów, u których choroba wystąpiła przed 70. rokiem życia oraz zauważono istotną statystycznie przewagę występowania tego haplotypu u pacjentów z rozsianymi ogniskami AK. Uzyskane wyniki wskazują na promującą rolę konfiguracji TG w AK. W przeprowadzonych przez nas analizach wykazaliśmy również, że haplotyp TA utworzony z polimorfizmów 988-4G>T i 1107G>A nie występował u pacjentów, którzy mieli jednocześnie AK i SCC. Potwierdza to działanie protekcyjne allelela T 988-4G>T, co wykazaliśmy w poprzednich naszych badaniach [9]. Ponadto u pacjentów z AK i ujemnym wywiadem przewlekłej ekspozycji na UVR stwierdzono częstsze występowanie haplotypów AT (917A>T, 988-4G>T) oraz TG (988-4G>T i 1107G>A).

Ograniczeniem naszej pracy jest relatywnie mała liczba pacjentów z AK. W przyszłości planowane są dalsze badania na większej grupie chorych, które umożliwią walidację otrzymanych wyników i lepsze zrozumienie genetycznych mechanizmów skórnej kancerogenezy. W ostatnich latach przeprowadzono kilka metaanaliz dotyczących różnych zaburzeń genetycznych u pacjentów z SCC, w których oceniano predyspozycje do wystąpienia choroby. Lista genów, których dziedzicznie przekazywane uszkodzenie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na SCC, stale się wydłuża. W przeciwieństwie do SCC

analiza polimorfizmów i haplotypów w AK była dotychczas oceniana bardzo rzadko. Znacznie częściej poszukiwania nowych haplotypów dotyczą predyspozycji genetycznej do występowania SCC, zwłaszcza w obrębie jamy ustnej. W badaniach nad tym nowotworem stwierdzono wpływ haplotypów genu sulfotransferazy (*SULT1A1*), haplotypów genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*), haplotypów genów związanych z naprawą DNA i genów z rodziny inhibitorów proteiny serynowej (*SERPIN*) [17–20]. W SCC zlokalizowanych w obrębie skóry badano haplotypy genów mających znaczenie w melanogenezie, m.in. gen *MC1R*, *ASIP AH*, *TYR*, *OCA2*, *SLC45A2*, wśród których silną zależność opisano pomiędzy haplotypem genu *ASIP AH* oraz haplotypem genu dla IL-10 a ryzykiem wystąpienia SCC [21, 22]. Badano też haplotypy licznej grupy genów odpowiedzialnych za naprawę uszkodzeń DNA, wśród których wykazano niekorzystną rolę haplotypu genu *XPA* w kancerogenezie skórnej [23]. Niektóre z haplotypów mają wpływ protekcyjny. Analiza haplotypów zbudowanych z polimorfizmów genów regulatorowych, takich jak *miR-146a* i *RNASEL*, wykazała odwrotną zależność między predyspozycją a występowaniem SCC [24]. Reasumując powyższe dane – predyspozycja do występowania SCC ma charakter poligenowy. Zdecydowanie mniej wiadomo na temat predyspozycji genetycznej do występowania AK, czego przykładem jest fakt, że nie ma badań dotyczących oceny haplotypów w AK, zwłaszcza że to właśnie na podłożu AK rozwijają się SCC. Należy przypuszczać, że występujące odchylenia genetyczne w AK i SCC powinny być takie same, co wymaga jednak sprawdzenia w toku dalszych badań.

## PODSUMOWANIE

Wpływ czynników środowiskowych oraz dodatkowo współdziałanie różnych zaburzeń w wielu genach może doprowadzić do ryzyka zachorowania na AK. Do tej listy dołączane są wciąż nowe geny, których polimorfizmy mogą być traktowane jako wskaźniki ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej. W wielu pracach przeprowadza się analizę rozkładu wariantów genu na chromosomach, tzw. analiza rozkładu haplotypów. Uzyskane w pracy dane przekonują o konieczności wykonywania badania haplotypów w ocenie predyspozycji genetycznej do stanów przedrakowych i raków skóry.

## Konflikt interesów

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

## Piśmiennictwo

1. Włodarkiewicz A., Narbut J., Adamski Z., Chodorowska G., Kaszuba A., Reich A. i inni: Rogowacenie słoneczne – aktualny stan wiedzy. Stanowisko ekspertów Polskiego To-

- warzystwa Dermatologicznego. *Przeł Dermatol* 2014, 101, 156-167.
2. **Zwierko M.**: Epidemiologia nowotworów skóry. [w:] *Złotliwe nowotwory skóry*. P. Rutkowki (red.). Via Medica, Gdańsk, 2014, 1-10.
  3. **Nelson M.A., Einspahr J.G., Alberts D.S., Balfour C.A., Wymer J.A., Welch K.L. i inni**: Analysis of the p53 gene in human precancerous actinic keratosis lesions and squamous cell cancers. *Cancer Lett* 1994, 85, 23-29.
  4. **Rehman I., Takata M., Wu Y.Y., Rees J.L.**: Genetic change in actinic keratoses. *Oncogene* 1996, 12, 2483-2490.
  5. **Madan V., Lear J.T., Szeimies R.M.**: Non-melanoma skin cancer. *Lancet* 2010, 375, 673-685.
  6. **Ramoz N., Rueda L.A., Bouadjar B., Montoya L.S., Orth G., Favre M.**: Mutations in two adjacent novel genes are associated with epidermodysplasia verruciformis. *Nat Genet* 2002, 32, 579-581.
  7. **Pfister H., Fuchs P.G., Majewski S., Jablonska S., Pniewska I., Malejczyk M.**: High prevalence of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus DNA in actinic keratoses of the immunocompetent population. *Arch Dermatol Res* 2003, 295, 273-279.
  8. **Mortier L., Marchetti P., Delaporte E., Martin de L.E., Thomas P., Piette F.**: Progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma of the skin correlates with deletion of the 9p21 region encoding the p16(INK4a) tumor suppressor. *Cancer Lett* 2002, 176, 205-214.
  9. **Kalińska-Bienias A., Majewski S.**: Polimorfizm pojedynczych nukleotydów genu EVER2 w rakach kolczystokomórkowych skóry u pacjentów z rogowaceniem słonecznym. *Przeł Dermatol* 2013, 100, 281-286.
  10. **Kalińska-Bienias A., Kostrzewa G., Malejczyk M., Płowski R., Majewski S.**: Possible association between actinic keratosis and the rs7208422 (c.917A→T, p.N306I) polymorphism of the EVER2 gene in patients without epidermodysplasia verruciformis. *Clin Exp Dermatol* 2015, 40, 318-323.
  11. **Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A., Bender D.**: PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 2007, 81, 559-575.
  12. **Drewa G.**: Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania nowotworów. [w:] *Genetyka medyczna*. G. Drewa, T. Ferenc (red.). Elsevier Urban&Partner, Wrocław, 2011, 581-602.
  13. **Luizon M.R., de Almeida Belo V.**: Matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 polymorphisms and haplotypes as disease biomarkers. *Biomarkers* 2012, 17, 286-288.
  14. **Patel A.S., Karagas M.R., Pawlita M., Waterboer T., Nelson H.H.**: Cutaneous human papillomavirus infection, the EVER2 gene and incidence of squamous cell carcinoma: a case-control study. *Int J Cancer* 2008, 122, 2377-2379.
  15. **Castro F.A., Ivansson E.L., Schmitt M., Juko-Pecirep I., Kjellberg L., Hildesheim A. i inni**: Contribution of TMC6 and TMC8 (EVER1 and EVER2) variants to cervical cancer susceptibility. *Int J Cancer* 2012, 130, 349-355.
  16. **Burger B., Sporri I., Stegmann D.A., de Mesmaker J., Schaub S., Itin P.H. i inni**: Risk of cutaneous squamous cell carcinoma development in renal transplant recipients is independent of TMC/EVER alterations. *Dermatology* 2015, 231, 245-252.
  17. **Chung Y.T., Hsieh L.L., Chen I.H., Liao C.T., Liou S.H., Chi C.W.**: Sulfotransferase 1A1 haplotypes associated with oral squamous cell carcinoma susceptibility in male Taiwanese. *Carcinogenesis* 2009, 30, 286-294.
  18. **Galbiatti A.L., Ruiz M.T., Rodrigues J.O., Raposo L.S., Maniglia J.V., Pavarino E.C.**: Polymorphisms and haplotypes in methylenetetrahydrofolate reductase gene and head and neck squamous cell carcinoma risk. *Mol Biol Rep* 2012, 39, 635-643.
  19. **Michiels S., Danoy P., Dessen P., Bera A., Boulet T., Bouchardy C.**: Polymorphism discovery in 62 DNA repair genes and haplotype associations with risks for lung and head and neck cancers. *Carcinogenesis* 2007, 28, 1731-1739.
  20. **Sun W., Lv W., Lv H., Zhang R., Jiang Y.**: Genome-wide haplotype association analysis identifies SERPINB9, SERPINE2, GAK, and HSP90B1 as novel risk genes for oral squamous cell carcinoma. *Tumour Biol* 2015, Aug 30 [w druku].
  21. **Binstock M., Hafeez F., Metchnikoff C., Arron S.T.**: Single-nucleotide polymorphisms in pigment genes and non-melanoma skin cancer predisposition: a systematic review. *Br J Dermatol* 2014, 171, 713-721.
  22. **Welsh M.M., Karagas M.R., Kuriger J.K., Houseman A., Spencer S.K., Perry A.E.**: Genetic determinants of UV-susceptibility in non-melanoma skin cancer. *PLoS One* 2011, 6, e20019.
  23. **Miller K.L., Karagas M.R., Kraft P., Hunter D.J., Catalano P.J., Byler S.H.**: XPA, haplotypes, and risk of basal and squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2006, 27, 1670-1675.
  24. **Farzan S.F., Karagas M.R., Christensen B.C., Li Z., Kuriger J.K., Nelson H.H.**: RNASEL and MIR146A SNP-SNP interaction as a susceptibility factor for non-melanoma skin cancer. *PLoS One* 2014, 9, e93602.

Otrzymano: 15 I 2016 r.

Zaakceptowano: 7 III 2016 r.