

Zaburzenie proliferacji oraz adhezji międzykomórkowej w naskórku jako jeden z mechanizmów działania promieniowania ultrafioletowego typu B

Epidermal proliferation and intracellular adhesion impairment as one mode of action of ultraviolet-B radiation

Aleksandra Lesiak¹, Małgorzata Słowik-Rylska¹, Wojciech Kozłowski², Anna Sysa-Jędrzejowska¹, Cezary Jochymowski², Michał Rogowski-Tylman¹, Joanna Narbutt¹

¹Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

²Zakład Patomorfologii Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie, kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Wojciech Kozłowski

Post Dermatol Alergol 2009; XXVI, 4: 180–185

Streszczenie

Wprowadzenie: Zaburzenie proliferacji oraz procesów adhezji komórkowej stanowią jeden z elementów patogennych fotokancerogenezy.

Cel: Ocena ekspresji białka Ki-67 oraz β -kateniny w naskórku wolontariuszy poddanych ekspozycji na UVB.

Materiał i metody: Dziewięciu wolontariuszy naświetlano UVB przez 10 kolejnych dni ($10 \times 0,7$ MED – całe ciało, grupa 1). Kolejnych 9 ochotników eksponowano przez 10 kolejnych dni na UVB ($10 \times 0,7$ MED – całe ciało), a następnie naświetlano miejscowo (10×10 cm, skóra pośladka) dawką 3 MED UVB – grupa 2. Wolontariuszy z grupy 3. ($n = 4$) poddawano pojedynczej, miejscowej (skóra pośladka) ekspozycji promieniowaniem dawką 3 MED UVB. Czterech zdrowych ochotników (grupa 4.) stanowiło nienaświetlaną grupę kontrolną. Dobę po ostatnim naświetlaniu pobierano wycinki skóry do oceny immunohistochemicznej, w której analizowano naskórkową ekspresję białka Ki-67 i β -kateniny.

Wyniki: Analizując liczbę komórek Ki-67(+) w poszczególnych grupach, wykazano istotnie statystycznie większą ich liczbę w wycinkach pobranych w grupie 1, 2. i 3. w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono także istotnie większą liczbę komórek Ki-67(+) w grupie 2. niż w grupie 1., a także w grupie 2. niż w grupie 3. Analizując liczbę komórek wykazujących ekspresję β -kateniny w poszczególnych grupach w odniesieniu do grupy kontrolnej, odnotowano istotnie mniejszą ich liczbę w wycinkach pobranych od osób z grup 1.–3.

Wnioski: Uzyskane wyniki sugerują udział UVB w zaburzeniu procesów proliferacyjnych, a także ich zdolność do uszkodzenia integralności naskórka. Obserwowane zjawiska są prawdopodobnie jednymi z elementów biorących udział w fotokancerogenezie. Ze względu na rozluźnienie połączeń międzykomórkowych odgrywają również rolę w inwazyjności procesu nowotworowego.

Słowa kluczowe: promieniowanie ultrafioletowe, Ki-67, β -katenina, ekspresja naskórkowa.

Abstract

Introduction: Disturbances in cellular proliferation and adhesion are among the mechanisms leading to photocarcinogenesis.

Aim: To assess epidermal expression of Ki-67 and β -catenin in volunteers exposed to UVB.

Material and methods: Nine volunteers were exposed to UVB for 10 consecutive days (10×0.7 MED – whole body) – group 1. Nine other subjects were irradiated with UVB for 10 consecutive days (10×0.7 MED – whole body), followed by local exposure to 3 MED UVB dose (10×10 cm, buttock skin) – group 2. Volunteers from group 3 ($n = 4$) were

Adres do korespondencji: dr n. med. Aleksandra Lesiak, Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź, tel./faks +48 42 686 79 81/+48 42 688 45 65, e-mail: lesiak_ola@interia.pl

exposed to acute local UVB (3 MED; buttock skin). Four unirradiated volunteers served as the control group (group 4). Twenty four hours after final irradiation skin biopsies were taken in order to perform immunohistochemical analysis with assessment of epidermal expression of Ki-67 and β -catenin.

Results: A significantly higher number of epidermal Ki-67(+) cells was observed in the volunteers from groups 1, 2 and 3 than in the control group. The number of Ki-67(+) cells was significantly higher in group 2 than in 1, as well as in group 2 than in 3. β -Catenin expression was significantly lower in irradiated groups compared to the control group.

Conclusions: The obtained results suggest the role of UVB in impairment of cellular proliferation and adhesion. These phenomena are likely to be among the factors involved in photocarcinogenesis.

Key words: ultraviolet radiation, Ki-67, β -catenin, epidermal expression.

Wprowadzenie

Promieniowanie słoneczne jest najpowszechniejszym czynnikiem środowiskowym, oddziałującym na organizm ludzki. Spośród słonecznego ultrafioletu docierającego na powierzchnię Ziemi ok. 5% stanowi promieniowanie ultrafioletowe typu B (UVB), a 95% – promieniowanie ultrafioletowe typu A (UVA), które w porównaniu z UVB jest ok. 1000 razy mniej mutagenne [1]. Do odległych niekorzystnych działań promieniowania ultrafioletowego (*ultraviolet radiation* – UVR) zalicza się przyspieszone starzenie się skóry (*photoaging*) oraz rozwój nowotworów, głównie niemelanocytowych raków skóry. Zdolność UVR do indukowania tych procesów bez wątpienia wiąże się z jego właściwościami immunomodulującymi, prowadzącymi do zjawiska fotoimmunosupresji, a w konsekwencji do fotokancerogenezy [2, 3].

Markerem aktywności proliferacyjnej komórki jest antygen jądrowy Ki-67. Wykazano, że ekspresja Ki-67 pojawia się nieprzerwanie we wszystkich stadiach cyklu komórkowego z wyjątkiem fazy G₀, w której komórka pozostaje w stanie spoczynku. Komórki zatrzymane w cyklu komórkowym od G₀ do wczesnej fazy G₁ nie mają antygeny Ki-67 [4]. Dotychczas pojedyncze prace analizowały wpływ UVR na poziom ekspresji Ki-67. Edström i wsp. [5] odnotowali istotne zwiększenie ekspresji tego białka w skórze poddanej przewlekłej ekspozycji na małe dawki UVA-1. Autorzy sugerują, że promieniowanie to powoduje istotny wzrost aktywności proliferacyjnej komórki, oraz pośrednio wskazują, że małe nierumieniotwórcze dawki UVA-1 mogą powodować uszkodzenie DNA i dysregulację cyklu komórkowego.

Główną rolę w adhezji komórkowej odgrywa kompleks β -kateniny z kadheryną E, biorący również udział w regulacji prawidłowego przekazu sygnałów komórkowych. W komórkach prawidłowych ekspresję tej proteiny stwierdza się w obrębie błony komórkowej [6].

Kateniny stanowią podobne do siebie pod względem struktury białka cytoplazmatyczne, które metodą elektroforezy podzielono na formy α , β i γ . Pełnią one istotną funkcję w adhezji komórkowej oraz w organizacji cytoskieletu. Dodatkowo β -katenina bierze udział w regulacji ekspresji genów szlaku transdukcji sygnałów komórkowych zaangażowanych w proces onkogenezy. Prawidłowe komórki naskórka wykazują obecność tego białka

w obrębie błony komórkowej, podczas gdy w nowotworach dochodzi do dysregulacji jej ekspresji, polegającej na zmniejszeniu liczby komórek β -kateniny (+) bądź też na translokacji białka z błony komórkowej do cytoplazmy lub jądra. W badaniach ostatnich lat wskazuje się, że uszkodzenie prawidłowej funkcji kompleksu adhezyjnego E-kadheryna/ β -katenina w nowotworach prowadzi do ich większej agresywności i przerzutowości [7].

Wpływ UVR na procesy proliferacyjne i adhezję komórek nie jest w pełni poznany. Celem pracy była więc ocena ekspresji białka Ki-67 oraz β -kateniny w naskórku osób zdrowych poddanych ekspozycji na różne dawki UVR.

Materiał i metody

Materiał

W celu określenia wpływu zróżnicowanych dawek UVR na analizowane parametry oceniane metodą immunohistochemiczną do badań zakwalifikowano 26 zdrowych wolontariuszy (14 kobiet, 12 mężczyzn, średnia wieku 50,2 roku) z I–IV fototypem skóry ocenianym wg skali Fitzpatricka [8]. Każdy zdrowy ochotnik wyraził pisemną zgodę na udział w badaniu. Wolontariusze byli ogólnie zdrowi i nie przyjmowali żadnych leków. Do badania nie kwalifikowano osób, które 2 mies. przed rozpoczęciem eksperymentu korzystały z solarium bądź były poddane zwiększonej ekspozycji słonecznej.

Wolontariuszy podzielono na cztery grupy (grupy 1–4) w zależności od stosowanego schematu naświetlań. Dziesięciu zdrowych wolontariuszy naświetlano przewlekłymi i nierumieniotwórczymi dawkami UVB przez 10 kolejnych dni ($10 \times 0,7$ MED – całe ciało) i stanowiło grupę 1. Kolejnych 9 ochotników eksponowano przez 10 kolejnych dni na przewlekłe i nierumieniotwórcze dawki UVB ($10 \times 0,7$ MED – całe ciało), a następnie naświetlano aplikowaną miejscowo (10×10 cm, skóra pośladka) dużą dawką UVB (3 MED) – grupa 2.

Wolontariuszy z grupy 3. ($n = 4$) poddawano pojedynczej, miejscowo aplikowanej (skóra pośladka 10×10 cm) ekspozycji na rumieniotwórczą dawkę 3 MED. Dodatkowo 4 zdrowych ochotników (grupa 4.) stanowiło nienaświetlaną grupę kontrolną do przeprowadzonych analiz immunohistochemicznych. Od wszystkich ochotników

Tab. 1. Charakterystyka wolontariuszy

| Grupa | Liczba osób | Średni wiek [lata] | Płeć [K/M] | Fototyp | | | MED [J/cm ²] |
|-------|-------------|--------------------|------------|---------|-----|----|--------------------------|
| | | | | I/II | III | IV | |
| 1. | 9 | 51 | 5/4 | 5 | 3 | 1 | 0,11 |
| 2. | 9 | 42 | 5/4 | 4 | 5 | 0 | 0,12 |
| 3. | 4 | 66 | 2/2 | 2 | 2 | 0 | 0,12 |
| 4. | 4 | 42 | 2/2 | 1 | 2 | 1 | 0,13 |

K – kobiety, M – mężczyźni

z grup 1–4. pobierano wycinki skóry przy zastosowaniu sztancy o średnicy 4 mm. Poza grupą kontrolną (grupa 4.) biopsje skóry w grupach 1–3. pobierano 24 godz. po ostatnim naświetlaniu. Charakterystykę kliniczną pacjentów i wolontariuszy (grupy 1–4.) włączonych do analiz immunohistochemicznych przedstawiono w tab. 1.

Promieniowanie ultrafioletowe typu B

Źródło UVB generowały lampy 100W typu B12 (Philips, Eindhoven, Holandia), emitujące spektrum UVB w zakresie długości fali 285–340 nm. Natężenie promieniowania na powierzchni skóry przy odległości obiektu 20 cm od świetlówek wynosiło 3,85 mW/cm². Pomiaru natężenia dokonywano miernikiem typu UV meter (Typ I) (Waldmann Medizintechnik, Villingen-Schwenningen, Niemcy).

Miejscowe naświetlanie UVB (dawka 3 MED) i fototesty dla UVB wykonano przy zastosowaniu lampy UV 109 (Waldman Medizintechnik, Villingen-Schwenningen, Niemcy), emitującej UVB w zakresie 280–360 nm, przy maksimum emisji w paśmie 310 nm. Natężenie emitowanego promieniowania mierzono przy użyciu miernika promieni UV (Waldman Medizintechnik W, UV21, Villingen-Schwenningen, Niemcy) w spektrum 285–350 nm.

Próby świetlne

Fototesty wykonywano w grupach 1–4 w obrębie skóry pleców. Naświetlań dokonywano zwiększającymi się dawkami UVB w obrębie 6 pól o wymiarach 1 × 1 cm. Dawka wstępna określana na podstawie wywiadu, badania klinicznego i fototypu skóry wynosiła 0,01–0,09 J/cm². Najmniejszą dawkę UVR, która po 24 godz. powodowała jednolity, miernie nasilony rumień w całym naświetlanym

polu określono jako minimalną dawkę rumieniową (*minimal erythema dose* – MED).

Metodyka oznaczeń immunohistochemicznych

Pobrane tkanki umieszczano w 10-procentowym roztworze formaldehydu i zatapiano w parafinie, a następnie krojono na skrawki o grubości 2–3 μm, na których przeprowadzono odczyny immunohistochemiczne. Po odparafinowaniu w szeregu ksylenów i odwodnieniu w szeregu alkoholi, skrawki płukano w kilku zmianach wody destylowanej. W celu odzyskania antygenowości tkanek oraz otwarcia drogi dla przeciwciał skrawki gotowano w buforze odstaniającym o pH 6,9 lub 11 (Dako Cytomation, Target Retrieval Solution – TRS) w kuchenke mikrofalowej przy następujących poziomach mocy: 360 W (2 × 6 min), 180 W (2 × 5 min) i 90 W (2 × 5 min). Po wystudzeniu skrawki płukano 2-krotnie w 0,05-molowym buforze TRIS (Tris-buffered saline – TBS, Dako Cytomation) o pH 7,6 przez 5 min. W celu zablokowania aktywności endogennej peroksydazy skrawki inkubowano przez 30 min w 0,3-procentowym roztworze nadtlenku wodoru (H₂O₂). Następnie poddano je całonocnej inkubacji z pierwotnymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom – Ki-67 i β-katenina (tab. 2.). Przeciwciała pierwotne rozpuszczono w rozcieńczalniku zawierającym komponentę blokującą tło (Dako Cytomation, Antibody Diluent with Background Reducing Components). Inkubację przeprowadzono w komorze wilgotnej w temperaturze 4°C. Po inkubacji skrawki 2-krotnie płukano w buforze TBS, a następnie, aby uwidocznić reakcję antygen-przeciwciała, stosowano odpowiednie systemy detekcyjne EnVision/HRP/DAB+ dla mysich oraz króliczych przeciwciał pierwotnych (Dako Cytomation). Po 30-minutowej inkubacji skrawków z użyciem wtórnego przeciwciała

Tab. 2. Specyfikacja przeciwciał stosowanych w metodzie immunohistochemicznej

| Antygen | Klon | Rodzaj surowicy | Rozcieńczenie/rodzaj buforu odstaniającego | Producent |
|------------|-------|--------------------|--|-----------------|
| Ki-67 | NIB-1 | mysia monoklonalna | 1 : 200 TRS pH 6 | Dako Cytomation |
| β-katenina | 17C2 | mysia monoklonalna | 1 : 250 TRS pH 6 | Novocastra |

TRS – Target Retrieval Solution

znakowanego peroksydazą chrzanową, przeprowadzano reakcję enzymatyczną, stosując substrat dla peroksydazy – tetrachlorek 3,3'-diaminobenzydyny (DAB). Szczegółową charakterystykę stosowanych przeciwciał przedstawiono w tab. 3. Po zakończeniu reakcji immunohistochemicznej jądra komórkowe podbarwiano hematoksyliną wg Meyera (2 min), a następnie preparaty odwadniano w szeregu alkoholi o zwiększających się stężeniach, przeprowadzano przez szereg ksylenów i zatapiano w medium. Stosując powyżej opisaną procedurę immunohistochemiczną, kontrolę negatywną stanowiły skrawki, w których pierwotne przeciwciało zastąpiono buforem TBS. Następnie preparaty podbarwiano hematoksyliną, odparowywano i przykrywano szkiełkami nakrywkowymi. Liczbę komórek wykazujących ekspresję jądrową (Ki-67) i błonową (β -katenina) poszczególnych białek zliczano w powiększeniu 400 \times przy zastosowaniu programu komputerowego SIS analysis (Olympus, Japonia). U każdego ochotnika w naskórku obliczano średnią liczbę komórek z dodatnią ekspresją badanych białek na 100 analizowanych komórek w trzech różnych polach widzenia.

Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu oprogramowania Statistica v. 6.1. W celu porównań statystycznych, poza obliczeniem średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego, posłużono się obliczeniem mediany, dolnego i górnego kwartyla. Do oceny istotności różnic badanych parametrów między dwoma grupami zastosowano test U Manna-Whitneya. Za znamienne statystycznie poziomy istotności we wszystkich analizach przyjęto $p < 0,05$.

Wyniki

Białko Ki-67

W wycinkach pobranych od wolontariuszy naświetlanych przez 10 dni dawką 0,7 MED UVB (grupa 1.) liczba komórek wyrażona w medianach Ki-67(+) wynosiła 5,7/100 komórek, u wolontariuszy z grupy 2. – 11,3/100 komórek, z grupy 3. – 6,3/100 komórek. W grupie kontrolnej stwierdzono najmniejszą liczbę komórek Ki-67(+) – 3,5/100 komórek (tab. 3., ryc. 1.).

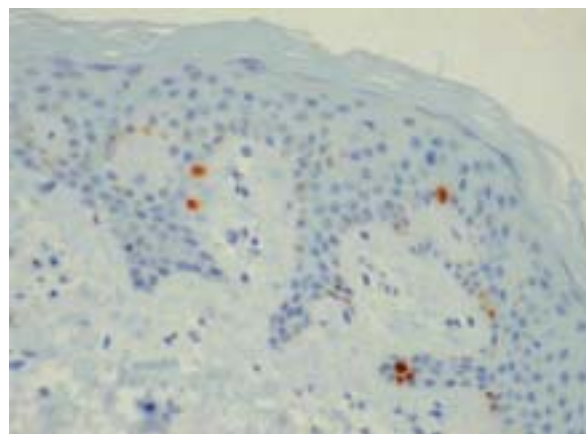
Analizując liczbę komórek Ki-67 (+) w poszczególnych grupach, wykazano istotnie statystycznie większą ich liczbę w wycinkach pobranych w grupach 1.–3. (odpowiednio $p = 0,48$, $p = 0,003$, $p = 0,04$) w porównaniu z grupą kontrolną. Odnotowano także istotnie większą liczbę komórek Ki-67(+) w grupie 2. niż w grupie 1. ($p < 0,001$), a także w grupie 2. niż w grupie 3. ($p = 0,006$).

β -Katenina

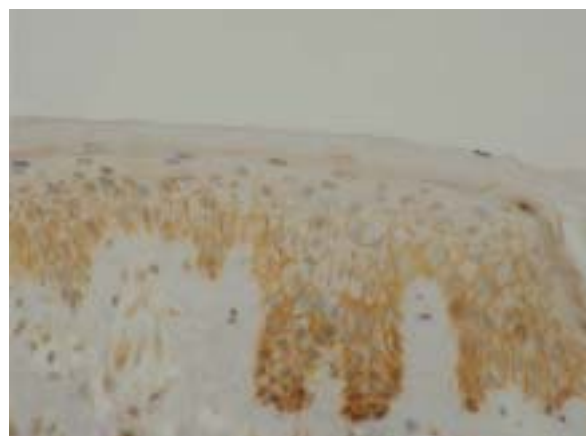
W wycinkach pobranych od wolontariuszy z grupy 1. liczba komórek z ekspresją β -kateniny wyrażona jako mediana wynosiła 95/100 komórek, z grupy 2. – 96,5/100 ko-

Tab. 3. Liczba komórek wykazujących ekspresję analizowanych białek wyrażona w medianach w grupach naświetlanych (grupa 1.–3.) i w grupie kontrolnej (grupa 4.)

| Grupa | Parametr | Białko Ki-67 | β -katenina |
|---|----------------|--------------|-------------------|
| 1. (10 \times 0,7 MED UVB) | mediana | 5,7 | 95 |
| | dolny kwartyl | 4,7 | 94 |
| | górnny kwartyl | 6,7 | 96 |
| 2. (10 \times 0,7 MED UVB + 3 MED) | mediana | 11,3 | 96,5 |
| | dolny kwartyl | 10,3 | 95 |
| | górnny kwartyl | 14,7 | 99 |
| 3. 3 MED | mediana | 6,3 | 95,7 |
| | dolny kwartyl | 4,9 | 87 |
| | górnny kwartyl | 7,4 | 97,5 |
| 4. kontrolna | mediana | 3,5 | 100 |
| | dolny kwartyl | 2,5 | 100 |
| | górnny kwartyl | 4,5 | 100 |



Ryc. 1. Ekspresja białka Ki-67 w grupie 2. (10 \times 0,7 MED UVB + 3 MED) (powiększenie 400 \times)



Ryc. 2. Ekspresja β -kateniny w grupie 2. (10 \times 0,7 MED UVB + 3 MED) (powiększenie 400 \times)

mórek, z grupy 3. – 95,7/100 komórek, a w grupie kontrolnej – 100/100 komórek (tab. 3., ryc. 2.).

Analizując liczbę komórek wykazujących ekspresję β -kateniny w poszczególnych grupach w odniesieniu do grupy kontrolnej, wykazano istotnie mniejszą ich liczbę w wycinkach pobranych od osób z grup 1.–3. ($p < 0,05$ dla wszystkich porównań).

Nie stwierdzono różnic między ekspresją β -kateniny między naświetlanymi grupami ($p > 0,05$ dla wszystkich porównań).

Omówienie wyników

Antygen jądrowy Ki-67 jest wyznacznikiem aktywności proliferacyjnej komórki, a ocena poziomu jego ekspresji może być wykorzystywana w celu określenia populacji komórek będących w fazie wzrostu [4]. Wykazano, że antygenowa ekspresja tego markera proliferacji wzrasta w kolejnych fazach cyklu komórkowego, osiągając największą ekspresję w fazie G2 i M [9].

Stwierdzono również istotny wzrost markerów różnicowania i proliferacji, w tym białka Ki-67, w skórze zdrowych wolontariuszy poddanej ekspozycji na UVB i odnotowano, że nasilenie ekspresji tych białek koreluje pozytywnie z wielkością dawki jednostkowej, ale także z dawką kumulacyjną UVB [10]. Carpenter i wsp. [11], analizując ekspresję antygeny Ki-67 i białka p53 w zmianach o typie rogowacenia słonecznego oraz w skórze uszkodzonej przez UVR, wykazali istotne jej nasilenie w tych dwóch grupach w porównaniu z nienaświetlaną grupą kontrolną.

W badaniu Gambicher i wsp. [12] analizowano wpływ dużych rumieniotwórczych dawek (3 MED) UVB oraz UVA-1 na naskórkową ekspresję białek proliferacyjnych (Ki-67, inwolukryna) oraz adhezyjnych (E-kadheryna oraz koneksyna 43). Wykazano istotnie większą ekspresję antygeny Ki-67 oraz inwolukryny przy jednoczesnym zmniejszeniu ekspresji E-kadheryny w skórze poddanej naświetlaniu UVB w porównaniu ze skórą naświetlaną UVA-1 i skórą nienaświetlaną. Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy sugerowali, że ekspozycja na duże dawki UVB istotnie zaburza ekspresję białek zaangażowanych w procesy proliferacji i adhezji komórkowej, pośrednio tłumacząc ich rolę w indukowaniu procesu zapalnego, a także rozwoju i progresji nowotworów skóry.

Podobne obserwacje uzyskano w badaniach własnych, ponieważ we wszystkich naświetlanych grupach stwierdzono istotnie większą liczbę komórek Ki-67(+) niż w grupie kontrolnej, jednak najsilniejszą statystycznie różnicę w ekspresji tego antygeny zaobserwowano w grupie 2. (10 × 0,7 MED + 3 MED UVB). Zwiększonej proliferacji pod wpływem ekspozycji na UVR towarzyszy zwiększona ekspresja COX-2 w komórkach warstwy podstawnej naskórka, która ma zdolność regulacji, aktywacji białka p53 i hamowania procesu apoptozy komórek z uszkodzonym DNA [13]. Obserwacje te wskazują na udział dawki kumulacyjnej UVB w indukowaniu nadmiernej aktywności proliferacyjnej komórki i pośred-

nio mogą świadczyć o rozwoju zjawisk, które w konsekwencji mogą prowadzić do fotokancerogenezy.

W badaniach własnych za pomocą metod immunohistochemicznych badano również ekspresję β -kateniny, uzyskując istotnie mniejszą liczbę komórek β -kateniny (+) (odczyn błonowy) we wszystkich grupach naświetlanych, co jest zgodne z obserwacjami innych autorów [12].

W badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* na hodowli keratynocytów, HaCaT wykazano, że naświetlania UVB przyczyniają się do proteolitycznego rozszczepienia kompleksu adhezyjnego E-kadheryna/ β i γ -katenina, co w konsekwencji może prowadzić do zaburzenia integralności skóry [14].

Dotychczas nie badano wpływu UVR na ekspresję tej proteiny w zdrowej skórze. Jedynie Demirkan i wsp. [15] oceniali obecność tego białka, ale w zmianach melanocytowych, zlokalizowanych na skórze przewlekłe ekspozowanej na UVR. W badaniach tych stwierdzono istotnie mniejszą ekspresję β -kateniny w zmianach ekspozowanych przewlekłe na UVR w stosunku do wykwitów chorobowych zlokalizowanych na skórze nienarażonej na przewlekłe działanie promieniowania słonecznego.

W badaniach własnych analizowano wpływ UVR na ekspresję tego białka w zdrowej skórze. Obserwowane zależności potwierdzają wyniki uzyskane przez tych autorów [15]. Świadczy to, że aplikowane dawki UVB mają zdolność do zaburzenia procesów adhezji komórkowej oraz dysregulacji szlaków przekazywania sygnałów komórkowych, które są zaangażowane w proces skórnej kancerogenezy.

Uzyskane wyniki oraz obserwacje innych autorów sugerują istotny udział UVB w zaburzeniu procesów proliferacyjnych, a także ich zdolność do uszkodzenia integralności naskórka. Obserwowane zjawiska są prawdopodobnie jednymi z elementów biorących udział w fotokancerogenezie, ale również ze względu na rozluźnienie połączeń międzykomórkowych odgrywają rolę w inwazyjności procesu nowotworowego.

Praca finansowana z funduszy statutowych Uniwersytetu Medycznego nr 503-1-1019-1 oraz pracy własnej nr 502-11-725

Piśmiennictwo

1. Drobetsky EA, Turcotte J, Châteauneuf A. A role for ultraviolet A in solar mutagenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 2350-4.
2. Garssen J, van Loveren H. Effects of ultraviolet exposure on the immune system. *Crit Rev Immunol* 2001; 21: 359-97.
3. Norval M, McLoone P, Lesiak A, Narbutt J. The effect of chronic ultraviolet radiation on the human immune system. *Photochem Photobiol* 2008; 84: 19-28.
4. Klein CL, Wagner M, Kirkpatrick CJ, Van Kooten TG. A new quantitative test method for cell proliferation based on detection of the Ki-67 protein. *J Mater Sci Mater Med* 2000; 11: 125-32.
5. Edström DW, Porwit A, Ros AM. Effects on human skin of repetitive ultraviolet-A1 (UVA1) irradiation and visible light. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2001; 17: 66-70.

6. Saldanha G, Ghura V, Potter L, Fletcher A. Nuclear beta-catenin in basal cell carcinoma correlates with increased proliferation. *Br J Dermatol* 2004; 151: 157-64.
7. Fukumaru K, Yoshii N, Kanzaki T, Kanekura T. Immunohistochemical comparison of beta-catenin expression by human normal epidermis and epidermal tumors. *J Dermatol* 2007; 34: 746-53.
8. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988; 124: 869-71.
9. Sasaki K, Murakami T, Kawasaki M, Takahashi M. The cell cycle associated change of the Ki-67 reactive nuclear antigen expression. *J Cell Physiol* 1987; 133: 579-84.
10. Lee JH, An HT, Chung JH, et al. Acute effects of UVB radiation on the proliferation and differentiation of keratinocytes. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2002; 18: 253-61.
11. Carpenter PM, Linden KG, McLaren CE, et al. Nuclear morphometry and molecular biomarkers of actinic keratosis, sun-damaged, and nonexposed skin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 1996-2002.
12. Gambichler T, Rotterdam S, Tigges C, et al. Impact of ultraviolet radiation on the expression of marker proteins of gap and adhesion junctions in human epidermis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2008; 24: 318-21.
13. Tripp CS, Blomme EA, Chinn KS, et al. Epidermal COX-2 induction following ultraviolet irradiation: suggested mechanism for the role of COX-2 inhibition in photoprotection. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 853-61.
14. Hung CF, Chiang HS, Lo HM, et al. E-cadherin and its downstream catenins are proteolytically cleaved in human HaCaT keratinocytes exposed to UVB. *Exp Dermatol* 2006; 15: 315-21.
15. Demirkan NC, Kesen Z, Akdag B, et al. The effect of the sun on expression of beta-catenin, p16 and cyclin d1 proteins in melanocytic lesions. *Clin Exp Dermatol* 2007; 32: 733-9.