



Jeļena Moisejenko-Goluboviča

# **Bazālo šūnu karcinomas patoģenēzes un lokālo recidīvu attīstības īpatnības galvas un kakla rajonā**

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda  
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes  
Nozare – klīniskā medicīna  
Apakšnozare – dermatoloģija un veneroloģija

Rīga, 2023



RĪGAS STRADIŅA  
UNIVERSITĀTE

Jeļena Moisejenko-Goluboviča

ORCID 0000-0001-5246-1552

Bazālo šūnu karcinomas patoģenēzes  
un lokālo recidīvu attīstības īpatnības  
galvas un kakla rajonā

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda  
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – dermatoloģija un veneroloģija

Rīga, 2023

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Latvijā

Promocijas darba vadītājas:

*Dr. habil. med.* profesore **Valērija Groma**,  
RSU Morfoloģijas katedra, RSU AAI Starpkatedru elektronmikroskopijas  
laboratorija, Latvija

*Dr. med.* docente **Anna Ivanova**,  
RSU Mutes, sejas un žokļu ķirurģijas katedra, Latvija

Oficiālie recenzenti:

*Dr. habil. med.* profesore **Ingrīda Čēma**,  
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

*Dr. med.* profesore **Skaidra Valiukevičiene**,  
Lietuvas veselības zinātņu universitāte

*Dr. habil. med.* akadēmiķe **Jekaterina Ērenpreisa**,  
Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

Promocijas darbs tiks aizstāvēts klīniskās medicīnas promocijas padomes  
atklātā sēdē 2023. gada 28. novembrī plkst. 15.00 Hipokrāta auditorijā,  
Dzirciema ielā 16, Rīgas Stradiņa universitātē un attālināti, tiešsaistes  
platformā *Zoom*

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:  
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretāre:

*Dr. med.* profesore **Ilona Hartmane**

## Satura rādītājs

Darbā izmantotie saīsinājumi.....	5
Ievads.....	7
Darba aktualitāte .....	7
Darba mērķis .....	8
Darba uzdevumi .....	8
Darba hipotēze .....	9
Darba novitāte .....	9
Mērķa populācija.....	10
Materiāli tehniskais nodrošinājums.....	10
Personīgais ieguldījums .....	10
Ētiskie aspekti .....	11
1. Literatūras apskats.....	12
1.1. Bazālo šūnu karcinomas epidemioloģija .....	12
1.2. Bazālo šūnu karcinomas riska faktori .....	12
1.3. Bazālo šūnu karcinomas klīniskā un morfoloģiskā aina .....	12
1.4. Bazālo šūnu karcinomas patogēnēze .....	13
1.5. D vitamīna nozīme bazālo šūnu karcinomas patogēnēzē.....	14
1.7. Bazālo šūnu karcinomas ārstēšana.....	15
2. Materiāli un metodes.....	16
2.1. Mērķpopulācija un bazālo šūnu karcinomas pacientu atlasē kritēriji .....	16
2.2. Laboratoriska D vitamīna līmeņa noteikšana asins serumā .....	16
2.3. Dermatoskopiskā bazālo šūnu karcinomas diagnostika, tās novērtēšanas kritēriji.....	17
2.4. Histopatoloģijas metodes .....	17
2.6. Caurstarojošās elektronmikroskopijas metode .....	19
2.7. Statistiskā datu analīze.....	20
3. Rezultāti .....	21
3.1. BŠK pacientu klīniskās izmeklēšanas analīzes rezultāti .....	21
3.2. BŠK histopatoloģisko tipu biežuma un anatomiskās lokalizācijas analīze .....	22
3.3. Dermatoskopiskās izmeklēšanas rezultāti.....	25
3.4. D vitamīna līmeņa noteikšana un analīze asins serumā .....	28

3.5. BŠK audu paraugu histopatoloģija, audzēja marķieru ekspresijas imūnhistoķīmiskā analīze .....	33
3.5.1. IV tipa kolagēna un laminīna ekspresijas imūnhistoķīmiskā analīze.....	34
3.5.2. <i>a</i> -GMA, PDPN un SHh ekspresijas imūnhistoķīmiskā analīze.....	37
3.5.3. DVP un SHh korelatīvā imūnhistoķīmiskā analīze zema un augsta riska BŠK.....	44
3.6. BŠK uzbūves ultrastrukturālā analīze .....	48
4. Diskusija .....	50
Secinājumi .....	58
Praktiskās rekomendācijas .....	60
Publikācijas un prezentācijas par pētījuma tēmu .....	61
Literatūras saraksts .....	63
Pateicības .....	72
Pielikums .....	73
RSU Ētikas komitejas lēmums .....	74

## Darbā izmantotie saīsinājumi

Saīsinājums	Skaidrojums latviešu valodā	Nosaukums angļu valodā
AAVK	Amerikas Apvienotā vēža komiteja	<i>American Joint Cancer Committee (AJCC)</i>
<i>a</i> -GMA	Alfa-gludo muskuļu aktīns ( <i>a</i> -GMA)	<i>Alpha-smooth muscle actin (a-SMA)</i>
5-ALS	5-aminolevulīnskābe	<i>5-aminolevulinic acid (ALA)</i>
AM	Audzēja mikrovide	<i>Tumour microenvironment (TME)</i>
ASV PZP	ASV Pārtikas un zāļu pārvalde	<i>The United States Food and Drug Administration (FDA)</i>
ĀPK	Ādas plakanšūnu karcinoma	<i>Cutaneous squamous cell carcinoma</i>
BM	Bazālā membrāna	<i>Basement membrane</i>
BŠK	Bazālo šūnu karcinoma	<i>Basal cell carcinoma (BCC)</i>
CE	Citohroma enzīmi	<i>Cytochrome enzymes (CYP)</i>
CPP	Cinka pirkstu proteīns jeb ar gliomu saistītais onkogēns	<i>Zinc finger protein (GLI) or glioma-associated oncogene</i>
3'-DAB	3'-diaminobenzidīns	<i>3'-diaminobenzidine</i>
7-DHH	7-dehidroholesterols	<i>7-dehydrocholesterol (7- DHC)</i>
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DVP	D vitamīna saistošais proteīns	<i>Vitamin D binding protein (VDP)</i>
DVR	D vitamīna receptors	<i>Vitamin D receptor (VDR)</i>
EM	Elektronmikroskopija	<i>Electron microscopy</i>

IHK	Imūnhistoķīmija	<i>Immunohistochemistry (IHC)</i>
MAL	Metilaminolevulināts	<i>Methyl aminolevulinate</i>
PDPN	Podoplanīns	<i>Podoplanin</i>
PTCH1	Proteīnlabota homologa 1 gēns	<i>Protein patched homolog 1 gene</i>
RRRBR $\alpha$	Retīnskābes receptoram radniecīgais bāreņa receptors $\alpha$	<i>Retinoic acid receptor-related orphan receptor <math>\alpha</math> (ROR<math>\alpha</math>)</i>
RRRBR $\gamma$	Retīnskābes receptoram radniecīgais bāreņa receptors $\gamma$	<i>Retinoic acid receptor-related orphan receptor <math>\gamma</math> (ROR <math>\gamma</math>)</i>
SDVSP	Starptautiskā D vitamīna standartizācijas programma	<i>International Vitamin D Standardization Program (VDSP)</i>
SHh	<i>Sonic Hedgehog</i> proteīns	<i>Sonic Hedgehog protein</i>
SHNP	Savienotā homologa nomācējproteīns	<i>Suppressor of fused homolog (SUFU) protein</i>
SMO	<i>Smoothened</i> gēns	<i>Smoothened gene</i>
SPKC	Slimību profilakses un kontroles centrs	<i>Center of disease prevention and control</i>
SVKV	Starptautiskā vēža kontroles savienība	<i>Union for International Cancer Control (UICC)</i>
TNM	Starptautiskā ļaundabīgo audzēju klasifikācija	<i>Classification of Malignant Tumours</i>
UVA	Ultravioletie A stari	<i>Ultraviolet A</i>
UVB	Ultravioletie B stari	<i>Ultraviolet B</i>
UV	Ultravioletais starojums	<i>Ultraviolet radiation (UVR)</i>
PVO	Pasaules Veselības organizācija	<i>World Health Organization (WHO)</i>

# Ievads

## Darba aktualitāte

Onkoloģijas problēmas vienmēr ir bijušas visu specialitāšu ārstu uzmanības lokā. Ļaundabīgo audzēju sastopamības biežums pasaulē turpina pieaugt (Sung et al., 2021; Niculet et al., 2022). Pēdējos gados arvien vairāk klīnicistu un morfoloģu gan mūsu valstī, gan ārvalstīs pievērš uzmanību ādas bazālo šūnu karcinomai (BŠK) (Niculet et al., 2022; Derjabo, 2011). Cilvēka ļaundabīgo audzēju klāstā BŠK ieņem trešo vietu pēc izplatības biežuma aiz kuņģa un plaušu vēža, un tās īpatsvars starp ādas audzējiem veido no 50 līdz 90 % (Montagna et al., 2017). Pēdējos gados ievērojams BŠK sastopamības pieaugums ir reģistrēts daudzās valstīs, turklāt audzējs pārsvarā tiek noteikts Eiropas iedzīvotājiem ar I un II ādas fototipu pēc Ficpatrika (*Fitzpatrick*) skalas, kam mūža garumā BŠK risks pieaug līdz pat ~ 30 % (Verkouteren et al., 2017; Bauer et al., 2020; Muzic et al., 2017). Ādas vēzis arī Latvijā ieņem trešo vietu starp visām reģistrētām ļaundabīgām slimībām, un, pēc SPKC datiem, saslimstībai ar BŠK un ādas plakanšūnu (ĀPK) vēzi ik gadu ir vērojama tendence pieaugt (SPKC datubāze 2010–2019, pēdējo reizi atjaunināts 31.10.2023.).

BŠK histopatogēnēzes un ļaundabīguma pakāpes jautājumi joprojām raisa lielas diskusijas. Lielākajai pētnieku grupai ir stingrs priekšstats, ka BŠK ar lokāli destruktīvu augšanu un zemu metastātisku potenciālu ierindojas starp labdabīgām un ļaundabīgām neoplazmām. Tomēr pasaules literatūrā ir aprakstīti metastātiskā bazālo šūnu vēža gadījumi ar biežumu 0,0028–0,5 % (Lau et al., 2018).

Jāatzīmē, ka Latvijā izmanto modificēto Starptautisko histoloģisko klasifikāciju, ir izstrādātas klīniskas vadlīnijas par BŠK diagnostiku un ārstēšanu, taču nav vienotas pieejas, kas speciālistiem apgrūtinā pareizu un savlaicīgu ārstēšanas metodes izvēli pacientam. Jāatzīmē, ka vēl neatrisināta



problēma ir dažu BŠK biežās recidivēšanas iemeslu noskaidrošana, jo, neskatoties uz jaunām ārstēšanas metodēm, pasaulē joprojām tiek novērots augsts BŠK recidīvu skaits un audzēja rezistence pret jaunākās paaudzes ķīmijterapiju. Tādēļ audzēja patoģenēzes un recidīvu izraisošo faktoru izpēte ir aktuāls medicīnas un onkoloģijas pētniecības virziens.

Ņemot vērā iepriekš minēto, joprojām aktuāla ir detalizēta BŠK klīniskā un morfoloģiskā izpēte, kompleksi izmantojot klīniskās diagnostikas un morfoloģiskās analīzes metodes.

## **Darba mērķis**

Darba mērķis ir noskaidrot galvas un kakla rajona ādas primāras un recidivējošas BŠK klīniskās, dermatoskopiskās un morfoloģiskās īpatnības, raksturot pacientu D vitamīna statusu un izpētīt D vitamīna nozīmi galvas un kakla rajona BŠK attīstībā.

## **Darba uzdevumi**

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Ievākt un analizēt galvas un kakla rajona ādas primāro un recidivējošo BŠK rekrutēto pacientu klīniskos datus, raksturot klīniskās gaitas īpatnības.
2. Veikt galvas un kakla rajona ādas BŠK dermatoskopisko izmeklēšanu, izmantojot dermatoskopu *Dermlite DL3N* ar *PigmentBoost* funkciju, analizēt audzēja dermatoskopiskos parametrus un novērtēt to nozīmi augsta riska BŠK noteikšanā.
3. Izpētīt un novērtēt izmaiņas audu un šūnu līmenī dažādos BŠK apakštipos, izmantojot metožu kompleksu, kas ietver rutīnas histopatoloģiju, imūnhistoķīmiju un elektronu mikroskopiju.

4. Izpētīt D vitamīna statusu pacientiem ar galvas un kakla rajona ādas primāro un recidivējošo BŠK, nosakot tā līmeni asins serumā, kā arī D vitamīna saistošā proteīna ekspresiju audzēja audos, noteikt iespējamo saikni ar audzēja attīstību.
5. Analizēt Latvijas BŠK pacientu kohortas klīniskos, molekulāro marķieru ekspresijas un D vitamīna līmeņa datus, lietojot to analīzei klasterizācijas metodi.

### **Darba hipotēze**

1. Dermatoskopiskā un morfoloģiskā izvērtēšana nepieciešama efektīvai BŠK ārstēšanai un audzēja recidīva riska mazināšanai.
2. SHh signālceļam ir nozīme BŠK patoģenēzē, tam iesaistoties audzēja un tā mikrovides transformācijas procesos.
3. Agresīvu BŠK formu prevalence saistās ar zemu D vitamīna līmeni populācijā.

### **Darba novitāte**

Šajā pētījumā pirmo reizi apkopoti galvas un kakla rajona ādas primāras un recidivējošas BŠK pacientu gan klīniskie, gan dermatoskopiskie un morfoloģiskie dati, kā arī veikta audzēja recidivēšanas kontrole pēcooperācijas periodā divu gadu garumā. Turklāt visiem galvenajiem BŠK morfoloģiskajiem tipiem imūnhistoķīmiski tika izvērtēti audzēja 1) vietējai agresivitātei, 2) invazivitātei un 3) recidivēšanai nozīmīgi marķieri, tostarp IV tipa kolagēns, laminīns, alfa-gludo muskuļu aktīns (*α*-GMA), podoplanīns (PDPN), un *Sonic Hedgehog* (SHh) proteīns.

Papildus pētījumā iekļautajiem pacientiem tika analizēts D vitamīna līmenis asins serumā, pirmo reizi vienlaikus nosakot D vitamīna saistošā proteīna (DVP) ekspresiju audzēja audos. Lai noteiktu iegūto rezultātu galvenās

apakškopas, pirmo reizi tika izmantota mašīnmācīšanās hierarhiskās klasterizācijas metode.

## **Mērķa populācija**

No 2016. gada 1. septembra līdz 2019. gada 1. septembrim pētījumā tika iekļauti septiņdesmit deviņi pacienti, kuriem Rīgas Stradiņa universitātē, Stomatoloģijas institūtā, Mutes, sejas un žokļu ķirurģijas nodaļā, un Latvijas Onkoloģijas centrā tika veikta galvas un kakla BŠK diagnosticēšana un ārstēšana. Kopumā tika reģistrētas 46 sievietes un 33 vīrieši. Pacientu vecuma diapazons bija 32–95 gadi. Pēc operācijas pacienti tika novēroti 24 mēnešus recidīva agrīnai atklāšanai un ārstēšanai. Tika iegūti un pētīti pacientu klīniskie dati, veikta jaunveidojumu klīniskā un dermatoskopiskā analīze, noteikta to anatomiskā lokalizācija.

## **Materiāli tehniskais nodrošinājums**

Pētījumā lietoti materiāli tehniskie līdzekļi, izmantojot Rīgas Stradiņa universitātes AAI Starpkatedru elektronmikroskopijas laboratorijas, Rīgas Stradiņa universitātes doktora studiju un *Roche Latvia* granta sniegtās iespējas.

## **Personīgais ieguldījums**

Promocijas darba autore veica: pētījuma plānošanu, literatūras ievākšanu un analīzi, pacientu klīnisko un dermatoskopisko datu ievākšanu un analīzi, imūnhistoķīmisko marķieru izvēli, pamatojoties uz literatūras analīzi par izpētes tēmu, pēcoperācijas periodā pacientu kontroli, imūnhistoķīmisko reakciju rezultātu mikroskopisko analīzi audu paraugos, audu griezumumu analīzi elektronu mikroskopā, darbā izmantoto attēlu iegūšanu un to apstrādi, izstrādāja promocijas darbā izmantotus attēlus. Kopā ar darba vadītāju *Dr. med.* docenti

Annu Ivanovu ieguva audzēja materiālu, asistējot pacientu ķirurģisko operāciju laikā.

### **Ētiskie aspekti**

Pētījuma veikšanai saņemta Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauja 2016. gada 8. septembrī (skat. pielikumā).

# 1. Literatūras apskats

## 1.1. Bazālo šūnu karcinomas epidemioloģija

BŠK ir visizplatītākais ļaundabīgais ādas audzējs, kas attīstās no epidermas bazālā slāņa šūnām, un tā saslimstība ar katru gadu pieaug visā pasaulē (Sung et al., 2021; Rubin et al., 2005; Carruci et al., 2008). BŠK veido līdz 80 % no reģistrētajiem nemelanocitārā tipa audzējiem. Eiropas populācijā audzējs galvenokārt skar personas ar I un II ādas fototipu, kam ir 30 % BŠK attīstības risks dzīves laikā (Muzic et al., 2017; Abbas et al., 2016; Nolan et al., 2020). Līdz pat 80 % gadījumu BŠK attīstās galvas un kakla ādas rajonā (Ghafouri-Fard et al., 2010; Goh et al., 2010). Pēc starptautiskajiem aprēķiniem, ar BŠK saistītā mirstība ir diezgan zema – 1 gadījums uz 100 tūkstošiem (Muzic et al., 2017; Abbas et al., 2016).

## 1.2. Bazālo šūnu karcinomas riska faktori

Noteiktas BŠK etioloģijas nepastāv, taču ir nozīmīgi BŠK attīstības riska faktori: ilgstoša atrašanās saulē un bieži saules apdegumi, gaišais ādas tips, vīriešu kārtas dzimums, apstarojums, ādas vēži ģimenes anamnēzē, noteiktu grupu medikamentu (tetraciklīnu grupas antibiotikas, bioloģiskie medikamenti, piemēram, metotreksāts) lietošana un imūnās sistēmas nomākšana (McDaniel et al., 2021). Daži iedzimti sindromi (*Gorlin-Goltz, Bazeka, Rombo* sindroms) izraisa multiplu BŠK veidošanos.

## 1.3. Bazālo šūnu karcinomas klīniskā un morfoloģiskā aina

Klīniski un morfoloģiski BŠK var izpausties kā virspusēja, mezglaina jeb nodulāra, infiltratīva, pigmentēta un jaukta, kā arī kā šo formu apakštīpi (Koyuncuer, 2014). Visbiežāk klīniski izpaužas kā lēni augošs ādas krāsas

mezgls vai eritematozs plankums ar eroziju vai izčūlojumu virsmā, ar pigmentu vai arī bez tā.

BŠK mikroskopiskā struktūra ir tikpat daudzveidīga kā makroskopiskā. Audzēja epiteliālo izcelsmi noteica E. Krompehers (1903), identificējot solidās jeb nodulārās, adenoidās, cistiskās, hialinizētās, parakeratotiskās un miksomatozās ādas BŠK formas. Savukārt V. Lēvers (1948, 1961) identificēja nediferencētas un diferencētas ādas BŠK formas.

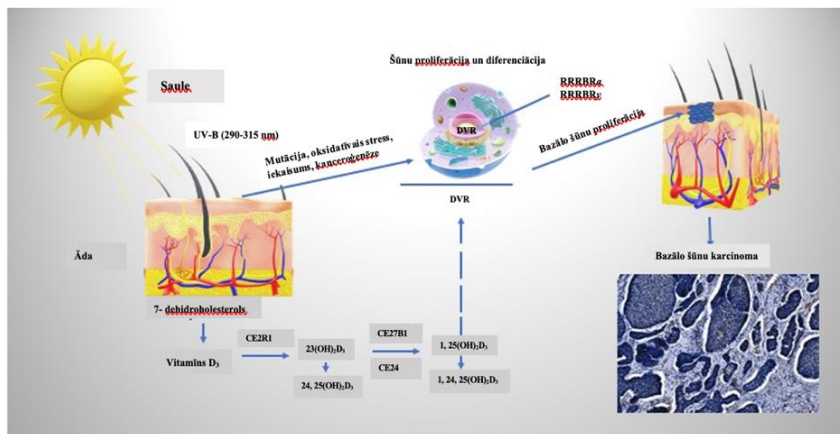
Ņemot vērā šādas lielas morfoloģiskās BŠK variācijas un to nozīmi kā prognostiskam faktoram, ir ļoti svarīga pareiza audzēja tipa interpretācija atbilstoši Starptautiskajai histoloģiskajai klasifikācijai (The 2022 edition of ICD-10-CM C44.91). BŠK stadijas noteikšanai jāizmanto pašreizējā 8. versija Amerikas Apvienotās vēža komitejas (AAVK) / Starptautiskās vēža kontroles savienības (SVKS) starptautiskās audzēja stadijas klasifikācijai (TNM) (Amin et al., 2017; Keohane et al., 2018; Brierley et al., 2019).

#### **1.4. Bazālo šūnu karcinomas patoģenēze**

BŠK attīstībā nozīmīga ir gan ārvides faktoru ietekme, gan pacienta organisma īpašības. SHh morfogēns ir būtisks dažādu šūnu procesu regulatori embriogēzes un pieaugušā dzīves laikā. Audzēja attīstības gadījumā aberanta SHh signālceļa aktivācija notiek vai nu signālceļa molekulu mutācijas dēļ (t. i., neatkarīgi no liganda), vai SHh pastiprinātas ekspresijas dēļ (atkarīgi no liganda) (Evangelista et al., 2006; Karhadkar et al., 2004; Sanchez et al., 2004; Berman et al., 2003). SHh ligandi saistās ar transmembrānas receptoru PTCH1, kurš regulē *Hedgehog* kompleksa aktivitāti. Visizplatītākās mutācijas ir PTCH1 inaktivējošās mutācijas vai SMO aktivizējošās mutācijas (Kim et al., 2019; Caro et al., 2010). BŠK gadījumā mutācijas PTCH1 ekspresijā novērš reakciju uz šūnas cikla kontrolpunktu (*checkpoint*) ciklīnu B1 un veicina CPP aktivāciju (Hanna et al., 2016; Celebi et al., 2016).

## 1.5. D vitamīna nozīme bazālo šūnu karcinomas patoģenēzē

Mūsdienās D vitamīns ir atzīts par hormonāli aktīvu lipīdos šķīstošu vitamīnu ar daudzām funkcijām, kas saistītas ar cilvēka organisma fizioloģisko procesu sarežģīto regulēšanu (Bijlsma et al., 2006; Lehmann, 2009). Cilvēku un dzīvnieku ādā D<sub>3</sub> vitamīna (holekalciferola) sintēze notiek no 7-dehidrohlosterola (7-DHH) ultravioleto B staru ar viļņa garumu no 290 līdz 315 nm ietekmē (1.1. attēls).



1.1. attēls. D vitamīna metabolisms un sintēze

UVB staru ietekmē D<sub>3</sub> vitamīna sintēzes process notiek keratinocītos, kas satur CE enzīmus. Tie ir nepieciešami D<sub>3</sub> vitamīna prekursora, 7-dehidrohlosterola fotoķīmiskai pārvēršanai aktīvajā formā (kalcitriols 1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>). D vitamīna hidroksiatvasinājumu aktivitātes ir saistītas ar kodolreceptora ligandu saistošā domēna DVR iesaistīšanos. Turklāt D<sub>3</sub> vitamīns ir iesaistīts gan veselu, gan ar BŠK ietekmētu keratinocītu bioloģisko funkciju un gēnu ekspresijas regulēšanā, ko veicina RRRBR α un γ kodolreceptoru klātbūtne. **Saīsinājumi:** UVB, ultravioletais B; DVR, D vitamīna receptors; RRRBRα un γ, ar retīnskābi saistītie reti sastopamie receptori α un γ; BŠK, bazālo šūnu karcinoma.

Uzkrātie dati liecina, ka D vitamīna spēja nomākt SHh signālceļa aktivāciju izskaidro tā aizsargājošo darbību BŠK gadījumā (Asakura et al., 2020; Mahamat-Saleh et al., 2020). Viens no aprakstītajiem D<sub>3</sub> vitamīna darbības

mehānismiem ir 1,25(OH)<sub>2</sub>D izraisīta DVR transkripcijas aktivācija ar rezultējošu keratinocītu diferenciācijas uzlabošanu un šūnu proliferācijas samazināšanu (Moisejenko-Golubovica et al., 2021; Mahamat-Saleh et al., 2020).

## **1.6. Bazālo šūnu karcinomas instrumentālā izmeklēšana**

Dermatoskopija (epiluminiscentā mikroskopija) ir *in vivo* metode, kas ļauj veikt ādas veidojumu diferenciālo diagnostiku un agrīni noteikt ādas audzējus – BŠK, plakanšūnu karcinomu un melanomu, kā arī diferencēt tos no citām ādas slimībām (Lallas et al., 2015). Izmeklējums tiek veikts, balstoties uz daudzošu algoritmiem. Dermatoskopiskie BŠK diagnostiskie kritēriji ietver arborizējošo asinsvadu klātbūtni; īsas, smalkas teleangiektāzijas; kļavas lapām līdzīgas struktūras; lielas, zilganpelēkas olveida ligzdas; baltas svītras; izčūlojumu; vairākas nelielas erozijas; spīdīgus, baltus laukumus; fokusētus punktus; pienaini rozīgus līdz sarkanīgus laukumus; rīteņu spieķu zonas un vairākus zili pelēkus punktiņus un lodītes (Popadić, 2014; Puig et al., 2012; Lallas et al., 2013; Wozniak-Rito et al., 2018).

## **1.7. Bazālo šūnu karcinomas ārstēšana**

Mūsdienās ir iespējams ārstēt BŠK ar 5-fluoruracilu, lietojot imikvimodu, CO<sub>2</sub> lāzeru, kiretāžu, krioterapiju, fotodinamisko terapiju, staru terapiju un ķirurģijas metodes, ieskaitot mikrogrāfisko ķirurģiju (Goldenberg et al., 2013; Clark et al., 2014; Villani et al., 2022). Latvijā ķirurģiskā ārstēšana tiek izmantota kā rutīnas metode radikālai ādas audzēju ārstēšanai.



## 2. Materiāli un metodes

### 2.1. Mērķpopulācija un bazālo šūnu karcinomas pacientu atlases kritēriji

Šis pētījums tika plānots un veikts kā prospektīvs pētījums laikā. Pētījumā tika rekrutēti 79 pacienti ar aizdomām par galvas un kakla BŠK, kas prospektīvi ārstēti Rīgas Stradiņa universitātes Stomatoloģijas institūtā, Mutes, sejas un žokļu ķirurģijas nodaļā, un Latvijas Onkoloģijas centrā no 2016. gada septembra līdz 2019. gada septembrim. Svarīgākie pacientu iekļaušanas kritēriji bija dermatoskopiski un histoloģiski apstiprināta primāra vai recidivējoša ādas BŠK ar noteiktu audzēja morfoloģisko variantu. Šajā pētījumā tika izmantotas tikai pilnībā izgrieztas primāras un recidivējošas BŠK ar 10 mm atkāpi veselos audos. Sešdesmit viens gadījums no 79 (77,2 %) bija primārie audzēji, savukārt 18 (22,8 %) – recidivējošas BŠK.

Pētījumu apstiprināja Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komiteja (Lēmums Nr. 11/08.09.2016.), kā arī tika saņemta rakstiska informēta piekrišana no visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem. Audzēja audu paraugi tika iegūti, ievērojot Helsinku deklarācijas principus. Visos gadījumos, kad tika apstiprināta BŠK, tās dažādie veidi tika izdalīti atbilstoši jaunākai Pasaules Veselības Organizācijas (PVO) starptautiskajai klasifikācijai.

### 2.2. Laboratoriska D vitamīna līmeņa noteikšanai asins serumā

Asins paraugi D vitamīna līmeņa noteikšanai tika prospektīvi ņemti no visiem BŠK pacientiem un nodoti sertificētajai SIA “E. Gulbja laboratorija” (LATAK akreditācija ISO 15189). Kopējais D vitamīna līmenis asins serumā tika noteikts, izmantojot hemiluminiscences metodi ar ar *Cobas 800* analizatora palīdzību (*Roche*, Šveice) (Garnett et al., 2019; Vandikas et al., 2022; Enko et al., 2014).

### 2.3. Dermatoskopiskā bazālo šūnu karcinomas diagnostika, tās novērtēšanas kritēriji

Dermatoskopiskā izmeklēšana tika veikta ar manuālo rokas dermatoskopu (*3Gen DermLite DL3N* ar *Pigmentboost*; *Olympus*, ASV), izmantojot 30 mm × 10 objektīvu pirms audzēja masas ekscīzijas. BŠK bojājuma dermatoskopiskās prezentācijas digitālā fotografēšana tika veikta, izmantojot *Samsung Galaxy S9+* (*Samsung Electronics*, Koreja, Seula) mobilo kameru. BŠK diagnoze tika noteikta, pamatojoties uz šādiem dermatoskopiskiem kritērijiem: arborizēti asinsvadi un īsas, smalkas teleangiektāzijas, kļavas lapām līdzīgas struktūras, zili pelēkas lodītes, zilās olveida ligzdas, riteņu spieķu struktūras, erozijas, izčūlojums (Trigoni et al., 2012; Wozniak-Rito et al., 2018; Lupu et al., 2019; Popadić, 2014; Puig et al., 2012; Lallas et al., 2013).

Datu apstrādei tika izmantots diagnosticēto dermatoskopisko pazīmju puskvantitatīvs novērtējums (Argenziano, 2007; Zalaudek, 2010; de Vita et al., 2012; Okuboyejo et al., 2018). Dermatoskopijas laikā izmaiņas tika klasificētas šādi: vāja – ≤ 25 %, mērena – 26–70 % un izteikta vizualizācija – > 70 %.

### 2.4. Histopatoloģijas metodes

Šajā pētījumā ķirurģiski izgrieztās BŠK masas tika tālāk apstrādātas kā formalīnā fiksēti, parafīnā iestrādāti un tradicionāli sadalīti audu paraugi. Sekcijas tika uzstādītas uz *SuperFrost Plus* priekšmetstikliņiem (*Gerhard Menzel GmbH*, Vācija), lai labāk saglabātu audzēja audus, kas pakļauti imūnhistoķīmijai. Sākotnēji griezumi tika regulāri iekrāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu (HE), lai apstiprinātu diagnozi un noteiktu BŠK veidu. Audzēja histopatoloģiju novērtēja, ievērojot Pasaules Veselības organizācijas BŠK klasifikācijas sistēmu.

## 2.5. Imūnhistoķīmiskās metodes

Imūnhistoķīmiskās reakcijas tika veiktas, izmantojot deparafinizētus un tradicionāli apstrādātus parafīna griezumus. Audu antigēni tika noteikti, izmantojot primāro antivielu paneli: monoklonālo peles antivielu pret cilvēka  $\alpha$ -gludo muskuļu aktīnu (*Abcam*, Kembridža, MA, ASV, klons 1A4, 1:200), kura iezīmē šūnas, kas ekspresē gludo miocītu fenotipu (Wu et al., 2018); monoklonālo peles antivielu pret cilvēka podaplanīnu (*Abcam*, Kembridža, MA, ASV, klons PDPN/1433, 1:200), kas ekspresējas reaktīvajās mezotēlija šūnās un limfvadu endotēlija šūnās un regulē šūnu migrāciju un audzēja invāziju *in vivo* un *in vitro* (Kimura et al., 2005; Wicki et al., 2006); monoklonālo peles antivielu pret cilvēka IV tipa kolagēnu (*Dako Denmark A/S, Glostrup*, Dānija, klons CIV 22, 1:25), kas iezīmē bazālās membrānas *lamina densa* (Lammers et al., 2011); monoklonālo peles antivielu pret cilvēka laminīnu (*Dako Denmark A/S, Glostrup*, Dānija, klons 4C7, 1:20), kas reaģē ar epidermas bazālās membrānas laminīnu saimes glikoproteīniem (Wondimu et al., 2013); poliklonālo truša antivielu pret cilvēka DVP (*Bioss Antibodies*, MA, ASV, 1:300), kas nosaka endogēnos DVP proteīnus (Simpson et al., 2015); monoklonālo truša antivielu pret cilvēka *Sonic Hedgehog* (*Abcam*, Kembridža, MA, ASV, klons EP1190Y, 1:200), kas atpazīst cilvēka SHh proteīna pilna garuma molekulu un c-produkta apakšvienību (McCann et al., 2011; Kaminagakura et al., 2013). Inkubācija ar primārajām antivielām tika veikta, 4 °C griezumus turot 12 stundas un ievērojot ražotāja ieteikumus. Primāro antivielu amplifikācija un reakcijas produktu vizualizācija tika veikta, izmantojot *HiDef Detection HRP Polymer* sistēmu (*CellMarque, Rocklin, CA, ASV*). Primārās antivielas aizstāšana ar tris(hidroksimetil)aminometāna šķīdumu tika izmantota negatīvās imūnhistoķīmiskajās (IHĶ) kontrolēs. Griezumi tika fotografēti ar Leica gaismas mikroskopu (LEICA, *LEITZ DMRB, Wetzlar*, Vācija), izmantojot digitālo kameru DFC 450C, un ar skeneru *Glissando Slide Scanner (Objective*

*Imaging Ltd.*, Kembridža, Apvienotā Karaliste) ar 0,5  $\mu\text{m}$ /pikseļa izšķirtspēju, lietojot 20 $\times$  objektīvu, ar 0,275  $\mu\text{m}$ /pikseļa izšķirtspēju, lietojot 40 $\times$  objektīvu.

Imūnkārsojuma novērtējums tika veikts puskvantitatīvi, 20 nejauši izvēlētos parauga redzes laukos katrā no paraugiem (palielinājums 400 $\times$ ), kas attēlo interesējošā reģiona audzēja un stromas īpatnības.

## 2.6. Caurstarojošās elektronmikroskopijas metode

Lai labāk izpētītu audzēja šūnu ultrastrukturālās īpatnības, recidivējošām BŠK veidojot invazīvu konusu, tika izmantota caurstarojošā (transmisijas) elektronu mikroskopija (EM).

Lai precizētu audzēja un tā stromas analīzes rajonu un sekotu BŠK Moha ķirurģijas atzinumiem (Tehrani et al., 2013), no epoksīda sveķos ieguldītā audu materiāla, izmantojot ultramikrotomu (LKB, Y2088, Zviedrija), tika izgatavoti 1–2 mkm biezi griezumī jeb pusplānie griezumī. Pēc to novērtēšanas un atlasēs gaismas mikroskopā no epoksīda sveķos ieguldītā audu materiāla, izmantojot ultramikrotomu (LKB, Y2088, Zviedrija), tika izgatavoti 60–80 nm biezi jeb ultraplānie griezumī.

BŠK audu analīze veikta caurstarojošā elektronmikroskopā (JEM 1011, JEOL, Japāna), mainot palielinājumu no  $\times 1000$  līdz  $\times 10000$  un nepieciešamības gadījumā izvēloties lielāku palielinājumu līdz  $\times 50000$ . Promocijas darba mērķiem derīgo audzēja un tā stromas rajonu griezumī tika analizēti un fotografēti ar firmas *Kodak* fotofilmiņām (SO-163, *Kodak, Rochester, N.Y.*, ASV). Pēc fotofilmiņu attīstīšanas tās tika skenētas, izmantojot skenētāju (*Epson Perfection V700 Photo, Seiko Epson Corp.*, Japāna) elektronogrammu iegūšanai.

## 2.7. Statistiskā datu analīze

Statistiskā datu analīze tika veikta, lai novērtētu dermatoskopijas un imūnhistoķīmijas rezultātus, izmantojot SPSS 24.0, 26.0 versijas, *Prism 9* programmatūru *macOS* (*GraphPad Software, LLC, ASV*) un *JMP Pro 16* (*SAS, ASV*).

Lai pārbaudītu, vai savākie skaitliskie dati ir normāli sadalīti, tika izmantots Kolmogorova–Smirnova normalitātes tests. Kvantitatīvie dati tika izteikti kā vidējie  $\pm$  standartnovirze, savukārt kategoriskie parametri tika izteikti kā biežums un procenti. Spīrmena un Pīrsona ranga korelācijas koeficienti tika izmantoti, lai novērtētu sakarības starp šajā pētījumā analizēto antigēnu imūnspresijas rezultātiem, asins seruma D vitamīna līmeni un audzēja izmēru, kā arī saistību starp dzimumu un audzēja veidu. T-tests tika izmantots divu neatkarīgu izlašu vidējo salīdzināšanai, lai pārbaudītu BŠK un seruma D vitamīna līmeņa saistību starp dzimumu un dažādām prognostiskajām grupām (primārā un recidivējošā, zema riska un augsta riska BŠK).

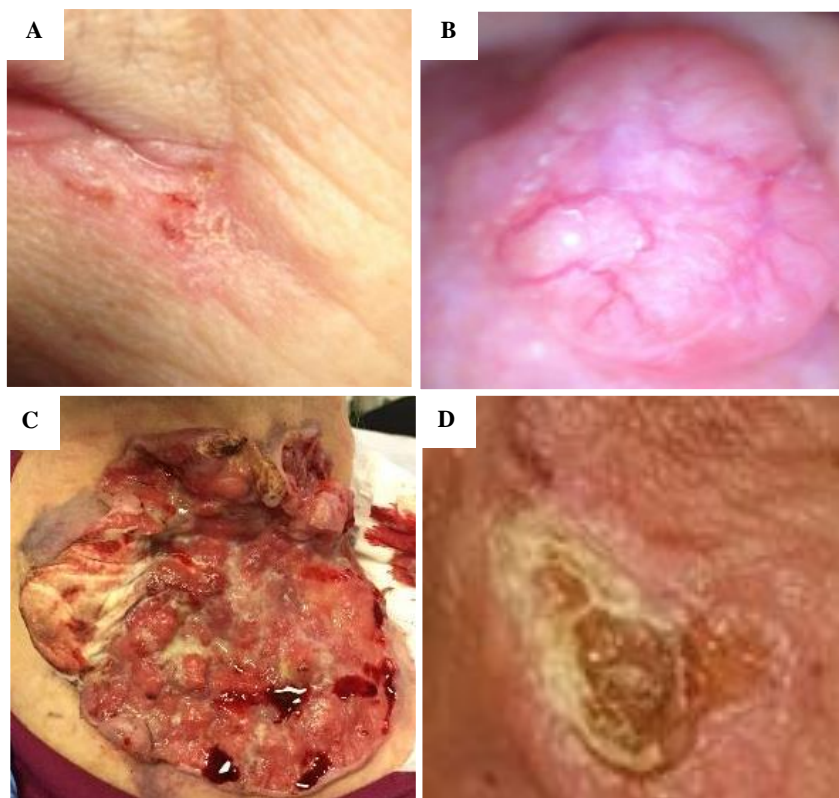
Lai noteiktu iegūto rezultātu galvenās apakškopas, tika izmantota daudzfaktoru analīze un hierarhiskā klasterizācijas metode. Korelācija starp antigēna ekspresiju un BŠK histopatoloģisko tipu tika pētīta ar Hī-kvadrāta testu. Fišera tests tika izmantots, lai novērtētu attiecības starp dermatoskopisko atradi un audzēja apakštipu. Krāmera V tests tika izmantots, lai novērtētu dermatoskopisko struktūru saistības ar BŠK tipiem. Pāru grupu salīdzināšanas gadījumā tika izmantots Vilkoksona saskaņoto pāru parakstīto rangs tests ar Bonferroni korekciju. P vērtības  $< 0,05$  tika uzskatītas par nozīmīgām. Diagrammas tika izveidotas, izmantojot *Prism 9 macOS* (*LLC, San Diego, ASV*) un *JMP Pro 16* (*SAS, Kerija, ASV*) programmatūru.

### 3. Rezultāti

#### 3.1. BŠK pacientu klīniskās izmeklēšanas analīzes rezultāti

Kopumā šajā pētījumā tika izmantota septiņdesmit deviņu pacientu grupa, kam diagnosticēta BŠK. No visiem pacientiem, kuriem bija BŠK, 58 % bija sievietes un 42 % vīrieši. Sieviešu vidējais vecums bija 70 gadi ( $SD \pm 15$ ) un vīriešu – 64 gadi ( $SD \pm 17$ ). Klīniski ādas fototipi tika novērtēti, izmantojot I–III Ficpatrika (*Fitzpatrick*) klasifikācijas skalu. No 79 pētījumā iekļautajiem pacientiem tikai diviem pacientiem (2,5 %) tika konstatēts I tips, 59 (74,7 %) – II tips un 18 (22,8 %) – III tips. Viens vīrietis un viena sieviete uzrādīja I fototipa esību.

Klīniski mūsu praksē BŠK visbiežāk izpaužas kā lēni augošs ādas krāsas mezgls vai eritematozs plankums ar eroziju vai izčūlojumu virsmā (3.1.A un B attēls). Primārās BŠK lielākoties bija neliela izmēra, taču periodiski tika diagnosticēti ātri augoši agresīvie audzēji ar plašu destrūcijas zonu (3.1.C attēls). Recidivējošās BŠK pētījumā diagnosticētas kā epidermas izčūlojums ar biezu kreveli virsmā (3.1.D attēls).



### 3.1. attēls. Bazālo šūnu karcinomas klīniskā izpausme

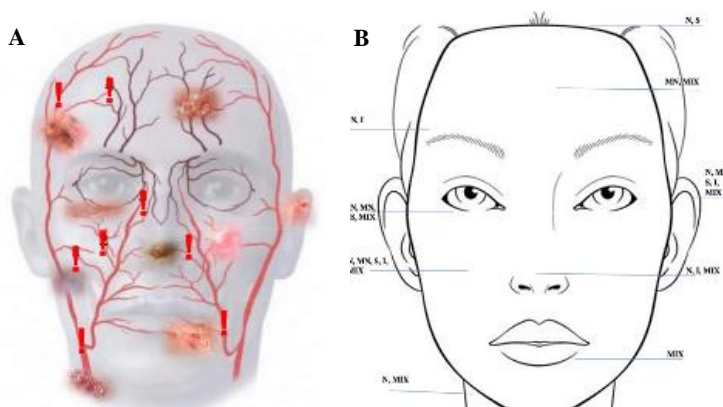
(A) Eritematozs plankums ar virsmas erozijām apakšlūpas rajonā. (B) Ādas krāsas mezgls nazolabiālās krokās ar asinsvadu zīmējumu virsmā. (C) Kakla un pleca rajona primāra agresīva BŠK ar plašu ulcerācijas zonu. (D) Vaiga rajona recidivējoša BŠK ar izčūlojumu epidermā un biezu kreveli virsmā.

### 3.2. BŠK histopatoloģisko tipu biežuma un anatomiskās lokalizācijas analīze

No 79 pacientiem 15 (19 %) tika diagnosticēts mezglains jeb nodulārs audzēja histopatoloģiskais apakštips, 18 (23 %) – virspusējs, 10 (12 %) – infiltratīvs, 7 (9 %) – mikronodulārs apakštips un 29 (37 %) – jaukts apakštips. Visbiežāk sastopamās jauktu BŠK kombinācijas ietvēra mezglaini infiltratīvo,

virspusēji mezglainu un mezglaini mikronodulāro apakštīpu. Starp histoloģiskajiem apakštīpiem netika konstatētas statistiskas atšķirības dzimumu sadalījumā ( $p = 0,102$ ).

BŠK visbiežāk lokalizējas labi apasiņotās galvas un kakla rajona vietās, un pētījumā iezīmējās bīstamākās zonas noteiktiem agresīviem BŠK apakštīpiem, tādas kā deguns un nazolabiālo kroku rajons *a. facialis* apasiņošanas zonā, centrālais vaigu rajons *a. transversa* un *a. infraorbitalis* apasiņošanas zonā, kur audzējam tika nodrošināta laba asinsapgāde ar nepieciešamo vielu piegādi tā labvēlīgākai attīstībai (3.2. attēls).



### 3.2. attēls. Bazālo šūnu karcinomu sadalījums galvas un kakla lokalizācijā

(A) Galvas un kakla apasiņošanas shēma ar biežākām BŠK lokalizācijām parāda, ka audzējs biežāk attīstās lielo artēriju un to atzarojumu apasiņošanas rajonā.

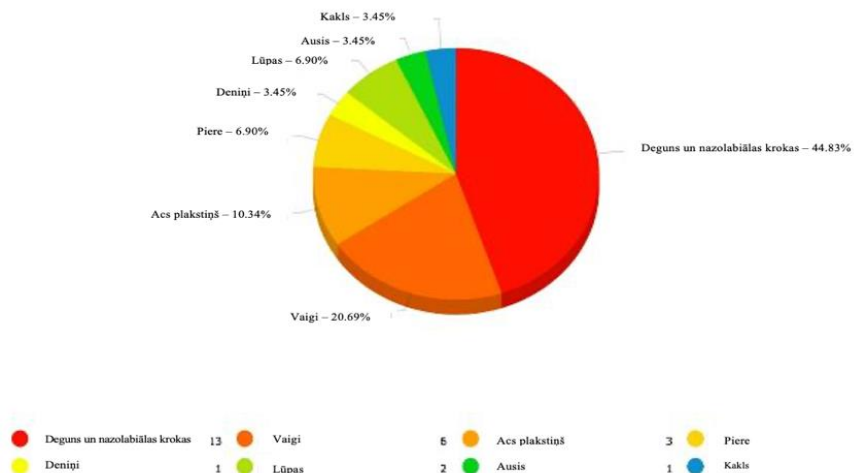
(B) Biežākās BŠK lokalizācijas galvas un kakla rajonā pēc histoloģiskā audzēja apakštīpa. **Saīsinājumi:** N – mezglains, MN – mikronodulārs, S – virspusējs, I – infiltratīvs, MIX – jaukts apakštīps.

Audzēja anatomiskās lokalizācijas analīze apstiprināja, ka deguns un vaigs bija dominējošie reģioni, kur attīstījās gan primārie, gan recidivējošie audzēji, kas veidoja attiecīgi 36,7 un 29,1 %. Nodulāras (primārajos audzējos) un jauktas BŠK (primārajos un recidivējošos audzējos) biežāk atradās deguna ādā, salīdzinot ar citiem galvas un kakla reģioniem, kas veido attiecīgi 42,9 %,



31,6 % un 70 %. Mikronodulārā BŠK apakštipa anatomiskā atrašanās vieta: deguns, 2 (29 %); vaigs, 2 (29 %); plakstiņš, 3 (17 %); galvas āda, 1 (5,5 %) un auss, 1 (5,5 %). Recidivējošas BŠK attīstījās tikai deguna ādā, savukārt primāro audzēju lokalizācija novērota šādās anatomiskās zonās: vaigā 3 (38 %), uz deguna 2 (25 %), uz deniņiem 2 (25 %) un uz auss 1 (12 %). Recidivējošu audzēju otrajā vietā pēc lokalizācijas bija piecas BŠK uz vaiga, trīs uz plakstiņiem un viena uz auss. Mūsu pētījumā trešais visbiežāk bojātais reģions bija plakstiņš (10, 1 %).

Jaukta tipa BŠK anatomiski atradās rajonos, kas grafiski atainots 3.3. attēlā: viena uz deniņiem (3,45 %), divas (6,90 %) uz pieres, sešas (20,69 %) uz vaigiem, 13 (44,83 %) uz deguna un nazolabiālo kroku rajonā, viena (3,45 %) uz auss, viena (3,45 %) uz kakla, trīs (10,34 %) uz plakstiņiem un divas (6,90 %) uz lūpām.



3.3. attēls. Jaukta tipa bazālo šūnu karcinomas biežums un lokalizācija

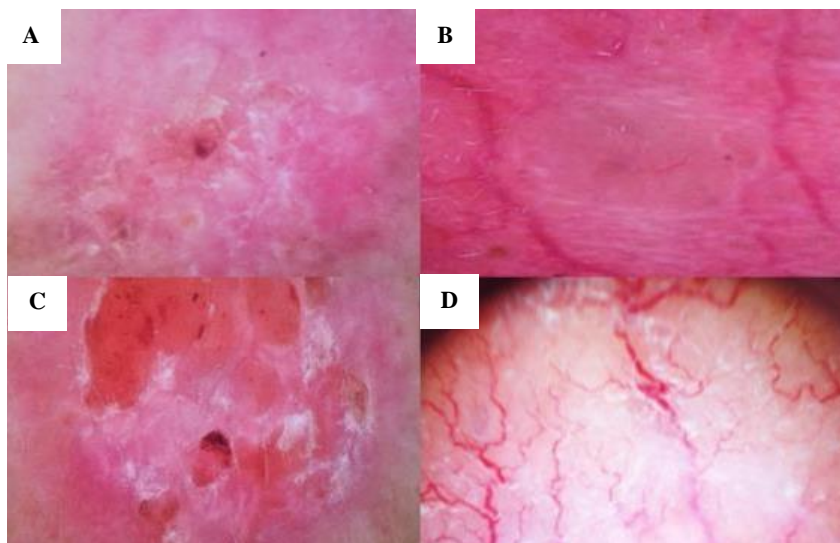
Histopatoloģiski agresīva jaukta tipa BŠK vairumā gadījumu tika lokalizēta uz deguna un nazolabiālo kroku rajonā kā mezglaini infiltratīvs vai solīdi adenoīds audzējs. Jaukto audzēju izmēri bija ļoti dažādi – no 0,2 mm līdz 2,5 cm, bet reizēm līdz 4 cm.

### **3.3. Dermatoskopiskās izmeklēšanas rezultāti**

Dermatoskopiski BŠK diagnostiskās struktūras ietvēra arborizētus asinsvadus, īsas, smalkas teleangiektāzijas, kļavas lapām līdzīgas struktūras, lielas, zilganpelēkas olveida ligzdas, baltas svītras, izčūlojumu, vairākas nelielas erozijas, spīdīgus, baltus laukumus, fokusētus punktus, pienaini rozā līdz sarkanīgu laukumus, riteņa spieķu struktūras un vairākus zili pelēkus punktiņus un lodītes, kā tas tika ieteikts iepriekš veiktajos pētījumos (Popadić, 2014; Puig et al., 2012; Lallas et al., 2013; Wozniak-Rito et al., 2018).

Ar Fišera tiešo testu noteikts, ka statistiski nozīmīgas atšķirības pastāvēja starp noteiktām dermatoskopiski diagnosticētām struktūrām, tādām kā arborizēti asinsvadi, īsas, smalkas teleangiektāzijas, zili pelēkas olveida struktūras, fokusēti punkti, izčūlojums, erozijas, baltas svītras jeb saišķi.

Virspusējam BŠK apakštipam dermatoskopiskie diagnostikas kritēriji ietvēra īsu, smalku teleangiektāziju un komatveida asinsvadus, erozijas, rozā viendabīgu apgabalu un zili pelēkas olveida ligzdas (3.4.A attēls). Nodulāri un mikronodulāri BŠK tipi tika diagnosticēti ar mezglu, kas nedaudz pacelts virs ādas bojājuma centrālās daļas, prezentēts ar arborizētiem asinsvadiem, izčūlojumu, zili pelēkām olveida ligzdām un mezgla caurspīdīgumu (3.4.B un C attēls). Infiltratīvā BŠK parasti tika vizualizēta ar arborizētiem asinsvadiem, īsām, smalkām teleangiektāzijām, spīdīgiem, baltiem bezstruktūras apgabaliem, čūlām un baltām svītrām (3.4.D attēls).

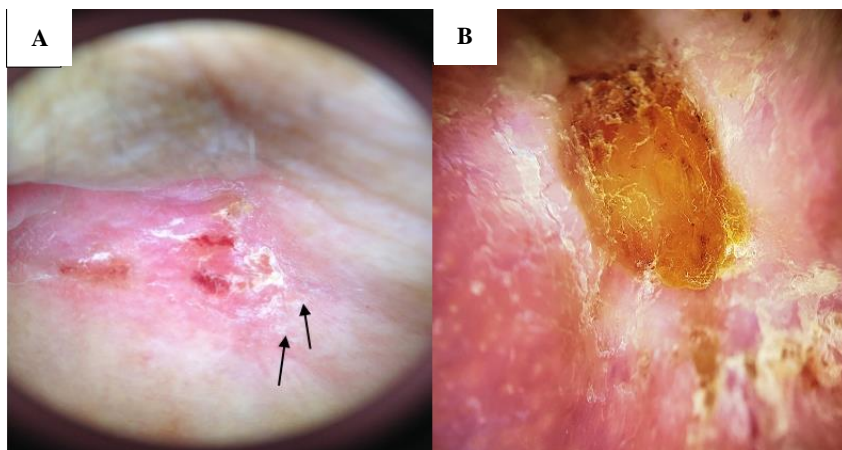


### 3.4. attēls. Dermatoskopiskās atrades dažādos bazālo šūnu karcinomu veidos

- (A) Pienaini rozā krāsas bezstruktūras zonas, rozā viendabīgi apgabali, īsas, plānas teleangiektāzijas un erozija audzēja centrālajā daļā virspusējās BŠK gadījumā.
- (B) Caurspīdīgs mezgliņš, kas pacelts virs ādas un prezentē asinsvadus mezglainā BŠK.
- (C) Mezglains audzēja izskats ar robežu, kas pacelta virs ādas bojājuma centrālās daļas, arborizējošām un īsām, plānām teleangiektāzijām, pienaini rozā un pienaini sarkanām bezstruktūras zonām, čūlām un eroziju mikronodulāras BŠK gadījumā.
- (D) Arborizējoši asinsvadi, īsas, plānas teleangiektāzijas uz spīdīgi baltiem un pienaini sarkaniem bezstruktūras apgabaliem infiltratīvas un jauktas BŠK gadījumā.

Jauktas BŠK diagnoze tika balstīta uz histopatoloģiskiem novērojumiem un noteiktu dermoskopisku īpašību klātbūtni, kas ietvēra tādas BŠK standarta pazīmes kā asinsvadu veidošanās, izčūlojums, pienaini sarkanas bezstruktūras zonas un retāk sastopamas pazīmes, piemēram, keratīna masas, virspusēja zvīņošana un baltas svītras jeb saišķi. Infiltratīvā un jaukta tipa BŠK pieder agresīvām audzēja formām, tāpēc bija īpaši svarīgi tās atpazīt pirms ārstēšanas metodes izvēles.

Visizplatītākais jauktas BŠK asinsvadu veids bija arborizēti asinsvadi un īsas, smalkas teleangiektāzijas, kas galvenokārt tika konstatētas maza izmēra BŠK. Spīdīgi, balti laukumi (divdesmit pacienti, 60,6 %), baltas svītras (divdesmit divi pacienti, 66,7 %), pienaini rozā līdz sarkans fons (divdesmit septiņi pacienti, 81,8 %), čūlas (trīspadsmit pacienti, 39,4 %) un vairākas nelielas erozijas (vienpadsmit pacienti, 33,3 %) arī bieži tika konstatētas dermatoskopiski. Savukārt pigmentētas struktūras tika izdalītas kā zili pelēkas lodītes un punkti (pieci pacienti, 15,1 %), zili pelēkas olveida ligzdas (četri pacienti, 12,1 %) un fokusa punkti (divi pacienti, 6 %). Ar pigmentu saistītas BŠK pazīmes parasti tika prezentētas kā kļavu lapām līdzīgi laukumi (divi pacienti, 6,1 %) un riteņu spieķiem līdzīgas struktūras (viens pacients, 3,0 %). Statistiski nozīmīgas atšķirības jaukta BŠK tipa gadījumā tika noteiktas starp asinsvadu veidošanās biežumu, īsām, smalkām teleangiektāzijām, baltām svītrām un pienaini rozā līdz sarkanām zonām ( $p < 0,001$ ), savukārt jaukta BŠK tipa dermatoskopiskā aina attēlota 3.5.A un B attēlā.



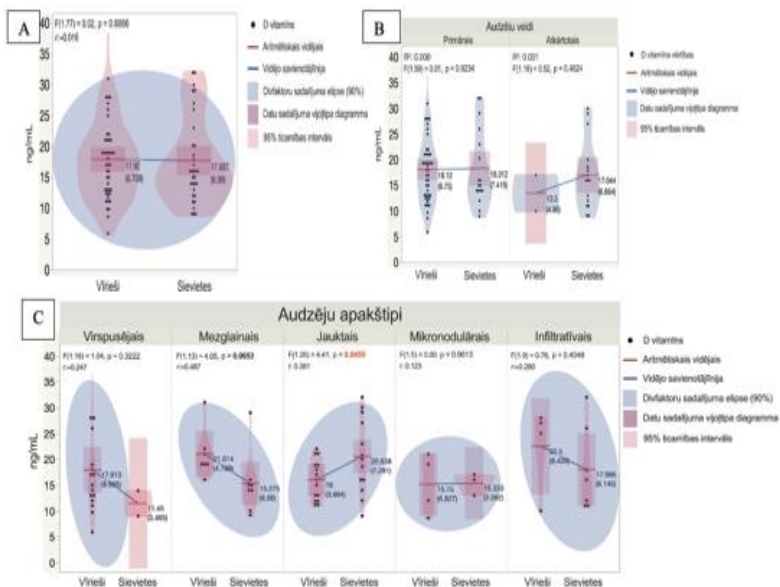
### 3.5. attēls. Dermatoskopiskās atrades jaukta tipa bazālo šūnu karcinomā

(A) Viendabīgi spīdīgi bezstruktūras laukumi ar pienaini rozā fonu; virspusēja īsa, smalka teleangiektāzija un daži smalki arborizējoši asinsvadi. Audzēja virsma ar vairākām nelielām erozijām un dermatoskopiski skaidri nenosakāmām robežām primārā jauktā tipa BŠK gadījumā, kas histopatoloģiski tika atzīts par virspusējā un infiltratīvā tipa kombināciju. Filamentveida un pavedieniem līdzīgas tievas josliņas, kas pārsniedz audzēja vizuālās robežas, demonstrējot BŠK augstu recidivēšanas risku un agresivitāti (melnas bultiņas). (B) Viendabīgi balts līdz pat rozā krāsas fons un čūlas audzēja vidū raksturo recidivējošas jauktas BŠK.

### 3.4. D vitamīna līmeņa noteikšana un analīze asins serumā

Pārbaudot D vitamīna līmeni asins serumā, noteikts, ka sievietēm tas bija diapazonā no 5,9 līdz 40,0 ng/mL, savukārt vīriešiem attiecīgi no 9 līdz 32 ng/mL (3.6.A attēls). Sievietēm D vitamīna līmeņa vidējā vērtība bija 17,9 ng/mL (SD ± 6,7 ng/mL), savukārt vīriešiem vidējā vērtība bija 17,7 ng/mL (SD ± 7,0 ng/mL), tomēr šīs atšķirības nebija statistiski nozīmīgas. Tikai četriem pacientiem pētījuma grupā bija pietiekams D vitamīna līmenis asins serumā, proti, virs 30,0 ng/mL. Pacientiem, kuriem bija attīstījušās primārās BŠK, statistiski nozīmīgas atšķirības seruma D vitamīna līmeņos starp vīriešiem un sievietēm netika konstatētas (3.6.B attēls). Vienlaikus divām sievietēm, kurām diagnosticēti recidivējoši BŠK audzēji, vidējā D vitamīna līmeņa vērtība bija

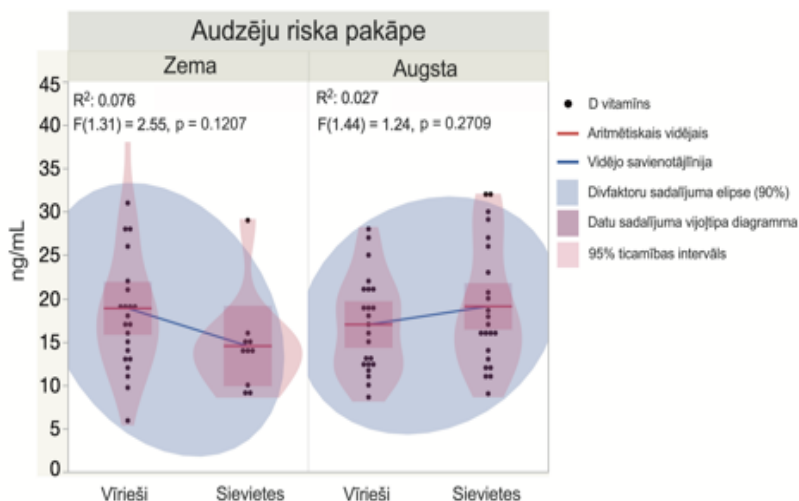
13,5 ng/mL (SD ± 5,0 ng/mL), savukārt 16 vīriešiem vidējā vērtība bija 17,0 ng/mL (SD ± 6,7 ng/mL), tomēr šīs atšķirības nebija statistiski nozīmīgas. D vitamīna līmenis asins serumā bija ievērojami zemāks sievietēm ar jauktiem BŠK tipiēm, salīdzinot ar vīriešiem ( $p < 0,05$ ). Vienlaikus, salīdzinot abu dzimumu pacientus ar dažāda veida BŠK, asins seruma D vitamīna līmenis neatšķīrās (3.6.C attēls).



3.6. attēls. **D vitamīna līmeņa novērtējums serumā pētījuma grupā**

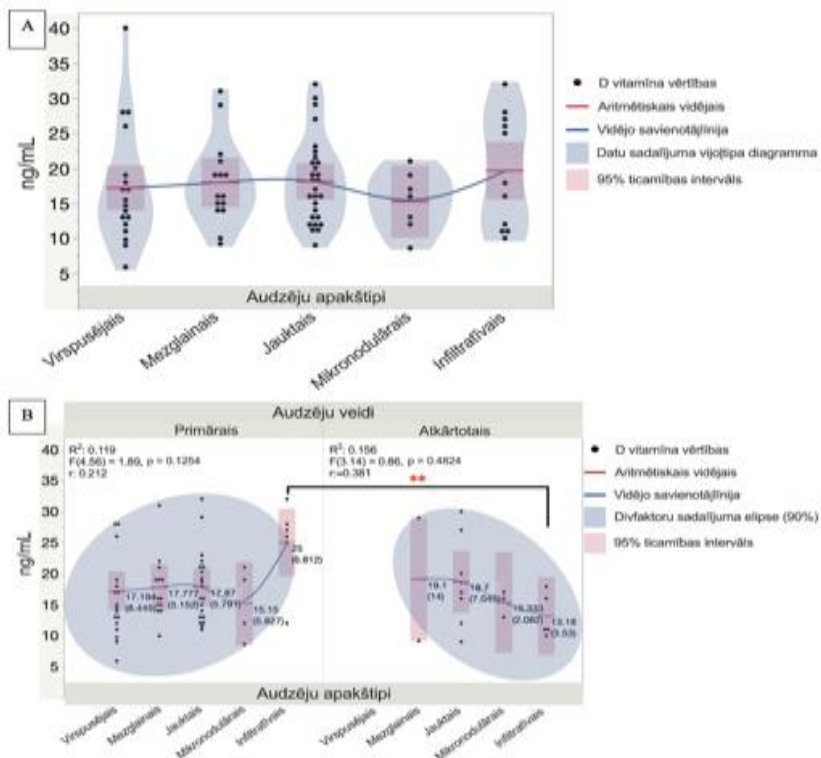
(A) D vitamīna līmeņa novērtējums asins serumā pētījumā iekļautajiem vīriešiem un sievietēm. Katrs punkts apzīmē vienu mērījumu. (B) D vitamīna līmeņa serumā novērtējums vīriešiem un sievietēm ar primāriem un recidivējošiem BŠK tipiēm. Katrs punkts apzīmē vienu mērījumu. (C) D vitamīna līmeņa novērtējums asins serumā vīriešiem un sievietēm ar dažāda veida BŠK. Katrs punkts apzīmē vienu mērījumu. Salīdzinot dažādus BŠK veidus, kas diagnosticēti abiem dzimumiem, statistiski nozīmīgas atšķirības seruma D vitamīna līmeņos netika novērotas, izņemot jauktas BŠK, kas diagnosticētas sievietēm ar ievērojami zemāku D vitamīna līmeni serumā, salīdzinot ar vīriešiem ( $p = 0,0456$ ). **Saīsinājumi:** (B) 1 – primāras BŠK; 2 – recidivējošas BŠK; (C) 1 – virspusēji BŠK audzēji; 2 – nodulāri BŠK audzēji; 3 – jaukti BŠK audzēji; 4 – mikronodulāras BŠK; 5 – infiltratīvas BŠK.

Lai labāk izprastu BŠK novērotā asins seruma D vitamīna līmeņa pārmaiņas, rezultāti tika atsevišķi analizēti attiecībā uz primārajiem un recidivējošiem, kā arī zema riska (virspusēji un nodulāri) un augsta riska (mikronodulāri, infiltratīvi un jaukti) audzējiem. Salīdzinot zema riska un augsta riska BŠK, kas diagnosticētas abiem dzimumiem, statistiski nozīmīgas atšķirības asins seruma D vitamīna līmeņos netika novērotas (3.7. attēls). Tāpat statistiski nozīmīgas atšķirības netika konstatētas, salīdzinot asins seruma D vitamīna līmeņa noteikšanas rezultātus pacientiem ar dažāda veida primārām un recidivējošām BŠK (3.8.A un B attēls).



3.7. attēls. **D vitamīna līmeņa serumā novērtējums vīriešiem un sievietēm ar zema un augsta riska bazālo šūnu karcinomu**

Katrs punkts apzīmē vienu mērījumu. **Saīsinājumi:** 1 – zema riska BŠK; 2 – augsta riska BŠK.



### 3.8. attēls. D vitamīna līmeņa serumā novērtējums pacientiem ar dažāda veida bazālo šūnu karcinomu

(A) Diagrammas, kas attēlo D vitamīna līmeņa noteikšanas rezultātus serumā pacientiem ar dažāda veida BŠK. Katrs punkts apzīmē vienu mērījumu. (B) Elipses diagramma,

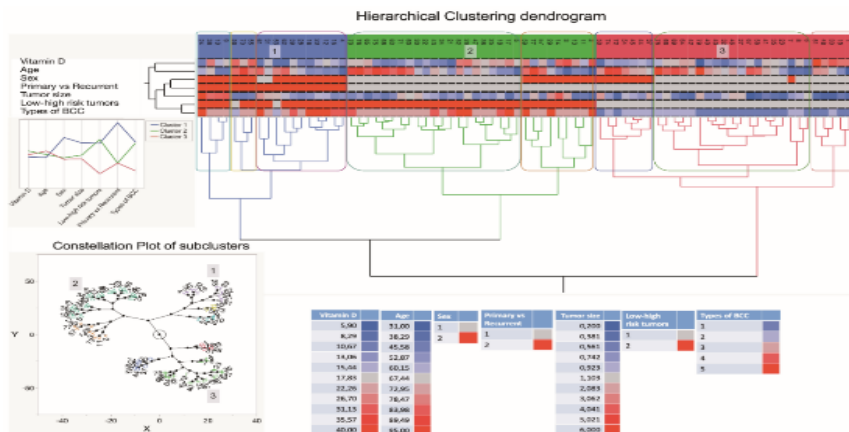
kas attēlo D vitamīna līmeņa novērtējuma rezultātus serumā pacientiem ar primārām un recidivējošām BŠK. Katrs punkts apzīmē vienu mērījumu.

**Saīsinājumi:** (B) 1 – primāras BŠK; 2 – recidivējošas BŠK.

Izmantojot hierarhiskās klasterizācijas metodes, dati tika dalīti trijās galvenajās kopās; šie rezultāti atainoti 3.9. attēlā demonstrētajā dendrogrammā. Zilo kopu raksturoja vīrieši ar zemu D vitamīna līmeni asins serumā un lielām, galvenokārt augsta riska un recidivējošām BŠK. Savukārt zaļo kopu pārstāvēja gan vīrieši, gan sievietes ar ļoti atšķirīgu D vitamīna līmeni asins serumā un



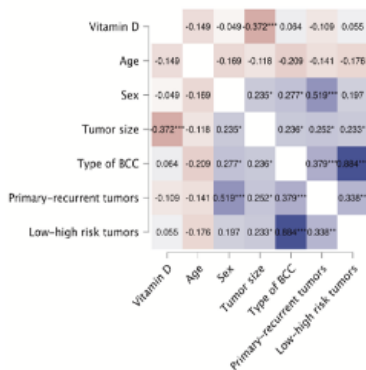
maza izmēra primārām, tomēr augsta riska BŠK. Sarkano kopu veidoja vīrieši un sievietes ar atšķirīgu D vitamīna līmeni asins serumā un maza izmēra primārām un mazāk agresīvām BŠK. Turklāt kopumā negatīva saistība starp audzēja lielumu un D vitamīna līmeni serumā tika pierādīta, izmantojot korelācijas analīzi (3.10.A un B attēls).



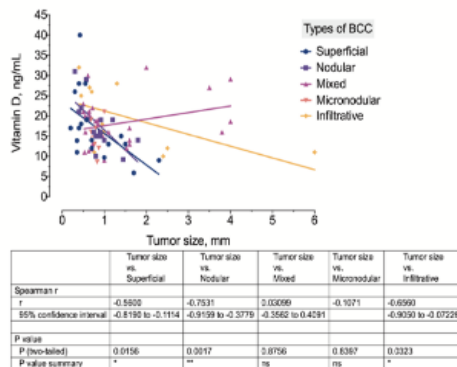
### 3.9. attēls. Datu hierarhiskā klasterizācija un galvenās datu kopas

Izmantojot hierarhisku klasterizāciju, 79 pacientu dati tika prezentēti trijās galvenajās datu kopās ar 2–3 apakšklasteriem. **Saīsinājumi:** dzimums: 1 – sievietes, 2 – vīrieši; primāras vs. recidivējošas BŠK: 1 – primāra BŠK, 2 – recidivējoša BŠK; zema un augsta riska BŠK: 1 – zema riska BŠK, 2 – augsta riska BŠK; BŠK veidi: 1 – virspusējas BŠK, 2 – nodulāras BŠK, 3 – jauktas BŠK, 4 – mikronodulāras BŠK, 5 – infiltratīvas BŠK.

A



B



### 3.10. attēls. Pētīto mainīgo lielumu korelogramma

(A) Negatīvā saistība ( $r = -0,372$ ) starp audzēja lielumu un D vitamīna līmeni serumā ir atzīmēta ar tumši sarkanu krāsu. (B) Dažādos BŠK veidos tika novērota korelācija starp audzēja lielumu un D vitamīna līmeni asins serumā.

## 3.5. BŠK audu paraugu histopatoloģija, audzēja marķieru ekspresijas imūnhistoķīmiskā analīze

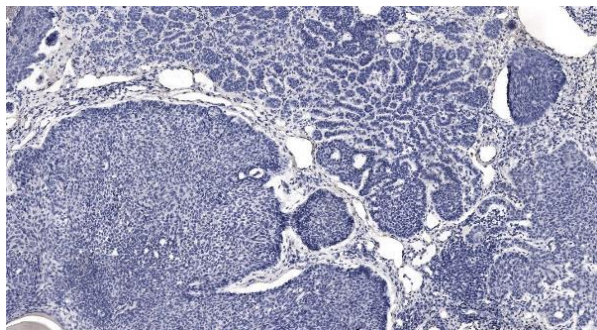
BŠK šūnu sakopojumi bieži veidoja ligzdas un pavedienus. Audzēja šūnas bija polimorfās, mitozes tika novērotas reti. BŠK mezglus raksturoja perifēra palisadēšanās, artefakta spraugas parādīšanās. Starp audzēja elementiem parasti novēroja miksotdu stromu.

Virspusējās BŠK gadījumā tika noteiktas neoplastisku šūnu bazaloīdas ligzdas dermoepidermālajā rajonā. Nodulārais tips izskatās kā liela izmēra neoplastisku šūnu mezgli ar raksturīgu šūnu palisadēšanos perifērijā, spraugas izveidi starp mezgla perifēriju un stromu, nekrozes perēkļiem un fokālām cistiskām izmaiņām. Savukārt mikronodulārais tips demonstrēja ziedkāpostam līdzīgu izskatu ar mazāku šūnu palisadēšanos un savienojumu ar epidermu. Infiltratīvajā BŠK tika konstatēti nelieli bazaloīdu šūnu sakopojumi vai pavedieni, kas izaug stromā, iestiepjās starp muskuļu šķiedrām un aug invazīvi perineirāli. Infiltratīva augšana bieži uzrādīja izteiktu stromas kolagenizāciju.

Jauktas augšanas BŠK parasti prezentēja noapaļotu un neregulāru audzēja šūnu ligzdu kontūru un šauru pavedienu piejaukumu, kas iestiepjas stromā. Turklāt agresīvajai augšanai bija raksturīga mitotisko figūru un apoptotisko šūnu atlieku klātbūtne.

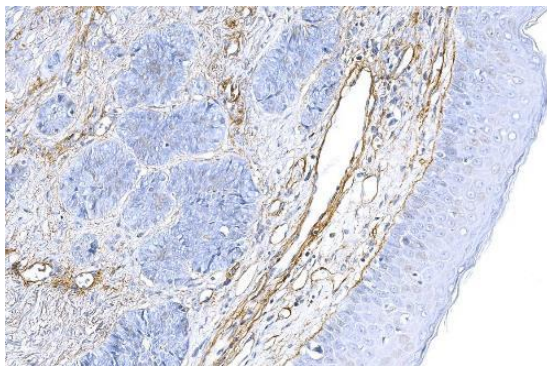
### **3.5.1. IV tipa kolagēna un laminīna ekspresijas imūnhistoķīmiskā analīze**

BŠK marķieru imūnhistoķīmiskā analīze tika uzsākta, nosakot bazālās membrānas (BM) veidojošo molekulu – IV tipa kolagēna un laminīna ekspresiju. Šīs ir galvenās molekulas, kas, izveidojot barjeru, ierobežo audzēja šūnu izplatīšanos. Iezīmējot audzēju masas perifēro kontūru ar antilaminīna (3.11. attēls) un antikolagēna (3.12. attēls) antivielām, noteikts lineārs, bet ļoti atšķirīgs iekrāsošanās veids – gan nepārtraukts, gan pārtraukts, kas apliecināja šo molekulu klātbūtni BM. Infiltratīvajās BŠK bieži tika noteikts pārtraukts vai pat neesošs imūnreakcijas veids. IV tipa kolagēna un laminīna ekspresijas līmeņi bija sadalīti, sākot no zema līdz vidēji augstam un augstam – attiecīgi 60,3, 35,6, 4,1 % un 71,1, 25,2, 3,6 % kolagēnam un laminīnam.



**3.11. attēls. Vāja laminīna ekspresija, kas parāda gar dažāda izmēra un formas jaukta recidivējoša audzēja mezglu un mikromezglu bazālo aspektu, ap audzēja mikromezgliem tā gandrīz nav pamanāma**

Laminīna imūnhistoķīmija,  $\times 200$ .

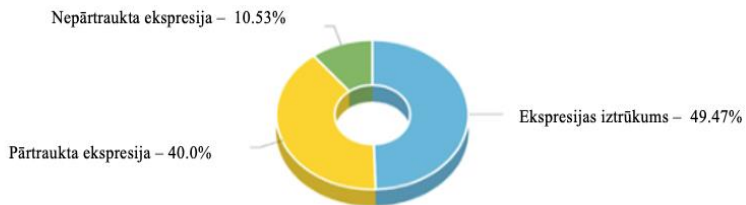


**3.12. attēls. Lineārs un gan nepārtraukts, gan pārtraukts kolagēna molekulu imūnkrāsojums**

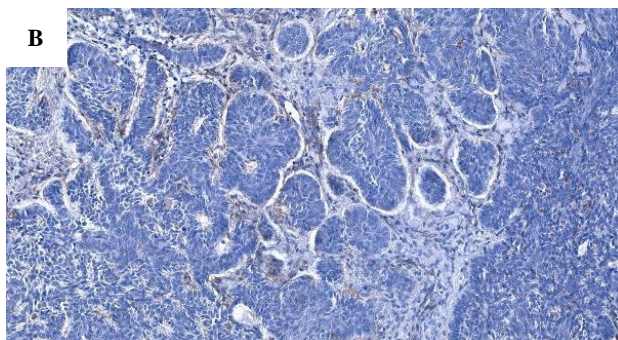
Ekspresija brūnā krāsā vērojama virsmas epitēlija BM un stipri nomākta gar audzēja mezgliņu bazālo aspektu, kā arī asinsvadu sienīnās jauktas recidivējošas BŠK gadījumā. IV tipa kolagēna imūnhistoķīmija,  $\times 250$ .

Jaukta tipa BŠK IV tipa kolagēna imūn ekspresija bija ļoti dažāda, demonstrējot nepārtrauktu, pārtrauktu un pat pilnīgi iztrūkstošu ekspresiju (3.13.A attēls). Noteikts, ka jauktajai BŠK 49,47 % konstatēja IV tipa kolagēna ekspresijas neesamību, 40 % pārtrauktu imūnkrāsošanu un tikai 10,53 % nepārtrauktu BM imūnkrāsošanu. Jāatzīmē, ka infiltratīvajos BŠK variantos kolagēna ekspresija nebija sastopama līdz 96 % audzēju. Kolagēna tipa imūnkrāsošana tika identificēta kā lineārs rotājums gar audzēja līgšanas bazālo aspektu (3.13.B attēls).

**A**



● Ekspresijas iztrūkums 188 ● Pārtraukta ekspresija 152 ● Nepārtraukta ekspresija



### 3.13. attēls. IV tipa kolagēna ekspresija jauktā tipa bazālo šūnu karcinomā

Panelis (A) parāda kolagēna ekspresijas daudzveidību un tās imūnhistoķīmiskās noteikšanas rezultātu novērtējumu ar statistikas metodi. Panelis (B) lineāra tipa imūnreakcija, kas atspoguļo IV tipa kolagēna lokalizāciju BM *lamina densa* ar nepārtrauktu, bet, aptverot mazus mezgliņus, ar pārtrauktu iezīmējumu vai pat to iztrūkumu. IV tipa kolagēna imūnhistoķīmija,  $\times 200$ .

### 3.5.2. *a*-GMA, PDPN un SHh ekspresijas imūnhistoķīmiskā analīze

*a*-GMA un SHh imūnhistoķīmiskās ekspresijas rezultāti tika novērtēti primāriem un recidivējošiem audzējiem un stromai dažādos pētītajos BŠK histopatoloģiskajos apakštipos.

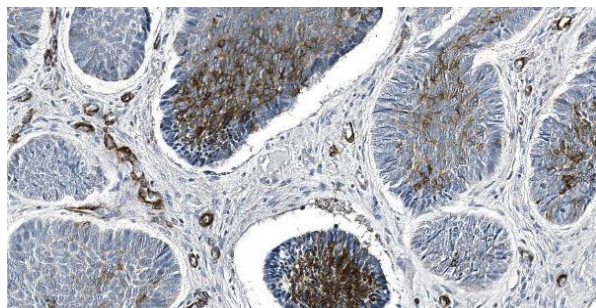
Audzēja *a*-GMA līmeņu izteiksme tika sadalīta no vājas līdz mērenai un izteiktai. Vienlaikus mēs apstiprinājām vājo stromas *a*-GMA ekspresijas līmeņu samazināšanos recidivējošā BŠK, salīdzinot ar primāro BŠK, kam sekoja divas reizes augstāki un izteiktāki stromas *a*-GMA ekspresijas līmeņi, kas noteikti recidivējošā BŠK. Salīdzinot *a*-GMA ekspresijas līmeņus pētītajās primārajās un recidivējošās BŠK, mēs noteicam statistiski nozīmīgas atšķirības gan audzēja, gan stromas sadalījumos (attiecīgi  $\chi^2 = 16\,191$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,0001$  un  $\chi^2 = 26\,510$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,0001$ ).

Salīdzinot ar *a*-GMA, audzēja SHh ekspresijas līmeņi bija gandrīz vienādi sadalīti un mainījās no vāja līdz vidēji izteiktam un izteiktam primārajās un recidivējošās BŠK. Līdzīgi *a*-GMA novērtējumam mēs konstatējām izteikta stromas SHh ekspresijas līmeņa paaugstināšanos recidivējošām BŠK. Salīdzinot SHh ekspresijas līmeņus pētītajās primārajās un recidivējošās BŠK, mēs noteicām statistiski nozīmīgas atšķirības, kas bija stromas, bet ne audzēja sadalījumā (attiecīgi  $\chi^2 = 7,121$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,028$  un  $\chi^2 = 0,915$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,633$ ).

BŠK audzēja un stromas audos novērtētie SHh līmeņi atšķīrās, salīdzinot ar *a*-GMA līmeņiem. Mēreni un izteikti audzēja SHh ekspresijas līmeņi raksturoja infiltratīvos, virspusējos, jauktos un mikronodulāros apakštipus. Vienlaikus stromas SHh līmenis bija trīs reizes zemāks, bet divas reizes augstāks attiecīgi infiltratīvajam un virspusējam apakštipam, salīdzinot ar *a*-GMA līmeni. Salīdzinot SHh ekspresiju pētītajos BŠK apakštipos, mēs atklājām, ka nodulārajā apakštipā noteiktā audzēja ekspresija būtiski atšķīrās, salīdzinot ar visiem citiem apakštipiem, izņemot mikronodulāro – infiltratīvo ( $p < 0,0001$ ), virspusējo

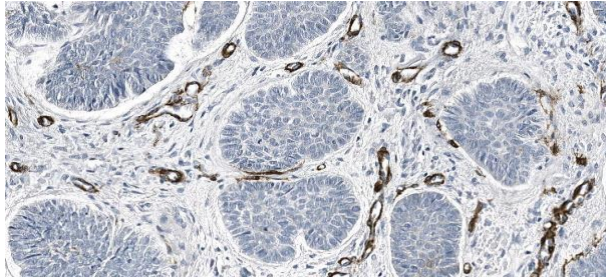
( $p < 0,0001$ ) un jaukto ( $p < 0,0001$ ). Stromas ekspresija, kas noteikta nodulārajā apakštipā, būtiski atšķīrās, salīdzinot ar visiem pārējiem apakštipiem – infiltratīvo ( $p < 0,0001$ ), mikronodulāro ( $p = 0,009$ ), virspusējo ( $p < 0,0001$ ) un jaukto ( $p < 0,0001$ ).

Jāatzīmē, ka viena ceturtdaļa neoplastisko šūnu paraugu, kas demonstrēja infiltratīvo BŠK apakštipu, demonstrēja izteiktu *a*-GMA ekspresiju, savukārt mezglainajā un jauktajā apakštipā tā bija viena piektā daļa audzēja paraugu. Vienlaikus gandrīz viena piektā daļa infiltratīva apakštipa prezentēja izteiktu stromas *a*-GMA ekspresiju, savukārt jauktajā un mikronodulārajā BŠK apakštipā līdzīgu ekspresiju demonstrēja viena desmitā daļa audzēja paraugu. Virspusējā apakštipā ļoti maz audzēju masas un stromas šūnas demonstrēja izteiktu *a*-GMA ekspresiju. Turklāt, novērtējot *a*-GMA ekspresiju dažādos BŠK histopatoloģiskajos apakštipos, mēs noteicām, ka mezglainā BŠK uzrādīja vāju vai mērenu un reti izteiktu *a*-GMA imūnpozitivitāti audzēja mezglos un pavedienos (3.14. attēls) paralēli ļoti vājai stromas reaktivitātei (3.15. attēls).



3.14. attēls. **Primārās bazālo šūnu karcinomas solidie mezgli uzrāda diezgan difūzu, vāju vai mērenu *a*-GMA pozitivitāti, bet attēla apakšdaļā – spēcīgāku un kompaktāku imūnpozitivitāti**

Asinsvadu sienīgas *a*-GMA pozitivitāte parādās mikroīdā stromā, kas ieskauj mezglus. *a*-GMA imūnhistokīmija,  $\times 250$ .



3.15. attēls. *α*-GMA ekspresija gan audzējā, gan stromā gandrīz iztrūkst; *α*-GMA pozitivitāte noteikta tikai stromas asinsvadu sienīnās

*α*-GMA imūnhistoķīmija, ×250.

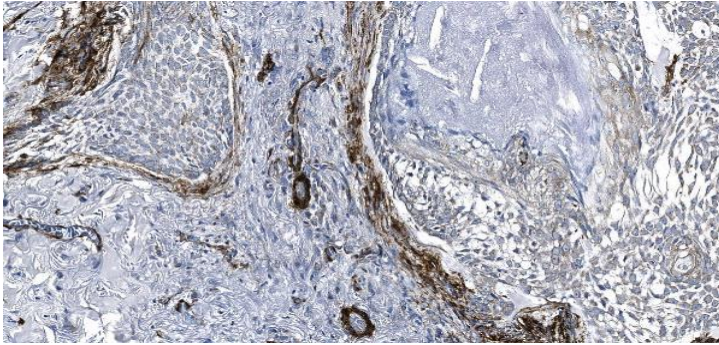
Turpretim mikronodulārais, jauktais un infiltratīvais BŠK apakštips bieži uzrādīja izteiktu, spēcīgu *α*-GMA stromas ekspresiju, kas tika prezentēta vai nu kā difūza, vai peritumorāla (3.16. attēls), kas spēcīgi dekorēja audzēja masas pamatni (3.17. attēls). Difūzās ekspresijas gadījumā dažiem jauktiem audzējiem bija ar aktīnu bagāta stroma, kas aptvēra *α*-GMA negatīvās audzēja nodulārās masas un pavedienus (3.18. attēls).



3.16. attēls. **Jauktas recidivējošas bazālo šūnu karcinomas attēls, kas parāda stromas peritumorālo un asinsvadu *α*-GMA ekspresiju miksoīdā stromā**

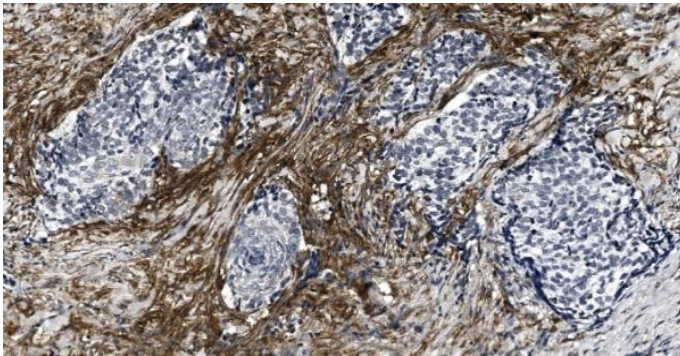
*α*-GMA imūnhistoķīmija, ×100.





3.17. attēls. **Izteikta  $\alpha$ -GMA stromālā peritumorālā ekspresija jauktā recidivējošā bazālo šūnu karcinomā;  $\alpha$ -GMA pozitivitāte asinsvadu sieniņās**

$\alpha$ -GMA imūnhistoķīmija,  $\times 200$ .



3.18. attēls.  **$\alpha$ -GMA negatīvās audzēja ligzdas un jauktas recidivējošas BŠK pavedienus ieskauj ar aktīvu bagāta stroma**

$\alpha$ -GMA imūnhistoķīmija,  $\times 200$ .

Virspusējam apakštipam bija vāja  $\alpha$ -GMA ekspresija gan audzējā, gan stromā, turklāt pēdējā bieži samazinājās zonās ar iekaisuma infiltrāciju (3.19. attēls).

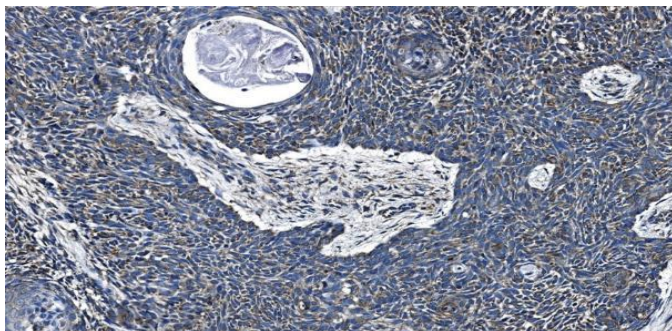


**3.19. attēls. Vāja *a*-GMA audzēja ekspresija, kas novērota primārajā virspusējā bazālo šūnu karcinomā; stroma ir infiltrēta ar iekaisuma šūnām, *a*-GMA pozitīvāte asinsvadu sienīnās**

*a*-GMA imūnhistoķīmija,  $\times 100$ .

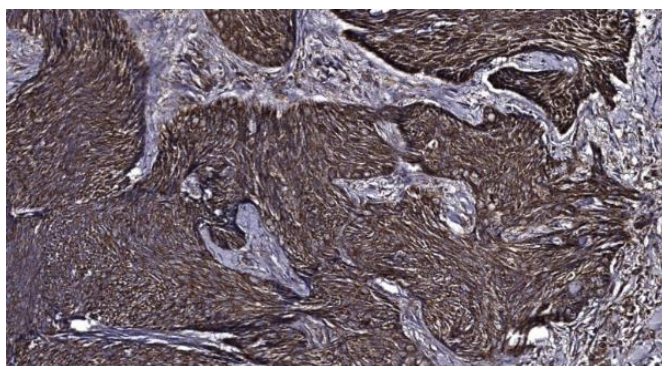
Salīdzinot *a*-GMA ekspresiju BŠK apakštipos, noteicām, ka audzēja ekspresija, kas ir virspusējā apakštipā, būtiski atšķiras, salīdzinot ar visiem pārējiem apakštipiem – nodulārajiem ( $p < 0,0001$ ), mikronodulārajiem ( $p = 0,003$ ), infiltratīvajiem ( $p < 0,0001$ ) un jaukto ( $p < 0,0001$ ). Tāpat arī infiltratīvajā apakštipā stromas ekspresija būtiski atšķīrās, salīdzinot ar visiem pārējiem apakštipiem – nodulāro ( $p < 0,0001$ ), mikronodulāro ( $p = 0,036$ ), virspusējo ( $p < 0,0001$ ) un jaukto ( $p < 0,001$ ).

Līdzīgi *a*-GMA ekspresijai nodulāras audzēju masas un stroma pārsvarā uzrādīja vāju SHh imūnpozitivitāti (3.20. attēls). Jāatzīmē, ka gandrīz puse infiltratīvo BŠK uzrādīja spēcīgu SHh ekspresiju neoplastiskajos izaugumos un pavedienos (3.21. attēls). Līdzīga imūnreakcija tika noteikta kādai trešdaļai jauktu, mikronodulāro un virspusējo BŠK, bet pārējās – mērenu vai spēcīgu SHh ekspresiju. SHh stromas ekspresija bija mērena vai izteikta (3.22. un 3.23. attēls).



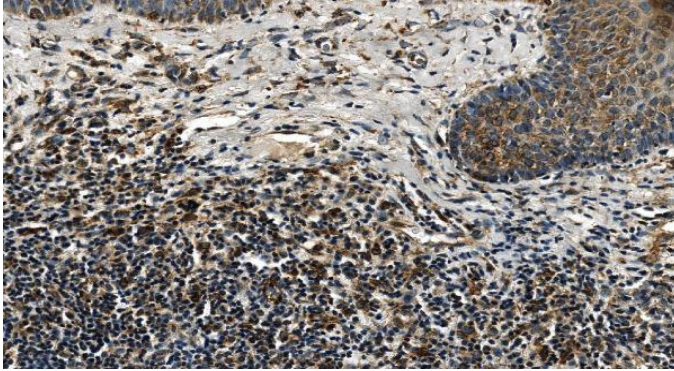
**3.20. attēls. Nodulāras bazālo šūnu karcinomas masas un audzēja stroma ar vāju SHh ekspresiju**

SHh imūnhistoķīmija, ×250.



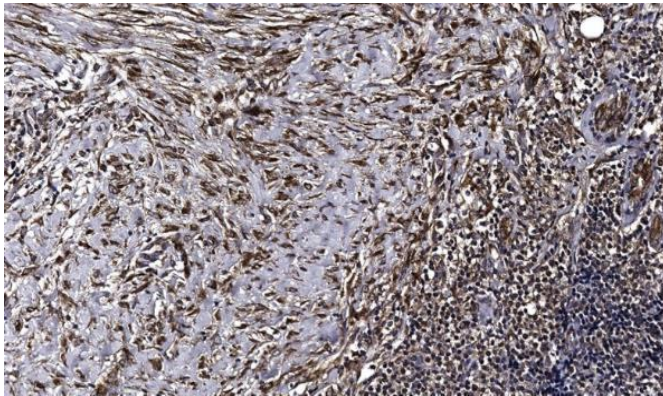
**3.21. attēls. Jauktā primārā bazālo šūnu karcinoma parāda neregulārus audzēja pavedienus ar izteiktu SHh ekspresiju; audzēja stromā arī ekspresē SHh**

SHh imūnhistoķīmija, ×200.



3.22. attēls. SHh ekspresija audzējā kopā ar vāju vai mērenu ekspresiju stromā, kas novērota primārajā virspusējā bazālo šūnu karcinomā; izteikta stromas infiltrācija

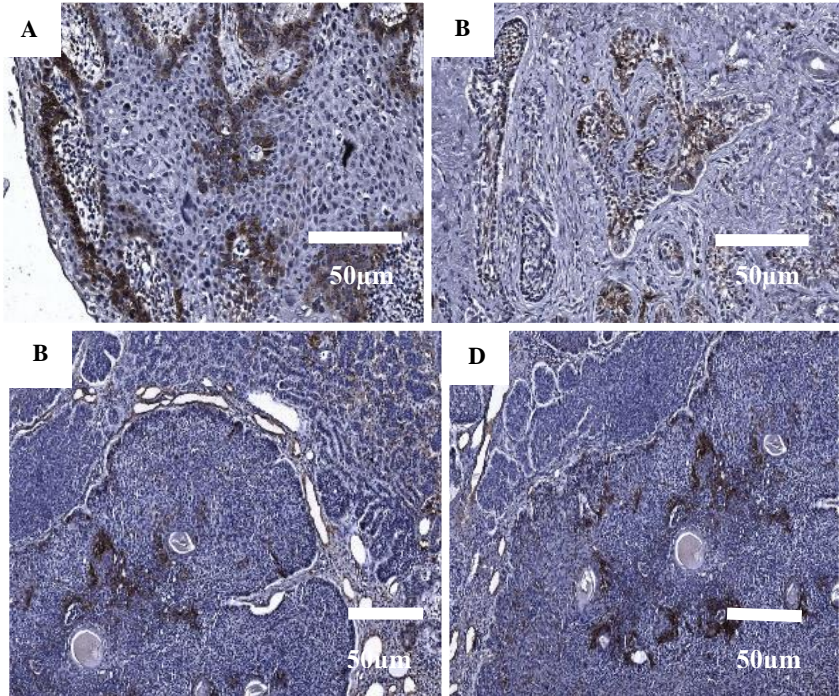
SHh imūnhistokīmija,  $\times 250$ .



3.23. attēls. Difūza, regulāra, mērena līdz izteikta stromas SHh ekspresija primārajā virspusējā bazālo šūnu karcinomā

SHh imūnhistokīmija,  $\times 200$ .

Analizējot podoplanīna (PDPN) marķiera ekspresiju BŠK, tika noteikts, ka daži audzēji neekspresēja vai vāji ekspresēja PDPN (3.24.B, C, D attēls). Savukārt citi BŠK ekspresēja PDPN bazālajā daļā (3.24.A attēls).



3.24. attēls. **Podoplanīna ekspresija audzējā un stromā**

(A) Neregulāras formas audzēja mezgli, kas icaug stromā primārā BŠK gadījumā.

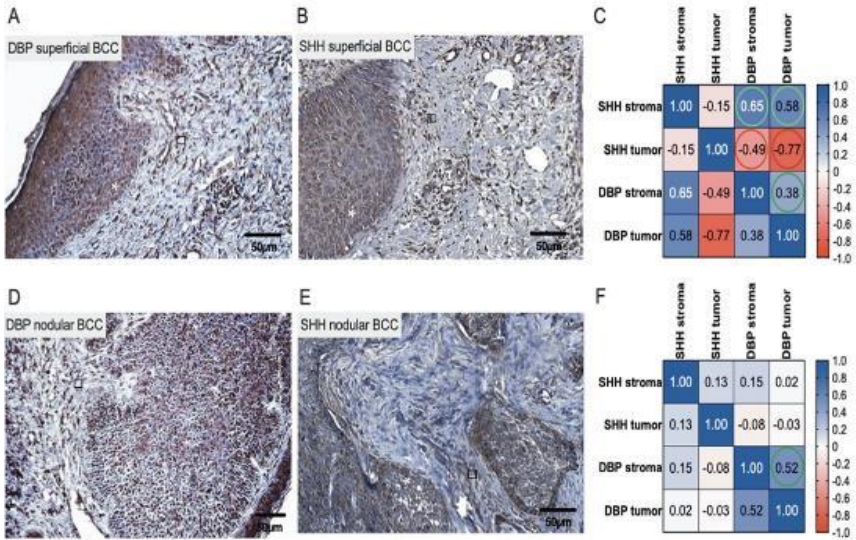
Vairākas audzēja šūnas bazālajā daļā ekspresē PDPN,  $\times 200$ . (B) Audzēja šūnu pavedieni jauktas recidivējošās BŠK gadījumā uzrāda PDPN imūnpozitivitāti, savukārt daži – tās iztrūkumu,  $\times 200$ . (C, D) Jaukta tipa BŠK raksturo gan lieli mezgli, gan mikronodulārā struktūra. Noteikta izteikta perēklveida PDPN ekspresija, kā arī mazāk izteikta gar audzēja bazālo membrānu; mikronodulārās struktūras ļoti vāji ekspresē PDPN,  $\times 100$ .

### 3.5.3. DVP un SHh korelatīvā imūnhistoķīmiskā analīze zema un augsta riska BŠK

Lai labāk izprastu D vitamīna potenciālo aizsargājošo darbību BŠK attīstības gadījumā, DVP ekspresija tika imūnhistoķīmiski noteikta zema un augsta riska audzējos un korelēta ar SHh ekspresiju tajos. DVP un SHh marķieru korelācijas analīze tika veikta atsevišķi dažādiem BŠK tipiem. Ādas DVP un

SHh ekspresiju novērtējumi, kas novēroti zema un augsta riska BŠK, izmantojot imūnhistoķīmijas metodi un korelācijas analīzi, ir attēloti un apkopoti 3.25. un 3.26. attēlā. Virspusējā BŠK galvenokārt tika noteikta mērena abu audu marķieru ekspresija (3.25.A un B attēls). Turklāt virspusējā BŠK tika konstatēta spēcīga negatīva korelācija starp SHh un DVP ekspresiju gan audzējā ( $r = -0,77$ ), gan stromā ( $r = -0,49$ ) (3.25.C attēls). Jāatzīmē, ka vāja DVP ekspresija parasti tika demonstrēta audzēja mezglu perifērajās šūnās ar trūcīgu citoplazmu, kas demonstrēja tipisku palisadēšanos. Turpretim diferencētās audzēja šūnās tika konstatēta mērena vai spēcīga DVP ekspresija (3.25.D attēls). Vienlaikus vāja SHh ekspresija tika demonstrēta mezglainās BŠK struktūrās (3.25.E attēls). Mezglainajā BŠK DVP marķierim tika noteikta korelācija starp paša audzēja un stromas ekspresiju (3.25.F attēls).

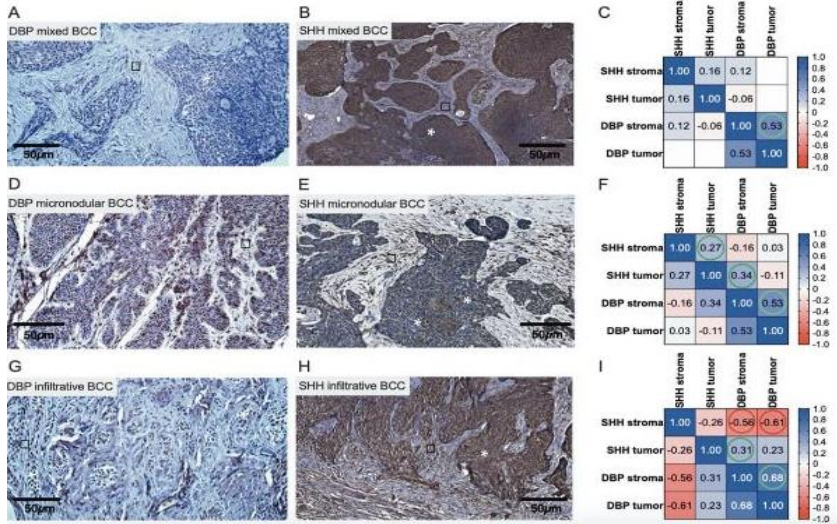
Kopumā izteiktāka SHh ekspresija tika novērota audzēja šūnās ar zemu DVP ekspresiju, un otrādi (3.26.A un B, D un E, G un H attēls). Gan infiltratīvajās, gan jauktajās BŠK tika konstatēta augsta SHh ekspresija audzēja pavedienos, kā arī mazās neregulārās audzēja šūnu grupiņās pavedieni, kas iesaistītas stromā (3.26.B un H attēls). Raksturīgi, ka augsta riska infiltratīvās BŠK, bieži ar trūcīgu citoplazmu, bija ar vāji izteiktu DVP (3.26.G attēls). Novērtējot augsta riska BŠK, tika noteiktas korelācijas starp abiem – DVP un SHh – marķieriem audzējā un stromā (3.26.C un F attēls). Infiltratīvajā BŠK tika konstatēta negatīva korelācija starp DVP un SHh stromālo ekspresiju ( $r = -0,56$ ) (3.26.I attēls).



### 3.25. attēls. Ādas DVP un SHh ekspresijas novērtējums zema riska bazālo šūnu karcinomās, izmantojot imūnhistoķīmijas metodi

Bazālo šūnu karcinomu paraugu attēli, kas demonstrē audzēja (\*) un tā stromas (□) struktūras, iezīmētas ar anti-DVP (**A** un **D**) un anti-SHh (**B** un **E**) antivielām.

Mērogs: 50 μm. Korelogrammas, kas izceļ asociācijas starp DVP un SHh ekspresiju virspusējās (**C**) un mezglainās (**F**) BŠK. Spēcīgas negatīvas korelācijas starp SHh un DVP ir apzīmētas ar sarkanu krāsu (**C**).

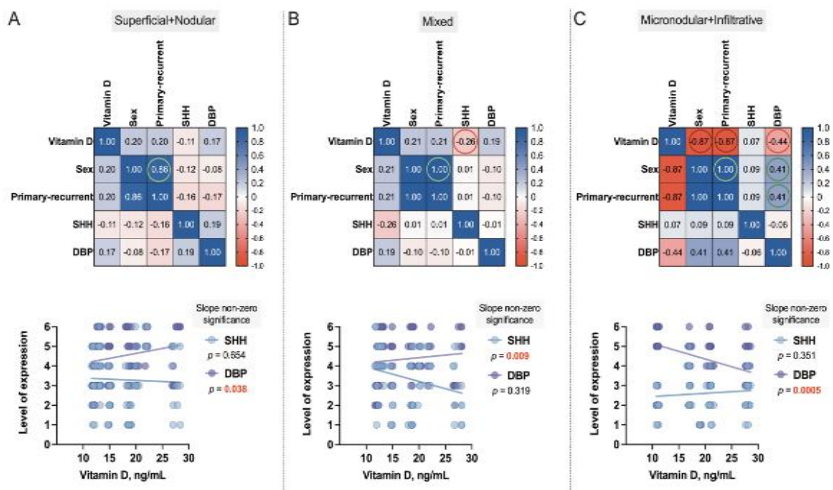


### 3.26. attēls. Ādas DVP un SHh ekspresijas novērtējums augsta riska bazālo šūnu karcinomās, izmantojot imūnhistoķīmijas metodi

BŠK paraugu attēli, kas demonstrē audzēja un tā stromas struktūras, iezīmētas ar anti- DVP (**A, D, G**) un anti-Shh (**B, E, H**) antivielām. Mērogs: 50 μm. Korelogrammas, kas izceļ asociācijas starp DVP un SHh ekspresiju jauktās (**C**), mikronodulārajās (**F**) un infiltratīvajās (**I**) BŠK. Negatīvās korelācijas starp SHh un DVP ir atzīmētas ar sarkanu krāsu (**I**).

Visbeidzot, lai labāk novērtētu sarežģītās asociācijas starp asins seruma D vitamīna līmeni, kas konstatētas Latvijas pacientu grupā ar dažāda veida BŠK un DVP, un SHh ādas audu ekspresiju, ko apstiprināja IHĶ lietošana šīm personām, tika veikta Spīrmena korelācijas analīze (3.27.A–C attēls). Līdzīgi rezultātiem, kas iegūti un interpretēti, aprakstot dendrogrammu (3.9. attēls), šajā novērtējumā vīriešu dzimuma pacientiem D vitamīna līmenis asins serumā bija zemāks nekā sievietēm, kā arī attīstījās augsta riska ( $r = -0,87$ ) un recidivējošie ( $r = -0,87$ ) BŠK audzēji.





3.27. attēls. **Pētīto mainīgo lielumu korelogrammas**

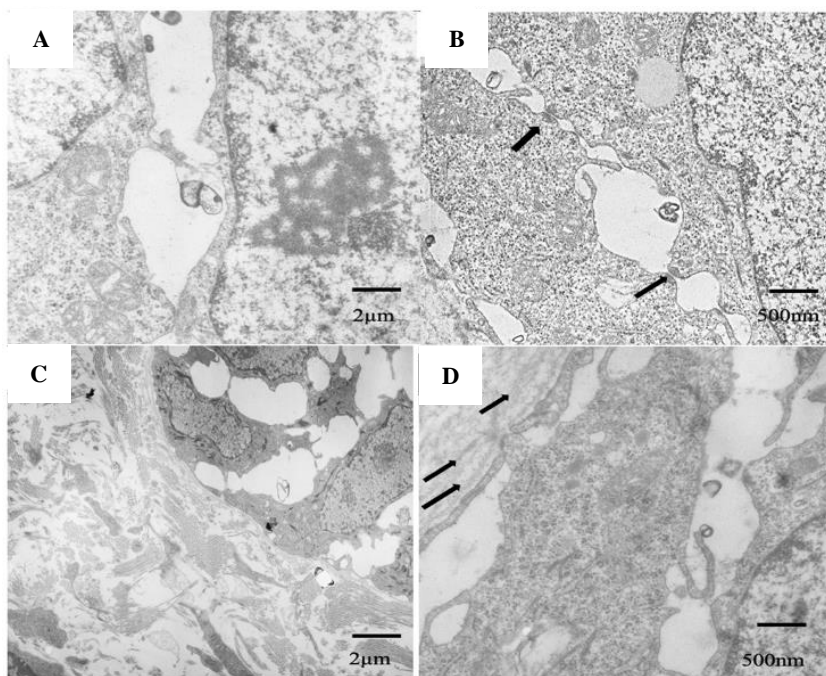
Korelogrammas attēlo sarežģītās asociācijas starp asins seruma D vitamīna līmeni, kas noteikts 79 pacientiem ar dažādiem BŠK veidiem, un DVP un SHH ādas audu ekspresiju, ko apstiprina IHĶ lietošana šīm personām. Katrs punkts apzīmē vienu mērījumu. Ekspresijas līmeņi tiek novērtēti kā BŠK audzēja un tā stromas audu indeksu summa. Šajos grafikos korelācijas koeficienti ir iekrāsoti atbilstoši vērtībai. Pozitīvās korelācijas ir parādītas zilā krāsā, bet negatīvās korelācijas ir sarkanā krāsā.

Krāsu intensitāte ir proporcionāla korelācijas koeficientiem.

### 3.6. BŠK uzbūves ultrastrukturālā analīze

Visbeidzot, lai labāk novērtētu audzēja arhitektūru šūnu līmenī, tā tika analizēta, izmantojot EM. BŠK šūnas raksturoja neregulāra forma, starpšūnu telpas bija izteikti paplašinātas. Tika noteikts arī šūnu savienojumu zudums, tika saglabāti tikai primitīvi savienojumi (3.28.A, B, C attēls). Audzēja šūnas citoplazmā tonofilamenti tika novēroti reti, un to kūlīši bija mazi. Šūnu citoplazmā tika novēroti arī atsevišķi neliela izmēra mitohondriji ar gaišām un nedaudz vakuolizētām kristām, brīvās ribosomas. Šūnas kodola forma bija iecapaļa, reizēm neregulāra, bieži tika noteikti kodoliņi. BM izmaiņas ietvēra

multilamināciju, šķelšanos un integritātes zudumu ar *lamina densa* pārtraukumu parādīšanos (3.28.D attēls).



### 3.28. attēls. Audzēju šūnu un stromas ultrastruktūras izmaiņas jauktas bazālo šūnas karcinomas gadījumā

(A, B) Divu audzēja šūnu fragmenti, redzamas paplašinātas starpšūnu telpas; saglabāti tikai primitīvi šūnu kontakti (bultiņas). Citoplazmā nelieli mitohondriji, brīvās ribosomas, atsevišķi tonofilamenti,  $\times 15\ 000$ . (C) Audzēja bazālā daļa, kuru ieskauj kolagēnās šķiedras saturoša stroma,  $\times 4000$ . (D) Bazālās membrānas *lamina densa* uzrāda neviendabīgu izskatu un multilamināciju (bultiņas),  $\times 15\ 000$ .

## 4. Diskusija

Šajā pētījumā mēs (1) novērtējām 79 primāro un recidivējošo BŠK rašanos un izplatību, kas attīstījušās galvas un kakla rajonā; (2) veicām pacientu klīnisko un dermatoskopisko kontroli, analizējot biežākās pazīmes un lokalizācijas atkarībā no BŠK tipa; (3) noteicām D vitamīna līmeni asins serumā visiem šajā pētījumā iesaistītajiem BŠK pacientiem; (4) veicām imūnhistoķīmisko analīzi galvenajām BM sastāvdaļām – IV tipa kolagēnam un laminīnam, kas norobežo audzēju un aptur tā izplatīšanos un, (5) analizējām  $\alpha$ -GMA, PDPN, DVP un SHh ādas audu ekspresiju, kas konstatēta lielākajā daļā audzēja un apkārtējās stromas dažādu apakštipu BŠK, atspoguļojot šīs neoplazmas bioloģijas sarežģītību.

Mūsu pētījuma rezultāti ir jāaplūko, ņemot vērā dažus ierobežojumus. Par potenciālu ierobežojumu var uzskatīt mērenu pētījuma kohortas izlases lielumu. Slimības recidīvs tika novērots tikai divu gadu novērošanas periodā. Vienlaikus iegūto rezultātu un izdarīto secinājumu atbilstību pastiprina šī pētījuma perspektīvais raksturs. Lai izmērītu kopējo D vitamīna līmeni serumā BŠK pacientiem, tika izmantots tikai parasts hemiluminescences imūntests. Visbeidzot BŠK audu lielums, kas iegūts ar ķirurģisku izgriešanu galvas un kakla rajonā, bija cieši saistīts ar ārstēšanas nepieciešamību, tāpēc tas izskaidro dažas grūtības, kas saistītas ar veikto histopatoloģisko un imūnhistoķīmisko analīžu skaitu.

Iepriekš tika pierādīts augsts BŠK biežums, tas veido aptuveni 80 % no visiem nemelanocitāriem ādas vēža gadījumiem un parasti parādās galvas un kakla rajonā, daļās, kas pakļautas saulei (Rubin et al., 2005; Carucci et al., 2008; Fernanda et al., 2017). Mēs atklājām, ka dzimumu sadalījums ir līdzīgs Mavardi un līdzautoru darba rezultātiem (Mawardī et al., 2016) un parāda sieviešu pārsvaru, savukārt vecums diagnozes noteikšanas brīdī bija līdzīgs, salīdzinot šo pētījumu ar iepriekšējiem. Novērtējot ādas fototipu pacientiem, kas iekļauti

konkrētajā pētījumā, mēs atklājām, ka visizplatītākais bija II ādas fototips. Tas raksturīgs Baltijas reģionā dzīvojošajiem iedzīvotājiem. Vienlaikus tiek atzīts, ka personām ar I–III ādas fototipu ir lielāks ādas vēža attīstības risks (Wright et al., 2011).

Šajā pētījumā mēs esam pierādījuši, ka BŠK var izraisīt nopietnus bojājumus tās lokālas recidivēšanas dēļ un sejas vidusdaļa ir jutīgāka audzēja attīstībai. Degunu, vaigu un plakstiņu apgabalus, kas hroniski pakļauti saules gaismai, biežāk ietekmēja gan primārie, gan recidivējošie audzēji nekā BŠK citās predilekcijas vietās. Saskaņā ar mūsu rezultātiem lielākā daļa jaukta tipa BŠK ir lokalizēti deguna un nazolabiālajā ādas zonā, turklāt lielākajai daļai šo audzēju ir lielāks izmērs nekā citu apakštipu audzējiem. Šie rezultāti atbilst tiem, ko demonstrēja Mavardi un līdzautori (Mawardi et al., 2016), kad tika pētīta lokāla, bet ne attāla BŠK recidivēšana un agresivitāte.

Analizējot dermatoskopiskās un histopatoloģiskās korelācijas, kļūst skaidrs, ka audzēja agresīvais potenciāls netiek iegūts tikai ar audzēja palielināšanos laika gaitā. Pētījumā tika diagnosticēti ļoti mazi audzēji pēc izmēra, kas histoloģiski bija apstiprināti kā visnotaļ agresīvi. Mūsu pētījums apstiprināja un mūsu dati saskan ar citu autoru minēto, ka jāņem vērā agresīvo audzēju lokalizācija, jo tie bieži atrodas rajonos, kurus šķērso liela izmēra artērijas (Lammers et al., 2011). Pēdējos gados ādas audzēju diagnostika tiek pilnveidota, izmantojot neinvazīvu un lētu *in vivo* dermatoskopiskās izmeklēšanas metodi. Šī modernā un ērtā izmeklēšanas metode ļauj instrumentāli raksturot audzēja īpašības, veicinot tā diagnozes precizitāti.

Biežākā jaukta BŠK dermatoskopiskā atrade ir arborizētu asinsvadu un īsu, smalku teleangiektāziju klātbūtne. Biežāk nekā citas atrades tika novēroti arī spīdīgi, balti laukumi, baltas svītras, hrizalīdas, bezstruktūras zonas no pienaini rozā līdz sarkanam fonam, izcūlojums un vairākas nelielas erozijas. Iepriekš minētie dermatoskopiskie kritēriji, kurus mēs atzinām par piemērotiem

kritērijiem, izpētot agresīvu BŠK, korelē ar citu autoru rezultātiem un atbilst peritumorālajam iekaisumam, kas bieži sastopams agresīvām BŠK formām (El-Sayed et al., 2020; Zalaudek et al., 2010).

Tāpat, pēc šī pētījuma rezultātiem, 94,9 % Latvijas pacientu ar primāru un recidivējošu galvas un kakla BŠK tika konstatēts D vitamīna deficīts. Kopumā 5,1 % no izmeklētajiem pacientiem bija pietiekams D vitamīna līmenis 30,0–40,0 ng/mL. Šie dati saskan ar Latvijas Osteoporozes un kaulu metabolo slimību asociācijas, Rīgas Stradiņa universitātes un Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas speciālistu 2015. gadā Latvijā veiktā D vitamīna deficīta pētījuma rezultātiem (Bouillon et al., 2020; Mukane et al., 2015). Līdzīgi rezultāti nāk no kaimiņvalstīm, kuras ziņo par D vitamīna deficītu, veicot plašu Zviedrijas kohortas pētījumu, apstiprinot vidējo aprēķināto D vitamīna līmeni 19,9 ng/mL (Samuel et al., 2008), kas ir nedaudz augstāks, nekā noteikts Latvijas BŠK kohortā. Mūsu pētījumā savāktie un analizētie dati par D vitamīnu tika iedalīti trijās galvenajās grupās, kas tika izveidotas, izmantojot hierarhiskās klasterizācijas metodi. Pirmo pārstāvēja vīrieši ar zemu D vitamīna līmeni asins serumā un lieliem, galvenokārt augsta riska un recidivējošiem BŠK audzējiem. Tāpēc var droši apgalvot, ka vīriešu dzimums un zems D vitamīna līmenis asinīs ir riska faktori agresīvu BŠK veidu attīstībai. Otro grupu pārstāvēja gan vīrieši, gan sievietes ar ļoti atšķirīgu D vitamīna līmeni asins serumā un maza izmēra primāriem, tomēr augsta riska BŠK audzējiem. Visbeidzot trešo grupu pārstāvēja vīrieši un sievietes ar atšķirīgu D vitamīna līmeni serumā un maza izmēra primāriem un mazāk agresīviem BŠK audzējiem.

Citu autoru pētījumos tiek analizēti gan audzēja proliferācijas marķieri, gan tie, kas būtu nozīmīgi BŠK un ĀPK diferenciāldiagnostikā (Alhumaidi, 2012; Ramezani et al., 2020). Savukārt mūsu darbā tika padziļināti pētīta BŠK vietējā agresivitāte un invazitāte, tam izmantojot attiecīgus imūnhistoķīmijas marķierus. Iepriekš veiktajos pētījumos tiek demonstrēts, ka IV tipa kolagēna

izzušana BM *lamina densa* ir nozīmīga audzēja šūnu invāzijai (Fang et al., 2014), un IV tipa kolagēna ekspresijas izmaiņas, kā arī infiltratīva audzēja augšana tiek analizēta agresīvos urīnpūšļa audzējos (Miyake et al., 2017). Tiek uzskatīts, ka kolagēna izmaiņas izraisa biomehāniskus signālus, kurus uztver gan audzēja, gan stromas šūnas, tādējādi izraisot bioloģisko notikumu kaskādi (Fang et al., 2014). Šajā pētījumā mēs parādījām BM integritātes izmaiņas un IV tipa kolagēna izzušanu, kā rezultātā palielinājās audzēja invazivitāte jauktā un infiltratīvā BŠK. Mūsu dati par BM struktūru un kolagēna un laminīna ekspresiju tajā ir saskaņā ar tiem, kas ir atrodami pieejamajā literatūrā (Quatresooz et al., 2003; Gozdzińska et al., 2016; Khlebnikova et al., 2020). IV tipa kolagēna un laminīna ekspresijas līmenis svārstījās no zema līdz mērenam un augstam, tomēr divām trešdaļām BŠK paraugu bija zems. Pētīto BM molekulu IHK ekspresija bija pārtraukta vai tās nebija BŠK apgabalos, kas uzrādīja agresīvu augšanu. Šie mūsu rezultāti saskan ar citu autoru datiem (Marasa et al., 2008; Peterson et al., 2015).

Papildus BM molekulu analīzei tika novērtēta PDPN marķiera ekspresija un analizētas BŠK ultrastrukturālās īpatnības invāzijas frontē. Pētījumi, kas demonstrējuši ar audzēju saistītu gēnu ekspresiju plakanšūnu karcinomas gadījumā, ir pierādījuši PDPN nozīmi normālā un ļaundabīgā epidermas homeostāzē (Acton, 2012; Baars et al., 2015) un uzsvēruši šī marķiera nozīmi audzēja šūnu migrācijas veicināšanā (Wicki et Christofori, 2007). Šajā pētījumā mēs parādījām neregulāras formas invazīvus audzēja pavedienus, izteikti iezīmētus ar anti-PDPN antivielu, kas atspoguļo BŠK vietējās agresivitātes pazīmes. Vienlaikus lielas un vienmērīgi iezīmētas audzēju mezglu masas parādīja vājāku PDPN ekspresiju un pat tās neesamību. Šīs atšķirības PDPN marķiera ekspresijā var atspoguļot audzēja vietējās agresivitātes īpatnības un palīdzēt prognozēt BŠK gaitu (Wojciechowska-Zdrojowy et al., 2016). Mūsu pētījumā PDPN ekspresijas palielināšanos, kura tika novērota audzēja invāzijas

frontē gaismas mikroskopijas līmenī, padziļināti analizējām, veicot arī šī rajona ultrastrukturālo novērtējumu elektronu mikroskopā. Ar tā palīdzību mēs demonstrējām šūnas citoplazmas tonofilamentu samazināšanos, šūnu savienojumu vienkāršošanos un izzušanu, kā arī BM pārtraukumu rašanos. Šajā pētījumā ir noteikts, ka izmaiņas BM integritātē un augstāku PDPN ekspresiju audzēja invāzijas frontē pārsvarā uzrāda agresīvas BŠK formas, tādas kā infiltratīva, mikronodulāra un jauktā.

Iepriekš veiktie pētījumi ir norādījuši uz audzēja novērtēšanas nepieciešamību, pamatojoties uz izpratni par AM bioloģiju un funkcijām (Lesack et al., 2012). Turklāt AM izpētes lietderība, izmantojot imūnhistoķīmijas metodi, ir pierādīta nesen aprakstītajos pētījumos par BŠK agresivitāti (Simin et al., 2019). Ar *a*-GMA bagātā fenotipa šūnu atbilstība stromas komponentā agresīvos BŠK variantos – mikronodulārajos un morfeja (*morphoea*) tipa – tika analizēta arī citu autoru pētījumos (Mercut et al., 2014; Adgeboyega et al., 2010). Mūsu imūnhistoķīmiskās atrades saistībā ar *a*-GMA marķieri apstiprina šos pierādījumus un būtiski tos papildina, analizē iekļaujot gan visus primārās BŠK tipus, gan BŠK recidīvus. Turklāt Rumānijas pētnieku iegūtie rezultāti par augšlūpas BŠK liecina par *a*-GMA reaktivitātes novērtējuma lietderību arī invāzijas frontē (Sălan et al., 2018). Jāatzīmē, ka ļoti maz pētījumos tiek ziņots par *a*-GMA marķiera vērtējumiem, raksturojot audzēja un stromas komponentus, īpaši dažādu BŠK apakštipu vai primāro un recidivējošo audzēju gadījumos (Bozdogan et al., 2002). Savukārt mūsu pētījums, kas balstīts uz rūpīgām analizēto marķieru statistiskām novērtēšanām, sniedza daudz nozīmīgu informāciju par šo marķieru lietderību, tostarp par izteiktas stromas *a*-GMA ekspresijas parādīšanos BŠK recidīvēs. Aberanta SHh signālceļa aktivācija ir BŠK patogēneses pazīme (Chmiel et al., 2022; Deng et al., 2022). Tas izskaidro mūsu mērķi analizēt šo marķieri BŠK audos. Iepriekš veiktie pētījumi liecina, ka SHh var sekmēt stromā esošo fibroblastu pārvēršanu miofibroblastos, izraisot

kolagēna uzkrāšanos un ādas sabiezēšanu pelēm (Horn et al., 2012). Šī atrade izskaidro arī *a*-GMAekspresijas palielināšanos BŠK stromā. Turklāt tika pierādīta ar SHh signālceļa saistīta parakrīnā mehānisma nozīme AMHanna et al., 2016; Katoh, 2019). Dati par šī signālceļa izmaiņām primārajā un recidivējošā BŠK ir ierobežoti. Šajā pētījumā mēs esam novērtējuši SHh primārajā un recidivējošā audzējā, kā arī piecos dažādos BŠK apakštipos, izmantojot imūnhistoķīmijas un bioinformātikas metodes. Mēs pierādījām izteiktas SHh ekspresijas paaugstināšanos gan audzēja, gan stromas komponentā. Turklāt šī izteiktā SHh ekspresija tika demonstrēta agresīvos variantos – infiltratīvajos, jauktajos un mikronodulārajos, kas saskan ar Casas un kolēģu demonstrētajiem rezultātiem (Casas et al., 2017).

Vienlaikus jāatzīmē, ka starp BŠK apakštipiem, kas iepriekš tika uzskatīti par agresīviem variantiem, mēs atklājām SHh ekspresijas izmaiņas paralēli *a*-GMAekspresijas pazemināšanai audzēja virspusējā apakštipā, kas tika uzskatīts par neagresīvu. Tas liek domāt, ka SHh piedalās normālā un ar malignu šūnu augšanu ietekmētā epidermas homeostāzē, bet šīs pārmaiņas nav pilnībā izprastas. Visbeidzot mēs varam secināt, ka primāro un recidivējošu ādas vēža formu morfoloģisko un imūnhistoķīmisko īpašību novērtējums un iespējamās audzēja īpašību izmaiņas ir svarīgas prognostisko faktoru noteikšanai un adekvātas slimības ārstēšanas metodes izvēlei. SHh saistās ar PTCH1 receptoru, kas darbojas kopā ar SMO, lai sekmētu mērķa molekulu transkripcijas procesu. Tāpēc ar SHh saistīto vēža, tostarp BŠK, mērķa terapijai nākotnē varētu būt daudz plašāks klīniskais lietojums (Katoh, 2019; Jacobsen et al., 2017; Tolani et al., 2018; Carpenter et al., 2018). Turpināta šo procesu izpēte, iespējams, atklās jaunus BŠK un M regulēšanas mehānismus, kuru ietekme ir ārpus SHh signālceļa kontroles.

Šajā pētījumā D vitamīna līmenis asins serumā tika pētīts Latvijas pacientu grupā ar primāru un recidivējošu galvas un kakla BŠK un korelēts ar



ādas audu SHh un DVP imūnhistoķīmiskā novērtējuma rezultātiem. Pētījumā tika noteikta korelācija starp audzēja lielumu un D vitamīna līmeni asins serumā, un šis novērojums saskan ar citu pētījumu datiem (Kim et al., 2019). Turklāt tika pierādīta saistība starp augstu DVP un zemu SHh audu ekspresiju, kas konstatēta mazākos audzējos ar labvēlīgu gaitu, piemēram, virspusēju un mezglainu BŠK. Svarīgi ir tas, ka zema DVP ekspresija un augsta SHh ekspresija tika novērota jauktos un infiltratīvos BŠK, kas ļauj izteikt pieņēmumu par D vitamīna aizsargājošās iedarbības deficītu pacientiem ar augsta riska audzējiem un tendenci uz recidīvu pēc ārstēšanas. Vienlaikus kļūst skaidrs, ka saikne starp saules gaismas iedarbību un BŠK nav vienkārša, jo augsts intermitējošas UV līmenis, šķiet, ir vairāk saistīts ar audzēja attīstību uzņēmīgiem indivīdiem, nevis ar ilgstošu iedarbību, kā tas redzams laika gaitā arī strādājošiem. Attiecīgās literatūras analīze liecina, ka 25(OH)D metabolisms līdz 1,25(OH)<sub>2</sub>D, iespējams, notiek vairākās audu šūnās, tostarp keratinocītos, kas ekspresē DVR un satur specifisku enzīmu CE27B1 (Thanasitthichai et al., 2019). Turklāt dažas epitēlijšūnas, tostarp piena dziedzeru un nieru kanāliņu šūnas, ekspresē megalīnu un kubilīnu, kas veicina 25(OH)D<sub>3</sub>-DVP uzņemšanu un piesaisti DVR (Atoum et al., 2017; Estebanez et al., 2018). Intracelulāri 25(OH)D<sub>3</sub>-DVP saistās ar citozola aktīnu, veidojot kompleksu, un šai saistīšanai nav nepieciešami D vitamīna ligandi (Akiba et al., 2018). DVP audu ekspresija, visticamāk, ir saistīta ar labvēlīgām prognostiskām īpašībām, piemēram, mazu audzēja izmēru un zemu invazivitāti. Tas atbilst pierādījumiem, ka DVP pozitīvi audzēji ir saistīti ar samazinātu metastāžu risku un mirstību no dažādiem vēža veidiem. Pētījumu rezultāti, kas korelē ar mūsu pētījuma rezultātiem, liecina par ievērojami zemu DVP imūnhistoķīmisko krāsojumu progresējošu audzēju gadījumā (Tang et al., 2012). Hierarhiskās klasterizācijas analīzes izmantošana ir parādījusi, ka uzņēmīgiem vīriešu kārtas indivīdiem ar zemu D vitamīna līmeni asinīs ir agresīvas un recidivējošas BŠK attīstības risks.

BŠK histopatoloģijas neviendabīgumu ir pierādījuši citi autori un mēs (Bartoš et al., 2016). Turklāt liels jauktu BŠK īpatsvars, kam bieži ir agresīva augšana un kam nepieciešama ķirurģiska izgriešana ar robežu kontroli, tika demonstrēts un analizēts gan citu autoru, gan šajā pētījumā (Wu et al., 2014). Histomorfoloģiski infiltratīvām, morfeja tipa, mikronodulārām un virspusējām BŠK ir noteiktas dažas kopīgas agresivitātes pazīmes – pastiprināta šūnu nekroze, neoplastisku šūnu un stromas šūnu proliferācija, stromas ievilkšana, dziļāka audzēja invāzija un vājāka tā ierobežošana (Stanoszek et al., 2017). Neskatoties uz augsto BŠK sastopamību, ir ļoti maz pētījumu, kuros aprakstītas dažādu audzēja apakštipu īpatnības un iespējamās atšķirības. Ir dažādas BŠK ārstēšanas metodes, sākot no minimāli invazīvām metodēm līdz ķirurģiskai terapijai, kurā audzēja histopatoloģiskās atrades ir viens no noteicošajiem faktoriem atbilstošas ārstēšanas metodes izvēlē (Drucker et al., 2018). BŠK diagnostikā un ārstēšanā iesaistītajiem speciālistiem ir jāapzinās veiksmīga un droša pacientu ārstēšana bieža recidīva dēļ pat pilnīgas primārās ķirurģiskas audzēja izņemšanas gadījumā (Paoli et al., 2019).

## Secinājumi

1. Septiņdesmit deviņu galvas un kakla ādas BŠK pacientu grupā 46 bija sievietes un 33 vīrieši, vidējais vecums attiecīgi 70 un 64 gadi. Klīniski prevalēja II un III ādas fototips pēc Ficpatrika (*Fitzpatrick*) skalas atšķirībā no Eiropas, kur dominē I un II ādas fototips. Gan primārās, gan recidivējošās BŠK visbiežāk attīstījās saules iedarbībai pakļautās sejas daļās – degunā un vaigos, kas saskan ar pasaules tendencēm. It īpaši būtiska ir deguna rajona BŠK recidivēšanās divu gadu laikā, kas liecina par precīzas ķirurģiskas izgriešanas un histopatoloģiskās izvērtēšanas nepieciešamību, īpaši jaukta BŠK morfoloģiskā tipa gadījumā. BŠK visbiežāk izpaužas kā lēni augošs ādas krāsas mezgls vai eritematozs plankums ar eroziju vai izčūlojumu.
2. Pamatojoties uz dermatoskopisko izmeklējumu rezultātiem, var paredzēt augsta riska BŠK attīstību. Arborizēto asinsvadu, īso un smalko teleangiektāziju, spīdīgo, balto bezstrukturālo apgabalu, čūlu un balto svītru jeb saišķu, kas dermatoskopiski iziet ārpus veidojuma klīniskajām robežām, esība norāda uz agresīvu gaitu BŠK. Turklāt tas liecina par dermatoskopiskas izmeklēšanas nepieciešamību ekscīzijas robežu novērtēšanai pirmsoperācijas periodā.
3. Morfoloģiskā audzēja dažādība tika noteikta pētījuma pacientu kohortā; augsta riska BŠK ir infiltratīvo, mikronodulāro un jaukto tipu audzēji, savukārt nodulāra un virspusējā BŠK ir audzēji ar zemu recidīva risku. Divu vai vairāku dažādu histopatoloģisko BŠK tipu kopēja pastāvēšana vienā anatomiskajā reģionā ir ļoti reta. Bazālās membrānas integritātes zudums, ko apstiprina imūnhistoķīmiskās reakcijas ar antilamināna un IV kolagēna antivielām un audzēja ultrastrukturālo īpašību izpēte, biežāk novērots infiltratīvajos un mikronodulārajos BŠK; tiem ir arī raksturīga

palielināta peritumorāla un stromāla  $\alpha$ -GMA ekspresija. Podoplanīna ekspresijas palielināšanās audzēja bazālajā slānī liecina par neoplastisko šūnu invazitāti. SHh ir būtisks faktors, kas regulē audzēja šūnu uzvedību un stromālo transformāciju, iespējams, gan autokrīno, gan parakrīno mehānismu ceļā. Augsta riska BŠK raksturo paaugstināta SHh ekspresija un audzēja invāzija stromā, kad ir jāapsver mērķterapijas izmantošana.

4. D vitamīna deficīts tika konstatēts Latvijas BŠK pacientu kohortā. Pētot D vitamīna līmeni asins serumā, starp dzimumiem, primāro un atkārtotās BŠK gadījumos, kā arī starp audzēja morfoloģiskajiem veidiem, netika atrasti statistiski ticami atšķirīgi. Augstāks D vitamīna līmenis asins serumā korelē ar mazāku neoplazmu parādīšanos un labvēlīgāku slimības prognozi. Mazākiem un mazāk agresīviem audzējiem, piemēram, virspusējām un nodulārajām BŠK, saistība starp augstu DVP un zemu SHh audu ekspresiju norāda uz saikni starp D vitamīnu, tā vielmaiņas proteīniem (piemēram, DVP) un SHh signālceļu.
5. Analizējot Latvijas BŠK pacientu kohortu, tika identificēti trīs klasteri: 1) galvenokārt vīrieši ar zemu D vitamīna līmeni, kuriem ir lielas augsta riska recidivējošās BŠK; 2) abu dzimumu pārstāvji ar mainīgiem D vitamīna līmeņiem un mazām primārām BŠK, tomēr ar augstu risku; 3) abu dzimumu pārstāvji ar dažādiem D vitamīna līmeņiem un mazām primārām BŠK, kas arī ir mazāk agresīvas. Šie rezultāti uzsver pašu audzēju heterogenitāti un sarežģītību un to saistību ar D vitamīnu.

## Praktiskās rekomendācijas

1. Pacienti ar ādas BŠK var rekomendēt veikt dermatoskopisku veidojuma novērtēšanu diagnostiskos nolūkos.
2. Pacienti ar ādas BŠK anamnēzē rekomendēts veikt dermatoskopiju pēcoperācijas periodā vienreiz sešos mēnešos, lai laikus atklātu audzēja recidīvu, īpaši, ja histoloģiski bija diagnosticēts BŠK audzējs ar noslieci uz agresīvu augšanu.
3. Pacienti ar ādas BŠK rekomendēts noteikt slimības recidīva faktorus, pamatojoties uz iegūtajiem klīniskajiem, dermatoskopijas un imūnhistokīmijas rezultātiem.
4. Ņemot vērā ādas BŠK sarežģīto morfoloģisko uzbūvi un tās bioloģiskās īpašības, kā ārstēšanas metode pamatā būtu lietojama ķirurģiskā ārstēšana. Mazinvasīvu ārstēšanu (imikvimods, krioterapija u. c.) var izmantot histoloģiski apstiprinātai virspusēja tipa BŠK bez infiltratīvas augšanas pazīmēm.
5. Histopatoloģijas nodaļām būtu jāveic sērijveida parauga griešana, šī pieeja nodrošinātu diagnozes precizitāti, īpaši jaukta un agresīva BŠK tipa gadījumā.

## Publikācijas un prezentācijas par pētījuma tēmu

### Zinātniskie raksti:

1. Moisejenko-Golubovica, J., Volkov, O., Ivanova, A., Groma, V. 2020. Analysis of the occurrence and distribution of primary and recurrent basal cell carcinoma of head and neck coupled to the assessment of tumor microenvironment and Sonic hedgehog signaling. *Romanian journal of morphology and embryology*, 61(3), 821–831.
2. Moisejenko-Golubovica, J., Volkovs, O., Ivanova, A., Petrošina, E., Groma, V. 2021. What We Need to Learn When Exploring the Mixed Basal Cell Carcinoma of Head and Neck. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B, *Natural Sciences*, 75, 75–85.
3. Moisejenko-Goluboviča, J., Groma, V., Svirskis, Š., Ivanova, A. 2022. Serum Vitamin D Levels Explored in the Latvian Cohort of Patients with Basal Cell Carcinoma Linked to the Sonic Hedgehog and Vitamin D Binding Protein Cutaneous Tissue Indices. *Nutrients*, 14(16), 3359.

### Tēzes un prezentācijas starptautiskās konferencēs:

1. Moisejenko-Golubovica, J., Ivanova, A., Groma, V. 2016. Features of the pathogenesis and development of locoregional recurrence of basal cell carcinoma on the neck and face area. Russian Congress of Molecular oncology. Vol. 4, No. 1, Suppl., p. 65 – 2<sup>nd</sup> Russian Congress of Molecular oncology: Programme and abstract book.
2. Moisejenko-Golubovica, J., Groma, V., Ivanova. 2017. Kolagēna un laminīna ekspresijas atšķirības bazālajā membrānā bazālo šūnu karcinomu gadījumā galvas un kakla rajonā. III Pēterburgas starptautiskais onkoloģijas forums “Baltās naktis”, Nr. 1728, 214.
3. Moisejenko-Golubovica, J., Groma, V., Ivanova, A. 2017. Surgical multistage treatment for aggressive and neglected basal cell carcinoma. 9<sup>th</sup> Baltic Congress of Maxillofacial and Plastic Surgeons, p. 47: Programme and abstract book.
4. Moisejenko-Golubovica, J., Groma, V., Ivanova, A., Karl, R. 2017. An immunohistochemical study of laminin and collagen IV in basal cell carcinoma. 13th Congress of the EADO, JEADV, 31 (Suppl.3), 3–100, p. 87 (P124).
5. Moisejenko-Golubovica, J., Ivanova, A., Zarins, J., Groma, V. 2017. Case report: coexistence of solid and adenoid basal cell carcinoma at the same anatomical site. 13th Congress of the EADO, JEADV, 31 (Suppl.3), 3–100, p. 87 (P125).

6. Moisejenko-Golubovica, J., Volkov, O., Ivanova, A., Groma, V. 2018. Results of immunohistochemical analysis of Sonic Hedgehog, a key factor in the pathogenesis of basal cell carcinoma. Russian Congress of Molecular oncology. Vol. 5, No. 4, Suppl. 1, p. 50 – 4<sup>th</sup> Russian Congress of Molecular oncology: Programme and abstract book.

### **Tēzes un prezentācijas vietēja mēroga konferencēs Latvijā:**

1. Moisejenko-Golubovica, J., Groma, V., Ivanova, A., Zabludovska, K. 2017. Peculiarities of the pathogenesis and locoregional recurrence in case of head and neck basalioma. RSU Scientific Conference, 133: programme and abstract.
2. Moisejenko-Golubovica, J., Groma, V., Ivanova, A., Volkovs, O., Skuja, S. 2017. Kolagēna un laminīna ekspresijas atšķirības bazālajā membrānā mutes dobuma plakanšūnu vēža un bazaliomas gadījumā. RSU zinātniskā konference, programma un tēžu grāmata, 196.
3. Moisejenko-Golubovica, J., Ivanova, A., Muceniece, J. 2019. Basal cell nevus syndrome – diagnosis and treatment. RSU Scientific Conference, programme and abstract.
4. Moisejenko-Golubovica, J., Groma, V., Ivanova, A., Zabludovska, K. 2019. Combined forms of basal cell carcinoma in the head and neck region. RSU Scientific Conference, programme and abstract.
5. Moisejenko-Goluboviča, J., Volkov, O., Ivanova, A., Groma, V. 2020. The 62<sup>nd</sup> International Scientific Conference of Daugavpils University, p.55, Daugavpils, Latvia.

## Literatūras saraksts

1. Abbas, M., Kalia, S. 2016. Trends in Non-Melanoma Skin Cancer (Basal Cell Carcinoma and Squamous Cell Carcinoma) in Canada: A Descriptive Analysis of Available Data. *Journal of cutaneous medicine and surgery*, 20, 166–175.
2. Acton, S. E., Astarita, J. L., Malhotra, D., Lukacs-Kornek, V., Franz, B., Hess, P. R., Jakus, Z., Kuligowski, M., Fletcher, A. L., Elpek, K. G., Bellemare-Pelletier, A., Sceats, L., Reynoso, E. D., Gonzalez, S. F., Graham, D. B., Chang, J., Peters, A., Woodruff, M., Kim, Y. A., Swat, W., Turley, S. J. 2012. Podoplanin-rich stromal networks induce dendritic cell motility via activation of the C-type lectin receptor CLEC-2. *Immunity*, 37(2), 276–289.
3. Adgeboyega, P. A., Rodriguez, S., McLarty, J. 2010. Stromal expression of actin is a marker of aggressiveness in basal cell carcinoma. *Hum Pathol.*, 41(8):1128–1137.
4. Akiba, T., Morikawa, T., Odaka, M. et al. 2018. Vitamin D Supplementation and Survival of Patients with Non-small Cell Lung Cancer: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clin Cancer Res.*, 24, 4089–4097.
5. Alhumaidi A. 2012. Practical immunohistochemistry of epithelial skin tumor. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.*, 78:698-708.
6. Amin, M. B., Greene, F. L., Edge, S. B., Compton, C. C., Gershenwald, J. E., Brookland, R. K., Meyer, L., Gress, D. M., Byrd, D. R., Winchester, D. P. 2017. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA: a cancer journal for clinicians*, 67(2), 93–99.
7. Argenziano, G., Zalaudek, I. 2007. Recent advances in dermoscopic diagnostic technologies. *Eur. Oncol. Dis.*, 1(2), 104–106.
8. Asakura, K., Etoh, N., Imamura, H., Michikawa, T., Nakamura, T., Takeda, Y., Mori, S., Nishiwaki, Y. 2020. Vitamin D Status in Japanese Adults: Relationship of Serum 25-Hydroxyvitamin D with Simultaneously Measured Dietary Vitamin D Intake and Ultraviolet Ray Exposure. *Nutrients*, 12, 743.
9. Atoum, M., Alzoughool, F. 2018. Vitamin D and Breast Cancer: Latest Evidence and Future Steps. *Breast Cancer (Auckl)*. Breast cancer: basic and clinical research, 11, 1178223417749816.
10. Baars, S., Bauer, C., Szabowski, S., Hartenstein, B. & Angel, P. 2015. Epithelial deletion of podoplanin is dispensable for re-epithelialization of skin wounds. *Exp Dermatol.*, 24(10), 785–787.
11. Bartoš, V., Kullová, M. 2016. Basal cell carcinoma of the skin with mixed histomorphology: a comparative study. Bazocelulárny karcinóm kože so zmiešaným histomorfologickým obrazom: porovnávacia štúdia. *Ceskoslovenska patologie*, 52(4), 222–226.



12. Bauer, A., Haufe, E., Heinrich, L. et al. 2020. Basal cell carcinoma risk and solar UV exposure in occupationally relevant anatomic sites: do histological subtype, tumor localization and Fitzpatrick phototype play a role? A population-based case-control study. *J Occup Med Toxicol.*, 15, 28.
13. Berman, D. M., Kardhadkar, S. S. 2003. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *J Nature*, 425(6960): 846–851.
14. Bijlsma, M. F., Spek, C. A., Zivkovic, D., van de Water, S., Rezaee, F., Peppelenbosch M. P. 2006. Repression of smoothened by patched-dependent (pro-)vitamin D3 secretion. *PLoS Biol.*, 4, e232.
15. Bouillon, R., Schuit, F., Antonio, L., Rastinejad, F. 2020. Vitamin D Binding Protein: A Historic Overview. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, 910.
16. Bozdogan, O., Erkek, E., Atasoy, P., Kocak, M., Birol, A., Caydere, M. 2002. Bcl-2-related Proteins,  $\alpha$ -Smooth Muscle Actin and Amyloid Deposits in Aggressive and non-Aggressive Basal Cell Carcinomas. *Acta Derm Venereol.*, 82:423–427.
17. Brierley, J., O’Sullivan, B., Asamura, H. et al. 2019. Global Consultation on Cancer Staging: promoting consistent understanding and use. *Nat Rev Clin Oncol.*, 16, 763–771.
18. Caro, I., Low, J. A. 2010. The role of the hedgehog signaling pathway in the development of basal cell carcinoma and opportunities for treatment. *Clin Cancer Res.*, 16(13):3335–3339.
19. Carpenter, R. L., Ray, H. 2019. Safety and Tolerability of Sonic Hedgehog Pathway Inhibitors in Cancer. *Drug Safety*, 42(2):263–279.
20. Carucci, J. A., Leffell, D. J. 2008. Basal Cell Carcinoma. In: Wolff, K., Goldsmith, L. A., Katz, S. I., Gilchrist, B. A., Paller, A. S. and Leffell, D. J (eds). *Fitzpatrick’s Dermatology in General Medicine*. McGraw Hill Medical, New York, 1036–1042.
21. Casas, B. S., Adolphe, C., Lois, P., Navarrete, N., Solís, N., Bustamante, E., Gac, P., Cabané, P., Gallegos, I., Wainwright, B. J., Palma, V. 2017. Downregulation of the Sonic Hedgehog/Gli pathway transcriptional target Neogenin-1 is associated with basal cell carcinoma aggressiveness. *Oncotarget*, 8(48):84006–84018.
22. Celebi, A. R., Kiratli, H., Soylemeoglu, F. 2016. Evaluation of the ‘Hedgehog’ signaling pathways in squamous and basal cell carcinomas of the eyelids and conjunctiva. *Oncol Lett.*, 12(1):467–472.
23. Alhumaidi A. 2012. Practical immunohistochemistry of epithelial skin tumor. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.*, 78:698-708.
24. Clark, C. M., Furniss, M., Mackay-Wiggan, J. M. 2014. Basal cell carcinoma: an evidence-based treatment update. *American journal of clinical dermatology*, 15(3), 197–216.

25. Crowson, A. N. 2006. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod. Pathol.*, 19(2), S127–S147.
26. Deng, L.J., Jia, M., Luo, S.Y., Li, F.Z., Fang, S. 2022. Expression of Hedgehog Signaling Pathway Proteins in Basal Cell Carcinoma: Clinicopathologic Study. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 15, 2353-2361.
27. Derjabo, A., Cema, I., Isajevs, S., Donina, S. 2011. A case report of complicated facial basal cell carcinoma treatment. *Acta Chirurgica Latviensis*, 11/2, 156–158.
28. De Vita, V., di Leo, G., Fabbrocini, G., Liguori, C., Paolillo, A., Sommella, P. 2012. Statistical techniques applied to the automatic diagnosis of dermoscopic images. *ACTA IMEKO*, 1(1), 7–18.
29. Drucker, A. M., Adam, G. P., Rofeberg, V., Gazula, A., Smith, B., Moustafa, F., Weinstock, M. A., Trikalinos, T. A. 2018. Treatments of Primary Basal Cell Carcinoma of the Skin: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *Ann. Intern. Med.*, 169(7), 456–466.
30. El-Sayed, S. K., El-Sayed, G. D. A., Kamel, A. M., Al-Tramsy, A. A., Ateia, S. Y. 2020. Efficacy of dermoscopy in the diagnosis of different basal cell carcinoma subtypes. *Egypt J. Dermatol. Venerol.*, 40(1), 15–22.
31. Enko, D., Fridrich, L., Rezanka, E., Stolba, R., Ernst, J., Wendler, I., Fabian, D., Hauptlorenz, S., Halwachs-Baumann, G. 2014. 25-hydroxy-Vitamin D status: limitations in comparison and clinical interpretation of serum-levels across different assay methods. *Clin Lab.*, 1541–1550.
32. Evangelista, M., Tian, H., Sauvage, F. 2006. The Hedgehog signaling pathway in cancer. Vol. 12, *Clin Cancer Res.*, 20:5924–5928.
33. Estébanez, N., Gómez-Acebo, I., Palazuelos, C. et al. 2018. Vitamin D exposure and Risk of Breast Cancer: a meta-analysis. *Sci Rep.*, 8, 9039.
34. Fang, M., Yuan, J., Peng, C., Li, Y. 2014. Collagen as a double-edged sword in tumor progression. *Tumour Biol.*, 35(4):2871–2882.
35. Fernanda, L., Rodriguez, J., Garbers, J., Fabricio de Melo, L. E. 2017. Recurrence rate of basal cell carcinoma with positive histopathological margins and related risk factors. *An Bras Dermatol.*, 92(1):58–62.
36. Garnett, E., Li, J., Rajapakshe, D., Tam, E., Meng, Q. H., Devaraj, S. 2019. Efficacy of two vitamin D immunoassays to detect 25-OH vitamin D2 and D3. *Practical laboratory medicine*, 17, e00130.
37. Ghafouri-Fard, S., Abbasi, A., Moslehi, H., Faramarzi, N., Taba Taba Vakili, S., Mobasheri, M. B., Modarressi, M. H. 2010. Elevated expression levels of testis-specific genes TEX101 and SPATA19 in basal cell carcinoma and their correlation with clinical and pathological features. *Br. J. Dermatol.*, 162, 772–779.

38. Goh, B. K., Ang, P., Wu, Y. J., Goh, C. L. 2006. Characteristics of basal cell carcinoma amongst Asians in Singapore and a comparison between completely and incompletely excised tumors. *Int. J. Dermatol.*, 45, 561–564.
39. Goldenberg, G., Hamid, O. 2013. Nonsurgical treatment options for basal cell carcinoma – focus on advanced disease. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 12(12), 1369–1378.
40. Gozdzińska, A., Wojas-Pelc, A., Drag, J., Brzewski, P., Jaśkiewicz, J., Pastuszczyk, M. Expression of metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in basal-cell carcinoma. *Mol Biol Rep.*, 43(10):1027–1033.
41. Hanna, A., Shevde, L. 2016. Hedgehog signaling modulation of cancer properties and tumor microenvironment. *Mol Cancer*, 15:24.
42. Horn, A., Palumbo, K., Cordazzo, C., Dees, C., Akhmetshina, A., Tomcik, M., Zerr, P., Avouac, J., Gusinde, J., Zwerina, J., Roudaut, H., Traiffort, E., Ruat, M., Distler, O., Schett, G., Distler, H. W. 2012. Hedgehog Signaling Controls Fibroblast Activation and Tissue Fibrosis in Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatism*, 64(8):2724–2733.
43. Jacobsen, A. A., Strasswimmer, B. A., Strasswimmer, J. 2016. Spontaneous resolution of advanced basal cell carcinoma after short-pulse treatment with hedgehog pathway inhibitor. *JAAD Case Rep.*, 2(4):360–361.
44. Karhadkar, S. S., Berman, D. M. 2004. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *J Nature*, 432(7015):324–331.
45. Katoh, M. 2019. Genomic testing, tumor microenvironment and targeted therapy of Hedgehog-related human cancers. *Clinical Science*, 133(8):953–970.
46. Keohane, S. G., Proby, C. M., Newlands, C., Motley, R. J., Nasr, I., Mohd Mustapa, M. F. 2018. British Association of Dermatologists (Squamous and Basal Cell Carcinoma Guideline Development Groups), Slater, D. N., Royal College of Pathologists (Skin Cancer Lead). The new 8th edition of TNM staging and its implications for skin cancer: a review by the British Association of Dermatologists and the Royal College of Pathologists, *U.K. Br J Dermatol.*, 179(4), 824–828.
47. Khlebnikova, A. N., Belova, L. A., Gurevich, L. E., Selezneva, E. V., Sedova, T. G. 2020. Specifics of type IV collagen expression in basal cell skin carcinoma. *Almanac of Clin. Med.*, 48. (In Russian).
48. Kim, H. S., Kim, Y. S., Lee, C., Shin, M. S., Kim, J. W., Jang, B. G. 2019. Expression profile of sonic hedgehog signaling-related molecules in basal cell carcinoma. *PLoS one*, 14, e0225511.
49. Kimura, N., Kimura, I. 2005. Podoplanin as a marker for mesothelioma. *Pathology international*, 55(2), 83–86.
50. Koyuncuer, A. 2014. Histopathological evaluation of non-melanoma skin cancer. *World J Surg Oncol.*, 12: 159.

51. Krompecher, E. 1903. *Der Basalzellenkrebs*. Gustav Fischer, Jena.
52. Lallas, A., Apalla, Z., Ioannides, D., Argenziano, G., Castagnetti, F., Moscarella, E., Longo, C., Palmieri, T., Ramundo, D., Zalaudek, I. 2015. Dermoscopy in the diagnosis and management of basal cell carcinoma. *Future oncology* (London, England), 11(22), 2975–2984.
53. Lammers, G., Verhaegen, P., Ulrich, M., Schalkwijk, J., Middelkoop, E., Weiland, D., Daamen, W. 2011. An Overview of Methods for the In Vivo Evaluation of Tissue-Engineered Skin Constructs. *Tissue Eng Part B Rev.*, 17(1): 33–55.
54. Lau, J., Guminski, A., Gill, A., Veivers, D. 2018. Metastatic basal cell carcinoma: a review of six cases. *Aust J Otolaryngol.*, 1: 20.
55. Lehmann, B. 2009. Role of the vitamin D3 pathway in healthy and diseased skin-facts, contradictions, and hypotheses. *Exp. Dermatol.*, 18, 97–108.
56. Lesack, K., Naugler, C. 2012. Morphometric characteristics of basal cell carcinoma peritumoral stroma varies among basal cell carcinoma subtypes. *BMC Dermatol.*, 12:1.
57. Lever, W. F. 1961. *Histopathology of the Skin*. (3rd edit.), J. B. Lippincott Co., Philadelphia.
58. Lupu, M., Caruntu, C., Ghita, M. A. 2016. Gene Expression and Proteome Analysis as Sources of Biomarkers in Basal Cell Carcinoma. *Dis Markers*, 9831237.
59. Mahamat-Saleh, Y., Aune, D., Schlesinger, S. 2020. 25-Hydroxyvitamin D status, vitamin D intake, and skin cancer risk: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Sci. Rep.*, 10, 13151.
60. Marasà, L., Marasa, S., Sciancalepore, G. 2008. Collagen IV, laminin, fibronectin, vitronectin. Comparative study in basal cell carcinoma. Correlation between basement membrane molecules expression and invasive potential. *G Ital Dermatol Venereol.*, 143(3):169–173.
61. Mawardi, P., Kalim, H., Kalim, K. H., Fitri, L. E., Mintaroem, K., Mudigdo, A., Wasita, B. 2016. Mid-face location of primary basal cell carcinoma related to cancer aggressivity. *Asian Pac J Trop Dis*, 6(8):650–653.
62. McCann, C. K., Growdon, W. B., Kulkarni-Datar, K., Curley, M. D., Friel, A. M., Proctor, J. L., Sheikh, H., Deyneko, I., Ferguson, J. A., Vathipadiekal, V., Birrer, M. J., Borger, D. R., Mohapatra, G., Zukerberg, L. R., Foster, R., Macdougall, J. R., Rueda, B. R. 2011. Inhibition of hedgehog signaling antagonizes serous ovarian cancer growth in a primary xenograft model. *PLoS One*, 6(11): e28077.
63. McDaniel, B., Badri, T., Steele, R. B. 2021. *Basal Cell Carcinoma*. In StatPearls. StatPearls Publishing.

64. Mercurt, R., Ciurea, M. E., Mărgăritescu, C., Popescu, S. M., Crăitoiu, M. M., Cotoi, O. S., Voinescu, D, C. 2014. Expression of p53, D2-40 and  $\alpha$ -smooth muscle actin in different histological subtypes of facial basal cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol.*, 55(2):263–272.
65. Moisejenko-Golubovica, J., Volkovs, O., Ivanova, A., Petrošina, E., Groma, V. 2021. What We Need to Learn When Exploring the Mixed Basal Cell Carcinoma of Head and Neck. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. *Section B, Natural Sciences*, 75, 75–85.
66. Moisejenko-Golubovica, J., Volkovs, O., Ivanova, A., Groma, V. 2020. Analysis of the occurrence and distribution of primary and recurrent basal cell carcinoma of head and neck coupled to the assessment of tumor microenvironment and Sonic hedgehog signaling. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 61, 821–831.
67. Montagna, E., Lopes, O. S. 2017. Molecular basis of basal cell carcinoma. *A Bras Dermatol.*, 92(4):517–520.
68. Mukane, M., Rasa, I., Mukans, M. 2015. First epidemiological study about vitamin D status and lifestyle factors in healthy young adults from Latvia: DLAT study (Part 1). World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases, *Abstract book*, P359, 187.
69. Muzic, J. G., Schmitt, A. R., Wright, A. C., Alniemi, D. T., Zubair, A. S., Olazagasti Lourido, J. M., Sosa Seda, I. M., Weaver, A. L. & Baum, C. L. 2017. Incidence and Trends of Basal Cell Carcinoma and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Population-Based Study in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010. *Mayo Clinic proceedings*, 92(6), 890–898.
70. Miyake, M., Hori, S., Morizawa, Y., Tatsumi, Y., Toritsuka, M., Ohnishi, S., Shimada, K., Furuya, H., Khadka, V. S., Deng, Y., Ohnishi, K., Iida, K., Gotoh, D. et al. 2017. Collagen type IV alpha 1 (COL4A1) and collagen type XIII alpha 1 (COL13A1) produced in cancer cells promote tumor budding at the invasion front in human urothelial carcinoma of the bladder. *Oncotarget.*, 8(22), 36099–36114.
71. Niculet, E., Craescu, M., Rebegea, L., Bobeica, C., Nastase, F., Lupasteanu, G., Stan, D. J., Chioncel, V., Anghel, L., Lungu, M., Tatu, A. L. 2022. Basal cell carcinoma: Comprehensive clinical and histopathological aspects, novel imaging tools and therapeutic approaches (Review). *Experimental and therapeutic medicine*, 23(1), 60.
72. Nolan, G. S., Wormald, J., Kiely, A. L., Totty, J. P., Jain, A. 2020. Global incidence of incomplete surgical excision in adult patients with non-melanoma skin cancer: study protocol for a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Systematic reviews*, 9(1), 83.
73. Okuboyejo, D. A., Olugbara, O. O. 2018. A Review of Prevalent Methods for Automatic Skin Lesion Diagnosis. *The Open Dermatol. J.*, 12(1), 14–53.

74. Paoli, J., Gyllencreutz, J. D., Fougelberg, J., Backman, E. J., Modin, M., Polesie, S., Zaar, O. 2019. Nonsurgical Options for the Treatment of Basal Cell Carcinoma. *Dermatol. Pract. Concept.*, 9(2), 75–81.
75. Peterson, S. C., Eberl, M., Vagnozzi, A. N., Belkadi, A., Veniaminova, N. A., Verhaegen, M. E., Bichakjian, C. K., Ward, N. L., Dlugosz, A. A., Wong, S. Y. 2015. Basal cell carcinoma preferentially arises from stem cells within hair follicle and mechanosensory niches. *Cell Stem Cell*, 16(4), 400–412.
76. Popadić, M. 2014. Statistical evaluation of dermoscopic features in basal cell carcinomas. *Dermatol. Surg.*, 40(7), 718–724.
77. Puig, S., Cecilia, N., Malvey, J. 2012. Dermoscopic criteria and basal cell carcinoma. *G Ital. Dermatol. Venereol.*, 147(2), 135–140.
78. Quatresooz, P., Martalo, O., Pie´rard, G. E. 2003. Differential expression of a1 (IV) and a5 (IV) collagen chains in basal-cell carcinoma. *J Cutan Pathol.*, 30(9): 548–552.
79. Ramezani, M., Zavattaro, E., Sadeghi, M. 2020. Immunohistochemistry expression of EMA, CD10, CEA, and Bcl-2 in distinguishing cutaneous basal cell from squamous cell carcinoma: A systematic review. *Gulhane Med J.*, 62:63-71.
80. Rubin, A. I., Chen, E. H., Ratner, D. 2005. Basal-cell carcinoma. *The New England journal of medicine*, 353(21), 2262–2269.
81. Sălan, A. I., Mărășescu, P. C., Camen, A., Ciucă, E. M., Matei, M., Florescu, A. M., Pădureanu, V., Mărgăritescu, C. 2018. The prognostic value of CXCR4,  $\alpha$ -SMA and WASL in upper lip basal cell carcinomas. *Rom J Morphol Embryol.*, 59(3): 839–849.
82. Samuel, S., Sitrin, M. D. 2008. Vitamin D's role in cell proliferation and differentiation. *Nutr. Rev.*, 66, S116–S124.
83. Sanchez, P., Hernández, A. M., Stecca, B., Kahler, A. J., DeGueme, A. M., Barrett, A., Beyna, M., Datta, M. W., Datta, S., Ruiz, I., Altaba, A. 2004. Inhibition of prostate cancer proliferation by interference with Sonic hedgehog-Gli 1 signaling. *Proc Natl Acad Sci.*, 101(34):2561–12566.
84. Simpson, C. A., Cusano, A. M., Bihuniak, J., Walker, J., Insogna, K. L. 2015. Effect of 25(OH) vitamin D reference method procedure (RMP) alignment on clinical measurements obtained with the IDS-iSYS chemiluminescent-based automated analyzer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 148, 41–46.
85. SPKC datubāze [https://statistika.spkc.gov.lv/pxweb/en/Health/Health\\_\\_Saslimstiba\\_Slimibu\\_Izplatiba\\_\\_Onkologija/ONKO040\\_2.px/table/tableViewLayout2/](https://statistika.spkc.gov.lv/pxweb/en/Health/Health__Saslimstiba_Slimibu_Izplatiba__Onkologija/ONKO040_2.px/table/tableViewLayout2/)
86. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence

and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249.

87. Tang, J. Y., Fu, T., Lau, C., Oh, D. H., Bikle, D. D., Asgari, M. M. 2012. Vitamin D in cutaneous carcinogenesis: Part II. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 67, 817. E1–817.E11.
88. Tehrani, H., May, K., Morris, A., Motley, R. 2013. Does the dual use of toluidine blue and hematoxylin and eosin staining improve basal cell carcinoma detection by Mohs surgery trainees? *Dermatologic surgery: official publication for American Society for Dermatologic Surgery* [et al.], 39(7), 995–1000.
89. Thanasitthichai, S., Prasitthipayong, A., Boonmark, K., Purisa, W., Guayraksa, K. 2019. Negative Impact of 25-hydroxyvitamin D Deficiency on Breast Cancer Survival. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 20, 3101–3106.
90. Tolani, B., Hoang, N., Acevedo, L., Leprieur, E. G., Li, H., He, B., Jablons, D. M. 2018. Preclinical characterization of therapeutic antibodies targeted at the carboxy-terminus of Sonic hedgehog. *Oncotarget*, 9(18):14311–14323.
91. Trigoni, A., Lazaridou, E., Apalla, Z., Vakirlis, E., Chrysomallis, F., Varytimiadis, D., Ioannides, D. 2012. Dermoscopic features in the diagnosis of different types of basal cell carcinoma: a prospective analysis. *Hippokratia*, 16(1), 29–34.
92. Vandikas, M. S., Landin-Wilhelmsen, K., Gillstedt, M., Osancevic, A. 2022. Vitamin D-Binding Protein and the Free Hormone Hypothesis for Vitamin D in Bio-Naïve Patients with Psoriasis. *International journal of molecular sciences*, 23, 1302.
93. Verkouteren, J., Ramdas, K., Wakkee, M., Nijsten, T. 2017. Epidemiology of basal cell carcinoma: scholarly review. *Br J Dermatol.*, 177(2), 359–372.
94. Villani, A., Potestio, L., Fabbrocini, G., Scalvenzi, M. 2022. New Emerging Treatment Options for Advanced Basal Cell Carcinoma and Squamous Cell Carcinoma. *Advances in therapy*, 39(3), 1164–1178.
95. Wicki, A., Christofori, G. 2007. The potential role of podoplanin in tumor invasion. *Br J Cancer*, 96(1), 1–5.
96. Wondimu, Z., Omrani, S., Ishikawa, T., Javed, F., Oikawa, Y., Virtanen, I. 2013. A Novel Monoclonal Antibody to Human Laminin  $\alpha 5$  Chain Strongly Inhibits Integrin-Mediated Cell Adhesion and Migration on Laminins 511 and 521. *PLoS One*, 8(1): e53648.
97. Wozniak-Rito, A., Zalaudek, I., Rudnicka, L. 2018. Dermoscopy of basal cell carcinoma. *Clin. Exp. Dermatol.*, 43(3), 241–247.
98. Wright, C., Coetzee, G., Ncongwane, K. 2011. Seasonal trends in potential sunburn risk among outdoor workers in South Africa using monitored ambient solar UV radiation levels. *Occupational Health South Africa*, 17(5):22–29.

99. Wojciechowska-Zdrojowy, M., Szepietowski, J. C., Matusiak, Ł., Dzięgiel, P., Puła, B. 2016. Expression of Podoplanin in Non-melanoma Skin Cancers and Actinic Keratosis. *Anticancer Res.*, 36(4), 1591–1597.
100. Wu, J., Hong, Y., Wu, T., Wang, J., Chen, X., Wang, Z., Cheng, B., Xi, J. 2018. Stromal epithelial lactate shuttle induced by tumor derived interleukin 1 $\beta$  promotes cell proliferation in oral squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med.*, 2018, 41(2): 687–696
101. Zalaudek, I., Kreusch, J., Giacomel, J., Ferrara, G., Catricalà, C., Argenziano, G. 2010. How to diagnose nonpigmented skin tumors: a review of vascular structures seen with dermoscopy: part I. Melanocytic skin tumors. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 63(3), 361–376.



## Pateicības

Vislielākā un vissirsnīgākā pateicība ir manām darba vadītājām profesorei Valērijai Gromai un *Dr. med.* docentei Annai Ivanovai par ieguldīto darbu, padomiem, pacietību un atbalstu promocijas darba izstrādē un sagatavošanā. Ļoti pateicos saviem kolēģiem par mana pētījuma veicināšanu un atbalstu. Paldies RSU AAI Starpkatedru elektronmikroskopijas laboratorijas kolektīvam, īpaši docentei Sandrai Skujai, par padomiem un atbalstu promocijas darba tapšanā. Šimonam Svirskim par palīdzību datu statistiskajā apstrādē un attēlu izveidē. Es pateicos savai ģimenei par pacietību, sapratni un atbalstu promocijas darba tapšanas laikā.

## **Pielikums**

## RSU Ētikas komitejas lēmums

Veidlapa Nr. E-9 (2)

### RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS NR. 11 / 08.09.2016.

Rīga, Dzirciema iela 16, LV-1007  
Tel. 67061596

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Profesors Olafs Brūvers	Dr.theo.	teologs
2. Profesore Vija Štīle	Dr.phil.	filozofs
3. Asoc.prof. Santa Purviņa	Dr.med.	farmakologs
4. Asoc.prof. Voldemārs Arnis	Dr.biol.	rehabilitologs
5. Profesore Rēgīna Kleina	Dr.med.	patalogs
6. Profesors Guntars Pupelis	Dr.med.	ķirurgs
7. Asoc.prof. Viesturs Liguts	Dr.med.	toksikologs
8. Docente Iveta Jankovska	Dr.med.	
9. Docents Kristaps Cirčenis	Dr.med.	

**Pieteikuma iesniedzējs:** Dr. Jeļena Moisejenko-Goluboviča (Latvijas universitāte)  
Medicīnas fakultāte

**Pētījuma nosaukums:** „ Bazālo šūnu karcinomas patoģenēzes un lokoreģionālo recidīvu attīstības īpatnības galvas un kakla rajonā”

**Iesniegšanas datums:** 08.09.2016.

**Pētījuma protokols:** Izskatot iesniegtos pētījuma dokumentus (protokolu) ir redzams, ka pētījuma mērķis tiek sasniegts veicot, bez kāda apdraudējuma veselībai un dzīvībai, pacientu objektīvā stāvokļa izvērtējumu, ievācot pacientu anamnēzes datus un analizējot iegūtos (izoperētos) BŠK audu materiālus, veicot pacientu medicīniskās dokumentācijas (medicīnas vēstures) izpēti, visu iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī izsakot priekšlikumus. Personu (pacientu, dalībnieku) datu aizsardzība, brīvprātīga informēta piekrišana piedalīties pētījumā un konfidencialitāte tiek nodrošināta. Līdz ar to pieteikums atbilst medicīnas pētījuma ētikas prasībām.

**Izskaidrošanas formulārs:** ir

**Piekrišana piedalīties pētījumā:** ir

**Komitejas lēmums:** piekrist pētījumam

Komitejas priekšsēdētājs Olafs Brūvers Tituls: Dr. miss., prof.

Paraksts



Ētikas komitejas sēdes datums: 08.09.2016.