



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΕΡΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΝΟΣΩΝ

**«ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ
ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΟΠΙΚΗΣ
ΙΜΙΚΟΥΙΜΟΛΗΣ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ
ΒΑΣΙΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ
ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ»**

ΚΑΤΩΝ ΝΟΜΙΚΟΣ

ΔΕΡΜΑΤΟΛΟΓΟΣ ΑΦΡΟΔΙΣΙΟΛΟΓΟΣ

Δ Ι Δ Α Κ Τ Ο Ρ Ι Κ Η Δ Ι Α Τ Ρ Ι Β Η

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2021



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΕΡΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΝΟΣΩΝ

**«ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ
ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΟΠΙΚΗΣ
ΙΜΙΚΟΥΙΜΟΛΗΣ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ
ΒΑΣΙΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ
ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ»**

ΚΑΤΩΝ ΝΟΜΙΚΟΣ

ΔΕΡΜΑΤΟΛΟΓΟΣ ΑΦΡΟΔΙΣΙΟΛΟΓΟΣ

Δ Ι Δ Α Κ Τ Ο Ρ Ι Κ Η Δ Ι Α Τ Ρ Ι Β Η

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2021

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202,
παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

Ημερομηνία αίτησης του κ. Νομικού Κάτωνα: 17/2/2006

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Γ.Σ. 580α/2-5-2006

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Μπασούκας Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Δερματολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Μπάη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπριασούλης Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής Ογκολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 9-2-2009

«Αξιολόγηση συνδυαστικής θεραπείας κρυοχειρουργικής και τοπικής ιμικουϊμόδης για τη θεραπεία διηθητικών βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων του δέρματος»

Ανασυγκρότηση Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 764^α/17-6-2014

Επιβλέπων:

Μπασούκας Ιωάννης, Καθηγητής Δερματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Μπριασούλης Ευάγγελος, Καθηγητής Ογκολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπατιστάτου Άννα, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ανασυγκρότηση Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 798^α/6-6-2017

Επιβλέπων:

Μπασούκας Ιωάννης, Καθηγητής Δερματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Καλογερόπουλος Χρήστος, Καθηγητής Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπατιστάτου Άννα, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 970^α/29-6-2021

1. Μπασούκας Ιωάννης, Καθηγητής Δερματολογίας με έμφαση στην Ογκολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Μπατιστάτου Άννα, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Καλογερόπουλος Χρήστος, Καθηγητής Οφθαλμολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Σπυρίδωνος Παναγιώτα, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Πληροφορικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
5. Λάμπρη Ευαγγελή, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Σερέτης Κωνσταντίνος, Επίκουρος Καθηγητής Πλαστικής Χειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
7. Μάουρι Ντάβιντε, Επίκουρος Καθηγητής Ογκολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 14-07-2021

Ιωάννινα 10-11-2021

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατιστάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στην Κλινική Δερματικών και Αφροδισίων Νόσων σε συνεργασία με το Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Επιβλέπων καθηγητής ήταν ο **κ. Ιωάννης Μπασούκας**, Καθηγητής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, τον οποίο ευχαριστώ θερμότατα για την επιστημονική του καθοδήγηση, τις πολύτιμες συμβουλές του, αλλά και την τιμητική εμπιστοσύνη που μου έδειξε από την πρώτη ημέρα που συναντηθήκαμε όταν έκανα ειδικότητα στην Πανεπιστημιακή Δερματολογική Κλινική. Εκτός όμως από τη συνεργασία μας σε επιστημονικό επίπεδο, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω ιδιαίτερα, και ως άνθρωπο, για την υπομονή, την κατανόηση, την ενθάρρυνση και τη συμπαράστασή του, σε όλες τις δύσκολες στιγμές, που αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της δημιουργικής πορείας κάθε υποψήφιου διδάκτορα.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω **την κ. Άννα Μπατιστάτου**, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων **και τον κ. Χρήστο Καλογερόπουλο**, Καθηγητή Οφθαλμολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για τη συνδρομή τους στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας.

Ιδιαίτερα θερμές ευχαριστίες απευθύνω στην **κ. Ευαγγελία Λάμπρη**, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, η οποία πάντα με προθυμία και θετική διάθεση με βοήθησε σε θέματα του ειδικού μέρους της διατριβής μου. Εξίσου θερμές ευχαριστίες οφείλω στην **κ. Παναγιώτα Σπυρίδωνος**, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Πληροφορικής, για τη συνδρομή της στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της έρευνας.

Ευχαριστώ ακόμη τα δύο μέλη της Επταμελούς Επιτροπής: **τον κ. Davide Mauri**, Επίκουρο Καθηγητή Ογκολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων **και τον κ. Κωνσταντίνο Σερέτη**, Επίκουρο Καθηγητή Πλαστικής Χειρουργικής του ίδιου πανεπιστημίου, για την υποστήριξή τους.

Θα ήταν παράλειψή μου να μην αναφέρω την ευγνωμοσύνη μου σε δύο Καθηγητές της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων που δυστυχώς δεν βρίσκονται πλέον ανάμεσά μας: **την Μαρία Μπάη**, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής **και τον Ευάγγελο Μπριασούλη**, Καθηγητή Ογκολογίας, για τη συμβολή τους στο αρχικό στάδιο εκπόνησης της εργασίας.

Θερμότατες ευχαριστίες ανήκουν στους καλούς μου φίλους στα Ιωάννινα την **κ. Χριστίνα Στεργιοπούλου**, διευθύντρια του Δερματολογικού Ιατρείου του Νοσοκομείου «Χατζηκώστα», την **κ. Βασιλική Συκοβέλη**, το γναθοχειρουργό **Αστέριο Πετρίκη** **και τον κ. Κωνσταντίνο Σιάπκα**, που με ενθάρρυναν και με υποστήριξαν όλα αυτά τα χρόνια.

Ευχαριστώ, επίσης, θερμότατα **τον κ. Γεώργιο Παπαγιαννόπουλο**, Διευθύνοντα Σύμβουλο και Διευθυντή του Ορθοπαιδικού Τμήματος της Κεντρικής Κλινικής Αθηνών, και τον **κ. Στυλιανό Μουτάφη**, Πρόεδρο της Επιστημονικής Επιτροπής της Κεντρικής Κλινικής Αθηνών, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν δίνοντάς μου την άδεια να εφαρμόσω τη μέθοδο της ανοσοκρυοχειρουργικής σε επιλεγμένους ασθενείς της Κεντρικής Κλινικής Αθηνών.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την **κ. Ελένη Μαρτσούκου** και την **κ. Μαρίνα Νικολαΐδου** για τη βοήθειά τους στην επιμέλεια του κειμένου της διδακτορικής διατριβής μου.

ΑΦΙΕΡΩΝΕΤΑΙ

Στους γονείς μου

Γιώργο και Λέλα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα του δέρματος (BCC) αποτελεί τον πιο συχνό κακοήγη όγκο ανάμεσα σε όλα τα νεοπλάσματα που προσβάλλουν τα άτομα της Καυκάσιας Φυλής. Τα τελευταία χρόνια, βάσει μελετών, παρατηρείται σημαντική αύξηση στον επιπολασμό του, με αξιοσημείωτη οικονομική επιβάρυνση για τα συστήματα υγείας. Ωστόσο, στη σημερινή εποχή, έχουμε στη διάθεσή μας διάφορους μεθόδους θεραπείας, οι οποίοι επιλέγονται με βασικό κριτήριο το στάδιο ανάπτυξης του κάθε όγκου.

Από το 2006 και μετά, στη Δερματολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, εφαρμόζεται για την αντιμετώπιση των BCC η Άνοσο-κρυοχειρουργική, δηλαδή ένας συνδυασμός κρυοχειρουργικής και τοπικής εφαρμογής ιμικουιμόδης. Τα αποτελέσματα της μεθόδου αυτής έχουν δείξει ιδιαίτερα ικανοποιητικά χαμηλά ποσοστά υποτροπής, τα οποία είναι εφάμιλλα με αυτά της χειρουργικής αντιμετώπισης.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει σκοπό την ενδελεχή μελέτη των υποπληθυσμών των κυττάρων της ανοσολογικής απάντησης στον ιστό του νεοπλάσματος κατά την εφαρμογή του ανωτέρω συνδυασμού. Έχουν μελετηθεί ανοσοϊστοχημικά τρεις κυρίως υποδοχείς: Το CD 3 για T-Κύτταρα , το CD 68 για τα μακροφάγα και, τέλος, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στο Fox p3, που είναι ο υποδοχέας των Treg ρυθμιστικών κυττάρων.

Στο Γενικό Μέρος παρουσιάζονται περιληπτικά: Η επιδημιολογία, ζητήματα σχετικά με το οικονομικό κόστος της αντιμετώπισης των BCC, ιστογένεση, αιτιολογικοί παράγοντες, ιστολογικοί τύποι, σύνδρομα σχετικά με αυτό και τέλος μέθοδοι διάγνωσης και θεραπείας..

Εν συνεχεία, περιγράφεται ο τρόπος εφαρμογής της ανοσοκρυοχειρουργικής, η ιμικουιμόδη σαν ανοσοτροποποιητικός παράγοντας και, καταλήγοντας, θα δοθεί ιδιαίτερη έμφαση σε τρεις ακόμα παραμέτρους: Στα ρυθμιστικά κύτταρα, στο ανοσολογικό ιστικό περιβάλλον και στο ρόλο των αγωνιστών TLR στη διαδικασία ανοσοθεραπείας και στη δημιουργία εμβολίου κατά του καρκίνου

Περατώνοντας, στο Ειδικό Μέρος, γίνεται αναφορά στον Σκοπό της Μελέτης. Επίσης, παραθέτονται τα αποτελέσματα της θεραπείας στους ασθενείς όπου εφαρμόστηκε και, ειδικότερα, στο βιοπτικό υλικό του όγκου που αφαιρέθηκε σε διαφορετικά χρονικά σημεία κατά την διάρκεια ενός θεραπευτικού πρωτοκόλλου,

καθώς και η μελέτη του πρότυπου διήθησης από κύτταρα φλεγμονής. Όλα τα παραπάνω ευρήματα, ερμηνεύονται σε σύγκριση με αντίστοιχα δεδομένα από τη βιβλιογραφία, τα οποία είναι βασισμένα τόσο σε ζωικά, όσο και ανθρώπινα μοντέλα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	1
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	3
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	5
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ	6
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	7
 ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	 11
 1. ΒΑΣΙΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ	 13
1.1 Επιδημιολογία	13
1.2 Οικονομική επιβάρυνση.....	15
1.3 Ιστογένεση του BCC	19
1.4 Το μονοπάτι του Hedgehog.....	22
1.5 Αιτιολογία: Παράγοντες που συμβάλλουν στη ανάπτυξη του Πρωτοπαθούς BCC	25
1.6 Ιστολογικοί τύποι	29
1.7 Σύνδρομα που σχετίζονται με BCC	35
1.8 Διάγνωση.....	37
1.9 Θεραπεία πρωτογενών BCC	46
2. ΑΝΟΣΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ	56
3. ΙΜΙΚΟΥΪΜΟΔΗ	58
3.1 Μηχανισμός δράσης της ιμικουιμόδης στο BCC.....	61
3.2 Η δράση της ιμικουιμόδης στην αντιμετώπιση του BCC	62
4. Treg ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΝΗΜΗΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ	63
5. ΤΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΙΣΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΟΓΚΟΥΣ	64
6. Η ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΤΩΝ ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ TLR ΣΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	70

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	73
1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	75
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	76
2.1 Ασθενείς και Θεραπεία	76
2.2 Μεθοδολογία (σχεδιασμός μελέτης)	77
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	83
3.1 Ασθενείς και θεραπεία	83
3.2 Παρουσίαση ενδεικτικών περιστατικών θεραπείας BCC με ανοσοκρυστοχειρουργική	83
3.3 Κυτταρολογία της φλεγμονής της ανοσοκρυστοχειρουργικής.....	90
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	96
5. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	104
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	105
7. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	107
8. SUMMARY	108
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	109

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. BCC- Οικονομική επιβάρυνση του συστήματος υγείας (medicare) των ΗΠΑ	18
Πίνακας 2. Κόστος και συχνότητα βασικών θεραπειών του BCC στις ΗΠΑ	19
Πίνακας 3. Παράγοντες κινδύνου BCC	28
Πίνακας 4. Κλινική παρουσίαση BCC	33
Πίνακας 5. Σύνοψη επιλεγμένων γενετικών συνδρόμων που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μη μελανοκυτταρικού καρκίνου του δέρματος.....	36
Πίνακας 6 Αλγόριθμος θεραπείας χαμηλού κινδύνου BCC.....	39
Πίνακας 7 Αλγόριθμος θεραπείας υψηλού κινδύνου BCC	40
Πίνακας 8 Follow up BCC.....	41
Πίνακας 9. Κριτήρια δερματοσκόπησης BCC.....	42
Πίνακας 10. Σημαντικοί προγνωστικοί δείκτες για την υποτροπή BCC	43
Πίνακας 11. Κύριοι προγνωστικοί δείκτες υποκλινικής εξάπλωσης του BCC	44
Πίνακας 12. Ποσοστά υποτροπής BCC μετά από χειρουργική εκτομή	44
Πίνακας 13. Χειρουργικές επεμβάσεις BCC: πλεονεκτήματα / ενδείξεις και μειονεκτήματα / αντενδείξεις	49
Πίνακας 14. Φαρμακευτική θεραπεία BCC: μηχανισμοί δράσης, πλεονεκτήματα / ενδείξεις και μειονεκτήματα / αντενδείξεις	52
Πίνακας 15. Άλλες θεραπείες του BCC.....	53
Πίνακας 16 Αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη	78
Πίνακας 17. Δημογραφικά στοιχεία και χαρακτηριστικά του όγκου των ασθενών	91

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Καρκινογένεση του BCC	21
Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση του σηματοδοτικού μονοπατιού (SHH) στο κερατινοκύτταρο	23
Εικόνα 3. Ο ρόλος του μονοπατιού Hedgehog στην ανάπτυξη BCC	24
Εικόνα 4. Περιοχή υψηλού κινδύνου του προσώπου	45
Εικόνα 5. Χημική δομή της imiquimod.....	58
Εικόνα 6. Πρωταρχικοί μηχανισμοί δράσης IMQ	59
Εικόνα 7. Το ανοσολογικό πλαίσιο	67
Εικόνα 8. Κύτταρα και χημειοκίνες που συντονίζουν το μικροπεριβάλλον του όγκου	68
Εικόνα 9. Ανοσοκατασταλτικές επιδράσεις των αναπτυσσόμενων όγκων	69
Εικόνες ενδεικτικών περιστατικών θεραπείας BCC με ανοσοκρυστοχειρουργική ...	84-89
Εικόνα 10 Παράδειγμα τμηματοποίησης χρώματος(Foxp3).....	92
Εικόνα 11 Θεραπεία δύο BCC στον ίδιο ασθενή	93
Εικόνα 12. Αντιπροσωπευτικές ανοσοϊστολογικές τομές καρκινωμάτων βασικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της ανοσοκρυστοχειρουργικής	94
Εικόνα 13. Παρουσίαση Boxplot των επιπέδων διήθησης (αυθαίρετες αριθμητικές μονάδες εικονοστοιχείων) των κυττάρων CD68+ (αριστερά), CD3+ (μέση) και Foxp3+ (δεξιά) στον ιστό του BCC ως συνάρτηση της διάρκειας του κύκλου θεραπείας της ανοσοκρυστοχειρουργικής	95
Εικόνα 14. Παρουσίαση Boxplot της αναλογίας CD3+ προς Foxp3+ κυττάρων ως συνάρτηση του χρόνου κατά τη διάρκεια ενός κύκλου θεραπείας ανοσοκρυστοχειρουργικής	95
Εικόνα 15 Απλοποιημένο σχήμα του υποτιθέμενου μηχανισμού αντineοπλασματικής δράσης της ανοσοκρυστοχειρουργικής	102

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

APCs	(Antigen-presenting cells): αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα
BAX	(Apoptosis regulator BAX, γνωστό σαν bcl-2-like protein 4): ογκογονίδιο που παίζει σημαντικό ρόλο στην απόπτωση-κυτταρικό θάνατο
BCC	(Basal Cell Carcinoma): Βασικοκυτταρικό καρκίνωμα
CC	(cytosine-cytosine): κυτοσίνη κυτοσίνη
CCL	(chemotactic cytokine ligand): συνδέτης χημειοτακτικής κυτταροκίνης
CCR	(chemotactic cytokine receptor): υποδοχέας χημειοτακτικής κυτταροκίνης
CD	(Cluster of Differentiation): Σύμπλεγμα Διαφοροποίησης -Μόρια (πρωτεΐνες) επιφανείας
CTLs	(Cytotoxic T-cells αλλιώς T-killer cell, cytolytic T cell, CD8+ T-cell): κυτταροτοξικό T λεμφοκύτταρο
CTLA-4	(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) γνωστό σαν, CD152 (cluster of differentiation 152),
DC	(Dendritic cell): δενδριτικό κύτταρο
Dinitrogen	(N ₂): Άζωτο
EDC	(ElectroDessication and curettage): Απόξεση και Ηλεκτροκαυτηρίαση
FDA	(U.S.Food and Drug Administration): Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων USA
5FU	(5 Fluorouracil): 5 Φθοριοουρακίλη
Fas Ligand	[CD95L ή CD178 προσδέτης του Fas (FasL)]: μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια TNF
FAS	[Fas receptor Fas, FasR, apoptosis antigen 1 (APO-1 or APT), cluster of differentiation 95 (CD95)]: Υποδοχέας του FasL
FOXp3:	<u>f</u> orkhead box P3 (Πρωτεΐνη)

Gli proteins:	μεταγραφικοί παράγοντες στο μονοπάτι του Hedgehog
HSP	(Heat Shock Proteins): Πρωτεΐνες Θερμικού Σοκ
HIV	(Human Immunodeficiency Virus) Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας
IFN	(Interferon): Ιντερφερόνη
IL	(Interleukin): Ιντερλευκίνη
Ki 67	[Antigen γνωστό σαν MKI67 (Marker Of Proliferation Ki-67)]: Δείκτης Πολλαπλασιασμού
LCs	(Langerhans cells): Κύτταρα Langerhans
LASER CO2	[(Carbon dioxide Laser)(Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation)]: ενίσχυση φωτός με εξαναγκασμένη εκπομπή ακτινοβολίας
MHC	(The major histocompatibility complex): Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας
MMS	(Mohs micrographic surgery): Μικρογραφική χειρουργική κατά Mohs
NK	(Natural killer cell): φυσικό κυτταροκτόνο κύτταρο
NMSC	(Non Melanoma Skin Cancer): Μη μελανοκυτταρικός καρκίνος του δέρματος
NO	(Nitric Oxide): Νιτρικό Οξείδιο
p53:	ογκοκατασταλτικό γονίδιο <i>p53</i>
PAMPS	[Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)]: Μοριακές δομές που σχετίζονται με το παθογόνο
PDT	(Photodynamic Therapy) Φωτοδυναμική Θεραπεία- MAL-PDT Methyl- aminolevulinate ALA-PDT 5-aminolaevulinic acid
PTCH1 Protein patched homolog 1:	διαμεμβρανικός υποδοχέας PTCH1
PUVA	(Psoralen and Ultraviolet A): (ψωραλένιο και UVA)
RCT	(Radiochemotherapy): Ακτινοχημειοθεραπεία

RT	(Radiation Therapy): Ακτινοθεραπεία
SCC	(Squamous Cell Carcinoma): Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα
SHH Sonic hedgehog	Πρωτεΐνη μονοπατιού σηματοδότησης sonic Hedgehog
SMO (Smoothened homologue)	υποδοχέα smoothened homologue (SMO)
TAA	(Tumor associated antigen): όγκο- σχετιζόμενα αντιγόνα
TCR (T-cell receptor)	Πρωτεϊνικό σύμπλεγμα (υποδοχέας) που βρίσκεται στην επιφάνεια των Τ-Λεμφοκυττάρων
Teff	(T effector cells): δραστικό κύτταρο
TGF-b	[Transforming growth factor beta (TGF-β)]: μεταμορφωτικού αυξητικού παράγοντα-β (TGF-β)
Th	(T helper cells): βοηθητικό Τ λεμφοκύτταρο
T memory cells	Μνημονικά Τ κύτταρα
TLRs	(Toll-like receptors): υποδοχέας τύπου Toll
TLS	[tertiary lymphoid structures (TLS)]: Τριτογενής Λεμφοειδείς δομές
TNF-a	(Tumor Necrosis Factor a): Παράγοντας νέκρωσης όγκων α
Treg	[Regulatory T cells (Tregs)]: Τ Ρυθμιστικά κύτταρα
TT	(thymine thymine): Θυμίνη-Θυμίνη
UVA	(UltraViolet A): Υπεριώδης ακτινοβολία Α
UVB	(UltraViolet B):Υπεριώδης ακτινοβολία Β
UVR	(UltraViolet Radiation): Υπεριώδης ακτινοβολία
VEGF	[Vascular endothelial growth factor (VEGF)]: αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF)

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΒΑΣΙΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Αρχικά θα παρουσιαστούν βασικοί τομείς γενικού περιεχομένου, που αφορούν στο πλαίσιο της μελέτης. Στο παρόν γενικό μέρος παρουσιάζονται περιληπτικά η επιδημιολογία, ζητήματα σχετικά με το οικονομικό κόστος της αντιμετώπισης του BCC, υποθέσεις ιστογένεσης, παράγοντες που σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης των BCC, ιστολογικοί τύποι του νεοπλάσματος και σύνδρομα σχετικά με αυτό, καθώς και μέθοδοι διάγνωσης και θεραπείας.

1.1. Επιδημιολογία

Οι μη-μελανοκυτταρικοί όγκοι του δέρματος είναι η πιο κοινή μορφή καρκίνου, που προσβάλλει τους Καυκάσιους και αντιπροσωπεύει πάνω από το 95% των καρκίνων του δέρματος.¹ Ειδικότερα το BCC είναι η πιο συχνή μορφή καρκίνου του δέρματος σε όλο τον κόσμο, αντιπροσωπεύοντας το 70-80% των καρκίνων του δέρματος.^{2,3} Η πρώτη περιγραφή του BCC έχει αναφερθεί από τον ιρλανδό οφθαλμίατρο Arthur Jacob το 1827.⁴

Η αναλογία των περιστατικών BCC προς εκείνα καρκινώματος του δέρματος εκ πλακωδών κυττάρων (SCC) στον λευκό πληθυσμό προσδιορίζεται σήμερα μεταξύ 4:1 και 2,5:1 σε υψηλότερο και χαμηλότερο γεωγραφικό πλάτος αντίστοιχα.^{5,6,7,8} Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι τα SCC είναι αναλογικά πιο συχνά στα πιο ηλικιωμένα άτομα, τείνουν δηλαδή να αναπτυχθούν 'αργότερα' στη διάρκεια της ζωής από τα BCC.^{5,9,10}

Ενώ τα BCC είναι πιο συχνά από τα SCC στο γενικό πληθυσμό, η σχέση συχνότητας αντιστρέφεται σε ασθενείς με μεταμόσχευση συμπαγούς οργάνου στους οποίους παρατηρούνται περισσότερα SCC σε μια αναλογία προς τα BCC περίπου 3,8:1. Σαν συνέπεια σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς το SCC είναι 65 - 250 φορές πιο συχνό από ότι στο γενικό πληθυσμό. Συχνά αυτοί οι ασθενείς έχουν 2 ή 3 βλάβες ταυτόχρονα. Στην περίπτωση αυτή, τα SCC είναι πιο επιθετικά και τείνουν να εξελίσσονται πιο γρήγορα. Περαιτέρω, εντοπίζεται υψηλό ποσοστό τοπικής υποτροπής και μεταστάσεων στο 5-8% των ασθενών.¹¹

Ένας μεγάλος όγκος δεδομένων είναι διαθέσιμος για την επιδημιολογία του BCC. Η σύγκριση των δεδομένων αυτών δεν καθίσταται εύκολη, διότι σε πολλές χώρες δεν καταγράφονται συστηματικά όλα τα περιστατικά NMSC στα αντίστοιχα μητρώα και ως εκ τούτου ακριβή στοιχεία είναι δύσκολο να εκτιμηθούν.¹² Επιπλέον σε πολλές περιπτώσεις το πρωτοπαθές BCC καταχωρείται συλλογικά σαν NMSC.^{1,2,13,14,15}

Μία πρόσφατη μελέτη, που αφορά την συχνότητα εμφάνισης τόσο του πρωτοπαθούς όσο και πολλαπλών BCC στην Ευρώπη, παρατηρεί υποεκτίμηση του συνόλου των BCC σε διάρκεια ενός έτους, η οποία φαίνεται να αποκαθίσταται πολλαπλασιάζοντας το σύνολο των ευρημάτων με τον συντελεστή 1,3.¹⁵

Τα υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης παγκοσμίως έχουν αναφερθεί στην Αυστραλία, μία χώρα με υψηλό ποσοστό πληθυσμού Ευρωπαϊκής καταγωγής, που διαβιεί σε συγκριτικά χαμηλό γεωγραφικό πλάτος κοντά στον ισημερινό. Γενικά άτομα Ευρωπαϊκής καταγωγής με ανοιχτόχρωμη επιδερμίδα που μετανάστευσαν σε περιοχές όπως η Αυστραλία, με περισσότερη ηλιοφάνεια από τις περιοχές προέλευσής τους, έχουν αυξημένες πιθανότητες να νοσήσουν. Ο κίνδυνος στην Αυστραλία, ιδιαιτέρως για τον πληθυσμό με ανοιχτόχρωμο φωτότυπο, να αναπτύξει ένα BCC πριν την ηλικία των 70 είναι πάνω από 50%, με τη συχνότητα εμφάνισης 884 για 100.000 πληθυσμού.^{13,16,17} Αλλά και στις ΗΠΑ το BCC είναι ένα ιδιαίτερα συχνό νεόπλασμα, καθώς υπολογίζεται ότι προσβάλλει τουλάχιστον 750.000 Αμερικάνους ετησίως¹⁸ και ένας στους πέντε Αμερικανούς προβλέπεται να εμφανίσει BCC κατά τη διάρκεια της ζωής του. Ο συνολικός αριθμός διαγνωσμένων περιστατικών BCC στις ΗΠΑ εκτιμάται ότι πλησιάζει τα τέσσερα εκατομμύρια ετησίως.^{19,20} Επιπλέον, ορισμένοι συγγραφείς εκτιμούν, ότι η συχνότητα εμφάνισης παγκοσμίως αυξάνεται με ρυθμό 3 έως 6% ετησίως.²¹

Και στην Ευρώπη μελέτες από διάφορες χώρες συμπεριλαμβανομένων της Γερμανίας, της Σκωτίας, της Δανίας, της Βορείου Ιρλανδίας και του Ηνωμένου Βασιλείου εντοπίζουν μία αύξηση στη συχνότητα του BCC τις τελευταίες δεκαετίες. Συγκριτικά η Ελβετία και η Ιταλία έχουν καταχωρήσει τα υψηλότερα ποσοστά επίπτωσης πανευρωπαϊκά και η Κροατία τα χαμηλότερα^{13,14,22,23,24,25,26,27}. Η συχνότητα εμφάνισης είναι μεγαλύτερη στους άντρες από ότι στις γυναίκες (το 2000 η επίπτωση σε παγκόσμιο επίπεδο ήταν 93,9 / 100.000 το χρόνο στους άντρες και 77,4/100.000 το χρόνο στις γυναίκες).^{28,29} Η συχνότητα του νεοπλασματος αυξάνεται σε μεγαλύτερες ηλικίες, με σπάνια εμφάνισή του σε άτομα νεότερα των 30 ετών. Ακόμη και σε χώρες με πληθυσμό υψηλού κινδύνου, όπως η Αυστραλία¹⁶, η υψηλότερη συχνότητα παρατηρείται κατά την 7η με 8η δεκαετία ηλικίας.^{30,31} Γενικά εντοπίζεται ηλικιακή διαφορά, και όσον αφορά τη συχνότητα εμφάνισης των BCC μεταξύ ανδρών και γυναικών. Γυναίκες στην ηλικία μέχρι 50 ετών τείνουν να εμφανίζουν BCC πιο συχνά

από άντρες ίδιας ηλικίας. Αντιθέτως, σε μεγαλύτερες ηλικίες τα BCC είναι συνηθέστερα στον αντρικό πληθυσμό.^{17,30,32,33,34}

Η αύξηση της εμφάνισης περιστατικών BCC θεωρείται ότι είναι κυρίως απόρροια αλλαγών στον τρόπο ζωής, συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης έκθεσης στον ήλιο. Σ' ένα γενικότερο κλίμα ευαισθητοποίησης και πρόληψης του καρκίνου του δέρματος, πλέον, πολλοί ασθενείς παρουσιάζονται με σκοπό την εξέταση και την αντιμετώπιση τυχόν βλαβών, γεγονός που συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη διάγνωση του BCC.¹² Τέλος, αξίζει να επισημανθεί ότι σε αντίθεση με τον ιδιαίτερα υψηλό επιπολασμό της νόσου τόσο η θνητότητα, όσο και η θνησιμότητα του BCC κυμαίνονται σε ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα (‘ημι-κακήθες νεόπλασμα) καθώς παρατηρούνται υψηλά ποσοστά ίασης σε ένα νεόπλασμα με συνολικά χαμηλό βαθμό βιολογικής επιθετικότητας.

1.2. Οικονομική επιβάρυνση

Ο υψηλός επιπολασμός του BCC μεταφράζεται σε σημαντικό οικονομικό αντίκτυπο στο σύστημα υγειονομικής περίθαλψης. Γενικά το οικονομικό κόστος μπορεί να χωριστεί σε δύο μεγάλες κατηγορίες: το άμεσο κόστος της ιατρικής περίθαλψης και το έμμεσο κόστος που προκύπτει από την απώλεια χρόνου ζωής και παραγωγικότητας λόγω νοσηρότητας και πρόωρης θνησιμότητας. Επειδή η θνησιμότητα από BCC είναι εξαιρετικά χαμηλή, είναι τα άμεσα έξοδα θεραπείας και η σχετιζόμενη νοσηρότητα που συνιστούν το μεγαλύτερο μέρος της οικονομικής επιβάρυνσης για την συγκεκριμένη πάθηση.³⁵

Τα BCC αντιπροσωπεύουν περίπου το 75% των NMSCs και δεδομένου ότι, οι τρόποι θεραπείας που προσφέρονται για την αντιμετώπιση των BCC και των SCC είναι ουσιαστικά ταυτόσημοι,^{36,37} μία κατά προσέγγιση εκτίμηση κόστους μπορεί να εξαχθεί κατ' αναλογία από τα υπάρχοντα δεδομένα της καταγραφής των NMSCs. Μία μελέτη από τους Chen και συνεργάτες από τις ΗΠΑ, που συγκέντρωσε στοιχεία από το 1992 μέχρι το 1997 από τις πηγές δεδομένων Medicare Current Beneficiary Survey, National Center of Health Statistics, National Hospital Discharge Survey και National Survey of Ambulatory Surgery εντόπισε το ιδιωτικό ιατρείο σε ποσοστό 91% ως τον πιο διαδεδομένο χώρο για την θεραπεία των NMSC σε σύγκριση με το περιβάλλον του νοσοκομείου και των εξωτερικών ιατρείων των νοσοκομείων, όπου και αντιστοιχούν ποσοστά 8% και 1%. Επιπλέον, με 492 δολάρια ανά επίσκεψη το ιδιωτικό ιατρείο ήταν

λιγότερο ακριβό σε σύγκριση με το τα εξωτερικά ιατρεία του νοσοκομείου (1.043 δολάρια) και την νοσηλεία, όπου το κόστος έφτανε τα 5.537 δολάρια (**Πίνακας 1**).³⁸ Με βάση αυτές τις εκτιμήσεις και το γεγονός ότι τα BCC αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος όλων των NMSCs, εκτιμήθηκε ότι το ετήσιο κόστος της θεραπείας από την πλευρά του προγράμματος Medicare και μόνο ήταν στις ΗΠΑ περίπου 320 εκατομμύρια δολάρια ετησίως μεταξύ 1992 και 1995. Το κόστος θεραπείας των NMSC είναι γενικά πολύ υψηλό σε χώρες με μεγάλο ποσοστό πληθυσμού με ανοιχτόχρωμο φωτοτύπο, με ετήσιο κόστος μόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής να υπολογίζεται σε περίπου 13 δισεκατομμύρια δολάρια.³⁹

Σε μία άλλη συστηματική ανασκόπηση οι Mudigonda και συνεργάτες αναφέρουν, ότι τα έξοδα του προγράμματος Medicare αντιπροσωπεύουν μόνο το 65% του συνολικού κόστους θεραπείας των NMSCs καθώς ένα σημαντικό μέρος αφορά σε άτομα ηλικίας κάτω των 65 ετών, που δεν καλύπτονται από το Medicare System.^{38,40}

Χρησιμοποιώντας τις παραπάνω πληροφορίες, εκτίμησαν ότι, το ετήσιο κόστος της περίθαλψης των BCC ήταν περίπου 488 εκατομμύρια δολάρια για τον συνολικό πληθυσμό των ΗΠΑ και για το χρονικό διάστημα από 1992 έως 1995. Επεκτείνοντας το τρέχον ετήσιο κόστος με βάση την εκτιμώμενη ετήσια αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης (4,8%), υπολογίζεται ότι, το τρέχον ετήσιο κόστος της περίθαλψης για τα BCC μόνο στις ΗΠΑ κυμαίνεται από 949 εκατομμύρια έως 1,8 δισεκατομμύρια δολάρια. Τέλος, διορθωμένο για τον πληθωρισμό, το συνολικό ετήσιο κόστος της περίθαλψης για τα BCC στις ΗΠΑ πρέπει να κυμαίνεται σήμερα μεταξύ 1,8 και 3,4 δισεκατομμύρια δολάρια ανά έτος.⁴¹

Σύμφωνα με σχετικούς υπολογισμούς 51-82% των επεμβάσεων στον πληθυσμό που εντάσσονται στο πρόγραμμα ασφάλισης Medicare, πραγματοποιούνται από δερματολόγους και ακολουθούν ιατροί πρωτοβάθμιας φροντίδας, χειρουργοί καθώς και άλλοι ειδικοί.^{42,43,44} Οι πιο κοινοί τρόποι θεραπείας για τα NMSC περιλαμβάνουν τον συνδυασμό ηλεκτροκαυτηρίασης και απόξεσης, την κρυοθεραπεία, την συμβατική χειρουργική, την μικρογραφικά ελεγχόμενη χειρουργική κατά Mohs, αλλά και ελάχιστα επεμβατικές θεραπείες με κρέμα ιμικουιμόδης, κρέμα 5FU, τοπική φωτοδυναμική θεραπεία και τέλος η ακτινοθεραπεία. Το κόστος ποικίλλει ανάλογα με το είδος θεραπείας. Μία μελέτη των Rogers και Coldiron υπολόγισε το κόστος της θεραπείας για μία τυπική βλάβη (BCC στην παρειά) που περιλάμβανε κόστος λήψης του δείγματος βιοψίας, ιστοπαθολογική εξέταση, επίσκεψη και παρακολούθηση

(Πίνακας 2). Διαπιστώθηκε, ότι η ακτινοθεραπεία με κόστος 2.591-3.460 δολάρια ήταν η πιο ακριβή μέθοδος θεραπείας για το συγκεκριμένο περιστατικό, και ακολουθούν η μικρογραφική χειρουργική με 1.263 δολάρια, η συμβατική εκτομή με 1.006-1.170 δολάρια, η θεραπεία με τοπική εφαρμογή ιμικουιμόδης με 959 δολάρια και τέλος η ηλεκτροκαυτηρίαση και απόξεση με 471 δολάρια. Το Vismodegib δεν συμπεριλήφθηκε σε αυτή την ανάλυση.³⁶

Με βάση τα προαναφερθέντα δεδομένα, η κρυοθεραπεία και η ηλεκτροκαυτηρίαση είναι οι πιο οικονομικοί τρόποι θεραπείας. Ωστόσο, άλλοι σημαντικοί παράγοντες, όπως τα ειδικά χαρακτηριστικά του όγκου, το ποσοστό υποτροπής και η προτίμηση του ασθενούς, θα πρέπει να συνεκτιμηθούν για την βελτιστοποίηση της επιλογής της αγωγής. Τα ποσοστά υποτροπής διαφέρουν επίσης ανάλογα με την μέθοδο θεραπείας και τα χαρακτηριστικά του όγκου, όπως το μέγεθος και ο κλινικο-ιστολογικός τύπος. Η μικρογραφικά ελεγχόμενη χειρουργική (Mohs) φαίνεται με ποσοστό υποτροπών μετά 5ετή παρακολούθηση περίπου 1% για τα πρωτογενή BCC και 5,6% για την θεραπεία υποτροπών να είναι η μέθοδος θεραπείας με συνολικά το χαμηλότερο ποσοστό υποτροπής, ενώ ο συνδυασμός κρυοθεραπείας και ηλεκτροκαυτηρίασης συνδέεται με ένα ποσοστό υποτροπής της τάξεως 3-19%.^{37,45}

Εν κατακλείδι, η συνδυαστική θεραπεία τοπικής αγωγής και ελάχιστα επεμβατικών θεραπειών έχει σκοπό να μειώσει τα ποσοστά υποτροπής, με συνέπεια δυνητικά τόσο χαμηλότερο συνολικό κόστος θεραπείας όσο και ενίσχυση της ικανοποίησης των ασθενών, βελτιώνοντας την ψυχοκοινωνική ποιότητα της ζωής τους.

Πίνακας 1. BCC- Οικονομική επιβάρυνση του συστήματος υγείας (medicare) των ΗΠΑ								
Περιβάλλον θεραπείας	Εκτιμώ- μενες ετήσιες επεμβάσεις (1995)	Εκτιμώ- μενες ετήσιες επεμβάσεις (2012; στα 1000s)	Σύνολο επεμ- βάσεων (%)	Ετή- σιο κό- στος (%)	Κόστος ανά περί- πτωση (1995 σε \$ ΗΠΑ)	Κόστος ανά περί- πτωση (2012)	Ετήσιο κόστος στο Medicare (2012 σε \$ ΗΠΑ 1.000.000)	Ετήσιο κόστος στο σύνολο του πληθυσμού των ΗΠΑ (2012 σε \$ ΗΠΑ 1.000.000)
Ενδονοσο- κομιακή περίθαλψη	5.570	11-21	1	9,6	5.537	10.419	113-215	174-330
Εξωτερικά ιατρεία (νοσοκομείο)	43.718	85-162	8	14,3	1.043	1.963	167-317	257-488
Ιδιωτικό Ιατρείο	493.854	962-1.827	91	76,1	492	926	891-1.692	1.370-2.603
Όλα τα ανωτέρω	543.143	1.058-2.010	100	100	588	1.107	1.171-2.224	1.801-3.421

Wu X, Elkin EE, Marghoob AA. Burden of basal cell carcinoma in USA. *Future Oncol.* 2015 Nov;11(22):2967-74. doi: 10.2217/fon.15.180. Epub 2015 Oct 15. PMID: 26466906.

Πίνακας 2. Κόστος και συχνότητα βασικών θεραπειών του BCC στις ΗΠΑ			
Μέθοδος	Κόστος ανά βλάβη (Δολάρια ΗΠΑ)	Συχνότητα	Ποσοστό υποτροπής στα 5 έτη για πρωτοπαθές BCC
Κλασσική χειρουργική εκτομή	1.070-1.220	35-76%	3-14%
MMS (Mohs)	1.260-2.080	9-41%	1%
Κρυοθεραπεία, EDC (Ηλεκτροκαυτηρία- ση και απόξεση)	460-470	14-32%	3-19%
Ακτινοθεραπεία	2.590-3.460	4%	7-10%
Τοπική: ιμικουιμόδη 5-FU	500-960	Μη επαρκή στοιχεία	13-21%

Wu X, Elkin EE, Marghoob AA. Burden of basal cell carcinoma in USA. *Future Oncol.* 2015 Nov;11(22):2967-74. doi: 10.2217/fon.15.180. Epub 2015 Oct 15. PMID: 26466906.

1.3. Ιστογένεση του BCC

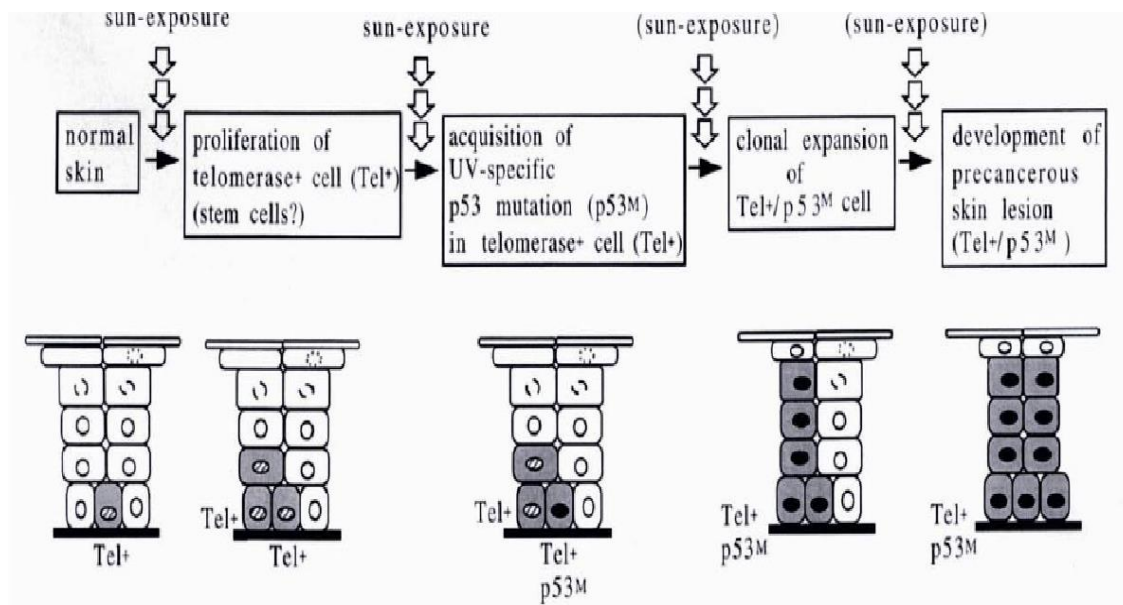
Το BCC προέρχεται από τα επιθηλιακά κύτταρα της επιδερμίδας. Διαφορετικές υποθέσεις έχουν διατυπωθεί σχετικά με το κύτταρο προέλευσης του BCC. Οι περισσότεροι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι προέρχεται από βλαστικά κύτταρα του θύλακα της τρίχας και των σμηγματογόνων αδένων (επιγενετικά τροποποιημένα πρόδρομα κερατινοκύτταρα).^{46,47} Εν τούτοις, άλλοι συγγραφείς διαφωνούν και υποστηρίζουν, ότι τα βλαστικά κύτταρα του BCC εντοπίζονται στην ενδιάμεση επιδερμίδα μεταξύ των οργανιδίων του δέρματος (interfollicular epidermis) και στον πόρο (infundibulum) του τριχικού θυλάκου⁴⁸. **(Εικόνα 1)**

Η καρκινογένεση είναι μία σταδιακή διαδικασία, που οφείλεται στη συσσώρευση γενετικών μεταλλάξεων σε έναν κυτταρικό κλώνο. Τα BCC, συνήθως, προκύπτουν από τα κατώτερα στρώματα της επιδερμίδας, αλλά ένα μικρό ποσοστό μπορεί να προέρχεται από το εξωτερικό έλυτρο της τριχοσμηγματογόνου μονάδας.^{49,50} Τα νεοπλασματικά κύτταρα έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά με το επιθήλιο του τριχικού θυλάκου, ιδιαίτερα τα κύτταρα της μήτρας. Τα BCC, τα τριχοβλαστώματα και

η ανάπτυξη των εμβρυικών τριχοθυλακίων αποκαλύπτουν πανομοιότυπο φαινότυπο κερατίνης, γεγονός που υποδηλώνει ομοιότητες στο επίπεδο διαφοροποίησης και στην ιστογένεση.^{51,52} Επιπλέον, υπάρχει κοινό πρότυπο έκφρασης των επιθηλιακών μορίων προσκόλλησης, τα οποία βρίσκονται στα BCC, με την πρώιμη εμβρυογένεση των θυλάκων, το βλάστημα της τρίχας (hair germ) και το εξωτερικό έλυτρο του τριχικού θυλάκου.⁵³ Εξαιτίας αυτών των ομοιοτήτων έχει προταθεί η μετονομασία του BCC σε τριχο-βλαστικό καρκίνωμα.⁵⁴

Αξιοσημείωτο είναι, ότι κυτταρικές σειρές BCC δεν αναπτύσσονται εύκολα *in vitro*, γεγονός που υποδηλώνει, ότι η απομόνωσή τους και ο πολλαπλασιασμός τους απαιτούν ειδικούς μικροπεριβαλλοντολογικούς ή κυτταρικούς παράγοντες. Το παραπάνω συμπέρασμα προκύπτει από την εξάρτηση, η οποία παρατηρείται μεταξύ του επιθηλίου του νεοπλάσματος και του περιβάλλοντος συνδετικού ιστού (χορίου), με αποτέλεσμα οι προσπάθειες που έχουν γίνει για μεταμόσχευση του επιθηλίου χωρίς ταυτόχρονη μεταφορά του συνοδού χορίου, υπήρξαν γενικά απογοητευτικές.⁵⁵

Ο κύριος καρκινογόνος παράγοντας για το BCC είναι η υπεριώδης ακτινοβολία του ηλιακού φωτός (UVR), γεγονός που εξηγεί το γεγονός ότι οι περισσότεροι όγκοι εντοπίζονται στις περιοχές του σώματος, οι οποίες είναι περισσότερο εκτεθειμένες στον ήλιο. Το BCC είναι ένα από τα νεοπλάσματα του ανθρώπου με το υψηλότερο φορτίο μεταλλάξεων/κύτταρο (65 μεταλλάξεις/ εκατ. βάσεων), μεταλλάξεων, που σχεδόν στο σύνολό τους έχουν το χαρακτηριστικό αποτύπωμα μεταλλάξεων, που οφείλονται στην επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολία (C:T ή CC:TT μεταθέσεις σε θέσεις διπυριμιδίνης).^{56,57,58} Οι μεταλλάξεις συχνά προκύπτουν αυθόρμητα υπό την επίδραση μεταλλαξιογόνων, αλλά συνδέονται επίσης και με γενετική προδιάθεση, όπως σε πάσχοντες από σύνδρομο Gorlin ή μελαγχρωματική ξηροδερμία.⁵⁹ Η επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας, ιδίως το μήκος κύματος UVB, είναι ο πιο συχνός παράγοντας επαγωγής μεταλλάξεων στην πορεία της παθογένεσης του BCC⁶⁰.



Εικόνα 1. Καρκινογένεση του BCC

Ueda M, Ouhtit A, Bito T, Nakazawa K, Lübbe J, Ichihashi M, Yamasaki H, Nakazawa H. Evidence for UV-associated activation of telomerase in human skin. *Cancer Res.* 1997 Feb 1;57(3):370-4. PMID: 9012457.

Η UV ακτινοβολία ευθύνεται για ποικίλες μεταλλάξεις, μία εκ των οποίων είναι αυτή στο p53 όγκο-κατασταλτικό γονίδιο. Το p53 είναι το πιο συχνά μεταλλαγμένο γονίδιο, που έως σήμερα, έχει αναγνωριστεί σε ανθρώπινους καρκίνους. Σαν όγκο-κατασταλτικό γονίδιο διαμεσολαβεί την απόπτωση σε κύτταρα, που έχουν καταστραφεί ή έχουν υποστεί κυτταρικό stress.⁶¹ Όταν η λειτουργία του p53 διαταράσσεται, τα μεταλλαγμένα κύτταρα είναι πιθανότερο να επιβιώσουν και να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα. Για τον λόγο αυτό το p53 αναφέρεται συχνά ως “ο φύλακας του γονιδιώματος” (the guardian of the genom).⁶² Βάσει ερευνών, τεκμηριώνεται, ότι σε πάνω από το 50% των SCC και BCC παρατηρείται μετάλλαξη του p53 και η συχνότητα αυτή αυξάνει στο 90% των ασθενών με μελαγχρωματική ξηροδερμία. Δεδομένου ότι οι συγκεκριμένες μεταλλάξεις που οφείλονται στην UVB ακτινοβολία και είναι χαρακτηριστικές για τους όγκους του δέρματος αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως “UVB υπογραφές” (UVB signatures).⁶³

Το δεύτερο χαρακτηριστικό που παρουσιάζουν τα καρκινώματα του δέρματος και τα κάνουν να διαφέρουν από άλλους τύπους καρκίνου, όπως για παράδειγμα αυτόν του παχέος εντέρου, είναι το ότι το δεύτερο αλληλόμορφο γονίδιο p53 δεν χάνεται κατά

την διάρκεια της εξέλιξης του όγκου, αλλά συχνά μεταλλάσσεται. Οι δύο μεταλλάξεις συμβαίνουν σε διαφορετικά σημεία και αυτό υποστηρίζει τη διαδικασία καρκινογένεσης της UVB ακτινοβολίας.^{64,65}

Οι προαναφερθείσες μεταλλάξεις προηγούνται των ορατών όγκων και συμβαίνουν πολύ νωρίς στην διάρκεια της εξέλιξης του όγκου⁶⁶.

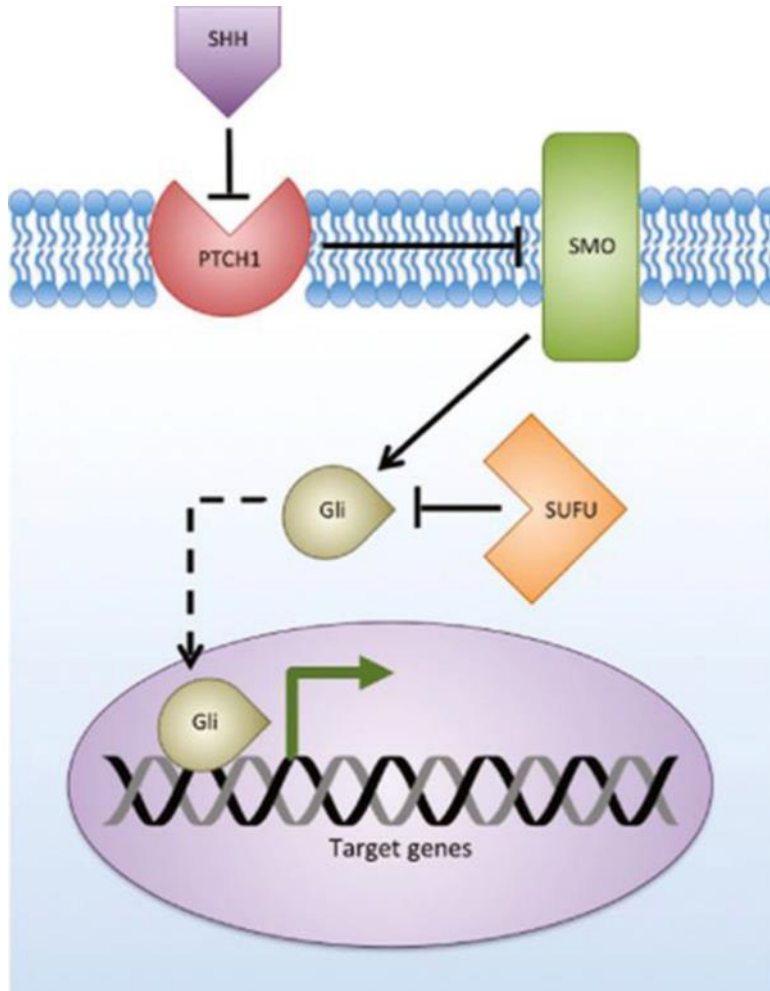
1.4. Το μονοπάτι του Hedgehog

Ο ρόλος του γονιδίου patched homologue PTCH1 (χρωμόσωμα 9;22.3) σαν ογκοκατασταλτικό, έχει μελετηθεί εκτενώς από τότε που ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά σαν αιτία του συνδρόμου Gorlin.⁵⁹ Το γονίδιο αυτό είναι ένα βασικό συστατικό του μονοπατιού σηματοδότησης Sonic Hedgehog (SHH), το οποίο διαμεσολαβεί στην ανάπτυξη μιας ποικιλίας δομών και ιστών κατά την οντογένεση, συμπεριλαμβανομένων του σκελετού, των άκρων, του κρανίου-προσώπου, του νευρικού σύστημα, του δέρματος και των τριχοσμηγματογόνων θυλάκων (μορφογενετικό γονίδιο).

Σε περίπτωση που το γονίδιο λειτουργεί σωστά, κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη, η οποία δρα καταστέλλοντας την μεταγραφή γονιδίων και την κυτταρική ανάπτυξη.^{59,67} Η αναστολή του γονιδίου έχει ως συνέπεια, την αναίρεση της καταστολής του υποδοχέα smoothened homologue (SMO), που είναι μία πρωτεΐνη δια-μεμβρανικής σηματοδότησης και η οποία με τη σειρά της παράγει και μεταβιβάζει αυξητικό σήμα σε γονίδια-στόχους στον πυρήνα του κυττάρου μέσω της οικογενείας των GLI μεταγραφικών παραγόντων.^{59,68} Αυτά με την σειρά τους ενεργοποιούν ένα “καταρράκτη” κυκλινών και άλλων πρωτεϊνών, που τελικά οδηγούν σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό.⁵⁹ Μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό έχουν ταυτοποιηθεί στο 30-40% των σποραδικών BCC με 30% εξ αυτών να φέρουν τυπικές UV-σχετιζόμενες μεταλλάξεις στην διπυριδιμίνη.^{59,67} Επιπλέον ένα ποσοστό 6-20% των σποραδικών BCC έχουν μια SMO (Smoothened, 2q32) μετάλλαξη τονίζοντας έτσι, την σημασία του μονοπατιού του Hedgehog στην καρκινογένεση του συγκεκριμένου νεοπλασματος **(Εικόνες 2,3)**.⁶⁸ Αλλοιώσεις της ανωτέρω οδού έχουν βρεθεί και σε άλλους Hedgehog -εξαρτώμενους όγκους, όπως το μυελοβλάστωμα και το νευροβλάστωμα.⁶⁹

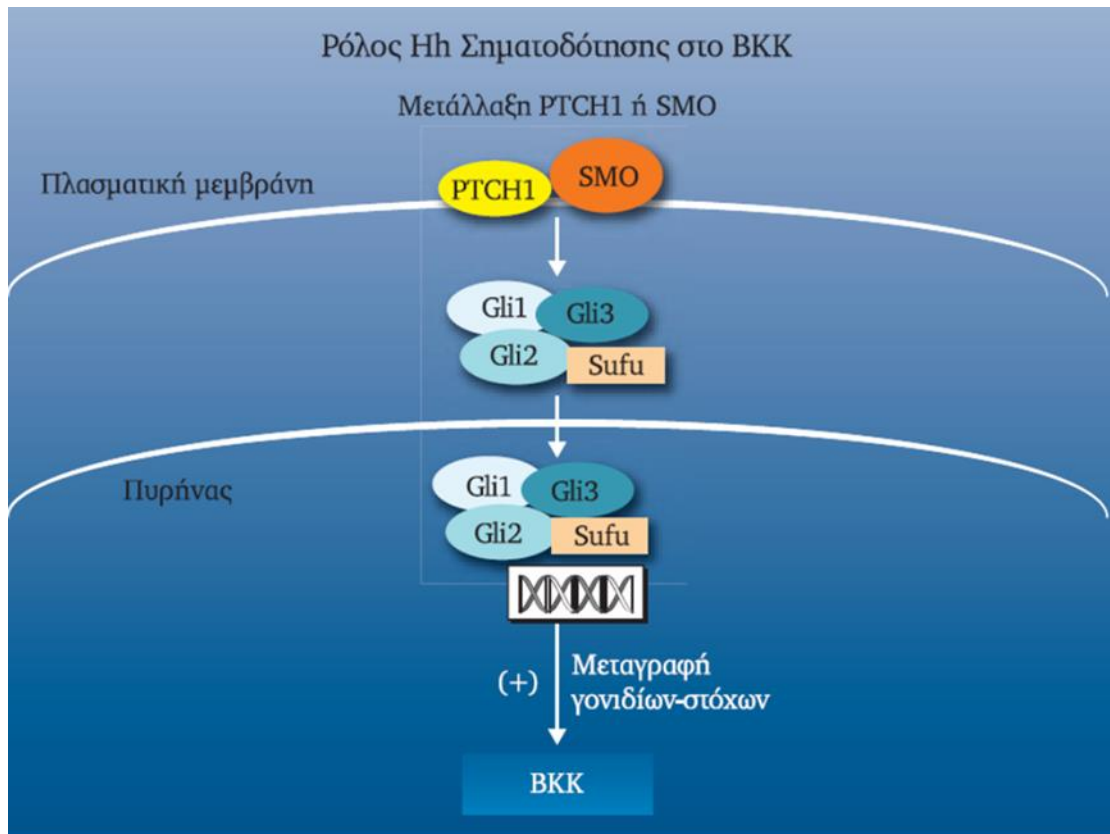
Σε ασθενείς με σύνδρομο Gorlin εντοπίζεται μία συγγενής μετάλλαξη σε ένα αντίγραφο του γονιδίου PTCH1 καθώς και η απώλεια του άλλου αντιγράφου του γονιδίου, (ακολουθώντας την υπόθεση της καρκινογένεσης του Knudson). Αυτό έχει

σαν επακόλουθο τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό του κυττάρου που καταλήγει στην δημιουργία νεοπλασμάτων.⁵⁹



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση του σηματοδοτικού μονοπατιού (SHH) στο κερατινοκύτταρο. Φυσιολογικά, ο συνδέτης του μονοπατιού ενεργοποιεί την οδό δεσμεύοντας και αναστέλλοντας την PTCH1, επιτρέποντας την απελευθέρωση του smoothened γονιδίου (SMO), την ενεργοποίηση του συντηγμένου κατασταλτικού γονιδίου (SUFU), και την αυξημένη ρύθμιση των μεταγραφικών GLI1 παραγόντων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Jaju PD, Ransohoff KJ, Tang JY, Sarin KY. Familial skin cancer syndromes: Increased risk of nonmelanotic skin cancers and extracutaneous tumors. *J Am Acad Dermatol.* 2016 Mar;74(3):437-51; quiz 452-4. doi: 10.1016/j.jaad.2015.08.073. PMID: 26892653.



Εικόνα 3 Ο ρόλος του μονοπατιού Hedgehog στην ανάπτυξη BKK. Αδρανοποιητικές μεταλλάξεις του PTCH1 ή σπανιότερα ενεργοποιητικές μεταλλάξεις του SMO οδηγούν στην ογκογόνο ενεργοποίηση του Hh μονοπατικού στο δέρμα. Ως συνέπεια ενεργοποιούνται οι μεταγραφικοί παράγοντες Gli οι οποίοι σχηματίζουν σύμπλοκο με την πρωτεϊνική κινάση Sufu και μετατοπίζονται στον πυρήνα. Εκεί, οδηγούν στη μεταγραφή γονιδίων στόχων που εμπλέκονται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση.

(Προσαρμοσμένο από: Dessinioti et al. From basal cell carcinoma morphogenesis to the alopecia induced by hedgehog inhibitors: connecting the dots. Br J Dermatol 2017).

1.5. Αιτιολογία: Παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του Πρωτοπαθούς BCC

Η ανάπτυξη του BCC στις περισσότερες περιπτώσεις είναι πολυπαραγοντική (Πίνακας 3)⁷⁰.

1.5.1. Υπεριώδης ακτινοβολία

Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει, ότι οι πληθυσμοί που εκτίθενται σε χαμηλές δόσεις ηλιακής ακτινοβολίας και τα άτομα με πιο σκουρόχρωμη επιδερμίδα που κατοικούν σε περιοχές κοντά στον αρκτικό κύκλο σπάνια αναπτύσσουν BCC.^{71,72}

Επιπλέον φαίνεται ότι δεν είναι κυρίως η συνολική αθροιστική ποσότητα της έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία, αλλά περισσότερο ο τρόπος της έκθεσης, που σχετίζεται με τον κίνδυνο ανάπτυξης του συγκεκριμένου νεοπλάσματος. Έχει παρατηρηθεί, ότι άτομα που λόγω επαγγέλματος εκτίθενται συνεχώς στον ήλιο τείνουν να εμφανίσουν κυρίως SCC. Αντίθετα, τόσο το μελάνωμα όσο και το BCC εντοπίζονται συχνότερα σε άτομα, που έχουν ιστορικό περιστατικών έντονης ηλιοέκθεσης, κυρίως για ψυχαγωγικούς σκοπούς.^{73,74,75}

Άτομα με ευαισθησία στην ηλιακή ακτινοβολία και με ιστορικό συχνών ηλιακών εγκαυμάτων παρουσιάζουν αναλογικά υψηλότερο κίνδυνο εκδήλωσης BCC, συγκριτικά με άτομα με σταθερά υψηλή συνεχόμενη έκθεση στον ήλιο κατά τη διάρκεια της ζωής τους.^{21,75,76} Επίσης, Καυκάσιοι με τύπους δέρματος Fitzpatrick I και II, μπλε ή πράσινα μάτια, κόκκινα ή ξανθά μαλλιά με φακίδες ανήκουν στις ευπαθείς ομάδες.^{77,78,79,80} Γενικά, άτομα με σκούρα επιδερμίδα προστατεύονται περισσότερο λόγω της μελανίνης η οποία δρα σαν φίλτρο για τις UV, περιορίζοντας τον κίνδυνο μεταλλάξεων.^{76,81} Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται επίσης και από την παρατήρηση, ότι Αφρικανοί με αλφισμό έχουν πιθανότητα εμφάνισης BCC ίση με τον Καυκάσιο πληθυσμό.^{82,83}

1.5.2. Τεχνητό μαύρισμα (solarium)

Μία πληθυσμιακή μελέτη σε 603 ασθενείς με BCC και 293 ασθενείς με SCC, σε σύγκριση με 540 υγιή άτομα, οδήγησε στο συμπέρασμα, ότι η χρήση των συσκευών μαυρίσματος ήταν αυτή που σχετίζεται με την παρατηρούμενη αυξητική τάση του κινδύνου νόσησης και της συχνότητας των NMSCs σε πολλές χώρες τις τελευταίες δεκαετίες. Συνολικά, η χρήση συσκευών μαυρίσματος έχει ενοχοποιηθεί για την

αύξηση της πιθανότητας νόσησης κατά 2,5 φορές για το SCC και κατά 1,5 φορά για το BCC.⁸⁴ Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης μελανώματος καθώς και των άλλων όγκων του δέρματος (BCC και SCC) σε νέες γυναίκες έχει συσχετιστεί με τη συχνότερη χρήση εσωτερικών κρεβατιών μαυρίσματος (solarium).⁸⁵ Σε αυτή την ηλικιακή ομάδα, μία ισλανδική μελέτη έδειξε αύξηση της συχνότητας εμφάνισης μελανώματος από το 1990 έως το 2000 η οποία φάνηκε να αντιστοιχεί σε αύξηση των σαλονιών μαυρίσματος στο Reykjavik από 3 το 1979 σε 207 σαλόνια το 1988.^{86,87}

Μία άλλη, επίσης μεγάλη μελέτη έδειξε ότι σημεία του σώματος μη ήλιο-εκτεθειμένα εμφανίζουν συχνότερα πρωτοπαθές μελάνωμα και BCC, ιδιαίτερα σε άτομα που συχνάζουν σε κλίνες μαυρίσματος (solarium).^{88,89} Αυτή η διαλείπουσα έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία σχετίζεται με υψηλότερη αθροιστική δόση συμβάλλοντας έτσι στον αυξημένο κίνδυνο καρκίνων του δέρματος.^{73,90} Λόγω αυτής της αύξησης, σε πολλές χώρες όπως στην Αυστραλία και σε μερικές Πολιτείες των ΗΠΑ, ισχύει αυστηρή νομοθεσία αδειοδότησης για σολάριουμ και έχει γενικά απαγορευτεί η πρόσβαση σε ανηλίκους.⁹¹

1.5.3. Ιονίζουσα ακτινοβολία

Ασθενείς που έχουν εκτεθεί σε ιονίζουσα θεραπευτική ακτινοβολία διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης BCC. Ιδιαίτερος αυτοί που είχαν υποβληθεί στο παρελθόν σε συγκριτικά νεαρή ηλικία σε ακτινοθεραπεία για την ακμή ή για δερματοφυτία του τριχωτού της κεφαλής (tinea capitis). Τα νεοπλάσματα εμφανίζονται σχεδόν αποκλειστικά εντός του πεδίου της ακτινοβολίας.⁹²

Και στους επιζήσαντες από τις ρίψεις των ατομικών βομβών στην Ιαπωνία στο Β' Παγκόσμιο Πόλεμο, έχει εντοπιστεί αύξηση εμφάνισης περιστατικών BCC. Σε κατοίκους του Ναγκασάκι, οι οποίοι δεν εκτέθηκαν στην ακτινοβολία της ατομικής βόμβας, η επίπτωση του BCC ήταν 3,1 ανά 100.000 ενώ στους επιζώντες της επίθεσης η συχνότητα εμφάνισης ήταν 9,4 ανά 100.000 άτομα τον χρόνο.⁹³

1.5.4. Αρσενικό

Το (ανόργανο) αρσενικό είναι ένα καρκινογόνο στοιχείο, που περιέχεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα υπόγεια ύδατα, ιδιαίτερα, σε ορισμένες περιοχές της γης, όπως στην Ινδία και στο Μπαγκλαντές, αλλά και σε συγκεκριμένες τοποθεσίες στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ.⁹⁴

Ο τρόπος έκθεσης σε αρσενικό δεν σχετίζεται με διαδερμική απορρόφηση. Οι χαρακτηριστικές δερματικές αλλοιώσεις, που προκαλούνται από την χρόνια δηλητηρίαση από αρσενικό ονομάζονται «αρσενικές κερατώσεις» και είναι προάγγελος της επακόλουθης ανάπτυξης τόσο SCC όσο και BCC.⁹⁵

1.5.5. Θεραπευτική εφαρμογή ψωραλενίου με υπεριώδη ακτινοβολία A (PUVA) και υπεριώδους ακτινοβολίας B

Έχει διαπιστωθεί, ότι ασθενείς με ψωρίαση που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με UVA σε συνδυασμό με ψωραλένιο (PUVA) διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση πρωτοπαθούς BCC. Ο κίνδυνος εμφάνισης BCC σε μία μελέτη παρακολούθησης ασθενών με ψωρίαση σε θεραπεία με PUVA, ήταν 21% σε ένα έτος, 49% σε 5 έτη, 61% σε 10 έτη και 70% σε 15 έτη.⁹⁶ Η συνεχής παρακολούθηση αυτών των ασθενών οδήγησε στη διαπίστωση, ότι 25 χρόνια μετά τη διακοπή της θεραπείας με PUVA σχεδόν το 1/3 των ασθενών που εκτέθηκαν σε περισσότερες από 200 θεραπευτικές συνεδρίες ανέπτυξαν τουλάχιστον ένα BCC.⁹⁷

Τα δεδομένα σχετικά με τον κίνδυνο εμφάνισης NMSCs μετά από θεραπεία με UVB δεν είναι ξεκάθαρα. Ενώ υπάρχουν στοιχεία που δεν δείχνουν σημαντική αύξηση του κινδύνου,⁹⁸ δεδομένα που συλλέχθηκαν από ασθενείς, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με PUVA και έλαβαν εκ των υστέρων θεραπεία με UVB έδειξαν, ότι ο κίνδυνος από την θεραπεία με UVB είναι μεγαλύτερος μετά από μια προηγούμενη υψηλότερη αθροιστική έκθεση στην PUVA (περισσότερες από 300 θεραπευτικές συνεδρίες) και αφού έχει παρέλθει ικανός χρόνος από την έκθεση.⁹⁹ Σε γενικές γραμμές, η φωτοθεραπεία με UVB θεωρείται πολύ λιγότερο καρκινογόνος θεραπεία από την PUVA. Ωστόσο, μία μικρή αύξηση του κινδύνου εμφάνισης NMSC θα πρέπει να συνυπολογιστεί όταν συνίσταται η θεραπεία με UVB για καλοήθεις παθήσεις του δέρματος, και ιδιαίτερα σε άτομα νεαρής ηλικίας.

1.5.6. Ασθενείς με μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων

Ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση συμπαγούς οργάνου εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση ποικίλων τύπων καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του δέρματος. Ο πιο συχνός τύπος καρκίνου δέρματος μετά από μεταμόσχευση είναι το SCC με σχεδόν 65 φορές αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό. Όσον αφορά το BCC, ο κίνδυνος αυξάνεται κατά

περίπου 10 φορές σε σχέση με το γενικό πληθυσμό.^{100,101} Συνεπώς, η συνήθης αναλογία επίπτωσης SCC προς BCC (περίπου 1:4), αντιστρέφεται στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση σε 4 προς 1 υπέρ του SCC.¹⁰²

Πίνακας 3. Παράγοντες κινδύνου BCC

Σχετικοί παράγοντες κινδύνου

- Έκθεση σε φως UV:
 - Έκθεση στο ηλιακό φως
 - Ευαισθησία στην ηλιακή ακτινοβολία
 - Μαύρισμα εσωτερικού χώρου(solarium)
 - Φωτοθεραπεία PUVA σε υψηλές δόσεις
- Ιονίζουσα ακτινοβολία
 - Επιφανειακή θεραπεία ιονίζουσας ακτινοβολίας
 - RT πριν από μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και για θεραπεία καρκίνου
 - Εκρήξεις ατομικής βόμβας (π.χ Ιαπωνία)
- Ανοσοκαταστολή σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση οργάνου
- Ασθενείς με HIV+
- Χρόνια έκθεση σε αρσενικό
- Υψηλό κοινωνικο-οικονομικό status

Μη σχετικοί παράγοντες κινδύνου

- Στεροειδή per os
- Κάπνισμα
- Καφές
- Αλκοόλ
- Τσάι
- Λαχανικά

Αμφιλεγόμενοι παράγοντες κινδύνου

- Φάρμακα φωτοευαισθησίας π.χ. τετρακυκλίνες και διουρητικά αγκύλης
- Φωτοθεραπεία UVB
- Συστηματική θεραπεία με κορτικοστεροειδή
- Τελευταίας γενιάς ανοσοκατασταλτικά φάρμακα (RAPA)
- Ομάδα αίματος O
- Εκπαίδευση
- Έκζεμα
- Ακτινική υπερκεράτωση
- Σμηγματογόνο σπίλος

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 1): epidemiology, pathology and genetic syndromes. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3011-21. doi: 10.2217/fon.15.246. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449153

1.6. Ιστολογικοί τύποι

Η ταξινόμηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας περιλαμβάνει τους ακόλουθους ιστολογικούς υποτύπους του BCC με βάση το μορφολογικό πρότυπο της ιστολογικής ανάπτυξής τους (**Πίνακας 4**).¹⁰³

1. Οζώδες
2. Επιφανειακό
3. Μικροοζώδες
4. Βασικό πλακώδες ή μετατυπικό καρκίνωμα
5. Διηθητικό
6. Σκληροδερμοειδές
7. Μελαγχρωματικό βασικοκυτταρικό
8. Βασικοκυτταρικό με σαρκοματώδη διαφοροποίηση
9. Βασικοκυτταρικό με εξαρτηματική διαφοροποίηση
10. Ινοεπιθελίωμα του Pinkus

1) Οζώδες

Ως ο πιο κοινός υπότυπος, το οζώδες BCC αντιπροσωπεύει περίπου το 50-80% των βλαβών.¹⁰⁴ Με μία προτίμηση για την κεφαλή και τον τράχηλο εμφανίζεται σαν ημισφαιρικό ογκίδιο, βραδέως εξελισσόμενο σε διάστημα ετών, σε δέρμα λευκό ή ερυθρό και με την πάροδο του χρόνου παρουσιάζει στο κέντρο του εξέλκωση. Η εξέλκωση χαρακτηρίζεται από απότομα ‘κομμένα’ χείλη, ανώμαλο και ελαφρά διηθημένο πυθμένα. Το ογκίδιο επεκτείνεται περιφερικά αποκτώντας χαρακτηριστικό όγκο από διακλαδούμενες τηλεαγγειεκτασίες και συρρέουσες, ημισφαιρικές, λευκορόδινες ή λευκογκρίζες και ημιδιαφανείς «μαργαριταροειδείς» βλατίδες.¹⁰⁴ Διηθητικοί όγκοι μπορεί να προκαλέσουν σημαντική καταστροφή των δομών, στις οποίες “εισβάλλουν”.¹⁰⁴ Με εξαίρεση μικρο-αιμορραγίες ή και κνησμό σε ορισμένες περιπτώσεις το BCC είναι κατά κανόνα ασυμπτωματικό.

2) Επιφανειακό

Περίπου 10-30% των όγκων επεκτείνονται κυρίως οριζόντια σε επαφή με την επιδερμίδα (επιπολής-επιφανειακά) και συνιστούν τον δεύτερο πιο συχνό κλινικο-ιστολογικό υπότυπο του BCC. Μερικές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει, ότι εμφανίζεται σε άτομα συγκριτικά νεότερης ηλικίας (πέμπτη δεκαετία της ζωής) και με

υψηλότερη επίπτωση στο γυναικείο φύλο σε σύγκριση με άλλους υποτύπους.^{21,105,106} Το επιφανειακό BCC παρουσιάζεται ως μία λεπτή, καλά περιεγραμμένη, ερυθματώδη επίπεδη πλάκα και λεπτά στρογγυλοποιημένα, ελαφρά επηρμένα όρια (όχθο). Ορισμένες φορές τίθεται πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης με φλεγμονώδεις αλλοιώσεις (ψωρίαση) ή *in situ* SCC (νόσος Bowen).¹⁰⁴ Τα επιφανειακά BCC εντοπίζονται κυρίως στον κορμό (κοιλιακή, οσφυϊκή χώρα, ράχη) αλλά μπορούν να εμφανιστούν επίσης, και στα κάτω άκρα και λιγότερο συχνά στον τράχηλο και στην κεφαλή.¹⁰⁶ Τόσο η οζώδης, όσο και η επιφανειακή μορφή μπορεί να εμπεριέχουν εναπόθεση μελανίνης (“μελαγχρωματικά” BCC), κάνοντας σε μερικές περιπτώσεις δύσκολη τη διάκρισή τους από κακοήγη μελανώματα.¹⁰⁴

3) Μικροοζώδες

Το μικροοζώδες BCC αντιπροσωπεύει περίπου το 15% του συνόλου των BCC και κατά κύριο λόγο, είναι ένας ιστοπαθολογικός όρος, που αναφέρεται σε νεοπλάσματα με πολλαπλές μικρές φωλές από συσσωρεύσεις πασσαλοειδούς διάταξης καρκινικών κυττάρων στο χόριο, συχνά χωρίς εμφανή σύνδεση με την υπερκείμενη επιδερμίδα.¹⁰⁷ Παρατηρείται συνηθέστερα στην πλάτη ως οζώδης υπέγερση, ή ως επίπεδη αλλοίωση. Λόγω της πολυεστιακής ανάπτυξης τα όρια του νεοπλάσματος καθορίζονται με δυσκολία, καθώς οι βλάβες έχουν συχνά σημαντική υποδερμική επέκταση πέρα από τον κύριο κορμό του όγκου, με απόρροια υψηλότερα ποσοστά υποτροπής μετά από συμβατική χειρουργική αντιμετώπιση.¹⁰⁴

4) Βασικοπλακώδες ή μετατυπικό

Εκπροσωπώντας λιγότερο από το 2% των BCC, τα βασικοπλακώδη ή μετατυπικά καρκινώματα είναι ένας ιστοπαθολογικός όρος, που αναφέρεται σε νεοπλάσματα, τα οποία παρουσιάζουν μεικτή ιστολογική εικόνα με μικροσκοπικά χαρακτηριστικά BCC και SCC.^{108,109} Στην συντριπτική πλειοψηφία τους εντοπίζονται στην κεφαλή και στον τράχηλο.¹⁰⁸ Τα κύτταρα είναι συνήθως μεγαλύτερου μεγέθους απ’ ότι στα τυπικά BCC, με πιο ανοιχτόχρωμο πυρήνα και περισσότερο κυτταρόπλασμα. Η πασσαλοειδής διάταξη των κυττάρων στην περιφέρεια των φωλεών μπορεί να μην είναι τόσο εμφανής. Συχνά δεσμίδες νεοπλασματικών κυττάρων με τη μορφή διηθητικών προεκβολών, φτάνουν ως το βαθύτερο χόριο και διηθούν το υποδόριο λίπος. Με εξειδικευμένες εξετάσεις αναδεικνύονται γειτονικές περιοχές του νεοπλάσματος με

ιστοπαθολογικούς χαρακτήρες BCC και SCC να διαχωρίζονται από μια ενδιάμεση «μεταβατική» ζώνη, γεγονός που υποδηλώνει την δυνατότητα διαφοροποίησης του ενός κυτταρικού τύπου στον άλλο.¹¹⁰ Δεδομένου της συγκριτικά πιο επιθετικής συμπεριφοράς του μετατυπικού BCC, που πλησιάζει εκείνη του SCC, πιστεύεται, ότι πρόκειται μάλλον για εξέλιξη BCC σε SCC και όχι το ανάποδο ή ότι πρόκειται για SCC με μερικούς μορφολογικούς χαρακτήρες BCC.²¹ Πράγματι με συγκριτικά υψηλά ποσοστά υποτροπής και μεταστάσης (πάνω από 5%)¹¹¹ τα συγκεκριμένα νεοπλάσματα συμπεριφέρονται κλινικά πολύ περισσότερο σαν SCC παρά σαν BCC.

5) Διηθητικό

Η κλινικο-ιστοπαθολογική του οντότητα έχει αμφισβητηθεί από πολλούς συγγραφείς. Συνδέεται ιδιαίτερα με περινευρική διήθηση. Λόγω της ιδιαίτερης ιστολογικής του επέκτασης με διάσπαση σε δεσμίδες νεοπλασματικών κυττάρων διάσπαρτων ανάμεσα στον κολλαγονικό σκελετό του χορίου τα χειρουργικά όρια εκτομής μπορεί να είναι δύσκολο να εκτιμηθούν με επαρκή ακρίβεια. Η περινευρική διήθηση εμφανίζεται σε ένα ποσοστό εκτιμώμενο 2- 6%, με κακοήθη κύτταρα, που περιβάλλουν το περίβλημα του νεύρου και δεσμίδες που εξαπλώνονται κατά το μήκος ενός επιφανειακού ή ενδοκρανιακού κλάδου.^{112,113,114,115,116,117,118,119} Αν η περινευρική διήθηση ανιχνεύεται μόνο στην ιστοπαθολογική εξέταση, αναφέρεται ως «μικροσκοπική περινευρική διήθηση». Εάν ένας ασθενής έχει ενδείξεις νευροπάθειας, παραδείγματος χάρη παραισθησία ή υπερευαισθησία πλησίον του όγκου πρόκειται για «κλινική περινευρική διήθηση».^{113,120}

6) Σκληροδερμοειδές

Λιγότερο από το 10% των BCC εμφανίζουν υφή παρόμοια με επεκτεινόμενη σκληροδερμική (σκληρυντική-δεσμοπλαστική) πλάκα που διηθεί και καταστρέφει τους περιβάλλοντες ιστούς.¹⁰⁷ Με ένα χαρακτηριστικά γοργό ρυθμό εξέλιξης και συχνές υποτροπές, οι αλλοιώσεις αυτές αντιμετωπίζονται συγκριτικά δυσκολότερα χειρουργικά λόγω της υποδερμικής επέκτασής τους.^{120,121} Εντοπίζονται κυρίως στην περιοχή του προσώπου και του τραχήλου σαν ελαφρώς επηρμένη πλάκα με ασαφή όρια, λευκωπής ή λευκοκίτρινης χροιάς (δίκην «παλιού ελεφαντόδοντου») και με υφή ουλής, λόγω της έντονης ίνωσης του στρώματος του όγκου.¹⁰⁴

7) Μελαγχρωματικό βασικοκυτταρικό¹⁰³

Εμφανίζεται ιδιαίτερα σε άτομα με σκουρόχρωμο δέρμα (υψηλό φωτότυπο) και σε Ασιάτες. Η μελάγχρωση μπορεί να είναι στικτή ή να εξαπλώνεται σε όλη την επιφάνεια του όγκου. Διαφοροδιάγνωση γίνεται από το μελάνωμα, τη μελαγχρωματική σμηγματορροϊκή υπερκεράτωση και τους μελανοκυτταρικούς σπύλους. Ο συγκεκριμένος υπότυπος έχει περιγραφεί σε επαφή (collision) με μελάνωμα υπό τον όρο βασικομελανοκυτταρικός όγκος, οντότητα, που όμως αμφισβητείται από άλλους συγγραφείς.

8) Βασικοκυτταρικό με σαρκοματώδη διαφοροποίηση¹⁰³

Παρατηρείται κυρίως σε ηλικιωμένους και σε ηλιοεκτεθειμένες περιοχές όπως στον τράχηλο και στο κεφάλι και είναι υπότυπος μελαγχρωματικού βασικοκυτταρικού. Στα άνω άκρα ο όγκος συνήθως έχει μεγάλο μέγεθος (>3 cm) κατά την παρουσίασή του. Τα τυπικά στοιχεία του βασικοκυτταρικού είναι αναμεμειγμένα με κακοήγη μεσεγχυματικά κύτταρα μάλλον επιθηλιακής προέλευσης και υποδηλώνουν σαρκοματώδη εξαλλαγή. Η σπανιότητά του κάνει την πρόγνωση δύσκολη.

9) Βασικοκυτταρικό με εξαρτηματική διαφοροποίηση¹⁰³

Περιλαμβάνει το infundibulocystic και το βασικοκυτταρικό με πορώδη διαφοροποίηση. Τα καρκινώματα με εξαρτηματική διαφοροποίηση έχουν υψηλότερο ποσοστό επιθετικής βιολογικής συμπεριφοράς από ότι τα τυπικά βασικοκυτταρικά. Η διαφοροδιάγνωσή του από τους γνήσιους εξαρτηματικούς όγκους μπορεί να είναι εξαιρετικά δύσκολη.

9α) Infundibulocystic

Η συγκεκριμένη μορφή αναγνωρίζεται ως ειδική κλινική οντότητα με χαρακτηριστική ιστοπαθολογία και συχνά πιο αργή εξέλιξη σε σχέση με άλλες μορφές.¹²² Παρουσιάζεται ως μία καλώς περιγεγραμμένη βλατίδα με μαργαριταροειδή μακρομορφολογία και εμφανίζεται κυρίως στον τράχηλο και την κεφαλή ηλικιωμένων.¹⁰⁴ Λόγω της κλινικής του εμφάνισης και της αργής του εξέλιξης ο συγκεκριμένος τύπος BCC εκλαμβάνεται πιο συχνά από άλλες μορφές BCC λανθασμένα ως καλοήθης όγκος του δέρματος.¹²³

10) Ινοεπιθηλίωμα του Pinkus

Το ινοεπιθηλιακό BCC (Pinkus) είναι ένας σπάνιος υπότυπος που εντοπίζεται με προτίμηση τον κορμό (ράχη) καθώς και περιοχές στις οποίες έχει προηγηθεί ακτινοθεραπεία. Συχνά, γίνεται λανθασμένη κλινική διάγνωση με αλλοιώσεις που είναι συνήθως στο χρώμα του δέρματος (ινοεπιθηλιακός πολύποδας -ακροχορδόνας ή μη-μελαγχρωματική, σμηγματορροϊκή υπερκεράτωση).¹⁰⁴ Η βλάβη είναι συνήθως μονήρης. Τα νεοπλάσματα είναι ασυμπτωματικά, ρόδινου χρώματος, σκληροελαστικής σύστασης και ορισμένες φορές μισχωτά, κυρίως στη ράχη ή στην κοιλιακή χώρα. Από πολλούς ερευνητές εκτιμάται πως το συγκεκριμένο νεόπλασμα θα έπρεπε να συγκαταλέγεται στα εξαρτηματικά νεοπλάσματα του δέρματος, σαν υπότυπος του τριχοβλαστώματος.¹²⁴

Πίνακας 4. Κλινική παρουσίαση BCC		
Υπότυπος	Κλινικά χαρακτηριστικά	Σημειώσεις
Οζώδης	Λευκό ή ροζ, βλατίδα σε σχήμα θόλου με μαργαριταρένιο όχθο, που επεκτείνεται περιφερειακά Ακανόνιστο πρότυπο ανάπτυξης, με πολυλοβωτή επιφάνεια και τηλεαγγειεκτατικά αγγεία Δερματικές βλάβες με κακή συνοχή, εύθρυπτες κατά τη διάρκεια απόξεσης ή βιοψίας Συχνή εξέλκωση και αιμορραγία στην κεντρική περιοχή Κυστικός υπότυπος: λεία, στρογγυλή, κυστική δερματική βλάβη, με παρόμοια κλινική συμπεριφορά	Η πιο συχνή κλινική παρουσίαση Σημαντικές διαφοροδιαγνώσεις περιλαμβάνουν: – Μολυσματική τέρμινθο και δερματικό σπίλο – Έλκη ποδιών – Κερατοακάνθωμα και ερεθισμένη σμηγματορροϊκή κεράτωση
Επιφανειακός	Ενιαίες ή πολλαπλές δερματικές βλάβες, συχνότερα στον κορμό και στα άκρα αλλά και στο πρόσωπο Στρογγυλεμένη κόκκινη πλάκα με λευκό, μαργαριταρένιο, λεπτό, ανασηκωμένο όριο	Ένας από τους λιγότερο επιθετικούς υπότυπους BCC Κυρίως στις μη-ηλιοεκτεθειμένες θέσεις του δέρματος Σημαντικές διαφοροδιαγνώσεις περιλαμβάνουν:

	Εφελκίδα και λέπια σε μεγαλύτερες δερματικές βλάβες Εμφανής τηλεαγγειεκτασία «Καλπάζουσα» ανάπτυξη, που επεκτείνεται περιφερειακά	– Έκζεμα – Ψωρίαση – Εξωμαστική νόσος του Paget – Νόσος του Bowen
Σκληροδερμοειδές	Σκληρή πλάκα, με ασαφή όρια Επιθετικό, φυγοκεντρικά αυξανόμενο νεόπλασμα, με βαθιά επέκταση.	Δύσκολο να εντοπιστεί σε κλινική εξέταση, εάν δεν υπάρχει έλκος Ήδη πολύ διηθημένο κατά τη διάγνωση Σημαντικές διαφοροδιαγνώσεις περιλαμβάνουν: – Τοπική σκληροδερμία – Λευκή ουλή (δεσμοπλαστικό τριχοβλάστωμα)
Μελαγχρωματικό	Καφέ, μαύρο ή μπλε χρώμα. Υπερυψωμένο, ημιδιαφανές, με μαργαριταρένιο λευκό περίγραμμα	Πιο συχνά σχετίζεται με οζώδη υπότυπο, αλλά και με επιφανειακούς και σκληροδερμοειδείς υποτύπους Πιο συχνό σε ασθενείς με σκούρο φωτότυπο. Σημαντικές διαφοροδιαγνώσεις περιλαμβάνουν: – Μελανοκυτταρικούς σπίλους – Μελάνωμα – Μελαγχρωματική σμηγματορροϊκή υπερκεράτωση
Ελκωτικό	Στρογγυλεμένο, ημιδιαφανές, μαργαριταρένιο, σκληρής συστάσεως, λείου όχθου με τηλεαγγειεκτασίες Συχνά καλύπτεται με εφελκίδα	Μερικές φορές χαρακτηρίζεται “τρωκτικό έλκος” Κάθε υπότυπος BCC μπορεί να ελκωθεί. Σημαντικές διαφοροδιαγνώσεις περιλαμβάνουν: – Ανώδυνα έλκη – Πρωτοπαθές εξωγεννητικό συφιλιδικό έλκος (σύφιλη)

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.

1.7. Σύνδρομο που σχετίζονται με BCC

Στον **Πίνακα 5** συνοψίζονται τα κλινικοεργαστηριακά ευρήματα επιλεγμένων γενετικών συνδρόμων, που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μη μελανοκυτταρικού καρκίνου του δέρματος.

Το σύνδρομο των πολλαπλών BCC (ή σύνδρομο Gorlin-Goltz) είναι μία σπάνια αυτοσωμικά επικρατούσα νόσος, που περιγράφηκε αρχικά από τον Nomland το 1932¹²⁵ ως «συγγενείς μελαγχρωματικοί βασικοκυτταρικοί σπίλοι». Το σύνδρομο προκαλείται από μεταλλάξεις του PTCH1 γονιδίου, το οποίο έχει χαρτογραφηθεί στο χρωμόσωμα 9q22.3.^{126,127}

Χαρακτηρίζεται από τα ακόλουθα κλινικά ευρήματα:¹²⁸

1. Πολλαπλά BCC
2. Θετικό οικογενειακό ιστορικό
3. Κύστεις στην κάτω γνάθο
4. Σπλαχνικά αμαρτώματα, όπως μεσεντερικές κύστεις, κύστεις νεφρού, ινώματα των ωοθηκών, της μήτρας και γαστρικοί πολύποδες
5. Σπλαχνικές κακοήθειες, όπως αδеноκαρκίνωμα ωοθηκών, ινοσάρκωμα ωοθηκών, ινοσάρκωμα της κάτω γνάθου και αμελοβλάστωμα
6. Παλαμιαία και πελματιαία βοθρία
7. Σκελετικές ανωμαλίες, συμπεριλαμβανομένων υπερτελορισμού
8. Νευρολογικές ανωμαλίες, όπως π.χ. επιληψία, μηνιγγίωμα και μυελοβλάστωμα^{129,130,131}
9. Άλλα νεοπλάσματα (λειτουργικό σάρκωμα, ραβδομυοσάρκωμα, ινοσάρκωμα)^{132,133,134}

Χαρακτηριστικό του συνδρόμου, είναι η τάση για ανάπτυξη BCC στον ασθενή σε μία σχετικά νεαρή ηλικία και συχνά σε μη ήλιοεκτεθειμένες περιοχές.¹³⁵

Γραμμοειδής βασικοκυτταρικός σπίλος

Σύνδρομο Bazex

Σύνδρομο Muir-Torre

Πίνακας 5. Σύνοψη επιλεγμένων γενετικών συνδρόμων που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μη μελανοκυτταρικού καρκίνου του δέρματος.¹⁰⁴

Σύνδρομο	Γονίδιο	Γενετικός τύπος	Λειτουργία	Τρόπος κληρονομικότητας	Διαγνωστικοί τεστ
Basal cell nevus σύνδρομο	PTCH1, PTCH2, και SUFU	9q22.32, 1p34.1, 10q24.32	Μέρη του Hedgehog σηματοδοτικού μονοπατιού	Αυτοσωμικός επικρατής	Ambry Genetics, Prevention Genetics, Fulgent Diagnostics, Invitae, και Emory-Genetics
Bazex-Dupre-Chrisol Σύνδρομο	Άγνωστο	Xq25-27.1	Επιδιόρθωση του DNA και ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου	Φυλοσύνδετος επικρατής	
Rombo σύνδρομο	Άγνωστο	Άγνωστο	Άγνωστο	Αυτοσωμικός επικρατής	
Μελαγχρωματική ξηροδερμία (Xeroderma Pigmentosum) *	XPA-XPG και XPV	9q22.33, 2q14.3, 3p25.1, 19q13.32, 11p11.2, 16p13.12, 13q33.1, 6p21.1	Επιδιόρθωση μέσω αφαίρεσης νουκλεοτιδίου	Αυτοσωμικός υπολειπόμενος	Fulgent Diagnostics και Prevention Genetics
Rothmund Thomson syndrome*	RECQL4 και C16orf57	8q24.3 and 16q13	Χρωμοσωμική αστάθεια, διατήρηση τελομερών	Αυτοσωμικός υπολειπόμενος	Fulgent Diagnostics, Prevention Genetics, και Emory Genetics
Werner syndrome*	WRN/RECQL2	8p12	Χρωμοσωμική αστάθεια	Αυτοσωμικός υπολειπόμενος	Fulgent Diagnostics και Prevention Genetics
Bloom syndrome*	BLM/RECQL3	15q26.1	Χρωμοσωμική αστάθεια	Αυτοσωμικός υπολειπόμενος	Centogene AG-The Rare Disease Company
Muir-Torre σύνδρομο[†]	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	3p22.2, 2p21, 2p16.3, 7p22.1	Επιδιόρθωση λανθασμένων βάσεων	Αυτοσωμικός επικρατής	Ambry Genetics και Fulgent Diagnostics

*Επίσης υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης ακανθοκυτταρικού καρκινώματος.

[†]Επίσης υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης όγκου μαλακών μορίων και ακανθοκυτταρικού καρκινώματος.

Cameron MC, Lee E, Hibler BP, Barker CA, Mori S, Cordova M, Nehal KS, Rossi AM. Basal cell carcinoma: Epidemiology; pathophysiology; clinical and histological subtypes; and disease associations. *J Am Acad Dermatol.* 2019 Feb;80(2):303-317. doi: 10.1016/j.jaad.2018.03.060. Epub 2018 May 18. PMID: 29782900.

1.8. Διάγνωση

Το BCC εντοπίζεται συνήθως με την κλινική εξέταση, με υποστηρικτική δερματοσκόπηση (**Πίνακας 6**), αλλά απαιτείται βιοψία για να επιβεβαιωθεί η διάγνωση. Η λήψη βιοψίας είναι η καλύτερη μέθοδος για τη διάγνωση του BCC. Αποτελεί απαραίτητη διαδικασία για τον καθορισμό του ιστολογικού υποτύπου και παρέχει πρόσθετες πληροφορίες, σχετικά με τον κίνδυνο υποτροπής μετά από θεραπεία¹³⁶. Πιο σύγχρονες απεικονιστικές μέθοδοι διάγνωσης όπως η οπτική τομογραφία συνοχής και η reflectance confocal microscopy (μικροσκόπηση συνεκλαστικής ανάκλασης) συνεισφέρουν στη μη-επεμβατική προσέγγιση στη διάγνωση του BCC, αλλά δεν μπορούν να υποκαταστήσουν την διαγνωστική βιοψία.^{137,138,139}

Ανάλογα με την εντόπιση, το μέγεθος, τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά και την υποτροπή, οι μεμονωμένες βλάβες ταξινομούνται σε τρία επίπεδα κινδύνου για ανάπτυξη υποτροπής (και μετάστασης) **μετά από χειρουργική θεραπεία** (Πίνακες 7-9).¹⁴⁰

1.8.1. Υψηλού κινδύνου BCC:

1. ένα ή περισσότερα
2. μετατυπικού ή σκληροδερμοειδούς τύπου
3. υποτροπιάζοντα (εκτός από τα επιφανειακά)
4. οζώδη BCC με διάμετρο >10mm σε θέση υψηλού κινδύνου (‘Η’ ανατομική περιοχή προσώπου)

1.8.2. Ενδιάμεσου κινδύνου BCC:

1. υποτροπιάζοντα επιφανειακά
2. οζώδη με διάμετρο
 - a) <10 mm σε θέση υψηλού κινδύνου
 - b) >10 mm σε ενδιάμεση θέση κινδύνου
 - c) >20 mm σε θέση χαμηλού κινδύνου

1.8.3. Χαμηλού κινδύνου BCC:

- επιπολής- επιφανειακό πρωτοπαθές
- όγκος Pinkus
- οζώδεις με διάμετρο

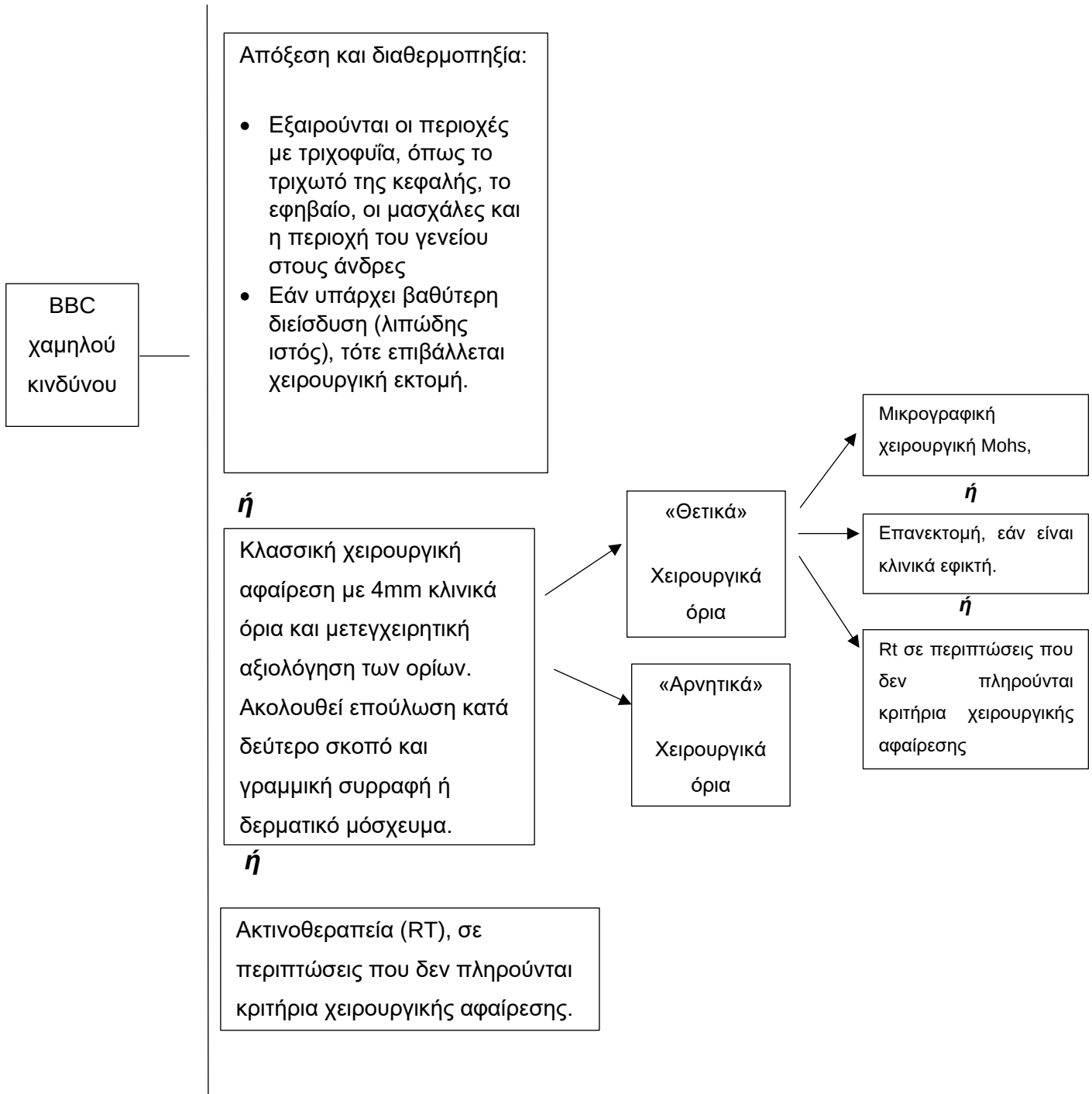
- <10 mm σε θέση ενδιάμεσου κινδύνου
- <20 mm σε θέση χαμηλού κινδύνου

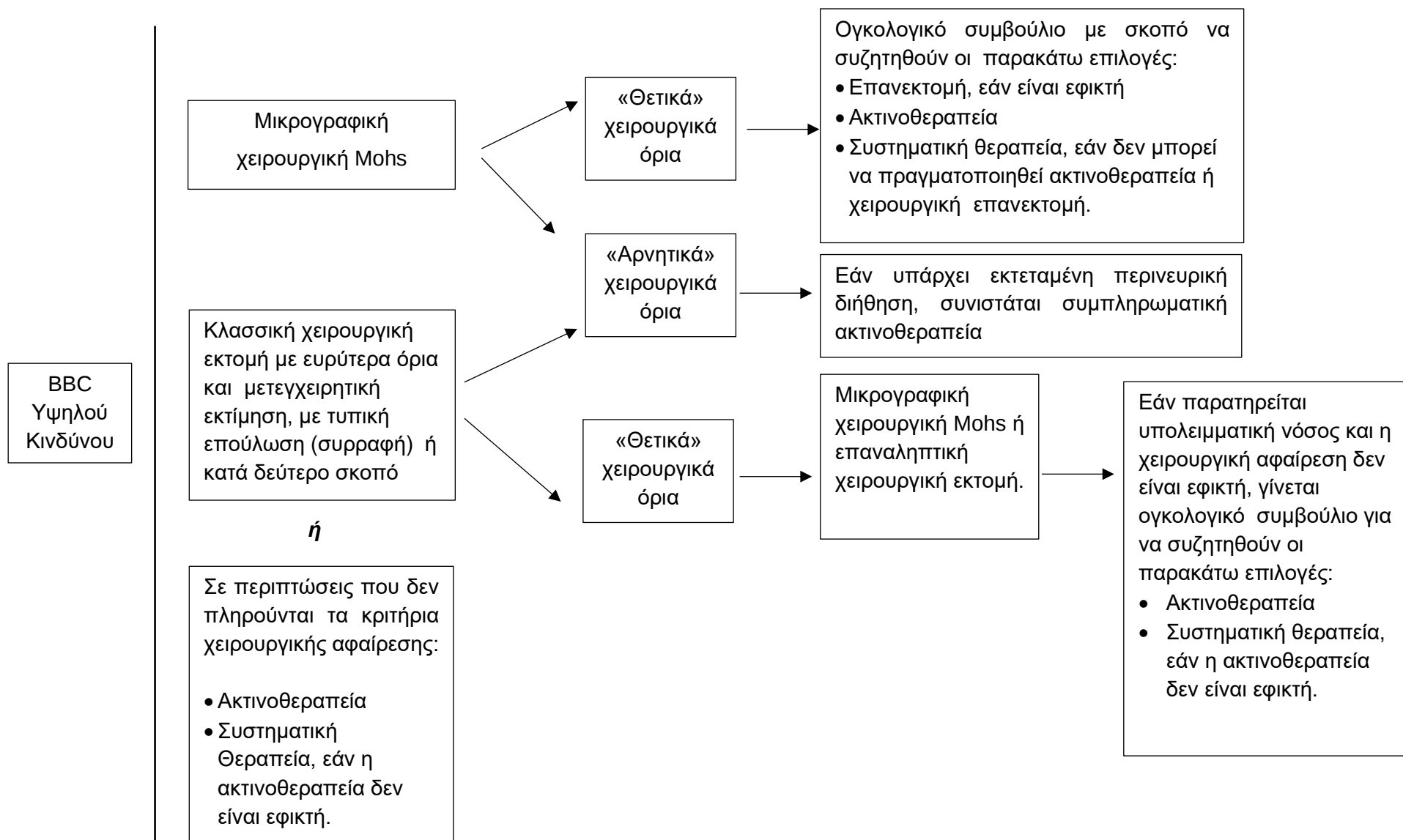
Το χαμηλού κινδύνου BCC βρίσκεται στον κορμό, άνω και κάτω άκρα, παρειές, τριχωτό της κεφαλής, τράχηλο και πώγωνα, είναι κάτω από 2 cm, είναι επιφανειακό ή οζώδες, δεν έχει υποτροπιάσει μετά από θεραπεία, δεν υπάρχει περινευρική διήθηση και τέλος τα όρια του είναι σαφή. Σε αντίθεση τα υψηλού κινδύνου εντοπίζονται στα βλέφαρα, τη μύτη και τα ώτα, καθώς και περιοφθαλμικά, είναι μεγαλύτερα από 2 cm με επιθετικό υπότυπο, όπως π.χ. σκληροδερμοειδές ή μικροοζώδες, έχουν περινευρική διήθηση και τέλος τα όρια τους είναι ασαφή. Έτσι η περιοχή του προσώπου που είναι υψηλού κινδύνου έχει το σχήμα του γράμματος 'H' (**Εικόνα 4**) και καθορίζει τις θέσεις όπου υποτροπιάζει συχνότερα μετά από χειρουργική εκτομή ή άλλη επεμβατική μέθοδο θεραπείας¹¹².

Οι τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες του NCCN (2021) ταξινομούν το BCC σε χαμηλού και υψηλού κινδύνου με τους αντίστοιχους αλγόριθμους θεραπείας και παρακολούθησης (follow-up).¹⁴¹

ΚΥΡΙΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ





- ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

*Συμπεριλαμβανομένης ολικής κλινικής εξέτασης κάθε 6-8 μήνες τα πρώτα 5 έτη και μετά κάθε χρόνο επ' αόριστον

- Προτείνεται απεικονιστικός έλεγχος αν η κλινική εξέταση είναι ανεπαρκής για το follow up
- Εκπαίδευση ασθενή
 1. Ηλιοπροστασία
 2. Αυτοεξέταση

Τοπική υποτροπή

Κυρίως θεραπεία για
υψηλού κινδύνου
BCC

Λεμφαδενικές ή Απομακρυσμένες
μεταστάσεις

Ογκολογικό συμβούλιο για να
επιλεγθεί μια από τις κάτωθι επιλογές:

- Χειρουργική αφαίρεση
- Ακτινοθεραπεία
- Αναστολέας του μονοπατιού του Hedgehog
 1. Vismodegib
 2. Sonidegib
- Ένταξη σε κλινικό πρωτόκολλο (Clinical Trial)

Πίνακας 9. Κριτήρια δερματοσκόπησης BCC	
Δερματοσκοπικά χαρακτηριστικά	Περιγραφή
Διακλαδούμενα αιμοφόρα αγγεία	Νεοαγγείωση (διαστολή των αιμοφόρων αγγείων στο χόριο)
Επιφανειακές λεπτές ευρυαγγείες	Ευρυαγγείες (θηλωδες χόριο)
Μελαγχρωματικό BCC: – Πολλαπλά μπλε-γκρι οζίδια – Μπλε-γκρι ωοειδής φωλέες – Εστιασμένες τελείες – Περιοχές όμοιες με φύλλα σφενδάμου – Ομόκεντρες δομές – Περιοχές ακτίνων τροχού	Πολλές μικρές φωλέες κυττάρων γύρω από το θηλώδες ή / και το δικτυωτό χόριο Μεγάλες ,με σαφή οριοθέτηση φωλέες μελαγχρωματικών νεοπλασματικών κυττάρων, που επεκτείνονται και εισβάλουν στο χόριο Οριοθετημένες, μικρές εστιασμένες γκρι τελείες Πολυεστιακές Φωλέες νεοπλασματικών κυττάρων με χρωματισμένες συσσωρεύσεις συνδεδεμένες μεταξύ τους, κυρίως στην επιδερμίδα Μικρές φωλέες νεοπλασματικών κυττάρων στην επιδερμίδα, με κεντρική μελάγχρωση. Πιθανότατα πρόδρομος των περιοχών ακτινωτού τροχού. Μικρές φωλέες νεοπλασματικών κυττάρων στην επιδερμίδα με κεντρική μελάγχρωση και σχηματικά όμοιες με τεντωμένα δάχτυλα.
Πολλές μικρές διαβρώσεις	Μικρές περιοχές με δερματική απώλεια, που καλύπτονται από καφέ εφελκίδα
Έλκωση	Περιοχές χωρίς δομή και με δερματική απώλεια. Καλύπτονται συνήθως από αιματογενή εφελκίδα.
Λαμπερές λευκο-ερυθρές περιοχές χωρίς δομή	Διάχυτη δερματική ίνωση ή ινώδες νεοπλασματικό στρώμα σε λευκό ή κόκκινο χρώμα
Μικρές λευκές ραβδώσεις	Στρώμα και ινώδες χόριο, που σχηματίζει μικρές και παχιές γραμμές διέλευσης, διακριτές μόνο με πολωμένη δερματοσκόπηση.

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.

Πίνακας 10. Σημαντικοί προγνωστικοί δείκτες για την υποτροπή BCC .	
Νεόπλασμα και χαρακτηριστικά ασθενούς	Περιγραφή
Μέγεθος και θέση	≥6 χιλ. διάμετρος σε περιοχές υψηλού κινδύνου (μέσον προσώπου, μύτη, χείλη, βλέφαρα, φρύδια, περικογχικό δέρμα, πηγούνι, κάτω γνάθος, αυτιά, προωτιαίες και οπισθοωτιαίες περιοχές, κρόταφοι, χέρια και πόδια) >10 χιλ. διάμετρος σε άλλες περιοχές του κεφαλιού και του τραχήλου (περιοχές μέτριου κινδύνου) >20 χιλ. διάμετρος σε άλλες περιοχές εκτός από τα χέρια και τα πόδια (περιοχές χαμηλού κινδύνου)
Επιθετικά ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά	σκληροδερμοειδές, σκληρυντικό ή μικτό διηθητικό πρότυπο σε οποιαδήποτε περιοχή του BCC. Μικροοζώδες πρότυπο σε κάθε τμήμα του BCC. Μετατυπικός υπότυπος. Δερματικές βλάβες με ασαφή όρια Περινευρική διήθηση.
Αποτυχία προηγούμενων θεραπειών	
Περιοχή προηγούμενης ακτινοθεραπείας	
Ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς	

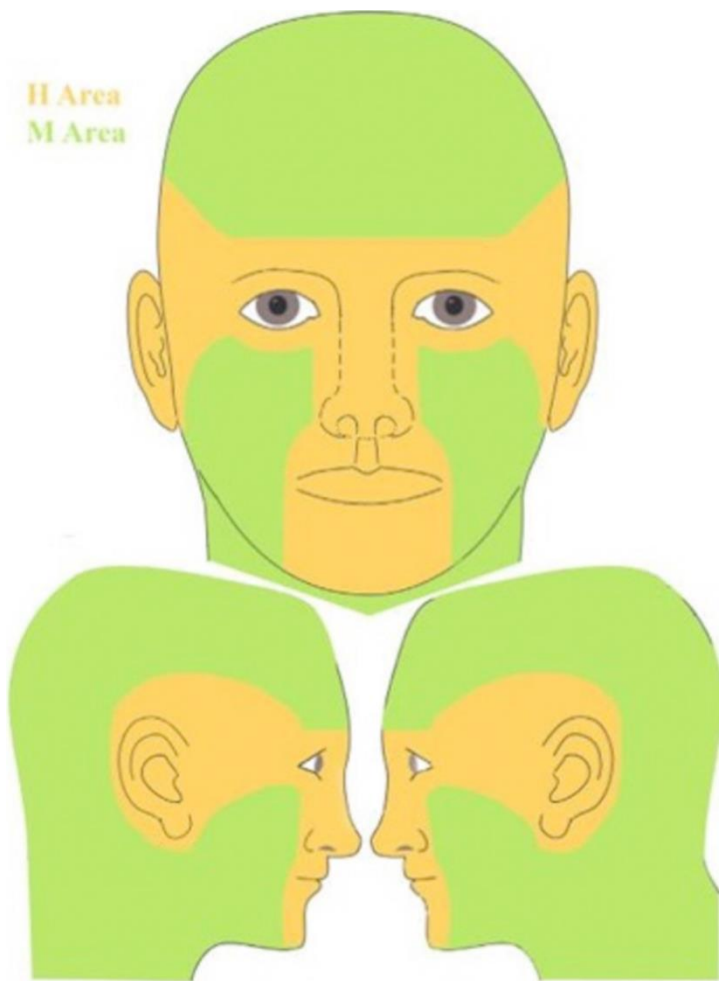
Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.

Πίνακας 11. Κύριοι προγνωστικοί δείκτες υποκλινικής εξάπλωσης του BCC.
Σημαντικοί προγνωστικοί δείκτες της εκτεταμένης υποκλινικής εξάπλωσης του BCC • Μετατυπικό, σκληροδερμοειδές, οζώδες και υποτροπιάζων BCC στη μύτη • Σκληροδερμοειδές BCC στην παρειά • Υποτροπιάζων BCC στους άνδρες • Κάθε υπότυπος BCC στον τράχηλο των ανδρών • Οποιοδήποτε BCC στην έλικα του αυτιού, το βλέφαρο και τον κρόταφο • Προεγχειρητικό μέγεθος >10 χιλ. • Ασθενείς <35 ετών, είναι λιγότερο πιθανό να παρουσιάσουν εκτεταμένη κλινική εξάπλωση του BCC • Η ανοσοκαταστολή δεν είναι προγνωστικός δείκτης εκτεταμένης υποκλινικής εξάπλωσης

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.

Πίνακας 12. Ποσοστά υποτροπής BCC μετά από χειρουργική εκτομή
Υψηλότερα ποσοστά υποτροπής μετά από χειρουργική εκτομή • Επιθετικός υπότυπος BCC • Υποτροπιάζων BCC • Ανατομική θέση (κεφάλι) • Θετικά χειρουργικά όρια • Φύλο ασθενούς (άρρεν) Χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής μετά από χειρουργική εκτομή • Ανατομική περιοχή (λαιμός, κορμός και άκρα) Δεν σχετίζονται με αυξημένα ποσοστά υποτροπής • Μέγεθος δερματικής βλάβης • Χρονική διάρκεια δερματικής βλάβης από την πρώτη κλινική αξιολόγηση • Αισθητικό αποτέλεσμα • Ηλικία ασθενούς

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.



Εικόνα 4 Περιοχή υψηλού κινδύνου του προσώπου. Η περιοχή «Η» υποδεικνύει την περιοχή του προσώπου (κέντρο προσώπου, βλέφαρα, φρύδια, περικογχικά, μύτη, χείλη [δέρμα και vermilion], πηγούνι, κάτω γνάθος, πρεωτιαίο/οπισθοωτιαίο δέρμα / πτυχή, κρόταφος και αυτί), των γεννητικών οργάνων, των χεριών και των ποδιών. Η περιοχή «Μ» περιλαμβάνει τις παρειές, το μέτωπο, το τριχωτό της κεφαλής, τον αυχένα και την προκνημιαία περιοχή

Cameron MC, Lee E, Hibler BP, Giordano CN, Barker CA, Mori S, Cordova M, Nehal KS, Rossi AM. Basal cell carcinoma: Contemporary approaches to diagnosis, treatment, and prevention. *J Am Acad Dermatol.* 2019 Feb;80(2):321-339. doi: 10.1016/j.jaad.2018.02.083. Epub 2018 May 19. Erratum in: *J Am Acad Dermatol.* 2019 Jul;81(1):310. PMID: 29782901.

1.9. Θεραπεία πρωτογενών BCC

1.9.1. Χειρουργική εκτομή

Τα περισσότερα πρωτογενή BCC μπορούν εύκολα να αντιμετωπιστούν με χειρουργική αφαίρεση, ενώ μη χειρουργικές μέθοδοι είναι γενικά το ίδιο αποτελεσματικές τουλάχιστον για ορισμένους ιστολογικούς υποτύπους. BCC με υψηλό κίνδυνο υποτροπής θα πρέπει να αντιμετωπίζονται άμεσα (**Πίνακας 10**). Ο κίνδυνος υποτροπής αυξάνεται αναλόγως με το μέγεθος του όγκου, τον ιστολογικό υπότυπο, τα ασαφή όρια εκτομής και το ιστορικό προηγούμενων υποτροπών.¹⁴²

Η χειρουργική εκτομή αποτελεί αποτελεσματική θεραπεία για πρωτογενή BCC με ποσοστά υποτροπής που κυμαίνονται από 2-8% σε περίοδο πέντε ετών μετά την επέμβαση.¹³⁶ Τα όρια εκτομής κατά τη διαδικασία συμβατικής χειρουργικής επέμβασης ποικίλουν σε σχέση με κάθε ισότυπο και τα ποσοστά υποτροπής του εκάστοτε όγκου. Προτείνεται ένα εύρος ορίων εκτομής μεταξύ 2-5 mm για όγκους χαμηλού κινδύνου και 5-15 mm για όγκους υψηλού κινδύνου.^{143,144} Εκτός από άλλους παράγοντες (π.χ. πρωτοπαθής ή υποτροπιάζουσα βλάβη, παρουσία ή απουσία περινευρικής διήθησης) το μέγεθος του όγκου είναι ζωτικής σημασίας για την πρόβλεψη κινδύνου υποδερμικής επέκτασης κατά την στιγμή της εκτομής. Όγκοι με διάμετρο <2 cm θα αντιμετωπιστούν με ένα ελάχιστο πλάγιο όριο 4 mm μακρομορφολογικά υγιούς δέρματος, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα υποτροπής σε ένα επίπεδο <5% των περιπτώσεων.¹⁴⁵ Όμως για βλάβες με την ίδια διάμετρο και επιπρόσθετα χαρακτηριστικά νεοπλασματος υψηλού κινδύνου απαιτείται περιθώριο ‘ασφαλείας’ τουλάχιστον 13 mm για να επιτευχθεί το ίδιο επίπεδο ίασης.¹⁴⁶ Κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν για τα υποδερμικά όρια εκτομής αφαίρεση των ιστών μέχρι το επίπεδο του λιπώδους ιστού και σε περιπτώσεις που αφορούν εντόπιση στην κεφαλή μέχρι το επίπεδο του περιχονδρίου ή του περιόστιου.¹⁴⁴

Η μικρογραφικά ελεγχόμενη χειρουργική επέμβαση κατά Mohs συστήνεται για BCC που παρουσιάζουν υψηλό κίνδυνο υποτροπής. Θεωρείται η πιο αποτελεσματική μέθοδος χειρουργικής θεραπείας, καθώς βασίζεται σε μια διαδικασία ανελλιπούς ελέγχου των χειρουργικών ορίων.^{147,148,149} Τα 5ετή ποσοστά υποτροπής με την μέθοδο αυτή είναι 1-5% για πρωτοπαθή και υποτροπιάζοντα BCC αντίστοιχα, σε σύγκριση με αντίστοιχα 10,1-17,4% μετά μία συμβατική χειρουργική θεραπεία.^{150,151}

1.9.2. Τοπικές φαρμακευτικές θεραπείες

Έχοντας την έγκριση του FDA , τοπική εφαρμογή ιμικουϊμόδης ή 5FU συστήνεται για τα επιφανειακά BCC.^{152,153,154,155} Τα αισθητικά αποτελέσματα είναι καλύτερα, έπειτα από χρήση ιμικουϊμόδης,¹⁵⁶ η οποία φαίνεται να είναι αποτελεσματική και σε περιπτώσεις πολλαπλών BCC (σύνδρομο Gorlin-Gotz) (Πίνακας 11-12).^{157,158}

1.9.3. Φωτοδυναμική θεραπεία

Η φωτοδυναμική θεραπεία είναι μία άλλη επιλογή θεραπείας για BCC χαμηλού κινδύνου. Αν και λιγότερο αποτελεσματική από τη χειρουργική εκτομή, έχει καλύτερα αισθητικά αποτελέσματα και μπορεί να συμβάλλει στη μείωση των διαστάσεων του όγκου πριν το χειρουργείο (off-label), καθώς και επικουρικά στη μείωση της πιθανότητας υποτροπής του μετά από αυτό.^{159,160,161}

1.9.4. «Καταστροφικές» θεραπείες με φυσικά μέσα

Η απόξεση, ο ηλεκτροκαυτηριασμός, η κρυοθεραπεία και η αφαίρεση με laser προτείνονται γενικά για μικρά, χαμηλού κινδύνου BCC, τα οποία δεν εντοπίζονται στο πρόσωπο, αλλά και για πολλαπλά μικρής διαμέτρου BCC. Η απόξεση επιτρέπει ιστοπαθολογική αξιολόγηση, η οποία δεν είναι δυνατή με τις άλλες παραπάνω θεραπείες.¹⁴²

1.9.5. Συνδυαστικές θεραπείες

Ο συνδυασμός θεραπευτικών μεθόδων βασίζεται στην αρχή, ότι οι μηχανισμοί δράσης τους είναι τουλάχιστον συμπληρωματικοί ή ακόμη καλύτερα συνεργικοί. Συνδυαστικές θεραπείες μπορεί να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία επιλεγμένων ασθενών στους οποίους το αποτέλεσμα με χειρουργική εκτομή αναμένεται να είναι υποδεέστερο αισθητικά, να συνοδεύεται από σημαντικές λειτουργικές συνέπειες ή ακόμη και από χαμηλή πιθανότητα ίασης.¹⁴²

1.9.6. Ακτινοθεραπεία

Ο σκοπός της ακτινοθεραπείας στην περίπτωση της αντιμετώπισης του BCC είναι η πλήρης αφαίρεση της κακοήθειας, διατηρώντας κατά το μέγιστο δυνατό υγιή ιστό. Δύο τύποι ακτινοθεραπείας έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία των BCC: Η τηλεθεραπεία (external beam RT) (ακτινοθεραπεία εξωτερικής δέσμης) και η βραχυθεραπεία.¹⁰⁴ Η ακτινοθεραπεία θεωρείται η βασική θεραπεία σε ασθενείς που δεν είναι δυνατή η χειρουργική θεραπεία (π.χ. τοπικά προχωρημένη νόσος, αντένδειξη χειρουργικής επέμβασης εξ αιτίας συνοδών νοσημάτων, κτλ.).^{162,163} Συνιστάται κυρίως για όγκους που εντοπίζονται στο πρόσωπο (βλέφαρο, μύτη, χείλη) ή μεγάλες βλάβες στο αυτί, το μέτωπο και το τριχωτό της κεφαλής.^{164,165}

1.9.7. Θεραπεία τοπικά προχωρημένων και μεταστατικών BCC

Οι φαρμακευτικές ουσίες Vismodegib και Sonidegib (αναστολείς του μονοπατιού του Hedgehog) έχουν επίσημη έγκριση για τη θεραπεία του προχωρημένου BCC, που δεν είναι υποψήφιο για χειρουργική εκτομή ή ακτινοθεραπεία. Περαιτέρω, το Vismodegib έχει πάρει έγκριση και για τη θεραπεία του μεταστατικού BCC.^{166,167}

Πίνακας 13. Χειρουργικές επεμβάσεις BCC: πλεονεκτήματα / ενδείξεις και μειονεκτήματα / αντενδείξεις		
Η χειρουργική τεχνική	Πλεονεκτήματα / ενδείξεις	Μειονεκτήματα / αντενδείξεις
Χειρουργική εκτομή	Γρήγορη Φτηνή Εξωτερικά ιατρεία υπό τοπική αναισθησία Ανεκτή Αρκετές πληροφορίες σχετικά με τα χειρουργικά όρια του όγκου Καλά μακροπρόθεσμα κοσμετολογικά / λειτουργικά αποτελέσματα	Παρεμβατική Πιο ακριβή από την κρυοχειρουργική και την C & ED Χρονοβόρα (όταν απαιτείται αποκατάσταση) «Θυσιάζεται» μέρος του υγιούς ιστού Μερική αξιολόγηση των χειρουργικών ορίων Κοσμετολογικές / λειτουργικές ανωμαλίες Χαμηλότερα ποσοστά ίασης από την χειρουργική Mohs (υψηλού κινδύνου BCC)
Μικρογραφική επέμβαση Mohs	Εφαρμόζεται αποκλειστικά σε υψηλού κινδύνου BCC Εξέταση ολόκληρων ιστολογικών ορίων, την ίδια ημέρα της επέμβασης Εξωτερικά ιατρεία υπό τοπική αναισθησία Καλά μακροπρόθεσμα κοσμετολογικά / λειτουργικά αποτελέσματα Υψηλότερα ποσοστά ίασης (μέχρι 99%) με χαμηλά ποσοστά υποτροπής	Παρεμβατική και χρονοβόρα Ειδική επεξεργασία στο εργαστήριο, μικροσκοπική εξέταση και κατάρτιση Πιο ακριβή από την χειρουργική εκτομή

	(1% στο πρωτογενές BCC, 3-8% σε υποτροπιάζον BCC)	
C & ED (Ηλεκτροκαυτηρίαση και απόξεση)	Εφαρμόζεται κυρίως σε BCC χαμηλού κινδύνου BCC σε κορμό και άκρα, επιτυγχάνοντας χαμηλά ποσοστά υποτροπής (3%) Εύκολη τεχνική Γρήγορη Ανεκτή	Όχι αποτελεσματική σε BCC υψηλού κινδύνου BCC στο μέσο του προσώπου Τα υψηλότερα ποσοστά υποτροπής σε περιοχές υψηλού κινδύνου (18-27%) και υποτροπιαζόντων BCC Εξαρτώμενη από αυτόν που την διενεργεί Πιο δύσκολη ιστολογική αξιολόγηση Κοσμετολογικά ελαττώματα (ουλή υπομελάγχρωσης)
Κρυοχειρουργική	Μεγάλα επιφανειακά BCC Πολλαπλά BCC Βλάβες προσκολλημένες στο χόνδρο ή σε πλάκες ψωρίασης ή στην ουλή εγκαύματος Ηλικιωμένοι, ασθενείς υψηλού κινδύνου, ασθενείς με βηματοδότη ή διαταραχή πήκτικότητας Ασθενείς που φοβούνται την χειρουργική επέμβαση ή για τους οποίους άλλες μέθοδοι είναι ανέφικτες Υψηλά ποσοστά θεραπείας σε επιλεγμένες περιπτώσεις (έως 99%) Καλό κοσμετολογικό αποτέλεσμα Γρήγορη Ασφαλής, με χαμηλά ποσοστά επιπλοκών Φτηνή Εξωνοσοκομιακό περιβάλλον	BCC υψηλού κινδύνου BCC που επικαλύπτει τα νεύρα, τις γωνίες του στόματος, το ερυθρό του χείλους, τον εσωτερικό κανθό, το βλέφαρο, το πτερύγιο της ρινός και τον ακουστικό πόρο Ευαίσθησια στο ψύχος, κρυοσφαιριναιμία ή κρυοϊνδογονεμία Σκουρόχρωμοι ασθενείς Εξαρτώμενη από αυτόν που την διενεργεί Χωρίς ιστολογική αξιολόγηση

Εκτομή με λέιζερ CO2	BCC χαμηλού κινδύνου Πολλαπλά BCC Γρήγορη Ανεκτή Καλή συντήρηση παρακείμενων ιστών Σύντομη περίοδος επούλωσης Καλό κοσμετολογικό αποτέλεσμα Χαμηλά ποσοστά υποτροπής	Κοσμετολογικές / λειτουργικές ανωμαλίες (παροδικό ερύθημα, μελάγχρωση του δέρματος, αλλοιώσεις, αιμορραγία, μόλυνση και ουλές)
----------------------	--	--

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.

Πίνακας 14. Φαρμακευτική θεραπεία BCC: Μηχανισμοί δράσης, πλεονεκτήματα / ενδείξεις και μειονεκτήματα / αντενδείξεις			
Ιατρική θεραπεία	Μηχανισμός δράσης	Πλεονεκτήματα / ενδείξεις	Μειονεκτήματα / αντενδείξεις
Τοπική 5-FU	Κυτταροτοξικότη-τα μέσω της αναστολής της thymidylate synthase παρεμβαίνοντας στην αντιγραφή και επιδιόρθωση του DNA	Επιφανειακό BCC Η χειρουργική επέμβαση δεν είναι επιθυμητή ή αντενδείκνυται Υψηλό ποσοστό θεραπείας σε επιλεγμένες περιπτώσεις Ανεκτή Ικανοποίηση των ασθενών Ευκολία Χαμηλό κόστος	Κοσμετολογικές / λειτουργικές ανωμαλίες (ουλές, ερύθημα, διάβρωση, πόνος)
Imiquimod	Αγωνιστής TLR7 και δραστηριότητα TLR8 Ανοσολογικές αντιδράσεις και διαμόρφωση των λειτουργιών των B-κυττάρων Παρεμβολή με μονοπάτια σηματοδότησης του υποδοχέα αδενοσίνης Προ-αποπτωτική δραστηριότητα Ογκοκατασταλτικές λειτουργίες	Υψηλά ποσοστά θεραπείας σε επιλεγμένες περιπτώσεις πρωτογενούς, μικρού, επιφανειακού BCC (έως και 81%, καθημερινή εφαρμογή, τουλάχιστον 5 φορές / εβδομάδα, για 6-12 εβδομάδες) Μπορεί να παίζει ρόλο στο πρωτοπαθές, οζώδες BCC	Ακριβή Χαμηλότερα ποσοστά ίασης στο οζώδες BCC και το επιθετικό BCC Ανεπιθύμητες παρενέργειες (ερύθημα, οίδημα, , κνησμός, μόνιμη υπομελάγχρωση, απολέπιση , διάβρωση, καψίματα, πόνος) Αύξηση ανεπιθύμητων παρενεργειών με πιο έντονη θεραπεία Διακοπή θεραπείας (μη συμμόρφωση)

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.

Πίνακας 15. Άλλες θεραπείες του BCC

Η φωτοδυναμική θεραπεία

- Η PDT φαίνεται αποτελεσματική για τη θεραπεία του επιφανειακού (με αναφερόμενα ποσοστά ίασης 82% για MAL-PDT και 95,8% για την ALA-PDT) και του οζώδους BCC. Δεν θα πρέπει να θεωρείται θεραπεία πρώτης γραμμής για το οζώδες BCC (ποσοστά υποτροπής έως 30%).
- Η ALA-PDT έχει υψηλότερα ποσοστά υποτροπής από την χειρουργική επέμβαση στα επιφανειακά BCC (4,1% στα δύο χρόνια με διπλή θεραπεία ALA-PDT. Η ALA-PDT και η MAL-POT προτιμώνται, όσον αφορά το αισθητικό αποτέλεσμα.
- Οι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες συνδέονται με υψηλότερα ποσοστά ίασης, αλλά αυξάνουν το κόστος της θεραπείας και τα κλινικά ραντεβού
- Αντενδείξεις στην PDT περιλαμβάνουν το ιστορικό πορφυρίας, συστηματικό ερυθματώδη λύκο, φωτοδερματοπάθεια και αλλεργία στον φωτοευαισθητοποιητή.
- Αναφερόμενες, ανεπιθύμητες παρενέργειες περιλαμβάνουν πόνο κατά τη διάρκεια της χορήγησης, ερύθημα, οίδημα, κνησμό, επιθηλιακή απολέπιση, φλύκταινες και μετα-φλεγμονώδη υπερμελάγχρωση

Ακτινοθεραπεία (RT)

- Υπάρχουν ελάχιστα στοιχεία σχετικά με το ρόλο και την αποτελεσματικότητα της RT στο BCC, και οι περισσότερες διαθέσιμες αναδρομικές μελέτες είναι παλιές.
- Υπάρχουν δύο RCT σχετικά με την αποτελεσματικότητα της ακτινοθεραπείας για την αντιμετώπιση του BCC
 - Οι Avril MF et al. σύγκριναν την RT με τη χειρουργική επέμβαση για τη θεραπεία του πρωτογενούς BCC <4 εκ. στο πρόσωπο, και αξιολόγησαν την υποτροπή της νόσου και το αισθητικό αποτέλεσμα μετά από 4 χρόνια παρακολούθησης. Όσον αφορά τα δύο τελικά αποτελέσματα, η χειρουργική επέμβαση ευνοήθηκε συγκριτικά με την RT.
 - Οι Hall VL et al. συνέκριναν την RT με την κρυοθεραπεία και αξιολόγησαν την υποτροπή μετά από 2 έτη παρακολούθησης, με ευνοούμενη την RT.
- Η RT δεν συνιστάται ως θεραπεία πρώτης γραμμής, όταν η χειρουργική επέμβαση είναι δυνατή.
- Είναι καλή θεραπεία για επιλεγμένα πρωτογενή BCC (ποσοστά ίασης έως 97,5%, ανάλογα με το πρωτόκολλο) και για το υποτροπιάζον BCC (αναφέρθηκε ποσοστό υποτροπής 9,5% σε σχέση με το 7,4% στο πρωτογενές BCC), εκτός αν το BCC ακολουθεί την RT· η ανοσοενισχυτική RT προτάθηκε για BCC με περινευρική διήθηση .
- Ο υπότυπος του BCC και το μέγεθος είναι σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες της υποτροπής μετά την RT, η οποία μπορεί να είναι πιο επιθετική και διηθητική.
- Η RT αυξάνει την τάση ανάπτυξης δευτερογενών κακοηθειών, και αντενδείκνυται σε γενετικά σύνδρομα που προδιαθέτουν για καρκίνο, συμπεριλαμβανομένου του BCNS, και των συναφών ασθενειών του συνδετικού ιστού.
- Δεν συνιστάται δε ασθενείς >60 ετών, ούτε εάν το BCC βρίσκεται στα αυτιά, τα χέρια, τα πόδια και τα γεννητικά όργανα.
- Οι ανεπιθύμητες παρενέργειες εξαρτώνται από την δόση, τον όγκο και το σημείο του σώματος που ακτινοβολείται, και περιλαμβάνουν όψιμη έναρξη δερματικής τηλεαγγειεκτασίας, δερματική ατροφία και αλλοιώσεις χρώσης, νέκρωση ιστών, ουλές και λειτουργικές βλάβες.

- Η παρατεταμένη κλασματοποίηση αναφορικά συνδέθηκε με βελτιωμένο αισθητικό αποτέλεσμα.

Χημειοθεραπεία

- Δεν υπάρχουν στοιχεία που να στηρίζουν την ένδειξη χημειοθεραπείας στο προχωρημένο BCC, αν και χρησιμοποιήθηκε σε μεταστατικό BCC (θεραπεία με βάση την πλατίνα αναφέρθηκε στα 16 από τα 100 μεταστατικά BCC, με ευνοϊκό ποσοστό ανταπόκρισης 38%)
- Ενδοβλαβική θεραπεία
- Περιλαμβάνονται 5-FU, ιντερφερόνες, βλεομυκίνη και αμινολεβουλονικό οξύ, όχι συχνά χρησιμοποιούμενα, αλλά υπάρχει έλλειψη δεδομένων σχετικά με τη μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητά τους.
- Η ενδοβλαβική 5-FU επιτρέπει βαθύτερη διείσδυση στο BCC· αναφέρθηκαν ποσοστά κάθαρσης 96% σε πρόσφατη ανασκόπηση.
- Δημοσιευμένες μελέτες και αναφορές περιστατικών δείχνουν ότι οι ιντερφερόνες, συνήθως οι IFN-α, μπορεί να είναι αποτελεσματικές στο BCC (36-79% αναφορικά ποσοστά ίασης, ανάλογα με το φάρμακο, τη δόση, τον αριθμό των θεραπειών και τον υπότυπο BCC)

Στοχευμένες θεραπείες

- Αναστολείς του μονοπατιού του Hedgehog:
 - Το Vismodegib είναι μια νέα επιλογή για προχωρημένα BCC με τα αναφερόμενα ποσοστά ανταπόκρισης 46% στο τοπικά προχωρημένο BCC και 31% στο μεταστατικό BCC .
 - Συχνές, ανεπιθύμητες παρενέργειες περιλαμβάνουν μυϊκούς σπασμούς, αλωπεκία, δυσγευσία, απώλεια βάρους, κόπωση, ναυτία, μειωμένη όρεξη και διάρροια, που οδήγησαν σε διακοπή της θεραπείας· αναφέρθηκαν θανατηφόρες, ανεπιθύμητες παρενέργειες.
 - Περαιτέρω μελέτες εγγυήθηκαν να εκτιμήσουν την μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητα του vismodegib, τις ανεπιθύμητες παρενέργειες και τους προβλεπτικούς παράγοντες θετικής ανταπόκρισης στο BCC.
 - Πρόσθετοι αναστολείς της ανωτέρου οδού βρίσκονται υπό έρευνα σε κλινικές δοκιμές.
- Ingenol mebutate:
 - Δεν υπάρχει σύσταση για τη χρήση του 0,05% gel ingenol mebutate στο BCC.
 - Οι κλινικές δοκιμές αναφέρουν ελπιδοφόρα αποτελέσματα, αλλά χρειάζονται περαιτέρω μελέτες.
 - Μία κλινική δοκιμή φάσης I/II (έξι οξώδη και 22 επιφανειακοί υπότυποι BCC) ανέφεραν ποσοστά κλινικής ανταπόκρισης τάξεως του 82% (23/28) και 57% (16/28) σε διάστημα 1 και 15 μηνών αντιστοίχως. Στο επιφανειακό BCC <16 χιλ., αναφέρθηκε 78% ποσοστό ανταπόκρισης.
 - Μία κλινική δοκιμή φάσης Ια για το επιφανειακό BCC, ανέφερε 63% ποσοστό ανταπόκρισης (5/8 ασθενείς) με δύο εφαρμογές του 0,05% gel ingenol mebutate.
 - Ερύθημα, και απολέπιση, η οποία μπορεί να παραταθεί πέραν της περιοχής εφαρμογής, πόνος στο σημείο εφαρμογής και πονοκέφαλος αναφέρθηκαν ως ανεπιθύμητες παρενέργειες.

- Τοπικά ρετινοειδή:
 - Δεν υπάρχει καμία σύσταση για τη τοπική χρήση ρετινοειδών στο BCC.
 - Η gel ταζαροτένη 0,1% με χρήση ημερησίως έδειξε υποσχόμενα αποτελέσματα σε μία μεγάλη κλινοπαθολογική μελέτη του επιφανειακού BCC στις 24 εβδομάδες, στο 70,8% των BCC αναφέρεται >50% κλινική υποστροφή και το 30,5% θεραπεύτηκε χωρίς υποτροπές στα 3 έτη.

Correia de Sá TR, Silva R, Lopes JM. Basal cell carcinoma of the skin (part 2): diagnosis, prognosis and management. Future Oncol. 2015 Nov;11(22):3023-38. doi: 10.2217/fon.15.245. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449265.

2. ΑΝΟΣΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

Η ανοσοκρυοχειρουργική αποτελεί μία ελάχιστα επεμβατική συνδυαστική μέθοδο θεραπείας. Η θεραπεία αυτή αξιοποιεί το συνεργικό δυναμικό της συνδυασμένης εφαρμογής της κρυοχειρουργικής, με μία ανοσοδιεγερτική θεραπεία που, στη συγκεκριμένη περίπτωση, είναι η τοπική εφαρμογή ιμικουιμόδης.

Ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων θεραπευτικών μεθόδων, βασίζεται στην αρχή των συνεργικών -η τουλάχιστον συμπληρωματικών μηχανισμών δράσης τους και, σε αντίστοιχα δεδομένα, στηρίχθηκε και ο αρχικός σχεδιασμός της μεθόδου αυτής.

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται σε κύκλους θεραπείας διάρκειας πέντε εβδομάδων (τυπικός κύκλος ανοσοχειρουργικής). Αν κριθεί αναγκαίο, αυτοί οι κύκλοι μπορούν να επαναληφθούν χωρίς περιορισμό. Σε έναν τυπικό κύκλο θεραπείας, ο ασθενής εφαρμόζει ένα λεπτό στρώμα κρέμας ιμικουιμόδης 5% κάθε βράδυ στη βλάβη και σε μία ζώνη υγιούς δέρματος, πλάτους 0,5 cm περιφερικά των μακροσκοπικών ορίων της βλάβης.

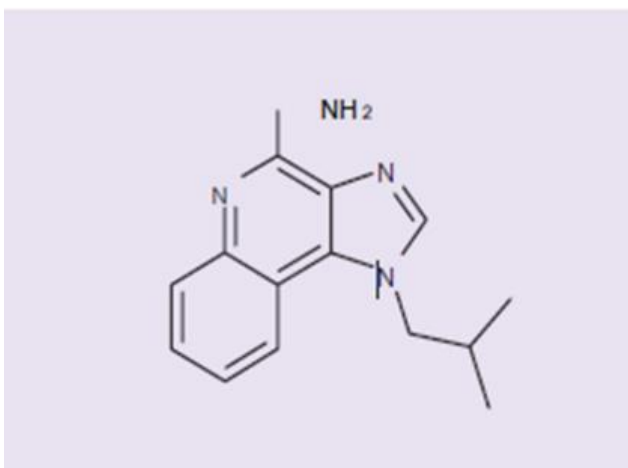
Μετά από δύο εβδομάδες καθημερινής εφαρμογής ιμικουιμόδης, τη δέκατη τέταρτη μέρα ακολουθεί συνεδρία κρυοχειρουργικής στη βλάβη, καθώς επίσης και στην αντίστοιχη ζώνη υγιούς δέρματος γύρω από αυτή (συνήθως 0,5 έως 1cm πέρα από τα όρια της βλάβης). Η συνεδρία της κρυοχειρουργικής συνίσταται σε δύο κύκλους ψύξης - απόψυξης. Η ψύξη γίνεται με τη μέθοδο του ανοικτού ψεκασμού με υγρό άζωτο (N₂) για 10 έως 20 δευτερόλεπτα (δραστικός χρόνος ψύξης). Σε κάθε κύκλο, ανάλογα με τη διάγνωση και το μέγεθος της βλάβης, ο δραστηκός χρόνος ψύξης υπολογίζεται από τη στιγμή που παρατηρείται πλήρης παγοποίηση της βλάβης, δηλαδή ένα σταθερό, λευκό χρώμα της περιοχής στόχου. Η καθημερινή εφαρμογή ιμικουιμόδης συνεχίζει το ίδιο βράδυ και για τρεις επιπλέον εβδομάδες. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας εκδηλώνεται τοπική φλεγμονώδης αντίδραση, η οποία συνήθως είναι πιο έντονη την πρώτη εβδομάδα μετά τη συνεδρία της κρυοχειρουργικής. Η παρουσία της έχει διάρκεια έως και μερικές ημέρες μετά το τέλος της θεραπείας.

Η μέθοδος αυτή έχει εφαρμοστεί με αρκετή επιτυχία σε νεοπλάσματα του δέρματος επιθηλιακής προέλευσης, καθώς επίσης σε μη επιθηλιακά νεοπλάσματα του δέρματος, όπως η ακοήθης φακή, το σάρκωμα Kaposi και το καρκίνωμα κυττάρων Merkel. Τέλος,

έχει εφαρμοστεί και σε καλοήθειες παθήσεις όπως, για παράδειγμα, το πυογόνο κοκκίωμα.¹⁶⁸

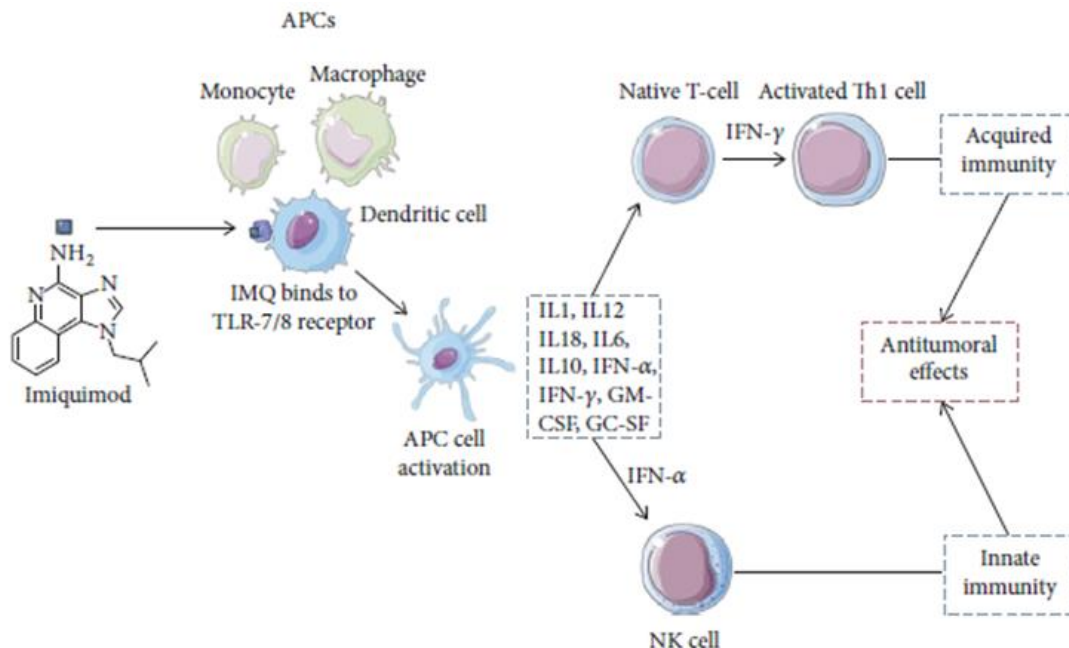
3. ΙΜΙΚΟΥΪΜΟΔΗ

Η ιμικουΐμοδη (Aldara: R-837, S-26308), μια ιμιδαζόλο κινολίνη αμίνη, {1-(2-μεθυλπροπυλ)-1H-ιμιδαζο{4,5-c}κινολιν-4-αμίνη} (**Εικόνα 5**) ανήκει στην σχετικά νεότερης γενεάς κατηγορία ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων (Immune Response Modifiers) (IRMs), που διεγείρουν την ανοσοαπόκριση με επαγωγή, σύνθεση και απελευθέρωση κυτταροκινών.¹⁶⁹



Εικόνα 5. Χημική δομή της imiquimod.

Η ιμικουΐμοδη και τα συγγενή με αυτή μόρια αντιπροσωπεύουν ενεργοποιούν άμεσα το ενδογενές ανοσοποιητικό σύστημα με αποτέλεσμα την απελευθέρωση κυτταροκινών (IFN- α , των ιντερλευκινών (IL) 1, 6 και 12 και τέλος του παράγοντα νέκρωσης όγκου, TNF) από ανθρώπινα μονοκύτταρα¹⁷⁰ με επακόλουθο την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων.¹⁷¹ (**Εικόνα 6**) Οι παραπάνω επιδράσεις που σχετίζονται με την ενεργοποίηση της ενδογενούς ανοσοαπόκρισης, συντείνουν στην αποτελεσματικότητα της ιμικουΐμοδης στην αντιμετώπιση ενός μεγάλου αριθμού ιογενών λοιμώξεων σε ζωικά μοντέλα, καθώς και σε πειραματικούς όγκους.¹⁷⁰ Από το 1997 η ιμικουΐμοδη είναι διαθέσιμη για θεραπευτική χρήση με 1^η επίσημη ένδειξη τη θεραπεία εξωτερικών κονδυλωμάτων της περίνεο-γενετικής περιοχής.¹⁷²



Εικόνα 6. Πρωταρχικοί μηχανισμοί δράσης IMQ. APC: Αντιγόνο παρουσιαστικό κύτταρο· GC-SF: παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων. GM-CSF: παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων. IFN: ιντερφερόνη·IMQ: imiquimod· IL: ιντερλευκίνη· TRL: Υποδοχέας Toll· TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκων

Voiculescu VM, Lisievic CV, Lupu M, Vajaitu C, Draghici CC, Popa AV, Solomon I, Sebe TI, Constantin MM, Caruntu C. Mediators of Inflammation in Topical Therapy of Skin Cancers. *Mediators Inflamm.* 2019 Jan 10;2019:8369690. doi: 10.1155/2019/8369690. PMID: 30766448; PMCID: PMC6350587.

Κατά την διάρκεια των τελευταίων ετών, μελέτες έχουν δείξει, ότι τα κύτταρα της ανοσολογικής απάντησης αναγνωρίζουν τα παθογόνα στο περιβάλλον τους με ειδικούς υποδοχείς αναγνώρισης, που εντοπίζονται στην επιφάνεια τους. Μία συγκεκριμένη οικογένεια των σχετικών υποδοχέων είναι οι υποδοχείς τύπου Toll-like (TLRs) και έχουν την ικανότητα να εντοπίζουν μέσω αλληλεπίδρασης με ειδικά αντιγόνα, παθογόνα κύτταρα. Η ιμικουιμόδη επάγει κυτταροκίνες με την ενεργοποίηση συγκεκριμένων υποτύπων των παραπάνω υποδοχέων, τους TRL-7.¹⁷³

Οι αντι-ιικές και αντικαρκινικές ιδιότητες της ιμικουιμόδης οφείλεται στην ιδιότητά της να προάγει την έκκριση κυτταροκινών, που ενισχύουν τόσο την έμφυτη και όσο και

την επίκτητη ανοσία.¹⁷⁴ Η ενεργοποίηση των κυτταροκινών λαμβάνει χώρα δια μέσου της ενεργοποίησης των Toll-like υποδοχέων (TLR), ιδιαιτέρως του TLR-7.¹⁷¹ Έκφραση TLR έχει βρεθεί σε ουδετερόφιλα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα του χορίου και των υποβλεννογονίων και επιπλέον, σε B- και T- λεμφοκύτταρα.¹⁷⁵ Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν, ότι οι TLR των θηλαστικών έχουν βασικό ρόλο στην άμυνα του ξενιστή με τη ρύθμιση τόσο της έμφυτης, όσο και της επίκτητης ανοσίας.¹⁷⁶ Σε ποντίκια και ανθρώπους η ενεργοποίηση των TLR συμβάλει στην εξουδετέρωση ενδοκυτταρικών ξενοβιωτών στα μακροφάγα, ενώ εξωκυτταρικά παθογόνα καταστρέφονται διαμέσου της απελευθέρωσης αντιμικροβιακών πεπτιδίων και χημειοκινών, που συγκεντρώνουν φαγοκύτταρα στο σημείο της λοίμωξης.¹⁷⁵ Επιπλέον, η σύνδεση TLR και αντιγόνων προάγει την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων και τα μετατρέπει από φαγοκύτταρα σε ισχυρά αντιγονο-παρουσιαστικά κύτταρα μέσω της ρύθμισης της επιφανειακής έκφρασης του MHC, την συνδιέγερση πρωτεϊνών και την παραγωγή κυτταροκινών.¹⁷⁷ Επίσης, προάγεται ο πολλαπλασιασμός των B-κυττάρων, και η παραγωγή αντισωμάτων με συνέπεια την ενίσχυση αντιγόνο-εξαρτώμενων ειδικών ανοσοαποκρίσεων.¹⁷⁵

Οι κυτταροκίνες που απελευθερώνονται στα πλαίσια της παραπάνω διαδικασίας είναι κυρίως:

- IFN -α
- IL- 6
- TNF-α¹⁷⁴

Άλλες κυτταροκίνες που βρέθηκαν να αυξάνονται τα επίπεδά τους κάτω από την επίδραση της ιμικουϊμόδης περιλαμβάνουν την IL-1α, IL-1 ανταγωνιστής υποδοχέας, IL-8 και IL-10, παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων και τέλος φλεγμονώδη πρωτεΐνη 1-α μακροφάγων.¹⁷⁸ Οι συγκεκριμένες κυτταροκίνες διεγείρουν την οδό της ανοσοαπόκρισης Th1 και αναστέλλουν την οδό της Th2 μέσω διέγερσης των μονοκυττάρων και των DC, τα οποία παράγουν IFN-α.¹⁷⁹

Η επίκτητη ή προσαρμοστική ανοσοαπόκριση εξαρτάται από την αναγνώριση του ξένου αντιγόνου, που παρουσιάζεται στα πλαίσια του κυρίου συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας I και II (MHC I ,II) από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs),

όπως τα επιδερμικά κύτταρα Langerhans (LCs). Η ιμικουϊμόδη ενεργοποιεί τουλάχιστον τέσσερις τύπους αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων:

- Δενδριτικά κύτταρα (DCs),
- Μακροφάγα,
- Λεμφοκύτταρα B
- Κύτταρα Langerhans¹⁷⁶

Η ιμικουϊμόδη προωθεί επίσης την ανάπτυξη της T- κυτταροεπαγόμενης ανοσίας με την διέγερση των επιδερμικών κυττάρων Langerhans (LCs) ενισχύοντας την αντιγονοπαρουσιαστική τους ικανότητα.¹⁸⁰ Τα κύτταρα του Langerhans, αφού ενεργοποιηθούν έχουν αυξημένη κινητικότητα και μεταναστεύουν πιο εύκολα στους λεμφαδένες παροχέτευσης, όπου παρουσιάζουν το αντιγόνο σε T λεμφοκύτταρα.¹⁸¹

3.1. Μηχανισμός δράσης της ιμικουϊμόδης στο BCC

Η απόπτωση ή φυσικός προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος διαμεσολαβείται από τους υποδοχείς νέκρωσης. Μεταξύ αυτών, εντοπίζεται ο υποδοχέας Fas (FasR-CD95), μέλος της οικογένειας του παράγοντα νέκρωσης όγκου(TNF). Όταν ο FasR δεσμεύεται από τον FasL ενεργοποιείται η κασπάση, ένζυμο που συμβάλλει στην κατάτμηση του DNA, στη διόγκωση της κυτταρικής μεμβράνης και στην φαγοκυττάρωση, η οποία έπεται της διαδικασίας έκφρασης των μορίων πάνω στην κυτταρική επιφάνεια. Η αλληλεπίδραση FasR/FasL έχει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, στη γήρανση, στη φλεγμονή και στην ανάπτυξη καρκίνου.¹⁸² Μειώνοντας την έκφραση FasR τα καρκινικά κύτταρα αποφεύγουν τη διαδικασία απόπτωσης. Η ανωτέρω έκφραση είναι απύσχα στα κύτταρα του BCC.¹⁸³ Τα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν αντίστροφα *in vivo* το FasL, που σχετίζεται με την απόπτωση των T- λεμφοκυττάρων που περιβάλλουν τον όγκο.¹⁸⁴ Συμπεραίνεται ότι οι εξής δύο μηχανισμοί συντείνουν στη “επιβίωση” των κυττάρων του BCC: (1) έλλειψη της έκφρασης FasR, με την οποία αποφεύγεται η απόπτωση των κυττάρων του νεοπλάσματος και (2) έκφραση της FasL, που επάγει την απόπτωση των T-λεμφοκυττάρων.¹⁸⁵

Η βραχυχρόνια θεραπεία του BCC με ιμικουϊμόδη συνδέεται με την έκφραση του FasR στα καρκινικά κύτταρα και με λεμφοκυτταρική διήθηση. Συμπερασματικά, η

ιμικουϊμόδη είναι ικανή να προάγει την έκφραση κυτταροκινών συμπεριλαμβανομένης της IFN-α σε κλινικά δραστικά επίπεδα, αποτελεσματικά για τη θεραπεία των BCC^{186,187,188,189,190,191} μέσω αλληλεπίδρασης του υποδοχέα FasR στην επιφάνεια του κυττάρου με τον υποδοχέα συνδέσης CD95.¹⁹²

3.2. Η δράση της ιμικουϊμόδης στην αντιμετώπιση του BCC

Έπειτα από την εφαρμογή ιμικουϊμόδης στα BCC έχει περιγραφεί η εξής ακολουθία διαταραχών στον ιστό:

1. Η ιμικουϊμόδη διεγείρει τα πλασματοκυτταρικά δένδριτικά κύτταρα στην επιδερμίδα και το χόριο.
2. Απελευθερώνεται IFN-α και άλλες ανοσοδιεγερτικές κυτταροκίνες.
3. Ενεργοποιούνται κύτταρα του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα μακροφάγα.
4. Απελευθερώνεται οξυγόνο αντιδραστικών μεσολαβητών και άλλων τοξικών μορίων που οδηγούν σε απόπτωση των καρκινικών κυττάρων.

Ο μηχανισμός αυτός είναι υπεύθυνος για την καταστροφή των υπερκείμενων επιθηλιακών κυττάρων και την επακόλουθη διάβρωση που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ιμικουϊμόδη.¹⁹³

Η παραγωγή κυτταροκινών εντοπίζεται σε διάφορα κύτταρα που σχετίζονται με την ανοσολογική απάντηση, με ισχυρότερη παρουσία στα μακροφάγα και τα μονοκύτταρα.^{170,194} Η ιμικουϊμόδη δεν επάγει άμεσα τον πολλαπλασιασμό των κυτταροτοξικών T-κυττάρων και την έκφραση της IL-2 και -2R. Τα παραπάνω προκύπτουν έμμεσα από την παραγωγή κυτταροκίνης T-βοηθητικών κυττάρων (INFγ) μέσω της IL-12.¹⁷⁰ Καθώς η παραγωγή IL-4 και -5 καταστέλλεται σε μονοπύρρηνα περιφερικού αίματος, η επαγόμενη απόκριση των T-κυττάρων είναι τύπου Th1.¹⁹⁵

4. T_{REG} ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΝΗΜΗΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ¹⁹⁶

Στο δέρμα ενός ενήλικα εντοπίζονται T- ρυθμιστικά κύτταρα με ανοσοφαινότυπο CD4⁺ Foxp3⁺ (Treg), όπου αντιπροσωπεύουν περίπου το 10% όλων των T- κυττάρων, που βρίσκονται στο δέρμα. Ο πληθυσμός αυτός συγκαταλέγεται στα υψηλού επιπέδου ενεργοποιημένα κύτταρα μνήμης, παρομοίως με τα αντίστοιχα του αίματος. Ωστόσο, σε σύγκριση με τα Treg του αίματος, τα Treg του δέρματος εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα δεικτών ενεργοποίησης, χαμηλότερο ποσοστό πολλαπλασιασμού και χαμηλότερη παραγωγή IL-2 και IL-17. Πράγματι, τα Treg κύτταρα του δέρματος του ενήλικα είναι κυρίως ενεργοποιημένα κύτταρα μνήμης καθώς εκφράζουν CD45RO σε ποσοστό μεγαλύτερο από 95%, έχουν δηλαδή έρθει ήδη σε επαφή με κάποιο αντιγόνο (εκτός του θύμου αδένος). Χαρακτηριστικά, στο δέρμα ενός εμβρύου το ποσοστό των CD4⁺ Foxp3⁺ κυττάρων είναι σημαντικά χαμηλότερο σε σύγκριση με αυτό ενός ενήλικα. Το τελευταίο εύρημα είναι μία ακόμη ένδειξη, ότι τα Treg κύτταρα, που διηθούν το δέρμα είναι κυτταρικοί κλώνοι, που με την πάροδο του χρόνου έχουν ‘αναγνωρίσει’ αντιγόνα σχετικά με το δέρμα και έχουν τροπισμό για το δέρμα και σαν συνέπεια συσσωρεύονται επιλεκτικά στον συγκεκριμένο ιστό. Στο παραπάνω συνηγορεί και το γεγονός, ότι σε σύγκριση με το αίμα, τα Treg του δέρματος έχουν σε σημαντικό βαθμό απωλέσει την ικανότητα του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, όπως καταδεικνύεται και στην αντίστοιχα πολύ χαμηλότερη ενδοκυτταρική έκφραση ki67. Στο δέρμα τα Treg εντοπίζονται επιλεκτικά στις περιοχές γύρω από τους τριχοσημηγματογόνους θύλακες με αποτέλεσμα και οι υψηλότερες κυτταρικές συγκεντρώσεις να απαντώνται σε περιοχές του δέρματος με συγκριτικά μεγάλη πυκνότητα τριχών, όπως το τριχωτό της κεφαλής και το πρόσωπο.

Επιπλέον, με βάση τα πρότυπα έκφρασης των υποδοχέων χημειοκινών, τα Treg κύτταρα του δέρματος είναι στην πλειοψηφία τους μη μεταναστευτικά, καθώς υποεκφράζουν τον υποδοχέα CCR 7, που διαμεσολαβεί την μεταναστευτική ικανότητα των T-κυττάρων μνήμης από το δέρμα σε δευτερογενή λεμφοειδή όργανα.

5. ΤΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΙΣΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΟΓΚΟΥΣ¹⁹⁷

Τα ανοσολογικά κύτταρα, τα οποία διηθούν κακοήγη νεοπλάσματα διαφέρουν τόσο ανάμεσα στους διάφορους τύπους καρκίνου, όσο και από ασθενή σε ασθενή (**Εικόνα 7**). Στους περισσότερους όγκους (π.χ. παχέος εντέρου, πνεύμονα, μελάνωμα και όγκους κεφαλής-τραχήλου) η φλεγμονώδης διήθηση αποτελείται κυρίως από τα παρακάτω είδη ανοσοκυττάρων: μακροφάγα, δενδριτικά, φυσικά φονικά (NK) κύτταρα, «παρθένα» και μνήμης λεμφοκύτταρα, Β λεμφοκύτταρα, μαστοκύτταρα και effector T-κύτταρα [υποομάδες T-κυττάρων: T helper cells, T helper 1 (TH1) cells]. Ιδιαίτερα, όλες οι υποομάδες των T-λεμφοκυττάρων είναι παρούσες τόσο εσωτερικά ανάμεσα στις φωλεές όσο και στα όρια διήθησης του όγκου.

Τα φλεγμονώδη κύτταρα εντοπίζονται μέσα στον νεόπλαστο ιστό ή στους ιστούς που το περιβάλλουν, όπου είτε διηθούν διάχυτα είτε οργανώνονται σχηματίζοντας τριτογενείς λεμφοειδείς δομές (TLS-Tertiary lymphoid structures). Γενικά, τα «ανώριμα» δενδριτικά κύτταρα ανευρίσκονται διάσπαρτα στο νεόπλαστο ιστό, πολύ συχνά σε φυσική επαφή με καρκινικά κύτταρα. Σε αντίθεση, τα ώριμα δενδριτικά κύτταρα συγκεντρώνονται σε TLS σε στενή επαφή με «παρθένα» T-λεμφοκύτταρα.

Τόσο το γεγονός ότι οι πληθυσμοί των διαφορετικών ανοσοκυττάρων εντοπίζονται σε διαφορετικές θέσεις μέσα στη δομή του όγκου, όσο και το ότι, η σύνθεσή τους διαφέρει μεταξύ των τύπων καρκίνου, υποδηλώνει ότι κάθε ανοσοφαινότυπος μπορεί να έχει διαφορετικό ρόλο στην αλληλεπίδραση του καρκίνου και του λεμφικού συστήματος. Επιπλέον, η πυκνότητα των κυττάρων ποικίλει σημαντικά για τον ίδιο τύπο καρκίνου ανάμεσα στους ασθενείς. Έρευνες καταδεικνύουν, ότι το ανοσοποιητικό περιβάλλον μπορεί να επηρεάσει αποφασιστικά την κλινική έκβαση: μπορεί να έχει επιβλαβείς συνέπειες, όταν μπλοκάρει τα αντικαρκινικά εκτελεστικά T-κύτταρα (effector T-cells) ή ευεργετικές όταν επιτείνει στοχευμένη αντινεοπλασματική χρόνια φλεγμονή. Για παράδειγμα, μία πιο ισχυρή λεμφοκυτταρική διήθηση συνδέεται κατά κανόνα με καλύτερη κλινική έκβαση σε διάφορους συμπαγείς όγκους.

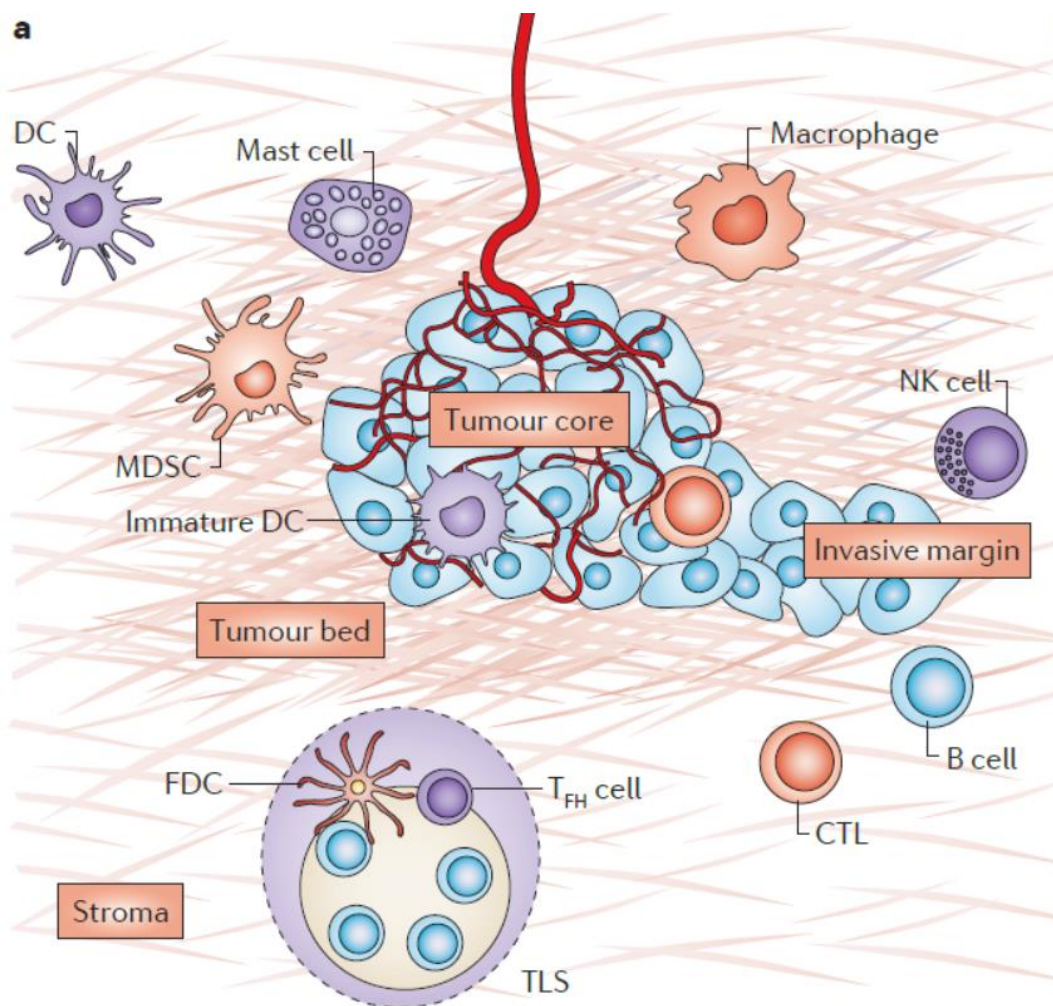
Γενικά, η ενεργοποίηση Th2 λεμφοκυττάρων σε ένα νεόπλασμα μέσω της ενεργοποίησης των B λεμφοκυττάρων ή μέσω της παραγωγής της ανοσοκατασταλτικής κυτταροκίνης IL-10, φαίνεται να σχετίζονται με πιο επιθετικές μορφές όγκων. Σε αντίθεση τα Th1 κύτταρα και οι κυτταροκίνες που παράγουν (όπως IFN- γ), σχετίζονται με συγκριτικά καλύτερη κλινική έκβαση σε όλους τους τύπους καρκίνου με συνέπεια η παρουσία λειτουργικών T-κυτταροτοξικών, T-κυττάρων μνήμης και Th1 κυττάρων στο περιβάλλον του όγκου να συνδέεται με μια γενικά μακρύτερη επιβίωση του ασθενούς.

Κεντρικό ρόλο στην τελική έκβαση παίζει η ομοιοστάση των επιπέδων των διαφορετικών κυτταροκινών και χημειοκινών που σχετίζονται με τη δημιουργία του εύπλαστου ανοσολογικού περιβάλλοντος του όγκου, δηλαδή στην ισορροπία ανάμεσα στις χημειοκίνες, που εμπλέκονται στην προσέλκυση των ανοσοκυττάρων στον πυρήνα και στο διηθητικό όριο του όγκου, και εκείνες, που εμπλέκονται στη δημιουργία ανοσοαπόκρισης σε δευτερογενείς λεμφοειδείς δομές στους σύστοιχους λεμφαδένες ή σε τριτογενείς λεμφοειδείς δομές, στο άμεσο περιβάλλον του όγκου (**Εικόνα 8**). Στην ισορροπία αυτή επεμβαίνουν αποφασιστικά και τα κύτταρα του όγκου με την απελευθέρωση παραγόντων καταστολής της ανοσοαπόκρισης, όπως ο transforming growth factor beta (TGF- β), διατηρώντας με αυτόν τον μηχανισμό τα διηθητικά, φονικά κύτταρα σε ανενεργή κατάσταση. Με συνέπεια να παρατηρείται, τα NK (natural killer) κύτταρα να παρουσιάζουν παραδόξως ακόμη και ‘προστατευτικό’ ρόλο για την ανάπτυξη του όγκου, ιδιαίτερα στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης του, και να παρεμβαίνουν ελάχιστα στα στάδια του κλινικά ανιχνεύσιμου νεοπλάσματος.

Και η περίπτωση των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (T_{reg}) είναι ένα τέτοιο εντυπωσιακό παράδειγμα αντικρουόμενων δεδομένων, που ερμηνεύεται δύσκολα. Στη βιβλιογραφία έχουν περιγραφεί πολλοί διαφορετικοί υποπληθυσμοί T_{reg} κυττάρων: Φυσικά T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (natural T_{reg}) και επαγόμενα T_{reg} (inducible ή adaptive) τα οποία διακρίνονται σε Tr1, Th3 helper, CD103⁺, CD8⁺ και διπλά αρνητικά (double negative). Στις περισσότερες μελέτες εντοπίζονται σαν ένας υποπληθυσμός CD4⁺ κυττάρων με συγκεκριμένα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά, όπως υψηλά επίπεδα CD25 (μέλος της υποομάδας α υποδοχέων της ιντερλευκίνης-2 [IL-2Ra] καθώς και τον δείκτη FOXP3 (forkhead box P3 ή scurfin), έναν μεταγραφικό ρυθμιστή από την

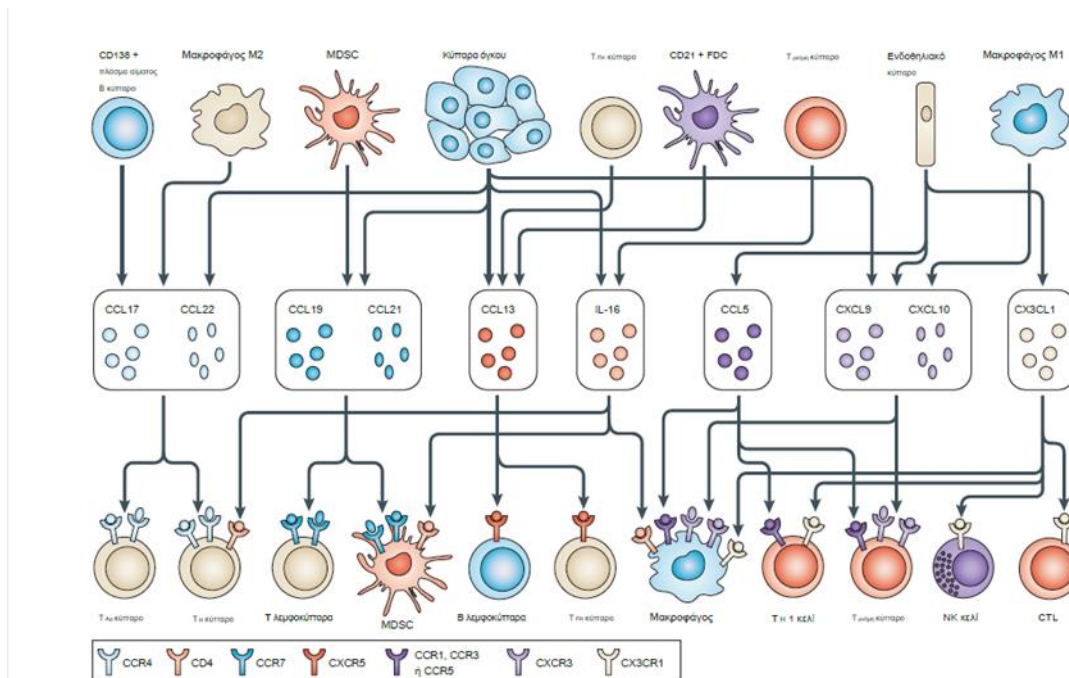
οικογένεια των FOXP πρωτεϊνών, που φαίνεται ότι παίζει κεντρικό ρόλο στην ωρίμανση και λειτουργία των Treg. Οι Curiel et al,¹⁹⁸ αναφέρουν μία σχέση των Treg κυττάρων, που διηθούν τον όγκο σε περιπτώσεις καρκίνου των ωοθηκών, με κακή κλινική έκβαση. Αυτό υιοθετήθηκε ως απόδειξη της επιβλαβούς επίδρασης των κατασταλτικών T-κυττάρων στην κλινική έκβαση του ασθενούς. Παρόμοια αποτελέσματα με κακή συνολική επιβίωση έχουν αναφερθεί στον καρκίνο του μαστού και στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Ωστόσο, δεν παρατηρείται το ίδιο σε άλλους τύπους νεοπλασμάτων. Τα ρυθμιστικά κύτταρα μεσολαβούν στην ομοιοστατική περιφερειακή ανοχή καταστέλλοντας τα αυτοαντιδραστικά T--κύτταρα. Οι ασθενείς με καρκίνο έχουν αυξημένο αριθμό περιφερειακών κυκλοφορούντων T- ρυθμιστικών κυττάρων. Αυτά τα κύτταρα λειτουργούν μέσω της αναστολής της ανοσίας των λεμφοκυττάρων εναντίον των αντιγόνων που παρουσιάζονται από τους όγκους TAA (Tumor associated antigen, **Εικόνα 9**). Μία πιθανή στρατηγική για τη θεραπεία των καρκινικών όγκων είναι η μείωση αυτών των κυττάρων στο περιφερικό αίμα ή η αδρανοποίηση τους μπλοκάροντας τα με ειδικά αντισώματα (CTLA4). Εν κατακλείδι, η γνώση της εξέλιξης του ανοσολογικού περιβάλλοντος στον πρωτογενή όγκο, στην περιφέρεια του και στις μεταστάσεις του κατά την εξέλιξη της ασθένειας, θα μπορούσε να προσφέρει λύσεις, όσον αφορά τη θετική έκβαση-ιάσή του.

Ως παράδειγμα αναφέρεται η χρήση του ipilimumab για τη θεραπεία του μεταστατικού μελανώματος. Το ipilimumab είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, που αναστέλλει τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα, που σχετίζονται με το αντιγόνο CTLA4, με αποτέλεσμα την αυξημένη προσέλκυση κυττάρων μνήμης CD4 και CD8 στο μικροπεριβάλλον του όγκου και τελικό αποτέλεσμα την ενεργοποίηση και ισχυροποίηση της αντινεοπλασματικής ανοσοαπόκρισης.



Εικόνα 7. Το ανοσολογικό πλαίσιο. Ανατομία του όγκου που δείχνει τα χαρακτηριστικά του ανοσολογικού περιβάλλοντος, συμπεριλαμβανομένου του πυρήνα του όγκου, του διηθητικού περιθωρίου, των τριτογενών λεμφοειδών δομών (TLS) και του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Φαίνεται επίσης η κατανομή των διαφορετικών ανοσοκυττάρων, CT, πυρήνας του όγκου· CTL, κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα· DC, δενδριτικό κύτταρο· FDC, θυλακιώδες δενδριτικό κύτταρο· IM, όριο διηθήσεως· MDSC, κατασταλτικό κύτταρο που προέρχεται από μυελό· NK κύτταρο, Th βοηθητικό, Treg κύτταρο.

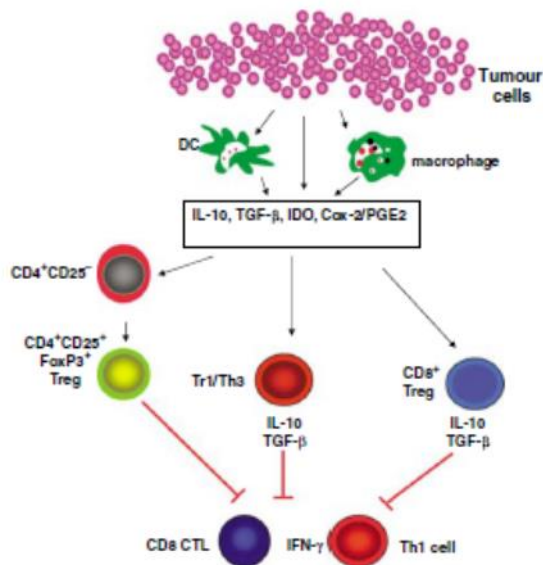
Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. Nat Rev Cancer. 2012 Mar 15;12(4):298-306. doi: 10.1038/nrc3245. PMID: 22419253



Εικόνα 8. Κύτταρα και χημειοκίνες που συντονίζουν το μικροπεριβάλλον του όγκου.

Το ανοσολογικό πλαίσιο καθορίζεται από την πρόσληψη διαφόρων ανοσοκυττάρων μέσω της έκκρισης κυτοκινών και χημειοκινών από κύτταρα όγκου και άλλων διηθητικών ανοσοκυττάρων στο μικροπεριβάλλον του όγκου. CTL, κυτταροτοξικό T λεμφοκύτταρο· FDC θυλακιώδες δενδριτικό κύτταρο· IL-16, ιντερλευκίνη-16· MDSC, κατασταλτικά κύτταρα που προέρχονται από μυελό· NK κύτταρο, φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα· Tfh θυλακιώδες βοηθητικό κύτταρο· Th κύτταρο βοηθητικό Τκύτταρο· Treg κύτταρο, ρυθμιστικό T κύτταρο.

Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. Nat Rev Cancer. 2012 Mar 15;12(4):298-306. doi: 10.1038/nrc3245. PMID: 22419253



Εικόνα 9. Ανοσοκατασταλτικές επιδράσεις των αναπτυσσόμενων όγκων. Οι όγκοι εκκρίνουν μια σειρά ανοσοκατασταλτικών μορίων ή προκαλούν την παραγωγή τους από δενδριτικά κύτταρα (DC's) και μακροφάγα, τα οποία με τη σειρά τους προάγουν την διαφοροποίηση επαγωγίμων ρυθμιστικών κυττάρων T (Treg) και της περιφερειακής μετατροπής των CD4 CD25 T κυττάρων σε CD4 CD25 Foxp3 φυσικά κύτταρα Treg. Αυτά τα κύτταρα Treg καταστέλλουν το τελεστικό CD4 Th1 και CD8 CTL κατά του όγκου.

Conroy H, Marshall NA, Mills KH. TLR ligand suppression or enhancement of Treg cells? A double-edged sword in immunity to tumours. *Oncogene*. 2008 Jan 7;27(2):168-80. doi: 10.1038/sj.onc.1210910. PMID: 18176598.

6. Η ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΤΩΝ ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ TLR ΣΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ¹⁹⁹

Η πρόκληση ανοσοαπόκρισης έναντι του όγκου εξαρτάται από την διακοπή της ανοσολογικής ανοχής και τη δημιουργία T-δραστικών κυττάρων με ειδικότητα έναντι των (αυτό)αντιγόνων των καρκινικών ιστών. Όσον αφορά στην ανοσοθεραπεία, παρατηρούνται τα εξής δύο εμπόδια: το πρώτο εμπόδιο εντοπίζεται στην ανάπτυξη μίας αποτελεσματικής ανοσοθεραπείας ή ενός θεραπευτικού εμβολίου κατά του καρκίνου, ικανό να προκαλεί T-cell effector ανοσοαπόκριση, ενώ το δεύτερο σημαντικό εμπόδιο τίθεται από τον ίδιο τον όγκο με τη μορφή στρατηγικών ανοσοδιαφυγής και αποτροπής. Οι προαναφερθείσες στρατηγικές ομοιάζουν με αυτές που εξελίσσονται από παθογόνους μικροοργανισμούς για να παρακάμψουν τις προστατευτικές ανοσοαποκρίσεις του ξενιστή. Οι όγκοι έχουν το προνόμιο να εκκρίνουν μία σειρά ανοσοκατασταλτικών μορίων, που διακόπτουν τις ανοσοαποκρίσεις, αλλά και επίσης να στρατολογούν ή ενεργοποιούν κύτταρα της επίκτητης ή φυσικής ανοσίας, τα οποία έχουν ρυθμιστική δράση. Στα κύτταρα αυτά περιλαμβάνονται ρυθμιστικά δενδριτικά κύτταρα (DCs) και ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα (Treg).

Η αποτελεσματική εξάλειψη του καρκινικού ιστού εξαρτάται από τη δημιουργία CD4 Th1 κυττάρων, που με τη σειρά τους προάγουν την προσέλκυση CD8 κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων (CTLs) στο νεόπλασμα. Ωστόσο, η πρόκληση κλινικά αξιολογής ανοσοαπάντησης με αντιγόνα όγκου με ή χωρίς ανοσοενισχυτικά που ενεργοποιούν τα δενδριτικά κύτταρα, είναι συνήθως απρόβλεπτη και έχει γενικά περιορισμένη επιτυχία σε ασθενείς με καρκίνο. Ένας από τους λόγους αποτυχίας του σχεδίου αυτού είναι ότι το ανοσοκατασταλτικό περιβάλλον που δημιουργείται από τον αναπτυσσόμενο όγκο επηρεάζει άμεσα τα δενδριτικά κύτταρα που τον διηθούν ή βρίσκονται στους σύστοιχους λεμφαδένες.

Προκειμένου τα δενδριτικά κύτταρα να λειτουργήσουν αποτελεσματικά για την επαγωγή T-κυτταρικών αποκρίσεων, πρέπει αρχικά να διαφοροποιηθούν από ανώριμα σε ώριμα. Τα ώριμα δενδριτικά κύτταρα ρυθμίζονται σε συνάρτηση με το μείζον σύμπλεγμα

ιστοσυμβατότητας και τα συνδιεγερτικά μόρια και μεταναστεύουν στους λεμφαδένες για να παρουσιάσουν τα αντιγόνα στα παρθένα T-κύτταρα. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί, ότι τα δενδριτικά κύτταρα, που διηθούν τον όγκο παραμένουν συχνά ‘εγκλωβισμένα’ σε ένα ανώριμο στάδιο εξέλιξης και θεωρούνται ανοσολογικά αναποτελεσματικά, όσον αφορά στην έναρξη αποτελεσματικών ανοσοαποκρίσεων *in vivo*. Οι τοπικές συνθήκες, που επηρεάζουν άμεσα την ωρίμανση των κυττάρων αυτών, είναι η έκκριση ενός μεγάλου αριθμού κυτταροκινών από τα καρκινικά κύτταρα των συμπαγών όγκων, όπως για παράδειγμα ο αγγειακός, ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) και η IL-6, που αναστέλλουν την ικανότητα των δενδριτικών κυττάρων να πολλαπλασιάζονται. Η απελευθέρωση IL-8, που παρεμβαίνει στη χημειοταξία αναστέλλοντας την μετανάστευση των δενδριτικών κυττάρων στον λεμφαδένα και της IL-10, που εμποδίζει τη διέγερση και τον πολλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων συνιστούν μερικές από τις πιο συχνές συμπληρωματικές στρατηγικές ανοσοκαταστολής του καρκινικού ιστού. Η ανώριμη κατάσταση των δενδριτικών κυττάρων, που διηθούν τους όγκους και τους αντίστοιχους λεμφαδένες παροχέτευσης φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτυχία πολλών προσπαθειών ανοσοθεραπείας, που στοχεύουν την άμεση T-κυτταρική ανοσοαπόκριση.

Επομένως, η ενεργοποίηση των κυττάρων της έμφυτης ανοσίας είναι θεμελιώδης για την ανάπτυξη αποτελεσματικών, επίκτητων ανοσολογικών αποκρίσεων. Τα κύτταρα αυτά, όχι μόνο δρουν ως αντιγόνο-παρουσιαστικά για τα T-κύτταρα, αλλά επίσης, παρέχουν σήματα απαραίτητα για την ενεργοποίηση των συγκεκριμένων κυττάρων. Οι κυτταροκίνες, που εκκρίνονται, υποστηρίζουν την επαγωγή θεραπευτικά ‘ευεργετικών’ υποτύπων T-λεμφοκυττάρων. Τα κύτταρα της έμφυτης ανοσίας παρουσιάζουν υποδοχείς, οι οποίοι αναγνωρίζουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς και τους επιτρέπει να εντοπίζουν και να αντιλαμβάνονται τα PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns). Οι υποδοχείς αυτοί ονομάζονται Toll-like receptors (TLR).

Οι αγωνιστές των TLR είναι ισχυροί ενεργοποιητές της έμφυτης και κατ’ επέκταση της επίκτητης ανοσίας και όταν συγχորηγούνται με ένα ξένο αντιγόνο μπορούν να δράσουν ανοσοενισχυτικά για την προώθηση ειδικής ανοσοαπόκρισης. Αυτή η ιδιότητα έχει αξιοποιηθεί κατά την ανάπτυξη εμβολίων μολυσματικών ασθενειών, και θεωρείται αποτελεσματική στρατηγική για την προώθηση προστατευτικών T-κυτταρικών

αντιδράσεων και αντισωμάτων έναντι παθογόνων μικροοργανισμών. Επιπροσθέτως, μπορεί να αξιοποιηθούν επικουρικά τόσο στην ανοσοθεραπεία των νεοπλασμάτων με στόχο τον περιορισμό της ανοχής έναντι των καρκινικών αντιγόνων και στην πρόκληση ανοσοαποκρίσεων όσο και για την δημιουργία αντικαρκινικού εμβολίου.

Μελέτες των τελευταίων ετών συγκλίνουν στο συμπέρασμα, ότι μία σημαντική ανοσορυθμιστική ιδιότητα των αγωνιστών αυτών (TLR) είναι η ικανότητα τους να ενισχύουν την παραγωγή IL-12 από τα δενδριτικά κύτταρα και άλλα κύτταρα, που σχετίζονται με την έμφυτη ανοσία και επομένως, την ικανότητα τους να προάγουν αποκρίσεις τύπου Th1 των CD4+ κυττάρων, με έκκριση IFN- γ , μία βασική στρατηγική ισχυροποίησης αντινεοπλασματικών ανοσιακών μηχανισμών εναντίον των όγκων.

Στο ειδικό μέρος της έρευνας που ακολουθεί, παρουσιάζονται ανοσοϊστοχημικά ευρήματα των μεταβολών στην αριθμητική συγκέντρωση επιλεγμένων ανοσοφαινοτυπικά διακριτών υποπληθυσμών φλεγμονωδών κυττάρων, που διηθούν τον ιστό του BCC κατά τη διάρκεια του κύκλου ανοσοκρυστοχειρουργικής.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η κρυοπηξία καρκινικού ιστού σε ζωικά μοντέλα *in vivo*, ακολουθείται από μαζική απελευθέρωση λειτουργικών καρκινικών αντιγόνων στους ιστούς, τα οποία ανιχνεύονται σε σημαντικές ποσότητες στους τοπικούς λεμφαδενικούς σταθμούς.²⁰⁰ Ωστόσο, σε κλινικό περιβάλλον, έπειτα από την κρυοχειρουργική όγκου, οι ειδικές ανοσοαποκρίσεις έχουν συνήθως απρόβλεπτη ένταση, πολύ συχνά ιδιαίτερα αδύναμη για να θεωρηθεί άξια κλινικής σημασίας.²⁰¹ Βάσει ερευνών, η ανοσοαπόκριση θα μπορούσε να αυξηθεί, εάν υπάρξει συνδυασμός κρυοχειρουργικής και ανοσοθεραπειών, που στοχεύουν στην ενεργοποίηση και ισχυροποίηση της ανοσοαπάντησης του οργανισμού στο νεόπλασμα. Μελέτες που συνδυάζουν τις διαδικασίες ανοσοτροποποίησης και κρυοπηξίας, αποδεικνύουν αντινεοπλασματική συνεργική δράση έναντι του όγκου-στόχου, καθώς και απομακρυσμένων εστιών του.^{202,203}

Η ανοσοχειρουργική σχεδιάστηκε για να αξιοποιήσει την συνεργική δράση μεταξύ των ανοσοαποκρίσεων που προκαλούνται από την εφαρμογή ιμικουιμόδης, ενός αγωνιστή των Toll-like υποδοχέων 7-8 στο νεόπλασμα και της κρυοχειρουργικής.²⁰⁴ Αυτός ο ξεχωριστός συνδυασμός εφαρμόζεται σε κύκλους θεραπειών διάρκειας 5 εβδομάδων, όπου χορηγείται τοπικά στο δέρμα, μια φορά ημερησίως κρέμα ιμικουιμόδης 5% και συνδυάζεται με μια ήπια συνεδρία κρυοχειρουργικής στο τέλος της δεύτερης εβδομάδας του κύκλου (14^η ημέρα της θεραπείας).²⁰⁵

Ο παραπάνω συνδυασμός έχει δείξει ικανοποιητική αντινεοπλασματική αποτελεσματικότητα, ιδιαίτερα στη θεραπεία των BCC.^{206,207} Η πρόκληση έντονης τοπικής φλεγμονής, που μερικές φορές συνοδεύεται από ήπια ‘γριποειδή’ συστηματικά συμπτώματα, χαρακτηρίζει την θεραπεία. Η ένταση της τοπικής φλεγμονώδους απάντησης φαίνεται να αντανakλά την ένταση της ανοσοαπόκρισης και να συνδέεται με μια πιο ριζική καταστροφή του όγκου και συνεπώς ευνοϊκότερη έκβαση της θεραπείας. Το γεγονός ότι, μία πιο περιορισμένη φλεγμονώδης αντίδραση, για παράδειγμα σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, σχετίζεται με μειωμένη ικανότητα ελέγχου της ανάπτυξης των BCC, υπογραμμίζει περαιτέρω τον κεντρικό αντινεοπλασματικό ρόλο της

παρατηρούμενης περινεοπλασματικής φλεγμονώδους διήθησης κατά τη διάρκεια της θεραπείας.

Σκοπός της μελέτης είναι η συμβολή στην ανάδειξη των κυτταρικών υποπληθυσμών που συμμετέχουν στην ανοσοαπόκριση σε ένα κύκλο τυπικού πρωτοκόλλου ανοσοκρυστοχειρουργικής. Ειδικότερα μελετήθηκε η πιθανή έκφραση των μακροφάγων, των Τ-κυττάρων και δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στη συγκέντρωση των Τ- ρυθμιστικών κυττάρων που διηθούν τον υπό αγωγή ιστό.

Παρουσιάζουμε ανοσοϊστοχημικά ευρήματα των μεταβολών στην αριθμητική συγκέντρωση επιλεγμένων ανοσοφαινοτυπικά διακριτών υποπληθυσμών φλεγμονωδών κυττάρων. Για τον σκοπό της εργασίας χρησιμοποιήθηκε η χρήση αιματοξυλίνης- ηωσίνης και διενεργήθηκε ανοσοϊστοχημική μελέτη των δεικτών CD68 CD3 και Foxp3.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Ασθενείς και θεραπεία

Η μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή Έρευνας και Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, σύμφωνα με τις αρχές της διακήρυξης του Ελσίνκι του 1964 [έγκριση αρ. 4/8-4-2009 (θ18)].

Ανοσοεπαρκείς ασθενείς με οζώδη BCC, ύστερα από βιοψία της βλάβης, ενημερώνονται σχετικά με τη θεραπεία με ανοσοκρυστοχειρουργική ως εναλλακτική θεραπευτική μέθοδο στη χειρουργική αφαίρεση του όγκου και επιλέγουν κατόπιν συναίνεσης να συμμετάσχουν στη μελέτη. Τα κριτήρια επιλογής ήταν: (1) Ηλικία >18 ετών, (2) μέγεθος του όγκου >1 cm σε μέγιστη διάμετρο, (3) ιστολογικός τύπος οζώδης (συμπεριλαμβανομένου ελκωτικού). Ασθενείς με γνωστή ευαισθησία στην ιμικουιμόδη ή την κρυοθεραπεία (με υγρό άζωτο) αποκλείστηκαν.

Η ανοσοκρυστοχειρουργική εφαρμόζεται σε κύκλους θεραπείας διάρκειας 5 εβδομάδων (“τυπικός κύκλος ανοκρυστοχειρουργικής”). Εάν χρειαστεί οι κύκλοι θεραπείας επαναλαμβάνονται ανάλογα με την ένδειξη χωρίς περιορισμό. Στο τυποποιημένο πρωτόκολλο των 5 εβδομάδων ο ασθενής εφαρμόζει καθημερινά ένα λεπτό στρώμα κρέμας ιμικουιμόδης σε μια περιοχή με επίκεντρο τον όγκο και μια περιβάλλουσα ζώνη περίπου 0,5 cm υγιούς δέρματος πέρα από τα μακροσκοπικά όρια του νεοπλάσματος.

Μετά από 2 εβδομάδες (14 ημέρες) εφαρμογής ιμικουϊμόδης (συνίσταται επάλειψη το βράδυ πριν την κατάκλιση) ακολουθεί η συνεδρία κρυοχειρουργικής στο νεόπλασμα και ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του και σε μια ζώνη 0,5-1 cm περιφερειακά των ορατών ορίων του . Η συνεδρία κρυοχειρουργικής συνίσταται σε 2 κύκλους ψύξης-απόψυξης. Η ψύξη γίνεται με την μέθοδο του ανοικτού ψεκασμού με υγρό άζωτο (N₂) για 10-20 sec (“αποτελεσματικός χρόνος ψύξης”) σε κάθε κύκλο ανάλογα με το μέγεθος του όγκου. Ο “αποτελεσματικός χρόνος ψύξης” μετράται από τη στιγμή που παρατηρείται πλήρης παγοποίηση της βλάβης.²⁰⁸

2.2. Μεθοδολογία (σχεδιασμός μελέτης)

Η ύπαρξη βιοψίας για κάθε ασθενή, με σκοπό την διάγνωση του BCC ήταν απαραίτητη προϋπόθεση για την ένταξη στην μελέτη. Επομένως, υπήρχαν διαθέσιμα ιστοτεμάχια από όλους τους όγκους προ θεραπείας.

Για τον ανοσοφαινοτυπικό χαρακτηρισμό του περινεοπλασματικού φλεγμονώδους κυτταρικού διηθήματος κατά την πορεία της θεραπείας δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες εξέτασης με τρία διαφορετικά χρονικά σημεία για την λήψη δεύτερης βιοψίας κατά τη διάρκεια της αγωγής και κάθε ασθενής εντάχθηκε τυχαία σε μία από αυτές. Αναλυτικά:

Ομάδα 1η: Δεύτερη βιοψία κατά την ημέρα 12 του κύκλου (δύο ημέρες πριν την κρυοχειρουργική).

Ομάδα 2η: Δεύτερη βιοψία δύο μέρες μετά την κρυοχειρουργική (16η ημέρα του κύκλου)

Ομάδα 3η: Δεύτερη βιοψία στο τέλος της τέταρτης εβδομάδας της θεραπείας (28η ημέρα)

Για την τυχαιοποίηση εφαρμόστηκε η μέθοδος της προκαθορισμένης σειράς τριών κλάσεων τυχαίων αριθμών, και οι ασθενείς εντάχθηκαν στις 3 ομάδες ανάλογα με την σειρά ένταξής τους στη μελέτη. Επανεξέταση προγραμματίστηκε για όλους τους ασθενείς τον πρώτο, τρίτο και έκτο μήνα μετά την ολοκλήρωση του κύκλου θεραπείας. Το μέγεθος του όγκου μετρήθηκε άμεσα πριν την έναρξη της θεραπείας και τα ευρήματα φωτοτεκμηριώθηκαν κατά τη διάρκεια της θεραπείας, όσο και κατά τις επανεξετάσεις που ακολούθησαν.

Επεξεργασία ιστών - Ανοσοϊστοχημεία

Η λήψη των βιοψιών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση punch 3mm υπό τοπική αναισθησία ξυλοκαΐνης 2%. Τα δείγματα ιστού μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα 10% φορμαλίνης αφυδατώθηκαν σε διαβαθμισμένη συγκέντρωση αιθανόλης και ξυλόλης, και ακολούθως εμβαπτίστηκαν σε παραφίνη. Τομές του ιστού πάχους 3μm παρασκευάστηκαν και τοποθετήθηκαν πάνω σε πλακίδια. Ενδεικτικές τομές βάφτηκαν με αιματοξυλίνη και ηωσίνη για ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις πραγματοποιήθηκαν για τα ακόλουθα αντιγόνα: CD3 για T-λεμφοκύτταρα (CELLMARK, 1:150), CD68 για μακροφάγα (DAKO 1:500) και Fox p3 για ρυθμιστικά κύτταρα T_{reg} (ABCAM 1:100) σύμφωνα με τις οδηγίες των προμηθευτών.

Πίνακας 16 Αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη		
ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	ΠΗΓΗ	ΑΡΑΙΩΣΗ
ΑΝΤΙΣΩΜΑ Anti -CD3	CELLMARK	1:150
ΑΝΤΙΣΩΜΑ Anti-CD68	DAKO	1:500
ΑΝΤΙΣΩΜΑ Foxp3	ABCAM	1:100

Εφαρμόστηκε η κλασσική μέθοδος της στρεπταβιδίνης-αβιδίνης-βιοτίνης. Σε όλες τις ανοσοϊστοχημικές χρώσεις συμπεριλήφθηκαν θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες (παράλειψη της προσθήκης του πρωτογενούς αντισώματος).

Περιγραφή της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου:

1. Αποπαραφίνωση-ενυδάτωση: τα πλακίδια τοποθετήθηκαν σε κλίβανο θερμοκρασίας 60 °C για 18 ώρες. Ακολούθησε προθέρμανση διαλύματος ξυλόλης για 30 λεπτά σε κλίβανο σε θερμοκρασία 60 °C. Στη συνέχεια, τα πλακίδια εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα ξυλόλης και τοποθετήθηκαν σε κλίβανο σε θερμοκρασία 60 °C για 20 λεπτά. Κατόπιν μεταφέρθηκαν σε διάλυμα ξυλόλης θερμοκρασίας δωματίου για 10 λεπτά. Ακολούθησε η διαδικασία ενυδάτωσης των ιστολογικών τομών με εμβάπτισή τους για 30 δευτερόλεπτα X 2 διαδοχικά σε κατιούσα σειρά οινόπνευμάτων (100%, 96%) και τέλος σε αποσταγμένο νερό.

2. Αποκάλυψη του αντιγόνου: πραγματοποιήθηκε έκπλυση των πλακιδίων με νερό βρύσης X3. Ακολούθησε προθέρμανση διαλύματος κιτρικού οξέος 10% (630 ml απεσταγμένο νερό και 70 ml κιτρικό οξύ, Buffer for Antigen Retrieval) σε φούρνο μικροκυμάτων για 3 λεπτά. Στη συνέχεια, τα πλακίδια εμβαπτίστηκαν στο παραπάνω διάλυμα, ώστε να αναδειχθεί η αντιγονικότητα του ιστού. Εφαρμόστηκαν 2 κύκλοι θέρμανσης εντός του φούρνου μικροκυμάτων σε ισχύ 300Watt επί 15 λεπτά για κάθε κύκλο. Το διάλυμα με τα πλακίδια αφέθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 10 λεπτά, και ακολούθησε έκπλυση σε αποσταγμένο νερό x3.

3. Εξουδετέρωση ενδογενούς υπεροξειδάσης: Στη συνέχεια προετοιμάστηκε το διάλυμα εξουδετέρωσης της ενδογενούς υπεροξειδάσης μετά από ανάμειξη 500μl H₂O₂ (30%) με 50 ml μεθανόλη. Τα πλακίδια εμβαπτίστηκαν στο διάλυμα για 30' και τοποθετήθηκαν σε αναδευτήρα (εναλλακτικά, ενστάλαξη 2-3 σταγόνων από το Hydrogen Peroxide Block που παρέχεται έτοιμο στο Kit, και επώαση για 15').

4. Προεπώαση: Ακολούθησε έκπλυση με αποσταγμένο νερό X3 και με διάλυμα TBS για 5' (TBS: Tris Buffer Solution, 20g NaCl, 1.5g Tris σε 2.5 lt dH₂O και pH 7.6). Στη συνέχεια γίνεται ενστάλαξη 2-3 σταγόνων Ultra V Block από το Kit και τα πλακίδια επώαστηκαν για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να αποφευχθεί η μη ειδική χρώση (δέσμευση μη ειδικών αντιγονικών επιτόπων του ιστού).

5. Επώαση με το πρωτοταγές αντίσωμα: Μετά από έκπλυση των πλακιδίων σε TBS για 5 λεπτά, ακολούθησε ενστάλαξη του πρωτοταγούς αντισώματος σε αραιώση που έχει προσδιοριστεί μετά από χρώσεις. Το χρονικό διάστημα επώασης καθορίστηκε από το πρωτόκολλο κάθε αντισώματος και τις δοκιμές που προηγήθηκαν και κυμάνθηκε από ώρες μέχρι ολονύκτια επώαση.

6. Επώαση με το δευτεροταγές αντίσωμα: Πραγματοποιήθηκε έκπλυση των πλακιδίων με διάλυμα TBS για 10 λεπτά και στη συνέχεια επώαση με το δευτεροταγές αντίσωμα το οποίο είναι βιοτινισμένο (Biotinylated Goat Anti- Polyvalent, Envision Kit, έτοιμο προς χρήση) για 30'. Ακολούθησε έκπλυση των πλακιδίων σε TBS για 10 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκε το ABC Complex/HRP (στρεπταβιδίνης συνδεδεμένη με το σύμπλοκο αβιδίνη-βιοτίνη- υπεροξειδάση) το οποίο επώαστηκε για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε έκπλυση σε TBS για 5 λεπτά X2.

7. Προσθήκη χρωμογόνων: Για την προετοιμασία του χρωμογόνου αναμίχθηκαν 20μl DAB (χρωμογόνο, 3,3 τετραχλωρική διαμινοβενζιδίνη) σε 1ml από το αντίστοιχο Buffer. Τοποθετήθηκε διάλυμα χρωμογόνου (DAB 0.1% W/V) στις τομές για 3 λεπτά. Ακολούθησε έκπλυση των πλακιδίων σε αποσταγμένο νερό για 10 λεπτά, και επίχρωσή τους με αιματοξυλίνη 10% (προσθήκη 10ml αιματοξυλίνης 100% σε 90ml αποσταγμένου νερού) για 2 λεπτά. Τέλος, οι ιστολογικές τομές ξεπλύθηκαν με νερό βρύσης για 1 λεπτό.

8. Αφυδάτωση των ιστών: Τέλος τα πλακίδια εμβαπτίστηκαν σε ανιούσα σειρά οиноπνευμάτων (96%, 96%, 100%, 100%) και ξυλόλη και η διαδικασία ολοκληρώθηκε με επικάλυψη των ιστολογικών τομών με καλυπτρίδες.

CD3^{209,210}

Το CD3 είναι ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα και συν υποδοχέας των T-κυττάρων που εμπλέκεται στην ενεργοποίηση τόσο των κύτταρο τοξικών T-κυττάρων CD8 όσο και των βοηθητικών T-κυττάρων CD4. Εκφράζεται αρχικά στο κυτταρόπλασμα των βλαστικών κυττάρων στο θυμό αδένα. από τα οποία προέρχονται τα T κύτταρα. Το CD3 εντοπίζεται στην μεμβράνη όλων των ώριμων T-κυττάρων (TCR διαμεμβρανικός υποδοχέας) σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους και αυτό το καθιστά ένα χρήσιμο ανοσοϊστοχημικό δείκτη για τα T κύτταρα σε τομές ιστών.

CD68^{210,211}

Είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται στα κύτταρα στην σειρά των μονοκυττάρων από τα κυκλοφορούντα μακροφάγα και τα μακροφάγα των ιστών. Βρίσκεται στα κυτταροπλασματικά κοκκία μιας σειράς διαφορετικών κυττάρων του αίματος και είναι ιδιαίτερα χρήσιμος δείκτης για τα διάφορα κύτταρα της γραμμής των μακροφάγων όπως παραδείγματος χάρη μονοκύτταρα ,ιστιοκύτταρα , γιγαντοκύτταρα , κύτταρα του Kupffer και οστεοκλάστες.

FOXP3^{212,213,214,215}

Το Fox p3 (forkhead box P3) γνωστό και σαν scurfín (ένα είδος μεταλλαγμένου ποντικιού) είναι ένας ειδικός δείκτης που χαρακτηρίζει τα φυσικά ρυθμιστικά κύτταρα

(nTreg) και τα προσαρμοστικά/ επαγόμενα ρυθμιστικά κύτταρα (a/i Tregs) και που αναγνωρίζονται και από άλλους λιγότερο ειδικούς δείκτες όπως το CD 25 και το CD 45 RB.

Το Fox p3 είναι ο κυριότερος μεταγραφικός παράγοντας για τον έλεγχο των ρυθμιστικών κυττάρων. Συμβάλλει στην ωρίμανση των άωρων T κυττάρων σε ρυθμιστικά κύτταρα τα οποία έχουν *in vivo* και *in vitro* κατασταλτικές ικανότητες. Πιο συγκεκριμένα, ασθενείς με καρκινικούς όγκους έχουν μεγάλο αριθμό από αυτά με συνέπεια να αδυνατεί το ανοσοποιητικό σύστημα να τους περιορίσει-καταπολεμήσει, εν αντιθέσει με ασθενείς που πάσχουν από αυτοάνοσα νοσήματα, όπως ο συστηματικός ερυθθηματώδης λύκος που χαρακτηρίζονται από σχετική ανεπάρκεια των κυττάρων αυτών.

Ιστοπαθολογική αξιολόγηση

Δύο ιατροί με εμπειρία στην ιστοπαθολογία του δέρματος και με την άμεση συμμετοχή του υποψηφίου επιμελήθηκαν την ανάλυση των ιστοπαθολογικών ευρημάτων, προσδιορίζοντας τις περιοχές ενδιαφέροντος. Εξ αυτών ο ένας επιμελήθηκε την συστηματική φωτοτεκμηρίωση αντιπροσωπευτικών περιοχών σε τυποποιημένη μεγέθυνση X200 χρησιμοποιώντας ένα σύστημα ανάλυσης εικόνας, που αποτελείται από ορθοστάτη μικροσκόπιο Olympus BX 43 και ψηφιακή κάμερα OlympusCam -SC30, υποστηριζόμενα από το λογισμικό analySISH. Για να δημιουργηθεί μια ολοκληρωμένη ενότητα φωτογραφικού υλικού για ανάλυση, τα φλεγμονώδη κύτταρα και τα κύτταρα του χορίου του δέρματος (ακόμα κι αν σπανίζουν) θα πρέπει να προσδιορίζεται ότι εντοπίζονται σε περιοχή που γειτνιάζει άμεσα με τον όγκο από την παρουσία άμεσα αναγνωρίσιμης εστίας του όγκου ή μορφολογικών σχηματισμών ενδεικτικών προηγούμενης παρουσίας του στο ίδιο οπτικό πεδίο και να συναπεικονίζονται σε όλες τις φωτογραφίες. Επιπλέον η εικόνα θα πρέπει να προκύπτει από ένα συνεκτικό τμήμα ιστού, αποκλείοντας έτσι περιοχές με artefacts.

Για περαιτέρω ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν, μόνο οι βιοψίες για τις οποίες ήταν διαθέσιμες 3-5 μη επαπτόμενες εικόνες, από δείγματα που πληρούνταν οι παραπάνω προϋποθέσεις.

Ανάλυση εικόνας

Οι ιστοπαθολογικές εικόνες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία και έπειτα, τα χρωματισμένα κύτταρα ταυτοποιήθηκαν αυτόματα, χρησιμοποιώντας ένα πρόγραμμα ανάλυσης εικόνας. Πιο συγκεκριμένα υλοποιήθηκε ομαδοποίηση δύο επιπέδων. Σε πρώτο επίπεδο χρησιμοποιήθηκε ένα δυαδικό σύστημα, ώστε να απομονωθούν οι δομές των κυττάρων σύμφωνα με το πρότυπο χρώματος RGB²¹⁶. Στο δεύτερο επίπεδο εφαρμόστηκε ο k-means αλγόριθμος ομαδοποίησης για περαιτέρω εξαγωγή στοχευμένων χρωματισμένων κυττάρων.²¹⁷ Οι εικόνες των κυττάρων μετατράπηκαν σε YIQ colorspace και τα στοιχεία χρώματος I,Q χρησιμοποιήθηκαν για να ομαδοποιήσουν τα pixel της εικόνας. [χαρακτηριστικό παράδειγμα της παραπάνω διαδικασίας αποτελεί η **Εικόνα 10**].

Τα αποτελέσματα εμφανίζονται ως αριθμοί pixel / μονάδα επιφάνειας ιστοπαθολογικής εικόνας, τα οποία είναι ανάλογα προς την αριθμητική συγκέντρωση των αντίστοιχων κυτταρικών υποτύπων του εξεταζόμενου ιστού.

Στατιστική ανάλυση

Υπολογίστηκε ο μέσος αριθμός των pixel για τα διάφορα είδη κυττάρων ανά βιοψία, καθώς και αναλογίες των μετρήσεων δύο ειδών κυττάρων και ακολούθως συγκρίθηκαν με το τεστ Kruskal-Wallis και με το τεστ Dunn's για την μετέπειτα σύγκριση σε ζεύγη, χρησιμοποιώντας λογισμικό SPSS σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.05$.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Ασθενείς και θεραπεία

Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν 26 ασθενείς (10 άνδρες και 16 γυναίκες) με μέσο όρο ηλικίας 78,5 έτη (εύρος 58-91 χρόνια) και με 28 BCC (μέσος όρος μεγίστης διάμετρου 1,2 cm, εύρος: 0,8 έως 2,5 cm). Οι περισσότεροι όγκοι (26/28) εντοπίζονται στην κεφαλή και τον τράχηλο. Ιστοπαθολογικά σχεδόν οι μισοί από αυτούς (13/28) ήταν «οζώδους ελκωτικού» τύπου. **(Πίνακας 17)** Όλες οι βλάβες ανταποκρίθηκαν πλήρως στη θεραπεία, με συνέπεια την ολική εξάλειψη του όγκου: Κλινικά, συμπεριλαμβανομένης και της δερματοσκόπησης, δεν παρατηρήθηκε υπόλειμμα όγκου κατά την επανεξέταση τρεις μήνες μετά το πέρας της θεραπείας. **(Είκονα 11)**

3.2. Παρουσίαση ενδεικτικών περιστατικών θεραπείας BCC με ανοσοκρυοχειρουργική

Περιστατικό 1. Γυναίκα ετών 84 με 2 BCC στο πρόσωπο: (1) Ελκωτικό BCC διαστάσεων 2,2 x1,5cm στην αριστερή κροταφική χώρα και (2) ελκωτικό BCC διαστάσεων 2,0x1,7cm στον έξω κανθό του δεξιού οφθαλμού Ακολουθήθηκε αγωγή σύμφωνα με το πρωτόκολλο και μία συνεδρία κρυοχειρουργικής την 14^η ημέρα του κύκλου (2 κύκλοι κρυοχειρουργικής, 20sec έκαστος). Κατά τη διάρκεια της θεραπείας, η ασθενής παραπονέθηκε για θάμβο οράσεως, λόγω του έντονου οιδήματος περιοφθαλμικά, που παρήλθε μετά το τέλος της αγωγής (οφθαλμολογική εξέταση κατά φύση). Το αποτέλεσμα της θεραπείας ήταν μακροσκοπική ίαση, τα νεοπλάσματα παρέμειναν ελεύθερα υποτροπής για χρόνο παρακολούθησης >24 μηνών.





17η ημέρα-2 ημέρες μετά από κρυοθεραπεία



15 ημέρες μετά το τέλος του 1ου κύκλου



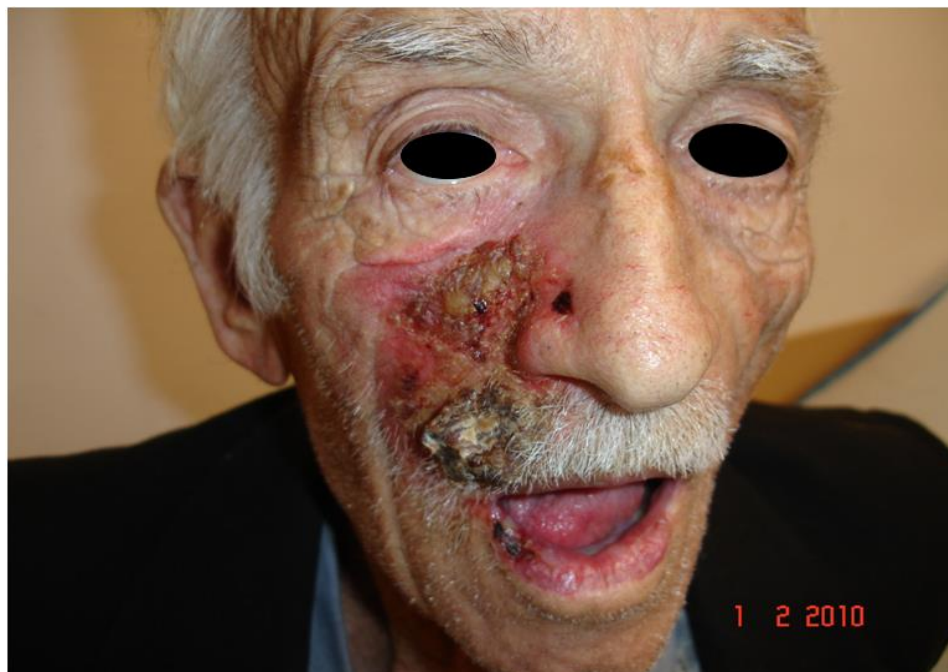
16η ημέρα 2ου κύκλου

Περιστατικό 2. Άνδρας ετών 82 με 2 BCC στο πρόσωπο: (1) Οζώδες στην δεξιά παρειά, πλησίον άνω χείλους, διαστάσεων 1,5x1,5cm και (2) ελκωτικό στην δεξιά παρειά, κάτωθεν οφθαλμού, διαστάσεων 1,7x1,5cm . Ακολουθήθηκε αγωγή σύμφωνα με το πρωτόκολλο και μία συνεδρία κρυοχειρουργικής την 14^η ημέρα του κύκλου (2 κύκλοι κρυοχειρουργικής, 20sec έκαστος). Κατά τη διάρκεια της θεραπείας, έντονη φλεγμονώδης, αντίδραση, επώδυνη, που επηρέασε την γενική κατάσταση του ασθενούς. Επίσης στην κορυφή της φλεγμονώδους απάντησης (2 εβδομάδες μετά την κρυοχειρουργική παρατηρήθηκε έντονη φλεγμονώδης αντίδραση στο κάτω χείλος, πιθανότατα λόγω αντίδρασης στην ιμικουϊμόδη πεδίου ακτινικής χειλίτιδας. Το αποτέλεσμα της θεραπείας ήταν ίαση.





Τέλος αγωγής Ιου κύκλου





Τέλος 2ου κύκλου



3 μήνες μετά το τέλος της αγωγής

3.3. Κυτταρολογία της φλεγμονής της ανοσοκρυστοχειρουργικής

Ένα σύνολο 56 δειγμάτων ιστού ήταν διαθέσιμα για αξιολόγηση: 28 δείγματα βιοψίας όλων των όγκων πριν την έναρξη της θεραπείας, και 10 δείγματα από την 12η ημέρα, 10 από την 16η ημέρα και 8 από την 28η ημέρα του κύκλου θεραπείας. Το υλικό από 2 BCC που συνελέγησαν την 28η ημέρα δεν ήταν αξιολογήσιμο και εξαιρέθηκαν από την περαιτέρω ανάλυση

Στις θέσεις των BCC που μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της ανοσοκρυστοχειρουργικής, μετρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στη συγκέντρωση και των τριών ανοσοφαινοτυπικά διαφορετικών κυττάρων που μελετήθηκαν ($CD68^+$, $CD3^+$, Fox p3) σαν συνάρτηση του χρόνου από την έναρξη της θεραπείας (για όλα $p < 0,003$) **(Εικόνες 12-13)**. Ήδη την 12η ημέρα από την έναρξη της θεραπείας η συγκέντρωση στον ιστό των $CD68^+$ κυττάρων είχε αυξηθεί σημαντικά σε σύγκριση με την αρχική τιμή, και παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα και στα δύο ακόλουθα χρονικά σημεία της θεραπείας (ημέρα 16η και 28η του κύκλου θεραπείας: $p < 0,022$ σε σύγκριση με την αρχική τους τιμή) **(Εικόνα 13)**

Ο βαθμός της διήθησης του ιστού από κύτταρα $CD3^+$ παρέμεινε, αρχικά, μάλλον σταθερός κατά τη διάρκεια της θεραπείας για να αυξηθεί απότομα δύο μέρες μετά τη συνεδρία κρυστοχειρουργικής (ημέρα 16η $p < 0,021$ σε σύγκριση με την αρχική τιμή και την 12η ημέρα θεραπείας). **(Εικόνα 13)**

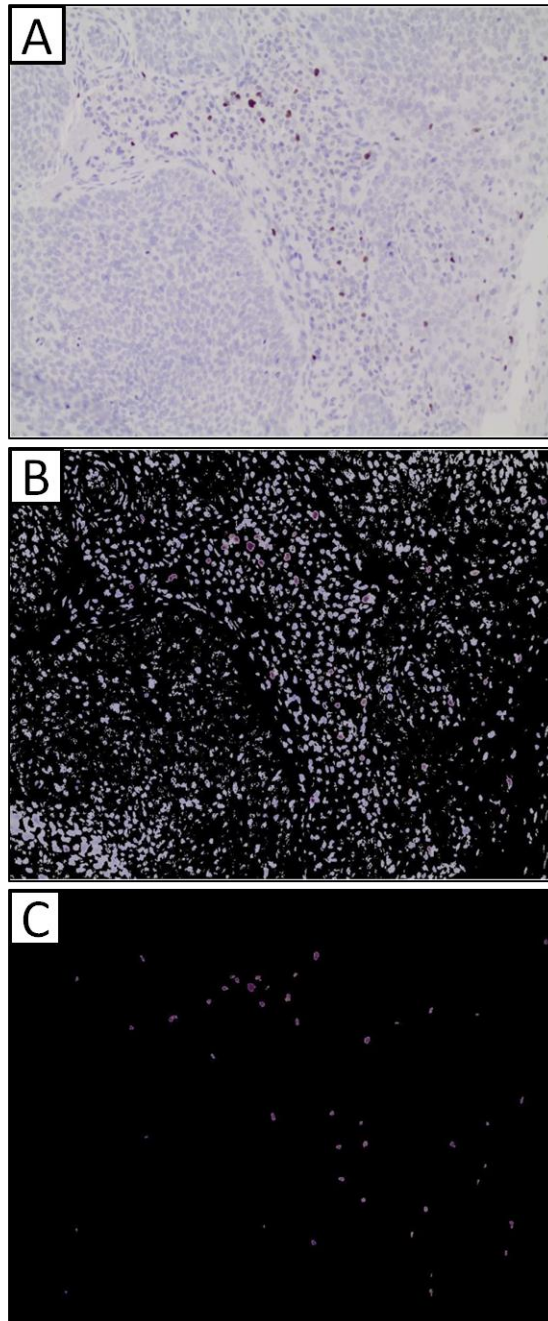
Αντιθέτως, η διήθηση του νεοπλάσματος από Fox p3 θετικά κύτταρα αυξήθηκε σημαντικά νωρίς κατά τη διάρκεια της θεραπείας ($p = 0.002$ την 12^η ημέρα σε σύγκριση με την αρχική τιμή) για να επιστρέψει στη συνέχεια, προοδευτικά, στα προ θεραπείας επίπεδα ($p = 0,006$ για την σύγκριση των τιμών της 12ης με την 28η ημέρα θεραπείας, **(Εικόνα 13)**).

Αξίζει να σημειωθεί, ότι η αναλογία (r) των $CD3^+$ προς τα Foxp3 θετικά κύτταρα που διηθούν το BCC ποικίλει σημαντικά κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Αρχικά, η αναλογία αυτή είχε τάση να μειωθεί από την αρχική μέση τιμή $r = 16,2$ σε $r = 15,4$ την 12η μέρα της θεραπείας. Ωστόσο, αυξήθηκε απότομα ακολούθως κατά σχεδόν 50%, από $r = 15,4$ σε $r = 22,0$ μεταξύ 12ης και 16ης ημέρας της θεραπείας και στη συνέχεια, παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα μέχρι το τέλος της περιόδου παρατήρησης ($r = 22,8$ την 28η ημέρα). **(Εικόνα 14)**

Πίνακας 17. Δημογραφικά στοιχεία και χαρακτηριστικά του όγκου των ασθενών

Ασθενείς		N = 26
Φύλο	Γυναίκες N = 16 Άνδρες N = 10	
Ηλικία (έτη)	Διάμεσος: Εύρος: Μέσος όρος: SEM:	78.5 58 - 91 76.5 7.4
Όγκοι		N = 28
Κατάσταση	Πρωτογενές Υποτροπή (μετά από χειρουργική επέμβαση)	27 1
Περιοχή	Κεφάλι / τράχηλος μύτη ρινοπαρειακή αύλακα Παρειακή περιοφθαλμική βρεγματικά κροταφική μετωπική Κορμός	26 11 3 2 5 1 2 2 2
ΙστολογίαBCC	Οζώδες Διηθητικό ¹ Επιφανειακό	26 13 2
Μέγεθος (cm)	Διάμεσος: Εύρος: Μέσος όρος: SEM:	1.2 0,8 - 2,5 1.33 0.37

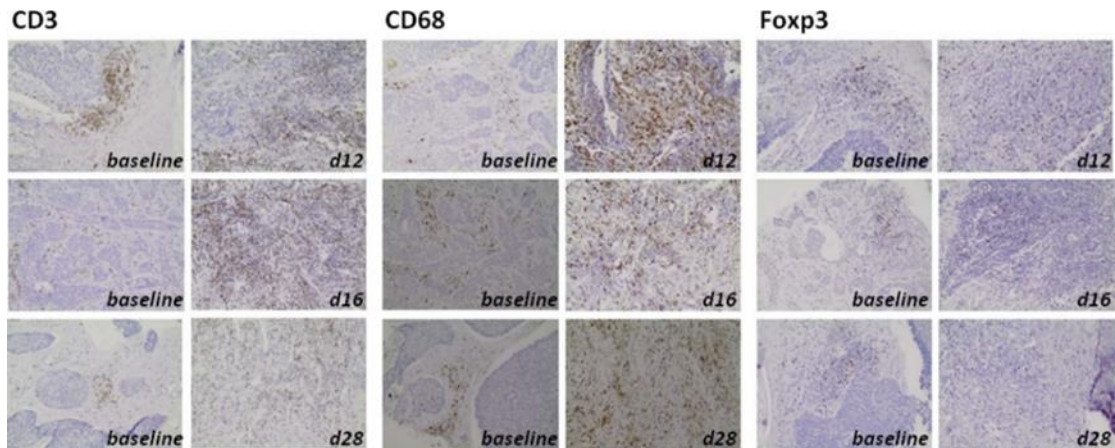
¹13/26 οζώδες BCC ήταν διηθητικό από ιστοπαθολογία.



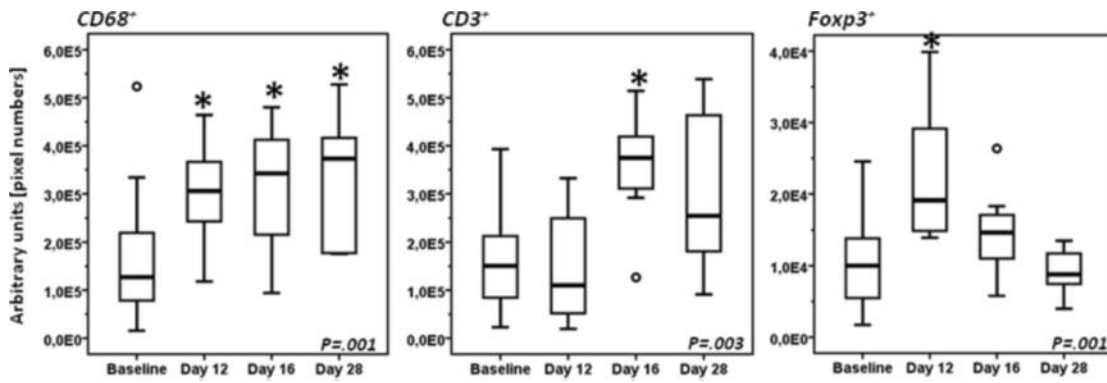
Εικόνα.10 Παράδειγμα τμηματοποίησης χρώματος (Foxp3). (α) Αρχική εικόνα. (β) Αποτελέσματα τμηματοποίησης πρώτου επιπέδου · Οι υποψήφιες κυτταρικές περιοχές εξήχθησαν πρώτα. (γ) Αποτέλεσμα τμηματοποίησης χρώματος δευτέρου επιπέδου. Τα χρωματισμένα στοχευμένα κύτταρα απεικονίσθηκαν τελικά.



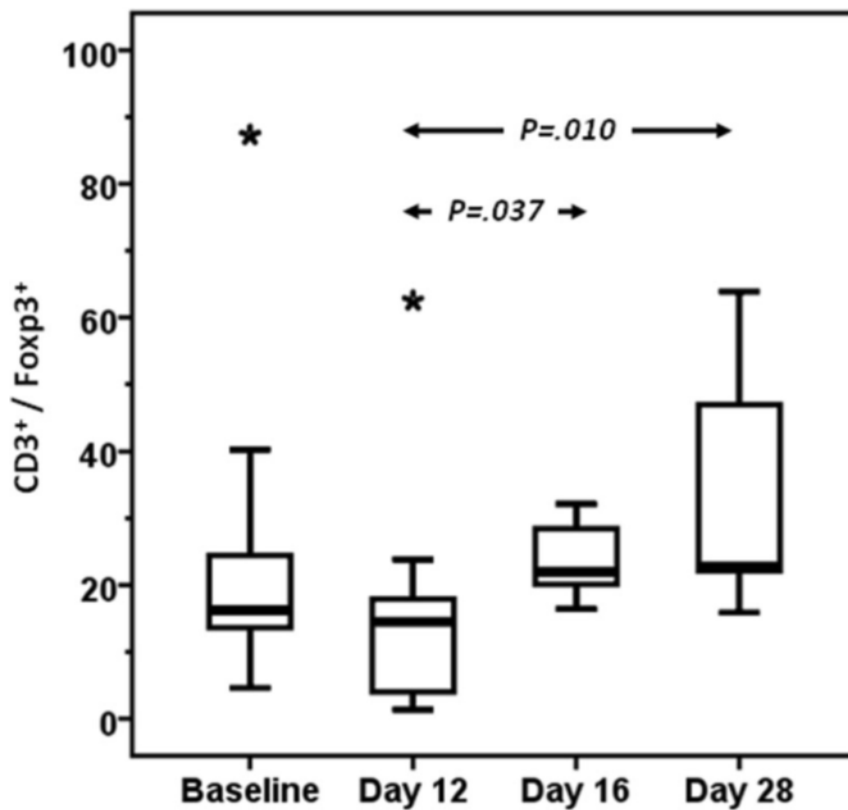
Εικόνα.11 Θεραπεία δύο BCC στον ίδιο ασθενή με ανοσοκρυστοχειρουργική. Εικόνα a-c: αριστερή κροταφική χώρα. Εικόνες d-f:περιοφθαλμικά δεξιά(έξω κανθός). Εικόνες a&d: βλάβες BCCπρο θεραπείας. Εικόνα b: 12η ημέρα θεραπείας. Εικόνα e: 16η ημέρα θεραπείας .Εικόνες c&f: 3 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας.



Εικόνα 12. Αντιπροσωπευτικές ανοσοϊστολογικές τομές καρκινωμάτων βασικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της ανοσοκρυοχειρουργικής (αρχική μεγέθυνση x200) που καταδεικνύουν διήθηση ιστού από κύτταρα CD3 + (αριστερά ζεύγη χρωμάτων), κύτταρα CD68 + (μεσαία ζεύγη στηλών) και κύτταρα Foxp3 + (δεξιά ζεύγη στηλών). Μέσα σε κάθε πλαίσιο, οι οριζόντιες δυάδες των εικόνων αντιπροσωπεύουν βιοψίες σε διαφορετικά χρονικά σημεία κατά τη διάρκεια της θεραπείας του ίδιου όγκου: οι εικόνες στα αριστερά αντιστοιχούν στη βασική γραμμή και στα δεξιά τους ιστούς της βιοψίας που έγινε τις υποδεικνυόμενες ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας (d12, d16 και d28 που αντιστοιχούν στις 12, 16 και 28 ημέρες ένας κύκλος ανοσοκρυοχειρουργικής 35 ημερών).



Εικόνα 13. Παρουσίαση Boxplot των επιπέδων διήθησης (αυθαίρετες αριθμητικές μονάδες εικονοστοιχείων) των κυττάρων CD68⁺ (αριστερά), CD3⁺ (μέση) και Foxp3⁺ (δεξιά) στον ιστό του BCC ως συνάρτηση της διάρκειας του κύκλου θεραπείας της ανοσοχειρουργικής



Εικόνα 14. Παρουσίαση Boxplot της αναλογίας CD3⁺ προς Foxp3⁺ κυττάρων ως συνάρτηση του χρόνου κατά τη διάρκεια ενός κύκλου θεραπείας ανοσοκρυστοχειρουργικής

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το BCC αποτελεί το συχνότερο κακόηθες νεόπλασμα που προσβάλλει τα άτομα της Καυκάσιας φυλής. Αν και χαρακτηρίζεται από ένα ιδιαίτερα χαμηλό δυναμικό μεταστατικότητας, εν τούτοις αν δεν αντιμετωπισθεί έγκαιρα, υπάρχει σημαντικός κίνδυνος να επεκταθεί τοπικά διηθώντας και καταστρέφοντας τους παρακείμενους ιστούς. Έχουν προταθεί πολλές μέθοδοι θεραπείας, με αρκετά διαφορετική αποτελεσματικότητα η κάθε μία για τους διάφορους κλινικούς και ιστοπαθολογικούς υπότυπους του BCC. Μία μέθοδος που χρησιμοποιείται από το 2006 στη Δερματολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων είναι η ανοσοκρυοχειρουργική.

Πρόκειται για μία συνδυαστική μέθοδο που αξιοποιεί την συνεργική δράση της κρυοχειρουργικής με μία ανοσοδιεγερτική θεραπεία, στην προκειμένη περίπτωση την τοπική εφαρμογή ιμικουϊμόδης.

Η εφαρμογή κρυοχειρουργικής (αλλιώς κρυοπηξία) σε έναν ιστό, π.χ. στο δέρμα, έχει σαν συνέπεια τον κυτταρικό θάνατο μέσω δύο μηχανισμών. Στο επίκεντρο της περιοχής παγοποίησης του ιστού προκαλείται εκτεταμένη, συχνά σχεδόν πλήρης νέκρωση των κυττάρων ενώ στην περιφέρειά της, όπου η θερμοκρασία είναι σαφώς μικρότερη, επικρατούν τα πιο επιλεκτικά φαινόμενα του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωσης).²⁰¹ Οι φυσικοχημικές μεταβολικές διαταραχές, που προκαλούνται από τον κύκλο ψύξης-απόψυξης του ιστού και επηρεάζουν την βιωσιμότητα του κυττάρου περιλαμβάνουν:

- 1) Κρυσταλλοποίηση ενδοκυττάριου και εξωκυττάριου χώρου,
- 2) Διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης και των κυτταρικών οργανιδίων λόγω μηχανικής επίδρασης των κρυστάλλων,
- 3) Διαταραχή της συγκέντρωσης των ηλεκτρολυτών στο κύτταρο με συνέπεια,
- 4) Αφυδάτωση των κυττάρων που οδηγεί σε βίαιη συρρίκνωση τους και
- 5) Τέλος θερμικό σοκ με αποτέλεσμα την αποδόμηση των κυτταρικών λιποπρωτεϊνών και των ενζυμικών συστημάτων.²¹⁸

Επιπλέον σε επίπεδο ιστού ακολουθούν αγγειακές διαταραχές, κυρίως στο επίπεδο της μικροκυκλοφορίας, που οδηγούν σε αγγειακή στάση και θρόμβωση με συνέπεια την

επίταση του βαθμού νέκρωσης των ιστών. Ακολουθεί περίοδος παρατεταμένης αγγειοδιαστολής με αυξημένη ροή, βλάβη του ενδοθηλίου και σχηματισμό ενδοαγγειακών θρόμβων και μικροεμβόλων. Κατ' αυτόν τον τρόπο προκαλείται σημαντική μείωση της αιματικής ροής που οδηγεί σε ισχαιμική νέκρωση των ιστών.²¹⁹

Μετά την κρυοχειρουργική ο όγκος παραμένει *in situ* απελευθερώνοντας παράγοντες που διεγείρουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Μία προτεινόμενη θεωρία σχετικά με τους πιθανούς μηχανισμούς της κρυοπηξίας και του ανοσοποιητικού συστήματος είναι η θεωρία κινδύνου (danger theory) του Matzinger. Βάση αυτής της θεωρίας μετά τον κυτταρικό θάνατο από νέκρωση, τα κύτταρα εκκρίνουν σήματα κινδύνου (danger signs) τα οποία αποτελούν αντιγονικά ερεθίσματα για το ανοσοποιητικό σύστημα και μπορεί να ξεκινήσουν μία επιλεκτική ανοσοαπόκριση.^{220,221}

Επιπλέον τα σήματα κινδύνου προωθούν την ωρίμανση των δενδριτικών κύτταρα που μέσω της αντιγονοπαρουσίασης ενεργοποιούν με τη σειρά τους τα Τ-κύτταρα και οδηγούν σε μία στοχευμένη ανοσοαπάντηση. Τα προαναφερθέντα σήματα (αντιγόνα) είναι κυρίως ενδοκυττάρια αντιγόνα (DNA, RNA και πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος, heat shock proteins-HSP)^{201,222}. Εν αντιθέσει, τα κύτταρα που νεκρώνονται από απόπτωση στο εξωτερικό περιθώριο του νεκρωμένου ιστού δεν απελευθερώνουν σήματα κινδύνου με αποτέλεσμα τα δενδριτικά κύτταρα να παραμένουν ανώριμα. Επιπλέον, τα τελευταία παράγουν ανοσοκατασταλτικά σήματα οδηγώντας σε απενεργοποίηση των Τ-κυττάρων. Επομένως η κρυοπηξία μπορεί να προκαλέσει τόσο ανοσοδιεγερτική όσο και ανοσοκατασταλτική απόκριση, κάτι που αποτυπώνεται στην κλινική πράξη σαν μια πρακτικά μη-προβλέψιμη ανοσοποίηση.^{223,224}

Η απόπτωση που παρατηρείται στην περιφερική ζώνη του ψυχθέντος ιστού μετά από 8 έως 12 ώρες, χαρακτηρίζεται από αλλαγές στην έκφραση της πρωτεΐνης BAX (BCL-2-συνδεόμενη Χ πρωτεΐνη) με αποτέλεσμα την μιτοχονδριακή βλάβη και την ενεργοποίηση της κασπάσης. Τα αποπτωτικά σωμάτια φαγοκυτταρώνονται κυρίως από τα μακροφάγα φαγοκύτταρα.²¹⁸

Η χρήση της ιμικουϊμόδης ως ανοσοενισχυτικό χρησιμοποιείται κυρίως για να ενισχύσει την ανοσοαπάντηση κυρίως στην περιφέρεια της βλάβης όπου η θερμοκρασία

είναι μεταξύ 0 και -40 βαθμούς Κελσίου. Υπογραμμίζεται, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ότι στην περιφέρεια παρατηρείται απόπτωση και όχι νέκρωση.²²⁵

Κατά τη διάρκεια ενός τυπικού πρωτοκόλλου διαπιστώθηκαν οι εξής μεταβολές στα κύτταρα που περιβάλλουν-διηθούν το BCC:

-Πρώτο συμπέρασμα. Όσον αφορά τα μακροφάγα (CD68⁺) παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της ιστικής συγκέντρωσής τους από την 12η μέρα και μετά έως το τέλος του πρωτοκόλλου θεραπείας και μπορεί να αποδοθεί στη συνέργεια της κρυοπηξίας με την ιμικουϊμόδη.

Ο κύκλος ανοσοκρυοχειρουργικής ξεκινάει με την τοπική εφαρμογή ιμικουϊμόδης. Η θεραπεία με ιμικουϊμόδη δρα ως ανοσοενισχυτικό και διεγείρει τοπικά τους Toll like υποδοχείς 7-8 με συνέπεια μία μαζική χημειοταξία κυττάρων της μονοκυτταρικής ιστικής σειράς (δενδριτικά κύτταρα) και μακροφάγων στην περιοχή του νεοπλάσματος, τα οποία περιβάλλουν και συχνά διηθούν τα νησίδια του όγκου.²²⁶ Τα μακροφάγα παρουσιάζουν έντονη κυτταροτοξική δραστηριότητα. Κατά την ενεργοποίησή τους, λόγω διέγερσης από την ιντερφερόνη γ (IFNγ), απελευθερώνονται τοξικοί παράγοντες (TNFα, πρωτεάσες σερινών, NO και ρίζες οξυγόνου) με αποτέλεσμα την κυτταρική λύση.²²⁷ Ο TNFα οδηγεί σε άμεση νέκρωση του όγκου με πρόκληση θρόμβωσης στα αγγεία του ενώ η ιντερφερόνη γ και α (IFNγ και INFα) και η ιντερλευκίνη 12 (IL12) είναι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που ενισχύουν την ιστική φλεγμονή. Υπογραμμίζεται ότι η ταχεία συσσώρευση CD68⁺ κυττάρων στο περιβάλλον του BCC οφείλεται στη γρήγορη ανταπόκριση στην ιμικουϊμόδη η οποία δρα ως ισχυρός διεγέρτης του υποδοχέα Toll like 7.¹⁷³ Ο συγκεκριμένος υποδοχέας εκφράζεται σε πλασμακυτταροειδή και μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα τα οποία, ως προαναφέρθηκε, παράγουν προφλεγμονώδεις IFNα και IL12.²²⁸ Επιπλέον, μετά την συνεδρία κρυοχειρουργικής στα πλαίσια των συνεπειών τα στην περιοχή της νέκρωσης στο κέντρο του ιστού, τα σήματα κινδύνου (danger signs) από τα νεκρωτικά κύτταρα ενεργοποιούν περαιτέρω τη μη ειδική ανοσολογική απάντηση (ουδετερόφιλα, μακροφάγα και natural killer-NK κύτταρα).

Ιδιαίτερη σημασία αποδίδεται στο γεγονός ότι τα ενεργοποιημένα μακροφάγα που αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια στους όγκους φονεύουν τα κύτταρα των τελευταίων και ταχέως σχηματίζουν αθροίσματα που εκκρίνουν χημειοκίνες και

κυτταροκίνες οι οποίες προσελκύουν και ενεργοποιούν με τη σειρά τους άλλα δενδριτικά κύτταρα, NK κύτταρα και κύτταρα της ειδικής ανοσίας.²²⁹

Τα δενδριτικά κύτταρα, αν και δε μελετήθηκαν άμεσα στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, φαίνεται ότι παίζουν κεντρικό ρόλο στην πορεία της ανταπόκρισης του BCC στην ανοσοκρυοχειρουργική. Τα δενδριτικά κύτταρα διαιρούνται στα μυελοειδή και τα πλασμακυτταροειδή. Στα κύτταρα της πρώτης κατηγορίας περιλαμβάνονται τα κύτταρα Langerhans και τα ενδιάμεσα δενδριτικά κύτταρα, κύτταρα που εκφράζουν τους Toll- like υποδοχείς (TLR) TLR-1 έως -6 και τον TLR-8. Η δεύτερη κατηγορία χαρακτηρίζεται από την έκφραση των TLR-7, -9 και -10.²³⁰ Η σηματοδότηση μέσω της ενεργοποίησης των τελευταίων TLR υποδοχέων συνιστά κεντρικό μηχανισμό άμυνας κατά των ιογενών λοιμώξεων μέσω ενεργοποίησης της ιντερφερόνης Α.

Τα δενδριτικά κύτταρα είναι αντιγονοπαρουσιαστικά. Οι Toll-like υποδοχείς που έχουν στην επιφάνειά τους, ύστερα από την ενεργοποίησή τους, ξεκινούν την αντιγονοπαρουσίαση σε συνδυασμό με το Major Histocompatibility Complex I (MHC I) και κυτταροκίνες όπως η IL12.

Τα ώριμα δενδριτικά κύτταρα προκαλούν κυτταρική διαφοροποίηση και λειτουργική ωρίμανση σε Τ-εκτελεστικά (T effector) ή κύτταρα μνήμης (memory cells), ενεργοποίηση natural killer (NK) κυττάρων καθώς και ωρίμανση και διαφοροποίηση Β λεμφοκυττάρων σε πλασματοκύτταρα.

-Δεύτερο συμπέρασμα. Ως προς τα ρυθμιστικά κύτταρα (Treg), τα οποία χαρακτηρίζονται από την έκφραση του δείκτη Foxp3, διαπιστώθηκε αρχικά και μέχρι τη 12η ημέρα του θεραπευτικού κύκλου μία αύξηση στην συγκέντρωσή τους στο μικροπεριβάλλον του ιστού-στόχου της ανοσοκρυοχειρουργικής. Από την 14^η ημέρα του κύκλου θεραπείας (2 ημέρες μετά τη συνεδρία κρυοχειρουργικής) ακολούθησε μια στατιστικά σημαντική υποχώρηση της πυκνότητας των ρυθμιστικών Τ λεμφοκυττάρων στο BCC, που συνεχίστηκε μέχρι και 2 εβδομάδες μετά την κρυοχειρουργική (τελευταίο χρονικό σημείο λήψης βιοψίας στα πλαίσια της παρούσης μελέτης).

Τα ρυθμιστικά κύτταρα προσελκύονται και συσσωρεύονται στο BCC τόσο σχηματίζοντας μία ‘ψευδοκάψουλα’ γύρω από το εξωτερικό μέτωπο επέκτασης του νεοπλασματος αλλά και στα διαφραγμάτια συνδετικού ιστού στο εσωτερικό του

νεοπλάσματος περιβάλλοντας τα νησίδια (φωλεές) του όγκου (tumor islets).²³¹ Τα ρυθμιστικά κύτταρα αποτελούν το 5 έως 10% των CD4⁺ κυττάρων στο περιφερικό αίμα και το 8 έως 20% των CD4⁺ κυττάρων στο υγιές δέρμα. Σύμφωνα ωστόσο με μελέτη των Omland et al. τα ρυθμιστικά κύτταρα, που περιβάλλουν το βασικοκυτταρικό βρέθηκαν αυξημένα κατά 45%.²³² Σύμφωνα με άλλη μελέτη του Omland et al. οι ινοβλάστες, που αποτελούν το υπόστρωμα του βασικοκυτταρικού, ρυθμίζουν το μικροπεριβάλλον του όγκου παράγοντας χημειοκίνες και κυτοκίνες που επηρεάζουν την αντικαρκινική ανοσοαπόκριση. Λόγω ακριβώς της έκκρισης των χημειοκινών, οι ινοβλάστες προσελκύουν τα ρυθμιστικά κύτταρα. Ανάμεσα στις χημειοκίνες, πρέπει να εξαρθεί η σημασία της CCL22 η οποία ενοχοποιείται για την προσέλκυση των Treg. Επιπροσθέτως, στο Th2 περιβάλλον κυριαρχούν τα Treg κύτταρα λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης των κυτταροκινών ιντερλευκίνης 4, 10 και CCL22 (IL4, IL10 και IL22).²³³ Έτερος παράγοντας στον οποίο οφείλεται η αύξηση των Treg, κατά τη μελέτη του Forward and al., συνιστά η εφαρμογή της μικουϊμόδης. Τούτο υποστηρίζεται από μελέτες σε ζωικά μοντέλα.²³⁴ Σε συμφωνία με την “seed and soil” υπόθεση, δημιουργείται ένα ανοκατασταλτικό περιβάλλον Th2 με αυξημένη συγκέντρωση Treg κυττάρων σε συνδυασμό με ανώριμα δένδριτικά κύτταρα που υποδηλώνουν κατάσταση ανοσοανοχής του BCC. Στο συγκεκριμένο ιστικό μικροπεριβάλλον τα ανώριμα δένδριτικά κύτταρα αποτελούν παράγοντα ο οποίος προκαλεί ανοχή στα περιφερειακά T λεμφοκύτταρα.²³³

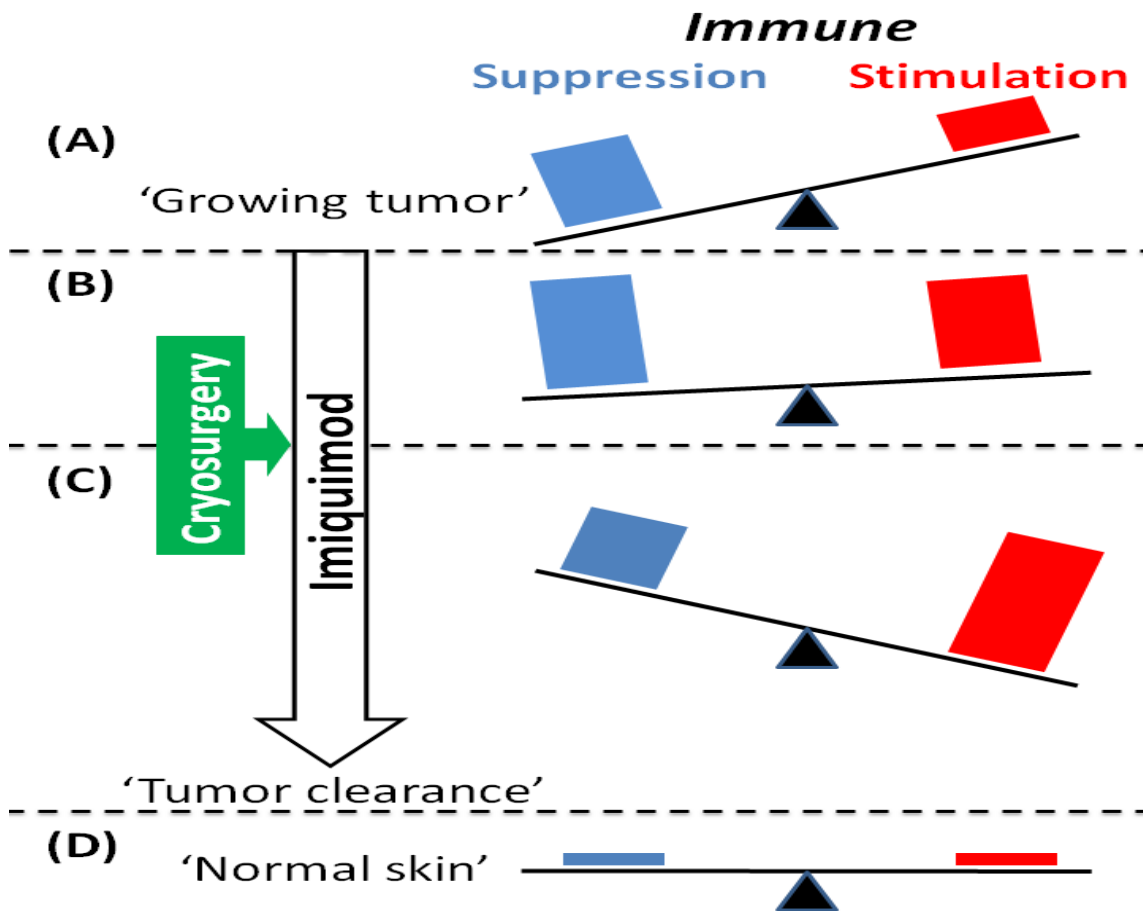
-Τρίτο συμπέρασμα. Όσον αφορά τα κύτταρα που εκφράζουν το CD3 παρατηρήθηκε μείωση τη 12η μέρα, δηλαδή δύο μέρες πριν την κρυοχειρουργική, με απότομη αύξηση την 16η μέρα και παραμονή σε αυξημένα επίπεδα μέχρι το τέλος του πρωτοκόλλου. Ως γνωστόν, το CD3⁺ είναι δείκτης που αντιπροσωπεύει πόσο τα T helper (CD4⁺) όσο και τα κυτταροτοξικά (CD8⁺) κύτταρα.

Επομένως, μετά τη συνεδρία κρυοχειρουργικής στα πλαίσια της ανοσοκρυοχειρουργικής αντιστρέφεται το ανοσολογικό περιβάλλον του BCC και από ένα κύρια ανοσοκατασταλτικό Th2 μεταπίπτει σε ένα Th1 προαποπτωτικό, ανοσολογικό περιβάλλον, που επικρατούν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (INFα, INFγ και IL12), οι οποίες εκκρίνονται από κύτταρα που έχουν ενεργοποιηθεί από την εφαρμογή της

ιμικουϊμόδης. Το περιβάλλον μετατρέπεται από Th2 σε Th1, όπου ενεργοποιούνται η καταστροφή του όγκου.**(Εικόνα 15)**

Τα ρυθμιστικά κύτταρα Treg έχουν την ίδια λειτουργία με τους PD-1 και τους CTLA-4 υποδοχείς που αποτελούν αναστολείς σταθμών ελέγχου της ανοσιακής απόκρισης ως προς την προστασία από την εμφάνιση αυτοανοσίας και τους όγκους από την επίδραση του ανοσιακού συστήματος. Όγκοι που περιέχουν μεγάλο αριθμό T ρυθμιστικών λευκοκυττάρων είναι συγκριτικά χειρότερης πρόγνωσης. Συνεπώς, φάρμακα όπως το μονοκλωνικό αντίσωμα ipilimumab το οποίο στοχεύει κατά του CTLA μόριου και τα nivolumab και pembrolizumab που αποτελούν αναστολείς του υποδοχέα PD-1 μπορούν να δράσουν και κατά των T ρυθμιστικών λευκοκυττάρων.²³⁵

Καταλήγοντας, τα ευρήματα της μελέτης σε επίπεδο ιστού υπογραμμίζουν τον αποφασιστικό ρόλο της κρυοχειρουργικής (τη 14^η ημέρα του κύκλου) για την ενεργοποίηση αποτελεσματικής ανοσοαπόκρισης έναντι του καρκινικού όγκου στη θεραπεία με ανοσοκρυοχειρουργική. Μελλοντικές μελέτες δέον να επεκτείνουν τα παραπάνω ευρήματα, συμπεριλαμβανομένης της τυποποίησης περισσότερων ειδών κυττάρων καθώς και της μέτρησης των επιπέδων των αντίστοιχων κυτταροκινών τοπικά στον ιστό και στο αίμα των ασθενών πριν, κατά την διάρκεια και μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας.



Εικόνα.15 Απλοποιημένο σχήμα του υποτιθέμενου μηχανισμού αντινεοπλασματικής δράσης της ανοσοκρυοχειρουργικής (5 εβδομάδες εφαρμογή ιμικουιμόδης μία φορά την ημέρα και μία συνεδρία κρυοχειρουργικής την 14η ημέρα του κύκλου θεραπείας). Αριστερή πλευρά: Σχήμα της πορείας της θεραπείας (B και C: περίοδος θεραπείας) και οι καταστάσεις του νεοπλάσματος. Δεξιά πλευρά: Σχηματική αναπαράσταση των υποτιθέμενων επιδράσεων της ανοσοκρυοχειρουργικής στην ισορροπία μεταξύ ανοσοκαταστολής και ανοσοδιέγερσης στο ιστικό περιβάλλον του όγκου .

(A) Κατά την έναρξη, ο μη διαταραγμένος όγκος αναπτύσσεται μέσα σε ένα ανοσοκατασταλτικό, επιτρεπτό στην ανάπτυξη περιβάλλον ιστού.

(B) Η καθημερινή τοπική εφαρμογή imiquimod κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης (πρώτες δύο εβδομάδες) της θεραπείας διεγείρει τόσο τους ανοσοδιεγερτικούς όσο και

τους ανοσοκατασταλτικούς μηχανισμούς. Στις περισσότερες περιπτώσεις, αυτό οδηγεί σε μέτρια διέγερση της περιφερικής φλεγμονής με εξαιρετικά απρόβλεπτο καθαρό αντινεοπλασματικό αποτέλεσμα (εδώ απεικονίζεται: «μερική αναστροφή» της ανοσοκατασταλτικής κατάστασης).

(C) Μετά την συνεδρία κρυοχειρουργικής (14η ημέρα θεραπείας), κατά τη διάρκεια της τελευταίας φάσης της θεραπείας (τελευταίες τρεις εβδομάδες) και με τη συνέχιση της εφαρμογής ιμικουιμόδης, οι τοπικές ανοσολογικές καταστάσεις αλλάζουν υπέρ μιας αντινεοπλασματικής ανοσοδιεγερτικής κατάστασης που προκαλεί κλιμάκωση της φλεγμονώδους απόκρισης που τελικά οδηγεί σε κάθαρση του όγκου.

(D) Τέλος, μετά την ολοκλήρωση του κύκλου θεραπείας και την εξάλειψη του όγκου και την επούλωση πληγών, η τοπική φλεγμονή υποχωρεί τελείως.

5 . ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη ιστοπαθολογικής διερεύνησης του μηχανισμού δράσης της ανοσοχειρουργικής σε επίπεδο νεοπλασματικού ιστού έχει ορισμένους περιορισμούς:

Καταρχάς η αξιολόγηση έγινε με περιορισμένο αριθμό αντισωμάτων που προσδιορίζουν ανοσοφαινοτυπικά μόνο μερικούς από τους δυνητικά πολυάριθμους κυτταρικούς υποπληθυσμούς του φλεγμονώδους κυτταρικού διηθήματος που σχετίζεται με την θεραπεία του BCC με την συγκεκριμένη μέθοδο. Μελέτη του ρυθμού του κυτταρικού πολλαπλασιασμός (πχ. με το Ki67) ή η επίδραση της θεραπείας στα ενδοθήλια του καρκινικού πεδίου (πχ. με αντι-VEGFR2 αντίσωμα) ή ακόμη ο ρόλος των Β λεμφοκυττάρων (πχ. με το αντι-CD 20) θα ήταν σημαντικές προσθήκες, που θα ήταν χρήσιμο να αξιολογηθεί σε μελλοντικές μελέτες.

Δεύτερον, ο πραγματικός χρόνος παρακολούθησης (follow up) των ασθενών στη μελέτη δεν ήταν αρκετός ώστε να αξιολογηθεί με ασφάλεια η μακροχρόνια αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Γνωρίζουμε όμως από άλλες μελέτες από την κλινική μας ότι η 5-ετής αποτελεσματικότητα της θεραπείας για συγκρίσιμα με τα συμπεριληφθέντα στην παρούσα μελέτη νεοπλάσματα είναι ιδιαίτερα υψηλή και συγκρίσιμη με εκείνη της συμβατικής χειρουργικής (χωρίς υποτροπή μετά 5-ετή παρακολούθηση: >95%).²⁰⁷

Τρίτον μετά το πέρας της θεραπείας και ιδιαιτέρως ένα μήνα μετά δεν ελήφθη βιοψία για να επιβεβαιώσει την ύπαρξη ή μη υπολειμματικού όγκου στις θέσεις των βλαβών. Ίσως η ιστολογική εικόνα να ήταν μια απόδειξη για την αξία της άνοσο κρυοχειρουργική και να την προσέθετε στην φαρέτρα των εναλλακτικών θεραπειών για το BCC

Τέλος η μελέτη αυτή είναι μια ανοιχτή (open-label), παρεμβατική μελέτη με ένα σκέλος θεραπείας και χαρακτηρίζεται από όλα τα εγγενή μειονεκτήματα αυτού του είδους των μελετών.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πρώτον: Όσον αφορά τη συγκέντρωση στον ιστό των CD68 κυττάρων έχουμε μία σημαντική αύξηση σε σύγκριση με την αρχική τιμή και στη συνέχεια παραμονή σε υψηλά επίπεδα και στα δύο ακόλουθα χρονικά σημεία της θεραπείας (ημέρα 16η και 28η). Αυτό αποδεικνύει ότι η μονοθεραπεία με ιμικουϊμόδη κινητοποιεί την ανοσολογική απάντηση κατά του όγκου μέσω της ενεργοποίησης των «αδρανών» πλασμακυτταροειδών κυττάρων τα οποία βρίσκονται στην περιοχή του αλλά και στην προσέλκυση από την κυκλοφορία άωρων πλασμακυτταροειδών δένδριτικών κυττάρων εντός του νεοπλάσματος.

Δεύτερον: Τη 14η μέρα είναι κρίσιμος ο ρόλος της κρυοχειρουργικής η οποία, τραυματίζοντας τον όγκο, απελευθερώνει μεγάλο αριθμό καρκινικών αντιγόνων μέσα στο προφλεγμονώδες περιβάλλον που δημιουργήσε η εφαρμογή της ιμικουϊμόδης εφοδιάζοντας τα διεγερμένα αντιγονοπαρουσιαστικά δένδριτικά κύτταρα με ειδικά καρκινικά αντιγόνα.

Τρίτον: Ο βαθμός της διήθησης του ιστού από CD3 κύτταρα παρέμεινε μάλλον σταθερός κατά τη διάρκεια της θεραπείας για να αυξηθεί απότομα δύο μέρες μετά τη συνεδρία κρυοχειρουργικής (16^η ημέρα), μετά δε την 16^η ημέρα κατά τη διάρκεια του πρωτοκόλλου παρατηρήθηκε αύξηση των των T-κυτταροτοξικών κυττάρων και των Th βοηθητικών κυττάρων.

Τέταρτον: Κατά τις πρώτες ημέρες της θεραπείας με ιμικουϊμόδη και μέχρι τη συνεδρία της κρυοχειρουργικής τη 14η μέρα του θεραπευτικού κύκλου αυξάνεται η διήθηση από ρυθμιστικά Treg κύτταρα ενώ στη συνέχεια ο αριθμός τους μειώνεται σημαντικά. Κατ' αυτόν τον τρόπο, τα ρυθμιστικά κύτταρα που μεσολαβούν στην ομοιοστατική περιφερειακή ανοχή και που είναι αυξημένα στους ασθενείς με νεοπλασίες, σύμφωνα πάντα με βιβλιογραφικά δεδομένα, μειώνονται ιδιαίτερα μετά την εφαρμογή της κρυοχειρουργικής και την καθημερινή χρήση ιμικουϊμόδης από τη 14η μέρα και μετά.

Πέμπτον: Οι αλλαγές που παρατηρούνται στις συγκεντρώσεις του CD3 και Foxp3 οδηγούν στην απότομη αύξηση του λόγου CD3/ Foxp3 γεγονός που αλλάζει την τοπική ανοσολογική ισορροπία προς την κατεύθυνση μιας έντονης προφλεγμονώδους απάντησης που καταστρέφει τον όγκο.

Τα ρυθμιστικά κύτταρα ενεργοποιούν μία Th2 ανοσοκατασταλτική δράση και με την εφαρμογή ανοσοκρυοχειρουργικής παρατηρήθηκε στροφή σε μία ανοσοαπάντηση κατά την οποία κυριαρχεί ένα τύπου Th1 ανοσιακό περιβάλλον και που αποτυπώνεται στην παρατηρούμενη μείωση της πυκνότητας του πληθυσμού των Treg και στην αύξηση των Teff.

Έκτον: Προκύπτει λοιπόν ότι τα ρυθμιστικά κύτταρα διαδραματίζουν κρίσιμο και αποφασιστικό ρόλο στην ομοιοστατική περιφερειακή ανοχή καταστέλλοντας τα Teff κύτταρα. Μία πιθανή στρατηγική για τη θεραπεία των καρκινικών όγκων είναι η μείωση αυτών των κυττάρων στο περιφερειακό αίμα ή η αδρανοποίησή τους μπλοκάροντάς τα με ειδικά αντισώματα (CTLA-4).

ΚΑΤΑΚΛΕΙΔΑ όλων των ανωτέρω: Με τα μέχρι τώρα δεδομένα η ανοσοκρυοχειρουργική αποδεικνύεται ότι ενεργοποιεί ένα μηχανισμό in situ που προσομοιάζει αρχικά με εκείνον της εφαρμογής ενός αντινεοπλασματικού εμβολίου.

7.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (BCC) αποτελεί τον πιο συχνό τύπο καρκίνου του δέρματος στους Καυκάσιους, σε ορισμένα δε μέρη του κόσμου ο επιπολασμός του λαμβάνει επιδημικές διαστάσεις. Εξ αυτού του λόγου η ανάγκη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων σε εξωνοσοκομειακό περιβάλλον καθίσταται εντονότερη.

Η κρυοχειρουργική και η τοπική ιμικουϊμόδη συνιστούν καθιερωμένες μονοθεραπείες για τα επιφανειακά βασικοκυτταρικά, ωστόσο είναι ανεπαρκείς για τους συμπαγέστερους όγκους.

Η ανοσοκρυοχειρουργική είναι ένας ξεχωριστός συνδυασμός τοπικής ιμικουϊμόδης και κρυοχειρουργικής που έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματική στη θεραπεία των βασικοκυτταρικών, ιδιαίτερα μεγάλων νεοπλασμάτων και περιοφθαλμικών όγκων. Αυτή η μέθοδος αναπτύχθηκε προκειμένου να αξιοποιήσει τη συνέργεια των αντιογκογόνων επιδράσεων, συμπεριλαμβανομένης της πρόκλησης ανοσιολογικών αποκρίσεων που προκαλούνται από την ιμικουϊμόδη και την κρυοχειρουργική.

Στην παρούσα εργασία μελετούμε τη διήθηση των βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων (BCC) από επιλεγμένα φλεγμονώδη κυτταρικά είδη κατά τη διάρκεια ενός κύκλου θεραπείας ανοσοκρυοχειρουργικής. Η πυκνότητα των κυτταρικών διηθήσεων CD68⁺, CD3⁺ και Foxp3⁺ μελετήθηκε με ανοσοϊστοχημεία σε 56 βιοψίες BCC που ελήφθησαν τυχαιοποιημένα από 28 σημεία 26 υπό θεραπεία ασθενών κατά την έναρξη και κατά τη 12^η, 16^η και 28^η ημέρα της θεραπείας. Η ανοσοχειρουργική προκαλεί στατιστικά σημαντικές αλλοιώσεις και στις τρεις κατηγορίες κυττάρων ($p < 0.003$). Η πυκνότητα των CD68⁺ αυξήθηκε ήδη από την 12^η ημέρα και παρέμεινε σε υψηλότερο επίπεδο κατά τη διάρκεια του υπόλοιπου κύκλου της θεραπείας. Η πυκνότητα των κυττάρων CD3⁺ αυξήθηκε σημαντικά μεταξύ της 12^{ης} και της 16^{ης} μέρας της θεραπείας. Η πυκνότητα των κυττάρων Foxp3⁺ αυξήθηκε στην πρώτη φάση της θεραπείας (φθάνοντας το υψηλότερο σημείο τη 12^η ημέρα) ενώ στη συνέχεια μειώθηκε σημαντικά ήδη δύο ημέρες μετά τη κρυοχειρουργική συνεδρία (16^η ημέρα) και στη συνέχεια μέχρι την 28^η ημέρα του κύκλου θεραπείας ($p = 0.033$).

Μέσα στον ιστό του όγκου, αυτές οι αλλοιώσεις οδηγούν σε απότομη αύξηση της αναλογίας CD3⁺/Foxp3⁺, ένα εύρημα που υποδηλώνει ότι η κρυοχειρουργική διαταραχί μπορεί πιθανώς να διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση της κυτταρικής σύνθεσης της φλεγμονώδους διήθησης κατά τη διάρκεια της ανοσοκρυοχειρουργικής, προαναγγέλλοντας τελικά την επαγωγή μιας αποτελεσματικής ανοσιολογικής απόκρισης που αποδομεί τον όγκο.

8.Summary

Basal cell carcinoma (BCC) is the most common type of skin cancer in Caucasians, and in some parts of the world its prevalence takes on epidemic proportions. Therefore, the need for new therapeutic approaches in an out-of-hospital environment is becoming more intense.

Cryosurgery and local imiquimod are established monotherapies for superficial basal cells, but they are insufficient for the most compact tumors.

Immunocryosurgery is a distinct combination of imiquimod and cryosurgery that has been shown to be particularly effective in the treatment of BCC, particularly large neoplasms and periocular tumors. This method was developed to harness the synergy of anti-oncogenic effects, including the challenge of immune responses caused by imiquimod and cryosurgery.

In this paper we study the filtration of basal cell carcinomas (BCC) from selected inflammatory cell species during an immunocryosurgery treatment cycle. The density of CD68⁺, CD3⁺ and Foxp3⁺ cell filtrations was studied with immunohistochemistry in 56 BCC biopsies randomized from 28 points of 26 patients at baseline and at the 12th, 16th and 28th days of treatment. Immunocryosurgery causes statistically significant lesions in all three cell species ($p < 0.003$). The density of Foxp3⁺ cells increased in the first phase of treatment (reaching the highest point on the 12th day) and then decreased significantly already two days after the cryosurgical session (16th day) and then until the 28th day of the treatment cycle ($p = 0.033$).

Within the tumor tissue, these lesions lead to a sharp increase in CD3⁺/ Foxp3⁺ ratio, a finding that suggests that cryosurgical perturbation may potentially play a key role in shaping the cellular composition of the inflammatory infiltrate during immunocryosurgery, eventually heralding the induction of an effective immune response that deconstructs the tumor.

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. American Cancer Society. Cancer facts and figures 2015. (2015). www.cancer.org
2. Lucas, Robyn, McMichael, Tony, Smith, Wayne, Armstrong, Bruce K, Prüss-Üstün, Annette. et al. (2006). Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation / Robyn Lucas ... [et al.] ; editors, Annette Prüss-Üstün ... [et al.]. World Health Organization.
3. Chinem VP, Miot HA. Epidemiology of basal cell carcinoma. *An Bras Dermatol*. 2011 Mar-Apr;86(2):292-305. English, Portuguese. doi: 10.1590/s0365-05962011000200013. PMID: 21603813.
4. Jacob A. Observations respecting an ulcer of peculiar character, which attacks the eye-lids and other parts of the face. *Dublin Hosp Rep*, 1827.
5. Rogers HW, Weinstock MA, Feldman SR, Coldiron BM. Incidence Estimate of Nonmelanoma Skin Cancer (Keratinocyte Carcinomas) in the U.S. Population, 2012. *JAMA Dermatol*. 2015 Oct;151(10):1081-6. doi: 10.1001/jamadermatol.2015.1187. PMID: 25928283.
6. Staples M, Marks R, Giles G. Trends in the incidence of non-melanocytic skin cancer (NMSC) treated in Australia 1985-1995: are primary prevention programs starting to have an effect? *Int J Cancer*. 1998 Oct 5;78(2):144-8. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19981005)78:2<144::aid-ijc3>3.0.co;2-z. PMID: 9754642.
7. Casey AS, Kennedy CE, Goldman GD. Mohs micrographic surgery: How ACMS fellowship directors practice. *Dermatol Surg*. 2009 May;35(5):747-56. doi: 10.1111/j.1524-4725.2009.01124.x. Epub 2009 Mar 23. PMID: 19389108.
8. Nestor MS, Zarraga MB. The incidence of nonmelanoma skin cancers and actinic keratoses in South Florida. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2012 Apr;5(4):20-7. PMID: 22708003; PMCID: PMC3366443.
9. Christenson LJ, Borrowman TA, Vachon CM, Tollefson MM, Otley CC, Weaver AL, Roenigk RK. Incidence of basal cell and squamous cell carcinomas in a population younger than 40 years. *JAMA*. 2005 Aug 10;294(6):681-90. doi: 10.1001/jama.294.6.681. PMID: 16091570.

10. Kaldor J, Shugg D, Young B, Dwyer T, Wang YG. Non-melanoma skin cancer: ten years of cancer-registry-based surveillance. *Int J Cancer*. 1993 Apr 1;53(6):886-91. doi: 10.1002/ijc.2910530603. Erratum in: *Int J Cancer* 1993 Jul 9;54(5):887. PMID: 8473047.
11. Freedberg, I., Eisen, A., Wolff, K., Austen, K.F., Goldspith, L., Katz, S., Fitzpatrick, T.: *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. McGraw-Hill Health Professional Division, New York (1999)
12. Tran H, Chen K, Shumack S. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2003 Nov;149 Suppl 66:50-2. doi: 10.1046/j.0366-077x.2003.05622.x. PMID: 14616351.
13. Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall F. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol*. 2012 May;166(5):1069-80. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10830.x. PMID: 22251204.
14. Brewster DH, Bhatti LA, Inglis JH, Nairn ER, Doherty VR. Recent trends in incidence of nonmelanoma skin cancers in the East of Scotland, 1992-2003. *Br J Dermatol*. 2007 Jun;156(6):1295-300. doi: 10.1111/j.1365-2133.2007.07892.x. PMID: 17535229.
15. De Vries E, Micallef R, Brewster DH, Gibbs JH, Flohil SC, Saksela O, Sankila R, Forrest AD, Trakatelli M, Coebergh JW, Proby CM; EPIDERM Group. Population-based estimates of the occurrence of multiple vs first primary basal cell carcinomas in 4 European regions. *Arch Dermatol*. 2012 Mar;148(3):347-54. doi: 10.1001/archdermatol.2011.2244. PMID: 22431775.
16. NCCI Non-Melanoma Skin Cancer Working Group: The 2002 National Non-Melanoma Skin Cancer Survey, p. 51. Carlton, National Cancer Control Initiative (2003)
17. Staples MP, Elwood M, Burton RC, Williams JL, Marks R, Giles GG. Non-melanoma skin cancer in Australia: the 2002 national survey and trends since 1985. *Med J Aust*. 2006 Jan 2;184(1):6-10. PMID: 16398622.

18. Athar M, Tang X, Lee JL, Kopelovich L, Kim AL. Hedgehog signalling in skin development and cancer. *Exp Dermatol*. 2006 Sep;15(9):667-77. doi: 10.1111/j.1600-0625.2006.00473.x. PMID: 16881963.
19. Rogers HW, Weinstock MA, Harris AR, Hinckley MR, Feldman SR, Fleischer AB, Coldiron BM. Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States, 2006. *Arch Dermatol*. 2010 Mar;146(3):283-7. doi: 10.1001/archdermatol.2010.19. PMID: 20231499.
20. Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol*. 2006 Feb;19 Suppl 2: S127-47. doi: 10.1038/modpathol.3800512. PMID: 16446711.
21. Bastiaens MT, Hoefnagel JJ, Bruijn JA, Westendorp RG, Vermeer BJ, Bouwes Bavinck JN. Differences in age, site distribution, and sex between nodular and superficial basal cell carcinoma indicate different types of tumors. *J Invest Dermatol*. 1998 Jun;110(6):880-4. doi: 10.1046/j.1523-1747.1998.00217.x. PMID: 9620293.
22. Celić D, Lipozencić J, Jurakić Tončić R, Ledić-Drvar D, Marasović D, Puizina-Ivić N, Cabrijan L, Bradamante M. The incidence of basal cell carcinoma in Croatia: an epidemiological study. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2009;17(2):108-12. PMID: 19595266.
23. Levi F, Te VC, Randimbison L, Erler G, La Vecchia C. Trends in skin cancer incidence in Vaud: an update, 1976-1998. *Eur J Cancer Prev*. 2001 Aug;10(4):371-3. doi: 10.1097/00008469-200108000-00011. PMID: 11535880.
24. Boi S, Cristofolini M, Micciolo R, Polla E, Dalla Palma P. Epidemiology of skin tumors: data from the cutaneous cancer registry in Trentino, Italy. *J Cutan Med Surg*. 2003 Jul-Aug;7(4):300-5. doi: 10.1007/s10227-002-0135-0. Epub 2003 Jul 28. PMID: 12879331.
25. Katalinic A, Kunze U, Schäfer T. Epidemiology of cutaneous melanoma and non-melanoma skin cancer in Schleswig-Holstein, Germany: incidence, clinical subtypes, tumour stages and localization (epidemiology of skin cancer). *Br J Dermatol*. 2003 Dec;149(6):1200-6. doi: 10.1111/j.1365-2133.2003.05554.x. PMID: 14674897.

26. Birch-Johansen F, Jensen A, Mortensen L, Olesen AB, Kjær SK. Trends in the incidence of nonmelanoma skin cancer in Denmark 1978-2007: Rapid incidence increase among young Danish women. *Int J Cancer*. 2010 Nov 1;127(9):2190-8. doi: 10.1002/ijc.25411. PMID: 20473901.
27. Hoey SE, Devereux CE, Murray L, Catney D, Gavin A, Kumar S, Donnelly D, Dolan OM. Skin cancer trends in Northern Ireland and consequences for provision of dermatology services. *Br J Dermatol*. 2007 Jun;156(6):1301-7. doi: 10.1111/j.1365-2133.2007.07936.x. PMID: 17535230.
28. Wu S, Han J, Li WQ, Li T, Qureshi AA. Basal-cell carcinoma incidence and associated risk factors in U.S. women and men. *Am J Epidemiol*. 2013 Sep 15;178(6):890-7. doi: 10.1093/aje/kwt073. Epub 2013 Jul 4. PMID: 23828250; PMCID: PMC3775544.
29. Demers AA, Nugent Z, Mihalcioiu C, Wiseman MC, Kliewer EV. Trends of nonmelanoma skin cancer from 1960 through 2000 in a Canadian population. *J Am Acad Dermatol*. 2005 Aug;53(2):320-8. doi: 10.1016/j.jaad.2005.03.043. PMID: 16021129.
30. De Vries E, Louwman M, Bastiaens M, de Gruijl F, Coebergh JW. Rapid and continuous increases in incidence rates of basal cell carcinoma in the sheast Netherlands since 1973. *J Invest Dermatol*. 2004 Oct;123(4):634-8. doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.23306.x. PMID: 15373766.
31. Karagas MR, Greenberg ER, Spencer SK, Stukel TA, Mott LA. Increase in incidence rates of basal cell and squamous cell skin cancer in New Hampshire, USA. New Hampshire Skin Cancer Study Group. *Int J Cancer*. 1999 May 17;81(4):555-9. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19990517)81:4<555::aid-ijc9>3.0.co;2-r. PMID: 10225444.
32. Bath-Hextall F, Leonardi-Bee J, Smith C, Meal A, Hubbard R. Trends in incidence of skin basal cell carcinoma. Additional evidence from a UK primary care database study. *Int J Cancer*. 2007 Nov 1;121(9):2105-8. doi: 10.1002/ijc.22952. PMID: 17640064.

33. Christenson LJ, Borrowman TA, Vachon CM, Tollefson MM, Otley CC, Weaver AL, Roenigk RK. Incidence of basal cell and squamous cell carcinomas in a population younger than 40 years. *JAMA*. 2005 Aug 10;294(6):681-90. doi: 10.1001/jama.294.6.681. PMID: 16091570.
34. Bassukas ID, Tatsioni A. Male Sex is an Inherent Risk Factor for Basal Cell Carcinoma. *J Skin Cancer*. 2019 Oct 20;2019:8304271. doi: 10.1155/2019/8304271. PMID: 31772775; PMCID: PMC6854916.
35. Wu X, Elkin EE, Marghoob AA. Burden of basal cell carcinoma in USA. *Future Oncol*. 2015 Nov;11(22):2967-74. doi: 10.2217/fon.15.180. Epub 2015 Oct 15. PMID: 26466906.
36. Rogers HW, Coldiron BM. A relative value unit-based cost comparison of treatment modalities for nonmelanoma skin cancer: effect of the loss of the Mohs multiple surgery reduction exemption. *J Am Acad Dermatol*. 2009 Jul;61(1):96-103. doi: 10.1016/j.jaad.2008.07.047. PMID: 19539843.
37. Kyle JW, Hammitt JK, Lim HW, Geller AC, Hall-Jordan LH, Maibach EW, De Fabo EC, Wagner MC. Economic evaluation of the US Environmental Protection Agency's SunWise program: sun protection education for young children. *Pediatrics*. 2008 May;121(5): e1074-84. doi: 10.1542/peds.2007-1400. PMID: 18450850.
38. Chen JG, Fleischer AB Jr, Smith ED, Kancler C, Goldman ND, Williford PM, Feldman SR. Cost of nonmelanoma skin cancer treatment in the United States. *Dermatol Surg*. 2001 Dec;27(12):1035-8. doi: 10.1046/j.1524-4725.2001.01004.x. PMID: 11849266.
39. Housman TS, Feldman SR, Williford PM, Fleischer AB Jr, Goldman ND, Acostamadiedo JM, Chen GJ. Skin cancer is among the most costly of all cancers to treat for the Medicare population. *J Am Acad Dermatol*. 2003 Mar;48(3):425-9. doi: 10.1067/mjd.2003.186. PMID: 12637924.
40. Mudigonda T, Pearce DJ, Yentzer BA, Williford P, Feldman SR. The economic impact of non-melanoma skin cancer: a review. *J Natl Compr Canc Netw*. 2010 Aug;8(8):888-96. doi: 10.6004/jnccn.2010.0066. PMID: 20870635.

41. Bureau of Labor Statistics: consumer priceindex-medicalcare
www.bls.gov/cpi/data.htm
42. Chen G, Yelverton CB, Polisetty SS, Housman TS, Williford PM, Teuschler HV, Feldman SR. Treatment patterns and cost of nonmelanoma skin cancer management. *Dermatol Surg.* 2006 Oct;32(10):1266-71. doi: 10.1111/j.1524-4725.2006.32288.x. PMID: 17034377.
43. Joseph AK, Mark TL, Mueller C. The period prevalence and costs of treating nonmelanoma skin cancers in patients over 65 years of age covered by medicare. *Dermatol Surg.* 2001 Nov;27(11):955-9. doi: 10.1046/j.1524-4725.2001.01106.x. PMID: 11737130.
44. Manternach T, Housman TS, Williford PM, Teuschler H, Fleischer AB Jr, Feldman SR, Chen GJ. Surgical treatment of nonmelanoma skin cancer in the Medicare population. *Dermatol Surg.* 2003 Dec;29(12):1167-9; discussion 1169. doi: 10.1111/j.1524-4725.2003.29381.x. PMID: 14725656.
45. Roozeboom MH, Arits AH, Nelemans PJ, Kelleners-Smeets NW. Overall treatment success after treatment of primary superficial basal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized trials. *Br J Dermatol.* 2012 Oct;167(4):733-56. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.11061.x. Epub 2012 Sep 7. PMID: 22612571.
46. Wang GY, Wang J, Mancianti ML, Epstein EH Jr. Basal cell carcinomas arise from hair follicle stem cells in Ptch1(+/-) mice. *Cancer Cell.* 2011 Jan 18;19(1):114-24. doi: 10.1016/j.ccr.2010.11.007. Epub 2011 Jan 6. PMID: 21215705; PMCID: PMC3061401.
47. Peterson SC, Eberl M, Vagnozzi AN, Belkadi A, Veniaminova NA, Verhaegen ME, Bichakjian CK, Ward NL, Dlugosz AA, Wong SY. Basal cell carcinoma preferentially arises from stem cells within hair follicle and mechanosensory niches. *Cell Stem Cell.* 2015 Apr 2;16(4):400-12. doi: 10.1016/j.stem.2015.02.006. PMID: 25842978; PMCID: PMC4387376.
48. Youssef KK, Van Keymeulen A, Lapouge G, Beck B, Michaux C, Achouri Y, Sotiropoulou PA, Blanpain C. Identification of the cell lineage at the origin of basal

- cell carcinoma. *Nat Cell Biol.* 2010 Mar;12(3):299-305. doi: 10.1038/ncb2031. Epub 2010 Feb 14. PMID: 20154679.
49. Pollack SV, Goslen JB, Sherertz EF, Jegasothy BV. The biology of basal cell carcinoma: a review. *J Am Acad Dermatol.* 1982 Nov;7(5):569-77. doi: 10.1016/s0190-9622(82)70136-7. PMID: 6754775.
 50. Miller SJ. Biology of basal cell carcinoma (Part II). *J Am Acad Dermatol.* 1991 Feb;24(2 Pt 1):161-75. doi: 10.1016/0190-9622(91)70022-t. PMID: 2007661.
 51. Kore-eda S, Horiguchi Y, Ueda M, Toda K, Imamura S. Basal cell carcinoma cells resemble follicular matrix cells rather than follicular bulge cells: immunohistochemical and ultrastructural comparative studies. *Am J Dermatopathol.* 1998 Aug;20(4):362-9. doi: 10.1097/00000372-199808000-00007. PMID: 9700374.
 52. Schirren CG, Rütten A, Kaudewitz P, Diaz C, McClain S, Burgdorf WH. Trichoblastoma and basal cell carcinoma are neoplasms with follicular differentiation sharing the same profile of cytokeratin intermediate filaments. *Am J Dermatopathol.* 1997 Aug;19(4):341-50. doi: 10.1097/00000372-199708000-00005. PMID: 9261468.
 53. Sellheyer K, Krahl D. Basal cell (trichoblastic) carcinoma common expression pattern for epithelial cell adhesion molecule links basal cell carcinoma to early follicular embryogenesis, secondary hair germ, and outer root sheath of the vellus hair follicle: A clue to the adnexal nature of basal cell carcinoma? *J Am Acad Dermatol.* 2008 Jan;58(1):158-67. doi: 10.1016/j.jaad.2007.07.008. PMID: 18158927.
 54. Ackerman A, Reddy B, Vijaya B, Soyer H.P. Neoplasms with Follicular Differentiation (Ackerman's Histologic Diagnosis of Neoplastic Skin Diseases: A Method by Pattern Analysis) Revised Edition.
 55. Kaur P, Mulvaney M, Carlson JA. Basal cell carcinoma progression correlates with host immune response and stromal alterations: a histologic analysis. *Am J Dermatopathol.* 2006 Aug;28(4):293-307. doi: 10.1097/00000372-200608000-00002. PMID: 16871032.

56. Atwood SX, Sarin KY, Whitson RJ, Li JR, Kim G, Rezaee M, Ally MS, Kim J, Yao C, Chang AL, Oro AE, Tang JY. Smoothened variants explain the majority of drug resistance in basal cell carcinoma. *Cancer Cell*. 2015 Mar 9;27(3):342-53. doi: 10.1016/j.ccell.2015.02.002. PMID: 25759020; PMCID: PMC4357167.
57. Sharpe HJ, Pau G, Dijkgraaf GJ, Basset-Seguin N, Modrusan Z, Januario T, Tsui V, Durham AB, Dlugosz AA, Haverty PM, Bourgon R, Tang JY, Sarin KY, Dirix L, Fisher DC, Rudin CM, Sofen H, Migden MR, Yauch RL, de Sauvage FJ. Genomic analysis of smoothened inhibitor resistance in basal cell carcinoma. *Cancer Cell*. 2015 Mar 9;27(3):327-41. doi: 10.1016/j.ccell.2015.02.001. PMID: 25759019; PMCID: PMC5675004.
58. Pellegrini C, Maturo MG, Di Nardo L, Ciciarelli V, Gutiérrez García-Rodrigo C, Fagnoli MC. Understanding the Molecular Genetics of Basal Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2017 Nov 22;18(11):2485. doi: 10.3390/ijms18112485. PMID: 29165358; PMCID: PMC5713451.
59. Lacour JP. Carcinogenesis of basal cell carcinomas: genetics and molecular mechanisms. *Br J Dermatol*. 2002 Apr;146 Suppl 61:17-9. doi: 10.1046/j.1365-2133.146.s61.5.x. PMID: 11966727.
60. Garner KL, Rodney WM. Basal and squamous cell carcinoma. *Prim Care*. 2000 Jun;27(2):447-58. doi: 10.1016/s0095-4543(05)70206-2. PMID: 10815054
61. Derry WB, Putzke AP, Rothman JH. *Caenorhabditis elegans* p53: role in apoptosis, meiosis, and stress resistance. *Science*. 2001 Oct 19;294(5542):591-5. doi: 10.1126/science.1065486. Epub 2001 Sep 13. PMID: 11557844.
62. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*. 1992 Jul 2;358(6381):15-6. doi: 10.1038/358015a0. PMID: 1614522.
63. Tornaletti S, Pfeifer GP. Slow repair of pyrimidine dimers at p53 mutation hotspots in skin cancer. *Science*. 1994 Mar 11;263(5152):1436-8. doi: 10.1126/science.8128225. PMID: 8128225.
64. Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 1996 Apr;1(2):136-42. PMID: 9627707.

65. Popp S, Waltering S, Herbst C, Moll I, Boukamp P. UV-B-type mutations and chromosomal imbalances indicate common pathways for the development of Merkel and skin squamous cell carcinomas. *Int J Cancer*. 2002 May 20;99(3):352-60. doi: 10.1002/ijc.10321. PMID: 11992403.
66. R. Dummer, M.R. Pittelkow, K. Iwatsuki, A. Green, N.M. Elwan (Eds) *Skin Cancer – A World-Wide Perspective*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 2011, pp. 398-. ISBN: 978-3-642-05071-8.
67. Kogerman P, Krause D, Rahnama F, Kogerman L, Undén AB, Zaphiropoulos PG, Toftgård R. Alternative first exons of PTCH1 are differentially regulated in vivo and may confer different functions to the PTCH1 protein. *Oncogene*. 2002 Sep 5;21(39):6007-16. doi: 10.1038/sj.onc.1205865. PMID: 12203113.
68. Xie J, Murone M, Luoh SM, Ryan A, Gu Q, Zhang C, Bonifas JM, Lam CW, Hynes M, Goddard A, Rosenthal A, Epstein EH Jr, de Sauvage FJ. Activating Smoothed mutations in sporadic basal-cell carcinoma. *Nature*. 1998 Jan 1;391(6662):90-2. doi: 10.1038/34201. PMID: 9422511.
69. Yauch RL, Dijkgraaf GJ, Alicke B, Januario T, Ahn CP, Holcomb T, Pujara K, Stinson J, Callahan CA, Tang T, Bazan JF, Kan Z, Seshagiri S, Hann CL, Gould SE, Low JA, Rudin CM, de Sauvage FJ. Smoothed mutation confers resistance to a Hedgehog pathway inhibitor in medulloblastoma. *Science*. 2009 Oct 23;326(5952):572-4. doi: 10.1126/science.1179386. Epub 2009 Sep 2. PMID: 19726788; PMCID: PMC5310713.
70. Kwasniak LA, Garcia-Zuazaga J. Basal cell carcinoma: evidence-based medicine and review of treatment modalities. *Int J Dermatol*. 2011 Jun;50(6):645-58. doi: 10.1111/j.1365-4632.2010.04826.x. PMID: 21595656.
71. Green A, Whiteman D, Frost C, Battistutta D. Sun exposure, skin cancers and related skin conditions. *J Epidemiol*. 1999 Dec;9(6 Suppl):S7-13. doi: 10.2188/jea.9.6sup_7. PMID: 10709345.
72. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 55. Solar and ultraviolet radiation. Lyon,

France: IARC; 1992 Available from:

<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol55/mono55.pdf>.

73. Krickler A, Armstrong BK, English DR, Heenan PJ. Does intermittent sun exposure cause basal cell carcinoma? a case-control study in Western Australia. *Int J Cancer*. 1995 Feb 8;60(4):489-94. doi: 10.1002/ijc.2910600411. PMID: 7829262.
74. Zanetti R, Rosso S, Martinez C, Nieto A, Miranda A, Mercier M, Loria DI, Østerlind A, Greinert R, Navarro C, Fabbrocini G, Barbera C, Sancho-Garnier H, Gafà L, Chiarugi A, Mossotti R. Comparison of risk patterns in carcinoma and melanoma of the skin in men: a multi-centre case-case-control study. *Br J Cancer*. 2006 Mar 13;94(5):743-51. doi: 10.1038/sj.bjc.6602982. PMID: 16495934; PMCID: PMC2361214.
75. Armstrong BK, Krickler A. The epidemiology of UV induced skin cancer. *J Photochem Photobiol B*. 2001 Oct;63(1-3):8-18. doi: 10.1016/s1011-1344(01)00198-1. PMID: 11684447.
76. Gallagher RP, Hill GB, Bajdik CD, Fincham S, Coldman AJ, McLean DI, Threlfall WJ. Sunlight exposure, pigmentary factors, and risk of nonmelanocytic skin cancer. I. Basal cell carcinoma. *Arch Dermatol*. 1995 Feb;131(2):157-63. PMID: 7857111.
77. Leiter U, Garbe C. Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer--the role of sunlight. *Adv Exp Med Biol*. 2008;624:89-103. doi: 10.1007/978-0-387-77574-6_8. PMID: 18348450.
78. van Dam RM, Huang Z, Rimm EB, Weinstock MA, Spiegelman D, Colditz GA, Willett WC, Giovannucci E. Risk factors for basal cell carcinoma of the skin in men: results from the health professionals follow-up study. *Am J Epidemiol*. 1999 Sep 1;150(5):459-68. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010034. PMID: 10472945.
79. Lear JT, Tan BB, Smith AG, Bowers W, Jones PW, Heagerty AH, Strange RC, Fryer AA. Risk factors for basal cell carcinoma in the UK: case-control study in 806 patients. *J R Soc Med*. 1997 Jul;90(7):371-4. doi: 10.1177/014107689709000704. PMID: 9290417; PMCID: PMC1296380.

80. Marks R. Epidemiology of non-melanoma skin cancer and solar keratoses in Australia: a tale of self-immolation in Elysian fields. *Australas J Dermatol.* 1997 Jun;38 Suppl 1:S26-9. doi: 10.1111/j.1440-0960.1997.tb01004.x. PMID: 10994467.
81. Kaidbey KH, Agin PP, Sayre RM, Kligman AM. Photoprotection by melanin--a comparison of black and Caucasian skin. *J Am Acad Dermatol.* 1979 Sep;1(3):249-60. doi: 10.1016/s0190-9622(79)70018-1. PMID: 512075.
82. Yakubu A, Mabogunje OA. Skin cancer in Zaria, Nigeria. *Trop Doct.* 1995;25 Suppl 1:63-7. doi: 10.1177/00494755950250S120. PMID: 7879275.
83. Yakubu A, Mabogunje OA. Skin cancer in African albinos. *Acta Oncol.* 1993;32(6):621-2. doi: 10.3109/02841869309092440. PMID: 8260178.
84. Karagas MR, Stannard VA, Mott LA, Slattery MJ, Spencer SK, Weinstock MA. Use of tanning devices and risk of basal cell and squamous cell skin cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2002 Feb 6;94(3):224-6. doi: 10.1093/jnci/94.3.224. PMID: 11830612.
85. Coelho SG, Hearing VJ. UVA tanning is involved in the increased incidence of skin cancers in fair-skinned young women. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2010 Feb;23(1):57-63. doi: 10.1111/j.1755-148X.2009.00656.x. Epub 2009 Dec 2. PMID: 19968819; PMCID: PMC2810005.
86. Adalsteinsson JA, Ratner D, Olafsdóttir E, Grant-Kels J, Ungar J, Silverberg JJ, Kristjansson AK, Jonasson JG, Tryggvadóttir L. Basal cell carcinoma: an emerging epidemic in women in Iceland. *Br J Dermatol.* 2020 Nov;183(5):847-856. doi: 10.1111/bjd.18937. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32030719
87. Héry C, Tryggvadóttir L, Sigurdsson T, Olafsdóttir E, Sigurgeirsson B, Jonasson JG, Olafsson JH, Boniol M, Byrnes GB, Doré JF, Autier P. A melanoma epidemic in Iceland: possible influence of sunbed use. *Am J Epidemiol.* 2010 Oct 1;172(7):762-7. doi: 10.1093/aje/kwq238. Epub 2010 Sep 2. PMID: 20813801.
88. Bradford PT, Anderson WF, Purdue MP, Goldstein AM, Tucker MA. Rising melanoma incidence rates of the trunk among younger women in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010 Sep;19(9):2401-6. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0503. PMID: 20826837; PMCID: PMC2939095.

89. Fears TR, Sagebiel RW, Halpern A, Elder DE, Holly EA, Guerry D 4th, Tucker MA. Sunbeds and sunlamps: who used them and their risk for melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011 Jun;24(3):574-81. doi: 10.1111/j.1755-148X.2011.00842.x. Epub 2011 Mar 29. PMID: 21362155; PMCID: PMC3107003.
90. Ferrucci LM, Cartmel B, Molinaro AM, Leffell DJ, Bale AE, Mayne ST. Indoor tanning and risk of early-onset basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol.* 2012 Oct;67(4):552-62. doi: 10.1016/j.jaad.2011.11.940. Epub 2011 Dec 9. PMID: 22153793; PMCID: PMC3307842.
91. O'Sullivan NA, Tait CP. Tanning bed and nail lamp use and the risk of cutaneous malignancy: a review of the literature. *Australas J Dermatol.* 2014 May;55(2):99-106. doi: 10.1111/ajd.12145. Epub 2014 Mar 5. PMID: 24592921.
92. Karagas MR, McDonald JA, Greenberg ER, Stukel TA, Weiss JE, Baron JA, Stevens MM. Risk of basal cell and squamous cell skin cancers after ionizing radiation therapy. For The Skin Cancer Prevention Study Group. *J Natl Cancer Inst.* 1996 Dec 18;88(24):1848-53. doi: 10.1093/jnci/88.24.1848. PMID: 8961975.
93. Kishikawa M, Koyama K, Iseki M, Kobuke T, Yonehara S, Soda M, Ron E, Tokunaga M, Preston DL, Mabuchi K, Tokuoka S. Histologic characteristics of skin cancer in Hiroshima and Nagasaki: background incidence and radiation effects. *Int J Cancer.* 2005 Nov 10;117(3):363-9. doi: 10.1002/ijc.21156. PMID: 15900592.
94. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2004. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 84.) Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402251/>.
95. Guo HR, Yu HS, Hu H, Monson RR. Arsenic in drinking water and skin cancers: cell-type specificity (Taiwan, ROC). *Cancer Causes Control.* 2001 Dec;12(10):909-16. doi: 10.1023/a:1013712203455. PMID: 11808710.
96. Katz KA, Marcil I, Stern RS. Incidence and risk factors associated with a second squamous cell carcinoma or basal cell carcinoma in psoralen + ultraviolet a light-

- treated psoriasis patients. *J Invest Dermatol.* 2002 Jun;118(6):1038-43. doi: 10.1046/j.1523-1747.2002.01769.x. PMID: 12060400.
97. Nijsten TE, Stern RS. The increased risk of skin cancer is persistent after discontinuation of psoralen+ultraviolet A: a cohort study. *J Invest Dermatol.* 2003 Aug;121(2):252-8. doi: 10.1046/j.1523-1747.2003.12350.x. PMID: 12880415.
 98. Lee E, Koo J, Berger T. UVB phototherapy and skin cancer risk: a review of the literature. *Int J Dermatol.* 2005 May;44(5):355-60. doi: 10.1111/j.1365-4632.2004.02186.x. PMID: 15869531.
 99. Lim JL, Stern RS. High levels of ultraviolet B exposure increase the risk of non-melanoma skin cancer in psoralen and ultraviolet A-treated patients. *J Invest Dermatol.* 2005 Mar;124(3):505-13. doi: 10.1111/j.0022-202X.2005.23618.x. PMID: 15737190.
 100. Jensen P, Hansen S, Møller B, Leivestad T, Pfeffer P, Geiran O, Fauchald P, Simonsen S. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *J Am Acad Dermatol.* 1999 Feb;40(2 Pt 1):177-86. doi: 10.1016/s0190-9622(99)70185-4. PMID: 10025742.
 101. Hartevelt MM, Bavinck JN, Kootte AM, Vermeer BJ, Vandenbroucke JP. Incidence of skin cancer after renal transplantation in The Netherlands. *Transplantation.* 1990 Mar;49(3):506-9. doi: 10.1097/00007890-199003000-00006. PMID: 2316011.
 102. Hardie IR, Strong RW, Hartley LC, Woodruff PW, Clunie GJ. Skin cancer in Caucasian renal allograft recipients living in a subtropical climate. *Surgery.* 1980 Feb;87(2):177-83. PMID: 6986671.
 103. WHO Classification of Skin Tumours WHO Classification of Tumours, 4th Edition, Volume 11 Edited by Elder DE, Massi D, Scolyer RA, Willemze R
 104. Cameron MC, Lee E, Hibler BP, Barker CA, Mori S, Cordova M, Nehal KS, Rossi AM. Basal cell carcinoma: Epidemiology; pathophysiology; clinical and histological subtypes; and disease associations. *J Am Acad Dermatol.* 2019 Feb;80(2):303-317. doi: 10.1016/j.jaad.2018.03.060. Epub 2018 May 18. PMID: 29782900.

105. Betti R, Inselvini E, Carducci M, Crosti C. Age and site prevalence of histologic subtypes of basal cell carcinomas. *Int J Dermatol*. 1995 Mar;34(3):174-6. doi: 10.1111/j.1365-4362.1995.tb01561.x. PMID: 7751091.
106. Scrivener Y, Grosshans E, Cribier B. Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtype. *Br J Dermatol*. 2002 Jul;147(1):41-7. doi: 10.1046/j.1365-2133.2002.04804.x. PMID: 12100183.
107. Sexton M, Jones DB, Maloney ME. Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. Study of a series of 1039 consecutive neoplasms. *J Am Acad Dermatol*. 1990 Dec;23(6 Pt 1):1118-26. doi: 10.1016/0190-9622(90)70344-h. PMID: 2273112.
108. Leibovitch I, Huilgol SC, Selva D, Richards S, Paver R. Basosquamous carcinoma: treatment with Mohs micrographic surgery. *Cancer*. 2005 Jul 1;104(1):170-5. doi: 10.1002/cncr.21143. PMID: 15929123.
109. Maloney ML. What is basosquamous carcinoma? *Dermatol Surg*. 2000 May;26(5):505-6. doi: 10.1046/j.1524-4725.2000.00057.x. PMID: 10816246.
110. Jones MS, Helm KF, Maloney ME. The immunohistochemical characteristics of the basosquamous cell carcinoma. *Dermatol Surg*. 1997 Mar;23(3):181-4. doi: 10.1111/j.1524-4725.1997.tb00017.x. PMID: 9145960.
111. Costantino D, Lowe L, Brown DL. Basosquamous carcinoma-an under-recognized, high-risk cutaneous neoplasm: case study and review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2006;59(4):424-8. doi: 10.1016/j.bjps.2005.06.007. PMID: 16756261.
112. Bichakjian CK, Olencki T, Aasi SZ, Alam M, Andersen JS, Berg D, Bowen GM, Cheney RT, Daniels GA, Glass LF, Grekin RC, Grossman K, Higgins SA, Ho AL, Lewis KD, Lydiatt DD, Nehal KS, Nghiem P, Olsen EA, Schmults CD, Sekulic A, Shaha AR, Thorstad WL, Tuli M, Urist MM, Wang TS, Wong SL, Zic JA, Hoffmann KG, Engh A. Basal Cell Skin Cancer, Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2016 May;14(5):574-97. doi: 10.6004/jnccn.2016.0065. PMID: 27160235.

113. Lin C, Tripcony L, Keller J, Poulsen M, Martin J, Jackson J, Dickie G. Perineural infiltration of cutaneous squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma without clinical features. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012 Jan 1;82(1):334-40. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.09.040. Epub 2010 Nov 17. PMID: 21093171.
114. Hassanein AM, Proper SA, Depcik-Smith ND, Flowers FP. Peritumoral fibrosis in basal cell and squamous cell carcinoma mimicking perineural invasion: potential pitfall in Mohs micrographic surgery. *Dermatol Surg.* 2005 Sep;31(9 Pt 1):1101-6. doi: 10.1097/00042728-200509000-00003. PMID: 16164857.
115. Jackson JE, Dickie GJ, Wiltshire KL, Keller J, Tripcony L, Poulsen MG, Hughes M, Allison RW, Martin JM. Radiotherapy for perineural invasion in cutaneous head and neck carcinomas: toward a risk-adapted treatment approach. *Head Neck.* 2009 May;31(5):604-10. doi: 10.1002/hed.20991. PMID: 19132719.
116. Garcia-Serra A, Hinerman RW, Mendenhall WM, Amdur RJ, Morris CG, Williams LS, Mancuso AA. Carcinoma of the skin with perineural invasion. *Head Neck.* 2003 Dec;25(12):1027-33. doi: 10.1002/hed.10334. PMID: 14648861.
117. Lin C, Tripcony L, Keller J, Poulsen M, Dickie G. Cutaneous carcinoma of the head and neck with clinical features of perineural infiltration treated with radiotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2013 Jun;25(6):362-7. doi: 10.1016/j.clon.2013.02.001. Epub 2013 Mar 13. PMID: 23489870.
118. Leibovitch I, Huilgol SC, Selva D, Richards S, Paver R. Basal cell carcinoma treated with Mohs surgery in Australia III. Perineural invasion. *J Am Acad Dermatol.* 2005 Sep;53(3):458-63. doi: 10.1016/j.jaad.2005.04.089. PMID: 16112353.
119. McCord MW, Mendenhall WM, Parsons JT, Amdur RJ, Stringer SP, Cassisi NJ, Million RR. Skin cancer of the head and neck with clinical perineural invasion. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000 Apr 1;47(1):89-93. doi: 10.1016/s0360-3016(99)00533-7. PMID: 10758309.
120. Sloane JP. The value of typing basal cell carcinomas in predicting recurrence after surgical excision. *Br J Dermatol.* 1977 Feb;96(2):127-32. doi: 10.1111/j.1365-2133.1977.tb12533.x. PMID: 843446.

121. Litzow TJ, Perry HO, Soderstrom CW. Morpheaform basal cell carcinoma. *Am J Surg.* 1968 Oct;116(4):499-505. doi: 10.1016/0002-9610(68)90382-6. PMID: 5676900.
122. Walsh N, Ackerman AB. Infundibulocystic basal cell carcinoma: a newly described variant. *Mod Pathol.* 1990 Sep;3(5):599-608. PMID: 2235986.
123. Prieto-Granada C, Rodriguez-Waitkus P. Basal cell carcinoma: Epidemiology, clinical and histologic features, and basic science overview. *Curr Probl Cancer.* 2015 Jul-Aug;39(4):198-205. doi: 10.1016/j.crrproblcancer.2015.07.004. Epub 2015 Jul 8. PMID: 26239203.
124. Bowen AR, LeBoit PE. Fibroepithelioma of pinkus is a fenestrated trichoblastoma. *Am J Dermatopathol.* 2005 Apr;27(2):149-54. doi: 10.1097/01.dad.0000138051.71415.fe. PMID: 15798442.
125. Nomland R. Multiple basal cell epitheliomas originating from congenital pigmented basal cell nevi. *Arch Dermatol* 1932;25:1002–8.
126. Panhuysen CI, Karban A, Knodle Manning A, Bayless TM, Duerr RH, Bailey-Wilson JE, Epstein EH Jr, Brant SR. Identification of genetic loci for basal cell nevus syndrome and inflammatory bowel disease in a single large pedigree. *Hum Genet.* 2006 Aug;120(1):31-41. doi: 10.1007/s00439-006-0163-8. Epub 2006 May 30. PMID: 16733713.
127. Pruvost-Balland C, Gorry P, Boutet N, Magnaldo T, Mamelle G, Margulis A, Kolb F, Duvillard P, Spatz A, Brugières L, Chompret A, Avril MF. Etude clinique et recherche de mutations germinales du gène PTCH 1 dans le syndrome des hamartomes basocellulaires [Clinical and genetic study in 22 patients with basal cell nevus syndrome]. *Ann Dermatol Venereol.* 2006 Feb;133(2):117-23. French. doi: 10.1016/s0151-9638(06)70861-4. PMID: 16508594.
128. Southwick GJ, Schwartz RA. The basal cell nevus syndrome: disasters occurring among a series of 36 patients. *Cancer.* 1979 Dec;44(6):2294-305. doi: 10.1002/1097-0142(197912)44:6<2294::aid-cnrcr2820440644>3.0.co;2-g. PMID: 509397.

129. Mortimer PS, Geaney DP, Liddell K, Dawber RP. Basal cell naevus syndrome and intracranial meningioma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1984 Feb;47(2):210-2. doi: 10.1136/jnnp.47.2.210. PMID: 6707662; PMCID: PMC1027696.
130. Murphy MJ, Tenser RB. Nevoid basal cell carcinoma syndrome and epilepsy. *Ann Neurol*. 1982 Apr;11(4):372-6. doi: 10.1002/ana.410110409. PMID: 7103417.
131. Jackson R, Gardere S. Nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Can Med Assoc J*. 1971 Oct 23;105(8):850 passim. PMID: 5162411; PMCID: PMC1931229.
132. Bhattacharjee P, Leffell D, McNiff JM. Primary cutaneous carcinosarcoma arising in a patient with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Cutan Pathol*. 2005 Oct;32(9):638-41. doi: 10.1111/j.0303-6987.2005.00384.x. PMID: 16176303.
133. Watson J, Depasquale K, Ghaderi M, Zwillenberg S. Nevoid basal cell carcinoma syndrome and fetal rhabdomyoma: a case study. *Ear Nose Throat J*. 2004 Oct;83(10):716-8. PMID: 15586876.
134. Seracchioli R, Colombo FM, Bagnoli A, Trengia V, Venturoli S. Primary ovarian leiomyosarcoma as a new component in the nevoid basal cell carcinoma syndrome: a case report. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Apr;188(4):1093-5. doi: 10.1067/mob.2003.86. PMID: 12712116.
135. Skin Cancer Recognition and Management Authors: Schwartz, Robert A, Chapter 7. Basal cell carcinoma page 94
136. Trakatelli M, Morton C, Nagore E, Ulrich C, Del Marmol V, Peris K, Basset-Seguín N; BCC subcommittee of the Guidelines Committee of the European Dermatology Forum. Update of the European guidelines for basal cell carcinoma management. *Eur J Dermatol*. 2014 May-Jun;24(3):312-29. doi: 10.1684/ejd.2014.2271. PMID: 24723647.
137. Guitera P, Menzies SW, Longo C, Cesinaro AM, Scolyer RA, Pellacani G. In vivo confocal microscopy for diagnosis of melanoma and basal cell carcinoma using a two-step method: analysis of 710 consecutive clinically equivocal cases. *J Invest Dermatol*. 2012 Oct;132(10):2386-2394. doi: 10.1038/jid.2012.172. Epub 2012 Jun 21. PMID: 22718115.

138. Seidenari S, Arginelli F, Bassoli S, Cautela J, Cesinaro AM, Guanti M, Guardoli D, Magnoni C, Manfredini M, Ponti G, König K. Diagnosis of BCC by multiphoton laser tomography. *Skin Res Technol*. 2013 Feb;19(1):e297-304. doi: 10.1111/j.1600-0846.2012.00643.x. Epub 2012 Jul 8. PMID: 22776020.
139. Mogensen M, Joergensen TM, Nürnberg BM, Morsy HA, Thomsen JB, Thrane L, Jemec GB. Assessment of optical coherence tomography imaging in the diagnosis of non-melanoma skin cancer and benign lesions versus normal skin: observer-blinded evaluation by dermatologists and pathologists. *Dermatol Surg*. 2009 Jun;35(6):965-72. doi: 10.1111/j.1524-4725.2009.01164.x. Epub 2009 Apr 8. PMID: 19397661.
140. Dandurand M, Petit T, Martel P, Guillot B; ANAES. Management of basal cell carcinoma in adults Clinical practice guidelines. *Eur J Dermatol*. 2006 Jul-Aug;16(4):394-401. PMID: 16935797.
141. Basal Cell Skin Cancer, Version 2. February 25,2021,NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology
142. Peris K, Fargnoli MC, Garbe C, Kaufmann R, Bastholt L, Seguin NB, Bataille V, Marmol VD, Dummer R, Harwood CA, Hauschild A, Höller C, Haedersdal M, Malvey J, Middleton MR, Morton CA, Nagore E, Stratigos AJ, Szeimies RM, Tagliaferri L, Trakatelli M, Zalaudek I, Eggermont A, Grob JJ; European Dermatology Forum (EDF), the European Association of Dermato-Oncology (EADO) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Diagnosis and treatment of basal cell carcinoma: European consensus-based interdisciplinary guidelines. *Eur J Cancer*. 2019 Sep;118:10-34. doi: 10.1016/j.ejca.2019.06.003. Epub 2019 Jul 6. PMID: 31288208.
143. Newlands C, Currie R, Memon A, Whitaker S, Woolford T. Non-melanoma skin cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *J Laryngol Otol*. 2016 May;130(S2):S125-S132. doi: 10.1017/S0022215116000554. PMID: 27841126; PMCID: PMC4873942.
144. Nahhas AF, Scarbrough CA, Trotter S. A Review of the Global Guidelines on Surgical Margins for Nonmelanoma Skin Cancers. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2017 Apr;10(4):37-46. PMID: 28458773; PMCID: PMC5404779.

145. Wolf DJ, Zitelli JA. Surgical margins for basal cell carcinoma. *Arch Dermatol*. 1987 Mar;123(3):340-4. PMID: 3813602.
146. Kuijpers DI, Thissen MR, Neumann MH. Basal cell carcinoma: treatment options and prognosis, a scientific approach to a common malignancy. *Am J Clin Dermatol*. 2002;3(4):247-59. doi: 10.2165/00128071-200203040-00003. PMID: 12010070.
147. Berlin J, Katz KH, Helm KF, Maloney ME. The significance of tumor persistence after incomplete excision of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2002 Apr;46(4):549-53. doi: 10.1067/mjd.2002.117733. PMID: 11907506.
148. Farhi D, Dupin N, Palangié A, Carlotti A, Avril MF. Incomplete excision of basal cell carcinoma: rate and associated factors among 362 consecutive cases. *Dermatol Surg*. 2007 Oct;33(10):1207-14. doi: 10.1111/j.1524-4725.2007.33255.x. PMID: 17903153.
149. Masud D, Moustaki M, Staruch R, Dheansa B. Basal cell carcinomata: Risk factors for incomplete excision and results of re-excision. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2016 May;69(5):652-6. doi: 10.1016/j.bjps.2015.12.024. Epub 2016 Jan 7. PMID: 26948998.
150. Rowe DE, Carroll RJ, Day CL Jr. Long-term recurrence rates in previously untreated (primary) basal cell carcinoma: implications for patient follow-up. *J Dermatol Surg Oncol*. 1989 Mar;15(3):315-28. doi: 10.1111/j.1524-4725.1989.tb03166.x. PMID: 2646336.
151. Rowe DE, Carroll RJ, Day CL Jr. Mohs surgery is the treatment of choice for recurrent (previously treated) basal cell carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol*. 1989 Apr;15(4):424-31. doi: 10.1111/j.1524-4725.1989.tb03249.x. PMID: 2925988.
152. Geisse J, Caro I, Lindholm J, Golitz L, Stampone P, Owens M. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from two phase III, randomized, vehicle-controlled studies. *J Am Acad Dermatol*. 2004 May;50(5):722-33. doi: 10.1016/j.jaad.2003.11.066. PMID: 15097956.
153. Schulze HJ, Cribier B, Requena L, Reifemberger J, Ferrándiz C, Garcia Diez A, Tebbs V, McRae S. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from a randomized vehicle-controlled phase III study in Europe.

- Br J Dermatol. 2005 May;152(5):939-47. doi: 10.1111/j.1365-2133.2005.06486.x. PMID: 15888150.
154. Micali G, Lacarrubba F, Nasca MR, Ferraro S, Schwartz RA. Topical pharmacotherapy for skin cancer: part II. Clinical applications. J Am Acad Dermatol. 2014 Jun;70(6):979.e1-12; quiz 9912. doi: 10.1016/j.jaad.2013.12.037. PMID: 24831325.
 155. Roozeboom MH, Arits AH, Nelemans PJ, Kelleners-Smeets NW. Overall treatment success after treatment of primary superficial basal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized trials. Br J Dermatol. 2012 Oct;167(4):733-56. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.11061.x. Epub 2012 Sep 7. PMID: 22612571.
 156. Bath-Hextall F, Ozolins M, Armstrong SJ, Colver GB, Perkins W, Miller PS, Williams HC; Surgery versus Imiquimod for Nodular Superficial basal cell carcinoma (SINS) study group. Surgical excision versus imiquimod 5% cream for nodular and superficial basal-cell carcinoma (SINS): a multicentre, non-inferiority, randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2014 Jan;15(1):96-105. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70530-8. Epub 2013 Dec 11. PMID: 24332516.
 157. Micali G, De Pasquale R, Caltabiano R, Impallomeni R, Lacarrubba F. Topical imiquimod treatment of superficial and nodular basal cell carcinomas in patients affected by basal cell nevus syndrome: a preliminary report. J Dermatolog Treat. 2002 Sep;13(3):123-7. doi: 10.1080/09546630260199488. PMID: 12227875.
 158. Micali G, Lacarrubba F, Nasca MR, De Pasquale R. The use of imiquimod 5% cream for the treatment of basal cell carcinoma as observed in Gorlin's syndrome. Clin Exp Dermatol. 2003 Nov;28 Suppl 1:19-23. doi: 10.1046/j.1365-2230.28.s1.7.x. PMID: 14616807.
 159. Jeremic G, Brandt MG, Jordan K, Doyle PC, Yu E, Moore CC. Using photodynamic therapy as a neoadjuvant treatment in the surgical excision of nonmelanotic skin cancers: prospective study. J Otolaryngol Head Neck Surg. 2011 Feb;40 Suppl 1:S82-9. PMID: 21453666.

160. Torres T, Fernandes I, Costa V, Selores M. Photodynamic therapy as adjunctive therapy for morpheaform basal cell carcinoma. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2011;20(1):23-5. PMID: 21879201.
161. Lu YG, Wang YY, Yang YD, Zhang XC, Gao Y, Yang Y, Zhang JB, Li GL. Efficacy of topical ALA-PDT combined with excision in the treatment of skin malignant tumor. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2014 Jun;11(2):122-6. doi: 10.1016/j.pdpdt.2014.02.006. Epub 2014 Feb 23. PMID: 24568889.
162. Drucker AM, Adam GP, Rofeberg V, Gazula A, Smith B, Moustafa F, Weinstock MA, Trikalinos TA. Treatments of Primary Basal Cell Carcinoma of the Skin: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2018 Oct 2;169(7):456-466. doi: 10.7326/M18-0678. Epub 2018 Sep 18. PMID: 30242379.
163. Guinot JL, Rembielak A, Perez-Calatayud J, Rodríguez-Villalba S, Skowronek J, Tagliaferri L, Guix B, Gonzalez-Perez V, Valentini V, Kovacs G; GEC ESTRO. GEC-ESTRO ACROP recommendations in skin brachytherapy. *Radiother Oncol.* 2018 Mar;126(3):377-385. doi: 10.1016/j.radonc.2018.01.013. Epub 2018 Feb 16. PMID: 29455924.
164. Frakulli R, Galuppi A, Cammelli S, Macchia G, Cima S, Gambacorta MA, Cafaro I, Tagliaferri L, Perrucci E, Buwenge M, Frezza G, Valentini V, Morganti AG. Brachytherapy in non melanoma skin cancer of eyelid: a systematic review. *J Contemp Brachytherapy.* 2015 Dec;7(6):497-502. doi: 10.5114/jcb.2015.56465. Epub 2015 Dec 16. PMID: 26816508; PMCID: PMC4716127.
165. Bussu F, Tagliaferri L, Mattiucci G, Parrilla C, Dinapoli N, Micciché F, Artuso A, Galli J, Almadori G, Valentini V, Paludetti G. Comparison of interstitial brachytherapy and surgery as primary treatments for nasal vestibule carcinomas. *Laryngoscope.* 2016 Feb;126(2):367-71. doi: 10.1002/lary.25498. Epub 2015 Sep 15. PMID: 26372494.
166. McCusker M, Basset-Seguin N, Dummer R, Lewis K, Schadendorf D, Sekulic A, Hou J, Wang L, Yue H, Hauschild A. Metastatic basal cell carcinoma: prognosis dependent on anatomic site and spread of disease. *Eur J Cancer.* 2014 Mar;50(4):774-83. doi: 10.1016/j.ejca.2013.12.013. Epub 2014 Jan 9. PMID: 24412051.

167. Xie P, Lefrançois P. Efficacy, safety, and comparison of sonic hedgehog inhibitors in basal cell carcinomas: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol.* 2018 Dec;79(6):1089-1100.e17. doi: 10.1016/j.jaad.2018.07.004. Epub 2018 Jul 10. PMID: 30003981.
168. Τσιρώνη Θ, Γαϊτάνης Γ, Μπασούκας ΙΔ. Ανοσοκρυσχειρουργική: Σύντομη ανασκόπηση και πρακτικός οδηγός εφαρμογής ΕΕΔΑ Απρίλιος-Ιούνιος 2020 Τόμος 31, Τεύχος 2
169. Stockfleth E, Trefzer U, Garcia-Bartels C, Wegner T, Schmook T, Sterry W. The use of Toll-like receptor-7 agonist in the treatment of basal cell carcinoma: an overview. *Br J Dermatol.* 2003 Nov;149 Suppl 66:53-6. doi: 10.1046/j.0366-077x.2003.05626.x. PMID: 14616352.
170. Miller RL, Gerster JF, Owens ML, Slade HB, Tomai MA. Imiquimod applied topically: a novel immune response modifier and new class of drug. *Int J Immunopharmacol.* 1999 Jan;21(1):1-14. doi: 10.1016/s0192-0561(98)00068-x. PMID: 10411278.
171. Bilu D, Sauder DN. Imiquimod: modes of action. *Br J Dermatol.* 2003 Nov;149 Suppl 66:5-8. doi: 10.1046/j.0366-077x.2003.05628.x. Erratum in: *Br J Dermatol.* 2006 Jun;154(6):1220. Bilu, Donna [added]. PMID: 14616337.
172. Rudy SJ. Imiquimod (Aldara): modifying the immune response. *Dermatol Nurs.* 2002 Aug;14(4):268-70. PMID: 12240505.
173. Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O, Sato S, Sanjo H, Hoshino K, Horiuchi T, Tomizawa H, Takeda K, Akira S. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat Immunol.* 2002 Feb;3(2):196-200. doi: 10.1038/ni758. Epub 2002 Jan 22. PMID: 11812998.
174. Sauder DN. Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. *J Am Acad Dermatol.* 2000 Jul;43(1 Pt 2):S6-11. doi: 10.1067/mjd.2000.107808. PMID: 10861101.
175. Sieling PA, Modlin RL. Toll-like receptors: mammalian "taste receptors" for a smorgasbord of microbial invaders. *Curr Opin Microbiol.* 2002 Feb;5(1):70-5. doi: 10.1016/s1369-5274(02)00288-6. PMID: 11834372.

176. Beg AA. Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses. *Trends Immunol.* 2002 Nov;23(11):509-12. doi: 10.1016/s1471-4906(02)02317-7. PMID: 12401394.
177. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature.* 1998 Mar 19;392(6673):245-52. doi: 10.1038/32588. PMID: 9521319.
178. Perry CM, Lamb HM. Topical imiquimod: a review of its use in genital warts. *Drugs.* 1999 Aug;58(2):375-90. doi: 10.2165/00003495-199958020-00017. PMID: 10473026.
179. Miller RL, Tomai MA, Harrison CJ, Bernstein DI. Immunomodulation as a treatment strategy for genital herpes: review of the evidence. *Int Immunopharmacol.* 2002 Mar;2(4):443-51. doi: 10.1016/s1567-5769(01)00184-9. PMID: 11962724.
180. Burns RP Jr, Ferbel B, Tomai M, Miller R, Gaspari AA. The imidazoquinolines, imiquimod and R-848, induce functional, but not phenotypic, maturation of human epidermal Langerhans' cells. *Clin Immunol.* 2000 Jan;94(1):13-23. doi: 10.1006/clim.1999.4804. PMID: 10607486.
181. Suzuki H, Wang B, Shivji GM, Toto P, Amerio P, Tomai MA, Miller RL, Sauder DN. Imiquimod, a topical immune response modifier, induces migration of Langerhans cells. *J Invest Dermatol.* 2000 Jan;114(1):135-41. doi: 10.1046/j.1523-1747.2000.00833.x. PMID: 10620129.
182. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature.* 2000 Oct 12;407(6805):789-95. doi: 10.1038/35037728. PMID: 11048730.
183. Filipowicz E, Adegboyega P, Sanchez RL, Gatalica Z. Expression of CD95 (Fas) in sun-exposed human skin and cutaneous carcinomas. *Cancer.* 2002 Feb 1;94(3):814-9. doi: 10.1002/cncr.10277. PMID: 11857317.
184. Gutierrez-Steil C, Wrone-Smith T, Sun X, Krueger JG, Coven T, Nickoloff BJ. Sunlight-induced basal cell carcinoma tumor cells and ultraviolet-B-irradiated psoriatic plaques express Fas ligand (CD95L). *J Clin Invest.* 1998 Jan 1;101(1):33-9. doi: 10.1172/JCI1165. PMID: 9421463; PMCID: PMC508537.
185. Berman B, Sullivan T, De Araujo T, Nadji M. Expression of Fas-receptor on basal cell carcinomas after treatment with imiquimod 5% cream or vehicle. *Br J Dermatol.*

- 2003 Nov;149 Suppl 66:59-61. doi: 10.1046/j.0366-077x.2003.05634.x. PMID: 14616354.
186. Testerman TL, Gerster JF, Imbertson LM, Reiter MJ, Miller RL, Gibson SJ, Wagner TL, Tomai MA. Cytokine induction by the immunomodulators imiquimod and S-27609. *J Leukoc Biol.* 1995 Sep;58(3):365-72. doi: 10.1002/jlb.58.3.365. PMID: 7665993.
 187. Slade HB, Owens ML, Tomai MA, Miller RL. Imiquimod 5% cream (Aldara). *Expert Opin Investig Drugs.* 1998 Mar;7(3):437-49. doi: 10.1517/13543784.7.3.437. PMID: 15991984.
 188. Imbertson LM, Beaurline JM, Couture AM, Gibson SJ, Smith RM, Miller RL, Reiter MJ, Wagner TL, Tomai MA. Cytokine induction in hairless mouse and rat skin after topical application of the immune response modifiers imiquimod and S-28463. *J Invest Dermatol.* 1998 May;110(5):734-9. doi: 10.1046/j.1523-1747.1998.00174.x. PMID: 9579537.
 189. Dahl MV. Imiquimod: an immune response modifier. *J Am Acad Dermatol.* 2000 Jul;43(1 Pt 2):S1-5. doi: 10.1067/mjd.2000.107809. PMID: 10861100.
 190. Marks R, Gebauer K, Shumack S, Amies M, Bryden J, Fox TL, Owens ML; Australasian Multicentre Trial Group. Imiquimod 5% cream in the treatment of superficial basal cell carcinoma: results of a multicenter 6-week dose-response trial. *J Am Acad Dermatol.* 2001 May;44(5):807-13. doi: 10.1067/mjd.2001.113689. PMID: 11312429.
 191. Geisse JK, Rich P, Pandya A, Gross K, Andres K, Ginkel A, Owens M. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: a double-blind, randomized, vehicle-controlled study. *J Am Acad Dermatol.* 2002 Sep;47(3):390-8. doi: 10.1067/mjd.2002.126215. PMID: 12196749.
 192. Buechner SA, Wernli M, Harr T, Hahn S, Itin P, Erb P. Regression of basal cell carcinoma by intralesional interferon-alpha treatment is mediated by CD95 (Apo-1/Fas)-CD95 ligand-induced suicide. *J Clin Invest.* 1997 Dec 1;100(11):2691-6. doi: 10.1172/JCI119814. PMID: 9389732; PMCID: PMC508472.

193. Dummer R, Urosevic M, Kempf W, Hoek K, Hafner J, Burg G. Imiquimod in basal cell carcinoma: how does it work? *Br J Dermatol*. 2003 Nov;149 Suppl 66:57-8. doi: 10.1046/j.0366-077x.2003.05630.x. PMID: 14616353.
194. Stanley MA. Mechanism of action of imiquimod. *Papillomavirus Rep* 1999; 2: 23–9.
195. Wagner TL, Ahonen CL, Couture AM, Gibson SJ, Miller RL, Smith RM, Reiter MJ, Vasilakos JP, Tomai MA. Modulation of TH1 and TH2 cytokine production with the immune response modifiers, R-848 and imiquimod. *Cell Immunol*. 1999 Jan 10;191(1):10-9. doi: 10.1006/cimm.1998.1406. PMID: 9918682.
196. Sanchez Rodriguez R, Pauli ML, Neuhaus IM, Yu SS, Arron ST, Harris HW, Yang SH, Anthony BA, Sverdrup FM, Krow-Lucal E, MacKenzie TC, Johnson DS, Meyer EH, Löhr A, Hsu A, Koo J, Liao W, Gupta R, Debbaneh MG, Butler D, Huynh M, Levin EC, Leon A, Hoffman WY, McGrath MH, Alvarado MD, Ludwig CH, Truong HA, Maurano MM, Gratz IK, Abbas AK, Rosenblum MD. Memory regulatory T cells reside in human skin. *J Clin Invest*. 2014 Mar;124(3):1027-36. doi: 10.1172/JCI72932. Epub 2014 Feb 10. PMID: 24509084; PMCID: PMC3934172.
197. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer*. 2012 Mar 15;12(4):298-306. doi: 10.1038/nrc3245. PMID: 22419253.
198. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen L, Zou W. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*. 2004 Sep;10(9):942-9. doi: 10.1038/nm1093. Epub 2004 Aug 22. PMID: 15322536.
199. Conroy H, Marshall NA, Mills KH. TLR ligand suppression or enhancement of Treg cells? A double-edged sword in immunity to tumours. *Oncogene*. 2008 Jan 7;27(2):168-80. doi: 10.1038/sj.onc.1210910. PMID: 18176598.
200. den Brok MH, Suttmuller RP, van der Voort R, Bennink EJ, Figdor CG, Ruers TJ, Adema GJ. In situ tumor ablation creates an antigen source for the generation of

- antitumor immunity. *Cancer Res.* 2004 Jun 1;64(11):4024-9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3949. PMID: 15173017.
201. Sabel MS. Cryo-immunology: a review of the literature and proposed mechanisms for stimulatory versus suppressive immune responses. *Cryobiology.* 2009 Feb;58(1):1-11. doi: 10.1016/j.cryobiol.2008.10.126. Epub 2008 Oct 17. PMID: 19007768.
 202. den Brok MH, Suttmuller RP, Nierkens S, Bennink EJ, Toonen LW, Figdor CG, Ruers TJ, Adema GJ. Synergy between in situ cryoablation and TLR9 stimulation results in a highly effective in vivo dendritic cell vaccine. *Cancer Res.* 2006 Jul 15;66(14):7285-92. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0206. PMID: 16849578.
 203. Redondo P, del Olmo J, López-Díaz de Cerio A, Inoges S, Marquina M, Melero I, Bendandi M. Imiquimod enhances the systemic immunity attained by local cryosurgery destruction of melanoma lesions. *J Invest Dermatol.* 2007 Jul;127(7):1673-80. doi: 10.1038/sj.jid.5700777. Epub 2007 Mar 22. PMID: 17380112.
 204. Bassukas ID, Gamvroulia C, Zioga A, Nomikos K, Fotika C. Cryosurgery during topical imiquimod: a successful combination modality for lentigo maligna. *Int J Dermatol.* 2008 May;47(5):519-21. doi: 10.1111/j.1365-4632.2008.03562.x. PMID: 18412875.
 205. Gaitanis G, Nomikos K, Vava E, Alexopoulos EC, Bassukas ID. Immunocryosurgery for basal cell carcinoma: results of a pilot, prospective, open-label study of cryosurgery during continued imiquimod application. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009 Dec;23(12):1427-31. doi: 10.1111/j.1468-3083.2009.03224.x. Epub 2009 Jun 25. PMID: 19555364.
 206. Gaitanis G, Bassukas ID. Immunocryosurgery for non-superficial basal cell carcinoma: a pro-spective, open-label phase III study for tumours ≤ 2 cm in diameter. *Acta Derm Venereol.* 2014 Jan;94(1):38-44. doi: 10.2340/00015555-1609. PMID: 23722308.
 207. Gaitanis G, Bassukas ID. Immunocryosurgery for non-superficial basal cell carcinomas ≤ 20 mm in maximal diameter: Five-year follow-up. *J Geriatr Oncol.*

- 2019 May;10(3):475-478. doi: 10.1016/j.jgo.2018.08.012. Epub 2018 Sep 12. PMID: 30219274.
208. Gaitanis G, Bassukas I. Intralesional bevacizumab as in-add adjuvant to immunocryosurgery for locally advanced basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014 Aug;28(8):1117-21. doi: 10.1111/jdv.12327. PMID: 25243268.
 209. Dong D, Zheng L, Lin J, Zhang B, Zhu Y, Li N, Xie S, Wang Y, Gao N, Huang Z. Structural basis of assembly of the human T cell receptor-CD3 complex. *Nature*. 2019 Sep;573(7775):546-552. doi: 10.1038/s41586-019-1537-0. Epub 2019 Aug 28. PMID: 31461748.
 210. Kuby J, Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA (2007). *Kuby Immunology*. San Francisco: W.H. Freeman. I
 211. Leong, Anthony S-Y; Cooper, Kumarason; Leong, F Joel W-M (2003). *Manual of Diagnostic Cytology* (2 ed.). Greenwich Medical Media, Ltd. pp. 135–136. ISBN 1-84110-100-1.
 212. Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, Paeper B, Clark LB, Yasayko SA, Wilkinson JE, Galas D, Ziegler SF, Ramsdell F. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet*. 2001 Jan;27(1):68-73. doi: 10.1038/83784. PMID: 11138001.
 213. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Pillars Article: Foxp3 Programs the Development and Function of CD4+CD25+ Regulatory T Cells. *Nat. Immunol*. 2003. 4: 330-336. *J Immunol*. 2017 Feb 1;198(3):986-992. PMID: 28115587.
 214. Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood*. 2006 Aug 1;108(3):804-11. doi: 10.1182/blood-2006-02-002774. PMID: 16861339.
 215. Alvarado-Sánchez B, Hernández-Castro B, Portales-Pérez D, Baranda L, Layseca-Espinosa E, Abud-Mendoza C, Cubillas-Tejeda AC, González-Amaro R. Regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun*. 2006 Sep;27(2):110-8. doi: 10.1016/j.jaut.2006.06.005. Epub 2006 Aug 4. PMID: 16890406.

216. M. T. Orchard and C. A. Bouman, "Color quantization of images," in IEEE Transactions on Signal Processing, vol. 39, no. 12, pp. 2677-2690, Dec. 1991, doi: 10.1109/78.107417.
217. T. Kanungo, D. M. Mount, N. S. Netanyahu, C. D. Piatko, R. Silverman and A. Y. Wu, "An efficient k-means clustering algorithm: analysis and implementation," in IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, vol. 24, no. 7, pp. 881-892, July 2002, doi: 10.1109/TPAMI.2002.1017616.
218. Πολυχρονάκη Ε. Παθοφυσιολογία κρυοχειρουργικής βλάβης ΕΕΔΑ Ιανουάριος-Μάρτιος 2020 Τόμος 31, Τεύχος 1
219. Μίντζιας, Π. Η κρυοχειρουργική στη δερματολογία 2004, Εκδότης: Π.Γ. Δημόπουλος
220. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. Annu Rev Immunol. 1994;12:991-1045. doi: 10.1146/annurev.iy.12.040194.005015. PMID: 8011301.
221. Skoberne M, Beignon AS, Bhardwaj N. Danger signals: a time and space continuum. Trends Mol Med. 2004 Jun;10(6):251-7. doi: 10.1016/j.molmed.2004.04.001. PMID: 15177188.
222. Aarts BM, Klompenhouwer EG, Rice SL, Imani F, Baetens T, Bex A, Horenblas S, Kok M, Haanen JBAG, Beets-Tan RGH, Gómez FM. Cryoablation and immunotherapy: an overview of evidence on its synergy. Insights Imaging. 2019 May 20;10(1):53. doi: 10.1186/s13244-019-0727-5. PMID: 31111237; PMCID: PMC6527672.
223. Chan JK, Roth J, Oppenheim JJ, Tracey KJ, Vogl T, Feldmann M, Horwood N, Nanchahal J. Alarmins: awaiting a clinical response. J Clin Invest. 2012 Aug;122(8):2711-9. doi: 10.1172/JCI62423. Epub 2012 Aug 1. PMID: 22850880; PMCID: PMC3408740.
224. Basu S, Binder RJ, Suto R, Anderson KM, Srivastava PK. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappa B pathway. Int Immunol. 2000 Nov;12(11):1539-46. doi: 10.1093/intimm/12.11.1539. PMID: 11058573.

225. Goel R, Anderson K, Slaton J, Schmidlin F, Vercellotti G, Belcher J, Bischof JC. Adjuvant approaches to enhance cryosurgery. *J Biomech Eng.* 2009 Jul;131(7):074003. doi: 10.1115/1.3156804. PMID: 19640135; PMCID: PMC4934372.
226. Urosevic M, Maier T, Benninghoff B, Slade H, Burg G, Dummer R. Mechanisms underlying imiquimod-induced regression of basal cell carcinoma in vivo. *Arch Dermatol.* 2003 Oct;139(10):1325-32. doi: 10.1001/archderm.139.10.1325. PMID: 14568837.
227. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol.* 2002 Mar;196(3):254-65. doi: 10.1002/path.1027. PMID: 11857487.
228. Ito T, Amakawa R, Kaisho T, Hemmi H, Tajima K, Uehira K, Ozaki Y, Tomizawa H, Akira S, Fukuhara S. Interferon-alpha and interleukin-12 are induced differentially by Toll-like receptor 7 ligands in human blood dendritic cell subsets. *J Exp Med.* 2002 Jun 3;195(11):1507-12. doi: 10.1084/jem.20020207. PMID: 12045249; PMCID: PMC2193542.
229. Π.Μπούρα Ανοσολογία: Βασικές Αρχές και Κλινική Προσέγγιση, Κεφάλαιο :Ανοσιακοί μηχανισμοί στους όγκους (σελ 159) ISBN139789601224534 UNIVERSITY STUDIO PRESS Ιούλιος 2019
230. Lee JR, Shin JH, Park JH, Song SU, Choi GS. Combined treatment with intratumoral injection of dendritic cells and topical application of imiquimod for murine melanoma. *Clin Exp Dermatol.* 2007 Sep;32(5):541-9. doi: 10.1111/j.1365-2230.2007.02453.x. Epub 2007 Jun 6. PMID: 17553061.
231. Kaporis HG, Guttman-Yassky E, Lowes MA, Haider AS, Fuentes-Duculan J, Darabi K, Whynot-Ertelt J, Khatcherian A, Cardinale I, Novitskaya I, Krueger JG, Carucci JA. Human basal cell carcinoma is associated with Foxp3+ T cells in a Th2 dominant microenvironment. *J Invest Dermatol.* 2007 Oct;127(10):2391-8. doi: 10.1038/sj.jid.5700884. Epub 2007 May 17. PMID: 17508019.
232. Omland SH, Nielsen PS, Gjerdrum LM, Gniadecki R. Immunosuppressive Environment in Basal Cell Carcinoma: The Role of Regulatory T Cells. *Acta Derm*

- Venereol. 2016 Nov 2;96(7):917-921. doi: 10.2340/00015555-2440. PMID: 27117439.
233. Omland SH, Wettergren EE, Mollerup S, Asplund M, Mourier T, Hansen AJ, Gniadecki R. Cancer associated fibroblasts (CAFs) are activated in cutaneous basal cell carcinoma and in the peritumoural skin. BMC Cancer. 2017 Oct 7;17(1):675. doi: 10.1186/s12885-017-3663-0. Erratum in: BMC Cancer. 2018 Jan 30;18(1):111. PMID: 28987144; PMCID: PMC5806272.
234. Forward NA, Furlong SJ, Yang Y, Lin TJ, Hoskin DW. Signaling through TLR7 enhances the immunosuppressive activity of murine CD4+CD25+ T regulatory cells. J Leukoc Biol. 2010 Jan;87(1):117-25. doi: 10.1189/jlb.0908559. Epub 2009 Oct 20. PMID: 19843574.
235. Π.Μπούρα Ανοσολογία: Βασικές Αρχές και Κλινική Προσέγγιση, Κεφάλαιο: Οι προοπτικές της ανοσοθεραπείας σε νοσήματα αιχμής