

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

Scienze Chirurgiche

Ciclo XXVIII

**Settore Concorsuale di afferenza:** 06/D4 - MALATTIE CUTANEE, MALATTIE  
INFETTIVE E MALATTIE DELL'APPARATO DIGERENTE

**Settore Scientifico disciplinare:** MED/35 - MALATTIE CUTANEE E VENEREE

# **ASPETTI PECULIARI DELLE NEOPLASIE CUTANEE NON MELANOMA NEI PAZIENTI TRAPIANTATI D'ORGANO**

**Presentata da: Salvatore Domenico Infusino**

**Coordinatore Dottorato**

Chiar.mo Prof.  
Mauro Gargiulo

**Relatore**

Chiar.ma Prof.ssa  
Annalisa Patrizi

**Esame finale anno 2016**

## **Indice**

Legenda.....	2
Riassunto.....	3
Introduzione.....	4
Pazienti trapiantati e NMSCs.....	5
Materiali e metodi.....	7
Risultati.....	10
Discussione.....	17
Bibliografia.....	20

## **Legenda**

**NMSC:** non melanoma skin cancer / neoplasie cutanee non melanoma

**BCC:** carcinoma a cellule basali

**SCC:** carcinoma a cellule squamose

## Riassunto

Le neoplasie cutanee non melanoma (NMSCs) hanno un'aumentata incidenza tra i pazienti trapiantati d'organo. L'obiettivo di questo studio è quello di comparare gli aspetti epidemiologici e clinico-patologici dei NMSCs dei pazienti trapiantati con quelli dei soggetti immunocompetenti. A questo scopo abbiamo analizzato i NMSCs insorti tra i pazienti trapiantati dell' Ambulatorio Pazienti Immunocompromessi della Dermatologia di Bologna (132 SCCs e 119 BCCs), nel periodo Gennaio 2013/Dicembre 2015, confrontandoli con un numero equivalente di NMSCs (132 SCCs e 119 BCCs) insorti tra i pazienti immunocompetenti del Centro Tumori Cutanei della Dermatologia di Bologna. I pazienti trapiantati erano in media 12 anni più giovani al momento della diagnosi di NMSCs rispetto ai pazienti immunocompetenti; i tumori nei trapiantati erano più spesso multipli ed extracefalici. Una componente istologica a cellule fusate era più comune tra gli SCCs dei pazienti trapiantati, una componente superficiale era invece più frequente tra i BCCs dei pazienti sottoposti a trapianto. Il decorso si è rivelato peggiore per gli SCCs dei pazienti trapiantati ma non per i BCCs. Questi risultati hanno un'implicazione diretta nella pratica clinica quotidiana. L'aumentata incidenza di NMSCs nei trapiantati e la loro distribuzione in sedi differenti rispetto ai soggetti immunocompetenti sottolineano l'importanza di un'attenta sorveglianza cutanea in questo gruppo di pazienti. Gli SCCs dei trapiantati, in particolare quelli a cellule fusate, dovrebbero richiedere un trattamento più aggressivo, che non è invece necessario per i BCCs. Infine, i nostri dati sono a favore di una differente eziopatogenesi dei NMSCs nei trapiantati, che potrebbe influenzare le future strategie di prevenzione e terapia.

## Introduzione

L'indispensabile assunzione di farmaci immunosoppressori dopo il trapianto espone i pazienti a un sostanziale aumento del rischio di incorrere in patologie neoplastiche, tra le principali cause di morbilità e mortalità anche con trapianto funzionante<sup>1</sup>.

Dai dati del registro nazionale degli Stati Uniti, riferiti a più di 175.000 pazienti trapiantati di organi solidi tra il 1987 e il 2008, emerge un duplice fattore di rischio: alla maggiore incidenza di neoplasie riscontrata in questi pazienti rispetto alla popolazione generale si aggiunge anche una minore risposta ai trattamenti nei soggetti immunodepressi. Per diversi tumori ad alta diffusione, tra cui quelli della prostata, della vescica, della mammella e del colon, si è registrato un tasso di sopravvivenza inferiore nei pazienti trapiantati rispetto alla popolazione generale<sup>1</sup>.

Sono diversi i meccanismi attraverso i quali si ritiene che l'immunosoppressione possa accrescere il rischio di sviluppare il cancro nei pazienti portatori di trapianto. Il primo riguarda l'immunodeficienza cronica che può favorire l'insorgenza di neoplasie oncovirali<sup>2</sup>. In secondo luogo, il ruolo svolto dall'alterata immunosorveglianza sulle cellule neoplastiche come conseguenza dell'azione dei farmaci immunosoppressori. Infine, le proprietà oncogene di alcuni agenti come gli inibitori della calcineurina che, come è stato dimostrato, causano una riduzione significativa dei meccanismi di riparazione del DNA ed espongono a una maggiore insorgenza di malattie infettive, comprese quelle mediate da patogeni opportunisti. Anche l'azatioprina e il prednisolone possono contribuire all'aumentata incidenza di patologie neoplastiche in questi soggetti. Poter identificare i pazienti a particolare rischio di sviluppare una neoplasia post-trapianto è diventato indispensabile per garantire misure adeguate a ridurre la morbilità e la mortalità associate<sup>3</sup>.

Uno studio prospettico sul trapianto renale<sup>4</sup>, condotto nel Regno Unito ha individuato diversi fattori predittivi di rischio per tumori della pelle, tra i quali: età, fototipo cutaneo, tipologia di professione, sesso maschile, colore degli occhi, durata del trattamento immunosoppressivo e storia di fumo. L'età al momento del trapianto e il colore degli occhi hanno permesso di identificare, con una sensibilità dell'80% e una specificità del 75%, i soggetti che avrebbero sviluppato neoplasie cutanee non melanoma (NMSCs)<sup>4</sup>.

Un altro studio retrospettivo australiano, sulla base degli stessi parametri, ha elaborato un indice di predittività in grado di identificare i pazienti a rischio, che hanno poi sviluppato NMSCs post-trapianto, con una sensibilità del 78% e una specificità dell'89,3%<sup>5</sup>.

Si è osservato che anche diversi polimorfismi genetici possono influenzare significativamente il rischio di sviluppare una neoplasia de novo nel post-trapianto. Due citochine anti-infiammatorie, l'interleuchina 10 (IL10) e il fattore di crescita trasformante beta o (TGF- $\beta$ ), sono state associate allo sviluppo di malattie linfoproliferative post-trapianto causate dal virus Epstein-Barr. Così come i polimorfismi nei geni che codificano il recettore della vitamina D e la metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR) hanno dimostrato aumentare il rischio di sviluppare diversi tumori, tra cui il carcinoma a cellule squamose<sup>6</sup>. Uno studio successivo dello stesso gruppo ha rivelato che l'ipermetilazione del genoma, ossia una modifica epigenetica che reprime la trascrizione di geni oncosoppressori, potrebbe rivelarsi un meccanismo oncogenetico<sup>7</sup>.

### **Pazienti trapiantati e NMSCs**

Le neoplasie cutanee non melanoma o non melanoma skin cancer (NMSCs) includono il carcinoma a cellule basali (BCC) ed il carcinoma a cellule squamose (SCC), che rappresentano i tumori maligni più comuni nei soggetti di pelle chiara e la cui incidenza è in continuo e drammatico aumento<sup>8-9-10</sup>.

I NMSCs rappresentano un'importante causa di morbidità e un crescente onere per il Sistema Sanitario Nazionale<sup>12</sup>. I pazienti immunocompromessi trapiantati d'organo hanno un rischio elevato di sviluppare diverse neoplasie, tra le quali, quelle più frequenti, sono proprio i NMSCs<sup>13-14-33</sup>.

Nei venti anni post-trapianto è stato riportato, per i paesi a clima temperato<sup>17-18</sup>, un rischio cumulativo di NMSCs superiore al 40%, che può addirittura superare l' 80% in alcuni paesi come l' Australia<sup>19</sup>.

L'incidenza del BCC tra i pazienti immunocompromessi, secondo i dati della letteratura, è aumentata di oltre 10 volte<sup>33-43</sup>; tale valore sembra però basso se rapportato all' incidenza dell' SCC tra gli stessi soggetti che, a seconda delle diverse casistiche, mostra un aumento di 50-100 volte<sup>20</sup>.

L'evidenza clinica suggerisce, inoltre, che alcuni SCCs nei pazienti trapiantati immunocompromessi si comportino in maniera più aggressiva rispetto ai tumori che insorgono nei pazienti immunocompetenti, con un'elevata frequenza di neoplasie multiple, recidivanti o metastatiche<sup>15-16</sup>.

Dati della letteratura provenienti da pazienti con malattie linfoproliferative o HIV suggeriscono, infine, che anche il BCC può comportarsi in modo più aggressivo nel contesto dell'immunosoppressione<sup>22-23-24-25-26-27-38</sup>.

L'esposizione alle radiazioni ultraviolette è il principale fattore di rischio per NMSCs<sup>24</sup> nella popolazione generale: essi presentano infatti, spesso, mutazioni dei geni oncosoppressori, come per esempio p53, causate dai raggi ultravioletti<sup>28-29-30-31-32</sup>.

L'esposizione ai raggi ultravioletti è un importante fattore di rischio anche tra i pazienti trapiantati<sup>11</sup>, sebbene, come già sottolineato, altri elementi tra cui una ridotta sorveglianza immunitaria, l'azione diretta dei farmaci immunosoppressori<sup>15-21</sup> e la possibile infezione da HPV<sup>33-34-37</sup>, contribuiscano in questi pazienti ad aumentare il rischio di incidenza di NMSCs.

Il seguente studio compara gli aspetti clinico patologici di BCCs e SCCs dei pazienti trapiantati con quelli di individui immunocompetenti, tratti dalla stessa popolazione di base, allo scopo di determinare se esistano delle differenze rilevanti dal punto di vista clinico e istologico e nel decorso.

## **Materiali e metodi**

### **Pazienti e neoplasie**

La Dermatologia dell'Università di Bologna dispone di un Ambulatorio Dedicato ai Pazienti Immunocompromessi al quale accedono annualmente 250-300 pazienti trapiantati d'organo. I pazienti vengono normalmente visitati dopo 6-12 mesi dall'avvenuto trapianto; quelli che, al momento della visita, non presentano patologie in atto vengono poi rivisti annualmente, per tutti gli altri vengono programmati dei controlli con delle tempistiche differenti a seconda delle patologie riscontrate. Ai fini del seguente studio, gli SCCs e i BCCs dei pazienti trapiantati seguiti presso l'Ambulatorio Pazienti Immunocompromessi e quelli dei pazienti immunocompetenti seguiti presso il Centro Tumori Cutanei (CTC) della Dermatologia del S. Orsola Malpighi sono stati selezionati come segue:

**SCCs:** sono stati presi in considerazione tutti gli SCCs riscontrati nei pazienti trapiantati d'organo dell' Ambulatorio Immunocompromessi tra Gennaio 2013 e Dicembre 2015 e rilevati attraverso il database computerizzato del Laboratorio di Istopatologia della Dermatologia di Bologna. Tali SCCs sono stati confrontati con un numero equivalente di casi consecutivi di spinaliomi tra i pazienti immunocompetenti del Centro Tumori Cutanei (CTC), estrapolati dallo stesso database tra tutti gli SCCs diagnosticati a partire da Gennaio 2013.

**BCCs:** sono stati presi in considerazione tutti i BCCs riscontrati nei pazienti trapiantati d'organo dell' Ambulatorio Immunocompromessi tra Gennaio 2013 e Dicembre 2015 e rilevati attraverso il database computerizzato del Laboratorio di Istopatologia della Dermatologia di Bologna. Tali BCCs sono stati confrontati con un numero equivalente di casi consecutivi di basaliomi tra i pazienti immunocompetenti del Centro Tumori Cutanei (CTC), estrapolati dallo stesso database tra tutti i BCCs diagnosticati a partire da Gennaio 2013.

Per entrambe le serie di pazienti sono state riviste le corrispondenti cartelle cliniche per valutare lo stato immunitario e la presenza di eventuali concomitanti patologie, farmaci utilizzati o altre condizioni che avrebbero potuto aumentare la suscettibilità nei confronti delle neoplasie cutanee.



Sono stati inclusi nello studio un totale di 502 NMSCs consecutivi di cui 251 neoplasie insorte in 154 pazienti trapiantati (132 SCCs e 119 BCCs) e 251 tumori insorti in 246 pazienti immunocompetenti (132 SCCs e 119 BCCs).

In base alla tipologia del trapianto subito, i pazienti erano così suddivisi:

- 101 pazienti trapiantati di rene (65,6%)
- 26 pazienti trapiantati di cuore (16,9%)
- 19 pazienti trapiantati di fegato (12,3%)
- 5 pazienti con trapianto multiorgano (3,2%)
- 3 pazienti con trapianto di polmone (2%)

Nel periodo Gennaio 2013/Dicembre 2015 sono stati riscontrati 132 SCCs cutanei nei pazienti trapiantati immunocompromessi; un pari numero di SCCs insorti in soggetti immunocompetenti a partire da Gennaio 2013 sono quindi stati estrapolati dal medesimo database ed inclusi nello studio a scopo di confronto.

Nello stesso lasso di tempo i BCCs osservati tra i pazienti trapiantati sono stati 119; anche in questo caso un pari numero di BCCs insorti in soggetti immunocompetenti sono stati estrapolati dal medesimo database ed inclusi nello studio a scopo di confronto.

### **Valutazione istologica**

Le caratteristiche istologiche dei diversi SCCs e BCCs sono state valutate mediante la colorazione standard con ematossilina eosina.

### **Parametri presi in considerazione**

#### **Carcinomi a cellule squamose**

Sono stati valutati i seguenti parametri:

- differenziazione, classificata secondo Broder come grado 1 (ben differenziato), grado 2 (moderatamente differenziato), grado 3 (scarsamente differenziato), grado 4 (indifferenziato);
- ulcerazione;
- infiltrato infiammatorio peritumorale (0=assente, 1=minimo, 2=moderato, 3=intenso);
- presenza di cellule fusate;

- spessore di invasione tumorale;
- presenza di invasione perineurale;
- presenza di Invasione vascolare.

### **Carcinomi a cellule basali**

Sono stati valutati i seguenti parametri:

- pattern istologico;
- ulcerazione;
- palizzata;
- differenziazione;
- spessore di invasione tumorale;
- infiltrato infiammatorio;
- presenza di elastosi solare;
- displasia dello strato basale;
- mitosi;
- cellule giganti;
- presenza di cellule chiare, granulari, ad anello con castone;
- invasione perineurale;
- presenza di amiloide;
- presenza di mucina.

### **Analisi statistica**

Per l'analisi statistica dei dati sono stati utilizzati il t-test di Student ( $\alpha$ ) e il test del chi quadrato ( $\beta$ ); è stato considerato significativo un valore soglia di  $P < 0,05$ .

## Risultati

### Aspetti epidemiologici e clinici dei carcinomi a cellule squamose e dei carcinomi a cellule basali

Tutti i pazienti trapiantati erano in terapia immunosoppressiva con un regime farmacologico che comprendeva uno steroide sistemico (prednisolone) associato ad uno o più farmaci immunosoppressori di altra categoria (ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, micofenolato mofetile, azatioprina).

L'età media al momento della diagnosi (Tab. 1) è stata significativamente più bassa,  $\alpha < 0,0001$ , sia per gli SCCs dei pazienti trapiantati rispetto a quelli dei pazienti immunocompetenti (61,3 anni vs 72,8 anni) sia per i BCCs dei due gruppi (56,2 anni vs 69 anni).

Gli SCCs e i BCCs nei pazienti trapiantati si sono verificati dopo un intervallo medio post-trapianto simile (rispettivamente 11,1 anni e 11,4 anni), ma l'età al momento della diagnosi e al momento del trapianto era più bassa tra i pazienti affetti da basalioma rispetto a quelli affetti da spinalioma. Una pregressa storia di NMSCs è stata inoltre circa 4 volte più frequente tra i pazienti trapiantati, così come più comuni sono stati i tumori cutanei multipli riscontrati in questo gruppo di pazienti, sia per gli SCCs che per i BCCs (Tab. 1). Tra i pazienti trapiantati 44/82 (53,7%) hanno sviluppato più di un SCC durante il periodo di osservazione e 6/82 (7,3%) hanno avuto più di 2 tumori; d'altra parte solo 2/82 pazienti immunocompetenti (2,4%) hanno sviluppato più di un SCC. I basaliomi multipli tra i pazienti immunocompetenti sono stati lievemente più frequenti rispetto agli spinaliomi multipli, essendo stati riscontrati in 3/116 soggetti (2,6%); più frequenti sono stati anche i BCCs multipli tra i pazienti trapiantati, 47/72 dei quali (65,2%) hanno presentato 2 o più neoplasie nell'intervallo di tempo considerato.

Anche la distribuzione anatomica dei NMSCs ha mostrato delle variazioni in rapporto allo stato immunitario (Tab. 1). Un numero elevato di SCCs era localizzato nella regione capo/collo in entrambi i gruppi (57,6% vs 65,9%), sebbene più frequenti tra i soggetti immunocompetenti; gli SCCs dei pazienti trapiantati erano più frequentemente localizzati agli arti superiori rispetto a quelli dei pazienti immunocompetenti (35,6% vs 9%,  $\beta = 0,0001$ ) che viceversa mostravano una più elevata percentuale di localizzazione agli arti inferiori (24,2% vs 2,3%,  $\beta < 0,0001$ ).

Per quanto riguarda i basaliomi, un numero inferiore di neoplasie è stato riscontrato nella regione testa/collo nei pazienti trapiantati rispetto ai pazienti immunocompetenti (63% vs 78,1%); per contro, tra i pazienti trapiantati è stato riscontrato un più alto numero di BCCs insorti a livello del tronco (26% vs 15,1%); da notare, infine, come 8 (6,7%) basaliomi fossero localizzati alle braccia e 5 (4,2%) alle gambe dei pazienti trapiantati, contro rispettivamente 2 (1,7%) e 6 (5%) riscontrati nella stessa localizzazione tra i pazienti immunocompetenti.

Nessuna differenza di sesso è stata riscontrata nella distribuzione anatomica nei due gruppi di pazienti.

Tabella 1. Differenze cliniche ed epidemiologiche tra i BCC e gli SCC riscontrati nei pazienti trapiantati e quelli degli immunocompetenti.

Test statistici utilizzati:  $\alpha$ : t-test;  $\beta$ : Chi-square test.

Caratteristiche epidemiologiche:	CCB			CCS		
	Trapiantati	Immunocompetenti	Valore della P	Trapiantati	Immunocompetenti	Valore della P
N° di neoplasie	119	119	/	132	132	/
N° di pazienti	72	116	/	82	130	/
Rapporto M/F	58:14 (4,1:1)	61:55 (1,1:1)	$\beta=0,0002$	63:19 (3,3:1)	71:59 (1,2:1)	$\beta=0,0018$
Età media al momento della diagnosi	56,2 anni $\pm$ 10,39	69 anni $\pm$ 16,51	$\alpha<0,0001$	61,3 anni $\pm$ 11,67	72,8 anni $\pm$ 11,51	$\alpha:<0,0001$
<b>Caratteristiche cliniche</b>						
Pregresse NCNM	51/72 (71%)	23/116 (19,8%)	$\beta<0,0001$	62/82 (76%)	21/130 (16%)	$\beta<0,0001$
<b>Distribuzione anatomica</b>						
Capo/collo	75/119 (63%)	93/119 (78,1%)	$\beta=0,34$	76/132 (57,6%)	87/132 (65,9%)	$\beta=0,57$
Tronco	31/119 (26%)	18/119 (15,1%)	$\beta=0,13$	6/132 (4,5%)	1/132 (0,8%)	$\beta=0,14$
Arti superiori	8/119 (6,7%)	2/119 (1,7%)	$\beta=0,12$	47/132 (35,6%)	12/132 (9%)	$\beta=0,0001$
Arti inferiori	5/119 (4,2%)	6/119 (5%)	$\beta=0,99$	3/132 (2,3%)	32/132 (24,2%)	$\beta<0,0001$
Recidiva	2/119 (1,7%)	4/119 (3,4%)	$\beta=0,69$	8/132 (6%)	2/132(1,5%)	$\beta=0,12$
Metastasi	0	0	/	3 (2,3%)	0	$\beta=0,25$

## Aspetti istologici dei CCSs

Il grado di differenziazione dell' SCC ha risentito della condizione dello stato immunitario ma non in maniera drammatica; come lecito attendersi, i tumori più differenziati, di grado 1-2, sono stati più frequenti tra i pazienti immunocompetenti (8,3% vs 6%, grado 1 e 63,6% vs 51,5% grado 2) mentre le forme meno differenziate, di grado 3-4, sono state percentualmente più elevate tra i pazienti trapiantati (34,8% vs 26,5%, grado 3 e 7,7% vs 1,6%, grado 4). Nel complesso, in entrambi i gruppi, hanno comunque prevalso le neoplasie ben o moderatamente differenziate (Tab.2), nonostante il dato significativo di un maggior numero di SCCs indifferenziati insorti tra i pazienti trapiantati ( $\beta < 0,05$ ).

La presenza di cellule fusate invece, singole o diffuse, è stata una prerogativa degli SCCs dei pazienti trapiantati ( $\beta < 0,0001$ ); una componente fusata era presente infatti in 27/132 SCCs (20,5%) dei soggetti trapiantati e assente in tutte le lesioni dei soggetti immunocompetenti (Tab. 2). Una presenza diffusa di cellule fusate è stata riscontrata nel 13,6% degli SCCs (18/132) ed era caratterizzata da fasci intrecciati di cellule allungate, bipolari o fusate, con scarso citoplasma eosinofilo, marcato pleomorfismo nucleare e mitosi atipiche. Tutti gli SCCs a cellule fusate di quest'ultimo gruppo (componente diffusa) si erano manifestati come noduli della regione capo/collo di pazienti maschi con pregressa storia di NMSCs multipli. Otto di questi 18 SCCs erano neoplasie altamente aggressive andate incontro a rapida crescita e successiva recidiva locale; in tre pazienti si sono verificate metastasi a distanza. I rimanenti SCCs erano neoplasie a lenta crescita ed apparentemente non aggressive.

La profondità media di invasione degli SCCs tra i pazienti trapiantati (Tab.2) è stata di 2,46 mm e non è stata molto differente rispetto a quella degli SCCs tra i pazienti immunocompetenti (media 2,55mm). Non c'è stata inoltre significativa differenza per quanto riguarda la frequenza di invasione perineurale (4/132 trapiantati vs 7/132 immunocompetenti), né per l'ulcerazione (19,7% vs 22%)<sup>35-36</sup>.

L'infiltrato infiammatorio peritumorale, infine, è stato meno intenso negli SCCs dei pazienti trapiantati, con un grado di infiammazione pari a 0-1 presente in 62,9% dei soggetti contro il 28,8% nei pazienti immunocompetenti (Tab. 2).

**Tabella 2. Differenze tra gli SCC riscontrati nei pazienti trapiantati e quelli dei pazienti immunocompetenti.**

Test statistici utilizzati: $\alpha$ : t-test; $\beta$ : Chi-square test			
Caratteristiche istologiche	CCS trapiantati:132	CCS immunocompetenti:132	Valore della P
<b>Differenziazione*</b>			
1	8/132 (6%)	11/132 (8,3%)	$\beta=0,67$
2	68/132 (51,5%)	84/132 (63,6%)	$\beta=0,35$
3	46/132 (34,8%)	35/132 (26,5%)	$\beta=0,35$
4	10/132 (7,7%)	2/132 (1,6%)	<b><math>\beta&lt;0,05</math></b>
<b>Infiammazione°</b>			
0	9/132 (6,9%)	0/132 (0%)	<b><math>\beta&lt;0,001</math></b>
1	74/132 (56%)	38/132 (28,8%)	<b><math>\beta=0,006</math></b>
2	45/132 (34%)	70/132 (53%)	$\beta = 0,07$
3	4/132 (3,1%)	24/132 (18,2%)	<b><math>\beta&lt;0,001</math></b>
<b>Cellule fusate^</b>			
Presenti	27/132 (20,5%)	0/132 assenti	<b><math>\beta &lt; 0,0001</math></b>
Diffuse	18/132 (13,6%)	0/132 assenti	<b><math>\beta &lt; 0,0001</math></b>
<b>Ulcerazione</b>	26/132 (19,7%)	29/132 (22%)	$\beta=0,83$
<b>Spessore medio in mm<math>\pm</math> DS</b>	2,46 mm $\pm$ 1,92	2,55 mm $\pm$ 2,01	$\alpha=0,71$
<b>Invasione perineurale</b>	4/132 (3%)	7/132 (5,3%)	$\beta=0,56$
<b>Invasione vascolare</b>	nessuna	nessuna	/

\*Differenziazione secondo la classificazione di Broder (da grado 1, ben differenziato e grado 4, scarsamente differenziato).

°Infiammazione: grado 0 (assente), grado 1 (minima), grado 2 (moderata), grado 3 (intensa).

^Cellule fusate: presenti se interessavano almeno il 10% della neoplasia, diffuse in caso di interessamento superiore al 90%.

## Aspetti istologici dei BCCs

Per quanto riguarda i BCCs non ci sono state differenze significative nei due gruppi di pazienti in merito a caratteristiche dello stroma, ulcerazione, palizzata, mitosi, presenza di amiloide, mucina, cellule giganti, cellule granulari / chiare /ad anello con castone.

Lo stato immunitario sembra invece influenzare molti altri aspetti tra quelli presi in considerazione (Tab. 3). Per quanto riguarda il pattern di crescita, rispettivamente il 67% e il 69% dei basaliomi tra i trapiantati e gli immunocompetenti erano caratterizzati da un tipo istologico predominante, costituente oltre 80% della neoplasia, con il pattern nodulare che era il più comune in entrambi i gruppi (74,8% e 68% rispettivamente). Circa un terzo dei basaliomi era caratterizzato da due o più pattern di crescita in cui ogni differente pattern costituiva almeno il 25% della neoplasia. Un pattern micro nodulare (26% vs 12,7%) e infiltrante/morfeiforme (21,9 % vs 19,3%) è stato più frequente nei basaliomi dei pazienti immunocompetenti mentre una componente superficiale è stata più comune nei basaliomi dei trapiantati (30,2% vs 15,1%), un fattore questo che si riflette in uno spessore di invasione tumorale significativamente più sottile tra questi pazienti (1,42 mm vs 2,1 mm,  $\alpha < 0,0001$ ).

Una differenziazione squamosa è stata riscontrata più frequentemente tra i BCCs dei pazienti trapiantati (45,3% vs 28,6%); una morfologia ghiandolare era invece maggiormente rappresentata nei pazienti immunocompetenti (31,1% vs 18,5%). Così come per gli SCCs una scarsa risposta dell'ospite (grado 0-1 di infiltrato infiammatorio) era più comune tra i pazienti trapiantati (63% vs 41,2%, Tab.3).

Una displasia di grado variabile dello strato basale dell'epidermide contigua alla neoplasia era associata a circa la metà dei basaliomi dei pazienti trapiantati (47,9%) e solo all'11,8% di quelli degli immunocompetenti; non vi era invece alcuna differenza significativa nella gravità dell'elastosi solare (Tab.3).

**Tabella 3. Differenze istologiche tra i BCC riscontrati nei pazienti trapiantati e quelli dei pazienti immunocompetenti.**  
**Test statistici utilizzati:  $\alpha$ : t-test;  $\beta$ : Test del chi quadrato**

Caratteristiche Istologiche	CCB trapiantati:119	CCB immunocompetenti:119	Valore della P
<b>Pattern di crescita*</b>			
Nodulare	89/119 (74,8%)	81/119 (68%)	$\beta=0,71$
Micronodulare	15/119 (12,7%)	31/119 (26%)	<b><math>\beta &lt; 0,05</math></b>
Superficiale	36/119 (30,2%)	18/119 (15,1%)	$\beta=0,05$
Infiltrante/morfeiforme	17/119 (12,3%)	26/119 (21,9%)	$\beta=0,27$
<b>Differenziazione</b>			
Nessuna	39/119 (32,8%)	40/119 (33,6%)	$\beta= 0,97$
Squamosa	54/119 (45,3%)	34/119 (28,6%)	$\beta= 0,09$
Sebacea	22/119 (18,5%)	37/119 (31,1%)	$\beta= 0,11$
Adenoide	2/119 (1,7%)	2/119 (1,7%)	$\beta= 0,61$
Pilare	2/119 (1,7%)	6/119 (5%)	$\beta= 0,30$
<b>Infiammazione</b>			
0	11/119 (9,2%)	12/119 (10,1%)	$\beta=0,98$
1	64/119 (53,8%)	37/119 (31,1%)	<b><math>\beta=0,03</math></b>
2	32/119 (26,9%)	49/119 (41,2%)	$\beta=0,13$
3	12/119 (10,1%)	21/119 (17,6%)	$\beta=0,2$
<b>Spessore medio in mm + DS</b>			
	1,42 mm $\pm$ 0,95	2,1 mm $\pm$ 1,45	<b><math>\alpha &lt; 0,0001</math></b>
<b>Invasione perineurale</b>			
	1/119 8 (0,8%)	0/119 (0%)	$\beta=1$
<b>Elastosi solare^</b>			
0	5/119 (4,2%)	4/119 (3,4%)	$\beta=1$
1	68/119 (57,1%)	69/119 (58%)	$\beta=0,97$
2	40/119 (33,6%)	36/119 (30,2%)	$\beta=0,79$
3	6/119 (5,1%)	10/119 (8,4%)	$\beta=0,48$
<b>Displasia dello strato basale^</b>			
0	62/119 (52,1%)	105/119 (88,2%)	<b><math>\beta=0,01</math></b>
1	45/119 (37,8%)	12/119 (10,1%)	<b><math>\beta=0,0001</math></b>
2	9/119 (7,6%)	2/119 (1,7%)	$\beta=0,08$
3	3/119 (2,5%)	0/119 (0%)	$\beta=0,25$

\*Pattern di crescita: molte lesioni presentavano più di un pattern di crescita contemporaneamente, si è pertanto tenuto conto di quei pattern che costituissero almeno il 25% della neoplasia.

^Elastosi solare e displasia dello strato basale: grado 0 (assente), grado 1 (minima), grado 2 (moderata), grado 3 (severa).



## **Decorso clinico dei NMSCs**

8/132 (6%) SCCs dei trapiantati sono recidivati e 3 (2,6%) hanno dato metastasi. Un SCC a cellule fusate ha dato metastasi alla ghiandola parotide e ai linfonodi sottomentonieri circa 3 mesi dopo l'asportazione della neoplasia primitiva localizzata alla regione preauricolare destra, e metastasi alle ossa e ai polmoni nei 4 mesi successivi. Il paziente è stato trattato con chirurgia radicale, radioterapia, riduzione della terapia immunosoppressiva e retinoidi sistemici ed è morto 15 mesi più tardi per le complicanze della disseminazione viscerale. Un secondo paziente con SCC a cellule fusate diffuse della guancia sinistra ha sviluppato recidiva cutanea 16 mesi dopo l'intervento chirurgico con metastasi ai linfonodi ascellari ed è stato sottoposto ad ulteriore exeresi, linfoadenectomia regionale, radioterapia e retinoidi sistemici; un anno più tardi ha necessitato di un nuovo intervento per rimuovere una metastasi ai linfonodi sottomandibolari ed è tutt'ora in follow up. Infine, un SCC moderatamente differenziato dell'arto superiore di un trapiantato è recidivato dopo circa 6 mesi dando metastasi ai linfonodi regionali 12 mesi più tardi, poco prima della morte del paziente per cause di altra natura (infarto miocardico acuto). Nessun SCC dei pazienti immunocompetenti ha dato metastasi, 2 sono recidivati: ambedue i carcinomi, uno dell'arto inferiore destro ed uno del cuoio capelluto, erano scarsamente differenziati, presentavano invasione perineurale e sono recidivati localmente rispettivamente dopo circa 10 e 12 mesi. Entrambi sono stati trattati con successo con una nuova asportazione chirurgica radicale.

I basaliomi dei pazienti trapiantati e quelli degli immunocompetenti hanno invece mostrato una prognosi sostanzialmente simile con soli 2 basaliomi del primo gruppo (1,7 %) e 4 del secondo (3,4%) che sono andati incontro a recidiva durante i circa 3 anni di follow-up.

## Discussione

In questo studio abbiamo confrontato 251 NMSCs insorti in pazienti trapiantati con altrettanti NMSCs insorti consecutivamente tra pazienti immunocompetenti in un periodo di circa 3 anni.

Sono state riscontrate significative differenze dal punto di vista epidemiologico e clinico-patologico, correlate allo stato immunitario dei pazienti.

I pazienti trapiantati erano mediamente 12 anni più giovani al momento dell'insorgenza dei NMSCs rispetto agli individui immunocompetenti e le neoplasie nel primo gruppo di pazienti sono state più frequentemente multiple, meno comuni nel distretto capo/collo e localizzate più frequentemente agli arti superiori (Tab.1).

Dal punto di vista istologico il dato più saliente è stato la presenza di una componente a cellule fusate in oltre il 20% degli SCCs dei pazienti trapiantati contro nessuno di quelli dei pazienti immunocompetenti (Tab.2).

Per quanto riguarda i BCCs, il pattern di crescita superficiale, una differenziazione squamosa e una displasia dello strato basale sono stati più frequenti tra i pazienti trapiantati mentre la componente micro nodulare ed infiltrante è stata più frequente tra i pazienti immunocompetenti (Tab.3).

L'infiltrato infiammatorio peritumorale è stato meno intenso sia negli SCCs che nei BCCs dei pazienti trapiantati rispetto a quelli dei soggetti immunocompetenti (Tab.2-3).

Recidive e metastasi sono state più comuni tra gli SCCs dei pazienti trapiantati mentre non vi è stata alcuna evidenza di un decorso maggiormente aggressivo dei BCCs nello stesso gruppo di pazienti.

Come già riferito da numerosi studi presenti in letteratura, anche nel nostro caso il rapporto SCCs:BCCs si è dimostrato invertito rispetto alla popolazione generale<sup>8-9-10-13-15</sup>.

La ragione per cui i NMSCs dei trapiantati sono stati meno frequenti nella regione capo/collo rispetto alle altre localizzazioni non è nota, sebbene sia già stata riportata in letteratura da altri autori<sup>27</sup>.

Gli SCCs indifferenziati si sono dimostrati significativamente più frequenti tra i pazienti trapiantati rispetto a quelli immunocompetenti ( $\beta < 0,05$ ); la più importante differenza

istologica tra i due gruppi è stata però un'aumentata incidenza di SCCs con componente a cellule fusate tra i pazienti trapiantati ( $\beta < 0,001$ ). La presenza di una componente a cellule fusate non implica necessariamente una scarsa differenziazione.

In letteratura sono riportate due categorie di SCCs con componente a cellule fusate: un gruppo in cui le neoplasie insorgono ex novo, tendono ad essere piccole, localizzate alle aree fotoesposte, si associano ad altri NMSCs e sono caratterizzate da un decorso relativamente benigno; un secondo gruppo in cui le neoplasie insorgono su precedenti ustioni o radioterapia, sono in genere di maggiori dimensioni, si comportano in maniera più aggressiva e hanno maggiore tendenza a dare metastasi<sup>36-41-47</sup>.

Gli SCCs con diffusa componente a cellule fusate da noi osservati tra i pazienti trapiantati hanno mostrato un insieme delle precedenti caratteristiche: si sono verificati su sedi fotoesposte di pazienti con multipli NMSCs ma si sono comportati in maniera aggressiva in 3 casi su 8, dando origine a metastasi. Gli SCCs a cellule fusate dei pazienti trapiantati possono quindi a nostro avviso essere considerati una categoria distinta di SCCs a cellule fusate associati in maniera specifica all'immunosoppressione.

Per quanto riguarda i BCCs, le neoplasie dei pazienti trapiantati comparate con quelle dei soggetti immunocompetenti hanno presentato più frequentemente una componente superficiale, una differenziazione squamosa ed uno scarso infiltrato infiammatorio. Un'alta incidenza di basaliomi superficiali si può spiegare con una differente eziopatogenesi<sup>42</sup> per i basaliomi che insorgono in un contesto di immunosoppressione, ma può anche essere dovuta, almeno in parte, ad una più stretta sorveglianza dei pazienti trapiantati rispetto a quelli immunocompetenti<sup>38-39</sup>.

Nel complesso, durante un follow-up di circa tre anni gli SCCs dei pazienti trapiantati si sono dimostrati più aggressivi di quelli dei pazienti immunocompetenti; non è stato così invece per i BCCs<sup>42-43</sup>.

Nel caso degli SCCs la componente a cellule fusate sembra essere un aspetto associato ad un decorso maggiormente aggressivo tra i pazienti trapiantati; in questo gruppo di pazienti, infatti, le 8 neoplasie che sono recidivate e le 3 che hanno dato metastasi presentavano tutti una diffusa componente a cellule fusate.

Per quanto riguarda i BCCs, il decorso clinico si è dimostrato simile nei due gruppi di pazienti presi in considerazione; le differenze più sostanziali sono dunque state relative alla localizzazione e agli aspetti istologici (Tab.3).

Da quanto detto fino ad ora è possibile evincere che una ridotta sorveglianza immunitaria è in grado di contribuire in maniera sfavorevole alla progressione delle neoplasie cutanee tra i pazienti trapiantati. La dimostrazione indiretta di ciò è il riscontro di un infiltrato infiammatorio peritumorale nettamente inferiore che abbiamo avuto modo di osservare a carico dei tumori cutanei nei trapiantati rispetto a quelli dei soggetti immunocompetenti (Tab.3).

L'immunosoppressione può essere in grado di accelerare il danno dovuto agli UV rendendolo più rilevante<sup>45</sup>: nonostante un'età media inferiore l'elastosi solare associata ai BCCs era simile nei due gruppi di pazienti mentre la displasia dello strato basale della cute lesionale era addirittura più severa nei pazienti trapiantati rispetto agli immunocompetenti. Sebbene i meccanismi di quanto suddetto non siano chiari può essere tirato in ballo il ruolo diretto, già dimostrato in vitro, dei farmaci immunosoppressori nel compromettere la riparazione dei danni del DNA indotto dagli UV<sup>45-46</sup>.

In conclusione, quanto esposto fino ad ora, permette di evidenziare delle differenze epidemiologiche e clinico-patologiche tra i NMSCs dei pazienti trapiantati d'organo e quelli dei soggetti immunocompetenti, che possono avere delle implicazioni dirette nella pratica clinica quotidiana. In particolare, l'aumentata incidenza di neoplasie multiple e che possono insorgere in sedi non usuali, sottolinea l'importanza di sottoporre i pazienti trapiantati ad un'attenta sorveglianza e ad un periodico esame dermatologico completo.

Sebbene dai dati in nostro possesso non emergano significative differenze prognostiche nei soggetti immunocompetenti rispetto ai trapiantati per quanto riguarda il BCC, di contro l' SCC nei soggetti portatori di trapianto ha dimostrato di poter avere una prognosi peggiore e di richiedere un approccio terapeutico più aggressivo ed un follow-up più stretto, soprattutto nel caso delle neoplasie con una componente a cellule fusate.

Tutti questi fattori e studi come il nostro potrebbero avere implicazioni negli sviluppi futuri della prevenzione delle neoplasie cutanee e della gestione dei tumori in una popolazione ad alto rischio come quella dei trapiantati<sup>40</sup>.

## **Bibliografia**

1. Buell JF1, Gross TG, Woodle ES. Malignancy after transplantation. *Transplantation*. 2005 Oct 15;80(2 Suppl):S254-64.
2. Gutierrez-Dalmau A1, Campistol JM. Immunosuppressive therapy and malignancy in organ transplant recipients: a systematic review. *Drugs*. 2007;67(8):1167-98.
3. Sherston SN, Carroll RP, Harden PN, et al. Predictors of cancer risk in the long-term solid-organ transplant recipient. *Transplantation*. 2014;97(6): pag.605-11.
4. Harden PN1, Fryer AA, Reece S, Smith AG, Ramsay HM. Annual incidence and predicted risk of nonmelanoma skin cancer in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2001 Feb-Mar;33(1-2):1302-4.
5. Carroll RP1, Ramsay HM, Fryer AA, Hawley CM, Nicol DL, Harden PN. Incidence and prediction of nonmelanoma skin cancer post-renal transplantation: a prospective study in Queensland, Australia. *Am J Kidney Dis*. 2003 Mar;41(3):676-83.
6. Han J1, Colditz GA, Hunter DJ. Polymorphisms in the MTHFR and VDR genes and skin cancer risk. *Carcinogenesis*. 2007 Feb;28(2):390-7. Epub 2006 Aug 31.
7. Laing ME1, Cummins R, O'Grady A, O'Kelly P, Kay EW, Murphy GM. Aberrant DNA methylation associated with MTHFR C677T genetic polymorphism in cutaneous squamous cell carcinoma in renal transplant patients. *Br J Dermatol*. 2010 Aug;163(2):345-52. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09774.x. Epub 2010 Mar 19.
8. Diepgen TL, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol* 2002;146(Suppl 61):1-6.
9. 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.

10. Leiter U, Eigentler T, Garbe C. Epidemiology of skin cancer.

Adv Exp Med Biol. 2014;810:120-40.

11. Juzeniene A1, Grigalavicius M2, Baturaite Z2, Moan J3. Minimal and maximal incidence rates of skin cancer in Caucasians estimated by use of sigmoidal UV dose-incidence curves.

Int J Hyg Environ Health. 2014 Nov;217(8):839-44. doi: 10.1016/j.ijheh.2014.06.002. Epub 2014 Jun 17.

12. Eedy DJ. Non-melanoma skin cancer and the 'new National Health Service': implications for UK dermatology?

Br J Dermatol 2000;142:397-400.

13. London NJ, Farmery SM, Will EJ, Davison AM, Lodge JPA. Risk of neoplasia in renal transplant patients.

Lancet 1995;346:403-6.

14. Jensen P, Hansen S, Møller B, Leivestad T, Pfeffer P, Geiran O, et al. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens.

J Am Acad Dermatol 1999;40:177-86.

15. Ingvar A, Smedby KE, Lindelöf B, Fernberg P, Bellocco R, Tufveson G, Höglund P, Adami J. Immunosuppressive treatment after solid organ transplantation and risk of post-transplant cutaneous squamous cell carcinoma.

Nephrol Dial Transplant. 2010 Aug;25(8):2764-71. doi: 10.1093/ndt/gfp425. Epub 2009 Sep 3.

16. Jensen AO, Svaerke C, Farkas D, Pedersen L, Kragballe K, Sørensen HT. Skin cancer risk among solid organ recipients: a nationwide cohort study in Denmark.

Acta Derm Venereol. 2010 Sep;90(5):474-9. doi: 10.2340/00015555-0919.

17. Glover MT, Niranjana N, Kwan JTC, Leigh IM. Non-melanoma skin cancer in renal transplant recipients: the extent of the problem and a strategy for management.  
Br J Plastic Surg 1994;47:86-9.
18. Bordea C, Wojnarowska F, Millard PR, Doll H, Welsh K, Morris PJ. Skin cancers in renal-transplant recipients occur more frequently than previously recognized in a temperate climate.  
Transplantation 2004;77:574-9.
19. Ramsay HM, Fryer AA, Hawley CM, Smith AG, Harden PN. Non melanoma skin cancer risk in the Queensland renal transplant population.  
Br J Dermatol 2002;147:950-6.
20. Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation.  
N Engl J Med 2003;345:1681-91.
21. DePry JL1, Reed KB, Cook-Norris RH, Brewer JD. Iatrogenic immunosuppression and cutaneous malignancy.  
Clin Dermatol. 2011 Nov-Dec;29(6):602-13. doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.08.009.
22. Parnes R, Safai B, Myskowski PL. Basal cell carcinomas and lymphoma: Biologic behaviour and associated factors in sixtythree patients.  
J Am Acad Dermatol 1988;19:1017-23.
23. Lefell DJ, Headington JT, Wong D, Swanson NA. Aggressivegrowth basal cell carcinoma in young adults.  
Arch Dermatol 1991;127:1663-7.
24. Oram Y, Orengo I, Griego RD, Rosen T, Thornby J. Histologic patterns of basal cell carcinoma based upon patient immunostatus.  
Dermatol Surg 1995;21:611-4.

25. Mertz KD1, Proske D, Kettelhack N, Kegel C, Keusch G, Schwarz A, Ambühl PM, Pfaltz M, Kempf W. Basal cell carcinoma in a series of renal transplant recipients: epidemiology and clinicopathologic features.  
Int J Dermatol. 2010 Apr;49(4):385-9. doi: 10.1111/j.1365-4632.2010.04370.x.
26. Mehrany K, Weenig RH, Pittelkow MR, Roenigk RK, Otley CC.  
High recurrence rates of basal cell carcinoma after Mohs surgery in patients with chronic lymphocytic leukaemia.  
Arch Dermatol 2004;140:985-8.
27. Kanitakis J, Alhaj-Ibrahim L, Euvrard S, Claudy A. Basal cell carcinomas developing in solid organ transplant recipients. Clinicopathologic study of 176 cases.  
Arch Dermatol 2003; 139:1133-7.
28. Brash DE. Sunlight and the onset of skin cancer.  
Trends Genet 1997;13:410-4.
29. Brash DE, Rudolph JA, Simon JA. A role for sunlight in skin cancer: UV induced p53 mutations in squamous cell carcinoma.  
Proc Natl Acad Sci U S A 1991;88:10124-8.
30. Reichrath J, Rass K. Ultraviolet damage, DNA repair and vitamin D in nonmelanoma skin cancer and in malignant melanoma: an update.  
Adv Exp Med Biol. 2014;810:208-33.
31. McGregor JM, Berkhout RM, Rozycka M, ter Schegget J, Bouwes Bavincke JN, Brooks L, et al. P53 mutations implicate sunlight in post-transplant skin cancer irrespective of human papillomavirus status.  
Oncogene 1997;15:1727-40.
32. Queille S1, Luron L, Spatz A, Avril MF, Ribrag V, Duvillard P, Hiesse C, Sarasin A, Armand JP, Daya-Grosjean L. Analysis of skin cancer risk factors in immunosuppressed renal transplant patients shows high levels of UV-specific tandem CC to TT mutations of the p53 gene.



Carcinogenesis. 2007 Mar;28(3):724-31. Epub 2006 Oct 25.

33. Berg D, Otley CC. Skin cancer in organ transplant recipients: Epidemiology, pathogenesis and management.

J Am Acad Dermatol 2002;47:1-17.

34. Boyd AS, Stasko T, Cameron GS, Russell M, King LE Jr. Histologic features of actinic keratoses in solid organ transplant recipients and healthy controls.

J Am Acad Dermatol 2001;45:217-21.

35. Cassarino DS1, Derienzo DP, Barr RJ. Cutaneous squamous cell carcinoma: a comprehensive clinicopathologic classification. Part one.

J Cutan Pathol. 2006 Mar;33(3):191-206.

36. Petter G, Haustein UF. Histologic subtyping and malignancy assessment of cutaneous squamous cell carcinoma.

Dermatol Surg 2000;26:521-30.

37. Pfister H. Human papillomavirus and skin cancer.

J Natl Cancer Inst Monogr 2003;31:52-6.

38. Bastiaens MT, Hoefnagel JJ, Bruijn JA, Westerndorp RGJ, Vermeer BJ, Bouwes Bavinck JN. Differences in age, site distribution, and sex between nodular and superficial basal cell carcinomas indicate different types of tumours.

J Invest Dermatol 1998;110:880-4.

39. Betti R1, Radaelli G, Mussino F, Menni S, Crosti C. Anatomic location and histopathologic subtype of basal cell carcinomas in adults younger than 40 or 90 and older: any difference?

Dermatol Surg. 2009 Feb;35(2):201-6. doi: 10.1111/j.1524-4725.2008.34410.x.

40. Valery PC, Neale R, Williams G, Pandeya N, Siller G, Green A. The effect of skin examination surveys on the incidence of basal cell carcinomas in a Queensland community sample: a 10-year longitudinal study.

J Investig Dermatol Symp Proc 2004;9:148-51.

41. Smith KJ, Hamza S, Skelton H. Histologic features in primary cutaneous squamous cell carcinomas in immunocompromised patients focusing on organ transplant patients.

Dermatol Surg 2004;30:634-41.

42. Walling HW, Fosko SW, Geraminejad PA, Whitaker DC, Arpey CJ. Aggressive basal cell carcinoma: Presentation, pathogenesis and management.

Cancer Metastasis Reviews 2004;23: 389-402.

43. Raasch BA1, Buettner PG, Garbe C. Basal cell carcinoma: histological classification and body-site distribution.

Br J Dermatol. 2006 Aug;155(2):401-7.

44. Cohen PR1, Schulze KE, Nelson BR. Basal cell carcinoma with mixed histology: a possible pathogenesis for recurrent skin cancer.

Dermatol Surg. 2006 Apr;32(4):542-51.

45. Young LC, Thulien KJ, Campbell MR, Tron VA, Andrew SE. DNA mismatch repair proteins promote apoptosis and suppress tumorigenesis in response to UVB irradiation: an in vivo study.

Carcinogenesis 2004;25:1821-7.

46. O'Donovan P, Perrett CM, Zhang X, Montaner B, Xu YZ, Harwood CA, et al. Azathioprine and UVA light generate mutagenic oxidative DNA damage.

Science 2005;309:1871-4.

47 . Argenyi ZB. Spindle cell neoplasms of the skin: A comprehensive diagnostic approach. Seminars in Dermatol 1989;8:283-97.

48. Buell JF1, Gross TG, Woodle ES. Malignancy after transplantation.

Transplantation. 2005 Oct 15;80(2 Suppl):S254-64.

49. Gutierrez-Dalmau A1, Campistol JM. Immunosuppressive therapy and malignancy in organ transplant recipients: a systematic review. *Drugs*. 2007;67(8):1167-98.
50. Sherston SN, Carroll RP, Harden PN, et al. Predictors of cancer risk in the long-term solid-organ transplant recipient. *Transplantation*. 2014;97(6): pag.605-11.
51. Harden PN1, Fryer AA, Reece S, Smith AG, Ramsay HM. Annual incidence and predicted risk of nonmelanoma skin cancer in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2001 Feb-Mar;33(1-2):1302-4.
52. Carroll RP1, Ramsay HM, Fryer AA, Hawley CM, Nicol DL, Harden PN. Incidence and prediction of nonmelanoma skin cancer post-renal transplantation: a prospective study in Queensland, Australia. *Am J Kidney Dis*. 2003 Mar;41(3):676-83.
46. Han J1, Colditz GA, Hunter DJ. Polymorphisms in the MTHFR and VDR genes and skin cancer risk. *Carcinogenesis*. 2007 Feb;28(2):390-7. Epub 2006 Aug 31.
53. Laing ME1, Cummins R, O'Grady A, O'Kelly P, Kay EW, Murphy GM. Aberrant DNA methylation associated with MTHFR C677T genetic polymorphism in cutaneous squamous cell carcinoma in renal transplant patients. *Br J Dermatol*. 2010 Aug;163(2):345-52. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09774.x. Epub 2010 Mar 19.