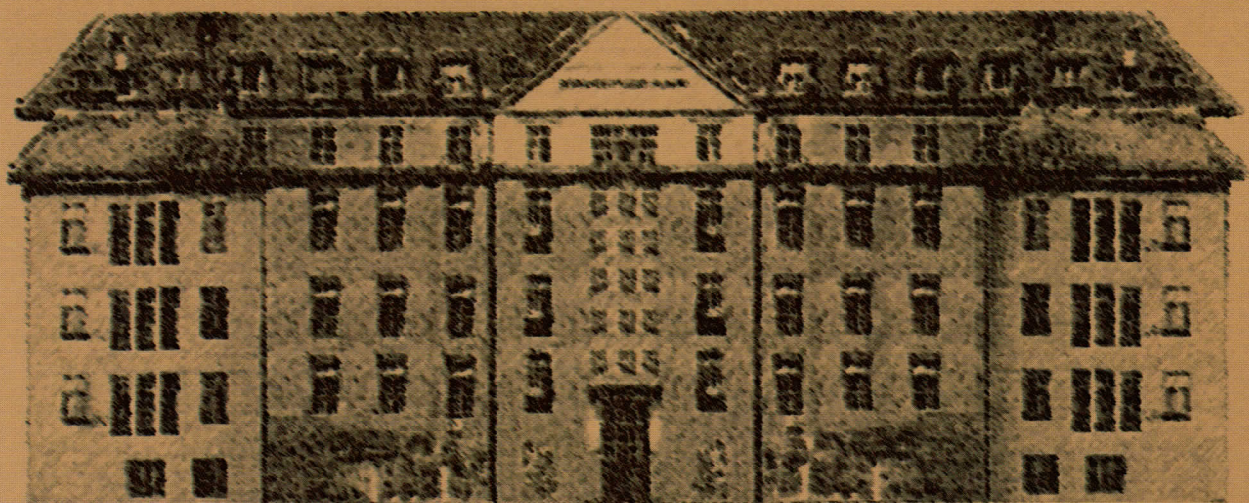


BÖRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI

Szemle

80. ÉVFOLYAM

2004. 5. SZÁM



**A SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM ÁLTALÁNOS
ORVOSTUDOMÁNYI KAR SZENT-GYÖRGYI ALBERT
ORVOS- ÉS GYÓGYSZERÉSZTUDOMÁNYI CENTRUM
BÖRGYÓGYÁSZATI ÉS ALLERGOLÓGIAI KLINIKA
JUBILEUMI KIADVÁNYA**

BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE

DERMATOLÓGIAI TÁRSULAT HIVATALOS KÖZLEMÉNYE
OFFICIAL JOURNAL OF THE HUNGARIAN DERMATOLOGICAL SOCIETY

Szerkesztőbizottság elnöke:

Dobozy Attila dr.

Főszerkesztő:

Temesvári Erzsébet dr.

Szerkesztő:

Ablonczy Éva dr.

A szerkesztőbizottság tagjai:

Baló Mátyás dr.	Nagy Endre dr.
Daróczy Judit dr.	Nagy Károly dr.
Farkas Beatrix dr.	Nebenführer László dr.
Hrabovszky Tamás dr.	Podányi Beáta dr.
Horkay Irén dr.	Schneider Imre dr.
Horváth Attila dr.	Simon Miklós dr.
Hunyadi János dr.	Török Éva dr.
Husz Sándor dr.	Török Ibolya dr.
Kárpáti Sarolta dr.	Török László dr.
Kemény Lajos dr.	Várkonyi Viktória dr.
Korom Irma dr.	Zombai Erzsébet dr.

TARTALOM

80. évf. 2004. 5. szám

Kemény Lajos dr.:

Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus köszöntése 65. születésnapja alkalmából245

*Kemény Lajos dr., Szolnoky Győző dr., Kenderessy Szabó Anna dr., Pivarcsi Andor dr.,
Nagy István, Koreck Andrea dr.:*

A keratinociták szerepe a természetes immunitásban247

*Bata Zsuzsanna dr., Farkas Árpád dr., Garaczi Edina dr., Gyulai Rolland dr., Kemény Lajos dr.,
Kenderessy Szabó Anna dr., Koreck Ildikó dr., Széll Márta dr.:*

A pikkelysömör betegség: gyógyítás és kutatómunka a Szegedi Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán
Dobozy Attila Professor úr tanszékvezetése alatt251

*Széll Márta dr., Sonkoly Enikő dr., Bata-Csörgő Zsuzsanna dr., Pivarcsi Andor dr., Polyánka Hilda,
Kenderessy Szabó Anna dr., Szentpáli Károly dr., Molnár Gergely dr., Kemény Lajos dr.:*

PRINS: egy új nem kódoló RNS gén azonosítása, expressziójának vizsgálata pikkelysömörben,
valamint különböző humán szervezetben és szövetekben255

*Husz Sándor dr., Kiss Mária dr., Perényi Ádám, Marczinovits Ilona dr., Altmayer Anita dr., Mihályi Lilla dr.,
Timár Krisztina dr., Csoma Zsanett dr., Molnár János dr.:*

Az $\alpha 6$ integrin ellenes autoantitestek bullosus pemphigoidban261

*Kószó Ferenc dr., Morvay Márta dr., Nagy Zsuzsanna dr., Pár Alajos dr., Nagy Ágnes dr., Földes Márta dr.,
Kovács Réka dr., Kiss Kornélia dr., Kemény Lajos dr.:*

Haemochromatosis gén (HFE) – mutációk hatása a porphyrinek megoszlására porphyria cutanea tardában265

Oláh Judit dr., Gyulai Rolland dr., Baltás Eszter dr., Szabad Gábor dr., Németh Réka dr.:

A digitális dermatoszkópia és computeres képanalízis jelentősége a bőrgyógyászati gyakorlatban269

Korom Irma dr., Oláh Judit dr., Varga Erika dr., Kapitány Klára dr.:

Melanoma malignum gyermekkorban275

Kapitány Klára dr., Ágoston Zsuzsanna dr., Kis Erika dr., Mohos Gábor dr., Szegedi Ilona dr., Varga János dr.:

Szövetátvitás a plasztikai sebészetben és dermatochirurgiában279

A Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle folyóiratban megjelent valamennyi eredeti írásos és képi anyag közlési joga a szerkesztőséget illeti. A megjelent anyagnak – vagy egy részének – bármely formában való másolásához, felhasználásához, ismételt megjelentetéséhez a szerkesztőség írásbeli hozzájárulása szükséges.

Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár köszöntése 65. születésnapja alkalmából

Laudation of Prof. Dr. Attila Dobozy at his 65 Birthday

„Csak azok számára létezik kedvező szél,
akik tudják, hogy milyen irányba tartanak”
(Seneca)



Dr. Dobozy Attila a Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikájának egyetemi tanára, akadémikus, a magyar bőrgyógyászat meghatározó egyénisége 2004. május 5-én töltötte be 65. életévét. Dobozy professzor dinamikus, széles látókörű, sokoldalú orvos és kutató, akinek határozott egyénisége biztosította, hogy a vezetése alatt álló klinika Európa-szerte ismert és elismert műhellyé vált.

Meglehetősen nehéz helyzetben vagyok, amikor köszöntőt írok annak a professzornak a tiszteletére, akinél

diákkörösként kezdtem működésem a Bőrgyógyászati Klinikán és most tanszéki utódként, a tanítvány alázatával, barátként tekintek vissza az elmúlt időkre. Nem könnyű ezt a köszöntőt a szubjektív érzések nélkül megírni, így azokat nem is hagyhatom figyelmen kívül, hiszen az utód, az előd nélkül nem itt tartana. Amikor 1980-ban III. éves hallgatóként a klinikára kerültem, Dobozy tanár úr munkacsoportjában kezdtem el dolgozni. Így csaknem a kezdetektől nyomon tudtam követni azt az imponáló pályafutást, amely a professzor úr munkásságát fémjelzi.

Meghatározó volt az a baráti légkör, a mindenkivel szembeni emberséges bánásmód, amely őt, mint a laboratórium vezetőjét jellemezték. Természetesen ugyanilyen mély benyomásokat hagyott bennem a klinikai és tudományos munkához való hozzáállása, rendkívüli irodalmi tájékozottsága, az új ötletek és megvalósításukhoz vezető utak gyors megtalálása és a kutatói etika maradéktalan érvényesítése.

Dobozy professzor 1963-ban Szegeden szerzett orvosi diplomát. Egyetemi évei alatt az Élettani Intézetben végzett tudományos munkát, majd a diploma megszerzését követően 5 évig Ivanovics professzor irányítása mellett a Mikrobiológiai Intézetben dolgozott. Ez idő alatt 4 szemesztert végzett a József Attila Tudományegyetem Vegyész Szakán. 1968-ban Simon Miklós professzor meghívására került a szegedi Bőrgyógyászati Klinikára, ahol sokirányú klinikai, tudományos és oktató tevékenysége kiteljesedett. Ettől kezdve a szakmai és tudományos hierarchiában fokozatosan haladt előre. Kitűnő oktatói és klinikai tevékenysége mellett nagyon jelentős tudományos munkát végzett és nemzetközi viszonylatban is elismert eredményeket ért el. Előbb laboratóriumi ismeretekből, bőrgyógyászatból és venerológiából, allergológiából és klinikai immunológiából, majd klinikai farmakológiából szerzett szakképesítést. Kandidátusi értekezését 1977-ben, míg akadémiai doktori értekezését 1991-ben védte meg. Klinikai és tudományos szervező tevékenysége, magas szintű tudományos munkássága alapján 1998-ban az MTA levelező, majd 2004-ban az MTA rendes tagjává választották.

Professzor urat 1986-ban nevezték ki a szegedi Bőrgyógyászati Klinikára intézetvezető egyetemi tanárnak. Egyik legfontosabb feladatának az akkor már Európa-szerte ismert szegedi Bőrgyógyászati Klinika hagyományainak és színvonalának megőrzését tartotta. Tizennyolc éves tanészékvezetői tevékenysége után elmondhatjuk, hogy irányítása mellett a Klinika ezeket az értékeket nemcsak megőrizte, hanem jelentősen tovább is fejlesztette. Korszerűsítette a betegellátás, az oktatás és a kutatás feltételeit. A korábbi nagy kórtermekből négyágyas kórtermeket, új plasztikai sebészeti osztályt és műtőt hozott létre, vala-

mint szociális helységeket alakított ki. Számos új profilambulanciát létesített, bővítette és átalakította a járóbeteget-rendelőt. Hazai és külföldi pályázatokból, valamint adományokból felújította a klinika műszerparkját. A diagnosztikában korszerű immunológiai és molekuláris biológiai módszereket vezetett be. A klinika tudományos munkájának feltételeit sikeres hazai és külföldi pályázatok teremttették meg. A tudomány és az oktatás iránti elkötelezettségét jelzi, hogy a Szegedi Tudományegyetem "Klinikai Orvostudomány" Doktori Iskola vezetője, 2001-ben pedig létrehozta az MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoportját. Érdeklődési területének középpontjában a klinikai immunológia és az allergológia áll, ennek következtében Magyarország egyik legelismertebb klinikai immunológiával foglalkozó intézetét hozta létre, amely alapul szolgált ahhoz, hogy itt alakuljon meg az ország első Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikája.

A klinika korábban is kiemelkedő nemzetközi kapcsolatai az elmúlt évtizedek során tovább bővültek, a munkatársak nagy többsége éveket töltött vezető nyugat-európai, egyesült államokbeli és japán intézetekben. Dobozy professzor elismertségét jelzi, hogy az elmúlt évek során több, jelentős nemzetközi rendezvény szervezésével is megbízták. Személyét megbecsülés és tisztelet övezi, melyet számos hazai és külföldi választott tisztség és megbíztatás, valamint több rangos kitüntetés jelez. Az egyetemi közéletben sok feladatot kapott. 1997-től 1999-ig a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem rektora, majd az egyesített Szegedi Tudományegyetem általános rektorhelyettese és a Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszer-tudományi Centrum elnöke volt.

Dobozy professzor pályafutása jól példázza azt a klinikus professzort, aki elméleti intézetből jött kitűnő alapokkal és erre építette tudományos munkásságát, amely azonban sohasem szakadt el a klinikumtól.

Kedves Attila! Fogadd szeretettel ezt a munkatársaid által összeállított ünnepi számot.

További munkádhoz sok sikert, aktivitást, kitartást és jó egészséget kíván a klinika minden dolgozója nevében tanítványod,

Dr. Kemény Lajos

*Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert
Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum Általános Orvostudományi Kar
Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika (igazgató: Kemény Lajos dr., egyetemi tanár)¹,
MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged
(kutatócsoport vezető: Dobozy Attila dr., egyetemi tanár)²*

A keratinociták szerepe a természetes immunitásban The role of keratinocytes in the innate immunity

KEMÉNY LAJOS DR.¹, SZOLNOKY GYŐZŐ DR.¹, KENDERESSY SZABÓ ANNA DR.¹,
PIVARCSI ANDOR DR.², NAGY ISTVÁN DR.², KORECK ANDREA DR.¹

ÖSSZEFOGLALÁS

A keratinociták immunológiailag aktív sejtek, melyek a bőrre kerülő mikróbak felismerésére és elpusztítására képesek. A kórokozók konzervált szerkezetű mikrobiális struktúráit, az ún. patogén-asszociált molekuláris mintázatokat (pathogen-associated molecular pattern, PAMP) a keratinociták felszínén kifejeződő mintázatfelismerő receptorok (pattern recognition receptorok, PRR) ismerik fel. A PRR receptorok aktivációját követően a keratinocitákban antimikrobiális peptidok, nitrogénmonoxid (NO), továbbá gyulladáskeltő citokinek termelődnek. Az említett mediátoroknak részben direkt antimikrobiális hatásuk van, másrészt professzionális immunsejtek számára kemotaktikus hívójelként szolgálnak. Ezen adatok arra mutatnak, hogy a keratinociták fontos szerepet töltenek be a természetes immunitásban.

Kulcsszavak:

**keratinocita - természetes immunitás -
receptor - védekezés**

SUMMARY

Keratinocytes are immunologically active cells, that are able to recognize and kill living microbes. The highly conserved structures of the pathogens (the pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), are recognized by the different pattern recognition receptors (PRRs) present on the surface of the keratinocytes. Activation of the PRRs result in the production of antimicrobial peptides, nitric oxide (NO) and inflammatory cytokines in the keratinocytes. These mediators have direct antimicrobial effects, and attract professional immune cells into the skin. These findings stress the importance of the role of keratinocytes in innate immunity.

Key words:

**keratinocyte - innate immunity - receptor -
host defence**

A bőr immunrendszer

A gerincesek immunrendszere két komponensből tevődik össze: az ősi jellegű veleszületett vagy természetes és a később kialakult adaptív immunrendszerből. A természetes immunrendszer legfontosabb feladata az idegen, illetve megváltozott saját struktúrák felismerése. Ez a felismerés létfontosságú az immunrendszer adaptív részének aktiválásához. Ez a két rendszer eltérő mechanizmussal vesz részt a szervezet védelmében. A veleszületett immunrendszer konzervált szerkezetű receptorok működésén alapul, amelyeket számos sejttípus kifejez, mint pl. makrofágok, neutrofilek és határfelületeket biztosító epitéliumok sejtjei. A bőr immunrendszerének felépítésében makrofágok, neutrofilek, dendritikus sejtek, limfociták, valamint nem

professzionális immunsejtek, pl. keratinociták vesznek részt (1).

Munkacsoportunk mutatta ki elsőként, hogy a keratinociták élő kórokozók elpusztítására képesek (2-4), ezen antimikrobiális aktivitás pontos mechanizmusa azonban sokáig nem volt ismert.

A keratinociták mintázatfelismerő receptorai

A patogénnel szembeni hatékony védekezés előfeltétele azok felismerése. A mikroorganizmusok felismerésében kiemelkedő jelentőségük van az ún. mintázatfelismerő receptoroknak (Pattern recognition receptors, PRRs). A mintázatfelismerő receptorok konzervált szerkezetű mikrobiális struktúrákat, ún. patogén-asszociált molekuláris mintázatokat (Pathogen-associated molecular pattern, PAMP) ismernek fel, amelyek a mikroorganizmusok adott csoportján belül állandó jelleggel megtalálhatóak. Ilyen

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére

patogén-asszociált molekuláris mintázat a lipopoliszaharid (LPS) a Gram-negatív baktériumok, a mannan a gombák, a lipoarabinomannán a Mycobaktériumok és a peptidoglikán (PGN) a Gram-pozitív baktériumok sejtfalában. Az utóbbi 10 év során számos mintázatfelismerő receptort fedeztek fel, amelyek szerepet játszanak a komplement rendszer aktiválásában, az opsonizációban és a fagocitózisban. Mindazonáltal egészen mostanáig csak nagyon kevés ismeretünk volt arról, hogy a keratinociták milyen PRR struktúrákkal rendelkeznek.

Keratinociták mannoz-kötő receptora (KcMR)

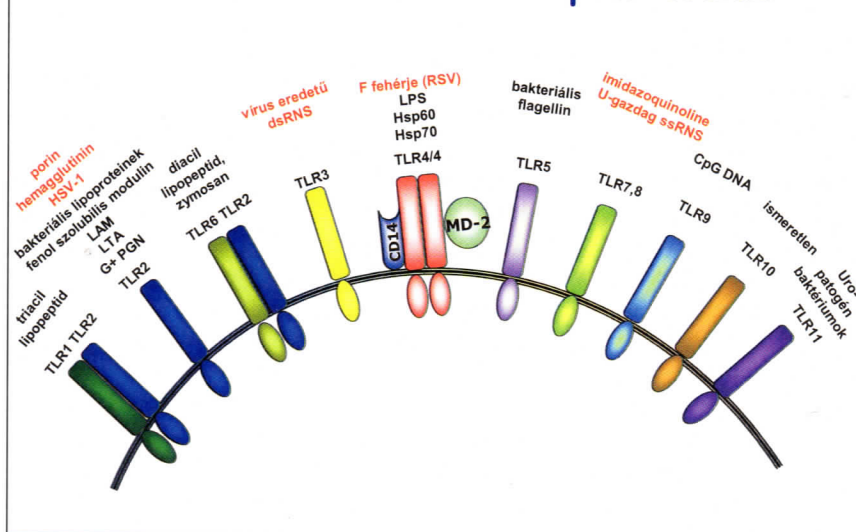
A humán makrofág mannoz receptor egy jól jellemzett ligand kötő struktúra. Ezen mannoz receptorok mediálják a különböző glikoproteinek endocitózis útján történő eltávolítását és részt vesznek számos mikroorganizmus fagocitózisában. *Maródi és munkatársai* közölték (5-7), hogy a makrofágok képesek a *Candida albicans* sejtek elölésére és a mannoz receptorok aktív szerepet játszanak a makrofágok ezen ölü tevékenységében. A keratinociták mannoz kötő receptorát (KcMR) munkacsoportunk jellemezte (8;9). Megállapítottuk, hogy a KcMR különbözik a makrofág mannoz receptortól. Eredményeink szerint a KcMR egy tripszin érzékeny, 200 kDa fehérje, amely elsősorban a suprabasalis keratinocitákon fejeződik ki, és szerepe van a keratinociták *Candida*-ölő aktivitásában (8). Radioligand kötési próbával megállapítottuk a ligand kötő helyek számát és a kötési affinitást ($K_d=1.4 \times 10^{-8}$ M; $B_{max}=10^4$ /sejt). Eredményeink arra utalnak, hogy a KcMR nem az endocitotikus jellegű C-típusú lektinek csoportjának tagja, mivel a receptor ligand kötést követően nem internalizálódik.

Keratinociták Toll-like receptorai

Néhány éve fedezték fel a mintázatfelismerő receptorok új családját a Toll-like receptorokat (a *Drosophila* Toll receptorának humán homológjai; TLR-ek), amelyek több sejttípusban is létfontosságúnak bizonyultak a patogénekre adott válaszok kialakításában (10). Az utóbbi években 11 humán TLR-t azonosítottak, amelyek nagy szekvencia homológiát mutatnak egymással, de ligandspecifitásuk eltérő (1. ábra).

Munkacsoportunk vizsgálta a TLR-ek kifejeződését keratinocitákon. Eredményeink szerint tenyésztett keratinocitákban mind a TLR2, mind a TLR4 kifejeződik mRNS és fehérje szinten is. Immunhisztokémiai festésekkel kimutattuk, hogy a normál humán bőrben az epidermisz keratinocitái pozitív festődést mutatnak anti-humán TLR2, valamint anti-humán TLR4 ellenanyagokkal, igazolván, hogy e mintázat felismerő receptoroknak fontos szerepe

Az emlős Toll Like Receptor család



1. ábra.

A humán Toll-like receptorok és ligandjaik

lehet a bőr patogénekkal szembeni védekező képességében (11). Eredményeink szerint a TLR2 és a TLR4 receptorok erősebben fejeződnek ki a differenciáltabb, suprabasalis sejteken (12). Különböző mikrobiális anyagok, valamint hővel előlt patogének a TLR-eken keresztül befolyásolják a keratinociták citokin termelését. Lipopoliszaharid (LPS), *Staphylococcus aureus* peptidoglycan (PGN), hővel előlt *Candida albicans*, tuberkulin (*Mycobacterium tuberculosis* preparátum) fokozzák a keratinociták IL-8-termelését. A mikrobák hatására a keratinocitákból felszabaduló IL-8-nak fontos szerepe lehet a professzionális immunsejteknek a fertőzés helyére történő irányításában. Funkcionális TLR2 illetve TLR4 blokkoló ellenanyagokkal végzett kísérletekben gátolni tudtuk az LPS, valamint a PGN által okozott IL-8-indukciót keratinocitákban, ami igazolja a TLR-ek szerepét a keratinociták aktivációjában.

Mikrobiális anyagok PAMP struktúrái a keratinocita PRR receptorokhoz történő kötődése után szignáltranszdukciós mechanizmusokat indítanak be. Saját vizsgálataink szerint a keratinociták mikrobiális ligandokkal történő aktivációja az NF- κ B sejtmagi transzlokációját indukálja, és az NF- κ B aktiválódásának blokkolása gátolja a keratinociták *Candida*-ölő képességét (13).

Keratinociták CD1d molekulái

A CD1 molekulák egy konzervált, nem poliform szerkezetű, antigénprezentáló sejtfelszíni glicolipid családot alkotnak, melyek lipid és glicolipid antigéneket képesek prezentálni a T sejteknek. A CD1 molekulák szerkezete az I típusú HLA antigénekéhez hasonló, de az aminosav szekvenciákban a két antigénprezentáló molekulatípus között markáns eltérések vannak, ami arra utal, hogy a funkciójuk is eltérő lehet. A nukleotid és aminosav szekvenciák alapján a CD1 molekulákat két csoportba lehet sorolni: az I. csoportba a CD1a, b és c molekulák tartoznak és

a II. csoportot a CD1d alkotja (14). A CD1d molekulák szerepe abban nyilvánul meg, hogy az NKT sejteknek lipid és glicolipid antigéneket prezentálnak. Az NKT sejtek gyors aktiválódásra és citokin termelésre képesek, és fontos szerepük van a veleszületett és az adaptív immunrendszer sejtjei között létrejövő kommunikációban (15). Munkacsoportunk vizsgálta a CD1d kifejeződését a bőrben. A keratinociták a CD1d molekulának két izoformáját fejezik ki, egy 30 kDa-os és egy 47 kDa-os formát (16;17). pikkelysömörös betegek bőrében a CD1d fokozott kifejeződése mutatható ki (16). Mivel számos mikroorganizmus szerkezetében lipid antigének vannak jelen, a lipid antigének prezentációja CD1d molekulák révén fontos szerepet játszhat a bőr patogének elleni védekezési mechanizmusában.

A keratinociták ölü aktivitásai: effektor mechanizmusok

Nitrogénoxid (NO)

A nitrogénoxid (NO) az L-arginin citrullinná alakulása közben képződő szabad gyök, amelynek antimikrobiális hatása bizonyított. Az NO képződés a nitrogénoxid-szintáz (NOS) enzimek, elsősorban az endotélsejtekben kimutatható konstitutív NOS (cNOS), a neurális eredetű NOS (nNOS) valamint a többféle sejtben (elsősorban a makrofágokban) kimutatható indukálható NOS (iNOS) enzimek aktív működésének eredménye. Keratinocitákban mind az iNOS, mind a cNOS kifejeződik (18). A keratinociták ultraibolya (UV) fény besugárzást követően NO-t termelnek, melynek szerepe lehet az UV fény gyulladáskeltő hatásában (19). Keratinocitában az IL-8 és az IFN- α fokozza az iNOS expresszióját, ezzel összhangban citokin-mediált bőrbetegségben, a pikkelysömörös tünetes lézióban fokozott iNOS expressziót mutattak ki *in vivo* (20;21).

Saját eredményeink szerint a keratinociták *Candida*-ölő aktivitása az L-NAME (arginin-analóg, a NOS kompetitív inhibitora), és az 1400 W (az iNOS specifikus gátlószere) jelenlétében teljes mértékben gátlható, ami az NO szerepére utal a keratinociták ölü aktivitásában (22). Az iNOS szerepének további igazolására iNOS knock-out egér bőrből szeparált keratinociták *Candida*-ölése szignifikánsan csökkent a vad típusú (+/+) egérhez képest. Ezen eredményünk további bizonyíték arra vonatkozóan, hogy a keratinociták ölü aktivitásában az iNOS-nak fontos szerepe van. Ennek megállapítására, hogy melyik keratinocita szubpopuláció felelős az NO termeléséért, a K1/K10 negatív, proliferáló őssejtek és a K1/K10 pozitív differenciáló keratinociták

NO termelését vizsgáltuk. *In vitro* végzett vizsgálataink szerint a keratinociták NO termeléséért és a *Candida*-ölő aktivitásáért a differenciáltabb K1/K10 markert hordozó sejtek a felelősek.

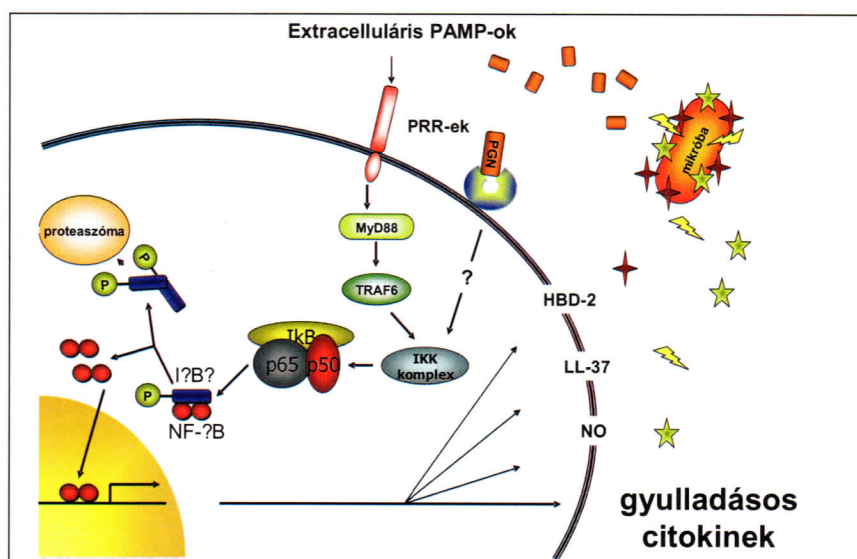
Antimikrobiális peptidok

A természetes immunitásban fontos szerepet játszanak az immunsejtekben termelődő antimikrobiális peptidok. A bőrben az antimikrobiális peptidok közül a béta-defensinek és a cathelicidinek fordulnak elő, melyek antimikrobiális hatása számos baktérium, gomba és vírus ellen bizonyított (23;24). Ezen peptidok egy része a humán bőrben konstitutív módon fejeződik ki, mint pl. a humán béta-defensin-1 (HBD-1), más peptidok termelődése különféle stimulusok hatására indukálódik, mint pl. a HBD-2 és a cathelicidin LL-37 (23;25).

Atopiás dermatitisben szenvedő betegek bőrében ezen antimikrobiális hatású peptidok termelődése csökkent, és ennek következtében gyakori az atopiás dermatitises betegknél a bakteriális és virális szuperinfekció (26). Pikkelysömörös betegek bőrében ezzel szemben a HBD-2 fokozott kifejeződése mutatható ki, amely a pikkelysömörös plakkok baktériumokkal szembeni fokozott rezisztenciájáért lehet felelős (23). Mindezen adatok arra utalnak, hogy a humán bőrben a keratinociták által termelt antimikrobiális peptidok fontos szerepet töltenek be a természetes immunitásban.

Keratinociták és mikrobák interakciója

A hám felszínére kerülő apatogén és patogén kórokozók PAMP struktúráit a keratinociták mintázatfelismerő receptorai felismerik, és különböző szignáltranszdukciós utak aktiválását követően a keratinocitákban NO és antimikrobiális peptidok, mint pl. HBD-2 és LL-37 termelődnek (2. ábra). Ezen túlmenően a keratinocitákban más gyulladáscitokinek (pl. TNF- α , IL-1) és kemokinek



2. ábra

Mikrobiális eredetű ligandok által kiváltott antimikrobiális válasz keratinocitákban

(pl. IL-8) is termelődnek, melyek a természetes és szerzett immunitásban résztvevő további sejtek aktivációját eredményezve a mikrobák hatékonyabb eliminációját eredményezik.

IRODALOM

1. Bos, J. D., Zonneveld, I., Das, P. K. et al.: The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in normal human skin. *J. Invest. Dermatol.* (1987) 88, 569-573.
2. Csató, M., Bozóky, B., Hunyadi, J. et al.: *Candida albicans* phagocytosis by separated human epidermal cells. *Arch. Dermatol. Res.* (1986) 279, 136-139.
3. Csató, M., Kenderessy, A. Sz., and Dobozy, A.: Enhancement of *Candida albicans* killing activity of separated human epidermal cells by ultraviolet radiation. *Br. J. Dermatol.* (1987) 116, 469-475.
4. Csató, M., Kenderessy, A. Sz., Judák, R. et al.: Inflammatory mediators are involved in the *Candida albicans* killing activity of human epidermal cells. *Arch. Dermatol. Res.* (1990) 282, 348-350.
5. Maródi, L., Korchak, H. M., and Johnston, R. B., Jr.: Mechanisms of host defense against *Candida* species. I. Phagocytosis by monocytes and monocyte-derived macrophages. *J. Immunol.* (1991) 146, 2783-2789.
6. Maródi, L., Forehand, J. R., and Johnston, R. B., Jr.: Mechanisms of host defense against *Candida* species. II. Biochemical basis for the killing of *Candida* by mononuclear phagocytes. *J. Immunol.* (1991) 146, 2790-2794.
7. Maródi, L., Schreiber, S., Anderson, D. C. et al.: Enhancement of macrophage candidacidal activity by interferon- γ . Increased phagocytosis, killing, and calcium signal mediated by a decreased number of mannose receptors. *J. Clin. Invest.* (1993) 91, 2596-2601.
8. Szolnoky, G., Bata-Csörgő, Zs., Kenderessy, A. Sz. et al.: A mannose-binding receptor is expressed on human keratinocytes and mediates killing of *Candida albicans*. *J. Invest. Dermatol.* (2001) 117, 205-213.
9. Szolnoky, Gy., Kemény, L., Kenderessy-Szabó, A. et al.: A humán keratinocita mannóz kötő receptorok jellemzése. *Bőrgyógy. Vener. Szle.* (2000) 76, 3-6.
10. Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T. et al.: Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* (1999) 11, 443-51.
11. Pivarcsi, A., Bodai, L., Réthi, B. et al.: Expression and function of Toll-like receptors 2 and 4 in human keratinocytes. *Int. Immunol.* (2003) 15, 721-730.
12. Pivarcsi, A., Koreck, A., Bodai, L. et al.: Differentiation-regulated expression of Toll-like receptors 2 and 4 in HaCaT keratinocytes. *Arch. Dermatol. Res.* (2004) 296, 120-124.
13. Pivarcsi, A., Réthi, B., Szell, M. et al.: Toll-like receptors 2 and 4 are expressed on human keratinocytes and mediate the killing of pathogens. *J. Invest. Dermatol.* (2001) 117, 803(Abtract)
14. Porcelli, S. A. and Modlin, R. L.: The CD1 system: antigen-presenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids. *Annu. Rev. Immunol.* (1999) 17, 297-329.
15. Carnaud, C., Lee, D., Donnars, O. et al.: Cutting edge: Cross-talk between cells of the innate immune system: NKT cells rapidly activate NK cells. *J. Immunol.* (1999) 163, 4647-4650.
16. Koreck, A., Szőny, B. J., Farkas, A. et al.: Fokozott CD1d kifejeződés psoriasisos bőrben. Increased CD1d expression in psoriatic skin. *Bőrgyógy. Vener. Szle.* (2001) 77, 197-200.
17. Koreck, A., Széll, M., Pivarcsi, A. et al.: Distinct isoforms of CD1d are expressed in keratinocytes in a proliferation-differentiation dependent manner. *J. Invest. Dermatol.* (2002) 119, 748 (Abstract)
18. Bruch-Gerharz, D., Ruzicka, T., and Kolb-Bachofen, V.: Nitric oxide in human skin: current status and future prospects. *J. Invest. Dermatol.* (1998) 110, 1-7.
19. Deliconstantinos, G., Villiotou, V., and Stravrides, J. C.: Release by ultraviolet B (u.v.B) radiation of nitric oxide (NO) from human keratinocytes: a potential role for nitric oxide in erythema production. *Br. J. Pharmacol.* (1995) 114, 1257-1265.
20. Bruch-Gerharz, D., Fehsel, K., Suschek, C. et al.: A proinflammatory activity of interleukin 8 in human skin: expression of the inducible nitric oxide synthase in psoriatic lesions and cultured keratinocytes. *J. Exp. Med.* (1996) 184, 2007-2012.
21. Sirsjo, A., Karlsson, M., Gidlof, A. et al.: Increased expression of inducible nitric oxide synthase in psoriatic skin and cytokine-stimulated cultured keratinocytes. *Br. J. Dermatol.* (1996) 134, 643-648.
22. Kenderessy, A. Sz., Kemény, L., and Dobozy, A. (1996): Nitric oxide is involved in the *Candida albicans* killing activity of keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* (1996) 107, 452 (Abstract)
23. Harder, J., Bartels, J., Christophers, E. et al.: A peptide antibiotic from human skin. *Nature* (1997) 387, 861
24. Fulton, C., Anderson, G. M., Zasloff, M. et al.: Expression of natural peptide antibiotics in human skin. *Lancet* (1997) 350, 1750-1751.
25. Frohm, M., Agerberth, B., Ahangari, G. et al.: The expression of the gene coding for the antibacterial peptide LL-37 is induced in human keratinocytes during inflammatory disorders. *J. Biol. Chem.* (1997) 272, 15258-15263.
26. Ong, P. Y., Ohtake, T., Brandt, C. et al.: Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.* (2002) 347, 1151-1160.

*Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum,
Általános Orvostudományi Kar Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika
(igazgató: Kemény Lajos dr., egyetemi tanár)¹; MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged
(kutatócsoport vezető: Dobozy Attila dr., egyetemi tanár), közleménye²*

A pikkelysömör betegség: gyógyítás és kutatómunka a Szegedi Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán Dobozy Attila Professzor úr tanszékvezetése alatt*

Psoriasis: treatment and research at the Department of Dermatology and Allergology Szeged during the chairmanship of Prof Attila Dobozy

BATA ZSUZSANNA DR.^{1,2*}, FARKAS ÁRPÁD DR.¹, GARACZI EDINA DR.¹,
GYULAI ROLLAND DR.¹, KEMÉNY LAJOS DR.^{1,2}, KENDERESSY SZABÓ ANNA DR.¹,
KORECK ILDIKÓ DR.¹, SZÉLL MÁRTA DR.²

ÖSSZEFOGLALÁS

A szegedi Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán a 80-as évek elején, még Simon Miklós tanszékvezetése alatt, Dobozy Attila és Hunyadi János kezdték el a pikkelysömör pathomechanizmusát vizsgáló kutatómunkát. A Dobozy Attila tanszékvezetése alatt eltelt utóbbi 18 évben a klinikán folyó kutatómunka egyik fő profiljává fejlődött e gyakori bőrbetegség vizsgálata. Az intenzív kutatás mellett, melynek egy része nemzetközi kooperációban folyik, az új terápiás eljárások bevezetésében is élen járt a klinika. Jelen írásban e kutatások publikált eredményeinek rövid összefoglalása olvasható.

Kulcsszavak:
**pikkelysömör - citokinek - T sejtek -
fénykezelés**

SUMMARY

Research on the pathomechanism of psoriasis was initiated in the early eighties by Attila Dobozy and János Hunyadi at the Department of Dermatology and Allergology of Szeged under the chairmanship of Miklós Simon. In the last 18 years since Attila Dobozy became the chairman psoriasis has become one of the major research areas at the clinic. Beside intensive research, done partially with international cooperation, physicians at the clinic have introduced and even pioneered new therapies for the disease. A brief summary of the published results of the Department's psoriasis research is given in this article.

Key words:
**psoriasis - cytokines - T cells -
phototherapy**

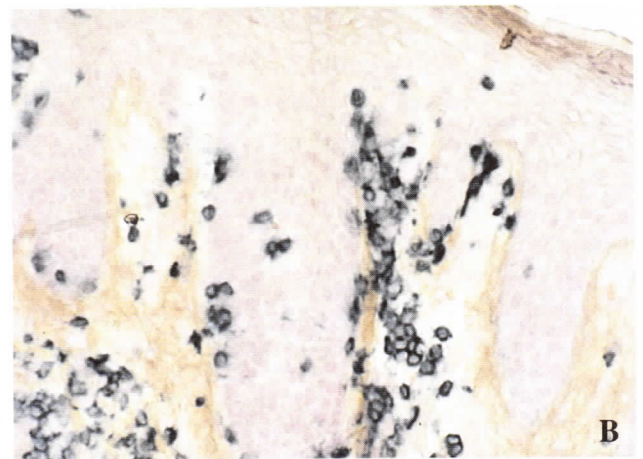
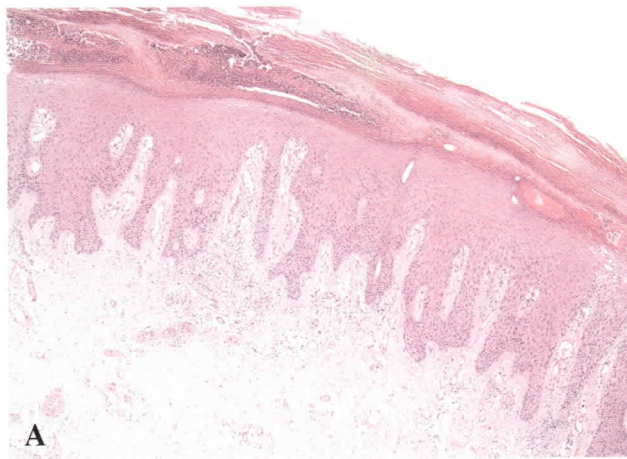
A klinikai adatok alapján a pikkelysömör betegség a poligénesen öröklődő betegségcsoportba tartozik, melyben a genetikai háttér fenotipikus megnyilvánulását egyelőre nem pontosan meghatározott, az élet során véletlenszerűen ható, környezeti faktorokként emlegetett tényezők segítik elő (1). Krónikus betegség, amelyben tünetmentességet a kezeléssel el lehet érni, de definitív gyógyulást nem. A betegség főleg a bőrt érinti és amerikai statisztikai adatok szerint a bőrbetegek 8%-ban fordul elő, tehát az egyik leggyakoribb bőrbetegség.

A pikkelysömörös lézió szövettani jellemzői: granuloci-

ta gyülem a stratum corneumban (Munro-féle mikroabszcessusok), T limfocita infiltráció az epidermiszben, dermiszben, keratinocita hiperproliferáció és kóros differenciálódás (1. ábra). A kifejezett gyulladáshoz tünetek alapján felmerült, hogy a betegség patomechanizmusában immunológiai folyamatok is részt vesznek.

A Szegedi Bőrklinikán folyó pikkelysömörrel kapcsolatos kutatómunka kezdete Dobozy Attila és Hunyadi János nevéhez fűződik. E kutatómunka fókuszában kezdetben és részben később is, a betegség immunológiai eltéréseinek vizsgálata állt. Már 1980-ban közölték azt a megfigyelésüket, hogy a pikkelysömörös betegek perifériás vérében a mononukleáris sejtek szuppresszor funkciója csökkent (2), majd 1981-ben, ekkor már Csató Miklóssal közösen,

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére



1. ábra

A pikkelysömör jellegzetes histológiája A: HE festés, B: CD3 pozitív sejtek, immunhisztokémia

arról is beszámoltak, hogy a granulocita funkciók is károsodtak a betegségben (3, 4).

Kemény Lajos munkatársaival leírta, hogy a pikkelysömörös léziós bőrből magasabb az IL-8 szint, valamint az IL-8 receptor (IL-8R) kifejeződés a hámsejteken (5-11). Feltételezték, hogy a fokozott IL-8 kifejeződésnek szerepe van a neutrofil infiltráció és a keratinocita proliferáció kialakításában. Megállapították, hogy a keratinocitán az IL-8 HLA-DR kifejeződést indukál (12). Kimutatták, hogy különböző antipszoriátikus szerek (ciklosporin, calcipotriol, dithranol, tacrolimus és betametazon) egyrészt gátolják a keratinocita IL-8 kötését, ugyanakkor a polimorfonukleáris leukociták (PMNL) IL-8 kötését nem befolyásolják, másrészt gátolják az IL-8 indukálta HLA-DR kifejeződést a hámsejteken (7, 9, 13). Az IL-8 és IL-8 receptorral kapcsolatos vizsgálatok során PMNL felülűszójából az IL-8 biológiai aktivitását gátló fehérjét izoláltak (IL-8 INH) (14).

Az IL-8 és receptorának vizsgálata mellett kutatásai során a gyulladásos folyamatokban és a kóros keratinocita proliferációban feltehetően szerepet játszó egyéb receptoroknak és azok funkcióinak, valamint a funkciók antipszoriátikus szerekkel való befolyásolhatóságának vizsgálatát is elvégezték (12-HETE receptor, EGF receptor, IL-10 receptor, SP és VIP receptorok) (9, 13, 15-19). Elsőként közölték, hogy a humán keratinociták funkcionális IL-10 receptorral (IL-10R) rendelkeznek (20). A pikkelysömörös plakkokban az IL-10R kifejeződése alacsonyabb, mint a tünetmentes bőrtületeken. Dithranol kezelés hatására HaCaT keratinocitákon az IL-10R kifejeződés fokozódik (21).

A dithranol egy régi, 80-90 éve használt, meglehetősen jó hatású, lokálisan alkalmazott antipszoriátikus szer. Hatásmechanizmusának vizsgálata a világon szinte egyedülállóan a Szegedi Bőrklinikán folyik. Kemény és mtsai számos lényeges megfigyelést közöltek a dithranol hatásairól, melyeknek szerepe lehet az antipszoriátikus hatás kifejtésében (19, 21).

A 90-es évek elején már jónéhány indirekt evidencia volt arra nézve, hogy a pikkelysömörös bőrelváltozás

kialakításában a bőrt infiltráló aktivált T sejteknek kulcs szerepe van. Beszámoltak arról, hogy allogénikus csontvelőtranszplantáció a betegség gyógyulását, más esetben kialakulását okozta. 1986-ban közölték Ann Arborból (USA) a ciklosporin jó terápiás effektusát igazoló nagy klinikai vizsgálat eredményét a betegségben (22). A következő évben már a Szegedi Bőrklinikán is folytak klinikai vizsgálatok a ciklosporin pikkelysömörben való alkalmazásával kapcsolatban.

A pikkelysömörös léziós hámsejtek áramlásos citometriás vizsgálata során fény derült arra, hogy a hámsejtek kórosan felfokozott proliferációja a hám bazális rétegében elhelyezkedő, nem differenciálódó (keratin 1, keratin 10-et nem kifejező) sejtek populációját érinti. A hámiban elhelyezkedő proliferatív képességgel bíró hámsejtek jellemzően kifejezik a $\beta 1$ integrint. A $\beta 1$ integrin pozitív keratinociták egy része keratin 1/10 negatív, ezek a legbazálisabban elhelyezkedő sejtek az in vivo szövetben, és az ép epidermiszben közöttük alig található aktuálisan osztódó sejt. Ez az a hámsejt populáció, melyben a keratinocita őssejtek találhatóak. Ezen sejtek fölött, közvetlenül szuprabazálisan helyezkednek el a folyamatosan osztódó, már keratin 1/10 kifejeződést mutató, de még $\beta 1$ integrint kifejező hámsejtek, melyeket átmeneti osztódó sejteknek (transiently amplifying cells (TAC)) nevezünk (23). A pikkelysömörös lézióból származó T sejt klónok között a $CD4^+$ sejtek in vitro aktiváció hatására jellemzően γ -IFN-t, GM-CSF és IL-3-at termelnek. A γ -IFN önmagában nem, de GM-CSF és IL-3 jelenlétében mitogén hatásának bizonyult pikkelysömörös tünetmentes bőrből származó $\beta 1$ integrin+ keratin 1/10⁻ hámsejtekre. Egészséges bőrből származó sejteken ilyen hatást nem észleltünk (24). Ezek az eredményeink egyrészt arra utaltak, hogy a T sejt limfokinek szerepet játszanak a keratinocita hiperplázia kialakításában pikkelysömörben, másrészt azt is bizonyították, hogy a pikkelysömörös bőr keratinocitái a normális keratinocitáktól eltérően viselkednek. A hámsejtek eltérő viselkedésének okait vizsgálva később megállapítottuk, hogy a pikkelysömörös tünetmentes bőrből a normál bőr keratinocitáitól eltérően a hámsejtek

erősen kifejezik az $\alpha 5$ integrint, a fibronectin extracelluláris mátrix ligandját. Feltehető, hogy ez a kóros $\alpha 5$ integrin kifejeződés a sejtek limfokinekre és fibronectinre adott fokozott proliferatív reakciójában szerepet játszik (25). *Ting és mtsai* 2000-ben leírták, hogy a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben a bazális sejtek környezetében, a normál epidermisztől eltérően, a fibronectin onkofötális izotípusa található (26). Ez a sejt környezet felelős lehet a sejtek fokozott $\alpha 5$ integrin kifejeződéséért. *Széll Márta* és *mtsai* igazolták, hogy a tünetmentes bőrben található kóros onkofötális protein depozíció magukból a keratinocitákból származhat. Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a pikkelysömörös tünetmentes bőrből származó hámszövetek az egészséges bőrből származókhöz képest fokozottabban képesek az onkofötális fibronectin termelésre megfelelő ingerek hatására (27).

A szuppresszor T sejtekkel kapcsolatos vizsgálatok az immunológiában csak az utóbbi pár évben éledtek újjá, miután sikerült e sejteket pontosabban karakterizálni. *Sugiyama* és *Gyulai* közlés alatt álló munkájukban a pontosabban karakterizált, regulátoros T sejtek gátló funkciójának csökkenését bizonyítják pikkelysömörben (28). A pikkelysömörben található kóros T sejt regulációhoz szolgáltatott adatokat *Koreck Andrea* és *mtsai* cikke, melyben a $CD3^+ CD56^+$ NK T sejtek, ezen belül a $CD4^+ CD3^+ CD56^+$ populáció csökkenését írja le pikkelysömörös betegek perifériás vérében. Antipszoriaticus kezelés hatására e sejt populáció megnő, közelíti, de nem éri el az egészséges embereknél mérhető arányt (29).

Az ultraibolya fény jótékony hatása bizonyos gyulladásos bőrbetegségekből, így pikkelysömörben is régóta ismert. A PUVA kezeléssel kapcsolatos első közlés 1974-ben *Parrish* és *mtsai* nevéhez fűződik (30). A Szegedi Bőrklinikán Közép-Európában elsőként 1977-ben kezdett működni az első PUVA készülék. Jelenleg a klinikán a ma elérhető összes terápiás fényforrás rendelkezésre áll a fényterápiás Részlegen.

A fényterápiával kapcsolatban úttörő felfedezés is született a klinikán. *Bónis* és *mtsai* 1997-ben a *Lancet*-ben tették közzé a világon először azon felismerésüket, hogy a 308 nm-es xenon-klorid excimer lézer igen hatékony a pikkelysömörös bőrelváltozás kezelésében (31). A kezelésre használt készülék prototípusát a Szegedi Egyetem Optikai és Kvantumelektronikai Tanszékének munkatársai készítették el. A felfedezés jelentőségét bizonyítja, hogy ma már az Egyesült Államokban az FDA által elfogadott terápiás eljárásnak számít bizonyos bőrbetegségekből ez a fajta kezelés, természetesen a kezelésre alkalmas készülékek gyártása is folyik.

A 318 nm-es lézer úttörő terápiás alkalmazása mellett a hatás mechanizmusának kutatása is folyik a klinikán. *Szabó* és *mtsai* 1997-ben számoltak be arról, hogy az UV B fény gyorsan csökkenti a bőrt infiltráló T sejtek számát a kezelt pikkelysömörös lézióban, különösen a γ IFN-t termelő sejtek tűnnek el fény hatására (32).

Novák és *mtsai* leírták, hogy mind az UV B, mind a xenon-klorid lézer T sejt apoptózist indukál és a lézer apoptotikus hatása jóval kifejezettebb, mint az UV B fényé

(33, 34). Feltehetően ezért hatékonyabb a lézer a pikkelysömörös léziós bőr kezelésében.

A klinikán jelenleg folyó pikkelysömörrel kapcsolatos kutatások egy részéről *Széll Márta* cikke olvasható ugyanebben a számban.

IRODALOM

1. *Barker J.N.* : Genetic aspects of psoriasis. *Clin. Exp. Dermatol.* (2001) 26, 321-325.
2. *Hunyadi J., Dobozy A., Kenderessy Szabó A. et al.*: Suppressor function of peripheral blood mononuclear cells in patients with psoriasis vulgaris. *J. Invest. Dermatol.* (1980) 75, 217-218.
3. *Csató M., Dobozy A., Hunyadi J. et al.*: Polymorphonuclear granulocyte chemotaxis and chemotactic factor generation by concanavalin A-stimulated peripheral blood mononuclear cells in patients with psoriasis. *Arch.Dermatol.Res.* (1981) 271, 259-264.
4. *Csató M., Dobozy A., Simon N.*: The functions of polymorphonuclear leukocytes emigrating into the skin in psoriasis. *Dermatol.Monatsschr.* (1985) 171, 372-375.
5. *Arenberger P., Kemény L., Suss R. et al.*: Interleukin-8 receptors in normal and psoriatic polymorphonuclear leukocytes. *Acta Derm.Venerol.* (1992) 72, 334-336.
6. *Kemény L., Kenderessy Szabó A., Michel G. et al.*: Detection and function of interleukin-8 receptors on human keratinocytes. *Chron.Dermatol.* (1994) 4, 591-603.(Abstract)
7. *Kemény L., Kenderessy Szabó A., Olasz E. et al.*: The interleukin-8 receptor: a potential target for antipsoriatic therapy? *Eur.J.Pharmacol.* (1994) 258, 269-272.
8. *Schulz B.S., Michel G., Wagner S. et al.*: Increased expression of epidermal IL-8 receptor in psoriasis. Down-regulation by FK-506 in vitro. *J.Immunol.* (1993) 151, 4399-4406.
9. *Kemény L., Michel G., Dobozy A. et al.*: Cytokine system as potential target for antipsoriatic therapy. *Exp.Dermatol.* (1994) 3, 1-8.
10. *Kemény L., Kenderessy Szabó A., Olasz E. et al.*: Interleukin-8 receptor: a potential target for antipsoriatic therapy. *Chron.Dermatol.* (1994) 4, 619-628.
11. *Kemény L., Ruzicka T., Dobozy A. et al.*: Role of interleukin-8 receptor in skin. *Int.Arch.Allergy Immunol.* (1994) 104, 317-322.
12. *Kemény L., Kenderessy Szabó A., Ocsovszky I. et al.*: Interleukin-8 induces HLA-DR expression on cultured human keratinocytes via specific receptors. *Int.Arch.Allergy Immunol.* (1995) 106, 351-356.
13. *Michel G., Kemény L., Homey B. et al.*: FK506 in the treatment of inflammatory skin disease: promises and perspectives. *Immunol.Today* (1996) 17, 106-108.
14. *Kemény L., Szolnoky Gy., Kenderessy Szabó A. et al.*: Identification of a soluble interleukin-8 inhibitor in the supernatant of polymorphonuclear leukocytes. *Immunol.Lett.* (1998) 64, 23-29.
15. *Arenberger P., Ruzicka T., Kemény L.*: Effect of ciclosporin on epidermal 12(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid binding sites. *Skin Pharmacol.* (1991) 4, 272-277.
16. *Arenberger P., Kemény L., Ruzicka T.*: Defect of epidermal 12(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid receptors in psoriasis. *Eur.J.Clin.Invest.* (1992) 22, 235-243.
17. *Kemény L., Gross E., Arenberger P. et al.*: Dithranol-induced down-regulation of 12(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid [12(S)-HETE] receptors in a human epidermal cell line. *Arch.Dermatol.Res.* (1991) 283, 333-336.
18. *Kemény L., Przybilla B., Gross E. et al.*: Inhibition of 12(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid [12(S)-HETE] binding to epidermal cells by ultraviolet-B. *J. Invest. Dermatol.* (1991) 97, 1028-1031.
19. *Kemény L., Michel G., Arenberger P. et al.*: Down-regulation of epidermal growth factor receptors by dithranol. *Acta Derm.Venerol.* (1993) 73, 37-40.
20. *Michel G., Mirmohammadsadegh A., Olasz E. et al.*: Demonstration and functional analysis of IL-10 receptors in human epidermal cells: decreased expression in psoriatic skin, down-modulation by IL-8, and up-regulation by an antipsoriatic glucocor-

- ticosteroid in normal cultured keratinocytes. *J.Immunol.* (1997) 159, 6291-6297.
21. *Farkas Á., Kemény L., Szőny B.J. et al.:* Dithranol upregulates IL-10 receptors on the cultured human keratinocyte cell line HaCaT. *Inflamm.Res.* (2001) 50, 44-49.
 22. *Ellis C.N., Gorsulowsky D.C., Hamilton T.A. et al.:* Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study. *JAMA* (1986) 256, 3110-3116.
 23. *Bata-Csörgő Zs., Hammerberg C., Voorhees J.J. et al.:* Flow cytometric identification of proliferative subpopulations within normal human epidermis and the localization of the primary hyperproliferative population in psoriasis. *J. Exp.Med.* (1993) 178, 1271-1281.
 24. *Bata-Csörgő Zs., Hammerberg C., Voorhees J.J. et al.:* Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short-term primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes. *J. Clin.Invest.* (1995) 95, 317-327.
 25. *Bata-Csörgő Zs., Cooper K.D., Ting.K.M. et al.:* Fibronectin and alpha5 integrin regulate keratinocyte cell cycling. A mechanism for increased fibronectin potentiation of T cell lymphokine-driven keratinocyte hyperproliferation in psoriasis. *J. Clin.Invest.* (1998) 101, 1509-1518.
 26. *Ting K.M., Rothaupt D., McCormick T.S. et al.:* Overexpression of the oncofetal Fn variant containing the EDA splice-in segment in the dermal-epidermal junction of psoriatic uninvolved skin. *J. Invest. Dermatol.* (2000) 114, 706-711.
 27. *Széll M., Bata-Csörgő Zs., Koreck A. et al.:* Proliferating Keratinocytes Are Putative Sources of the Psoriasis Susceptibility-Related EDA (Extra Domain A of Fibronectin) Oncofetal Fibronectin. *J. Invest. Dermatol.* (2004) 123, 537-546.
 28. *Sugiyama H., Gyulai R., Toichi E. et al.:* Dysfunctional blood and target tissue CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J.Immunol. közlésre benyújtva*
 29. *Koreck A., Surányi A., Szőny B.J. et al.:* CD3⁺CD56⁺ NK T cells are significantly decreased in the peripheral blood of patients with psoriasis. *Clin.Exp.Immunol.* (2002) 127, 176-182.
 30. *Parrish J.A., Fitzpatrick T.B., Tanenbaum L. et al.:* Phototherapy of psoriasis with oral methoxsalen and longwave ultraviolet light. *N.Engl.J. Med.* (1974) 291, 1207-1211.
 31. *Bónis B., Kemény L., Dobozy A. et al.:* 308 nm UVB excimer laser for psoriasis. *Lancet* (1997) 350, 1522
 32. *Szabó S.K., Hammerberg C., Yoshida Y. et al.:* Identification and quantitation of interferon-gamma producing T cells in psoriatic lesions: localization to both CD4⁺ and CD8⁺ subsets. *J. Invest. Dermatol.* (1998) 111, 1072-1078.
 33. *Novák Z., Bónis B., Baltás E. et al.:* Xenon chloride ultraviolet B laser is more effective in treating psoriasis and in inducing T cell apoptosis than narrow-band ultraviolet B. *J. Photochem.-Photobiol.B.* (2002) 67, 32-38.
 34. *Novák Z., Bérces A., Rontó G. et al.:* Efficacy of different UV-emitting light sources in the induction of T-cell apoptosis. *Photochem. Photobiol.* (2004) 79, 434-439.

BŐRGYÓGYÁSZAI
ÉS VENEREOLÓGIAI SZEMLE

A MAGYAR DERMATOLÓGIAI TÁRSULAT
HIVATALOS KÖZLEMÉNYE

Szerkesztőség címe: 1085 Budapest, Mária u. 41.

Internet: www.derma.hu

E-mail: huderm@bor.sote.hu

BŐRGYÓGYÁSZAI
ÉS VENEREOLÓGIAI SZEMLE

OFFICIAL JOURNAL OF THE HUNGARIAN
DERMATOLOGICAL SOCIETY

Address of editorial board: 1085 Budapest, Mária u. 41.

Internet: www.derma.hu

E-mail: huderm@bor.sote.hu

MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

(kutatócsoport vezető: Dobozy Attila dr., egyetemi tanár), Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika (igazgató: Kemény Lajos dr., egyetemi tanár)², és Sebészeti Klinika (igazgató: Lázár György dr., egyetemi docens)³ Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszertudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, MTA-SZBK Növénybiológiai Intézet (igazgató: Vass Imre dr.) közleménye⁴

PRINS: egy új nem kódoló RNS gén azonosítása, expressziójának vizsgálata pikkelysömörben, valamint különböző humán szervekben és szövetekben*

PRINS: identification of a novel non-coding RNA gene, expression studies in psoriasis as well as in various human organs and tissues

SZÉLL MÁRTA DR.¹, SONKOLY ENIKŐ DR.², BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA DR.^{1,2}, PIVARCSI ANDOR DR.¹, POLYÁNKA H.², KENDERESSY SZ. ANNA DR.², SZENTPÁLI KÁROLY DR.³, MOLNÁR GERGELY DR.⁴, KEMÉNY LAJOS DR.^{1,2}

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők célja az volt, hogy pikkelysömörös tünetmentes és egészséges epidermisz minták expressziós mintázatának összehasonlításával a pikkelysömörre hajlamosító genetikai faktorokat azonosítsanak. Differential display módszerrel azonosítottak egy transzkriptumot, amely magasabb szinten fejeződik ki a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben, mint az egészséges epidermiszben. A transzkriptumot kódoló gén a humán 10. kromoszómán található, és *in silico* translációja nem eredményezett fehérje terméket. Szekvencia analízisek szerint a gén két Alu elemet hordoz, és immortalizált HaCaT sejtekben különböző stresszhatásokra expressziója megnő. Mindezek alapján az újonnan azonosított, teljes hosszúságú transzkriptumnak, amelyről feltételezik, hogy egy nem-kódoló RNS gén, a Psoriasis Susceptibility-related RNA Gene Induced by Stress (PRINS), nevet adták. A PRINS gén szövegspecifikus kifejeződését 16 különféle humán szövetben és szervben tanulmányozták kvantitatív real time RT-PCR módszerrel (Q-RT-PCR). A PRINS gén minden általuk tanulmányozott szövetben és szervben kifejeződött, de expressziójának mértéke nagy különbségeket mutatott. Q-RT-PCR kísérletekkel igazolták, hogy a PRINS gén expressziója huszonöt-ször magasabb szintű a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben ($n = 5$), mint az egészséges epidermiszben ($n = 10$), a pikkelysömörös tünetes epidermiszben ($n = 8$) az egészségeshez képest azonban csak nyolcszoros az expresszió különbség. Egészséges ($n = 5$) és pikkelysömörös tünetmentes ($n = 5$) bőrmintákat kezeltek a tünetek kiváltá-

SUMMARY

Using differential display the authors have recently isolated a transcript overexpressed in psoriatic uninvolved epidermis. The *in silico* translation of the transcript did not result in translatable protein product. Sequence analysis revealed high level homology to already characterized, stress-induced non-coding RNA genes, therefore the newly identified transcript has been named PRINS (Psoriasis-susceptibility Related RNA Gene Induced by Stress). Tissue-specific expression of PRINS was studied in various human tissues and organs by Q-RT-PCR experiments: PRINS was expressed in all of the studied tissues but the level of expression showed substantial differences. Q-RT-PCR experiments proved that the expression of PRINS was 25 times higher in the non-involved epidermis of psoriatic patients ($n = 5$) compared to healthy epidermis ($n = 10$). However, the expression in psoriatic plaques ($n = 8$) was only 8 times higher than in healthy epidermis. When normal ($n = 5$) and psoriatic non-involved epidermis samples ($n = 5$) were treated with a T-lymphokine mixture, that has been showed to induce a hyperproliferative response in non-lesional, but not in normal keratinocytes, the relatively low expression of PRINS in normal epidermis was not affected, at the same time the higher PRINS expression in psoriatic non-involved epidermis was downregulated to the level of expression found in the psoriatic lesional epidermis. The overexpression of

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére

sáért felelős T-sejt citokinekkel: egészséges epidermisz mintákban ($n = 5$) a kezelés nem változtatta meg a PRINS gén expressziójának szintjét, a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben ($n = 5$) azonban ötödére csökkentette. A pikkelysömörös tünetmentes keratinociták emelt szintű PRINS génextpressziója a kóros extracelluláris miliőre adott stresszválasz része lehet, de az sem zárható ki, hogy a PRINS génterméknek a pikkelysömörös keratinociták hiperproliferációjának kialakításában van szerepe.

Kulcsszavak:
pikkelysömörre hajlamosító genetikai faktorok
- tünetmentes pikkelysömörös epidermisz -
nem-kódoló RNS gének

A pikkelysömör a kaukázusi populáció megközelítőleg 2-3%-át érintő, gyulladással járó hiperproliferatív bőrbetegség. Mind genetikai faktorok, mind az egyént ért környezeti tényezők szerepet játszanak a pikkelysömörös tünetek kialakulásában. A genetikai háttér kialakításában számos gén kóros működése áll és az is jól dokumentált tény, hogy a betegség genetikai háttere igen heterogén (1). Az elmúlt megközelítőleg 50 év családfa- és klasszikus kapcsoltsági vizsgálatai arra utalnak, hogy a betegségre hajlamosító gének a humán genom számos lokuszán megtalálhatók (2).

A 80-as évek elején *Bos és munkatársai* feltételezték (3), hogy a pikkelysömörös plakkokra jellemző kóros keratinocita hiperproliferáció, ill. a gyulladással járó folyamat fenntartásában fontos szerepet játszanak a dermális-epidermális junkció területére beszűrődő T-sejtek és az általuk szekretált citokinek. Vizsgálatainkkal igazoltuk (4), hogy a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszből izolált bazális keratinociták hiperproliferációval válaszolnak citokin-indukcióra, míg az egészséges egyének epidermiszéből izolált keratinociták nem. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a pikkelysömörös nem léziós epidermisz keratinocitái inherensen érzékenyebbek a proliferációra serkentő szignálokra, mint a normál keratinociták és ennek a felfokozott érzékenységnek a kialakításában feltehetően részt vesz a pikkelysömörös tünetmentes keratinociták emelt szintű $\alpha 5$ integrin expressziója (5), és annak kórosan termelt ligandja, a fibronectin, valamint a fibronectin EDA⁺ ún. onkofötális izoformája (6).

Munkánk célja az volt, hogy további olyan génextpressziós különbségeket azonosítsunk a pikkelysömörös tünetmentes epidermisz és az egészséges epidermisz között, amelyek szerepet játszanak a pikkelysömörös nem léziós keratinociták inherensen felfokozott érzékenységének kialakításában, és a pikkelysömör patogenezisében mint hajlamosító faktorok vesznek részt.

Jelenlegi dolgozatunkban egy ún. „differential display” nyílt rendszerű génextpressziós vizsgálatot (7) ismertettünk, amelynek célja a pikkelysömörre hajlamosító faktorok azonosítása volt két egészséges két pikkelysömörös tünetmentes epidermisz génextpressziós mintázatának

PRINS in the psoriatic non-lesional epidermis may reflect an altered regulatory extracellular milieu, but it is also possible that PRINS plays a regulatory role in the hyperproliferation in psoriasis.

Key words:
psoriasis susceptibility -
non-involved psoriatic epidermis -
non-coding RNA genes

összehasonlításával. Vizsgálatunk eredményeképpen azonosítottunk olyan, eltérő módon kifejeződő géneket, amelyek fehérjetermékének funkciója jól ismert, úgy mint az extracelluláris mátrix fehérje, a fibronectin, illetve a sejtek vezikuláris transzportjában szerepet játszó RAB10 fehérje, valamint egy olyan mindeddig nem jellemzett transzkriptumot, amely eddigi adataink szerint ún. nem-kódoló, szabályozó RNS-ként működik a sejtek életében és feltehetően szerepet játszik a pikkelysömörre való hajlam kialakításában.

Anyagok és módszerek

Szövetminták. A helyi etikai bizottság beleegyezése és útmutatásai alapján pikkelysömörös betegek tünetes és tünetmentes bőrből 6 mm-es punch biopsziákat vettünk. Az egészséges kontroll bőrmintákat plasztikai sebészi beavatkozáson átesett egyénektől nyertük. A szubkután szövet eltávolítását követően a biopsziákat 4 °C-on Dispase oldatban (Grade II, Roche Molecular Biochemicals) inkubáltuk egy éjszakán keresztül, majd a dermiszt és az epidermiszt szétválasztottuk. A SZTE Sebészeti Klinikáján különböző műtéti beavatkozások során eltávolított, az alapbetegség által nem érintett különböző szervekből származó szövetmintákat gyűjtöttünk.

A szövetmintákat Trizol reagensben (Gibco BRL, Egstein) tároltuk -70 °C-on, majd a gyártó utasításainak megfelelően totál RNS-t izoláltunk belőlük.

„Differential display” Totál RNS-t izoláltunk a pikkelysömörös betegek tünetmentes epidermiszéből, valamint az egészséges egyének epidermiszéből. A „differential display” vizsgálatot a kísérleti módszer kidolgozóit által leírt protokoll alapján végeztük el (8). 200 ng totál RNS-t cDNS-é írtunk át egy olyan 11 bp hosszúságú primer keverék felhasználásával, amelynek utolsó bázisa eltért egymástól: H-T₁₁M, ahol M lehet G, A vagy C. A kísérlethez az RNAimage kit-et használtuk (GeneHunter Corporation, Nashville, TN, USA). A cDNS végtermék 2 μ l-ét PCR reakcióban templátként használtuk a GeneHunter kit H-API primerének felhasználásával α [³²P]dCTP jelenlétében. A PCR reakciót a GeneHunter kit utasításai szerint végeztük el. A PCR reakciókból 3,5 μ l-t mintafelvivő pufferral vegyítettünk, majd 6% akrilamid DNS szekvenáló gélen megfuttattuk. A géleket szárítottuk, majd exponáltuk. A 2-2 pikkelysömörös és egészséges minta között konzekvens különbséget mutató csíkokat kivágtuk a gélből, 100 μ l vízben felforraltuk, lehűtöttük, majd lecentrifugáltuk. A felüliszót tiszta centrifuga csöbe gyűjtöttük. Ebből a felüliszóából 4 μ l-t használtunk egy újabb kör PCR reakcióra, a H-API primer és a csíknak megfelelő H-T₁₁M primer felhasználásával. Az újra amplifikált PCR termékek méretét agaróz gélen ellenőriztük, majd a megfelelő méretű csíkokat kivágtuk. Alkoholos kicsapást követően az izolált fragmentek túlnyúló végeit T4 DNA polimerázzal feltöltöttük (MBI Fermentas, Vilnius, Litvánia) és

	Egyenes irányú primer	Fordított irányú primer	A próba szekvenciája és jelölésének módja
PRINS	GCATCTTCCCTTGCCAAA	GCCTAAAGGACATTTCCGGTAT	5'FAM TGC TGT TTT GGG TCC TAA CCA TC 3' Black Hole2
18S	CGGCTACCACATCCAAGGAA	GCTGGAATTACCGCGCT	5'Texas Red TGC TGG CAC CAG ACT TGC CCT C 3' Black Hole2

1. táblázat

A real-time RT-PCR kísérletekhez használt génspecifikus primerek és próbák szekvenciái

Smal emésztett pSK veKtorba klónoztuk T4 DNA ligáz felhasználásával (MBI Fermentas).

Bőrminták organotipikus kultúrája. A shave biopsziákból származó bőrminták organotipikus kultúrája a korábbi közleményekben részletesen ismertetett módon történt (9): a szubkután szövet eltávolítását követően az egészséges, ill. pikkelysömörös tünetmentes bőrmintákat 2,2 µm pórusméretű cellulóz acetát/cellulóz nitrát filterekre helyeztük, majd azokat egy rozsdamentes acélhálóból készült steril hálóra, egy 25 mm² Petri csészébe. A Petri csészéket Keratinocyte-SFM (Gibco BRL) sejtenyésző oldattal (amely 10% FBS-t, 2 mM glutamint (Gibco BRL), 100 U/ml penicillint és 10 µg/ml streptomycin [(Gibco BRL) tartalmazott] feltöltöttük. Indukáló faktorokként 1 ng/ml IFN-γ-t vagy 1 ng/ml IFN-γ, 1 ng/ml GM-CSF és 0,3 ng/ml IL-3 keverékét adtuk a tenyésztő táptalajhoz. A fenti összeállítás lehetővé tette, hogy a bőrmintát levegő/folyadék határfelületen tenyészük 3 napon keresztül 37 °C-on, 5% CO₂ atmoszférában. A tenyésztést követően a bőrmintákat Dispase oldattal (Grade II, Roche Molecular Biochemicals) kezeltük egy éjszakán keresztül 4 °C-on, majd az epidermiszt elválasztottuk a dermisztől. Az epidermisz mintákat Trizol reagensbe tettük és -70 °C-ra lefagyasztottuk.

Kvantitatív RT-PCR (Q-RT-PCR). Kvantitatív RT-PCR céljára 1 µg totál RNS-t írtunk át cDNS-sé az iScript kit (BioRad, Hercules, CA, USA) segítségével. A reverz transzkripciót követően, valós idejű (real-time) kvantitatív (Q-RT-PCR) reakciókat végeztünk a PRINS RNS abundanciájának mérésére. A PRINS expressziós adatok normalizálását minden minta esetében elvégeztük a 18S riboszómális RNS expressziójával. A reakciókhoz használt primerek és próbák szekvenciáit az 1. táblázat tartalmazza. A Q-RT-PCR reakciókat iQ Supermix-ben végeztük (BioRad), a reakciók valós idejű detektálása az iCycler (BioRad) készülékkel történt.

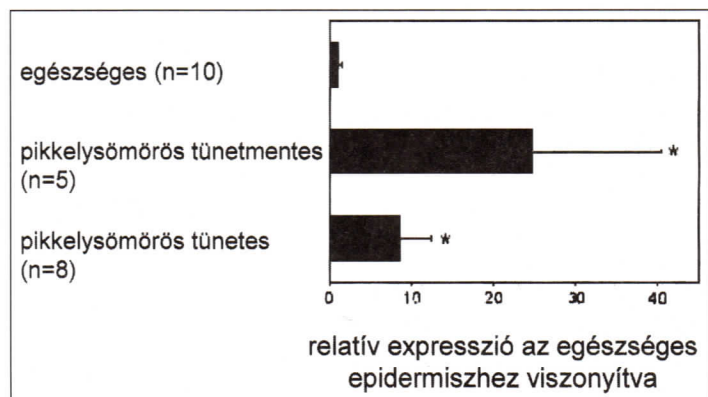
Eredmények

A differential display vizsgálatot 2 egészséges egyén epidermiszének és 2 pikkelysömörös beteg tünetmentes epidermiszének felhasználásával végeztük el. A radioaktívan jelölt és akrilamid gélen elválasztott csíkok közül az exponálást követően csak azokat vágtuk ki és dolgoztunk velük a továbbiakban, amelyek konzekvensen különbséget mutatta. K25 ilyen csík kivágására került sor, a bennük levő DNS tartalmat vízben forralással extraháltuk, egy újabb kör PCR-ral felszaporítottuk és pSK vektorba klónoztuk. A klónozott fragmentek közül reverz Southern blott kísérlet alapján választottuk ki, hogy melyekkel dolgozunk tovább. Ily módon lehetséges volt a differential display vizsgálat eredménye alapján esetleges fals pozitív klónok szelektálása és a további vizsgálatokból való kizárása. Az egyik konzekvensen eltérő expressziót mutató transzkriptum a mindeddig ismeretlen funkciójú, AK022045 számon nyilvántartott cDNS-sel egyezett meg.

Ezt követően *in silico* vizsgálatokat végeztünk annak felderítésére, hogy az AK022045 jelű, mindeddig azonosított funkcióval nem rendelkező cDNS milyen fehérjét kódol. Az interneten

<http://www.expasy.org/tols/dna.html> címen elérhető programmal végrehajtottuk a cDNS mind a hat leolvasási keretben történő átírását, melynek eredménye szerint az AK022045 cDNS-ről nem íródik át fehérje. További internetes homológia vizsgálataink eredményei azonban arra irányították figyelmünket, hogy az AK022045 nyilvántartási számú gén szerkezeti vizsgálata alapján jelenlegi eredményeink szerint a HaCaT sejtekben átíródó teljes hosszúságú cDNS 3,7 kb hosszúságú, benne 2 *Alu* repetitív elem, valamint egy olyan szakasz található, amely megközelítőleg 70% hasonlóságot mutat a *Tetrachymena thermophilla* egysejtű hőtoleranciájának kialakításában szerepet játszó szabályozó nem-kódoló RNS génnel (10). A teljes hosszúságú transzkriptumot PRINS-nek (Psoriasis Susceptibility-related RNA Gene Induced by Stress) nevezzük a továbbiakban.

A differential display és a reverz Southern kísérletek egybeeső adatai egyértelműen arra utalnak, hogy a PRINS gén a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben magasabb szinten fejeződik ki, mint az egészséges epidermiszben, tehát feltehetően szerepet játszik a pikkelysömörre való hajlam kialakításában vagy markere a pikkelysömörre való hajlamnak. E kérdés további tisztázásának céljából további független egészséges (n = 10), pikkelysömörös tünetes (n = 8) és tünetmentes (n = 5) epidermisz mintákban hasonlítottuk össze a PRINS gén expresszióját. Ezekhez a kísérletekhez a nagy érzékenységu és kvantitatív eredményeket biztosító valós idejű Q-RT-PCR vizsgálatokat végeztünk. Ismét igazolást nyert, hogy a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben a PRINS gén expressziója magasabb, mint az egészséges epidermiszben (1. ábra), ám ezúttal az érzékeny és kvantitatív módszernek köszönhetően azt is

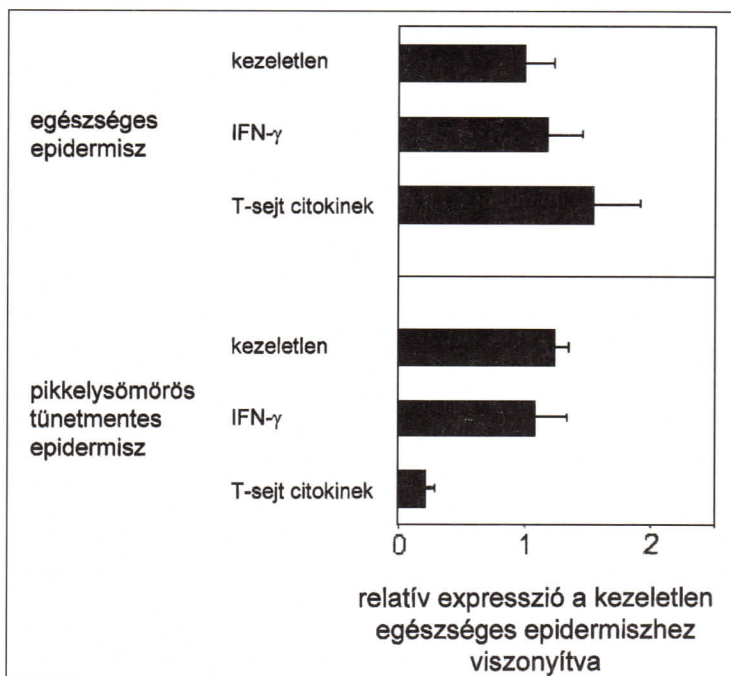


1. ábra

A PRINS gén expressziójának vizsgálata egészséges, pikkelysömörös tünetmentes, ill. tünetes epidermiszben kvantitatív real-time RT-PCR módszerrel

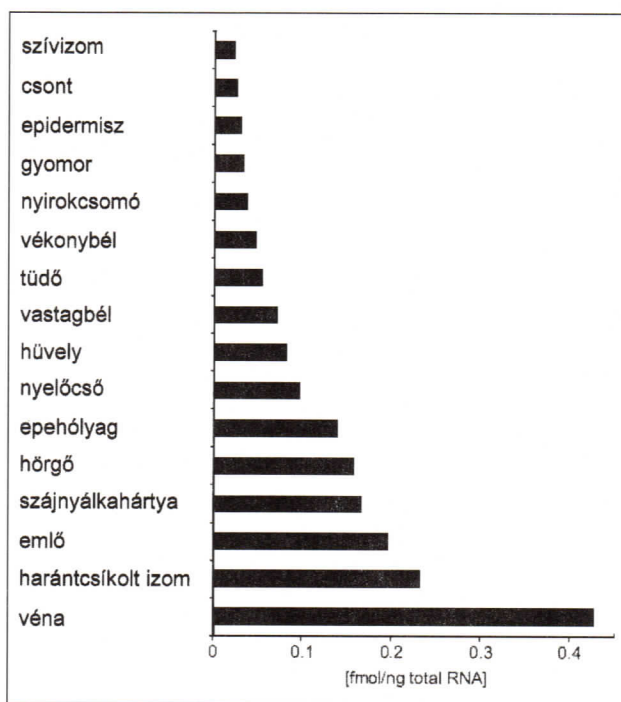
megállapíthattuk, hogy az overexpresszió mértéke átlagosan huszonötszörös és ez a különbség szignifikánsnak bizonyult. Új, és némileg meglepő eredmény volt viszont, hogy a pikkelysömörös tünetes epidermiszben, bár magasabb a PRINS gén expressziója, mint az egészséges epidermiszben (az overexpresszió szignifikánsnak bizonyuló mértéke nyolcszoros), ugyanakkor alacsonyabb szintű, mint a tünetmentes epidermiszben. Ez az adat arra utal, hogy a PRINS gén valószínűleg a pikkelysömörre való hajlam kialakításának egyik tényezője, és nem a pikkelysömörös tünetek kialakulásában résztvevő faktor.

Ezt a feltételezésünket támasztotta alá az organotipikus bőrmintákon elvégzett kísérletünk is. Egészséges ($n = 5$) és pikkelysömörös tünetmentes ($n = 5$) bőrmintákat kezeltünk azokkal a T-sejt citokinekkal (1 ng/ml IFN- γ , ill. 1 ng/ml IFN- γ , 1 ng/ml GM-CSF és 0,3 ng/ml IL-3 keveréke), amelyek ismert fontosságot játszanak a pikkelysömörös tünetek kialakulásában, és korábbi eredményeink (4) szerint a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszből szeparált *ex vivo* keratinocitákat hiperproliferációra serkentik. Real-time RT-PCR kísérleteink eredményei szerint (2. ábra) az egészséges epidermiszben a T-sejt citokinekkal való indukció nem változtatta meg jelentősen a PRINS gén expresszióját, ezzel szemben a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben ötödére csökkentette a PRINS transzkriptum abundanciáját. Ez az eredmény jó egyezést mutat korábbi összehasonlító vizsgálataink eredményével, amelyben a PRINS gén expressziója alacsonyabbnak bizonyult a pikkelysömörös tünetes epidermiszben, mint a tünetmentes epidermiszben.



2. ábra

A PRINS gén expressziójának vizsgálata T-sejt citokinekkal indukált egészséges, és pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben kvantitatív real-time RT-PCR módszerrel



3. ábra

A PRINS gén expressziójának vizsgálata különböző humán szervekben és szövetekben kvantitatív real-time RT-PCR módszerrel. Az ábrázolt értékek 2-4 független minta átlagát reprezentálják minden vizsgált szövet, ill. szerv típusban

A PRINS gén azonosítására és a pikkelysömör patogenezisében való részvételének tanulmányozására epidermisz mintákon végeztünk kísérleteket. Természetesen felmerül a kérdés, hogy a PRINS gén expressziója milyen mértékben specifikus az epidermiszre, és vajon egyéb humán szervekben és szövetekben kifejeződik-e. E kérdés megválaszolására totál RNS, illetve azokról átirított cDNS bankot hoztunk létre 16 különböző humán szervből és szövetből, az egyes szövet típusokat 2-5 független eredetű minta reprezentálta kísérletünkben. Kvantitatív real-time PCR eredményeink szerint az összes vizsgált humán szövet típusban kifejeződik a PRINS gén és expressziójának mértéke igen nagy különbségeket mutat (3. ábra): a legalacsonyabb szinten a szívizom, a legmagasabb szinten pedig a véna expresszálja a PRINS gént, az expresszió mértékének különbsége huszonötszörös e két szövet típusban. Az epidermiszben, amelyben a PRINS transzkriptum elsődleges azonosítása történt, meglehetősen alacsony a gén expressziója a többi vizsgált szövethez viszonyítva. Eredményünk arra utal, hogy a PRINS génről átíródó nem-kódoló, szabályozó RNS feltehetően általános regulátorként működik a humán sejtekben és szövetekben, expressziójának mértéke azonban erős szövetspecifikus kontroll alatt áll.

Megbeszélés

Differential display kísérleteink elsődleges célja az volt, hogy olyan génextpressziós szintű különbségeket azonosítsunk az egészséges és pikkelysömörös tünetmentes epidermisz minták között, amelyek szerepet játszhatnak a pikkelysömörre való hajlam kialakításában. Eddigi vizsgálataink során néhány olyan eltérő expressziójú gént azonosítottunk, amelyek fehérjetermékeinek funkciója már ismert volt. Az egyik ilyen fehérje egy extracelluláris mátrix protein, a fibronectin, melynek EDA⁺ onkofötális formájáról Ting és munkatársai kimutatták (11), hogy a pikkelysömörös tünetmentes bőrben a dermális epidermális junkció (DEJ) területén kifejeződik, és ez a kifejeződés nem jellemző az egészséges bőrre. A tény, hogy differential display kísérletünkkel mi is eltérő fibronectin expressziót igazoltunk az egészséges és tünetmentes pikkelysömörös epidermisz között, azt bizonyította, hogy az általunk használt kísérleti megközelítés alkalmas kérdésünk megválaszolására. További vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy maguk a pikkelysömörös tünetmentes keratinociták is képesek expresszálni a fibronectint és annak EDA⁺ onkofötális formáját (6), így részben forrásai lehetnek a Ting és munkatársai által leírt (11) fibronectinnek a DEJ területén.

Vizsgálataink során magasabb szintű expressziót mutatót mind a differential display, mind a reverz Southern kísérletekben egy mindeddig ismeretlen funkciójú transzkriptum. A cDNS-t (amelynek szekvenciája 10 napos humán embrió cDNS könyvtárából származik) az adatbázisokban AK022045 azonosítási számon lehet tanulmányozni. A cDNS *in silico* átírása nem eredményezett fehérje terméket, további homológia vizsgálataink viszont arra utaltak, hogy az AK022045 transzkriptum (melynek általunk 5' irányban meghosszabbított, a keratinocitákban kifejeződő teljes hosszúságú változatát PRINS-nek nevezük) egy fehérjévé át nem íródó, szabályozó nem-kódoló RNS.

Az utóbbi évtizedben számos összefoglaló közlemény (12, 13) jelent meg, amely arra hívja fel a figyelmünket, hogy a humán genom fehérjéket nem kódoló „junk DNS” szakaszairól számos olyan gén íródik át, amely RNS-ként tölt be szabályozó funkciót. Ilyen, a PRINS génnel szerkezeti homológiát mutató nem kódoló RNS gén a neuronspecifikusan kifejeződő BC200 gén (14), amely az emberben és főemlősökben konzervált struktúrát mutató monomerikus *Alu* retrotranspozíciós elemet hordoz (15), abnormalis expressziója számos, nem neuronális eredetű tumoros szövetben is detektálható (16) és az utóbbi évek intenzív kutatásainak köszönhetően arra is fény derült, hogy a dendritek posztzinaptikus területén, mint poszttranszkripció modulátor funkcionál, egyes fehérjék expressziós szintjének szabályozójaként (17, 18).

Az *Alu* elemeket hordozó, fehérjévé át nem íródó, de a sejtekben stabil RNS-ként detektálható géntermékekről általánosan elfogadott tény, hogy expressziójuk magas szintje akkor figyelhető meg, ha a sejteket valamilyen formában stressz éri (19, 20, 21, 21, 22). Számos irodalmi

adat (11, 23) és saját kutatási eredményeink (6) is arra hívják fel a figyelmünket, hogy a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben az abnormalis extracelluláris milió a keratinociták számára stresszt jelent, és feltételezzük, hogy ez is hozzájárulhat a pikkelysömörös tünetmentes keratinociták külső indukcióra mutató, inherens, fokozott reakciókészségéhez. Amikor azonban a pikkelysömörös tünetek kialakulásához vezető keratinocita hiperproliferáció külső hatására indukálódik (lásd pikkelysömörös epidermisz és a T-limfokinekkal indukált pikkelysömörös tünetmentes epidermisz), a keratinociták felszabadulnak e stresszhatás alól és a PRINS gén expressziója határozottan csökkenni kezd.

Eredményeink szerint a PRINS gén az általunk tanulmányozott összes humán szervben és szövetben kifejeződik, tehát ellentétben a szoros neuron specifikus kifejeződést mutató BC200 nem kódoló RNS génnel, a PRINS nem kódoló RNS gén feltehetően a sejtek általános stresszválaszának kialakításában szerepet játszó szabályozó RNS. Az a tény azonban, hogy a különböző szövetfajták között a PRINS gén expressziója nagymértékű eltérést mutat, arra utal, hogy kifejeződése nem konstitutív, hanem szerv és szövet specifikusan szabályozott.

A fehérjévé át nem íródó, szabályozó funkciójukat RNS-ként betöltő génekkel kapcsolatos kutatások az elmúlt néhány év nagy figyelmet keltő területévé váltak: 2002-ben a Science magazin az év első számú, nagy áttöréseként értékelte az ezzel kapcsolatos vizsgálatok eredményeit (24). Jelen munkánkkal reményeink szerint hozzájárulunk egyrészt a pikkelysömörre hajlamosító genetikai faktorok azonosításához, másrészt napjaink molekuláris biológiai kutatásainak egyik új ágához, a nem-kódoló szabályozó RNS-nek azonosításához és funkcióik megismeréséhez.

Köszönetnyilvánítás

A munkát az NKFP1A/0012/2002 és az OTKA TS 044 826 pályázatok támogatták. Széll Márta munkáját az MTA Bolyai ösztöndíj támogatta.

IRODALOM

1. Bowcock, A. M. and Barker, J. N.: Genetics of psoriasis: the potential impact on new therapies. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2003) 49, s51-S56.
2. Bhalerao, J. and Bowrock, A. M.: The genetics of psoriasis: a complex disorder of the skin and immune system. *Hum. Mol. Genet.* (1998) 7, 1537-1545.
3. Bos, J. D. and De Rie, M. A.: The pathogenesis of psoriasis: immunological facts and speculations (see comments). *Immunol. Today* (1999) 20, 40-46.
4. Bata-Csorgo, Z., Hammerberg, C., Voorhees, J. J., et al.: Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short-term primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes. *J. Clin. Invest.* (1995) 95, 317-327.
5. Bata-Csorgo, Z., Cooper, K. D., Ting, K. M., et al.: Fibronectin and alpha5 integrin regulate keratinocyte cell cycling. A mechanism for increased fibronectin potentiation of T cell lymphokine-driven keratinocyte hyperproliferation in psoriasis. *J. Clin. Invest.* (1998) 101, 1509-1518.

6. Szell, M., Bata-Csorgo, Z., Koreck, A., et al.: Proliferating Keratinocytes Are Putative Sources of the Psoriasis Susceptibility-Related EDA (Extra Domain A of Fibronectin) Oncofetal Fibronectin. *J. Invest. Dermatol.* (2004) *123*, 537-546.
7. Green, C. D., Simons, J. F., Taillon, B. E., et al.: Open systems: panoramic views of gene expression. *J. Immunol. Methods.* (2001) *250*, 67-79.
8. Liang, P. and Pardee, A. B.: Differential display. A general protocol. *Mol. Biotechnol.* (1998) *10*, 261-267.
9. Kenderessy Sz. A., Bos J. D., Das, P. K.: Hyperproliferation on normally quiescent keratinocytes in non-lesional psoriatic skin due to high calcium concentration. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* (2002) *49*, 129-140.
10. Fung, P. A., Gaerting J., Gorovsky, M. A., et al.: Requirement of a small cytoplasmic RNA for the establishment of a small cytoplasmic RNA for the establishment of thermotolerance. *Science* (1995) *268*, 1036-1039.
11. Ting, K. M., Rothaupt, D., McCormick, T. S., et al.: Overexpression of the oncofetal Fn variant containing the EDA splice-in segment in the dermal-epidermal junction of psoriatic uninvolved skin. *J. Invest. Dermatol.* (2000) *114*, 706-711.
12. Eddy, S. R.: Noncoding RNA genes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* (1999) *9*, 695-699.
13. Moorre, M. J.: Gene expression. When the junk isn't junk. *Nature* (1996) *379*, 402-403.
14. Marignetti, J. A. and Brosius, J.: BC200 RNA: a neural RNA polymerase III product encoded by a monomeric Alu element. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1993) *90*, 11563-11567.
15. Cheng, J. G., Tiedge, H., and Brosius, J.: Expression of dendritic BC200 RNA, component of a 11.4S ribonucleoprotein particle, is conserved in humans and simians. *Neurosci. Lett.* (1997) *224*, 206-210.
16. Chen, W., Bocker, W., Brosius, J., et al.: Expression of neural BC200 RNA in human tumours. *J. Pathol.* (1997) *183*, 345-351.
17. Kobayashi, S., Takashima, A., and Anzai, K.: The dendritic translocation of translin protein in the form of BC1 RNA protein particles in developing rat hippocampal neurons in primary culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1998) *253*, 448-453.
18. Kobayashi, S., Kamo, S., Agui, K., et al.: Positive and negative regulators for neuronal BC1 RNA transcription by RNA polymerase III are possible members of the RNA polymerase II transcription system. *Brain Res. Mol. Brain Res.* (2003) *111*, 211-215.
19. Liu, W., M., Chu, W. M., Choudary, P. V., et al.: Cell stress and translation inhibitors transiently increase the abundance of mammalian SINE transcript. *Nucleic Acids Res.* (1995) *23*, 1758-1756.
20. Li, T., Spearow, J., Rubin, C. M., et al.: Physiological stresses increase mouse short interspersed element (SINE) RNA expression in vivo. *Gene* (1999) *239*, 367-372.
21. Li, T. H. and Schmid, C. W.: Differential stress induction of individual Alu loci: implications for transcription and retrotransposition. *Gene* (2001) *276*, 135-141.
22. Rubin, C. M., Kimura, R. H., and Schmid, C. W.: Selective stimulation of translational expression by Alu RNA. *Nucleic Acids Res.* (2002) *30*, 3253-3261.
23. Fleischmajer, R., Kuroda, K., Hazan, R., et al.: Basement membrane alterations in psoriasis are accompanied by epidermal overexpression of MMP-2 and its inhibitor TIMP-2. *J. Invest. Dermatol.* (2000) *115*, 771-777.
24. Kennedy, D.: Breakthrough of the year. *Science* (2002) *298*, 2283.

BABĒ

L A B O R A T O R I O S



ARCÁPOLÁS

TESTÁPOLÁS

FÉNYVÉDELEM

HAJÁPOLÁS



KIZÁRÓLAGOS MAGYARORSZÁGI FORGALMAZÓ: PEZOMED KFT.
 4400 NYÍREGYHÁZA · DÓZSA GY. U. 60.
 Tel: 06-42-423-864 · Fax: 06-42-401-066 · www.pezomed.hu

Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum, Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika (igazgató: Kemény Lajos dr., egyetemi tanár)¹ és Élettani Intézet (igazgató: Benedek György dr., egyetemi tanár)² közleménye

Az $\alpha 6$ integrin ellenes autoantitestek bullosus pemphigoidban Antibodies against $\alpha 6$ integrin in patients with bullous pemphigoid*

HUSZ SÁNDOR DR.¹, KISS MÁRIA DR.¹, PERÉNYI ÁDÁM¹, MARCZINOVITS ILONA DR.²,
ALTMAYER ANITA DR.¹, MIHÁLYI LILLA DR.¹, TIMÁR KRISZTINA DR.¹,
CSOMA ZSANETT DR.¹ ÉS MOLNÁR JÁNOS DR.²

ÖSSZEFOGLALÁS

A bullosus pemphigoid a szubepidermális autoimmun hólyagos betegségek heterogén csoportja, amelyben keringő autoantitestek mutathatók ki a 230 kDa hemidesmoszomális citoplazmatikus plakk protein és a 180 kDa transzmembrán protein ellen. Az $\alpha 6\beta 4$ heterodimer az adhéziós receptor integrin családjához tartozik, amely kapcsolatot teremt a bazális keratinociták és az extracelluláris mátrix között. Az $\alpha 6$ integrin ellenes antitesteknek patogenetikai szerepük van a ritka nyálkahártya pemphigoidban a hólyagos kialakulásában. A szerzők célja annak felderítése volt, hogy vajon az $\alpha 6$ integrin ellenes autoantitestek kimutathatók-e a klasszikus bullosus pemphigoidban. A vizsgálathoz 25 bullosus pemphigoidban, 4 pemphigus vulgarisban szenvedő beteg és 20 kontroll egyén szérumát használták. Antigénként az $\alpha 6$ integrin molekula négyféle antigenikus epitópjának biotechnológiai úton előállított fúziós-rekombináns változata szerepelt, az antitestek kimutatására az ELISA technikát használták. Megállapították, hogy az igazoltan bullosus pemphigoidban szenvedő betegek 52%-a legalább az egyik $\alpha 6$ integrin epitóppal pozitív reakciót adott, egészséges egyéneknél és egyéb hólyagos betegekben keringő antitesteket kimutatni nem tudtak. Ezek alapján feltételezik, hogy a klasszikus bullosus pemphigoidban is az esetek egy részében a hólyagos kialakításában az $\alpha 6$ integrin ellenes autoantitesteknek patogenetikai szerepük lehet.

Kulcsszavak:
bullosus pemphigoid - humán $\alpha 6$ integrin -
autoantitestek

SUMMARY

Bullous pemphigoid (BP), a heterogeneous group of subepidermal autoimmune blistering diseases, is characterized immunologically by tissue-bound and circulating autoantibodies targeting the hemidesmosomal cytoplasmic plaque protein BP230 and the transmembrane protein BP180. The $\alpha 6\beta 4$ heterodimer is a member of the integrin family of adhesion receptors, which mediate basal keratinocytes to extracellular matrix interactions. Recent evidence suggested a pathophysiological role for autoantibodies against $\alpha 6$ integrin in the subepidermal blister formation of oral pemphigoid. The objective of the study was to investigate the presence of anti- $\alpha 6$ integrin antibodies in patients with BP. The autoantibody profiles of 25 patients with BP, 4 patients with pemphigus vulgaris and 20 healthy persons were identified. With the use of PeptideStructure and PlotStructure software, four different antigenic epitopes for $\alpha 6$ integrin were predicted and their fusion recombinant constructs were prepared in an *E. coli* expression system. Sera were tested for $\alpha 6$ integrin autoantibodies with the fusion recombinant proteins in an ELISA system. Altogether, 52% of the patients with BP displayed circulation antibodies against at least one recombinant protein. The healthy persons and the patients with pemphigus vulgaris did not exhibit immune reactivity nor recombinant constructs. Authors suggest that antibodies against the $\alpha 6$ integrin might play a role in the initiation of subepidermal blister formation in certain cases of BP.

Key words:
Bullous pemphigoid - human $\alpha 6$ integrin -
autoantibodies

A bullosus pemphigoid (BP) a szubepidermális hólyagképződéssel járó autoimmun hólyagos betegségek hetero-

gén csoportja, amely fiatal vagy nagyon idős korban jelentkezhet. Jellemző a gyulladáson alapon ülő feszes falú hólyagos jelentkezése. A diagnózis felállításában a jellegzetes klinikai kép mellett szövettanilag a szubepidermális elhelyezkedésű hólyag és immunfluoreszcenciával a li-

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére

neáris bazális membrán reakció (IgG-vel, C3-mal, ritkábban egyéb immunglobulinokkal) kimutatása segít. A vérben a hámszervek bazális membránja elleni keringő autoantitestek találhatóak. Salt-split-skin technikával fontos differenciál-diagnosztikai adat, hogy a keringő autoantitestek a hámmal kapcsolódó bazális membránhoz kötődnek (1, 2). Immunoblot módszerrel egy 230 kDa major és 180 kDa minor antigén ellenes autoantitestek demonstrálhatók. A 230 kDa major antigén hemidezmoszómális citoplazmatikus plak protein, míg a 180 kDa minor antigén transzmembrán protein (kollagén XVII). Ezen fehérje immundomináns patogén epitópja az NC16A domén az extracelluláris rész membránhoz közeli nem kollagén struktúrája (3, 4). A 230 kDa fehérjének is megtalálták az immundomináns epitópjait (5), azonban ennek patogenetikai szerepe mind a mai napig nem tisztázott.

Az integrin sejtfelszíni receptorok, amelyeknek a celluláris adhézióban és a jelátvitelben van szerepük. Az $\alpha 6$ integrin egy laminin receptor, amely 1050 aminosavat tartalmaz és van egy nehéz (110 kDa) és egy könnyű (30 kDa) lánc, amelyet diszulfid hidak kötnek össze (6, 7).

Az $\alpha 6\beta 4$ integrin heterodimert az epidermális keratinociták expresszálják. Ez az expresszió a bazális és szuprabazális sejtréteghez kötött mind *in vivo*, mind *in vitro* sejtkultúrákban (8). Az $\alpha 6\beta 4$ heterodimer a bazális sejtek alsó részén lokalizálódik és összeköttetést teremt a bazális membrán extracelluláris mátrixa és az intercelluláris filamentumok között. Az $\alpha 6\beta 4$ integrin fontos szerepet játszik a hemidezmoszómák struktúrájában és az $\alpha 6\beta 4$ integrin heterodimer ellenes antitestek egy dermo-epidermális disszociációt okoznak *in vitro* (9). A $\alpha 6$ integrin knock-out egér már a születéskor életképtelen súlyos hólyagos bőrtünetek miatt (10). Már korábban kimutatták, hogy az $\alpha 6$ integrin szoros kapcsolatban van a BP 180 kDa antigénjével a hemidezmoszómális multimolekuláris komplexben és ez a kapcsolat rendkívül fontos a hemidezmoszómák funkciójához (11, 12).

Bhol és *mtsai* kimutatták az $\alpha 6$ integrin ellenes antitestek jelenlétét orális pemphigoidban szenvedő betegek szérumban és *ex vivo* kísérletek alapján feltételezik az $\alpha 6$ integrin autoantitestek patogenetikai szerepét a nyálkahártya pemphigoid esetében a hólyagok kialakításában (9, 13). Ezért célul tűztük ki azt, hogy megvizsgáljuk van-e szerepe a klasszikus BP-ban a hólyagok kialakulásban az $\alpha 6$ integrin ellenes autoantitesteknek.

Betegek és módszerek

Betegek

Klinikailag, szövettanilag és immunhisztológiával igazolt 25 BP-ban szenvedő beteg (16 nő és 14 férfi, átlagéletkor 76 év, 35-90 év közöttiek) szérumát tanulmányoztuk. Kontrollként 20 egészséges véradó és 5 egyéb bullosus dermatozisban (4 pemphigus vulgaris és 1 bullosus gyógyszerallergia) szenvedő beteg szérumát használtuk.

Antigenikus epitópok kiválasztása

Az $\alpha 6$ integrin szekvenciáját a Swiss-Prot adatbankból vettük és a feltételezett antigenikus epitópokat a Pep-

tidStructure software segítségével választottuk. Az antigenikus epitópok a következők voltak:

NKDA: NKKDHYDATYHKAEIHAQPSDKERLTSDA (1045-1073) (intracelluláris)

TPAC: TPNRIDLRQKTAC (477-489) (extracelluláris)

SVLP: SVEIQEPSSRRRVNSLP (585-601) (extracelluláris)

SPDA: SPSNPRNPTKDGDDA (681-695) (extracelluláris)

(Az egybetűs kódok az aminosavak konvencionális egy betűs jelölését mutatják, a számok az epitópok helyét jelölik a molekulában.)

Rekombináns fúziós protein termelés és izolálás

A kiválasztott epitópokat kódoló kettős szálú DNS szekvenciákat kémiai szintetizáltattuk és a glutation-S-transferáz (GST) gént kódoló fúziós-expressziós vektorhoz kapcsolva vittük be *E. coli* DH5- α sejtekbe, majd felszaporítottuk és a fúziós-rekombináns fehérjéket izoláltuk a korábban részletezett eljárás szerint (14, 15).

Az alábbi fúziós fehérjéket állítottuk elő:

Homodimerek: GST-2NKDA, GST-2TPAC, GST-2SPDA, GST-2SVLP

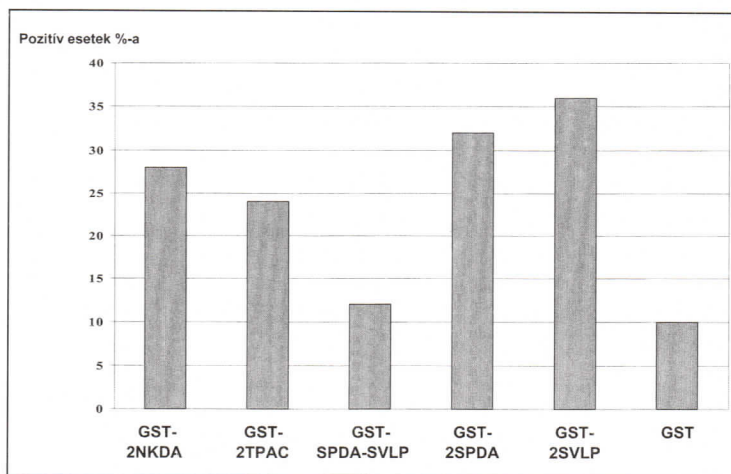
Heteróg multimer: GST-SPDA-2SVLP

ELISA technika

A fúziós proteineket foszfát-pufferben (pH 7,4) oldottuk. Az antigén oldatból 100 μ l-t (1 μ g/100 μ l koncentráció) mikrotiter lemezekre helyeztünk és egy éjszakán át 4 °C-on tartottuk. Mosás után inkubáltunk 100 μ l 200x-ára hígított betegszérumokkal egy órán keresztül 37 °C-on. Minden lemez tartalmazott legalább 10 egészséges szérumot is. Mosás után 100 μ l peroxidázjal jelölt anti-humán IgG 1:5000 hígításával inkubáltunk ismét 37 °C-on. Az enzim szubsztátjának hozzáadása után 492 nm-en mértük a színreakció intenzitását (optikai denzitás; OD). Korábbi vizsgálataink alapján pozitívnak értékeltük az eredményt (14), ha az OD > X + 2SD (X a kontroll egyének átlagértéke; SD = a kontroll egyének OD értékeinek standard deviációja).

Eredmények

Eredményeink azt mutatták, hogy a BP-ben szenvedő betegek egy jelentős csoportja mutatott autoantitesteket az $\alpha 6$ integrin epitópjai ellen (1. ábra). 7 beteg széruma reagált az intracelluláris antigenikus peptidet tartalmazó GST-2NKDA konstrukcióval (28%). Az extracelluláris epitópokat hordozó konstrukciók közül a transzmembrán régióhoz legközelebbi GST-2SPDA 9 betegnél (36%), a legtávolabbi GST-2TPAC 6 betegnél (24%) mutatott pozitívítást. Három esetben találtunk immunre-



1. ábra

Az egyes $\alpha 6$ integrin antigenikus konstrukciókkal immunreakciót mutató BP-s szérumok előfordulási gyakorisága

akcióra utaló jelet önmagában a GST-vel szemben, de ezen betegeknél az OD érték csekély mértékben haladta meg a küszöbértéket. Más megközelítésben a 25 tagú vizsgált BP-s csoportból 13 betegnél – azaz 52%-ban – mutattunk ki az $\alpha 6$ antigén konstrukció legalább egyikével immunreakciót. A vizsgált egészségesek, a pemphigus vulgarisban, illetve bullosus dermatitisben szenvedők nem mutattak pozitív reakciót egyik konstrukcióval szemben sem.

Megbeszélés

Az első nemzetközi mucosus membran pemphigoiddal (MMP) foglalkozó konszenzus közlemény leszögezi a betegség kritériumait (16). Megállapítja, hogy ez egy heterogén csoport, amelyre jellemző, hogy szubepidermális hólyagképződéssel járó, főleg a nyálkahártyákra lokalizálódó, esetenként hegesedő, krónikus gyulladással autoimmun betegség, amelyben lineáris IgG, IgA és C3 depozíció van a bazális membrán területén. Az autoantitestek az epiteliális bazális membrán zóna komponensei ellen alakulnak ki (BP antigén 1 és 2, laminin 5, laminin 6, VII típusú kollagén, $\beta 4$ integrin alegység és egyéb nem identifikált antigének). Az MMP egyik alcsoportját képezi a több szerző által „orális pemphigoid” diagnózissal jelzett körkép, ahol a tünetek csak a szájnyálkahártyán jelentkeznek (17).

Bhol és munkatársai $\alpha 6$ integrin ellenes antitesteket mutattak ki orális pemphigoidban szenvedő betegeikben (9). Ez az irodalmi adat ösztönzött arra bennünket, hogy megvizsgáljuk vannak-e ilyen típusú antitestek a BP klasszikus formáiban, vagy ez csak az orális pemphigoidra jellemző. Saját eseteink abból a szempontból is különböztek, hogy egy esetben sem volt szájnyálkahártya manifesztáció.

Vizsgálatainkhoz antigénként az $\alpha 6$ integrin molekula 4-féle antigenikus epitópjának biotechnológiai úton előállított rekombináns változatát használtuk és az antitestek kimutatása ELISA technikával történt. Mint eredményeinkből látható a kontrollok és egyéb hólyagos betegségekben szenvedő egyének egyikénél sem találtunk antitesteket a fenti antigénnel szemben. BP-ben szenvedő betegeink közül viszont 13-ban legalább egy antigenikus epitóppal szemben sikerült antitestet demonstrálni. Ez az eredmény arra utal, hogy a klasszikus BP-ben is az esetek jelentős részében a hólyagok kialakításában az $\alpha 6$ integrin ellenes autoantitesteknek patogenetikai szerepük lehet.

Sami és munkatársai orális pemphigoidban azt is kimutatták, hogy a remisszióban lévő betegeknél az $\alpha 6$ integrin ellenes antitestek mennyisége a normál kontrollok szintjére csökken (18). Hasonló jellegű vizsgálatok BP-ben is érdekesek lennének.

Vizsgálataink ismételten rávilágítanak arra, hogy a jól kiválasztott, biotechnológiai úton előállított antigenikus epitópok helyettesíthetik a teljes antigén molekulát.

Eredményeink alapján úgy tűnik a különböző típusú

szubepidermális hólyagos betegségekben érdemes kutatni az $\alpha 6$ integrin ellenes autoantitestek előfordulását.

Köszönetnyilvánítás

A munka az OTKA T 032 495 és T 034 964, valamint az ETT 413/2003 pályázatok támogatásával készült.

IRODALOM

1. Stanley J. R.: Bullous pemphigoid. In: I. M. Freedberg et al. (Eds.) Fitzpatrick's dermatology in general medicine. McGraw-Hill. New York, New York, USA (1999) pp. 666-671.
2. Yancey K. B., Egan C. A.: Pemphigoid: clinical, histologic, immunopathologic, and therapeutic considerations. JAMA (2000) 284, 350-356.
3. R. S. Labib R. S. és mtsai: Molecular heterogeneity of bullous pemphigoid antigens as detected by immunoblotting. J. Immunol. (1986) 136, 1231-1235.
4. Zillikens D. és mtsai: Tight clustering of extracellular BP 180 epitopes recognized by bullous pemphigoid autoantibodies. J. Invest. Dermatol. (1997) 109, 573-579.
5. Skaria M. és mtsai: IgG antibodies from bullous pemphigoid patients recognize multiple antigenic reactive sites located predominantly within the B and C subdomains of the COOH-terminus of BP230. J. Invest. Dermatol. (2000) 114, 998-1004.
6. Hogervorst F. és mtsai: Molecular cloning of the human $\alpha 6$ integrin subunit. Eur. J. Biochem. (1991) 199, 425-433.
7. Kanitakis J. és mtsai: Alpha-6 (CD 49f) integrin expression in genetic and acquired bullous skin diseases. A comparison of its distribution with bullous pemphigoid antigen. J. Cutan. Pathol. (1992) 19, 376-384.
8. Hertle M. D., Adams J. C., Watt F. M.: Integrin expression during human epidermal development in vivo and in vitro. Development (1991) 112, 193-206.
9. Colon J. E. és mtsai: In vitro organ culture model for mucous membrane pemphigoid. Clin. Immunol. (2001) 98, 229-234.
10. Georges-Labouesse E. és mtsai: Absence of integrin alpha 6 leads to epidermolysis bullosa and neonatal death in mice. Nat. Genet. (1996) 13, 370-373.
11. Hopkinson S. B., Barker S. E., Jones J. C. R.: Molecular genetic studies of a human epidermal autoantigen (the 180-kD bullous pemphigoid antigen/BP 180): Identification of functionally important sequences within the BP180 molecule and evidence for an interaction between BP180 and $\alpha 6$ integrin. J. Cell. Biol. (1995) 130, 117-125.
12. Hopkins S. B. és mtsai: Interaction of BP180 (type XVII collagen) and alpha 6 integrin is necessary for stabilization of hemidesmosome structure. J. Invest. Dermatol. (1998) 111, 1015-1022.
13. Bhol K. C. és mtsai: Autoantibodies to human $\alpha 6$ integrin in patients with oral pemphigoid. J. Dent. Res. (2001) 80, 1711-1715.
14. Husz S. és mtsai: Development of a system for detection of circulating antibodies against hemidesmosomal proteins in patients with bullous pemphigoid. Arch. Dermatol. Res. (2000) 292, 217-224.
15. Marczinovits I. és mtsai: An alternative purification protocol producing hepatitis B virus X antigen on a preparative scale in Escherichia coli. J. Biotechnol. (1997) 56, 81-88.
16. Chan L. S. és mtsai: The first international consensus on mucous membrane pemphigoid. Arch. Dermatol. (2002) 138, 370-379.
17. Mobini N., Nagarwalla N., Ahmed A. R.: Oral pemphigoid: subset of cicatricial pemphigoid. Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endo. (1998) 85, 37-43.
18. Sami N., Bhol K. C., Ahmed A. R.: Treatment of oral pemphigoid with intravenous immunoglobulin as monotherapy. Long-term follow-up: influence of treatment on antibody titres to human $\alpha 6$ integrin. Clin. Exp. Immunol. (2002) 129, 533-540.

Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum
Általános Orvostudományi Kar Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged
(igazgató: dr. Kemény Lajos egyetemi tanár)¹ és Pécsi Tudományegyetem Általános
Orvostudományi Kar I. sz. Belgyógyászati Klinika
(igazgató: dr. Mózsik Gyula egyetemi tanár)²

Haemochromatosis gén (HFE)-mutáció hatása a porphyrinek megoszlására porphyria cutanea tardaiban*

Effect of hemochromatosis (HFE) gene mutations on the porphyrin pattern in porphyria cutanea tarda

KÓSZÓ FERENC DR.¹, MORVAY MÁRTA DR.¹, NAGY ZSUZSANNA DR.²,
PÁR ALAJOS DR.², NAGY ÁGNES DR.², FÖLDES MÁRTA DR.¹, KOVÁCS RÉKA DR.¹,
KIS KORNÉLIA¹, KEMÉNY LAJOS DR.¹

ÖSSZEFOGLALÁS

A haemochromatosis gén (HFE)-mutációk fontos predisponáló tényezők a porphyria cutanea tarda (PCT) kialakulásában. A szerzők azt vizsgálták, hogy a különböző HFE génmutációk hogyan befolyásolják a PCT-re jellemző porphyrin-megoszlást. Ebből a célból porphyrin szinteket mértek 21 HFE-mutációt nem hordozó kezeletlen PCT-s betegben, valamint 19 olyan kezeletlen PCT-s betegben, akik a HFE gén C282Y és/vagy H63D mutációját is hordozták. Eredményeik szerint PCT-s betegekben a heterozygota H63D mutáció nem okozott eltérést a porphyrin szintekben. A heterozygota C282Y mutáció, a H63D/C282Y kettős heterozygota mutáció, valamint a homozygota C282Y mutáció feltűnően magasabb összporphyrin szinttel járt. Az utóbbi három csoportban a porphyrin-frakciók megoszlása is módosult: az összporphyrin értéken belül az alacsonyabb karboxil-csoport számú frakciók relatív részeseése nőtt, az uro-heptakarboxil-porphyrin arány csökkent. A változások a szérum ferritin szintekkel nyilvánvalóan korreláltak. Az eredmények alátámasztják azt a nézetet, hogy a HFE génmutációk a szöveti vasszintek fokozása révén jelentenek precipitáló tényezőt a PCT patomechanizmusában.

Kulcsszavak:
porphyria cutanea tarda - haemochromatosis

SUMMARY

Mutations in the hemochromatosis (HFE) gene are important predisposing factors for development of porphyria cutanea tarda (PCT). The authors investigated effects of different HFE gene mutations on the porphyrin pattern characteristic of PCT. For this purpose, porphyrin levels were measured in 21 untreated PCT patients without any HFE gene mutation, and in 19 untreated PCT patients carrying the H63D or/and the C282Y mutations. According to the results, the heterozygote H63D mutation did not cause any alteration in the porphyrin levels. The heterozygote C282Y, the compound heterozygote H63D/C282Y, and the homozygote C282Y mutations were associated with markedly higher total porphyrin levels. In the three latter groups, also distribution of the porphyrin fractions was modified; within the total porphyrin value, relative shares of the fractions with less number of carboxylic groups increased, and the ratio uro-heptacarboxy porphyrins decreased. These alterations correlated obviously with the serum ferritin levels. Results support the idea that, in pathogenesis of PCT, HFE gene mutations mean precipitating factors via their ability to increase the tissue iron levels.

Key words:
porphyria cutanea tarda – hemochromatosis

A porphyria cutanea tarda (PCT) alapvetően a májban lévő uroporphyrinogen-decarboxylase (UROD) csökkent aktivitása miatt jön létre. Több alcsoport különíthető el., viszont mindegyik alcsoportjára érvényes, hogy a beteg-

ség klinikailag tünetes formájának kialakulását különböző szerzett és/vagy örökletes tényezők segítik elő. A precipitáló tényezők közül legfontosabbak az alkohol, vas-terhelés, hepatitis (főleg hepatitis-C), ösztrogén, de bizonyos vegyszerek, nehézfémek, infekciók, krónikus malignus betegségek szintén szerepet játszhatnak (4, 5, 9-13, 20, 23). Az elmúlt évtizedben bizonyosodott be, hogy a

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére

PCT-s betegek nagy része hordozza a hereditár haemochromatosis kialakulásáért felelős HFE gén valamely mutációját (2, 3, 6, 18, 21, 22, 26), ami – minden bizonnyal a hepatikus vasszintek emelése miatt – az egyik legfontosabb precipitáló tényezőnek tekinthető (2, 6, 10, 13, 18, 21-23, 26).

PCT-ben – az UROD károsodása eredményeként – diagnosztikus értékű porphyrin-spektrum alakul ki, amire általánosan jellemző a magas vizelet összporphyrin szint, ezen belül az acetát-szubsztituált porphyrinek kóros felgyűlése, az uro- és heptakarboxil-porphyrinek dominanciájával. Jelen munkánkban azt vizsgáltuk, hogy a különböző HFE génmutációk hogyan befolyásolják a PCT-re jellemző porphyrin-spektrumot.

Módszerek

Vizsgálatainkat a szegedi Bőrkinikán gondozott 40 PCT-s betegben végeztük. A 40 beteg közül 19 hordozta a HFE gén valamely mutációját (12 heterozygota H63D; 1 homozygota H63D; 2 heterozygota C282Y; 2 dupla heterozygota C282Y/H63D; 2 homozygota C282Y). A HFE-mutációra pozitív betegek közül 14 volt azonos azokkal, akiknek más irányú vizsgálatáról már korábban beszámoltunk (21).

A HFE mutációkat Mullighan és mtsai (17) módszerével, a szérum ferritinszintet MEIA technikával vizsgáltuk, amint azt korábban már leírtuk (18). A δ -aminolevulinsavat (ALA) és a vizelet összporphyrin-t a Bio-Rad cég ioncserélő kromatográfiás kolonnáival, a porphyrin-frakciók analízisét Seubert S. és mtsai módszerével (24), a széket porphyrin-t Heller és mtsai (8) eljárásával vizsgáltuk. Mind az ALA, vizelet összporphyrin, szérum ferritin meghatározást, mind a kromatográfiás (HPLC-s) vizsgálatot mindegyik beteg esetében a kezelés megkezdése előtt, minimum három különböző napon vett mintából végeztük, és a táblázatban az eredmények átlagát adtuk meg. Az adatok statisztikai értékeléséhez ANOVA (egy szempontos variancia-analízist), post hoc tesztként Turkey-próbát alkalmaztunk.

Eredmények

Méréseink eredményeit az 1. táblázat foglalja össze. Adataink szerint a H63D mutáció nem okozott lényeges eltérést a PCT-re jellemző porphyrin-képben. A többi mutáció esetében a vasszintek és a porphyrin-spektrumok szoros összefüggését tapasztaltuk. A heterozygota C282Y, a H63D/C282Y dupla heterozygota, és méginkább a homozygota C282Y mutációt hordozó betegeinkben a szérum ferritin szintek a felsorolás sorrendjében nőttek, ezzel párhuzamosan az ALA- és összporphyrin szintek is egyre magasabbak voltak. A ferritin és a vizelet összporphyrin érté-

Csoportok jelölése	1.	2.	3.	4.	5.	6	
	Referencia tartomány n = 20	PCT n = 21	PCT+HFE génmutáció				
			H63D heterozyg. n = 12	H63D homozyg. n = 1	C282Y heterozyg. n = 2	H63D/C282Y dupla heterozyg. n = 2	C282Y homozyg. n = 2
Vizelet ALA (μ mol/nap)	<34	61	57	63	66	71	85
Vizelet összporphyrin (nmol/nap)	<240	4340	4112	4224	4854	4928	7160
Vizelet porphyrinek megoszlása (%)							
uroporphyrin	<20	67,3	68,1	66,4	60,8	54,2	51,6
heptakarboxil-porphyrin	<5	20,5	20,5	21,0	22,2	25,3	27,7
hexakarboxil-porphyrin	<5	3,9	4,0	4,1	6,1	6,9	7,0
pentakarboxil-porphyrin	<5	3,4	3,2	3,9	5,9	7,8	7,6
coproporphyrin	>75	4,9	4,2	4,6	5,0	5,8	6,1
Széketlet összporphyrin (nmol/g)	<60	78	75	77	77,5	84	94
Uro/hepta hányados		3,28	3,32	3,16	2,74	2,14	1,86
Szérum ferritin* (mg/L)	15-53	790 (n = 11)	880 (n = 6)	1070 (n = 1)	1370 (n = 1)	1524 (n = 1)	2590 (n = 1)

* Kezeletlen állapotban nem mindegyik betegnél történt ferritin-meghatározás, ezért itt a vizsgált betegek számát (n) külön jelöltük.

Szignifikancia (p<0,05):

Vizelet összporphyrin: szignifikáns különbség van az 1. és 6., valamint 2. és 6. csoport között.

Uro hepta hányados: a 4., 5., 6. csoport szignifikánsan különbözik az első háromtól, valamint egymástól.

Ferritin: 3., 4., 5., 6. csoport szignifikánsan különbözik egymástól, kivéve a 4-5 relációt, valamint mindegyik szignifikánsan különbözik az 1. és 2. csoporttól.

Korreláció (p<0,05):

Ferritin és vizelet összporphyrin között pozitív, a ferritin és uro/hepta hányados között negatív korreláció mutatkozik.

1. táblázat

Precursor, porphyrin, valamint szérum ferritin átlagértékek PCT-s betegekben

kek korreláltak ($r = 0,977$; $r^2 = 0,955$; $p < 0,05$). Ugyanebben a sorrendben a különböző porphyrin-frakciók aránya is egyre inkább eltolódott: az uro- és heptakarboxil-porpyrinek dominanciája ugyan megmaradt, de az alacsonyabb karboxil-csoport számú frakciók relatív részesedése nőtt az uroporphyrin relatív részesedése rovására. Különösen jól szemlélteti az eltolódást a két legnagyobb frakció, az uro- és heptakarboxil-porphyrin arányának változása: a szérum ferritin szint növekedésével az uro/hepta hányados csökkent ($r = -0,964$; $r^2 = 0,930$; $p < 0,05$).

Megbeszélés

Korábban már rámutattunk, hogy általában a PCT-ben a porphyrin-frakciók megoszlása (így az uro/hepta hányados is) a különböző betegekben tág határok között változik, és ez a hányados nincs szoros korrelációban az összporphyrin szintekkel (14). A porphyrin szintek változatosságát annak tulajdonítottuk, hogy a többnyire egyidejűleg, de más-más súllyal ható precipitáló faktorok más módon és más mértékben befolyásolhatják az UROD működését, és ebben az aktuális szöveti vasszinteknek meghatározó szerepük lehet (16). Jelen vizsgálataink igazolják, hogy – legalábbis a HFE-mutációk vonatkozásában – e befolyás erőssége a mutációk vasfelhalmozódást fokozó képességétől függ.

Eredményeink összhangban vannak azzal, hogy a PCT-s betegekben talált H63D allélfrekvencia nem különbözik szignifikánsan az *Andrikovics és mtsai* (1) által leírt, magyar egészséges populációra vonatkozó 13,1%-os allélfrekvenciától (18, 19), ill. hogy a H63D mutációról ismeretes, hogy nem okoz fokozott vasfelhalmozódást a szervezetben (7). Viszont a compound heterozygota mutációk, továbbá a C282Y mutáció (már heterozygota esetben is!) erősen befolyásolják a vasforgalmat (7). A fokozott vaslerakódás és a PCT összefüggését pedig már több szerző is hangsúlyozta – a hereditær hemochromatosisra jellemző génmutációktól függetlenül is. Ez utóbbi esetekben a rendszeres alkoholfogyasztás vagy másféle krónikus intoxikáció, vagy hosszan tartó fertőzés okoz kóros vasfelhalmozódást, amely esetekben az aspecifikus oxidázok fokozott indukciója és/vagy a ferrochelataze gátlása is fontos szerepet játszik a vasanyagcsere eltérítésében (2, 5, 6, 21). Az UROD vizsgálatával nemrég kimutattuk, hogy a kórosan magas szöveti vas (függetlenül attól, hogy milyen mechanizmus eredményeként alakult ki) – irreverzibilis redox-reakciók révén – egyaránt károsítja az UROD szubsztrátját (az uroporphyrinogént), a dekarboxilációs folyamat köztitermékeit (a heptakarboxil-, hexakarboxil-, pentakarboxil-porphyrinogéneket), valamint magát az enzimet (UROD-t) is, ezért a vas kulcsszerepet játszik az uroporphyrinogen konszekutív lépésekből álló dekarboxilációjának gátlásában, így a PCT kialakulásában (15). Ugyanakkor a magas szöveti vasszint hozzájárulhat a májfolyamat fenntartásához, ill. súlyosbításához is (5, 10, 13, 23).

Eredményeink tehát alátámasztják azt a nézetet, hogy a HFE génmutációk valóban a szöveti vasszint fokozása révén jelentenek rizikófaktort a PCT kialakulásában. Mind-

amellet a PCT *komplex (poligénes)* betegség (5, 13, 25), ezért a vas összetett szerepének tárgyalása csak egyetlen nézőpontot jelent a betegség patomechanizmusában.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az Egészségügyi, Szociális és Családügyi Minisztérium támogatta (ETT 390/2003.)

IRODALOM

1. *Andrikovics H., Klein I., Kalmár L. és mtsai*: Új molekuláris genetikai módszer az öröklődő hemochromatosis differenciál-diagnosztikájában. *Orv. Hetil.* (1999) 140, 2517-2522.
2. *Bonkovsky H. L., Poh-Fitzpatrick M., Pimstone N. és mtsai*: Porphyria cutanea tarda, hepatitis C and HFE gene mutations in North America. *Hepatology* (1998) 27, 1661-1669.
3. *Bulaj Z. J., Phillips J. D., Ajioka R. S., et al.*: Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. *Blood* (2000) 95, 1567-1571.
4. *Elder G. H., Roberts A. G.*: Uroporphyrinogen decarboxylase. *J. Bioenerg. Biomembr.* (1994) 27, 207-214.
5. *Elder G. H.*: Porphyria cutanea tarda. *Semin. Liver. Dis.* (1998) 18, 67-75.
6. *Fargion S., Fracanzani A. L., Romano R., et al.*: Genetic hemochromatosis in Italian patients with porphyria cutanea tarda: possible explanation for iron overload. *J. Hepatology* (1996) 24, 564-569.
7. *Feder J. N., Gnirke A., Thomas W. és mtsai*: A novel MHC class 1-like gene is mutated in patients with hemochromatosis. *Nat. Genet.* (1996) 13, 399-408.
8. *Heller S. R., Labbe R. F., Nutter J.*: A simplified assay for porphyrins in whole blood. *Clin. Chem.* (1971) 17, 525-528.
9. *Horkay I.*: Cutaneous porphyrias – perspectives. *Nouv. Dermatol.* (1999) 18, 434-439.
10. *Horkay I., Emri G., Varga V. és mtsai*: A hepatopathia etiológiája porphyria cutanea tardában. *Bőrgyógy. Vener. Szle.* (2004) 80, 113-116.
11. *Kószó F., Földes M., Morvay M. és mtsai*: Krónikus hemodialízissel kapcsolatos porphyria/pseudoporphyria. *Orv. Hetil.* (1994) 135, 2131-2136.
12. *Kószó F., Morvay M., Dobozy A. és mtsai*: Erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase activity in 80 unrelated patients with porphyria cutanea tarda. *Brit. J. Dermatol.* (1992) 126, 446-449.
13. *Kószó F., Simon M.*: A porphyria cutanea tarda patogenezise. *Orv. Hetil.* (2000) 141, 709-713.
14. *Kószó F., Morvay M., Dobozy A.*: Changes of the porphyrin pattern in porphyria cutanea tarda (Abstract). *Klin. Kísér. Lab. Med.* (1997) 24, 111.
15. *Kószó F., Morvay M., Dobozy A., et al.*: Erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase activity and therapeutic phlebotomy in porphyria cutanea tarda. *J. Porph. Phthalocyan.* (2000) 4, 736-738.
16. *Morvay M., Kószó F., Dobozy A.*: Do the different mutations in the HFE gene influence the distribution of the porphyrin levels in porphyria cutanea tarda? *Physiol. Res.* (2003) 52, 19S.
17. *Mullighan C. G., Bunch M., Fanning G. C., és mtsai*: A rapid method of haplotyping HFE mutation and linkage disequilibrium in Caucasoid population. *Gut* (1998) 42, 56-58.
18. *Nagy Zs., Kószó F., Pár A., és mtsai*: Porphyria cutanea tarda: kockázati tényező-e a haemochromatosis gén (HFE) – mutáció és a hepatitis-C vírus (HCV) - infekció? *Orv. Hetil.* (2000) 141, 2031-2034.
19. *Nagy Zs., Kószó F., Pár A. és mtsai*: Hemochromatosis (HFE) gene mutations and hepatitis C virus infection as risk factors for porphyria cutanea tarda in Hungarian patients. *Liver Intern.* (2004) 24, 16-20.
20. *Reményik É., Ujj Gy., Kiss A., és mtsai*: Porphyria cutanea tarda and lymphoid leukemia. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* (1996) 12, 180-182.
21. *Roberts A. G., Whatley S. D., Morgan R. R., et al.*: Increased frequency of the hemochromatosis Cys282Tyr mutation in sporadic porphyria cutanea tarda. *Lancet* (1997) 349, 321-323.

22. Santos M., Clevers H. C., Marx J. M., et al.: Mutations of the hereditary hemochromatosis candidate gene HLA-h in porphyria cutanea tarda. N. Engl. J. Med. (1997) 336, 1327-1328.
23. Sassa S.: The porphyrias. Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. (2002) 18, 56-67.
24. Seubert S., Seubert A.: Porphyrin-Bestimmung in Harn. Merck Spectrum (1989) 2, 8-9.
25. Simon N., Hunyadi J., Szörényi Á. és mtsai: Porphyria cutanea tarda – eine multifaktoriell vererbliche Erkrankung? Eine Arbeitshypothese. Hautarzt (1978) 29, 378-382.
26. Stuart K. A., Busfield F., Jazwinska E. C., et al.: The C282Y mutation in the hemochromatosis gene (HFE) and hepatitis C virus infection are independent cofactors for porphyria cutanea tarda in Australian patients. J. Hepatol. (1998) 28, 404-409.

A

HYFREATOR 2000

VÉGRE MAGYARORSZÁGON IS KAPHATÓ !

Az immáron világhírű Hyfrecator 1937-es bevezetése óta a világ első számú rendelőintézeti elektrosebészeti eszközévé vált. A legújabb változat, a Hyfrecator 2000 már magában hordozza napjaink legmodernebb technológiai újításait is.

Alkalmazási módok:

- Desiccatio („kiszáritás”: az elektróda hozzáér vagy behatol a bőrbe)
- Fulguratio („villámszórás”: az elektróda majdnem hozzáér a bőrhöz)
- Coagulatio („alvasztás”: az elektróda majdnem hozzáér a bőrhöz, vezető ellenpólus alkalmazásával)

Monopolaris üzemmódban a Hyfrecator 2000 alkalmas a benignus bőrelváltozások jelentős részének a kezelésére (pl.: Acrochordon, Actinicus Keratosis, Adenoma Sebaceum, Angiokeratoma, Angioma cavernosum, Spider naevus, Condyloma acuminatum, Fibroma, Keratoacanthoma, Lymphangioma, Molluscum Contagiosum, Pyogen granuloma, Seborrhoeás keratosis, Syringomák, Teleangiectasiák, Verrucae vulgaris, Verrucae filiformis, Verrucae plana, stb.).

Nagy előnye, hogy gyakorlatilag hegesedés nélkül gyógyul a beavatkozás helye.

A Hyfrecator 2000 rendkívüli megbízhatóságával (az USA-ban több mint 30 éves készülékek is üzemelnek gond nélkül) és rendkívül kedvező árával (300.000,- Ft + 25% áfa = 375.000 Ft) tűnik ki a versenytársak mezőnyéből.



A készülék bipolaris üzemmódban is használható (opcióként megvásárolhatóak az ehhez szükséges kiegészítők).

Gyártja: Conmed Corporation (USA)

Forgalmazó: Medist kft, 1056 Budapest, Belgrád rakpart 23.

További információ: 318-09-25 telefonszámon

*Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum,
Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika
(igazgató: Kemény Lajos dr., egyetemi tanár)*

A digitális dermatoszkópia és computeres képanalízis jelentősége a bőrgyógyászati gyakorlatban*

The importance of digital dermatoscopy and image analysis in the dermatological practice

OLÁH JUDIT DR., GYULAI ROLLAND DR., BALTÁS ESZTER DR., SZABAD GÁBOR DR.,
NÉMETH RÉKA DR.

ÖSSZEFOGLALÁS

A melanoma malignum incidenciájának világszerte tapasztalható ugrásszerű növekedése miatt a pigmentált tumorok pontos elkülönítése a bőrgyógyászati diagnosztika egyik kulcskérdése.

A kórismezésben fontos előrelépést jelentett a dermatoszkópia bevezetése, melyben az utóbbi évek computer technikai fejlődése tette lehetővé a digitális képrögzítés és analízis alkalmazását is.

Jelen munkában a digitális dermatoszkópia klinikai alkalmazásának lehetőségeit foglalják össze a szerzők az irodalmi adatok és a SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán szerzett tapasztalataik alapján.

A digitális képanalízis jelentős segítséget ad a melanoma malignum korai felismerésében, azonban a vizsgáló klinikai tapasztalata feltétlenül szükséges a pontos diagnózis felállításában. Lényegesebb a szerepe a digitális technikának azonban a sok anyajegyet hordozó, elsősorban a dysplastikus naevus szindrómában szenvedő betegek követésében.

A prevenció szempontjából igen fontos, hogy mind az önképzésben, mind az oktatásban nagyon jól használható a digitális dermatoszkópia. A távlatokban a „teledermatológia” a bőrgyógyászok és házi orvosok közötti konzultáció egyik lehetőségét adja.

Kulcsszavak:
melanoma malignum - digitális dermatoszkópia - computeres képanalízis

SUMMARY

The incidence of melanoma has been increasing worldwide in last few decades.

Because the most effective management of malignant melanoma is early recognition and surgical excision of thin lesions, the differential diagnosis of pigmented tumors is one of the most important questions in dermatological practice.

The dermatoscopy was the first milestone in the diagnostic procedure of malignant melanoma. A growing interest has developed in the last decade in automated analysis of digitized images obtained by digital dermatoscopy technique to assist clinicians in differentiating early melanoma from benign skin lesions.

In the present study we summarized the literature data and our clinical experience in digital dermatoscopy.

Digital dermatoscopy is very useful in the early diagnosis of malignant melanoma and the follow up of the patients with multiple common and/or dysplastic nevi.

These methods can be helpful not only in the diagnostic procedures, but also in gradual dermatological education, in self training and teleconsultations.

Key words:
malignant melanoma - digital dermatoscopy - computer aided diagnosis

Bevezetés

Az elmúlt harminc évben a melanoma malignum (MM) incidenciájában világszerte tapasztalható robbanásszerű növekedés miatt a pigmentált tumorok elkülönítő kórismézé-

se vált az egyik legfontosabb kérdéssé a bőrgyógyászati gyakorlatban. Melanoma malignumban a diagnosztikus pontosság eszközös vizsgálat nélkül még nagy gyakorlati tapasztalat mellett is alig 60%. A dermatoszkópia bevezetése egy in vivo, noninvazív technológia révén a festékes bőrdaganatok struktúrájának mikroszkópos tanulmányozási lehetőségét adta, ezzel mérföldkövet jelentett a MM korai diagnosztikájában. Kittler és munkatársai 27 tanulmány

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére

meta-analízise alapján azt találták, hogy a dermatoszkóp használata 49%-kal, szignifikánsan javította a MM felismerését (1). Az eredményeket azonban nagymértékben befolyásolta a vizsgálók dermatoszkópos gyakorlata, valamint az általuk alkalmazott dermatoszkópos algoritmus is.

A bővülő kemo- és immunterápiás lehetőségek ellenére a MM-ban szenvedők sorsát ma is a daganat korai felismerése és kezelése határozza meg, emiatt számos munkacsoport tudományos érdeklődését keltette fel a dermatoszkópia, mint új lehetőség a korai felismerésre, így a melanomas betegek életkilátásának javítására. A klinikai tapasztalat gyarapodása újabb és újabb algoritmusok kidolgozását eredményezte, azonban a technika szubjektivitását egyik rendszer sem volt képes kiküszöbölni. Újabb fordulatot jelentett a computer technika és a digitális képrögzítés adta lehetőségek hasznosítása a módszer fejlesztésében, mely további lendületet adott a terület kutatóinak.

A hagyományos dermatoszkópia hazánkban a 90-es évek elején terjedt el rutinszerű vizsgálatként. A Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján a szakorvosképzésben és továbbképzések során az elmúlt évtizedben különös hangsúlyt kapott a módszer

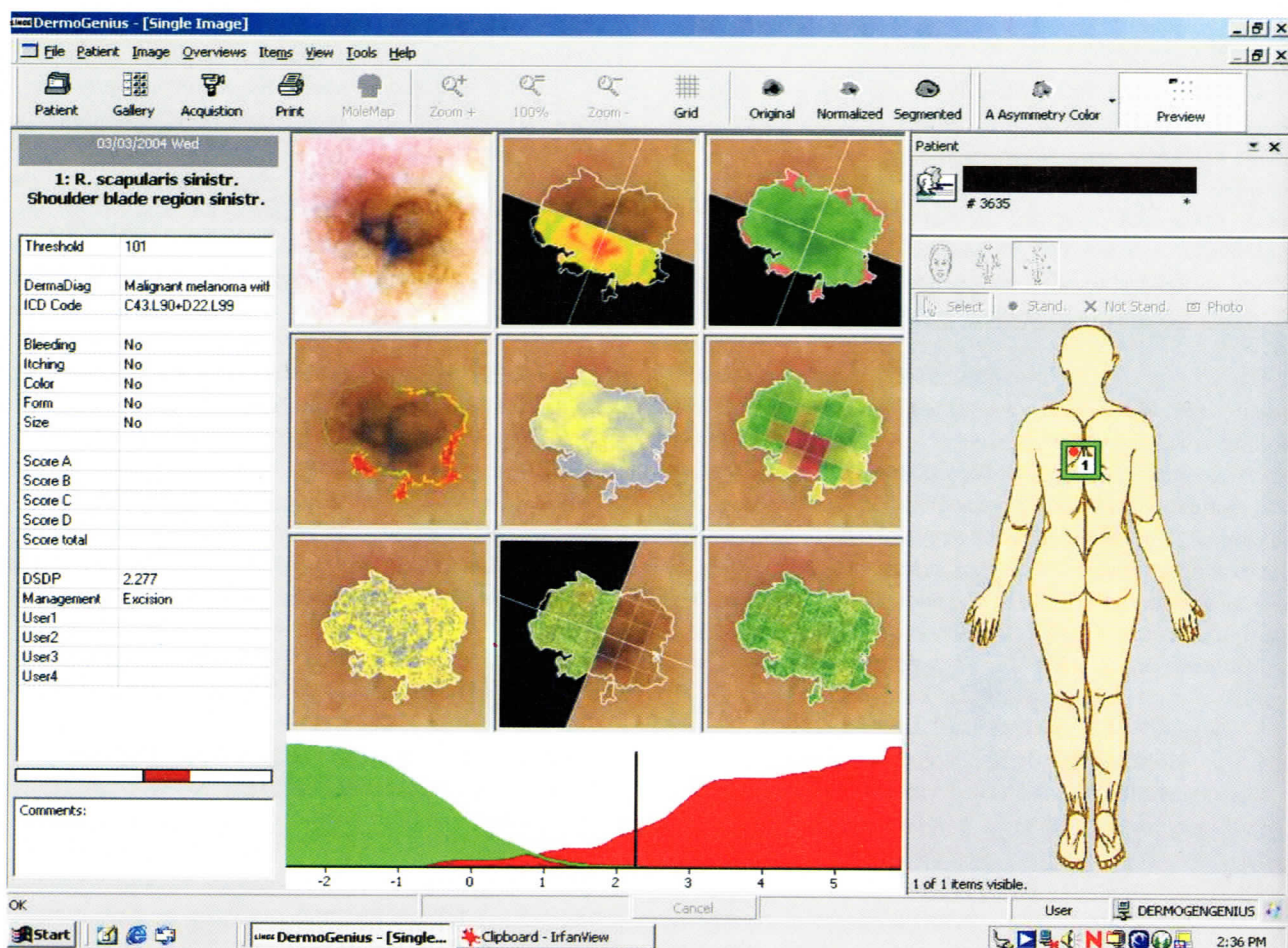
széleskörű terjesztése. Az epilumineszcens mikroszkópia, később a digitális dermatoszkópia és computeres képanalízis bevezetésében úttörő szerepet töltöttünk be, mivel mindkét módszert elsőként alkalmaztuk Magyarországon. Közel két éve segíti a dermatoonkológiai munkacsoportunk diagnosztikus tevékenységét egy DermoGenius ultra plus digitális képrögzítő és computeres analízáló rendszer (Rodenstock) rutinszerű használata. Az eszköz mechanikus használatán túl, a rendszerhez kapcsoltuk saját fejlesztés eredményeként a digitális klinikai fotódokumentációt és a szövettani képes dokumentációt is.

Jelen munkában az irodalmi adatok és saját klinikai tapasztalatunk alapján összefoglaljuk a digitális dermatoszkópia és a computeres képanalízis bőrgyógyászati gyakorlat szempontjából fontos aspektusait.

A digitális dermatoszkópia és computeres képanalízis technikai háttere

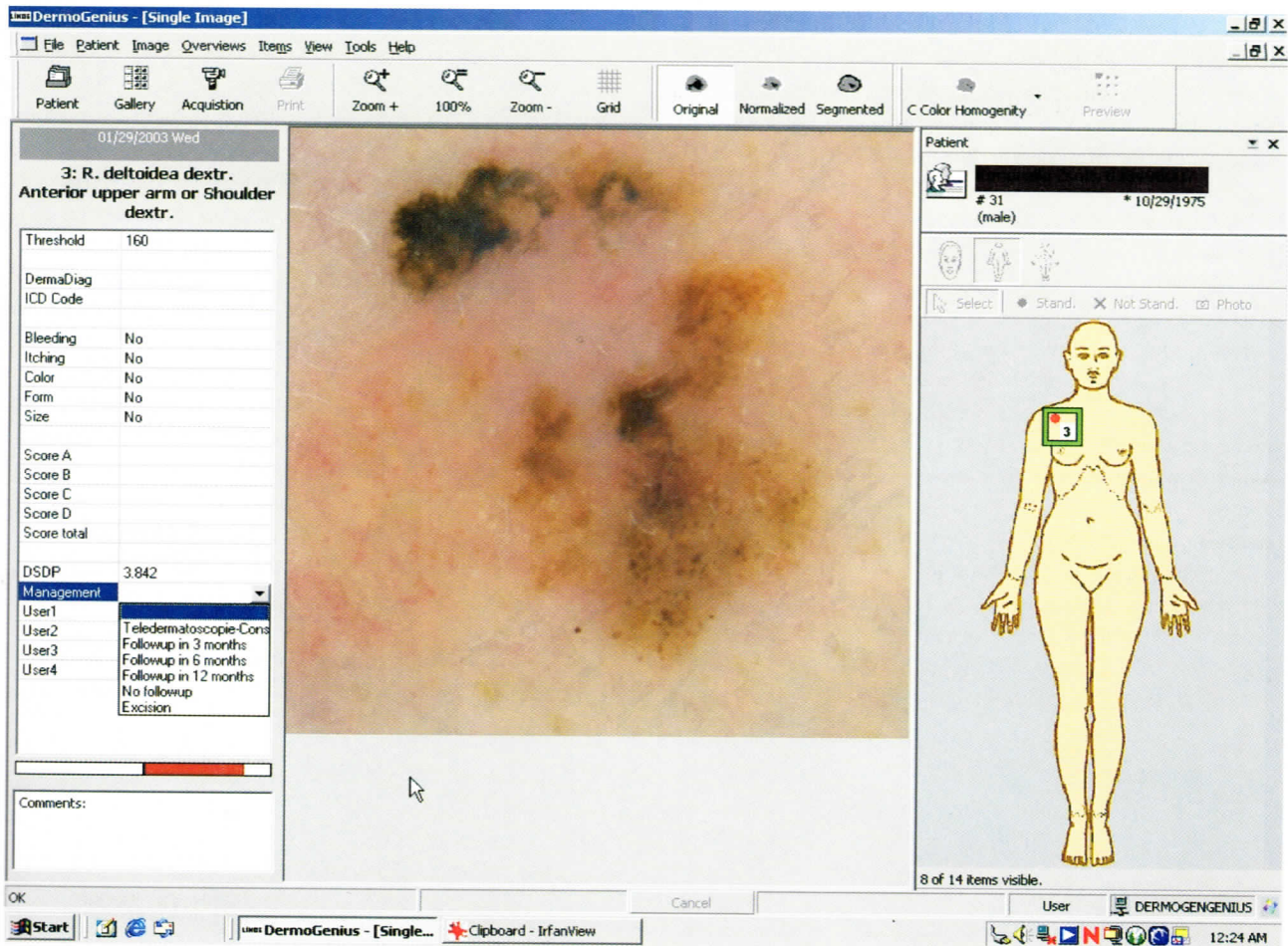
DermoGenius Rodenstock

Az első digitális dermatoszkópos eszköz kifejlesztése a nyolcvanas évek végén, Kenet nevéhez fűződik (2). A



1. ábra

A pigmentált elváltozások analizálása során a computer az ABCD dermatoszkópos kritériumok közül 8 paraméter figyelembevételével (forma, szín és strukturális aszimmetria, a szélek, a szín és a dermatoszkópos strukturák változatossága illetve a szín és a strukturális homogenitás alapján) kalkulálja a DDS-t. Az ábra egy regresszív jeleket mutató melanoma digitális dermatoszkópos értékelésének képét mutatja.



2. ábra

Jellegzetes dermatoszkópos kép és magas DDS (piros jelzéssel) egy regresszív, vékony melanoma malignumban.

módszer azonban néhány évvel később, elsősorban Schindewolf és Stolz (3) majd Seidenari (4) munkacsoportjainak aktivitása révén érte el a jelenlegi technikai szintet (5).

A Rodenstock cég Stolz és munkacsoportja révén kifejlesztette a DermoGenius digitális dermatoszkópos képrögzítő és analízáló rendszert, melynek Ultra / Plus (www.dermogenius.com) típusát használjuk a SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika Onkodermatológiai Ambulanciáján

Ebben a rendszerben a módszer alapját képező standard digitális képrögzítés egy 3CCD kamera segítségével valósul meg. A standardizálást napi árnyék- (fekete-fehér) és heti színskálolás biztosítja.

A képek standard értékelésének hátterét egy „tanítható mesterséges memória” adja, melynek segítségével a computer az elváltozásokat digitális dermatoscopos scorral (DDS) és ennek alapján zöld-piros színskálával minősíti. A pigmentált elváltozások analizálása során a computer az ABCD dermatoszkópos kritériumok (6) közül 8 paramétert vesz figyelembe. A formai, színbeli és strukturális aszimmetria, a szélek, a szín és a dermatoszkópos strukturák változatossága illetve a szín és a strukturális homogenitás alapján történik a festékes tumorok DDS értékelése. Első lépésként a vizsgálatban a hatékonyabb analí-

zist segíti elő a digitális kép normalizálása, mely a bőr alap pigmentációjának képi eliminálását jelenti. Ezzel a strukturális jellegzetességek kontrasztosabb megjelenése, így azok pontosabb tanulmányozása jobban megvalósítható (1. ábra).

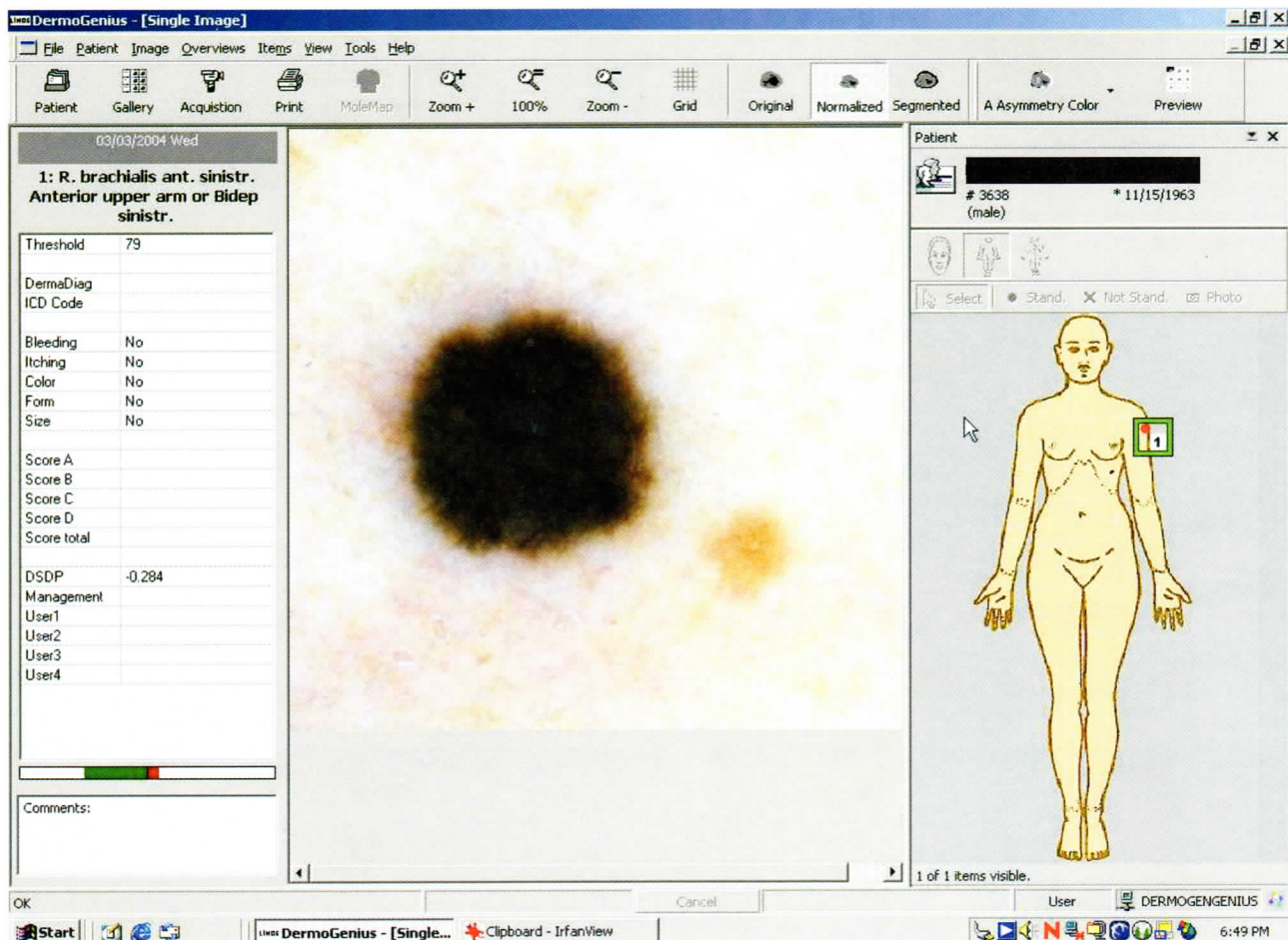
A beteg demográfia adatainak és képi kórtörténetének tárolására is jól hasznosítható a rendszer. Klinikánkon saját fejlesztésként integráltuk a DermoGenius rendszerhez a klinikai fotók és a szövettani képek tárolását is.

A digitális dermatoszkópia és computeres analízis szerepe a MM diagnosztikában

Klinikánkon a melanoma malignum kórismezésének algoritmusában a beteg anamnézisének felvételét és klinikai vizsgálatát követően hagyományos dermatoszkópia, a gyanús festékes léziók esetén azok standard digitális klinikai és dermatoszkópos képrögzítése, majd ezt követően computeres analízise történik.

Jellegzetes klinikai kép mellett a melanoma malignumban a DDS 1 felett van, és a piros sáv a domináns az értékű színskálán (2. ábra).

A MM klinikai gyanúját a magasabb DDS (score 1<) megerősítheti. A computer által megadott DDS azonban klinikai adatok nélkül nem értékelhető. Egy irritált seborr-



3.ábra

42 éves férfibeteg felkarján de novo jött létre az 5 mm átmérőjű, szabályos, homogén pigmentációval bíró macula. A DDS igen alacsony értéket mutatott, nem vetette fel malignus tumor gyanúját. Tekintettel arra, hogy a beteg édesanyját korábban melanoma miatt kezeltük, valamint a kérdéses elváltozás rövid idő alatt alakult ki, az anamnézis alapján nem volt elvethető a melanoma diagnózisa. A szövettani vizsgálat alacsony rizikójú MM fennállását igazolta.

hoeás keratosist, vagy egy pigmentált basaliomát is magas scorral jellemezhet a computer, azonban a klinikai sajátosságok és a kórtörténet elvetheti a MM fennállásának lehetőségét.

Alacsony DDS sem zárhatja ki biztonsággal, hogy az adott festékes anyajegy nem rosszindulatú. Ezt jól demonstrálja annak a betegünknek a példája, akinél a hirtelen, de novo kialakult, alacsony score-t mutató festékes léziót MM vonatkozásában pozitív családi anamnézise és a kórelőzményi adatok (de novo, rövid anamnézis) miatt fél cm-es biztonsági zónával, MM gyanújával távolítottunk el és a szövettani vizsgálat igazolta a felvetett klinikai diagnózist (3. ábra).

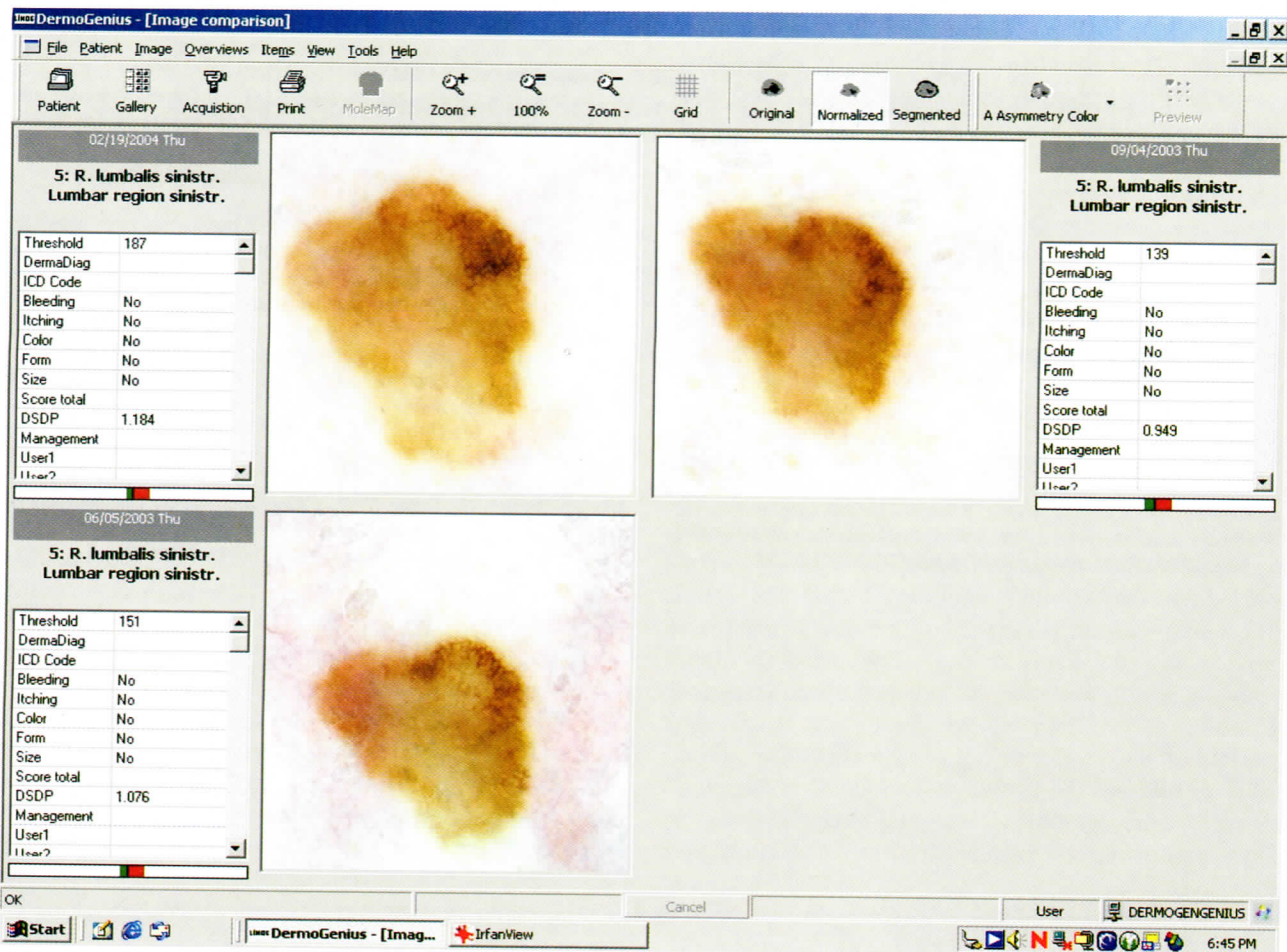
A digitális dermatoszkópia és computeres analízis szerepe az anyajegyek követésében

A lakosságnak jelentős hányadát alkotják azok az egyének, akik nagyszámú szerzett anyajegyvet vagy dysplasticus naevusokat (DN) hordoznak, így a MM kialakulására nagyobb a kockázatuk. Korábbi munkánk során azt talál-

tuk, hogy a DN hordozó melanómások évtizedekkel fiatalabbak (7), mint az anyajegyvet nem hordozók ezért nem elhanyagolható, hogy ennek a populációnak a legmagasabb a daganat következtében elvesztett életéveinek száma is. Az irodalmi adatok azonban megoszlanak arra vonatkozóan, hogy milyen eredményűek a MM szűrővizsgálatok a DN hordozó egyének esetén. A legtöbb mégis azt támogatja, hogy a DN hordozó egyének követésével a felfedezett MM esetén a primer tumor vastagsága lényegesen kisebb, így a korai stádiumú MM eredményesebben gyógyítható (8).

További előnyt jelent az objektív követéses vizsgálat a feleslegesen elvégzett excísiók megelőzésében is (9).

A klinikai gyakorlatban a digitális dermatoszkópia alkalmazása során a DN hordozó egyéneknél számos olyan pigmentált elváltozást találunk, melynek DDS értéke 1 feletti, azonban a követés során évekig változatlan. Ilyen esetekben a DDS abszolút értékénél nagyobb információt hordoz a gyakorló klinikus számára a DDS értékének változása. A digitális technika előnye, hogy ugyanazon elváltozás dermatoszkópos képeit egymás mellett, időrendi



4. ábra

48 éves, dysplastikus naevus syndromában szenvedő melanomás nőt 5 éve követünk számtalan anyajegy és korábbi daganata miatt. Számos gyanús anyajegyének digitális képrögzítését végeztük el a korábbi gondozások során. A fenti elváltozások közül több DDS értéke meghaladta az 1-t. Két pigmentált tumort excidáltunk, mivel az egyik közülük DDS értékét tekintve változott, a másik DDS értéke standard magas értéket mutatott. A változó pigmentált tumor in situ SSM-nek, míg a változatlan magas DDS értékű lézió dysplastikus naevusnak bizonyult a szövettani vizsgálat során.

sorrendben tárolja a program, így az értékeléskor egy képernyőn, egyszerre tanulmányozható az adott kép változása (4. ábra).

Egyazon anyajegy változását, valamint új pigmentált tumorok megjelenésének felismerését a MoleMap program alkalmazása segíti. A változó vagy új anyajegyet a korábbi felvételekkel való összehasonlítást követően a computer piros színnel jelöli, így könnyen azonosítható és tovább vizsgálható a kérdéses elváltozás

Megbeszélés

A digitális dermatoszkópia, valamint a kép rögzítése és computeres analízise mérföldkövet jelent a pigmentált tumorok differenciáldiagnosztikájának fejlődésében. A digitális technika számos előnnyel jár, mely jól hasznosítható mind a napi rutin MM diagnosztikában, mind a sok anyajegyet hordozó egyének követéses vizsgálatában.

Sok újdonságot hordoz magában az eljárás, mivel az Internet adta lehetőségeket kihasználva a kollégák közti

konzultáció felé új dimenziót nyit. A „teledermatológiát” több országban alkalmazzák részben hisztológiai, részben dermatoszkópos és digitális klinikai képek konzultálására is. Több Interneten létrehozott konszenzus konferenciát bonyolítottak le pl. a pigmentált bőrelváltozások diagnosztikus, dermatoszkópos algoritmusának standardizálására (10).

Az ismeretterjesztés, a graduális képzés valamint a rezidensek gyakorlati bőrgyógyászati oktatása és a szakorvosok továbbképzése is egyszerűsödik a digitális technika alkalmazásával. Nem elhanyagolható előnye a módszernek, hogy az önképzésre is kiváló lehetőséget teremt.

Mint minden metodikának, így a digitális dermatoszkópiának is vannak korlátai. Bizonyos nagyság feletti (kb. 12 mm átmérőjű) bőrelváltozásról standard dermatoszkópos kép nem készíthető a kamera méretkorlátja miatt. Az exophyt tumorok esetén a DDS változása körültekintően alkalmazandó, mivel a lézióra gyakorolt kompresszió iránya és ereje is megváltoztathatja a vizualizálható struktúrák helyzetét, formáját, így magát a DDS-t is.

Legfőbb hátránya, hogy a computeres rendszer kiépítése rendkívül drága, azonban hosszútávon, ha a hagyományos képrögzítés és az új technikával megelőzhető excísiók anyagi vonzatát vesszük alapul, biztosan költség-hatékony eljárás.

A klinikai adatok és szakmai tapasztalat nélkül nem értékelhető a computer által kalkulált DDS, így a modern technika sem helyettesítheti a jól képzett és a dermatoszkópiában jártos dermatológusokat a MM diagnózisának felállításában. A beteg sorsát meghatározó, igen felelősségteljes döntés továbbra is a mi feladatunk marad.

IRODALOM

1. Kittler, H., Pehamberger, H., Wolff, K. et al: Diagnostic accuracy of dermoscopy. *Lancet Oncol.* (2002) 3, 159-165.
2. Kenet, R. O., Kang, S., Kenet, B. et al: Clinical diagnosis of pigmented lesions using digital epiluminescence microscopy. Grading protocol and atlas. *Arch.Dermatol* (1993) 129, 157-174.
3. Schindewolf, T., Stolz, W., Albert, R. et al: Classification of melanocytic lesions with color and texture analysis using digital image processing. *Anal.Quant.Cytol.Histol.* (1993) 15, 1-11.
4. Seidenari, S., Pellacani, G., and Pepe, P.: Digital videomicroscopy improves diagnostic accuracy for melanoma. *J Am.Acad.-Dermatol* (1998) 39, 175-181.
5. Fleming M. G.: Digital dermoscopy. *Dermatol Clin.* (2001) 19, 359-67, ix.
6. Stolz, W., Schiffner, R., Pillet, L. et al.: Improvement of monitoring of melanocytic skin lesions with the use of a computerized acquisition and surveillance unit with a skin surface microscopic television camera. *J Am. Acad. Dermatol* (1996) 35, 202-207.
7. Oláh, J., Gyulai, R., Baltás, E. et al: Dysplasticus naevus és melanoma malignum. *Bőrgyógy.Vener.Szle.* (1999) 75, 127-131.
8. Naeyaert, J. M. and Brochez, L.: Clinical practice. Dysplastic nevi. *N. Engl. J.Med.* (2003) 349, 2233-2240.
9. Menzies, S. W., Gutenev, A., Avramidis, M. et al: Short-term digital surface microscopic monitoring of atypical or changing melanocytic lesions. *Arch.Dermatol* (2001) 137, 1583-1589.
10. Argenziano, G., Soyer, H. P., Chimenti, S. et al: Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the Internet. *J Am. Acad. Dermatol* (2003) 48, 679-693.

HAZAI HÍREK

A „European Society for Dermatological Research” évente megrendezett konferenciája immár 34. alkalommal az idén Bécsben szeptember 9-11. között zajlott. Magyarországról sokan résztvettünk a konferencián, 19 különböző kutatómunka prezentálására került sor.

A rendkívül gazdag tudományos programban kiemelkedő élményt nyújtottak az igen színvonalas meghívott előadások.

A magyar experimentális dermatológiai közösség büszkén adja hírül, hogy a European Society for Dermatological Research vezetésébe választották **Dr. Kárpáti Sarolta** professzort. Ez a megtiszteltetés Professzor Asszony nemzetközi híru tudományos munkájának elismerése. Szeretettel gratulálunk Professzor Asszonynak, erőt, egészséget, megsokasodott teendői mellett további eredményes és örömteli kutatást kívánunk.

Dr. Bata Zsuzsanna

Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika
(igazgató: Dr. Kemény Lajos egyetemi tanár)

Melanoma malignum gyermekkorban* Cutaneous melanoma in childhood

KOROM IRMA DR., OLÁH JUDIT DR., VARGA ERIKA DR., KAPITÁNY KLÁRA DR.

ÖSSZEFOGLALÁS

A melanoma malignum gyermekkorban ritkán fordul elő. Szerzők a SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán 30 év alatt 2200 melanomás betegük között kilenc 16 évesnél fiatalabb beteget észleltek. A klinikai kép az esetek többségében melanoma gyanúját keltette. A Spitz naevustól és az óriás congenitalis naevusban keletkező proliferatív nodulustól való szövettani elkülönítés jelentett esetenként nehézséget. Négy betegnél áttétek alakultak ki, két gyermek meghalt. A felnőttkori melanomához hasonló elvek szerinti kezelést alkalmazták. A klinikai és szövettani diagnózis nehézségeit hangsúlyozzák.

Kulcsszavak:
gyermekkori melanoma malignum -
prognózis - kezelés - szövettani
differenciáldiagnózis

SUMMARY

Malignant melanoma is a rare disease in childhood. During the past 30 years among the 2200 melanoma cases of the Department of Dermatology and Allergology (University of Szeged) authors found only 9 patients under the age of 16 years. The diagnosis of melanoma malignum was suggested clinically, however, Spitz nevi and proliferative nodules occasionally caused some difficulty to differentiate from melanoma. Four cases developed metastases, two children died of disseminated disease. Patients were treated according the rules of therapy of malignant melanoma in adults.

Key words:
malignant melanoma - childhood -
prognosis - therapy - histological differential
diagnosis

A gyermekkori malignus daganatok 1-3%-a melanoma, s az összes melanomának csak 0,3-0,4%-a jelentkezik 14 évesnél fiatalabb gyermekeken. Richardson és mtsai (6) három csoportba osztották a praepubertásban jelentkező melanomákat: 1. congenitalis melanoma: a méhen belül keletkező, születéskor meglévő forma; 2. csecsemőkori melanoma: születés után az 1. életévben keletkező forma; 3. gyermekkori melanoma: születéstől a pubertásig terjedő időszakban fellépő forma. A 12. életév körül exponenciális incidencia növekedést mutatnak a statisztikai adatok (8). A ritka előfordulás, a magyar közlés hiánya, az utóbbi évben az esetek szaporodása indokolja a közlést.

Anyag és módszer

Az elmúlt 30 év során az SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán kilenc melanomás beteget észleltünk a 16 évesnél fiatalabb korosztályban. Az életkor, nem, lokalizáció, szövettani paraméterek, kezelés és kimenetel az 1. táblázatban kerültek összefoglalásra.

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére

Eredmények

Kilenc 16 évesnél fiatalabb beteg adatainak elemzését végeztük. Három esetben az első klinikai észlelés más intézetben történt, a szövettani vizsgálat konzíliumi szinten valósult meg, ezt követően láttuk a betegeket is.

A nemi megoszlás női túlsúlyt mutatott. Három beteg újszülött volt, egy leány 5 éves, a többiek 10 éven felüliek voltak. A lokalizációt illetően 3 esetben generalizált, testszerte meglévő óriás congenitalis naevus mellett 5 törzsi, 1 hajasfejbőri és 1 alsó végtagi elhelyezkedést találtunk.

Genetikai eltérés, immunszuppresszió nem szerepelt betegeinknél, a családi anamnesis melanoma irányában szintén negatív volt.

A klinikai diagnózisok között a malignus melanoma gyanúja mellett haemangioma és Spitz naevus szerepelt.

Szövettani vizsgálattal kifehélyesedéssel járó, vastag nodularis melanoma 6 esetben volt megállapítható, az átlagos tumorvastagság 3,88 mm. Egy újszülöttnél a szülők nem egyeztek bele a biopsia elvégzésébe (7. eset) (1. ábra), egy másik újszülöttnél a szövettani vizsgálat kezdődő malignus transzformáció illetve a proliferatív nodulus le-

Eset	Életkor	Nem	Lokalizáció	Etiológia		Klinikai diagnózis	Szövettan		Követési idő	Kezelés és kimenetel		
				Közepes v. nagy naevus	Egyéb							
1.	5 év	lány	fejtető	x		Közepes congen. naevus talaján m.m.	NM	3 mm	4 év	excisio	gen. met.	exit
2.	14 év	fiú	hát		x	Haemangioma	NM	4 mm	?	excisio	?	?
3.	15 év	lány	hát		x	Kisgyermekkor óta naevus, napégés, m.m.	NM	7 mm	3 év	excisio	nycs. met.	exit
4.	14 év	lány	alsó végtag		x	1 éve növekvő haemangioma, fibroma	NM	5,4 mm	8 év	excisio	nycs. met.	él
5.	14 év	lány	hát		x	Tu. dorsis	NM	2,7 mm	3 év	excisio IF	sentinel neg.	él
6.	11 év	lány	hát		x	Spitz naevus	NM	3,04 mm	1,5 év	excisio IF	sentinel neg.	él
7.	2 nap	lány	has	x		Óriás congen. naevus malignus átalakulás	Nem történt		?	?	nycs. met.	?
8.	6 nap	lány	generalizált	x		Óriás congen. naevus malignus átalakulás	Naevus talaján NM	1,2 mm	9 hó	exc. prob.	?	él
9.	5 nap	lány	generalizált	x		Óriás congen. naevus malignus átalakulás	Naevus talaján malign.? Prolif. nodulus?		4 hó	exc. prob.	?	él

Rövidítések: NM – nodularis melanoma
IF - interferon

I. táblázat

Klinikai és szövettani adatok gyermekkori melanomás eseteinkben

hetősége között ingadozott. Diagnosztikus nehézséget jelentő esetekben többször konzíliumot vettünk igénybe (2., 3., 9. eset). A klinikailag Spitz naevusnak feltételezett, konzíliumban látott eset szövettani vizsgálatok a kifehélyesedés, az érési tendencia hiánya, a mitosisok száma, a sejttypia megléte erősítette meg a spitzoid nodularis melanoma diagnózisát.

A több hónapos illetve éves követési idő mellett két beteget veszítettünk el, további két beteg sorsa ismeretlen. Nyirokcsomó áttétet 3 betegnél találtunk, helyi recidívát nem tapasztaltunk.

Az újszülöttkori eseteinkben (7., 8., 9. eset) tüneti kezelés történt.

Megbeszélés

A gyermekkori malignus melanomák pontos incidenciája, prognózisa nem ismert annak ellenére, hogy az utóbbi években külföldi összefoglaló közlemények, kézi könyvek több esetről számoltak be (1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11). Ennek több oka lehet:

- a gyermekkor megítélése közleményenként változik: 12-18 év közötti esetek besorolása kérdéses;
- praepubertasban nagyon ritka a melanoma előfordulása még a közismerten magas incidenciájú Ausztráliában is (10);
- nem azonosak a prognosztikai faktorok a régebbi és az új közlésekben;
- nincs elegendő megfigyelési idő az újabb közleményekben a prognózis megítéléséhez.

Richardson és mtsai (6) a bevezetésben felsorolt, jól használható csoportokba osztották a praepubertasban jelentkező melanomás betegeket. Ugyancsak ők foglalták össze a különböző rizikófaktorokat gyermekkori melanomák esetén: óriás congenitalis naevusok, dysplastikus naevusok, xeroderma pigmentosum, genetikai immundeficiencia, másodlagos immunszuppresszió (szervátültetés vagy HIV fertőzés kapcsán).

A *congenitalis melanoma* keletkezhet a melanomás anyai szervezetből transplacentaris úton történő átvitelrel a foetusba. Óriás congenitalis naevusban a dermis-subcutis területén csomó formájában jelentkezhet congenitalis melanoma, s előfordulhat de novo keletkező forma is.



1. ábra

2 napos leány újszülött hasfali elváltozása (7. beteg)



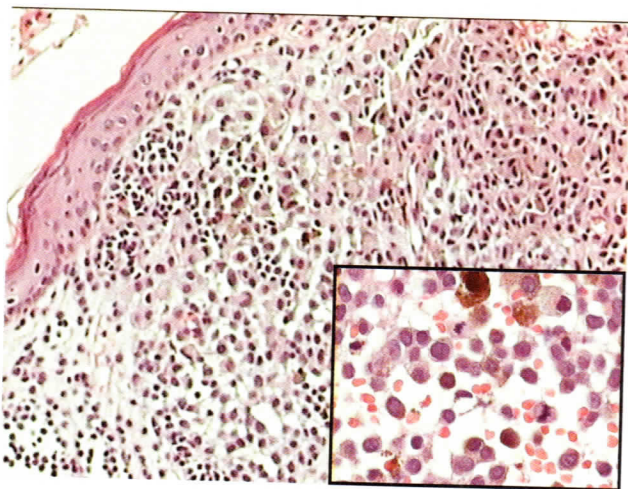
2. ábra

Kiterjedt congenitalis naevus malignus átalakulással
(8. beteg)



4. ábra

Közepes nagyságú congenitalis naevus talaján nodularis
melanoma hajás fejbőrön (1. beteg)



3. ábra

8. beteg: nodularis melanoma részlete, melanocytá atypia,
mitosisok (HE)



5. ábra

14 éves fiú hátán haemangiomát utánzó nodularis
melanoma (2. beteg)

A gyermekkori melanomák egyharmada óriás congenitalis melanocytás naevusok talaján alakul ki aránylag korán, az első 5 életévben. Neonatalis időszakban proliferatív nodulusok keletkezhetnek a naevusban, melyeket mind klinikailag (2. ábra), mind szövettanilag nehéz elkülöníteni a melanomától (7., 8., 9. eset), az atypia, mitosisok jelenléte segíthet (3. ábra) (11.). Minden ilyen esetben akár több, tapasztalt patológus konzultációja szükséges. A pontos megítélésben a nagyon gondos fotódokumentáció és a szoros beteg követés segítséget nyújt.

Inkább a pubertás utáni időszakban keletkeznek melanomák a kis congenitalis melanocytás naevusok talaján, bár még ma sincs egyetértés abban, hogy ezek az elváltozások melanomára fokozott rizikót jelentenek-e.

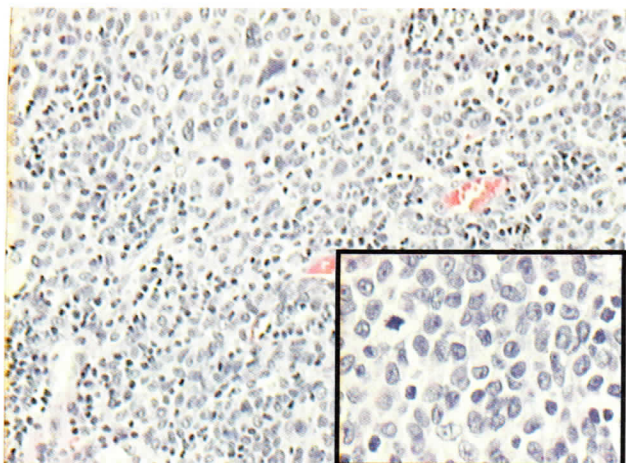
Első esetünkben a hajás fejbőrön elhelyezkedő, közepes nagyságú, congenitalis naevus malignizációja vezetett a folyamat disszeminációja folytán a beteg halálához (4. ábra).

Dysplasticus naevus talaján is kialakulhat gyermekkori melanoma. Az 5-6 éves életkorban 20-nál több szabályos naevus keletkezése az első jele lehet dysplasticus naevu-

sok kialakulásának. Mivel ezek az elváltozások melanoma praecursornak tarthatók, a napfényvédelem, a status rögzítése, rendszeres kontroll vizsgálat mindenképpen szükséges.

A gyermekkori melanomák kb. fele de novo keletkezik, a felnőttek daganatához hasonló klinikai és szövettani megjelenéssel.

Differenciál diagnosztikai szempontból az angiogen elváltozások (5. ábra) (pyogen granuloma, haemangioma) mellett a Spitz naevus elkülönítése mind klinikailag, mind szövettanilag nehéz. Handfield - Jones és mtsai (4) összefoglalták azokat a szövettani kritériumokat, amelyek segíthetnek az elkülönítésben (aszimmetria, pagetoid terjedés, expanzív növekedés, érés, mitosisok, cytológiai atypia, stb.), de ezek nem abszolút kritériumok (6. ábra). 1999-ben Spatz és mtsai (9) az atypusos Spitz tumor rizikójának megítélésére „grading rendszert” dolgoztak ki, mely low, intermedier és high rizikójú csoportokra bontotta 0-11 score érték alapján az eseteket. 30 betegüket 3 évig követték, osztályozták a tumort kor, méret, kifehélyesedés, subcutisba terjedés, mitotikus aktivitás szerint.



6. ábra

Spitzoid nodularis melanoma: érés hiánya, mitosisok, cytológiai atypia (6. beteg) (HE)

A kezelés elvei megegyeznek a felnőttkori betegekével (3): a tumorvastagságnak megfelelő sebészi excisio és sentinel nyirokcsomó vizsgálat. Utóbbi a pontos staging feltétele, emellett könnyen kivitelezhető és hatékony módszer. A regionális nyirokcsomók radikális eltávolításának megítélése ellentmondásos, esetenkénti megfontolás, egyedi elbírálás szükséges. Metasztatizáló esetekben cytostatikus illetve interferon kezelés elfogadott. Ritkán kerül sor végtaggerfúzióra, vaccina kezelésre.

A gyermekkori melanoma diagnózisának kimondása rendkívül nehéz mind a klinikus, mind a szövettanász számára, mert tisztában vannak a diagnózis „pusztító erejével” a beteg családjára nézve (7). Nagy körültekintéssel kell megítélni a szövettani készítményeket, gyakorlott pa-

tológusokkal konzultálni kell, mert nagyon nehéz lehet bizonyos kórképek elkülönítése (Spitz naevus, proliferatív nodulus). Kérdéses esetben a metszetek újrvizsgálata, a betegek hosszú ideig való gondozása feltétlenül indokolt. A daganat ritkasága miatt az esetek összegyűjtése több évtizedet vesz igénybe, ezen tapasztalatok szükségesek az eredményes kezeléshez.

A hosszú ideig tartó gondozás a második melanoma lehetősége és a késői időpontban jelentkező recidíva és/vagy metastasis miatt feltétlenül szükséges.

IRODALOM

1. Barnhill R. L. és mtsai: Cutaneous melanoma and atypical Spitz tumors in childhood Cancer (1995) 76, 1833-1845
2. Ceballos P. I., Ruiz-Maldonado R., Mihm M.C.: Melanoma in children. N. Engl. J. Med. (1995) 332, 656-662
3. Fishman C., Mihm M. C., Sober A. J.: Diagnosis and management of nevi and cutaneous melanoma in infants and children. Clinics in Dermatol. (2002) 20, 44-50.
4. Handfield-Jones S. E., Smith N. P.: Malignant melanoma in childhood. Brit. J. Derm. (1996) 134, 607-616.
5. Harper J., Oranje A., Prose N.: Childhood melanoma. In: Textbook of pediatric dermatology. Blackwell ed. (2000) p. 948-951.
6. Richardson S. K., Tannous Z. S., Mihm M. C.: Congenital and infantile melanoma: review of the literature and report of an uncommon variant, pigment-synthesizing melanoma. J. Am. Acad. Dermatol. (2002) 47, 77-90.
7. Schachner L. A., Hansen R. C.: Melanoma. In: Pediatric dermatology. Mosby ed. (2003) p. 522-524.
8. Shaw H. M., Thompson J. F.: Cutaneous melanoma in childhood: incidence and prognosis. In: Textbook of melanoma. Martin Dunitz (2003) p. 379-386.
9. Spatz A. és mtsai: Spitz tumors in children. A grading system for risk stratification. Arch. Dermatol. (1999) 135, 282-285.
10. Whiteman D. és mtsai: Incidence of cutaneous childhood melanoma in Queensland, Australia. Int. J. Cancer (1995) 63, 765-768.
11. Leech S. N. és mtsai: Neonatal giant congenital nevi with proliferative nodules. Arch. Dermatol. (2004) 140, 83-88.

Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum,
Általános Orvosi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika
(igazgató: Kemény Lajos dr. egyetemi tanár),
Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet¹ (igazgató: Vimpláti László dr. egyetemi tanár)
közleménye

Szövetágítás a plasztikai sebészetben és dermatochirurgiában* Tissue expansion in the plastic surgery and dermatosurgery

KAPITÁNY KLÁRA DR., ÁGOSTON ZSUZSANNA DR.¹, KIS ERIKA DR.,
MOHOS GÁBOR DR., SZEGESDI ILONA DR.¹, VARGA JÁNOS DR.

ÖSSZEFOGLALÁS

A szövetágítás alternatív rekonstrukciós technika, mellyel kiterjedt szövethiányok pótlására közel azonos színű, textúrájú, szenzibilitású és szőrzetű, megbízható vérellátású, késleltetett lebonyolódású megfelelő szövet nyerhető. A szerzők a siker kulcsát jelentő megfelelő betegválasztás, átgondolt műtét előtti tervezés és műtét utáni teendők szempontjait elemzik. 1997 óta 42 beteget operáltak különböző plasztikai és dermatochirurgiai indikáció alapján a szövetexpanszió módszerével.

Kulcsszavak:
szövetágítás - helyreállítás
expanderekkel

SUMMARY

Tissue expansion as an alternative reconstructive technique, offers a means to provide near-perfect colour, texture, sensory and hair bearing qualities to match tissue deficiencies. Tissue expansion provides reliable delayed flap with good blood supply. The authors analyse the standpoints of a proper patient selection, careful attention to a preoperative planning and postoperative work which are the keys of the successful reconstruction. Since 1997 were operated 42 patients on using the method of tissue expansion, because of different plastic surgical and dermatosurgical indications.

Key words
tissue expansion - reconstruction with
expanders

Bőr- illetve lágyrész defektusok fedésekor a pótolható területek nagyságának határt szabnak a hagyományos lebonyolítási módszerek, a szabad bőrátültetés pedig sem esztétikailag, sem funkcionális szempontból nem kielégítő megoldás. A bőr alkalmazkodik a növekedéshez, ez terhességben és elhízás esetén fiziológias jelenség. Afrikai törzsek fa korongokat használtak az ajak és a fülcimpa kinyújtására (1). Ezek a tények adták az ötletet az orvosi felhasználásra, melynek első leírása 1957-ben Neumann névéhez fűződik (2). Csaknem húsz év szünet után 1976-ban Radovan eleveníti fel a módszert szilikon expandert használva emlőpótláshoz (3). A 80-as évektől a szövetnyújtás a plasztikai sebészet mindennapos eszköztárához tartozik és helyet kap a dermatochirurgiában is.

Fő indikációs területét képezik a kiterjedt bőrdaganatok eltávolítása, zsugorodó hegek kimetszése után keletkező bőrhiányok, a hajas fejbőr defektusai, de felhasznál-

ható vele-született elváltozások és az emlő rekonstrukciójához is.

Nem alkalmazható irradiált szövet alattés ha a betegnek perzisztáló, recidiváló vagy metasztatizáló malignus daganata van. A páciens pszichés instabilitása, infekció, kemo-terápia, szisztémás betegségek és is ellenjavallatot képeznek (4).

Betegek és módszer

1997-től 42 beteget operáltunk szövetexpanszióval 56 expander felhasználásával. A legfiatalabb betegünk 11 éves volt, a legidősebb 70. A 21-30 év közötti korosztályból 22 beteget operáltunk. Betegeink közül 33 volt nő és 9 a férfi.

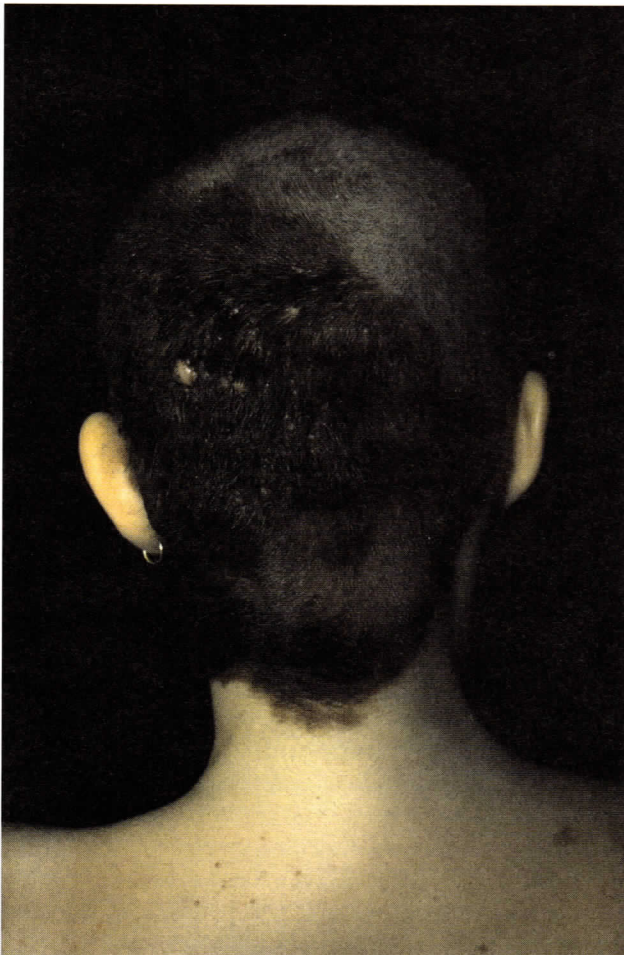
11 esetben bőrtumor (basalioma, congenitalis naevus (1. ábra), egyéb jóindulatú bőrdaganat) 19 esetben hegkorrekció (baleset, égés, műteti hegek), 12 esetben emlőrekonstrukció (emlőeltávolítás, veleszületett deformitás, aszimmetria) volt az indikáció.

10 betegnél alkalmaztunk többszörös expandert (2. ábra), 6 betegnél sorozatexpanszió történt.

Szövetexpansziót alkalmaztunk arcon, nyakon, háton, alsó és felső végtagon, leggyakrabban hajas fejbőrön 17 alkalommal és emlőrekonstrukcióhoz 12 esetben.

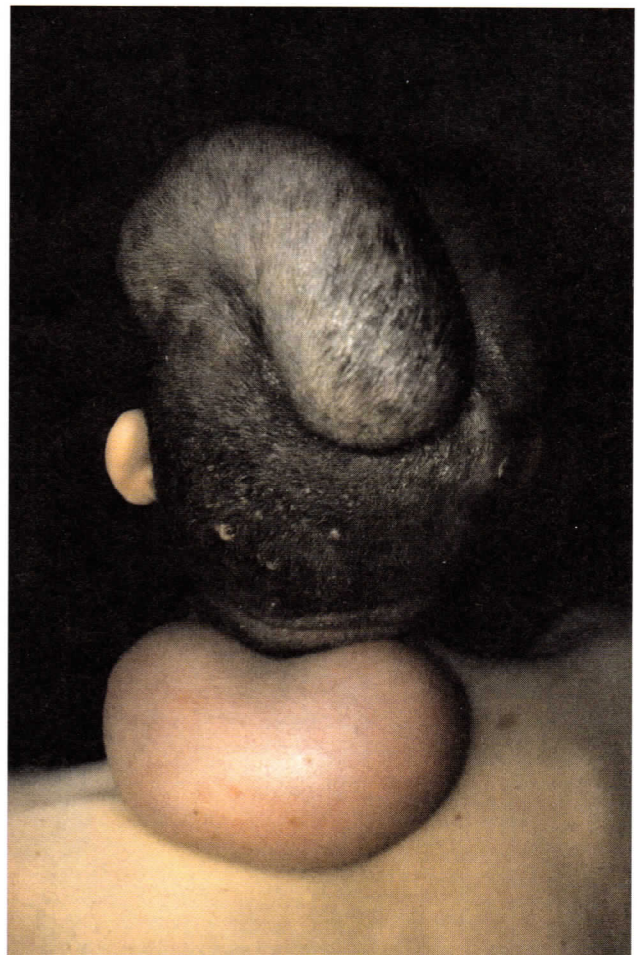
A legkisebb expander 60 cm³-es, a legnagyobb 775 cm³-es.

* Dr. Dobozy Attila egyetemi tanár, akadémikus 65. születésnapja tiszteletére



1. ábra

Kiterjedt congenitális naevus a hajás fejbőrön és nyakon



2. ábra

Feltöltött expanderek a hajás fejbőrön és a nyakon

A leggyakrabban használt méretek $300 \text{ cm}^3 - 18 \text{ db}$, 600 cm^3 -es 16 db.

36 croissant alakú expander került felhasználásra, emlőrekonstrukcióhoz minden esetben kerek volt a megfelelő.

A műtét előtti tervezés során több szempontot kell figyelembe venni (5).

1. Az expander klinikailag elhelyezhető minden olyan környező nem involvált területen, mely kinyújtva kielégíti a fedés igényeit. Gyakorlatban azonban az alkalmas donorterületet anatómiai megfontolás alapján, az expander formájának meghatározása után és alakjának pontos méretezésével választjuk ki.
2. Az expander méretét a defektus nagysága határozza meg. Az egyes testtájékokra a szövetek toleranciája miatt különböző méretű expanderek alkalmasak. A tágítástól várható nyereség kiszámítható. A kinyújtott lebeny kb. kétszerese a felhasználható lebenynek. Ha ez nem elég a defektus fedésére, több expander elhelyezhetünk be. Az expanzióknak a beteg tűrőképessége szab határt.
3. Használhatunk sima és texturált felszínű expandereket, utóbbi a tok hegesedésének megelőzésére szolgál.
4. Az expander beültetéséhez a nyújtás irányához képest radier metszés az optimális, de implantálhatunk para- vagy intralézionális behatolásból is. A töltődotmot felszínesen, csontos alapon célszerű elhelyezni úgy, hogy tapintható legyen és olyan távol, hogy töltés közben az expander ne sérülhessen.
5. Az expander beültethető a bőr alá, de szükség szerint a fascia alá is.
6. Akkor üreget kell preparálni, hogy az expander kényelmesen elférjen.

A műtéteket altatásban végeztük, két beteget operáltunk helyi érzéstelenítésben. A betegek perioperatív antibiotikumot kaptak. Az első töltést a behelyezés során végeztük, a másodikat a sebgyógyulás után, továbbiakban - fiziológiás sóoldattal - 7 naponként a beteg által eltűrt leggyorsabb ütemben a maximális volumen eléréséig. Néhány esetben túltöltést alkalmaztunk. A „stretchback” miatt (Nordström és Devine 1985) (6, 7) három hónap múlva történt a tumor vagy heg és az expander eltávolítása, valamint a lebenyplasztika, illetve emlőrekonstrukció esetén a végleges implantátum behelyezése. A kapszulát nem távolítottuk el, esetenként haránt irányú bemetszésével a lebeny területe növelhető volt.

Eredmények és megbeszélés

A szövetexpanzió mint alternatív rekonstrukciós technika alkalmas kiterjedt szövethiány pótlására, a fedése azonos kvalitású szövetet biztosít (3. ábra).

Előnyei, hogy kevés új heggel jár, relatíve egyszerű beavatkozás, megfelelően választott beteg esetén a műtét rizikója alacsony, a végső hegvonalakat az erővonalak mentén elhelyezve jó funkcionális és esztétikai eredményt ad.

Hátrányai, hogy legalább két műtétet jelent, a töltés miatt gyakori kontrollt igényel, és a töltés időszakában

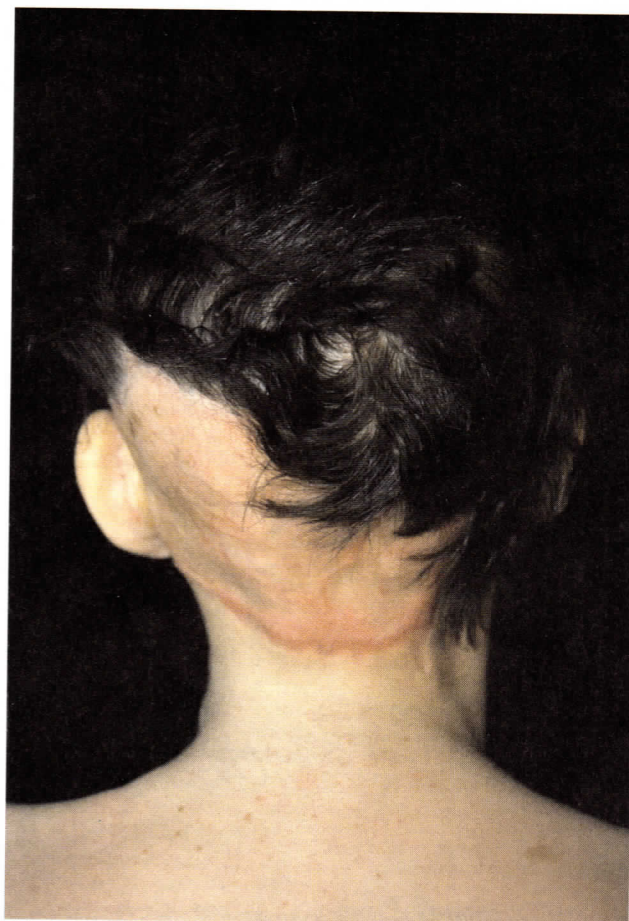
a beteg szocializációja nehéz, időigényes és költséges eljárás.

A műtétnek lehetnek korai, késői, kisebb és nagyobb szövődményei. Ezek: fájdalom, haematoma, szeroma, infekció, keringési probléma, az expander szivárgása, a kilyukadt bőrön az expander előbukkanása, a bőr zsugorodása tágítás után, „dog-ears”, a heg kiszélesedése és pszichológiai problémák (8). Klinikánkon 42 operált betegből két alkalommal kellett az expandert véglegesen eltávolítani. Egy haematoma, egy szeroma, három infekció és három részleges bőrelhalás fordult elő, de ezek a szövődmények a végeredményt nem befolyásolták. A szükséges hegkorrekciókat a lebnyképzés után 6-12 hónappal végeztük.

A szövetexpánzióval végzett rekonstrukció eredménye jobban függ a sebészi tapasztalattól, mint ahogy az eljárás egyszerűségéből következne (9). Az expanderrel végzett műtétek rendszeres alkalmazását a központi finanszírozás tette lehetővé klinikánkon.

IRODALOM

1. *Thaw, L. C., Stout Thaw, M.*: Trans-Africa Safari. National Geographic Magazine (1938) 74, 327-364.
2. *Neumann, C. G.*: The expansion of an area of the skin by progressive distension of a subcutaneous balloon. *Plast. Reconstr. Surg.* (1957) 19, 124-130.
3. *Radovan, C.*: Breast reconstruction after mastectomy using the temporary expander. *Plast. Reconstr. Surg.* (1982) 69, 195-208.
4. *Radovan, C.*: Tissue-expansion in soft tissue reconstruction. *Plast. Reconstr. Surg.* (1984) 74, 482-92.
5. *Sasaki, G. H.*: Tissue expansion. Guidelines and Case Analyses. Dow Corning Health Care Centre, Valbonne, P.23.
6. *Nordström, R. E. A.*: 'Stretch-back' in scalp reductions for male pattern baldness. *Plast. Reconstr. Surg.* (1984) 73, 422-26.
7. *Nordström, R. E. A.*: Scalp stretching with a tissue-expander for closure of scalp defects. *Plast. Reconstr. Surg.* (1985) 75, 578-581.
8. *Manders, E. K. et al.*: Soft tissue-expansion: concept and complications. *Plast. Reconstr. Surg.* (1984) 74, 493-507.



3. ábra

Lebnyképzés a hajas fejbőrön és a nyakon.
A fennmaradó defektus szabad transzplantátummal fedve

9. *Ryan, T. J.*: Increased survival and vascularity of random pattern skin flaps elevated in controlled, expanded skin (discussion). *Plast. Reconstr. Surg.* (1983) 72, 686.

KONGRESSZUSI NAPTÁR 2004

AZ MDT RENDEZVÉNYEI

Magyar Dermatológiai Társulat Nagygyűlése

2004. december 9-11.

Helyszín: Budapest, Nagyvárad téri Elméleti Tömb
Információ: Prof. Dr. Horváth Attila, SE Bőr-, Nemikórtani
és Bőronkológiai Klinika, 1085 Mária u. 41.

Tel.: 1/266-04-65, 5727, 5753, 5772

Fax: 1/267-69-74

Sipos Alíz, MOTESZ,

1051 Budapest, Nádor u. 36.

Tel.: 1/311-66-87, 1/312-38-07, 1/332-45-56

Fax: 1/302-56-10

Website: www.motesz.hu

FONTOSABB HAZAI RENDEZVÉNYEK

Magyar STD Társaság 9. Nagygyűlése

2004. október 15-16.

Helyszín: Nyíregyháza

Szent István Kórház tudományos ülése

2004. november 12.

Helyszín: Budapest, TIT-stúdió

1113 Budapest, Zsombolyai út 6.

Téma: Thromboembolia szövődményeinek bőrgyógyászati
vonatkozásai. Kezelés, prevenció.

Pontszerző tanfolyam (16 pont)

JELENTŐSEBB KÜLFÖLDI RENDEZVÉNYEK

International Skin Care Conference

2004. július 22-24.

Helyszín: Zürich, Svájc

Információ: Nicole Fachère

University Hospital of Zürich, Dept. Of. Dermatology

Gloriastrasse 31, CH-8091 Zürich

Tel.: +41 1 255 88 37

Fax: +41 1 255 44 03

E-mail: nicole.fachere@usz.ch

34th Annual ESDR Meeting

2004. szeptember 9-11.

Helyszín: Bécs, Ausztria

Információ:

AIMS International Congress Services Mariannengasse 32

c/o ESDR Congress

1090 Wien, AUSTRIA

Tel.: +43 1 402 77 55 – 97/-38

Fax: +43 1 402 77 31

E-mail: esdr2004@ahr-aims.com

www.esdr.org

25th Annual Meeting of the ISDS

(International Society for Dermatologic Surgery)

2004. október 6-10.

Helyszín: Barcelona, Spanyolország

Információ:

Contact: Cati Aurell

Tel.: 34-932-064-646

Fax: 34-932-049-732

E-mail: cati.aurell@mccann.es

Conference on Sexually Transmitted Infections

2004. október 7-9.

Helyszín: Island of Myconos, Görögország

(Organized by the European Branch of the IUSTI)

ISCD Congress

2004. november 4-6.

Helyszín: Róma, Olaszország

Információ:

E-mail: secretariat-congress@iscd.it

2nd International Melanoma Research Congress FROM BENCH TO BEDSIDE

2004. november 13-16.

Helyszín: Phoenix, Arizona, Pointe Hilton at Squaw Peak

Információ: Menashe Bar-Eli, PhD

Dept. of Cancer Biology, 173

MD Anderson Cancer Center

1515 Holcombe Boulevard, Houston, TX77030

Tel.: +1 713-794-4004

Fax: +1 713-792-8747

E-mail: mbareli@mdanderson.org

Website: www.societymelanomaresearch.org

Absztrakt leadásának határideje: 2004. augusztus 1.

13th EADV Congress

2004. november 17-21.

Helyszín: Firenze, Olaszország

Congress President: Torello M. Lotti

Fax: +39 0572 912280

E-mail: president@eadv2004.org

Alpok-Adria Tudományos Tanácskozás

2004. november 26-28.

Helyszín: Bécs

3rd EADV Spring Symposium

2005. május

Helyszín: Szófia, Bulgária

Congress President: Nikolai Tsankov

Alexander's University Hospital,

Dept. of Dermatology and Venereology

1, St. Georgi Sofiiski Str., 1431, Sofia, Bulgaria

Tel./fax: +359 2 9522774

8th Congress of the European Society of Paediatric Dermatology

2005. május 5-7.

Helyszín: Hilton, Budapest Konferencia Központ

1014 Budapest, Hess András tér 1-3.

Konferencia elnök: Prof. Török Éva PhD.

Konferencia titkár: Dr. Szalai Zsuzsanna PhD

Tudományos információ: Dr. Szalai Zsuzsanna PhD.

Heim Pál Gyermekkorház,

1089 Budapest, Üllői út 86.

Telefon: 459-9100/1466

Fax: 459-9220

E-mail: suni@axelero.hu

website: www.espd 2005.com

Konferencia szervező: Convention Budapest Kft.

Bagdi Károly (ügyvezető)

1086 Budapest, Szeszgyár u. 6/a.

Telefon: 299-0184, 299-0185 Fax: 299-0187

www.convention.hu

14th EADV Congress

2005. október 12-15.

Helyszín: London, UK (Skin and Sexual Health)

Congress Secretariat:

19 Fitzroy Square London W1T 6EH, UK

Tel.: (020) 7383 0266

Fax: (020) 7388 5263

E-mail: eadv64bad.org.uk

Website: www.eadv2005.com

4th EADV Spring Symposium

2006. tavasz

Helyszín: Finnország

15th EADV Congress

2006. október 4-7.

Helyszín: Rodosz, Görögország

21th Word Congress of Dermatology

2007. október 1-5.

Helyszín: Buenos Aires, Argentína

Információ: www.dermato2007.org

A Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle Szerkesztősége fenntartja magának a jogot
a hirdetések elfogadására,
de a hirdetések tartalmáért nem vállal felelősséget.