

Környezeti és genetikai faktorok szerepe melanoma és melanoma-asszociált egyéb primer tumorok kialakulásában

Doktori Tézisek

dr. Hatvani Zsófia Borbála

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kárpáti Sarolta D.Sc.

Hivatalos bírálók: Dr. Oláh Judit Ph.D.

Dr. Krenács Tibor Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Kovalszky Ilona D.Sc.

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Nagy Bálint Ph.D.

Dr. Szalai Zsuzsanna med. habil.

Budapest, 2014

I. BEVEZETÉS

A melanoma malignum (MM) kialakulásában környezeti és genetikai faktorok egyaránt jelentőséggel bírnak; emellett a tumor gyakorisága és a prediszponáló faktorok aránya jellegzetes földrajzi megoszlást is mutat. A legjelentősebb környezeti tényezőként az ultraviola (UV) sugárzás tekinthető. Az UVB mellett az UVA szerepét epidemiológiai adatokon felül azon új eredmények is felvették, miszerint az UVA hatás sokkal gyengébb celluláris DNS javító mechanizmusokat indukál, mint az UVB, fibroblastokon. Egyéb extrinsic faktorok szerepe is felvődik, mint az elektromágneses és ionizáló sugárzások, valamint bizonyos foglalkozási ártalmak (pl. tűzoltók, pilóták). Immunszupprimált állapotban (pl. szervtranszplantáltakban) a MM kockázata 3-8-szorosára nőhet.

A genetikai faktorok szerepe többszörös primer melanomák (MPM), illetve MM családi halmazódása esetén mindenképpen felmerül. Nagy penetranciájú, nagy rizikót hordozó génként ismert a *CDKN2A* és a *CDK4*, míg a melanocortin 1 receptor (*MC1R*) gén variánsai közepes rizikófaktort jelentenek. Az ún. 'R' variánsok (R151C, I155T, R160W, D294H) a vörös haj, világos-, fényérzékeny bőr fenotípus kialakításában szerepelnek,

szemben az ún. 'r' variánsokkal (V60L, V92M, R163Q), melyek szerepe kevésbé jelentős. Az 'R' variánsok MM rizikót növelő hatása erősebb, mint az 'r' variánsoké, de emellett a variánsok típusától függetlenül azok száma szintén növeli a MM-ra való hajlamot. A variánsok előfordulása jellegzetes földrajzi különbséget mutat. Az *MITF* gén csíravonal eredetű pontmutációja (p.E318K) közepes rizikófaktorként szerepel MPM, familiáris MM és MM vesesejtes carcinomával (renal cell cancer, RCC) való együttes előfordulásában.

A MM-s betegek magasabb rizikóval bírnak további tumorok kialakulására; leggyakrabban újabb MM-ra (MPM), azonban többek között a nem-melanoma bőrtumorok (főleg basalioma: BCC), valamint pancreas- (PaC) és emlőcarcinoma gyakoribb előfordulása is igazolódott. A MM ritkán tumor-prediszponáló szindrómákban is előfordulhat; így BRCA-asszociált családi emlő és petefészekrák esetekben, és raritásként pl. a PTEN hamartoma tumor szindróma (PHTS) spektrumban (Cowden szindrómában-CS) is megfigyelték.

II. CÉLKITŰZÉSEK

Mivel hazai MM-s beteganyagról nem álltak rendelkezésre genetikai adatok, ezért elsődleges céljainkat az alábbi vezérfonalak mentén terveztük:

II.1. MPM vizsgálat

a. Feldolgoztuk a betegek klinikopathológiai jellemzőit: fenotípus, egyéni és családi tumoros anamnézis, a MPM-k részletes hisztológiai jellemzői, a betegség lefolyása és kimenetele.

b. Elvégeztük a legjelentősebb MM-ra prediszponáló gének (*CDKN2A*, *CDK4*, *MC1R*, *MITF* E318K) csíravonal szintű szekvenálását, majd statisztikai módszerekkel összefüggéseket kerestünk a klinikai, hisztológiai és genetikai eredmények között fókuszálva az *MC1R* variánsokra, valamint ezek frekvenciáját/megoszlását más országokból publikált eredményekhez hasonlítottuk.

c. A *MC1R* variáns genotípusok tekintetében a 'r' (00,r0,rr) és 'R' allél hordozók (R0,rR,RR) azonosítását követően ezen csoportok összehasonlításával arra kerestünk választ, hogy a fenti genotípusok determinálnak-e bizonyos klinikai és/vagy pathológiai jellemzőket a MPM-s betegek körében?

II.2. Unikális MM-asszociált esetek

A betegek vizsgálata és adataik feldolgozása során néhány szerteágazó onkológiai anamnézissel bíró MM-s beteg külön figyelmet érdemelt. Három ilyen eset sajátosságait részleteiben elemeztük a családi háttér, klinikai kórtörténet, valamint

a. a legvalószínűbb pathognomikus gének csíravonal szintű szekvenálását

b. elemeztük az elvégzett genetikai eredmények tükrében az unikális onkológiai esetek háttérében felmerülő további genetikai, illetve környezeti faktorok szerepét.

III. MÓDSZEREK

III.1. Klinikai adatok

III.1.1. MPM vizsgálat

A Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika 11 évnyi MM-s beteganyagán 108/1855 MM-s betegnél alakult ki MPM (5,8%); ebből 43 vett részt a genetikai vizsgálatban. Náluk összesen 106 MM alakult ki (átlag: 2,47/fő). Az átlagos követési idő 6,7 (0-34,2) év volt. A szokásos egyéni és családi adatokon kívül rögzítettük a pigmentációs fenotípus jel-

lemzőit, a hozzátétőleges naevus-, és dysplasiás naevus számot, dohányzási szokásokat és foglalkozást. A MM-k részletes szövettani elemzését, valamint a betegség lefolyását, a kezeléseket, és a MM-val összefüggő haláleseteket is dokumentáltuk.

III.1.2. Unikális MM-asszociált esetek

III.1.2.1. Két tumorokkal terhelt család

Két tumorokra hajlamos családot vizsgáltunk (A- és B család), tekintettel arra, hogy a közös utódoknál egyre korábban jelentkeztek malignus tumorok. Az A-családban vizsgálataink középpontjában egy nem iker testvérpár állt (egyikük az ún. „index” személyünk), akik mindegyikénél négy azonos primer malignus daganat alakult ki: MPM (mindkét esetben n=2), BCC, PrC és TR. Továbbá a családban több esetben fordult elő TR és neurális daganat, valamint 1-1 RCC és gyomorrák is. Többen dohányoztak, és számos tüzoltó volt a férfiak között. Az index személy felesége a B-család tagja volt, ahol PaC aggregáció domináns öröklésmenetet mutatva jelentkezett. Közös gyermekeik közül az egyikük 37 évesen exitált PaC miatt, a másikonál szintén fiatal életkorban RCC alakult ki.

III.1.2.2. Hat primer MM

59 éves, vese transzplantáción átesett nőbeteget vizsgáltunk, akinél az immunszuppresszív kezelés 7 éve alatt hat primer MM és több BCC alakult ki. MM-ra vulnérabilis cutan fenotípusba tartozott (vörös haj, világos bőr), melyet a kedvezőtlen napozási szokások és a nem megfelelő bőrgyógyászati compliance is terhelte. Bár a negyedik MM-t követően az immunszuppresszív kezelés módosult egy, a malignus daganatok kialakulása szempontjából kedvezőbb kombinációra, a betegnél ennek ellenére alakult ki még további két MM, és egy évvel később MM propagatio miatt exitált.

III.1.2.3. MM és PHTS/ CS-t felvető tünetegyüttes:

Tumorokkal terhelt családból (TR, BCC, uterus daganat) származó nőbeteget vizsgáltunk 1cm átmérőjű in situ MM-mal a homlokán, akinél a jelentős testdeformitások mellett (súlyos scoliosis, koponyacsonti hyperostosis, dolichocephalia, bizonyos testrészek hemihypertrophiája, más részek atrophíája) szerteágazó tumoros anamnézist detektáltunk: igazolt mamma carcinoma, myoma uteri, pajzsmirigy és mellékpajzsmirigy adenoma, lipomák és kötőszöveti naevusok. Mindezek mellett erősen felmerült RCC és több, a genitourinaris rendszerben talált

malformatio lehetősége, melyeknek a verifikálására azonban nem kerülhetett sor a beteg további együttműködésének hiányában. A fenti fenotípus és kórtörténet felvetette a PHTS közül CS lehetőségét.

III.2. Mutáció analízis

Sanger-féle szekvenálás: A DNS izolálás a perifériás vér lymphocytaiból (Roche Magna Pure System), míg egyes esetekben paraffinba ágyazott blokkokból (Qiagen) történt. A PCR amplifikációhoz szükséges primereket korábbi publikációkból vettük, vagy online programok segítségével terveztük. Az amplifikáció sikerességét 2%-os agaróz gélen elektroforézissel ellenőriztük GelGreen® (Biotium) segítségével. A PCR reakciók termékeit tisztítottuk (ExoShap-IT, USB), majd elvégeztük a szekvenálási reakciót (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, Abi), melyet végül gél-filtrációs technikával tisztítottunk (NucleoSEQ, Macherey-Nagel GmbH). A szekvenálást két irányban végeztük ABI PRISM 3100 Genetic Analyser szekvenáló rendszeren. A kapott szekvenciákat FinchTV Szoftverrel vizualizáltuk, majd az aktuális NCBI referencia szekvenciához hasonlítottuk.

Az alábbi gének vizsgálatát végeztük el:

Az **MPM vizsgálat** alanyai esetében vizsgáltuk a *CDKN2A* és a *MC1R* gén teljes kódoló hosszát, azt mindkét irányban kissé túlhaladva, valamint az exon-intron átmeneteket. Ezen felül a *CDK4* gén 2. exonját, valamint az *MITF* E318K pontját. Az **Unikális MM-asszociált esetek** mindegyikénél elvégeztük a fenti MM-ra predisponáló gének analízisét. Ezen felül kiegészítésként: a **Két tumorokkal terhelt családnál** egyes tagjainál a *BRCA 1/2* gének hot-spot régióit (*BRCA1*: 2. exon, 11 és 20-as exonok egyes szakaszai; *BRCA2*: 11-es exon egy szakasza), míg másoknál a *BRCA 1/2* gének teljes kódoló szakaszát, valamint a *PTEN* gén kódoló részét teljes vagy részleges módon szekvenáltuk. A Hat primer MM esetben a *PTEN* gént vizsgáltuk teljes hosszában, míg a **MM és PHTS/ CS-t felvető tünetegyüttes** kapcsán az *SDHB* és *SDHD* géneket vizsgáltuk.

Az észlelt új eltéréseket lókuszs-specifikus restrikciós endonukleáz enzimekkel történő emésztés segítségével verifikáltuk (*MC1R* D117G: *PsyI* (Tth111I) (200 allél); *MITF* V320A: *BsrBI* (MbiI) (100 allél) (Fermentas Life Science). Mindkét esetben egészséges kontroll allél vizsgálatok is történtek a fenti módszerekkel.

III.3. Statisztikai módszerek

A MPM vizsgálat során a folyamatos változók esetén a csoportokat t-teszt segítségével hasonlítottuk össze, míg a kategorikus változók esetén a khi-négyzet-, vagy a Fisher-féle egzakt próbát alkalmaztuk. A szignifikancia határértékét $p < 0,05$ -ben határoztuk meg.

IV. EREDMÉNYEK

IV.1. MPM vizsgálat eredményei

IV.1.1. Klinikopathológiai jellemzők

A 43 MPM beteg átlagéletkora az első MM diagnózisakor 61 év volt. Szignifikánsan alacsonyabb életkort észleltünk a nőknél, mint a férfiaknál (55,3 versus 65,4 év; $p=0,016$), valamint azon betegeknél, akiknek i.) volt egyéb malignus daganat a kórelőzményében, ii.) a családban előfordult MM, iii.) a MM-k száma magasabb volt. Négy betegnél volt MM-ra pozitív a családi anamnézis (9,3%). Az esetek 49%-ában (21/43) a második MM egyidejűleg került diagnosztizálásra az elsővel. A betegek 51%-ánál észleltünk vagy 20-nál több naevust, vagy legalább egy dysplasiás naevust; továbbá ezen betegeknél szignifikánsan több MM alakult ki (2,8 versus 2,4 MM; $p=0,026$).

Szövetteni vizsgálatok: Gyakrabban észleltünk in situ MM-t a második (37%)-, illetve további MM-k között (25%), mint az elsők esetében (9%). A leggyakoribb hisztológiai altípus a szuperficiálisan terjedő MM (SSM) volt (60,4%), míg noduláris MM mindössze 4 esetben fordult elő (összes MM 3,8%-a). Az első MM-k i.) szignifikánsan vastagabbak voltak (Breslow 2,16 versus 1,16 mm; $p=0,013$), ii.) gyakrabban voltak ulceráltak, és iii.) gyakrabban mutattak regressziót, míg a tumort infiltráló lymphocyták (TIL) tekintetében nem volt lényegi különbség az első és a második MM-k között.

Egyéb malignus daganatok kialakulása: A 42 beteg közül 18-nál (42%) alakult ki egyéb daganat; ezen esetek 83%-ában nem-melanoma bőrdaganat jelentkezett, 17%-ban extracutan malignus tumor, míg a 28%-uknál mindkettő kialakult.

IV.1.2. Genetikai eredmények:

CDKN2A: Két betegnél sikerült CDKN2A mutációt azonosítani (4,7%): c.296G>C-p.R99P és c.206A>G-p.E69G. A leggyakoribb SNP-k tekintetében a c.-191G>A 88,3%-ban, a c.*29 C>G 25,6%-ban, míg a c.*69 C>T 16,3%-ban volt azonosítható. Az A148T SNP-t mindössze 2 beteg hordozta (4,6%).

CDK4: Senkinél nem azonosítottunk mutációt a 2-es exon 24-es aminosav pozícióban (R24H, R24C).

MITF: A c.1075 G>A-p.E318K mutációt egy beteg sem hordozta, azonban azonosítottunk egy ugyanezen exonban elhelyezkedő SNP-t, a c.1082 T>C-p.V320A-t (rs2055006) egy betegnél, amit 50 egészséges kontroll egyike sem hordozott.

MC1R: A betegek 86%-ánál találtunk MC1R variánst; 8 non-szinoním és 1 szinoním variáns fordult elő. Az 'r' variánsok összesített allél frekvenciája 30% volt, míg az 'R' variánsoké 33%. Az R151C (30%) fordult elő leggyakrabban. Azonosítottunk egy új variánst (c.350 A>G-p.D117G) egy MPM betegnél, ami 100 egészséges kontrollban nem volt jelen. Az R163Q a betegek 16,2%-ánál, ill. 8,1%-os allél frekvenciával fordult elő.

IV.1.3. MC1R variáns státusz analízis

Összehasonlítva a 'r'(n=20) és 'R'(n=23) hordozó betegcsoportokat, az 'R' hordozóknál fiatalabb átlag-életkort és gyakoribb társuló malignus daganatot, vagy többszörös BCC-t észleltünk. Hisztológia tekintetében az 'R' hordozóknál nem szignifikánsan, de gyakoribb volt a(z) i.) invazív második MM ii.) ulcerált első MM, illetve iii.) nem ulcerált második MM; míg szignifikánsan gy-

koribb volt a második MM-ben a TIL jelenléte (67% versus 27%; $p=0,035$). Regresszió és mitózis index tekintetében a két betegcsoport között nem mutatkozott különbség. Bár az 'R' hordozóknál több esetben alakult ki propagatio és MM-asszociált haláleset, az 5 éves túlélésben nem volt mérhető különbség.

IV.2. Unikális MM-asszociált esetek

IV.2.1. Két tumorokkal terhelt család

Az index személynél (A-család) azonosítottunk egy csírvonal eredetű mutációt a *CDKN2A* génben (p.R99P), mely kimutatható volt a PaC által érintett utód tumorában is. Az index személy ezen túl két *MC1R* 'r' variánst (V60L és V92M) és egy szinoním variánst (T314T) is hordozott. SNP-k tekintetében a *CDKN2A* génben kettő (c.-191 G>A, c.*69 C>T), a *PTEN* génben szintén kettő (c.80-96 A>G, c.1026+32 T>G), míg a *BRCA1* génben egy (c.1067 A>G; p.Q356R) SNP-t hordozott. A B-családban nem sikerült mutációt azonosítani, de számos SNP-t detektáltunk. Ezek a *CDKN2A* génben (c.-191 G>A, c.193+174 A>G), a *BRCA1* génben (c.2311 T>C; p.L771L) és a *BRCA2* génben (c.-26 G>A, c.631+183 T>A, c.3396 A>G; p.K1132K, c.3807 T>C; p.V1269V, c.5744 C>T; p.T1915M, c.7242 A>G; p.S2414S, c.7806-

14 T>C, c.8755-66 T>C, c.*105 A>C) fordultak elő, melyek közül a *BRCA1* L771L és a *BRCA2* K1132K kizárólag a PaC által érintett családtagban voltak azonosíthatók.

IV.2.2. Hat primer MM

A betegnél a magas rizikójú MM-ra predisponáló génekben (*CDKN2A*, *CDK4*). nem találtunk mutációt Két SNP-t hordozott a *CDKN2A* génben (c.-191 G>A, c.*29 C>G), valamint egy *MC1R* 'R' variánst (R151C) homozigóta formában.

IV.2.3. MM és PHTS/ CS-t felvető tünetegyüttes

Csíravonal eredetű mutációt nem sikerült azonosítani a vizsgált génekben, de számos SNP-t detektáltunk: a *CDKN2A* génben (IVS1 β +174 A>G, c.*69 C>T), a *PTEN*-ben (c.80-96 A>G, c.1026+32 T>G), az *SDHB*-ben (c.18 C>A) és az *SDHD*-ban (c.52+136 G>T, c.314+15 T>A). Emellett egy *MC1R* 'R' variánst (R160W) is hordozott. Az *SDHD* gén 3-as intronjában lévő c.314+15 T>A variánst elsőként azonosítottuk.

V. KÖVETKEZTETÉSEK

V.1. MPM vizsgálat

Az első magyarországi MPM vizsgálat során megállapítottuk, hogy:

1. Számos eredményünk megfelelt az eddigi irodalmi adatoknak:

- MPM előfordulás aránya a MM-s betegek körében.
- Nagyszámú naevus vagy dysplásiás naevus jelenléte hajlamosít MPM kialakulásra.
- Nőknél alacsonyabb életkor az első MM kialakulása-kor.
- A további MM-kra jellemző, hogy vékonyabb Breslow vastagsággal bírnak, gyakrabban in situ melanomák, és gyakran alakulnak ki az első MM-val megegyező testtájon.
- A *CDKN2A* gén mutációs ráta.
- Egyes *CDKN2A* SNP-k előfordulási gyakorisága (c.*29 C>G, c.*69 C>T).
- A nem-szinoním *MC1R* variánsok előfordulása
- A *MC1R* 'R'variánsok (R151C, R160W, D294H) gyakorisága.

2. Számos megfigyelésünk újnak, vagy az eddigi közlésektől eltérőnek bizonyult:

- Ritkábban volt MM-ra pozitív családi kórtörténet
- Gyakrabban detektáltuk egyidejűleg az első két MM-t.

- Gyakrabban észleltük nem-melanoma daganatok együttes előfordulását.
- Két magyar MPM betegnél azonosítottunk *CDKN2A* mutációt (p.E69G, p.R99P).
- A *CDKN2A* A148T SNP előfordulását ritkábbnak
- A *CDKN2A* c.-191 G>A SNP-t gyakoribbnak találtuk.
- A *MC1R* R163Q, Ázsiában gyakori variáns jóval gyakoribbnak bizonyult, mint az eddigi európai közlésekben. Ezen megfigyelés alátámasztja a *MC1R* variánsok megoszlásának földrajzi különbségeit.
- Elsőként azonosítottunk egy új *MC1R* variánst emberben (c.350 A>G-p.D117G), melynek jelentőségét azonban még nem ismerjük.
- *MC1R* 'R' variáns hordozóknál észleltünk pár olyan jellemzőt, mely sugallhatja, hogy ez a genotípus rosszabb prognosztikai jelentőséggel bírhat az 'r' variáns hordozókkal összehasonlítva:
 - fiatalabb átlagéletkor az első MM diagnózisakor
 - egyéb malignus tumorok, illetve többszörös BCC-k gyakoribb előfordulása
 - gyakoribb ulcerált első MM, invazív második MM, illetve kevesebb ulcerált második MM

– szignifikánsan gyakoribb TIL a második MM-ban
Mindezek alapján feltételezzük, hogy mint ahogy más MM-ra hajlamosító gén esetében is felmerült (*CDKN2A*), bizonyos *MC1R* genotípusok ('R' allélok) prognosztikai jelentőséggel bírhatnak a MPM betegek esetében, amennyiben ez nagyobb beteganyagban is igazolódik.

V.2. Unikális MM-asszociált esetek

V.2.1. Két tumorokkal terhelt család

Két unikális, tumorokra hajlamos családot, és közös utódait vizsgáltuk. Az A-családban a feltételezett környezeti és öröklött (mutációk, SNP-k) hajlamosító faktorok kedvezőtlen együttállása következtében alakult ki egy unikális tumor-konstelláció a testvérpárnál (MPM, BCC, PrC, TR). A B-családban a domináns öröklődés menettel jelentkező PaC halmozódás háttérében számos SNP-t azonosítottunk, melyek kóroki szerepének azonban még kérdéses. A két családnál részben az azonosított genetikai faktorok penetrációjának eredményeként jelentkeztek az utódokban korai manifesztációval a malignus daganatok, egyiküknél halálos kimenetellel. Az eset rávilágít a tumorokra hajlamos családok azonosításának és követésének jelentőségére.

V.2.2. Hat primer MM

Az immunszupprimált állapot dacára kialakult hat primer MM felvetette a genetikai predispozíció lehetőségét. A beteg esetében a környezeti (immunszuppresszió, napozási szokások, rossz compliance), valamint a genetikai hajlamosító faktorok (*MC1R* 'R' variáns) együttese vezethetett a nagyszámú primer MM és BCC kialakulásához. Az eset kapcsán fontos hangsúlyozni a szervtranszplantált, betegek rendszeres bőrgyógyászati kontrollálásának fontosságát, valamint a fokozottan vulnerábilis betegek további környezeti hajlamosító faktorok irányában történő felvilágosításának elengedhetetlenségét.

V.2.3. MM és PHTS/ CS-t felvető tünetegyüttes

Bár a fenotípus nagymértékben rámutatott egy PHTS (CS) lehetőségére, sem az asszociált jelátviteli útvonal leggyakoribb génjében (*PTEN*), sem egyéb génekben (*SDHB*, *SDHD*) nem sikerült csírasejt eredetű mutációt találnunk. A továbbiakban új-generációs szekvenálási metódusok (exom, genom szekvenálás), és Proteus szindróma irányában az *AKT1* gén szomatikus mutációjának kimutatása lenne célszerű.

Az Unikális MM-asszociált esetek konklúziójaként feltételezzük, hogy a parallel öröklött SNP-k és a környezeti

tényezők interakciói jelentősen hozzájárulhatnak a primer daganatok és daganat-konstellációk kialakulásához.

A tézishoz kapcsolódó közlemények:

Hatvani Z, Brodszky V, Mazan M, Pinter D, Harsing J, Toth V, Somlai B, Karpati S. (2014) Genotype analysis in Hungarian patients with multiple primary melanoma. *Exp Dermatol*,23:361-364. **IF: 3.578**

Toth V, **Hatvani Z**, Somlai B, Harsing J, Laszlo JF, Karpati S. (2013) Risk of Subsequent Primary Tumor Development in Melanoma Patients. *Pathol Oncol Res*, 19: 805-810. **IF: 1.555**

Runger TM, Farahvash B, **Hatvani Z**, Rees A. (2012) Comparison of DNA damage responses following equimutagenic doses of UVA and UVB: a less effective cell cycle arrest with UVA may render UVA-induced pyrimidine dimers more mutagenic than UVB-induced ones. *Photochem Photobiol Sci*, 11: 207-215. **IF: 2.923**

A tézistől független közlemények:

Tóth V, Somlai B, **Hatvani Z**, Szakonyi J, Gaudi I, Kárpáti S. (2013) Melanoma Screening in a Hungarian Nuclear Power Plant. *Pathol Oncol Res*, 19: 323-328.

IF: 1.555

Tóth V, Somlai B, Hársing J, **Hatvani Z**, Kárpáti S. (2013) Melanomás betegek stádium szerinti megoszlása egy hazai centrumban. *Orv Hetil* 154:969-976.

Glasz-Bona A, Medvecz M, Viragh Z, **Hatvani Z**, Blazsek A, Kárpáti S. (2010) Epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation - mutation analysis proved the diagnosis in a four-generation pedigree. *Eur J Dermatol* 20: 698-700. **IF: 2.421**

Glász-Bóna A, Medvecz M, Sajó R, Lepesi-Benkő R, Tulassay Zs, Katona M, **Hatvani Zs**, Blazsek A, Kárpáti S. (2009) Easy method for keratin 14 gene amplification to exclude pseudogene sequences: new keratin 5 and 14 mutations in epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 129: 229-231. **IF: 5.543**

Hatvani Zs, Bánvölgyi A, Marschalkó M, Bottlik Gy, Holló P, Kárpáti S. (2009) Combustio súlyos diabeteses neuropathia talaján. *Bőrgyógy és Vener Szle* 85:215-218.

Temesvári E, Pónyai G, Németh I, Hatvani Z, Kárpáti S. (2006) Kontakt szenzibilizáció gyermekkorban. *Bőrgyógy és Vener Szle* 82: 205-216.