

dc_1030_15

MTA Doktori Értekezés Tézisek

Kockázati tényezők értékelése és új kezelési eljárás alkalmazása bőrdaganatokban

Dr. Oláh Judit Magdolna PhD



**Szegedi Tudományegyetem
Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika**

2015

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

Balogh K , Nemes E , Uhercsák G , Kahán Zs , Lázár Gy , Farkas Gy , Polyánka H , Kis E , Gyulai R , Varga E , Keresztné Határvölgyi E , Kaizer L , Haracska L , Tiszlavicz L , Kemény L , **Oláh J** , Széll M: Melanoma-Predisposing CDKN2A mutations in Association with Breast Cancer: A Case-Study and Review of the Literature. In: Murph M (szerk.) Melanoma in the Clinic - Diagnosis, Management and Complications of Malignancy. 310 p. Rijeka: InTech, 2011. pp. 211-224. (ISBN:978-953-307-571-6)

Balogh K , Széll M , Polyánka H , Pagani F , Bussani E , Kemény L , **Oláh J**: Detection of a rare CDKN2A intronic mutation in a Hungarian melanoma-prone family and its role in splicing regulation. **BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY** 167:(1) pp. 131-133. (2012)
IF: 3.759

Csoma Z , Hencz P , Orvos H , Kemény L , Dobozy A , Dósa-Rácz E , Erdei Z , Bartusek D , **Oláh J**: Neonatal blue-light phototherapy could increase the risk of dysplastic nevus development. **PEDIATRICS** 119:(5) pp. 1036-1037. (2007)
IF: 4.473

Csoma Z , Hencz P , Orvos H , Kemény L , Dobozy A , Dósa-Rácz E , Erdei Z , Bartusek D , **Oláh J**: Neonatal blue-light phototherapy could increase the risk of dysplastic nevus development. **PEDIATRICS** 119:(6) p. 1269. (2007)
IF: 4.473

Csoma Z , Erdei Zs , Bartusek D , Dósa-Rácz E , Dobozy A , Kemény L , **Oláh J**: The prevalence of melanocytic naevi among schoolchildren in South-Hungary. **JOURNAL OF THE EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY** 22:(12) pp. 1412-1422. (2008)
IF: 2.276

Csoma Z , Kemény L , **Oláh J**: Phototherapy for neonatal jaundice. **NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE** 358:(23) pp. 2523-2524. (2008)

Csoma Z , Tóth-Molnár E , Balogh K , Polyánka H , Orvos H , Ócsai H , Kemény L , Széll M , **Oláh J**: Neonatal blue light phototherapy and melanocytic nevi: a twin study. **PEDIATRICS** 128:(4) pp. e856-e864. (2011)
IF: 5.437

Kis E , Szegesdi I , Ócsai H , Gyulai R , Kemény L , **Oláh J**: Melanoma-bőráttétek elektrokemoterápiája. **ORVOSI HETILAP** 151:(3) pp. 96-101. (2010)

Kis E , **Oláh J** , Ócsai H , Baltás E , Gyulai R , Kemény L , Horváth AR: Electrochemotherapy of cutaneous metastases of melanoma--a case series study and systematic review of the evidence. **DERMATOLOGIC SURGERY** 37:(6) pp. 816-824. (2011)
IF: 1.798

Kis E , Baltás E , Kinyó A , Varga E , Nagy N , Gyulai R , Kemény L , **Oláh J**: Successful Treatment of Multiple Basaliomas with Bleomycin-based Electrochemotherapy: A Case Series of Three Patients with Gorlin-Goltz Syndrome. **ACTA DERMATO-VENEREOLOGICA** 92:(6) pp. 648-651. (2012)
IF: 3.487

Oláh J , Csoma Zs , Ócsai H , Gyulai R , Orvos H , Varga A , Kemény L: Az újszülöttkori kékfény kezelés növelheti-e a felnőttkori melanoma kockázatát? **BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE** 85:(2) pp. 67-72. (2009)

Oláh J , Tóth-Molnár E , Kemény L , Csoma Z: Long-term hazards of neonatal blue light phototherapy. *BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY* 169:(2) pp. 243-249. (2013)
IF: 4.100

Széll M , Balogh K , Dobozy A , Kemény L , **Oláh J**: First detection of the melanoma-predisposing proline-48-threonine mutation of p16 in Hungarians: was there a common founder either in Italy or in Hungary? *MELANOMA RESEARCH* 17:(4) pp. 251-254. (2007)
IF: 2.225

Tóth-Molnár E , **Oláh J** , Dobozy A , Hammer H: Ocular pigmented findings in patients with dysplastic naevus syndrome. *MELANOMA RESEARCH* 14: pp. 43-47. (2004)
IF: 1.735

van der Leest RJ , de Vries E , Bulliard JL , Paoli J , Peris K , Stratigos AJ , Trakatelli M , Maselis TJ , Situm M , Pallouras AC , Hercogova J , Zafirovik Z , Reusch M , **Oláh J** , Bylaite M , Dittmar HC , Scerri L , Correia O , Medenica L , Bartenjev I , Guillen C , Cozzio A , Bogomolets OV , Del Marmol V: The Euromelanoma skin cancer prevention campaign in Europe: characteristics and results of 2009 and 2010. *JOURNAL OF THE EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY* 25:(12) pp. 1455-1465. (2011)
IF: 2.980

Varga E , Korom I , Varga J , Kohán J , Kemény L , **Oláh J**: Melanoma and melanocytic nevi in decorative tattoos: three case reports. *JOURNAL OF CUTANEOUS PATHOLOGY* 38:(12) pp. 994-998. (2011)
IF: 1.561

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények:	összesített impakt faktora:	38,304
	független idéző:	127
	függő idéző:	22
	összes idéző:	149

A teljes publikációs és hivatkozási jegyzéket, valamint a tudománymetriai adatokat ld. az alábbi linken:

<https://vm.mtmt.hu/www/index.php?AuthorID=10027734>

1	Bevezetés	5
1.1	A hámeredetű bőrdaganatok epidemiológiai adatai és a Gorlin-Goltz szindróma	5
1.2	A melanoma malignum és hajlamosító tényezői	6
2	Célkitűzések	8
3	Betegek és módszerek	9
3.1	Epidemiológiai vizsgálatok a bőrön lévő festékes anyajegyek prevalenciájának tanulmányozására egészséges tinédzserek és felnőttek körében	9
3.2	A klinikailag atípusos melanocytás naevus szindróma és a szemészeti anyajegyek összefüggésének vizsgálata	9
3.3	Ikervizsgálatok az újszülöttkori kékfény-kezelés, egyéb környezeti tényezők, valamint a bőrön és a szemben lévő festékes anyajegyek prevalenciája közötti összefüggések tanulmányozására	10
3.4	Genetikai vizsgálatok	10
3.4.1	A kékfény-kezeléssel összefüggő festékes anyajegyek kialakulása és a genetikai háttér összefüggésének vizsgálata ikerpárokból	10
3.4.2	Klinikailag atípusos melanocytás naevus szindrómában és melanoma malignumban szenvedő betegek és családtagjaik CDKN2A mutációinak, valamint MC1R gén polimorfizmusainak vizsgálata	10
3.5	Bőrgyógyászati tanácsadásra jelentkező önkéntesek napozási szokásainak és bőrdaganatokra vonatkozó kockázati tényezőinek felmérése	10
3.6	Szegeden élő MM-os betegek prognosztikai faktorainak változása 30 év alatt	10
3.7	Az elektrokemoterápia (ECT) alkalmazása melanoma bőrátételekben	11
3.8	Az elektrokemoterápia (ECT) alkalmazása Gorlin-Goltz szindrómában	11
3.9	Statisztikai módszerek	11
4	Eredmények	11
4.1	Epidemiológiai vizsgálatok	11
4.1.1	Egészséges tinédzser- és felnőttkorúak bőrgyógyászati szűrése	11
4.1.2	A klinikailag atípusos melanocytás naevust (CAMN) hordozó egyének szemészeti szűrővizsgálata	14
4.2	A bőrön és a szemben lévő pigmentált anyajegyek előfordulási gyakoriságának, valamint a kékfény-kezelés és egyéb környezeti tényezők hatásának összefüggését elemző ikervizsgálatok	14
4.3	Genetikai vizsgálatok	16
4.3.1	A kékfény-kezeléssel összefüggő festékes anyajegyek kialakulása és a genetikai háttér összefüggésének vizsgálata ikerpárokból	16
4.3.2	CDKN2A ivarsejtvonal-beli mutációk vizsgálata MM-ban illetve CAMN szindrómában szenvedő betegeknél és családtagjaiknál	16
4.4	Az Országos EuroMelanoma Nap kapcsán bőrgyógyászati tanácsadásra jelentkezők napozási szokásainak és bőrdaganatokra vonatkozó kockázati tényezőinek értékelése	18
4.5	A melanoma malignum (MM) betegek prognosztikai faktorainak változása Szegeden az elmúlt 30 évben - retrospektív vizsgálat	18

4.6	Az elektrokemoterápia (ECT) hatásának vizsgálata a melanoma malignum <i>in transit</i> bőrátételeiben	20
4.7	Az elektrokemoterápia (ECT) hatékonysága Gorlin-Goltz szindrómában	20
5	Diszkusszió	21
5.1	A melanoma malignum kockázati tényezőiként számon tartott festékes anyajegyek epidemiológiai sajátosságai régiókban	21
5.2	Az újszülöttkori sárgaság terápiájában használt kékfény-kezelés hatása a bőrön és a szemben lévő anyajegyek kialakulására	22
5.3	Genetikai vizsgálatok	23
5.4	Az aktív prevenciós tevékenységgel függhet össze a Szegeden élő melanoma malignummal (MM) kezelt betegek prognosztikai faktoraiban észlelt kedvező változás az elmúlt harminc évben	24
5.5	Az elektrokemoterápia szerepe a bőrdaganatok kezelésében	25
6	Az értekezés új megállapításai	26
7	Az eredmények gyakorlati jelentősége	28
8	Köszönetnyilvánítás	30
9	Rövidítések jegyzéke	31
10	Irodalomjegyzék	32

1 BEVEZETÉS

„A gyógyítás művészete sok szenvedést enyhíthet, mégis szebb az a művészet, amely a betegségek létrejöttét képes megakadályozni.”

Max von Pettenkofer

1.1 A hámeredetű bőrdaganatok epidemiológiai adatai és a Gorlin-Goltz szindróma

A várható élettartam jelentős meghosszabbodásának következtében, figyelembe véve az epidemiológiai adatokat, robbanásszerű incidencia növekedés prognosztizálható a bőrdaganatok esetén¹⁻⁵. Az ún. nem-melanoma típusú bőrrákok közül a laphámcarcinoma (SCC), valamint a basalioma (basalsejtes carcinoma: BCC) bír jelentős klinikai relevanciával az érintett betegek óriási száma miatt. A BCC nagyjából négyszer olyan gyakori, mint az összes többi daganatféle a nem-melanoma típusú bőrrákok csoportján belül⁶. A fenti daganatok kialakulásában a legfontosabb környezeti kockázati faktor a krónikus napfény-expozíció. A fogékonyságot alapvetően az adott egyén pigmentációs karaktere határozza meg, melynek kialakításában a melanocortin 1 receptor gén (*MC1R*) szerepe a legfontosabb, azonban az ultraibolya(UV)-fény indukálta karcinogenezisre való hajlamot a histidase gén (*HAL*) egyes polimorfizmusai is befolyásolják⁷. Az endogén hajlamosító tényezők között tartják számon a dezoxiribonukleinsav (DNS) repair mechanizmusok veleszületett károsodása következtében létrejövő xeroderma pigmentosumot, mely a korai életkorban megjelenő hámeredetű daganatok mellett melanoma malignumra (MM) is fogékonnyá tesz. Ugyancsak ide sorolható az autoszomális dominánsan öröklődő Gorlin-Goltz szindróma, melyben a „sonic hedgehog” jelösvényben bekövetkező genetikai károsodások nyomán már fiatal életkorban multiplex BCC-k fejlődnek ki a jellegzetes deformitások mellett (pl. távol ülő szem, ajak- és/vagy szájpadhasadék, borda- és gerincdeformitások, meningeomák, odontogén keratocysták az állkapocsban, stb.)⁸⁻¹⁴.

Általában véve a hámeredetű daganatok zöme sebészi kimetszéssel vagy sugárterápiával meggyógyítható.^{15, 16} Nem ritkán találkozunk azonban olyan elhanyagolt esetekkel, ahol már a hagyományos kezelésekkel uralhatatlan állapotot eredményeznek a testnyílások környékét sem kímélő növedékek és roncsoló daganatos fekélyek. A Gorlin-Goltz szindrómában főleg az arcon megjelenő, nagyszámú BCC okoz gyakran terápiás nehézséget. Kihívást jelent manapság is ezeknek a problémás pácienseknek a kezelése annak ellenére, hogy három éve elérhető egy hatékony hedgehog-gátlószer, a vismodegib¹⁷. A gyógyszer ugyan viszonylag magas hatékonyságú a kiterjedt vagy áttétes BCC-k esetén, mégis a mellékhatásai (pl.

ízérzékelési zavar, izomgörcsök, szívritmuszavarok) és az esetek bizonyos százalékában létrejövő szerzett rezisztencia is korlátozottá teszi az alkalmazását¹⁸. Terápiás alternatívát jelent a bőrön lévő különböző szöveti típusú daganatok kezelésében az ún. elektrokemoterápia (ECT), mely az elektroporáció elvén alapuló új eljárás^{19,20}.

1.2 A melanoma malignum és hajlamosító tényezői

A melanoma malignum – a melanocyták malignus proliferációja következtében kialakuló rosszindulatú daganat - elsősorban a bőrt, másodsorban a szemet érinti, azonban az ectopiás elhelyezkedésű melanocyták révén bármely más szervben is kialakulhat az emberi szervezeten belül. A bőrdaganatok okozta halálozás kétharmadért teszik felelőssé ezt a festéksejtes malignomát. Ennek incidenciája is rohamosan növekszik, egyes becslések szerint az 1935-ben születettek közül még csak minden 1500. egyénél alakult ki MM az Egyesült Államokban, míg napjainkban a kaukázusi bőrtípusúak közül ugyanott már minden 58. embert veszélyeztet ez a kór^{21,22}. A Nemzeti Rákregiszter adatai szerint hazánkban is növekszik a MM gyakorisága, mely mostanában az évenként újonnan diagnosztizált betegek számát tekintve már meghaladta a kétezret²³⁻²⁵.

Kivételes helyzetet teremt a bőrgyógyászati onkológiában, hogy általában véve a bőrdaganatok, köztük a MM legnagyobb hányada megtekintéssel diagnosztizálható és egyszerű sebészi kimetszéssel meg is gyógyítható. Főként a páciensek tájékozatlanságából adódik, hogy a diagnózis mégis sok esetben megkésik, így a betegek jelentős hányada a manapság személyre szabható kezelések mellett sem gyógyítható és a daganat progressziója következtében elveszítjük őket.

A MM létrejöttében genetikai és környezeti tényezők egyaránt szerepet játszanak. Familiáris halmozódása is régóta jól ismert, melynek hátterében a sejtciklus szabályozásában szerepet játszó ciklin-dependens kináz inhibitor 2A (*CDKN2A*) gén ivarsejtvonal-beli mutációit azonosították az érintett családok 40%-ban, míg 2%-nál volt csupán génhiba a ciklin dependens kináz 4-ben (*CDK4*)^{26,27}. Napjainkban vált ismertté, hogy az emlőrák asszociált fehérje-1 (*BAP1*), telomeráz reverz transzkriptáz (*TERT*), microphthalmia-asszociált transzkripciós faktor (*MITF*) gének ivarsejtvonal-beli mutációit is összefüggésbe lehet hozni a MM-ra való fokozott hajlammal²⁸. Szintén fontos genetikai hajlamosító tényezőként tartják számon a bőr színét és egyben a fényre adott reakcióját is meghatározó *MC1R* gén polimorfizmusait^{3,29-33}.

Jól ismert az epidemiológiai felmérések adataiból, hogy a világos, fényérzékeny bőrtípusú, szőke hajú és kék/zöld szemű egyének a leginkább veszélyeztetettek mind a hámeredetű, mind a festékes bőrdaganatok szempontjából. A nagyszámú közönséges melanocytás naevus (CMN) és/ vagy klinikailag atípusos melanocytás naevus (CAMN) megjelenése a bőrön szintén olyan fenotípusos marker, melynek MM-mal való kapcsolata is bizonyított^{3, 29, 32-39}. Napjainkban ismertté vált, hogy ezeknek a jóindulatú festéksejtes elváltozásoknak a hátterében is ugyanazok a szomatikus driver mutációk állnak, melyek halmozott előfordulása a MM különböző altípusainak kialakulásáért is felelős. Általában a *RAS-RAF-MEK* jelösvény mutációival, ezen belül is a v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B (*BRAF*) kináz szomatikus génhibáival jellemzett CMN és CAMN hordozók közül a legtöbben a felszínesen terjedő melanoma (SSM) vagy az ugyan ritkább, de szintén zömmel *BRAF* mutáns nodularis melanoma malignumban (NMM) szenvednek²⁸.

Az összes MM 70%-ában az UV-fény igazolhatóan szerepet játszik a daganat kialakulásában. A *BRAF* gén szomatikus mutációinak létrejöttét leginkább az intermittáló napfény-expozícióval lehet összefüggésbe hozni, mely szintén korrelál a fent említett epidemiológiai adatokkal. Ezzel szemben a krónikus UV-terhelés a *KIT*-oncogen (*c-KIT*) és az *NRAS* génhibák kialakulását provokálja leginkább, mely klinikailag egy lassú növekedésű foltként megjelenő, ún. lentigo maligna melanoma (LMM) variáns képében nyilvánul meg. Az *NRAS* gén mutációk a congenitalis anyajegyek (CN) kétharmadában már fellelhetők. Érdekes módon a *c-KIT* génben létrejövő mutációk a leggyakoribb molekuláris eltérések a napfény hatásától teljesen függetlenül létrejövő nyálkahártya és acrolentiginosus lokalizációjú melanoma malignumok (ALMM) hátterében. Az uveális MM-ok és a ritka malignus kék naevusok a G-protein (*GNAQ*, *GNA11*gén) genetikai alterációi révén jönnek létre, míg a ritka formák esetén – pl. spitzoid, nevoid, „animal type” MM - számos egyéb mutáció és génfüzió is szereppel bír²⁸.

A MM molekuláris státuszának ismerete nem öncélú, mivel a metasztatikus MM terápiájában manapság az onkológiai terápiás fegyvertár részét képezik a *BRAF* és a *MEK* inhibitorok, valamint válogatott esetekben a *c-KIT*-gátlók is alkalmazásra kerülnek⁴⁰. Mai ismereteink szerint azonban hosszú távon a legígéretesebbnek a MM metasztázisok kezelésének immunonkológiai megközelítése tűnik. Egy citotoxikus T-lymphocytá antigén 4 (CTLA4) gátló antitest, az ipilimumab, a T-sejt aktiváció révén segíti a daganatsejtek eliminálását, míg a legújabb szerek - pembrolizumab és a nivolumab,- viszont a tumorsejtek felszínén „önvédelmi fegyverként” működő programozott sejthalál (programmed cell death:1 PD-1) receptorok gátlásával támogatják az immunrendszert az áttétek elpusztításában^{41, 42}. A

felsorolt új gyógyszeres lehetőségek mellett sem tekinthető azonban megoldottnak a metasztatikus melanoma kezelése. A speciális terápiás megközelítést igénylő többszörös bőráttek kezelésében világszerte terjedőben van az elektrokemoterápia mint új eljárás.

Korábbi munkáimban elsősorban a melanoma malignum kimenetelét meghatározó legfontosabb prognosztikai tényezők elemzésével foglalkoztam. A fenti epidemiológiai adatok azonban alátámasztják, hogy továbbra is alapvetően fontos minden olyan kutatás, mely a hozzájárul bőrdaganatok megelőzéséhez vagy elősegíti az eredményesebb gyógyításukat. A melanoma malignum és a bőrrákok rohamosan növekvő incidenciája - az egyéni tragédiákon túl - igen jelentős anyagi terhet ró az egészségügyi ellátó rendszerre. E tendencia megfékezését célzó egészségnevelés és a prevenciók stratégiák kidolgozása világszerte az onkodermatológia központi kérdése. Az adott régióban élők bőrdaganatra vonatkozó kockázati tényezőinek ismerete is nélkülözhetetlen ahhoz, hogy eredményesen adaptálhassuk a más országokban már eredményesnek bizonyult prevenciók lépéseket. Mindezen gondolatok mezsgyéjén haladva végeztük azokat a klinikai jellegű alkalmazott kutatásainkat, melynek eredményeit összegzi a disszertáció.

2 CÉLKITŰZÉSEK

2.1. Célul tűztük ki a melanoma malignum kockázati tényezőiként számon tartott, különböző típusú festékes anyajegyek gyakoriságának felmérését tinédzser korúaknál és felnőtteknél.

2.2. Felmérni terveztük a klinikailag atípusos melanocytás naevust hordozó pácienseknél a szemben lévő pigment eltérések gyakoriságát is.

2.3. Elemezni kívántuk az újszülöttkori kékfény-kezelés, valamint a bőrön és a szemben megjelenő anyajegyek számának összefüggését.

2.4. Ikervizsgálatok keretében célul tűztük ki:

- összehasonlítani az újszülöttkorukban kékfénnyel kezelt és nem kezelt ikertestvérek bőrén és szemében lévő pigmentált anyajegyek számát;
- elemezni az anyajegyek kifejlődésében egyéb környezeti faktorok, így a napfény szerepét;
- a bőrszín és az UV-fényre adott bőrreakciót meghatározó *MC1R* génnek, valamint az UV-fény okozta immunszuppressziót befolyásoló *HAL* génnek polimorfizmusainak vizsgálatát a kékfény okozta késői mellékhatások, ezen belül a festékes anyajegyek kialakulásában.

2.5. Ciklin-dependens kináz 2A (CDKN2A) gén ivarsejtvonal-beli mutációinak vizsgálatát terveztük melanoma malignumban szenvedő betegeknél és családjuknál.

2.6. Az Országos EuroMelanoma Nap keretében önkéntesen bőrszűrésre jelentkezők **napozási és fényvédelmi szokásainak értékelését** tűztük ki célul más európai országokkal közösen.

2.7. Elemezni terveztük a Szegeden lakó melanoma miatt kezelt betegek **prognosztikai faktorainak változását** az elmúlt harminc évben.

2.8. A hagyományos onkológiai módszerekkel nem kezelhető, a betegek számára viszont jelentős életminőség romlást okozó **melanoma bőráttek elektrokemoterápiás kezelésével elért eredmények értékelését** is célul tűztük ki.

2.9. Vizsgálni kívántuk az elektrokemoterápia hatását a **Gorlin-Goltz szindrómában** szenvedő betegek, nem operálható multiplex basaliomáinak kezelésében.

3 BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Epidemiológiai vizsgálatok a bőrön lévő festéksejtes anyajegyek prevalenciájának tanulmányozására egészséges tinédzserek és felnőttek körében

1320 tinédzser korú tanuló (14 és 18 év között, 614 fiú, átlagos életkor 16,28 év és 706 leány, átlagos életkor 16,25 év) és 618 önkéntesen jelentkező felnőtt (312 férfi, 306 nő, átlagos életkor 41,6 év) egyén bőrgyógyászati szűrő jellegű vizsgálata során a pigmentációs karakter (bőr-, haj- és szemszín) mellett a szeplő, lentigo, a veleszületett, a közönséges és a klinikailag atípusos melanocytás naevus jelenléte illetve száma került rögzítésre standardizált nemzetközi protokoll alapján⁴³.

3.2 A klinikailag atípusos melanocytás naevus szindróma és a szemészeti anyajegyek összefüggésének vizsgálata

152 klinikailag atípusos melanocytás naevus szindrómában szenvedő (85 nő és 67 férfi, átlagos életkoruk 42,5 év) páciensnél végeztük el a szemészeti szűrést. Kontroll csoportként 142 azonos bőrtípusú és azonos nemű (77 nő és 65 férfi, átlagos életkoruk 44,2 év) egyént választottunk, akiknek nem volt atípusos anyajegy a bőrén. A bőrgyógyászati vizsgálatot követően, standardizált szemészeti vizsgálat során rögzítésre került a szivárványhártya (iris) színe, kötőhártya naevus megléte, az iris-lap szeplők száma és eloszlása, az iris és a choroidea anyajegyei és mindenféle egyéb pigmentációs rendellenesség is⁴⁴.

3.3 **Ikervizsgálatok az újszülöttkori kékfény-kezelés, egyéb környezeti tényezők, valamint a bőrön és a szemben lévő festéksejtes anyajegyek prevalenciája közötti összefüggések tanulmányozására**

Standardizált bőrgyógyászati és szemészeti vizsgálatára került sor (lásd 3.1 és 3.2 fejezetben ismertetettek) 58 kettes és 1 hármas ikerpárnál, akiknél az egyik fél kapott sárgaság miatt újszülöttként kékfény-kezelést, a másik pedig nem részesült ilyen beavatkozásban.

3.4 **Genetikai vizsgálatok**

3.4.1 *A kékfény-kezeléssel összefüggő festékes anyajegyek kialakulása és a genetikai háttér összefüggésének vizsgálata ikerpárokból*

A vizsgálatban 36 kettes és egy hármas ikerpárnál a genomi DNS izolálását követően a *MC1R* gén teljes hosszára valamint a *HAL* gén I439V polimorfizmusára kiterjedő szekvenálás történt^{7, 45}.

3.4.2 *Klinikailag atípusos melanocytás naevus szindrómában és melanoma malignumban szenvedő betegek és családtagjaik CDKN2A mutációinak, valamint MC1R gén polimorfizmusainak vizsgálata*

Genetikai vizsgálatunkban a genomi DNS izolálását követően a többszörös primer, illetve a familiáris halmozódást mutató melanoma malignumban szenvedő betegeknél és családtagjaiknál a melanoma malignumra hajlamosító ivarsejtvonal-beli *CDKN2A* génmutációk és *MC1R* génpolimorfizmusok analízisére fókuszáltunk.

3.5 **Bőrgyógyászati tanácsadásra jelentkező önkéntesek napozási szokásainak és bőrdaganatokra vonatkozó kockázati tényezőinek felmérése**

Az Országos EuroMelanoma Nap keretében 2009 és 2010-ben megjelent 4756 önkéntes résztvevő napozási és fényvédelmi szokásairól szóló adatait összegzem.

3.6 **Szegeden élő MM-os betegek prognosztikai faktorainak változása 30 év alatt**

1979. január 1. és 2008. december 31. között kórszövettani vizsgálattal 599 (275 férfi, 324 nő) szegedi lakosnál diagnosztizáltunk MM-ot. A primer tumorok Breslow szerinti vastagságát, Clark szerinti inváziós mélységét, valamint a tumor lokalizációját és szövettani altípusát vizsgáltuk. 5 évenként összesítve, hat csoportba gyűjtöttük össze a harminc év alatt kezelt betegek adatait és hasonlítottuk össze.

3.7 Az elektrokemoterápia (ECT) alkalmazása melanoma bőráttekben

2007 szeptembere és 2009 júniusa között 9 *in transit* MM bőráttekben szenvedő beteg (7 nő és 2 férfi, átlagos életkor 74 év) részesült ECT-ban klinikánkon. A beavatkozások intratrachealis narcosisban, bleomycin adása mellett (15 mg/m² dózisban, intravénásan) speciális elektródák felhasználásával, Cliniporator TM eszközzel (IGEA Ltd) történtek az European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy (ESOPE) európai standardot követve⁴⁶.

Az eredmények értékelésében komplett választ (CR), részleges regressziót (PR), változatlan betegséget (SD) és progressziót (PD) különítettünk el a World Health Organization (WHO) kritériumok alapján⁴⁷.

3.8 Az elektrokemoterápia (ECT) alkalmazása Gorlin-Goltz szindrómában

2009 júniusa és 2011 januárja között eltelt időben 3 Gorlin-Goltz szindrómában szenvedő betegnél (1 nő és 2 férfi) végeztünk 99 BCC kezelését a fentiek szerint (3.7 fejezet) kivitelezett ECT-val és értékeltük a módszer hatékonyságát.

3.9 Statisztikai módszerek

A klinikai jellegű munkáknál nagyrészt leíró statisztikára került sor, míg a festékes léziók prevalenciájának és a fenotípusos jeleknek, a napfényártalomnak, kékfény-kezelésnek és egyéb változóknak az elemzésekor főleg Pearson- χ^2 -próba, nem-paraméteres Kruskal-Wallis teszt, Wilcoxon próba, Spearman rank korrelációs teszt, multivariációs és lineáris regresszió analízis végzése, valamint esélyhányados meghatározása történt.

4 EREDMÉNYEK

4.1 Epidemiológiai vizsgálatok

4.1.1 Egészségéges tinédzser- és felnőttkorúak bőrgyógyászati szűrése

A tinédzserek ötöde szeplős, köztük több a lány

Az 1320 megvizsgált résztvevő együtödében (20%) találtunk szeplőket a bőrön, mely a lányokon gyakoribb volt, mint a fiúkon (Pearson- χ^2 -próba $p=0.0471$). A 905 kérdőívet is kitöltő tinédzser adatát alapul véve a szeplősség és az alkati jegyek közül a bőrtípus (Pearson- χ^2 -próba $p=0.0001$), valamint a kórtörténetben szereplő súlyos napégés (Pearson- χ^2 -próba $p=0.00002$) mutatott szignifikáns összefüggést.

Ritka a veleszületett anyajegy (CN) a tinédzserek bőrén, de relatíve többször látjuk őket fiúkon, mint lányokon

Az 1320 vizsgált tinédzser közül 6,21%-ban találtunk CN-t. Közülük több fiúnak volt CN-je (8,6%), mint lánynak (5,8%), azonban szignifikáns összefüggést nem találtunk sem a pigmentációs karakter, sem a fényexpozíció vonatkozásában.

A gimnazisták kétharmadának van szerzett közönséges anyajegy (CMN) a bőrén, mely a világos szemű, napfényre érzékeny bőrtípusú fiúknál a legjellemzőbb

A vizsgáltak kétharmadánál találtunk 10-100 CMN-t a bőrön: elsősorban a fiúkon (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0.00001$) volt nagyobb arányban és a világosabb szeműekben (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0.045$), valamint az I-II. bőrtípusúaknál (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0.0002$), azonban a napégés, szoláriumozás és a napon töltött idő nem mutatott szignifikáns összefüggést a CMN számával ezen a csoporton belül.

A szerzett, klinikailag atípusos melanocytás naevus (CAMN) prevalenciája magas a tinédzserek között: minden negyedik fiatal érintett

A vizsgált tinédzserek egynegyede (24,5%) CAMN-t hordozott a bőrén. Szignifikánsan több volt a fiúkon (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0.002$), a világosabb bőrtípusú (χ^2 -próbalineáris trend vizsgálattal $p=0.0003$) és világos szemű (χ^2 -lineáris trend vizsgálattal $p=0.005$) egyéneknél illetve azoknál, akik CAMN mellett CMN-t is hordoztak (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0,0001$). Nem tudtunk kimutatni szignifikáns összefüggést a napégésre vonatkozó kórtörténet, a fényvédő használata, valamint az CAMN megjelenése között.

A bőr napfény okozta károsodásának markereként számon tartott lentigo prevalenciája igen magas már gimnazista korban

Az 1320 vizsgált tinédzser közül a legtöbbjükön találtunk különböző számban lentigot, mely összefüggést mutatott a CMN előfordulásával (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0,0001$). A fiúk közül többenél találtunk lentigokat, mint a lányoknál (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0.00002$). A fenotípusos jelleg értékelésekor a szemszín nem mutatott összefüggést a lentigok számával, annál inkább a világos hajszín (χ^2 -próba lineáris trend vizsgálattal $p=0.038$) és az I-II. bőrtípus (χ^2 -lineáris trend vizsgálattal $p=0.0002$). A súlyos napégést szenvedőknél szignifikánsan magasabb számban volt lentigo (χ^2 -próba

lineáris trend vizsgálattal $p=0.01$), azonban nem tudtunk kimutatni ebben a tekintetben összefüggést a szoláriumozás és a fényvédőkrémek használatával. Megjegyzendő, hogy a vizsgálati csoportok fiatal életkora miatt túl rövid az idő mind a napvédőkrémek védőhatásának, mind a szolárium fénykárosító hatásának le mérésére.

A közönséges (CMN) és a klinikailag atípusos melanocytás naevus (CAMN) prevalenciája összefüggést mutat a nagyszámú közönséges melanocytás naevusra vonatkozó családi anamnézissel

A nagyszámú anyajegy hordozására vonatkozó családi anamnézis mind a CMN, mind a CAMN szám vonatkozásában szoros korrelációt mutatott (χ^2 -lineáris trend vizsgálattal $p=0.0001$)

A gimnazisták közül azok, akik újszülöttkorukban kékfény-kezelésen estek át, jóval többen hordoznak CAMN-t a bőrükön

747 tinédzsernek volt használható újszülöttkori kórtörténeti adata, ebből kiderült, hogy 44,6%-ban részesültek születésükkor sárgaság miatt kékfény-kezelésben. A kékfénynek kitett populációban szignifikánsan magasabb volt a CAMN prevalenciája ($\chi^2=4,08$; $df=1$, $p=0,0433$ /Statistica 7.1 StatSoft, Inc, Tulsa OK): a kékfénnyel nem kezelt csoportban a CAMN 19,1%-ban, míg a fénykezelték között 25,2%-ban fordult elő. A kékfény által kiváltott relatív kockázat 1,32 volt a CAMN kialakulására vonatkoztatva (esélyhányados 1,43 95% confidencia intervallum 1,010-2,026) a diákok körében.

Egészséges felnőtt populációban a kékfény-kezelés bevezetése után született fiatalok közül jóval nagyobb arányban vannak a klinikailag atípusos melanocytás naevust (CAMN) hordozók, mint az a náluknál idősebb munkatársaiknál tapasztalható volt

618 egészséges felnőttél munkahelyi bőrgyógyászati szűrővizsgálattal azt találtuk, hogy a kékfény-kezelés bevezetése után születetteknél jóval több volt a CAMN, mint idősebb kollégáikon ($\chi^2=17,26$, $df=1$, $p=0,00003$; SPSS vs.15.5, SPSS inc. Chicago, Illinois). A CAMN gyakorisága elérte a 36,3%-ot az 1968 után született felnőttek körében, ami igen magasnak tekinthető.

4.1.2 *A klinikailag atípusos melanocytás naevust (CAMN) hordozó egyének szemészeti szűrővizsgálata*

A klinikailag atípusos melanocytás naevust (CAMN) hordozó egyéneknél a szemükben lévő pigmentált léziók száma is magas

A tanulmányban 152 CAMN szindrómában szenvedő és 142 önkéntes kontrollként szolgáló, életkorban, nemben illesztett, CAMN-t nem hordozó egyén bőrgyógyászati és szemészeti vizsgálata történt. A szemszín vonatkozásában nem találtunk különbséget a CAMN-t hordozó és a kontroll egyének között és a szemszín nem volt befolyással magára a CAMN megjelenésére sem.

A CAMN szindrómás csoportban 5 betegnek volt kötőhártya anyajegye, míg a kontrollként szereplő egyéneknél egyet sem találtunk (Pearson $\chi^2 = 4,752$, $p = 0,029$). 5-nél több iris-lap szeplő 26 CAMN szindrómás betegnél (17,1%) fordult elő, ezzel szemben csupán 8 esetben (5,6%) láttunk hasonló jelenséget a kontrollok között, mely statisztikailag szignifikáns különbségnek bizonyult (Pearson $\chi^2 = 9,446$, $p = 0,002$). Az érhártya naevusok is szignifikánsan gyakrabban mutatkoztak a CAMN-t hordozók körében a kontrollokhoz képest (5,2% versus 0,7%) (Pearson $\chi^2 = 5,142$, $p = 0,023$). Íris naevus 5,2 %-ban fordult elő a CAMN szindrómásoknál, mely az 1,4%-os kontroll csoport eredményekhez képest ugyan több, de a két kohort közti különbség statisztikailag nem volt szignifikáns (Pearson $\chi^2 = 3,320$, $p = 0,068$), mely részben az egyes alcsoportok kis esetszámával is magyarázható.

A CAMN szindrómás egyéneket Kraemer szerint klasszifikáltuk aszerint, hogy az illető és/vagy a családjában hány közeli hozzátartozónál fordult elő CAMN szindróma és/vagy MM⁴⁸. A vizsgált CAMN szindrómások között minden negyedik betegnél (25%) volt a hozzátartozóik között is anyajegyes páciens, míg a szemészeti pigment eltéréseket hordozó CAMN szindrómások közel felénél (48%) volt családi érintettség.

4.2 **A bőrön és a szemben lévő pigmentált anyajegyek előfordulási gyakoriságának, valamint a kékfény-kezelés és egyéb környezeti tényezők hatásának összefüggését elemző ikervizsgálatok**

Ikerpároknál a bőrön megjelenő klinikailag atípusos (CAMN) és a közöséges melanocytás naevus(CMN) száma összefügg az újszülöttkori kékfény-kezeléssel

Kezdetben 11 olyan egypetűjű ikerpárt választottunk ki, akik közül ez egyikük kapott kékfény-kezelést, a másikuk pedig nem részesült fényterápiában születésekor. Vizsgálatukkor

azt találtuk, hogy mind a CMN (Wilcoxon signed-rank teszt $p=0,03$), mind a CAMN (Wilcoxon signed-rank teszt $p=0,008$) vonatkozásában szignifikánsan magasabb volt a kékfény-kezelésen átesettek közül a festéksejtes léziók előfordulása a bőrön.

Később 59 egy- és kétpetéjű ikerpárt úgy válogattunk össze, hogy közülük az egyik kapott kékfény-kezelést, míg a másik nem részesült fényterápiában újszülöttként. Amikor csupán a kékfény-kezelést, mint egy változót vizsgáltuk statisztikailag az összes ikerpáron az anyajegyekkel összefüggésben, mind a CAMN (Wilcoxon signed-rank teszt $p=0,016$), mind a CMN (Wilcoxon signed-rank teszt $p=0,01$) vonatkozásában szignifikánsan magasabb előfordulást tapasztaltunk a kékfény-kezelésnek kitett ikreken.

Az UV-fény expozíció mennyisége és minősége befolyásolta leginkább a festékes anyajegyek számbeli eltérését az ikrek bőrén

A nem parametrikus Kruskal-Wallis teszt eredményei szerint a világos szemszín ($p=0,049$), a fényvédőhasználat ideje ($p=0,048$), a súlyos napégés gyermek- ($p=0,014$) és fiatal felnőttkorban ($p=0,043$), a napozás gyakorisága ($p=0,020$), a napfényen töltött idő ($p=0,005$), a mediterrán vagy trópusi nyaralások száma ($p=0,008$) és a szoláriumozás ($p=0,013$) is befolyásolja összességében a festékes anyajegyek kialakulását.

Az ikrek szemében lévő pigmentált anyajegyek számbeli eltérése összefüggeni látszik a napfény-expozícióval, de szignifikáns korreláció csak az újszülöttkori kékfény-kezelés kapcsán mutatható ki

A szemészeti vizsgálaton átesett 113 egyénből 18 esetben iris-lap szeplőt, 2 egyénnél irisen elhelyezkedő, és 3-nál érhártyán lévő anyajegyet találtunk. A benignus uveális anyajegyek és a bőrön lévő CAMN között szignifikáns korrelációt mutattunk ki (Spearman rank korrelációs teszt, $r=0,362$). Amikor a szemben előforduló összes pigmenteltérést elemeztük a kékfény-kezelés függvényében, szignifikáns eltérés mutatkozott a kékfény-kezelésen átesett és a nem fénykezelt csoport tagjai között (Wilcoxon signed rank teszt $p=0,006$). Nem parametrikus Kruskal-Wallis teszttel értékelve, a környezeti tényezők közül a napfürdözések száma ($p=0,04$), valamint a súlyos napégések ($p=0,042$) mennyisége mutatott csupán szignifikáns összefüggést a szemben kifejlődő jóindulatú festékes anyajegyek számával.

Többváltozós logisztikus regressziós analízisben szignifikáns korrelációt egyedül a kékfény-kezelés vonatkozásában találtunk a jóindulatú uveális pigmentált naevusok kialakulását illetően ($p=001$).

4.3 Genetikai vizsgálatok

4.3.1 *A kékfény-kezeléssel összefüggő festékes anyajegyek kialakulása és a genetikai háttér összefüggésének vizsgálata ikerpárokból*

A MC1R gén polimorfizmusai jól korreláltak az ikrek bőrszínével, de nem mutattak összefüggést sem a bőrön, sem a szemben lévő festékes anyajegyek számával: a kékfény-kezelés hatása a genetikai háttértől független oki tényezőnek látszik a naevogenesisben

75 vizsgált egyén (36 kettős és egy hármas iker) genetikai analízisére került sor. A vizsgált populációban 9 különböző MC1R gén polimorfizmust detektáltunk: T413T egy pontos nukleotid-polimorfizmus (SNP) 3 egyénen heterozigóta formában, a ritka I120T heterozigóta formája egy ikerpárban, 2 vörös hajért felelős (RHC) variáns (R151C, R160W), 4 gyakori nem-RHC variáns (V60L, V92M, I155T és a W163Q) és egy új variáns- a W169R-egy-egy esetben igazolódott.

Az ikrek között szignifikáns összefüggés mutatkozott a bőrszín vonatkozásában mindegyik MC1R alcsoportban (R151C és R160W $p=0,001$, SNP6 $p=0,013$, SNP7, $p=0,013$, SNP8, $p=0,023$). A I439V HAL gén polimorfizmusa a bőrtípus vonatkozásában nem adott bizonyítható összefüggést a vizsgált egyéneknek. A fent ismertetett genetikai faktorok egyváltozós (Mann-Witney teszt) és többváltozós értékelésben (varianciaanalízis) sem mutattak összefüggést a bőrön és a szemben kialakuló anyajegyek számával. Az újszülöttkori kékfény-kezelés viszont egyértelműen mindegyik alcsoportban a genetikai háttértől független oki tényezőnek bizonyult az anyajegyek létrejöttében mind a bőr, mind a szem vonatkozásában.

4.3.2 *CDKN2A ivarsejtvonal-beli mutációk vizsgálata MM-ban illetve CAMN szindrómában szenvedő betegeknél és családtagjaiknál*

Az SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika Onkodermatológiáján gondozott MM-ban szenvedő betegektől 2002 óta gyűjtünk vérmintákat genetikai vizsgálatokhoz. A tanulmány során 83 familiáris és 42 sporadikus MM-os páciens került genetikai vizsgálatra.

Az összesen 125 főből álló kohort 26 családból adódott össze, 2-11 családtag bevonásával. Három MM-os családnál találtunk különböző *CDKN2A* ivarsejtvonal-beli mutációt.

4.3.2.1 *CDKN2A* P48T homozigóta genotípus multiplex MM-ban szenvedő klinikailag atípusos melanocytás naevus (CAMN) szindrómás betegnél és családjánál

Egy 30 éves, multiplex MM-ban szenvedő CAMN szindrómás férfinél a genomi DNS szekvencia elemzések során a *CDKN2A* gén 142. nukleotid pozíciójában C>A transitiót detektáltunk, amely egy prolin-treonin (P48T) aminosav cserét eredményezett a 48. aminosav pozícióban. A betegnél homozigóta formában detektáltuk ezt a ritka *CDKN2A* mutációt, míg tünetmentes szüleinél és kislányánál ugyanezt a géneltérést heterozigóta formában igazoltuk. Továbbá, a *MC1R* génkódoló régiójának vizsgálatakor igazolható volt, hogy három különböző, jól ismert polimorfizmus követhető a családban: a CGC>TGC (R151C), GTG>ATG (V92M) és CGC>TGC (R142H). Közülük egyet-egyet hordoz a két szülő és a beteg özvegye, míg a betegünkénél és kislányánál 2-2 különböző, MM-ra hajlamosító *MC1R* polimorfizmust is találtunk.

4.3.2.2 Heterozigóta R24P *CDKN2A* genotípus többszörös melanoma malignumban (MM), emlő- és hasnyálmirigyrákban szenvedő betegnél és családjában

Egy 33 éves nőbetegnél a többszörös MM, emlőrák és hasnyálmirigy adenocarcinoma, valamint a családjában apai ágon mutatkozó különféle rosszindulatú daganatokra (apja gyomor és gégerákban szenvedett, apai nagynénje fiatalon emlőrákban hunyt el) utaló kórelőzményi adatok sarkalltak bennünket a genetikai vizsgálat elvégzésére. Tekintettel a beteg egyéni és családi anamnézisében szereplő emlőrákra, a *BRCA1* és *BRCA2* gének 15 leggyakoribb „hot spot” mutációjának tesztelése is megtörtént, ezek egyikében sem találtunk eltérést. A fiatal nőbetegük és édesapja heterozigóta formában hordoz egy nem ritka R24P *CDKN2A* mutációt.

4.3.2.3 Ritka heterozigóta intronális *CDKN2A* mutáció (IVS1+37 G /C) egy MM-t és CAMNS-t halmozottan hordozó családban

2011-ben egy dél-magyarországi családban végeztünk genetikai vizsgálatokat, akiknél a családtagok között mind a MM, mind a klinikailag atípusos melanocytás naevus szindróma (CAMNS) halmozottan fordult elő az elmúlt húsz évben. Kimutattuk, hogy közülük többen

heterozigóta formában hordoznak a *CDKN2A* génjükben egy IVS1+37 G/C introni mutációt. Munkacsoportunknak *in vitro* minigén módszer segítségével sikerült bizonyítani, hogy ez a mutáció kóroki szereppel bír a MM-ra való megnövekedett hajlam kialakításában.

4.4 Az Országos EuroMelanoma Nap kapcsán bőrgyógyászati tanácsadásra jelentkezők napozási szokásainak és bőrdaganatokra vonatkozó kockázati tényezőinek értékelése

Önkéntes bőrgyógyászati tanácsadásra zömmel fiatal nők jelentkeznek; egyharmaduk gyermekkorában hólyagos napégést szenvedett, ami átlagosnak számít Európában

A 2009 és 2010-ben az EuroMelanoma Napon országosan 4756 bőrszűrésre megjelent egyén közül 73% volt nő, átlagos életkoruk 37 év. A résztvevők többsége magasabb iskolai végzettséggel rendelkezett (41% egyetemet, míg 38% középiskolát végzett). A jelentkezők 2/3-a legalább III. bőrtípusú volt a Fitzpatrick-féle beosztás alapján. Arra a kérdésre, hogy gyermekkorukban szenvedtek-e súlyos napégést, egyharmaduk igennel válaszolt, mely a többi európai ország adataival megegyező gyakoriságot jelent.

A 35 év alatti diplomás nők egyharmada Magyarországon rendszeresen szoláriumozik, mely jóval meghaladja az európai átlagot

A jelentkezők 20%-a - köztük a 35 év alatti nők egyharmada - a rendszeresen szoláriumozók közé tartozott, mely Európai viszonylatban magasnak számít.

4.5 A melanoma malignus (MM) betegek prognosztikai faktorainak változása Szegeden az elmúlt 30 évben - retrospektív vizsgálat

A prognosztikai faktorok változásának értékelésére azokat a szegedi MM-os betegeket választottuk ki, akik 1979. január 1-től 2008. december 31-ig kerültek klinikánkra: így a közel ötezer MM-mal gondozott betegünk közül 599 páciens adatait dolgoztuk fel.

Ötszörösére nőtt harminc év alatt a MM-ban szenvedő betegek száma Szegeden

1979 és 2008 között a melanomák száma Szeged város lakosságát érintően csaknem ötszörösére emelkedett, míg az első 5 évben (1979 és 1984 között) 40, addig az utolsó vizsgált 5 éves ciklusban (2004 és 2008 között) már 177 újonnan diagnosztizált MM-ban szenvedő beteget regisztráltunk a klinikánkon kezelt páciensek közül.

A jól gyógyítható primer tumorok aránya jelentősen nőtt, viszont a fatális kimenetellel járó vastag melanoma malignumban szenvedő betegek abszolút száma nem változott az elmúlt három évtizedben Szegeden

A retrospektív vizsgálatban a MM súlyosságára vonatkozó paraméterek közül a primer tumor vastagsága és az invázió mélysége került elemzésre. Öt éves periódusokban vizsgálva az adatokat, az *in situ* és az 1 mm-nél vékonyabb tumorok aránya folyamatosan nőtt, a vastagabb tumorok aránya pedig csökkent az évek során. Míg az első öt évben a vékony, 1 mm alatti primer tumorok mindössze az összes festékes malignomák egytizedét (10%) adták, addig az utóbbi 5 évben ezeknek a daganatoknak az aránya meghaladta a 2/3-t (71%). Emellett mindenképpen kiemelendő, hogy a T4 stádiumban (4 mm-nél vastagabb) lévő daganatok aránya oly mértékben lecsökkent, hogy mindössze az esetek 7%-ban találkozunk ilyen elhanyagolt daganattal. Megjegyzendő azonban, hogy a rossz prognózisú 4 mm-nél vastagabb melanomák abszolút száma lényegesen nem változott a vizsgált periódusban.

Az első ötéves időszakban a daganatok nagy része a tumor infiltrációjának mélységét reprezentáló Clark szerinti beosztás szerint a III-IV. kategóriába tartozott (78%), míg ugyanez a kockázati csoport a legutolsó periódusban mindössze a kezelt betegek 37%-t teszi ki. Örvendetes, hogy napjainkra Szegeden a Clark I., azaz az *in situ* formában felismert MM-k százalékos aránya a 18%-ot is meghaladja, ami hatszorosa a harminc évvel ezelőttihez képest. A legrosszabb prognózisú, subcutan zsírszövetet infiltráló, Clark V. inváziós mélységű daganatok aránya szerencsére az ötödére csökkent a szegedi MM-os betegekben.

Az intermittáló napfény-expozíciónak kitett hát bőrén lévő melanoma malignumok (MM) aránya jelentősen megnőtt, viszont a krónikusan napfénynek kitett fej-nyak régióban lévők hányada változatlan maradt a harminc év alatt

Harminc évvel ezelőtt a festékes daganatok egyharmada (35%) a betegek alsó végtagján jelent meg, míg minden 5. MM-ot (20%) a háton találtuk. Manapság megfordult az arány (18% alsóvégtag, 38% hát), és főleg a törzsön, azon belül is a háton fedezzük fel a legtöbb MM-ot. A vizsgált időszakban a fejen és a felső végtagon lévő daganatok megoszlási aránya lényegesen nem változott. Mindez indirekt módon jelezheti, hogy a hátunkat egyre többet „mutatjuk meg” a napnak és nem tartjuk be a fényvédelmi előírásokat.

Az agresszív noduláris melanoma (NMM) aránya jelentősen csökkent, míg folyamatosan nőtt a felszínesen terjedő melanomában (SSM) szenvedők hányada Szegeden

A legszembeütőbb változás a NMM altípusának igen jelentős csökkenésében mutatkozik: 48%-ról 7%-ra redukálódott a legagresszívabban viselkedő formaként számon tartott NMM. 1984-től zömmel SSM-ot diagnosztizálunk. A vizsgált betegcsoportban 9%-ban találtak a patológusok olyan SSM-ot, ahol a daganatban vertikális terjedés (SSM VGP), azaz noduláris részlet is kifejlődött. Általában a SSM-k lassabban, sokszor évekig növekednek, míg a NMM-ok gyorsabban, inkább hetek, mint hónapok alatt terjednek. A NMM emiatt nem tartozik a hatékonyan szűrhető daganatok közé. A noduláris részlet kialakulása viszont az SSM-n belül arra utal, hogy a betegnél a daganat időben felismerhető lett volna, ha az illető korábban orvoshoz fordul és/vagy megfelelően képzett szakember vizsgálja.

4.6 Az elektrokemoterápia (ECT) hatásának vizsgálata a melanoma malignum *in transit* bőrátéteiben

A nagyobb méretű, korábban sugárkezelt területen lévő MM bőrátétek kétharmada is regrediált az ECT kezelés hatására

Az ECT kezelés hatására a vizsgált 0,5 cm-nél nagyobb átmérőjű, korábban sugárkezelt területen lévő *in transit* MM bőrátétes csomók közel kétharmadában (62%) jelentősen visszafejlődött a tumor, ebből 23%-ban volt teljes, míg 39%-ban részleges a regresszió a WHO kritériumoknak megfelelően⁴⁷. Az elváltozások 30%-ában nem észleltünk lényeges változást, míg a kezelt tumoros csomók mindössze 8%-a nőtt a megfigyelési periódusban. Lényeges mellékhatást nem észleltünk a beavatkozások során.

4.7 Az elektrokemoterápia (ECT) hatékonysága Gorlin-Goltz szindrómában

Gorlin-Goltz szindrómában szenvedő betegeknél a multiplex basaliomák (BCC) kezelésében is magas hatékonyságú az ECT

A vizsgálat keretén belül 2009. júniustól 2011. januárig 99 BCC kezelését végeztük el 3 Gorlin-Goltz szindrómában szenvedő betegnél. Mindegyikükönél nagyszámú, 25-38 BCC kezelésére került sor. Egy beteg négy, míg a másik kettő csak egy-egy alkalommal esett át az ECT kezelésen. 28 BCC (28%) az arcon és a nyakon helyezkedett el, míg 71 a törzsön (72%). A kezelt daganatok átmérője 3-22 mm (átlag: 9,4 mm) volt. 99%-ban értünk el kedvező hatást a kezeléssel, míg lényeges mellékhatás nem kísérte a beavatkozásokat. 86 daganatnál (87%) komplett, míg 12 BCC esetén parciális regressziót tapasztaltunk a kontroll vizsgálatok során. Mindössze egy daganatnál nem láttunk semmiféle változást az ECT-t követően. A 2-20 hónapos követés alatt nem találtunk egyik kezelt területen sem recidívát. A kiváló kozmetikai

eredménnyel nemcsak a kezelő személyzet, hanem maguk a betegek is nagyon elégedettek voltak.

5 DISZKUSSZIÓ

5.1 A melanoma malignum kockázati tényezőiként számon tartott festékes anyajegyek epidemiológiai sajátosságai régiókban

A bőrdaganatok növekvő gyakoriságának megfékezésére a helyi viszonyokhoz igazodó, többszintű prevenciós stratégia kidolgozására van szükség. A hatékony megelőzés megtervezésének alappillére az adott régióra vonatkozó epidemiológiai sajátosságok és azon környezeti kockázati tényezők ismerete, mely a bőrdaganatok kialakulását alapvetően meghatározzák.

Ezen gondolatok mezsgyéjén szerveztünk egészséges tinédzserek és felnőttek körében bőrgyógyászati szűrő jellegű vizsgálatokat. A felmérések során megállapítottuk, hogy régiókban - főleg a fiatalabb generációt illetően - igen magas azoknak a száma, akik a bőrdaganatok, azok közül is a potenciálisan legveszélyesebb melanoma malignum szempontjából a kockázati csoporthoz tartoznak. A bőrgyógyászati vizsgálatok során fény derült arra, hogy már a tinédzserek egynegyede, a fiatal felnőtteknek pedig több mint egyharmada ún. klinikailag atípusos anyajegyet hordoz a bőrén, melyet a melanomára való megnövekedett hajlam legfontosabb fenotípusos markereként tartanak számon.^{24, 49, 50}. Mindezen túl, kétharmadnál több volt azoknak a fiataloknak az aránya, akik sok, de legalább tíz közönséges anyajegyet is hordoztak a bőrükön, mely szintén magasabb kockázatot jelez a melanomára való fogékonyságot illetően. Kitekintve a világba, ezen a téren azt láthatjuk, hogy ilyen magas atípusos és közönséges anyajegy előfordulást egyedül Dél-Olaszországban detektáltak, míg más európai országokban, sőt Ausztráliában sem találtak ennyire sok anyajegyet hordozó egészséges egyént⁵¹⁻⁵⁵.

A nagyszámú anyajegy hordozásának hátterét boncolgatva tovább elemeztük a vizsgálati alanyok pigmentációs karakterét és a napozási szokásaikat az anyajegyek számával összevetve. A régiókban lakók nagyobb hányada nem tartozik a nagyon világos és napfényre emiatt fokozottabban érzékeny bőrtípusú egyének közé. Kiténik viszont a vizsgálati eredményeinkből, hogy már a fiatalok zöme is jelentős fénykárosodással bír, hiszen a tinédzserek húsz százaléka szeplős és hetven százalék feletti azoknak az aránya, akik több solaris lentigot hordoznak a bőrükön. Utóbbi két festékes anyajegyféle egyrészt az

összeadódó napfény-expozícióval, másrészt a napégésekkel mutat szoros összefüggést. Az UV-fény okozta károsodás szintén fontos rizikó faktoroknak tekinthető a bőrdaganatok összes válfájának kialakulásában, így a fenti regionális adatok mindenképpen figyelemre méltóak.

2006-tól évenként egy alkalommal Országos Melanoma Napot rendez a Magyar Dermatológiai Társulat, melynek a szervezésében tíz éve vagyok vezető. 2009-ben csatlakozott Magyarország az EuroMelanoma mozgalomhoz. Ennek keretén belül, a 2009-ben és 2010-ben szerveződött Országos EuroMelanoma Nap kapcsán közel ötezer fő jelentkezett önkéntes „bőrszűrésre”. A résztvevőktől származó adatokból az is kiderül, hogy a fiatal korosztályhoz tartozó, magasan képzett nők jelentős hányada nemcsak napozik, sőt többször leég, de a 35 év alattiak egyharmada még rendszeresen szoláriumba is jár, mely tovább növeli az egyébként is magas bőrdaganat kockázatot hazánkban. Összehasonlítva adatainkat a környező országokból származó mutatókkal, a szoláriumozás szempontjából itthon az európai átlaghoz képest jelentősen rosszabb a helyzet⁵⁶. A rendszeres szolárium használat tovább növeli a bőrdaganatok kialakulása szempontjából egyébként is jelentős kockázati csoport létszámát Magyarországon.

A klinikailag atípusos anyajegyet hordozó egyéneknél végzett szemészeti szűrővizsgálatunk kapcsán arra is fény derült, hogy nemcsak a bőrön, hanem a szemben is nagyobb számban találhatók a különféle festékes anyajegyek ebben a populációban. Még a '90-es években végzett korábbi felméréseinkből ismert, hogy a bőrön lévő atípusos anyajegyet nemcsak a bőrön, hanem a szemben kialakuló melanomára való hajlam fenotípusos jeleként is számon tartják⁵⁷. Eredményeinkhez hasonlóan a közelmúltban egy meta-analízisben szoros korrelációt találtak az uvea melanoma és a bőrön lévő közönséges és/vagy atípusos jellegű anyajegyek, továbbá az irisen megjelenő melanocyter léziók között⁵⁸.

5.2 Az újszülöttkori sárgaság terápiájában használt kékfény-kezelés hatása a bőrön és a szemben lévő anyajegyek kialakulására

A felnőtt lakosság körében végzett szűrővizsgálatok során feltűnő volt számunkra, hogy a fiatalabb korosztályhoz tartozók jóval több anyajegyet hordoznak a bőrükön. A közel egyidejűleg zajló tinédzserszűrések kapcsán összegyűjtött adatokból kiderült, hogy az újszülöttként kékfény-kezelésen átesettek között jóval több az atípusos anyajegyet hordozó egyén⁵⁹. Később egypetéjű ikerpopulációban is hasonló eredményeket találtunk: az ikerpárokon belül a kékfény-kezelésen átesett egyéneken jóval több a festékes anyajegy, mint a fénykezelésben nem részesült ikertestvérükön⁶⁰. Ezt követően egy nagyobb létszámú

ikercsoporton belül végeztünk további elemzést a kékfény-kezelés szerepének vizsgálatára. Munkánk során a kékfény-kezelésen átesetteknél nemcsak a bőrön, hanem a szemükben is magasabb festékes anyajegy előfordulási gyakoriságot találtunk⁶¹.

Az elektromágneses spektrumon belül a kékfény van az UVA tartományhoz a legközelebb, ennek alapján felvethető a biológiai hatások átfedése is. A kékfény-kezelés késői bőrgyógyászati és szemészeti szövődményeit feltáró irodalom szegényesnek mondható. Munkacsoportunk vizsgálatait megelőzően mindössze két olyan munka született, melyben a kékfény és az anyajegyek száma közötti összefüggést vizsgálták, az egyik megerősítette, míg a másik elvetette a kapcsolatot a naevogenesis és a kékfény-kezelés között^{62, 63}. A szemészeti vonatkozásait még 1975-ben vizsgálta egy munkacsoport és óvodáskorúaknál nem talált semmiféle eltérést a kékfény-kezelések után⁶⁴.

5.3 Genetikai vizsgálatok

Az ikervizsgálatainkban a kékfény-kezelés indukálta naevogenesis és a bőr pigmentációs karakterét meghatározó genetikai tényezők összefüggését is elemeztük. A *MC1R* gén polimorfizmusainak vizsgálatakor kiderült, hogy a kékfény az endogén tényezőktől függetlenül tölt be oki szerepet a kékfény-terápiás beavatkozás késői szövődményeként megjelenő nagyobb számú anyajegy létrejöttében egyrészt a szemben, másrészt a bőrön.

Melanomás betegeknél és családjukban végzett genetikai vizsgálatainkban a melanomára való fogékonyság háttérében a *CDKN2A* génen két különböző, ritka ivarsejtvonal-beli mutációit azonosítottunk egy-egy családnál, hazai viszonylatban úttörő munkát végezve ezen a téren. Az egyik családban a *CDKN2A* P48T homozigóta genotípust azonosítottunk a multiplex melanomában szenvedő és atípusos anyajegyeket is hordozó betegnél és családjában.

A másik egy ritka heterozigóta intronális *CDKN2A* mutáció (IVS1+37 G/C) volt, melynek a melanoma kialakulásában betöltött oki szerepét *in vitro* minigén módszer segítségével - egy külföldi kollaborációs munkában – sikerült elsőként bizonyítani munkacsoportunknak. Az érintett intron 1 szakaszon detektált mutáció észlelésünkig mindössze 2 esetismertetésben szerepelt a korábbi irodalomban. Vizsgálatunkat megelőzően nem volt bizonyítható e mutáció kóroki szerepe sem a MM-ban, sem más tumorokban, egyes szerzők *in silico* vizsgálataik alapján még el is vetették ennek lehetőségét⁶⁵⁻⁶⁷.

Ezen felül egy harmadik, daganatot halmozottan hordozó családban egy kevésbé ritka heterozigóta R24P *CDKN2A* genotípusról azt találtuk, hogy más daganatok kialakulásában is oki szerepe lehet a melanomán kívül.

Napjainkban naponta jelennek meg újabb és újabb adatok a melanomára hajlamosító ivarsejtvonal-beli mutációkról, valamint a festékes daganatok kialakulásában szerepet játszó szomatikus génhibákról szóló cikkek is egymást érik az irodalomban. Míg az ivarsejtvonal-beli mutációk ismerete elsősorban a prevenciós stratégiák meghatározását segíti elő, addig a szomatikus mutációk fajtáinak detektálása közvetlen terápiás konzekvenciával bír, melyre már több példa is van a klinikai gyakorlatban (BRAF-, MEK- *c-KIT*-gátlók alkalmazása)²⁸.

5.4 **Az aktív prevenciós tevékenységgel függhet össze a Szegeden élő melanoma malignummal (MM) kezelt betegek prognosztikai faktoraiban észlelt kedvező változás az elmúlt harminc évben**

A nemzetközi adatokhoz hasonlóan városunkban, Szegeden is folyamatosan növekszik a MM-mal újonnan diagnosztizált betegek évenkénti száma, azonban a daganatok prognosztikai faktoraiban is jelentős változás mutatkozik az elmúlt harminc év alatt. Az is szembetűnő, hogy elsősorban a vékony, ezáltal jól gyógyítható MM-k aránya növekszik. Míg a nyolcvanas évek elején minden harmadik újonnan diagnosztizált MM vastag, rossz prognózisú volt, addig az ezredforduló után szerencsére csak minden tizedik betegről mondható el. Jól látszik, hogy napjainkra Szegeden az *in situ* formában felismert MM-k százalékos aránya a 18%-ot is meghaladja, ami hatszorosa a harminc évvel ezelőttihez képest. Úgy tűnik, egyre többen időben fordulnak problémájukkal bőrgyógyászhoz. Sajnálatos azonban, hogy az agresszíven viselkedő, előrehaladott daganatok abszolút száma viszont változatlan maradt a harminc év alatt.

2012-ben holland szerzők tollából jelent meg egy retrospektív elemzés, mely 1989-től elemezte a MM-ban szenvedő betegek prognosztikai adatait és túlélését. A vizsgálatot végzők azt találták, hogy náluk a tumorok közül nemcsak a vékony, hanem a vastag tumorok száma is jelentősen növekedett a vizsgált periódusban⁶⁸. Kandolf-Sekulovic ugyancsak 2012-ben Belgrád lakosságára vonatkozóan közölt adatokat a MM-ről, melyben az ezredforduló utáni periódusban igen alacsony incidencia és mortalitási adatokról számolt be. A prognosztikai faktorok tekintetében olyan paramétereket mutatott be az ezredforduló körüli időszakból, melyek szinte teljesen megegyeznek a korai '80-as években regisztrált szegedi adatokkal. Tekintettel arra, hogy Szeged és Belgrád távolsága alig több 250 km-nél, valamint a lakosság fenotípusos jellege és a klímaviszonyok is azonosnak tekinthetők, így a legfontosabb

különbség az eredményekben mégis csak a prevenció különböző szintjeiben keresendő. A szomszédos ország nem oly régen még háborúval küzdött, így érthető ilyen szempontból az elmaradásuk⁶⁹. Claus Garbe munkacsoportja Tübingenből a Cancer című folyóiratban közölt 30 éves periódusról szóló epidemiológiai adatokat a német MM-os betegek prognosztikai tényezőiről, illetve azok változásáról. Összehasonlítva eredményeiket a klinikákon talált adatokkal, jól látszik, hogy a '70-es években jelentősen elmaradtunk a MM korai felismerésében a tübingeni klinikától, azonban az ezredfordulót követő periódusban a tumorvastagság megoszlása szinte teljesen megegyezik a két intézetben. Mindkét helyen azonos mértékben, szignifikánsan lecsökkent a vastag tumorok aránya⁷⁰.

Az eredményeink nemzetközi összehasonlításban is megállják a helyüket és igazolják, hogy nem hiába való az az erőfeszítés, amit munkatársaimmal évtizedek óta vívunk Szegeden a MM prevenció különböző szintjén. Másrészt megerősítenek abban, hogy folytassuk a Melanoma Nap formájában 10 éve elkezdett országos felvilágosító programot, mert várhatóan megmutatkozik majd az eredménye a jövőbeli hazai bőrdaganatos statisztikai adatok alakulásában is.

5.5 Az elektrokemoterápia szerepe a bőrdaganatok kezelésében

Vizsgálataink alapján mind a bőr és bőr alatti MM áttétek, mind a Gorlin-Goltz szindrómában szenvedő betegek multiplex basaliomáinak kezelésében kiváló hatékonyságúnak mondható az elektrokemoterápiás módszer. Az elektroporáció elvén alapuló fizikai eljárás során a daganatokra közvetlenül leadott elektromos impulzusok hatására az alkalmazott kemoterápiás szer (bleomycin vagy cisplatin) az intracelluláris térbe kerülve igen magas koncentrációt ér el. Ennek köszönhetően kiterjedt sejtelhalás következik be szelektíven a kezelt területnek megfelelően. A téma irodalmát áttekintve számos olyan szituációban alkalmazták eredményesen az elektrokemoterápiát a sebészi kezelést kiváltva, ahol a szerv megtartása funkcionális szempontból (anus melanoma, penis Kaposi sarcoma) volt fontos^{71,72}. Sok esetben, főleg arcon lévő multiplex basaliomáknál a sebészi eltávolításhoz viszonyítva jobb kozmetikai eredmény is elérhető az ECT alkalmazásával⁷³. Előnyei közé tartozik, hogy költséghatékony eljárás és többször megismételhető különösebb mellékhatások nélkül⁷⁴. A módszer technikai háttere rohamosan fejlődik, jelenleg a génterápiában és a nem operábilis hasüregben belüli daganatok, valamint a csontdaganatok kezelésében is tesztelik az elektrokemoterápia alkalmazását.

6 AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSAI

1. Bőrgyógyászati szűrővizsgálatok kapcsán **új adatokat** nyertünk arról, hogy:
 - **Magyarországon** a tinédzser populációban a nagyszámú közönséges anyajegy előfordulási gyakorisága magas, és **minden negyedik gyerek klinikailag atípusos anyajegyet is hordoz bőrén**, mely **jelentősen megnöveli a melanoma kockázatát**.
 - A klinikailag atípusos anyajegy szindrómában szenvedő egészséges egyének szemészeti szűrésekor megállapítottuk, hogy nemcsak a bőrükön, hanem **a szemükben is szignifikánsan magasabb a különböző típusú festékes anyajegyek előfordulása**.
2. Ikervizsgálatokban **elsőként** validáltuk, hogy szignifikánsan **magasabb számban találtunk mind közönséges, mind klinikailag atípusos anyajegyet azoknál, akik kékfény kezelésen estek át újszülöttként**.
 - Genetikai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy a **kékfény-kezelés anyajegyképződést befolyásoló hatása függetlennek tűnik genetikai sajátosságoktól**: a vizsgált ikerpopulációban sem a *MC1R* gén, sem a *HAL* I439V gén polimorfizmusai nem mutattak kapcsolatot az anyajegyek száma és a kékfény-kezelés viszonylatában.
3. Az ikervizsgálatainkban **elsőként** számoltunk be arról, hogy az ikerpárokon belül nemcsak a bőrön, hanem a **szemben lévő festékes anyajegyek számbeli különbsége is megmutatkozik a kékfény-kezeléssel összefüggésben**.
4. A MM-ban szenvedő betegeinknél elvégzett *CDKN2A* ivarsejtvonal-beli mutáció analízisek során két ritka és egy gyakoribbnak tekinthető mutációt találtunk:
 - Többszörös primer MM-ban szenvedő CAMN szindrómás egyénnél egy ritka **P48T *CDKN2A* mutációt homozigóta** formában detektáltunk, míg a családjában a fenti mutációt heterozigóta formában hordozó szülei és gyermeke egészségesek. Eredményünk támogatja azt az elméletet, miszerint a **MM multifaktoriális eredetű**. Az irodalmi adatokkal szemben az általunk vizsgálat családban e fenti nagyhatású mutáció heterozigóta formája nem vezetett MM kialakulásához, mely arra utal, hogy a **daganatos predispozíciót egyéb genetikai, epigenetikai és környezeti tényezők is módosíthatják**.

- Egy gyakorinak számító, heterozigóta **R24P CDKN2A** gén mutációt detektáltunk egy többszörös MM-ban, emlő- és hasnyálmirigyrákban szenvedő betegnél és családjában, mely **felveti e mutáció más daganatos betegséggel való kapcsolatát is.**
 - Szintén egy ritka heterozigóta intronális *CDKN2A* gén mutációt (IVS1+37 G/C) találtunk egy MM-ot és CAMN szindrómát halmozottan hordozó családban. *In vitro* minigén eljárással **elsőként igazoltuk, hogy e mutációnak oki szerepe van a MM-ra való hajlam kialakításában.**
5. Az epidemiológiai vizsgálatainkból és a szegedi lakosok között az elmúlt harminc évben újonnan diagnosztizált MM-ban szenvedők adatainak elemzéséből kitűnik, hogy:
- Az **intermittáló napfény-expozíció** jelenti a **legfontosabb exogén kockázati tényezőt** a melanoma gyakoriságának jelentős növekedésében régióinkban.
 - A bőr napfénykárosodásának markereként értékelt soláris lentigo már a tinédzserek legnagyobb hányadában jelen volt.
 - Az Országos Melanoma Nap során szűrésre jelentkezők napozási szokásainak elemzéséből is kitűnik, hogy **régióink lakossága nem tartja be a fényvédelemmel kapcsolatos alapvető szabályokat**, melynek hatása már fiatal korban megjelenik.
6. **Elsőként alkalmaztuk Magyarországon az elektrokemoterápiát.** Az in transit melanoma bőrátétek kezelésében igazoltuk, hogy a módszer hatékony a nagyobb méretű és korábban sugárkezelt léziók palliatív terápiájában is.
7. **Elsőként** számoltunk be az irodalomban arról, hogy **Gorlin-Goltz** szindrómában is az ECT **kiváló eredménnyel alkalmazható** technika a multiplex és/vagy irresecabilis BCC-k kezelésében.

7 AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI JELENTŐSÉGE

1. A bőrgyógyászati szűrővizsgálatok kapcsán mind a tinédzser, mind a felnőtt populációra vonatkozóan megállapítható volt, hogy **jelentős mennyiségű UV-fényterhelésnek kitett régiók lakossága**, mely mindenképpen előre vetíti, hogy a jövőben is folyamatosan növekedni fog mind a hámeredetű, mind a festéksejtekből kiinduló rosszindulatú daganatok előfordulása. Mindezek alapján szükségszerűnek látszik a fényvédelemről szóló **széleskörű tájékoztatás** mellett **szigorú szabályok bevezetése**, melyben a mesterséges napágyak használatát korlátozzák.
2. Munkacsoportunk korábbi felvetését új eredményeink is megerősítik, miszerint a CAMN szindrómában szenvedő egyéneknél nemcsak a bőr, hanem a **rendszeres szemészeti szűrővizsgálat** is fontos. A mindkét lokalizációban nagyobb kockázattal kifejlődő MM korai felismerése szempontjából a CAMN-t hordozók gondozásba vétele és időnkénti ellenőrzése szükséges már kisgyermekkortól.
3. **Az újszülöttkori kékfény-kezelés** hatására több anyajegy fejlődik ki, mind a szemben, mind a bőrön. Ezeknek az egyéneknek is **szorosabb bőrgyógyászati és szemészeti követése szükséges**.
4. A kékfény-kezelés ma is nélkülözhetetlen az újszülöttkori sárgaság kezelésében, azonban a késői szövődmények minimalizálása érdekében fontos lenne egy **egységes nemzeti irányelv kidolgozása** a pontos indikációval kapcsolatban, illetve arról, hogy miként kivitelezendő maga a kezelés. Biztosítani szükséges a **szűk spektrumú kékfényt kibocsátó, diódalámpák használatát** az összes újszülött osztályon. Mindezek hatására várható a jövőben, hogy a még éretlen immunrendszerű újszülöttek hazánkban is a lehető legkevesebb potenciálisan káros fényhatásnak lesznek kitéve.
5. A MM-ot halmozottan hordozó családok genetikai szűrővizsgálatával a **veszélyeztetettek kiemelése** és szoros követése megvalósítható. A rendszeres szűrővizsgálatok tervezése szempontjából elsősorban olyan **CDKN2A** gén ivarsejtvonal-beli mutáció hordozásnak van különösebb jelentősége, ahol a genetikai eltérés nemcsak a bőr, hanem más szervek, így például a hasnyálmirigy rák kockázatát is jelentősen megnöveli.
6. Az ECT használatát az *in transit* MM bőrátétek kezelésében már egy NICE irányelv is összegzi, melyben eredményeinket is az evidenciák között sorolja fel. Sürgető e

hatékony **módszer hazai elterjesztése**, melynek jelenleg gátat vet, hogy eddig nem került a finanszírozott kezelési eljárások közé Magyarországon.

7. A bőrön illetve a bőr alatt elhelyezkedő, különböző szövettani típusú primer és áttéti daganat roncsolására alkalmas ECT módszer sok esetben nemcsak hatékonyabb más kezeléseknél, de számos igen **drága kemoterápiás kezelést is kiválthat a jövőben**. Nem operálható nőgyógyászati, szájüregi daganatok, hasnyálmirigyrák, máj-, agy- és csontáttétek kezelésében és a génterápiában is **fejlesztik a technikát**, mely jelzi a benne rejlő széles lehetőségeket.

8 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom **Dobozy Attila** akadémikus úrnak azért, hogy bőrgyógyász lehettem és diákkörösként bevezetett az immunológiai kutatásba, majd később évtizedes közvetlen munkakapcsolatban megtanította, hogy milyen odaadást és lelkiismeretes munkát követel a betegellátás. Később az onkológia betegek gyógyítását tűzte ki feladatommként és mindvégig segítette munkámat mind a klinikai, mind a tudományos pályafutásom során.

Eckhardt Sándor akadémikus úrnak is sok köszönettel tartozom azért, hogy klinikai onkológusként dolgozhatok, és amiért évtizedek óta figyel, hasznos tanácsaival támogatja életpályámat. Hálával gondolok **Szekeres Lenke** tanárnőre, aki pályám kezdetén bevezetett a bőrgyógyászati-onkológiai betegellátás rejtelmeibe

Jelenlegi munkahelyi vezetőmtől, **Kemény Lajos** professzor úrtól is feltétlen bizalmat és támogatást kaptam a mindennapi munkámban, hogy folytathassam azt a tevékenységet, amit korábban elkezdtem. Világos útmutatásaival, önzetlen segítségével nagyban hozzájárult disszertációm elkészültéhez. Köszönettel tartozom a **Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika teljes kollektívájának**.

Az **onkológiai munkacsoport** mindennapi munkájában résztvevő társszakmák képviselőinek is hálával tartozom. A kollaborációban végzett gyümölcsöző kutatásokért **Hammer Helga, Orvos Hajnalka és Széll Márta** professzor asszonyoknak mondok köszönetet.

Rengeteg segítséget és motivációt kaptam onkológus kollégáimtól, barátaimtól, **Gyulai Rollandtól, Baltás Esztertől és Ócsai Henriette-től** a mindennapi közös munkánk során és büszke vagyok az ő szép sikereikre is. **Balogh Klára, Csoma Zsanett, Kis Erika, Korom Irma, Tóth-Molnár Edit és Varga Erika** kollégáim, barátaim hihetetlen energiája, szorgalma és munkabírása nélkülözhetetlen volt az évtizedes közös kutatómunkánk során és a disszertáció alapját képező dolgozatok elkészítésében is.

Hálásan köszönöm **Bata-Csörgő Zsuzsanna** professzor asszonynak, hogy a mindennapokban barátként, önzetlenül segíti a munkám és szigorú kritikáival, gyakorlati útmutatásaival nagyban hozzájárult a disszertáció létrejöttéhez is.

Jelenlegi PhD hallgatóim, **Kurgyis Zsuzsanna és Buknicz Tünde** szorgalmas munkájáért is hálás vagyok. Az a **sok-sok orvostanhallgató**, aki szakdolgozatát irányításommal készítette és **TDK-s hallgatóim**, akik szép díjakkal ajándékoztak meg, mindannyian kivették részüket ebben a több évtizedes kutatómunkában, így nekik is köszönettel tartozom.

Viharosné Dósa Rácz Évának hálás vagyok a statisztikai értékelésben végzett segítségével. Szívvel köszönöm **Borsodi Anikó és Duda Ernő** professzor barátaim hasznos tanácsait, önzetlen segítségét. A dolgozat kivitelezésében végzett munkáért és az évtizedek óta nyújtott technikai segítségéért **Gyimesi Andrea** könyvtárosnak tartozom hálával.

Az egész **Családom és Barátaim** támogatása is mindvégig fontos volt számomra. **Férjem és Fiam** folyamatos motiválásának, türelmének és szeretetének köszönhetem, hogy a doktori értekezés megírásához elegendő energiát meríthettem.

9 RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ALMM	acrolentiginosus melanoma malignum
BAP1	emlőrák asszociált fehérje-1
BCC	basalsejtes carcinoma
BRAF	v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B
CAMN	klínikailag atípusos melanocytas naevus
CAMNS	klínikailag atípusos melanocytás naevus szindróma
CDK4	ciklin dependens kináz 4
CDKN2A	ciklin dependens kináz 2 A
c-KIT	KIT-oncogen
CMN	közönséges melanocytás naevus
CN	congenitalis naevus - veleszületett anyajegy
DNS	deoxiribonukleinsav
ECT	elektrokemoterápia
ESOPE	European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy
GNA11	G-protein (Guanine nucleotide-binding protein) alfa 11
GNAQ	G-protein Q polipeptid
HAL	histidase gen
MC1R	melanocortin-1 receptor
MM	melanoma malignum
NMM	nodularis melanoma malignum
RHC	„red hair color”- vörös hajszín
ROS	szabad oxigéngyök
SCC	laphámcarcinoma
SNP	egyponos nucleotide polimorphismus
SSM	felszínesen terjedő melanoma
UV	ultraibolya
WHO	World Health Organization

10 IRODALOMJEGYZÉK

1. de Vries E, Coebergh JW. Cutaneous malignant melanoma in Europe. *Eur J Cancer* 2004;40(16):2355-2366
2. Marks R. Epidemiology of melanoma. *Clin Exp Dermatol* 2000;25(6):459-463
3. MacKie RM. Incidence, risk factors and prevention of melanoma. *Eur J Cancer* 1998;34 Suppl 3:S3-6.(S3-S6
4. Rigel DS, Carucci JA. Malignant melanoma: prevention, early detection, and treatment in the 21st century. *CA Cancer J Clin* 2000;50(4):215-236
5. Garbe C, Leiter U. Melanoma epidemiology and trends. *Clin Dermatol* 2009;27(1):3-9
6. Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall F. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 2012;166(5):1069-1080
7. Welsh MM, Karagas MR, Applebaum KM, Spencer SK, Perry AE, Nelson HH. A role for ultraviolet radiation immunosuppression in non-melanoma skin cancer as evidenced by gene-environment interactions. *Carcinogenesis* 2008;
8. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, Goodrich LV, Bare JW, Bonifas JM, et al. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 1996;272(5268):1668-1671
9. Smyth I, Narang MA, Evans T, Heimann C, Nakamura Y, Chenevix-Trench G, et al. Isolation and characterization of human patched 2 (PTCH2), a putative tumour suppressor gene in basal cell carcinoma and medulloblastoma on chromosome 1p32. *Hum Mol Genet* 1999;8(2):291-297
10. Pastorino L, Ghiorzo P, Nasti S, Battistuzzi L, Cusano R, Marzocchi C, et al. Identification of a SUFU germline mutation in a family with Gorlin syndrome. *Am J Med Genet A* 2009;149A(7):1539-1543
11. Ljubenovic M, Ljubenovic D, Binic I, Jovanovic D, Stanojevic M. Gorlin-Goltz syndrome. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat* 2007;16(4):166-169
12. GORLIN RJ. Nevoid basal-cell carcinoma syndrome. *Medicine (Baltimore)* 1987;66(2):98-113
13. Soufir N, Gerard B, Portela M, Brice A, Liboutet M, Saiag P, et al. PTCH mutations and deletions in patients with typical nevoid basal cell carcinoma syndrome and in patients with a suspected genetic predisposition to basal cell carcinoma: a French study. *Br J Cancer* 2006;95(4):548-553
14. Lu Y, Zhu HG, Ye WM, Zhang MB, He D, Chen WT. A new mutation of PTCH gene in a Chinese family with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2008;121(2):118-121
15. Smeets NW, Krekels GA, Ostertag JU, Essers BA, Dirksen CD, Nieman FH, et al. Surgical excision vs Mohs' micrographic surgery for basal-cell carcinoma of the face: randomised controlled trial. *Lancet* 2004;364(9447):1766-1772

16. Muller FM, Dawe RS, Moseley H, Fleming CJ. Randomized comparison of Mohs micrographic surgery and surgical excision for small nodular basal cell carcinoma: tissue-sparing outcome. *Dermatol Surg* 2009;35(9):1349-1354
17. Sekulic A, Migden MR, Oro AE, Dirix L, Lewis KD, Hainsworth JD, et al. Efficacy and safety of vismodegib in advanced basal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2012;366(23):2171-2179
18. Dessinioti C, Plaka M, Stratigos AJ. Vismodegib for the treatment of basal cell carcinoma: results and implications of the ERIVANCE BCC trial. *Future Oncol* 2014;10(6):927-936
19. Heller R. Treatment of cutaneous nodules using electrochemotherapy. *J Fla Med Assoc* 1995;82(2):147-150
20. Miklavcic D, Mali B, Kos B, Heller R, Sersa G. Electrochemotherapy: from the drawing board into medical practice. *Biomed Eng Online* 2014;13(1):29
21. Rigel DS, Friedman RJ, Kopf AW. The incidence of malignant melanoma in the United States: issues as we approach the 21st century. *J Am Acad Dermatol* 1996;34(5 Pt 1):839-847
22. Rigel DS. Epidemiology of melanoma. *Semin Cutan Med Surg* 2010;29(4):204-209
23. Gaudi I, Kásler M. A rosszindulatú daganatos halálozás változása 1975 és 2001 között Magyarországon. *Magy Onkol* 2002;46(4):291-295
24. Ottó S, Kásler M. A hazai és nemzetközi daganatos halálozási és megbetegedési mutatók alakulása. A népegészségügyi programok jellegzetességei és várható eredményei. *Magy Onkol* 2005;49(2):99-107
25. Ottó S, Kásler M. Rákmortalitás és -incidencia hazánkban, az európai adatok tükrében. *Magy Onkol* 2002;46(2):111-117
26. Hussussian CJ, Struewing JP, Goldstein AM, Higgins PA, Ally DS, Sheahan MD, et al. Germline p16 mutations in familial melanoma. *Nat Genet* 1994;8(1):15-21
27. Goldstein AM, Tucker MA. Genetic epidemiology of cutaneous melanoma: a global perspective. *Arch Dermatol* 2001;137(11):1493-1496
28. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol* 2014;9(239-271
29. Garbe C, Buttner P, Weiss J, Soyer HP, Stocker U, Kruger S, et al. Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: multicenter case-control study of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society. *J Invest Dermatol* 1994;102(5):695-699
30. Kopf AW, Kripke ML, Stern RS. Sun and malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1984;11(4 Pt 1):674-684
31. Green A, Bain C, McLennan R, Siskind V. Risk factors for cutaneous melanoma in Queensland. *Recent Results Cancer Res* 1986;102:76-97.(76-97
32. Carli P, Biggeri A, Giannotti B. Malignant melanoma in Italy: risks associated with common and clinically atypical melanocytic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1995;32(5 Pt 1):734-739

33. Fargnoli MC, Piccolo D, Altobelli E, Formicone F, Chimenti S, Peris K. Constitutional and environmental risk factors for cutaneous melanoma in an Italian population. A case-control study. *Melanoma Res* 2004;14(2):151-157
34. Cho E, Rosner BA, Feskanich D, Colditz GA. Risk factors and individual probabilities of melanoma for whites. *J Clin Oncol* 2005;23(12):2669-2675
35. Naldi L, Altieri A, Imberti GL, Gallus S, Bosetti C, La Vecchia C. Sun exposure, phenotypic characteristics, and cutaneous malignant melanoma. An analysis according to different clinico-pathological variants and anatomic locations (Italy). *Cancer Causes Control* 2005;16(8):893-899
36. Kraemer KH, Greene MH, Tarone R, Elder DE, Clark WHJ, Guerry D. Dysplastic naevi and cutaneous melanoma risk. *Lancet* 1983;2(8358):1076-1077
37. Kruger S, Garbe C, Buttner P, Stadler R, Guggenmoos-Holzmann I, Orfanos CE. Epidemiologic evidence for the role of melanocytic nevi as risk markers and direct precursors of cutaneous malignant melanoma. Results of a case control study in melanoma patients and nonmelanoma control subjects. *J Am Acad Dermatol* 1992;26(6):920-926
38. Garbe C, Buttner P, Weiss J, Soyer HP, Stocker U, Kruger S, et al. Associated factors in the prevalence of more than 50 common melanocytic nevi, atypical melanocytic nevi, and actinic lentigines: multicenter case-control study of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society. *J Invest Dermatol* 1994;102(5):700-705
39. Halpern AC, Guerry D, Elder DE, Clark WHJ, Synnestvedt M, Norman S, et al. Dysplastic nevi as risk markers of sporadic (nonfamilial) melanoma. A case-control study. *Arch Dermatol* 1991;127(7):995-999
40. Oláh J, Gyulai R. A metasztatikus melanoma gyógyszeres kezelése. *Klinikai Onkológia* 2014;1(2):113-118
41. Ascierto PA, McArthur GA, Dreno B, Larkin J, Liskay G, Maio M, et al. coBRIM: a phase 3, double-blind, placebo-controlled study of vemurafenib versus vemurafenib + cobimetinib in previously untreated BRAF (V600) mutation-positive patients with unresectable locally advanced or metastatic melanoma (NCT01689519). *J Transl Med* 2015;13(2061)
42. Robert C, Karaszewska B, Schachter J, Rutkowski P, Mackiewicz A, Stroiakovski D, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *N Engl J Med* 2015;372(1):30-39
43. English DR, MacLennan R, Rivers JK, Kelly J, Armstrong BK. Epidemiological studies of melanocytic nevi: protocol for identifying and recording nevi. Internal Report 90/002. 1990. Lyon, France, International Agency for Research on Cancer.
44. Shields JA. Diagnosis and management of intraocular tumors. St. Louis: CV Mosby, 1983.
45. Szell M, Baltas E, Bodai L, Bata-Csorgo Z, Nagy N, Dallos A, et al. The Arg160Trp allele of melanocortin-1 receptor gene might protect against vitiligo. *Photochem Photobiol* 2008;84(3):565-571
46. Marty M, Sersa G, Garbay JR, Gehl J, Collins CG, Snoj M, et al. Electrochemotherapy - An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. *Ejc Supplements* 2006;4(11):3-13

47. WHO. Handbook for reporting Results of Cancer Treatment. 1997: 22-7.
48. Kraemer KH, Greene MH. Dysplastic nevus syndrome. Familial and sporadic precursors of cutaneous melanoma. *Dermatol Clin* 1985;3(2):225-237
49. Csoma Z, Erdei Z, Bartusek D, Dosa-Racz E, Dobozy A, Kemeny L, et al. The prevalence of melanocytic naevi among schoolchildren in South Hungary. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22(12):1412-1422
50. Oláh J., Csoma Zs, Ócsai H, Gyulai R, Orvos H, Varga A, et al. Az újszülöttkori kékfény kezelés növelhet-e a felnőttkori melanoma kockázatát? *Bőrgyógy Vener Szle* 2009;85(2):67-72
51. Ballone E, Passamonti M, Lappa G, Di Blasio G, Fazii P. Pigmentary traits, nevi and skin phototypes in a youth population of Central Italy. *Eur J Epidemiol* 1999;15(2):189-195
52. Rivers JK, MacLennan R, Kelly JW, Lewis AE, Tate BJ, Harrison S, et al. The eastern Australian childhood nevus study: prevalence of atypical nevi, congenital nevus-like nevi, and other pigmented lesions. *J Am Acad Dermatol* 1995;32(6):957-963
53. Carli P, Biggeri A, Nardini P, De G, V, Giannotti B. Sun exposure and large numbers of common and atypical melanocytic naevi: an analytical study in a southern European population. *Br J Dermatol* 1998;138(3):422-425
54. Kelly JW, Rivers JK, MacLennan R, Harrison S, Lewis AE, Tate BJ. Sunlight: a major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian schoolchildren. *J Am Acad Dermatol* 1994;30(1):40-48
55. Valiukeviciene S, Miseviciene I, Gollnick H. The prevalence of common acquired melanocytic nevi and the relationship with skin type characteristics and sun exposure among children in Lithuania. *Arch Dermatol* 2005;141(5):579-586
56. van der Leest RJ, de Vries E, Bulliard JL, Paoli J, Peris K, Stratigos AJ, et al. The Euromelanoma skin cancer prevention campaign in Europe: characteristics and results of 2009 and 2010. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011;25(12):1455-1465
57. Hammer H, Toth-Molnar E, Olah J, Dobozy A. Cutaneous dysplastic naevi: risk factor for uveal melanoma. *Lancet* 1995;346(8969):255-256
58. Weis E, Shah CP, Lajous M, Shields JA, Shields CL. The association of cutaneous and iris nevi with uveal melanoma: a meta-analysis. *Ophthalmology* 2009;116(3):536-543
59. Csoma Z, Hencz P, Orvos H, Kemeny L, Dobozy A, Dosa-Racz E, et al. Neonatal blue-light phototherapy could increase the risk of dysplastic nevus development. *Pediatrics* 2007;119(5):1036-1037
60. Csoma Z, Kemeny L, Olah J. Phototherapy for neonatal jaundice. *N Engl J Med* 2008;358(23):2523-2524
61. Csoma Z, Toth-Molnar E, Balogh K, Polyanka H, Orvos H, Ocsai H, et al. Neonatal blue light phototherapy and melanocytic nevi: a twin study. *Pediatrics* 2011;128(4):e856-e864
62. Bauer J, Buttner P, Luther H, Wiecker TS, Mohrle M, Garbe C. Blue light phototherapy of neonatal jaundice does not increase the risk for melanocytic nevus development. *Arch Dermatol* 2004;140(4):493-494

63. Matichard E, Le Henanff A, Sanders A, Leguyadec J, Crickx B, Descamps V. Effect of neonatal phototherapy on melanocytic nevus count in children. *Arch Dermatol* 2006;142(12):1599-1604
64. Dobson V, Cowett RM, Riggs LA. Long-term effect of phototherapy on visual function. *J Pediatr* 1975;86(4):555-559
65. Della TG, Pasini B, Frigerio S, Donghi R, Rovini D, Delia D, et al. CDKN2A and CDK4 mutation analysis in Italian melanoma-prone families: functional characterization of a novel CDKN2A germ line mutation. *Br J Cancer* 2001;85(6):836-844
66. Pastorino L, Bonelli L, Ghiorzo P, Queirolo P, Battistuzzi L, Balleari E, et al. CDKN2A mutations and MC1R variants in Italian patients with single or multiple primary melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008;21(6):700-709
67. Orlow I, Begg CB, Cotignola J, Roy P, Hummer AJ, Clas BA, et al. CDKN2A germline mutations in individuals with cutaneous malignant melanoma. *J Invest Dermatol* 2007;127(5):1234-1243
68. Hollestein LM, van den Akker SA, Nijsten T, Karim-Kos HE, Coebergh JW, de Vries E. Trends of cutaneous melanoma in The Netherlands: increasing incidence rates among all Breslow thickness categories and rising mortality rates since 1989. *Ann Oncol* 2012;23(2):524-530
69. Kandolf-Sekulovic L, Zivkovic-Perisic S, Radevic T, Rajovic M, Dinic M, Zolotarevski L, et al. Melanoma in South-East Europe: epidemiological data from the central cancer registry and clinicopathological characteristics from the hospital-based registry in Serbia. *Int J Dermatol* 2012;51(10):1186-1194
70. Lasithiotakis KG, Leiter U, Gorkiewicz R, Eigentler T, Breuninger H, Metzler G, et al. The incidence and mortality of cutaneous melanoma in Southern Germany: trends by anatomic site and pathologic characteristics, 1976 to 2003. *Cancer* 2006;107(6):1331-1339
71. Snoj M, Rudolf Z, Cemazar M, Jancar B, Sersa G. Successful sphincter-saving treatment of anorectal malignant melanoma with electrochemotherapy, local excision and adjuvant brachytherapy. *Anticancer Drugs* 2005;16(3):345-348
72. Curatolo P, Mancini M, Ruggiero A, Clerico R, Di Marco P, Calvieri S. Successful treatment of penile Kaposi's sarcoma with electrochemotherapy. *Dermatol Surg* 2008;34(6):839-842
73. Kaehler KC, Egberts F, Hauschild A. Electrochemotherapy in symptomatic melanoma skin metastases: intraindividual comparison with conventional surgery. *Dermatol Surg* 2010;36(7):1200-1202
74. Colombo GL, Matteo SD, Mir LM. Cost-effectiveness analysis of electrochemotherapy with the Cliniporator trade mark vs other methods for the control and treatment of cutaneous and subcutaneous tumors. *Ther Clin Risk Manag* 2008;4(2):541-548