

# ***KRT5 és KRT14* génmutációk vizsgálata epidermolysis bullosa simplex örökletes kórképekben**

Doktori értekezés tézisei

**Glász-Bóna Annamária**

Semmelweis Egyetem  
Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Prof. Dr. Kárpáti Sarolta egyetemi tanár, Ph.D., D.Sc.

Hivatalos bírálók: Prof. Dr. Bata Zsuzsanna, egyetemi tanár, Ph.D., D.Sc.  
Dr. Nagy Bálint, tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Sasvári Mária, egyetemi tanár, Ph.D., D.Sc.  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Buzás Edit, hab. egyetemi docens, Ph.D., D.Sc.  
Dr. Karcagi Veronika, tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Budapest  
2010

---

# I. BEVEZETÉS

## EBS klinikai formái

Az epidermolysis bullosa simplex (EBS) az öröklődő hólyagképződéssel járó kórképek csoportjába tartozik melynek körülbelüli prevalencia értéke irodalmi adatok szerint mintegy 1:50.0000. A betegségcsoportra jellemző a bőr és a nyálkahártyák folyamatos intraepidermális hólyagképződése, amit a mechanikai traumát követően fellépő bazális keratinociták lízise okoz. Bazális EBS formákban a bőrtünetek hegesedés nélkül gyógyulnak. A bazális lízissel járó EBS három fő altípusa az EBS lokalizált forma (EBS-loc), az EBS Dowling-Meara (EBS-DM) és az EBS más generalizált nem Dowling-Meara forma (EBS, gen-nonDM). A bazális EBS igen ritka előfordulású formája közé tartozik az EBS izomdystrophiával (EBS-MD), a pylorus atréziához társuló EBS (EBS-PA), az EBS migrációs circinate (EBS-migr), az EBS Onga (EBS-Og) és az EBS mottled pigmentációval (EBS-MP) (klinikai konszenzus konferenciák ajánlása alapján).

Az EBS-loc az előforduló leggyakoribb és egyben a legenyhébb EBS altípus. A betegségcsoportra jellemző a kora gyermekkortól kezdődő diszkrét hólyagképződés általában, amikor a gyermek járni kezd, bár a tünet ritkán már a születést követően is megjelenik. Serosus bennéki hólyagok keletkeznek jellemzően a mechanikai traumának leginkább kitett területeken, a tenyéren és a talpon. Hasonlóan más EBS típusokra, a nyári meleg és az izzadás provokálja a tüneteket.

Az EBS, gen-nonDM, az előbbivel ellentétben egy sokkal súlyosabb lefolyású genodermatózis. Az első tünetek születést követően jelentkeznek. A hólyagképződés kiterjed a testfelszín többi részére is, akár a szájnyálkahártyán is előfordulhatnak hólyagok és a tenyéri és a talpi régióban is erősebb a hólyagképződés. A bőrtünetek típusos megjelenési helyei az arc, nyak, váll, könyök, térd, hát, ujjak területe. Ebben az altípusban a körmök gyakran dystrophiásak vagy hiányoznak, valamint gyakran észlelhető progresszív tenyéri, talpi hiperkeratózis. Nyáron fokozottabb hólyagképződés jellemzi.

---

A legsúlyosabb altípus a Dowling-Meara (EBS-DM) forma, már születéskor manifesztálódik és igen ritkán az újszülött halálával is járhat. A fenotípusra jellemző a törzsön, a végtagokon és a szájüregben jelentkező generalizált, herpetiform hólyagképződés. A hólyagok centripetálisan terjednek és heg, valamint hiperpigmentáció nélkül gyógyulnak, viszont a betegség típus gyakran jár együtt körömdystrophiával, szájnyálkahártya tünetekkel, valamint progresszív tenyéri-talpi hiperkeratózissal. A tonofilamentumok a bazális sejtek citoplazmájában csomót alkotva aggregálódnak (ún. keratin clumping jelenség), ultrastruktúráisan leginkább ez különbözteti meg az EBS-DM-et a többi altípustól.

EBS-MP egy igen ritka kórkép, ami a testszerte, nagy kiterjedésben jelentkező jellegzetes retikuláris hiperpigmentáció alapján ismerhető fel. A nevét is adó pettyes, molyrágás-szerű hiper- és hipopigmentált területek serdülőkorban jelentkeznek. Az EBS-MP érdekessége, hogy járhat egyaránt az EBS-loc-ra jellemző (kéz- és lábfejre lokalizálódó) vagy EBS gen-nonDM-t és EBS-DM-t kísérő (generalizált) hólyagképződéssel a korai gyermekkortól, megjelenhet palmoplantáris keratoderma és körömdystrophia is. A leginkább karakterisztikus kép később jelentkezik, hipo- és hiperpigmentált maculák formájában, melyek főleg a végtagokon és törzs felső részén összefolyó ún. „molyrágás szerű” mottled pigmentációt okoznak.

Az EBS esetek genetikai háttere túlnyomórészt tisztázott. Általában autoszomális domináns módon öröklődik, családi halmozódást mutat, azonban igen ritkán 1-1 autoszomális recesszív kórformát is publikáltak. Az e csoportba tartozó kórképek kialakulásában az esetek többségében a bazális hámsejtrétegben expresszálandó *KRT5* (12q12-q13) vagy *KRT14* (17q12-q21) gének mutációinak kóroki szerepe áll.

---

## A *KRT14* gén mutációanalízisének nehézségei

A humán genomban a funkcionális *KRT14* mellett annak egy teljes és egy részleges pszeudogénje is megtalálható. A teljes pszeudogén szekvenciája (17p12-p11) 93-95%-ban megegyezik a funkcionális gén szekvenciájával, illetve számos mutációt is hordozhat. Ez nagyban zavarja a diagnosztikai eljárás kivitelezését, s így az elemzőket idő és költségigényes elimináló lépések közbeiktatására kényszeríti, amely jelentős nehézségeket eredményez még a mai kutató számára is. Napjainkig számos funkcionális keratin gén pszeudogénje vált ismertté, pl. a *KRT6*, *KRT8*, *KRT14*, *KRT16*, *KRT17*, *KRT18* és a *KRT19* esetében. Amennyiben a mutációanalízis során nem végzünk pszeudogén-eliminációs eljárást, a pszeudogén-funkcionális gén szekvencia homológia meghamisíthatja az EBS diagnózisához szükséges genetikai vizsgálatok eredményeit.

A *KRT14* pszeudogén kiiktatására az irodalomban ez idáig három különböző módszer került közlésre: a restrikciós enzimhasítás, a „long-range” PCR és a cDNS vizsgálat. Jelen munkában az allél specifikus amplifikáció alkalmazását mutatjuk be, mellyel egyszerűen, de mégis megbízhatóan kiküszöbölhető a pszeudogén eredetű kontamináció, és amellyel a mutációanalízis is könnyen elvégezhető az EBS betegeken és családtagjain.

---

## II. CÉLKITŰZÉSEK

Munkánkban 10 EBS beteg és családtagjaik klinikai és genetikai vizsgálatával az alábbi célok megvalósítását tűztük ki:

- Megbízható, egyszerű, gyors, olcsó és rutinszerűen használható módszer kidolgozása és alkalmazása a *KRT14* pszeudogén elválasztására.
- Kóroki mutációk és humán szekvencia variánsok (polimorfizmusok) detektálása a családtagok genetikai analízisével.
- Az eddig még nem közölt új mutációk verifikációja, kóroki szerepének vizsgálata, jelentőségük értékelése.
- *KRT5* és *KRT14* polimorfizmusok gyakoriságának meghatározása a hazai populációban.
- EBS genotípus-fenotípus korreláció értékelése.
- A strukturális jellemzők és a genetikai háttér alapján a diagnosztikus besorolás pontosítása.

---

### III. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

#### A vizsgálatba bevont betegek klinikai adatai

Tanulmányunkban 10, az Epidermolysis Bullosa Centruban (Debra Hungary) regisztrált EBS-ben érintett család molekuláris genetikai vizsgálatát végeztük el. Ezek közül 6 esetben az anamnézisben szereplő tünetek az EBS-loc, 2 beteg esetében az EBS-DM-nek feleltek meg. 1 betegnél a klinikai kép háttérében az EBS gen-nonDM és további 1 betegnél az EBS-MP fennállását feltételeztük. Családvizsgálattal egy esetben bizonyítottuk, hogy a betegségokozó *KRT14* gén mutáció újonnan (*de novo*) alakult ki, a többi 9 család esetében autoszomális domináns öröklődésment volt látható.

A klinikai fenotípust az egyéni kórtörténet és a családi anamnézis, a bőrtünetek, valamint a hisztomorfológiai- (immunfluoreszcens antigén mapping, ultrastruktúrális elemzés) és a genetikai vizsgálatok eredményeire támaszkodva határoztuk meg.

A genetikai vizsgálatokat etikai engedélyek és a betegek írásbeli beleegyező nyilatkozatainak birtokában végeztük.

#### Genetikai analízis

##### DNS izolálás, PCR amplifikáció

A genomiális DNS izolálása a betegektől valamint azok elérhető tünetes és tünetmentes családtagjaiktól levett perifériás vér lymphocytá frakcióiból történt, kereskedelmi forgalomban elérhető standard kit felhasználásával a gyártó utasításainak megfelelően. A jelölt gének teljes kódoló szakaszának vizsgálata volt szükséges: *KRT5* gén 1-9 exon, *KRT14* gén 1-8 exon. Az általunk használt *KRT5* primerek nagyrészt az irodalomból ismert ún. konszenzus primerek voltak. A *KRT14* pszeudogén elválasztására - a *KRT14* pszeudogén és funkcionális gén szekvenciák ismeretében - olyan saját tervezésű allél-specifikus oligonukleotidokat terveztünk, amelyek csak a *KRT14* funkcionális gén exonokat övező intronikus szekvenciáival komplementerek. A primer párokat úgy terveztük meg, hogy csak egyetlen alléllal, a funkcionális génnel

---

mutassanak tökéletes egyezést. Mivel a PCR reakció során a primerek stabil kötődését, a DNS szintézis specifikusságát és hatásosságát leginkább a primerek 3' végén lévő 1-2 nukleotid határozza meg, ezért a primerek tervezésénél figyelembe vettük, hogy a funkcionális gén-pszudogén eltérések a primerek 3' végeire essenek, ezáltal a kívánatos, funkcionális génszakaszok effektíven amplifikálódnak, míg a többi, pszudogén eredetű allél a 3' vég rossz párosításának következtében nem amplifikálható. Az oligonukleotidokat részben manuálisan, illetve az interneten elérhető Primer3 szoftver segítségével terveztünk meg. A primertervezésnél ügyeltünk arra, hogy a primer szekvenciák mentén ne legyenek frekvenciált polimorfizmus helyek. Az ellenőrzést polimorfizmus adatbázisok segítségével végeztük (Nucleotid/BLAST). A teljes *KRT14* gén kódoló régiójának analizéséhez egy új, 8 primer párból álló allél-specifikus szettet terveztünk. A PCR reakció optimális feltételeit minden egyes primer párnál külön állítottuk be.

### **Konformáció szenzitív gél-elektroforézis (CSGE), automata szekvencia-analízis**

Az általunk vizsgált gének mutációinak és polimorfizmusainak meghatározásához szűrő módszerként a heteroduplex képződésen alapuló konformáció-szenzitív gélelektroforézist (CSGE) alkalmaztuk. A heteroduplex analízis során eltérő migrációs mintázatot mutató termékeket ABI 310 genetikai analizátor segítségével szekvenáltuk. A pontos bázisszort megállapítása érdekében a PCR termékek szekvencia analizését mindkét irányból, a forward és a reverz primerrel is szekvenáltuk.

### **Restrikciós fragmentum hosszúság-polimorfizmus (RFLP)**

Egy kérdéses mutációt csak akkor tekintettünk igazoltnak, amennyiben az két független technika alkalmazásával is ugyanazt az eredményt adta. Kísérleteinkben a szekvenálás mellett a PCR-RFLP módszert használtuk független módszerként. A restrikciós enzimek megválasztásánál figyelembe vettük, hogy az amplifikált DNS szakasz egy kontroll enzimhasítási helyet is tartalmazzon, mert csak ennek segítségével ellenőrizhető a restrikciós endonukleáz megfelelő aktivitása, működése.

---

Azokban az esetekben, amikor a mutáció nem generált és nem is szüntetett meg enzimhasítást, a mutáció verifikálás egyetlen megbízható lehetősége a szekvenálás volt.

### **Kontrollok vizsgálata**

Minden feltételezett új mutáció és minden azonosított polimorfizmus esetén ellenőriztük a nukleotid változás előfordulási frekvenciáját. Ehhez 100 nem rokon, egészséges kontroll személy, azaz 200 egészséges kromoszóma (allél) vizsgálatát végeztük el a fenti módszerekkel.



---

## IV. EREDMÉNYEK

- Az EBS *KRT14* gén rutin mutációanalíziséhez egy új, egyszerű, gyors, hatékony módszert dolgoztunk ki, amelynek segítségével kizárható a pszeudogén szekvencia eredetű kontamináció.
- A vizsgálatba bevont 10 magyar család mutációanalízise során sikerült azonosítanunk a betegségokozó génmutációkat. A detektált 10 különböző mutáció közül 6 a nemzetközi irodalomban korábban még nem ismertetett, új mutációnak felelt meg, 4 mutációt viszont korábban más kutatócsoportok is azonosítottak EBS esetekben:

### Azonosított új mutációk:

*KRT5* (p.I183V, p.E190D, p.R331G)

*KRT14* (p.L136Q, p.E411K, p.I412N)

### Azonosított ismert mutációk:

*KRT5* (p.P25L, p.E170K, p.Q191P)

*KRT14* (p.R388C)

- A mutációkon kívül 7 különböző, betegséget nem okozó polimorfizmust is detektáltunk:

*KRT5* (p.A52A, p.L117L, p.G128R, p.G138E, p.Q171Q, p.T210T)

*KRT14* (p.N123N)

### **Azonosított *KRT5* gén mutációk**

**EBS/1:** A négy generációjában érintett EBS-MP család mutáció elemzése során az érintettek DNS mintáiban a *KRT5* gén első exonjában a p.P25L mutáció jelenlétét sikerült igazolnunk. A heterozigóta módon hordozott citozin (C) → timin (T) tranzíció (c.74C>T) a 25. kodonban egy prolin (P) → leucin (L) cserét eredményezett. A

---

családban a p.P25L mutációval együtt szegregált egy aminosav cserét eredményező, heterozigóta jellegű p.G138E polimorfizmus is (*KRT5* gén, H1 domén), aminek az érdekessége az, hogy minden egyes tünetes családtag mintájában kimutatható volt, viszont egyik egészséges hozzátartozó sem hordozta. A jelen tanulmány elsőként számol be magyarországi EBS-MP eset mutációanalíziséről.

**EBS/2:** Az EBS-loc típusban szenvedő család esetében a *KRT5* gén 1. exonjának szekvencia-analízisével az irodalomban korábban már azonosított mutációt detektáltunk (p.E170K).

**EBS/3:** Betegünk az enyhébb típusú EBS-loc formájában szenved. A beteg édesapja és nagyapja is érintett, a család női tagjai egészségesek. A család genetikai analízise során egy új, a nemzetközi irodalomban még nem közölt missense mutációt találtunk. A heterozigóta eltérést az 547. nukleotidnál egy adenin (A) → guanin (G) csere (c.508G>A) okozta a *KRT5* gén 1. exonjában, szintén a gén 1A doménjében. Ez a nukleotid változás a 183-as pozícióban egy izoleucin (I) → valin (V) aminosav cserét eredményezett (p.I183V). Ugyanezen pozícióban az irodalomból már ismertté vált egy másik mutáció (p. I183F), amit a fenotípusában nagyban különböző EBS-DM kialakulásával kapcsolatban írtak le. A fenotípusos eltérés egyik oka lehet, hogy az izoleucin-fenilalanin csere – a fenilalanin nagyobb térkitöltésű aromás gyűrűjének következtében – a fehérje szerkezetét, funkcióját markánsabban befolyásolhatja.

**EBS/4:** Egy 3 generációjában érintett EBS-loc fenotípusú család mutációanalízise során a *KRT5* gén 2. exonjának vizsgálatakor egy új betegségokozó mutációt (p.E190D) detektáltunk. A heterozigóta módon hordozott guanin (G) → citozin (C) transzverzió (c.570G>C) a 190. aminosav pozícióban egy glutaminsav (E) → aszparaginsav (D) cserét eredményezett. Mivel a feltételezett mutáció a Tse I. restriktív endonukleáz egyik, a vad szekvenciában meglévő hasítási helyét megszünteti, így a mutációt ezen restriktív enzim alkalmazásával bizonyítani tudtuk. Ugyanezen pozícióban az irodalomból már ismertté vált egy másik mutáció (p.E190K), amely szintén az EBS-loc fenotípust eredményezi.

---

**EBS/5:** Az egyéb generalizált fenotípusú (EBS, gen-nonDM) betegben a *KRT5* gén 2. exonjában az irodalomban korábban már azonosított mutációt detektáltunk (p.Q191P).

**EBS/6:** Az EBS-loc fenotípusú család *KRT5* gén mutációanalízise új heterozigóta missense mutáció fennállását igazolta. A *KRT5* gén 5-ös exon, 991-es nukleotid pozíciójában egy citozin (C) → guanin (G) transzverziót (c.991C>G) találtunk, mely a szintetizálódó *KRT5* fehérjében p.R331G aminosav cserét eredményez. A 331-es kodonban már két másik mutációt (p.R331H, p.R331C) is leírtak korábban EBS-loc fenotípusokban.

### **Azonosított *KRT14* gén mutációk**

**EBS/7:** A betegség a család mind a három generációját érinti, besorolása: EBS-loc. Genetikai vizsgálatok során a *KRT14* gén 1. exonjában egy eddig ismeretlen mutációt azonosítottunk. Egy timin (T) → adenin (A) transzverzió (c.407T>A) fehérje szinten a 136-as aminosav pozícióban egy leucin (L) → glutamin (Q) aminosav cserét eredményezett (p.L136Q). A mutációval egy korábban nem létező, új allél, vagyis genotípus keletkezett. A felismert mutáció egy új Dde I. restrikciós enzim hasítási helyét eredményezi, ezért a mutáció igazolása ezen enzim segítségével történt. Kutatócsoportunk elsőként detektált kóroki mutációt a *KRT14* gén 136-os kodonjában.

**EBS/8:** Az EBS-loc fenotípusú beteg genetikai vizsgálata során az irodalomban korábban már azonosított *KRT14* mutációt detektáltunk (p.R388C).

**EBS/9:** Genetikai eltérést az EBS-DM beteg DNS mintájában a *KRT14* gén 6-os exonjában detektáltunk. A fenotípusos változást egy heterozigóta guanin (G) → adenin (A) tranzíció (c.1231G>A) okozta, ami aminosav szinten a 411-es pozícióban a normálisan jelenlevő glutaminsav (E) → lizin (K) aminosav cseréjét eredményezte (p.E411K). A mutáció létrehoz egy Mbo II. enzimhasítási helyet. Mivel a családtagok közül egyedül a klinikailag érintett gyermekben lehetett kimutatni a genetikai eltérést, ezáltal feltételezhetjük, hogy a mutáció a betegben újonnan, „de novo” keletkezett. A gén ugyanezen aminosav pozíciójában 2 másik eltérés (p.E411X, Glu411del

---

(c.1231\_1233delGAG)) már közlésre került korábban EBS-gen-nonDM és EBS-loc fenotípusokban.

**EBS/10:** A három generációjában érintett EBS-DM család vizsgálata során a *KRT14* gén 6. exonjában találtuk meg a betegségért felelős heterozigóta eltérést. Egy timin (T) → adenin (A) transzverzió (c.1235T>A) a 412-es pozícióban egy izoleucin (I) → aszparagin (N) aminosav cserét hozott létre (p.I412N). A mutációt restriktációs hasítással igazoltuk, mivel megszüntet egy Sau3AI. hasítási helyet. A *KRT14* gén ezen kodonjában kutatócsoportunk elsőként detektált kóroki mutációt.

#### **Azonosított *KRT5* és *KRT14* gén polimorfizmusok**

A mutációkon kívül 6 különböző *KRT5* polimorfizmust (c.156C>A/p.A52A; p.L117L/c.C351T; c.382G>C/p.G128R; c.413G>A/p.G138E; c.513G>A/p.Q171Q; c.630T>C/p.T210T;) és 1 *KRT14* polimorfizmust azonosítottunk (c.369T>C/p.N123N). Ezek allél frekvenciájának kiszámításához 100 normál kontrollt (200 kromoszómát) szűrtünk le a magyar populációban.

---

## V. KÖVETKEZTETÉSEK

- Vizsgálataink rámutattak arra, hogy az EBS diagnózisának felállításához elengedhetetlen a mutációanalízis szempontjából nehezen kezelhető *KRT14* pszeudogén megbízható kiiktatása, amit elemzők mindeddig a genetikai analízis során kiegészítő, pszeudogén elimináló lépés(ek) közbeiktatásával, leggyakrabban restriktációs enzimhasítással végeztek. 10 kontroll DNS-en végzett kísérleti eredményeink igazolták, hogy az eddig alkalmazott restriktációs enzimhasítás önmagában nem megbízható módszer a pszeudogének biztonságos eltávolítására. Munkánk során ezért egy új módszert alkalmaztunk a *KRT14* gén és pszeudogén hatékony és gyors elválasztására. A *KRT14* pszeudogén elkülönítésére, a *KRT14* mutációinak analízisekor olyan allél-specifikus amplifikációt dolgoztunk ki, mely hozzájárul az EBS betegek diagnózisának biztonságos, pontos felállításához, amely által nemcsak a betegek, hanem a tünetes és tünetmentes családtagjaik is könnyen, gyorsan és egyszerűen vizsgálhatóak. Az általunk bevezetett pszeudogén mentes *KRT14* mutációanalízis a már meglévő elimináló módszerekhez képest egyszerűbb kivitelű és gazdaságosabb. Az eljárás nagy előnye, hogy a mintavétel kevésbé invazív módon történik. Eredményeink arra utalnak, hogy az allél-specifikus primerek alkalmazása új, megbízható lehetőséget kínál az elemzők számára a *KRT14* pszeudogén hatékony, gyors kizárására, megkönnyítve ezzel a *KRT14* mutációanalízist. Egyszerűségénél fogva kiterjedt populációkon végzett tanulmányok elvégzését teszi lehetővé. Eredményeink közlését követően két másik EBS publikáció is megjelent a módszerről. Ezek a nemzetközi szakirodalmi közlemények is megerősítik és alátámasztják a *KRT14* pszeudogén elválasztásához általunk bevezetett módszer megbízhatóságát, gyakorlati felhasználhatóságát.
- A kutatócsoportunk által bevezetett *KRT14* pszeudogén elimináló módszerrel 6 új mutációt, 4 ismert mutációt és 8 polimorfizmust detektáltunk a *KRT5* és *KRT14* génben. Az irodalomban már korábban leközölt és általunk is azonosított *KRT5* és *KRT14* mutációk a nemzetközi tapasztalatokat megerősítve azt sugallják, hogy ezen kóroki mutációk igen fontos szerepet töltenek be az EBS

---

pathomechanizmusában. Az általunk újonnan leírt 6 missense mutáció bekerült különböző mutációs adatbázisokba, bővítve azok információtartalmát, továbbá eredményeink szélesítik ismereteinket a fehérje szerkezet-funkció összefüggéseinek pontosabb feltárására.

- Minden feltételezett új mutáció esetén ellenőriztük a nukleotid változás előfordulási frekvenciáját 100 nem rokon, egészséges kontroll személy vizsgálatával. Mivel minden egyes genetikai defektus csak a betegekben fordult elő, az eredmény megerősítette a mutáció kóroki szerepét és kizárta a polimorfizmus lehetőségét.
- A betegek és azok tünetes és tünetmentes családtagjaik genetikai vizsgálata során detektált polimorfizmusok allél frekvencia kiszámításához 100 nem rokon, egészséges egyéntől származó DNS mintát (200 allélt) szűrtünk le a magyar populációban. Eredményeinkből megállapítható, hogy az azonosított polimorfizmusok mindegyike gyakori variánsnak tekinthető Magyarországon.
- Az általunk azonosított genetikai eltérések egyedülálló mutációs spektrumot tartalmaznak, mely hazai specifikumok hozzájárulnak az EBS háttérben álló pathomechanizmusok pontosabb megismeréséhez, a különböző genotípus-fenotípus összefüggések mélyebb megértéséhez. A klinikai képek és a háttérben álló mutációk között egyértelmű genotípus-fenotípus összefüggéseket találtunk.
- A genetikai vizsgálatok egyéni eredményei diagnosztikai értékűek, melyek segítik a klinikai tünetek alapján vélelmezett diagnózis pontos felállítását, az érintett családok genetikai tanácsadását, továbbá prevencióként lehetőséget adnak arra, hogy a súlyosabb kórformák esetében a betegség családon belüli ismétlődése megelőzhető legyen. A diagnosztizált betegségkókozó mutációk ismeretében az érintett családokban lehetőség van családszűrést végezni, ami által gyorsan, egyszerűen és megbízhatóan tudunk az öröklődés és a betegség státuszáról információval szolgálni. Eredményeink remélhetőleg hozzájárulnak majd a modern gyógyító orvostudomány egyik legújabb módszerének, a génterápiás eszközök hatékony kifejlesztéséhez és egyénre szabott alkalmazásához.

---

## VI. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

### VI.1. Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. **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. *Journal of Investigative Dermatology*, 129(1):229-31. **IF: 5,543**
2. **Glász-Bóna A**, Medvecz M, Virágh Zs, Hatvani Zs, Blazsek A, Kárpáti S. (2010) Epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation – mutation analysis proved the diagnosis in a four-generation pedigree. *European Journal of Dermatology* **IF: 2,251** (Közlésre elfogadott, de még nem megjelent publikáció)
3. Csikós M, Becker K, Rácz E, **Bóna A**, Benkő R, Czippán Á, Katona M, Bruckner-Tuderman L, Kárpáti S, Horváth A. (2004) Herediter epidermolysis bullosa molekuláris genetikai vizsgálata. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*; 80: 195-202.

### VI.2. Az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok

1. **Bóna A**, Csikós M, Sajó R, Horváth A, Kárpáti S. (2004) Mutation analysis of keratin 5 and keratin 14 genes in patients with Epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol*, 123(2): 135.
2. **Bóna A**, Csikós M, Sajó R, Benkő R, Kárpáti S. (2004) Epidermolysis bullosa simplex genetikai hátterének vizsgálata. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*, 80: 295.
3. **Bóna A**, Csikós M, Sajó R, Kárpáti S. (2005) Identification of Novel and Known Mutations in Keratin 5 and 14 Genes in Weber-Cockayne Subtype Epidermolysis Bullosa Simplex. *J Invest Dermatol*, 125(Supl.1s): 85.
4. **Bóna A**, Sajó R, Blazsek A, Lepesi-Benkő R, Medvecz M, Kárpáti S. (2007) Epidermolysis bullosa simplex: új mutációk a magyar populációban. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*, 83: 214.
5. **Bóna A**, Medvecz M, Németh M, Hatvani Z, Sajó R, Lepesi-Benkő R, Tulassay Zs, Katona M, Blazsek A, Kárpáti S. (2008) Keratin 5 (*KRT5*) and keratin 14 (*KRT14*) mutation analysis by a novel approach. *J Invest Dermatol*, 128(Supl.1s): 733.

- 
6. Blazsek A, Virágh Zs, Németh M, Hatvani Zs, Lepesi-Benkő R, **Bóna A**, Medvecz M, Kárpáti S. (2007) Mutációanalízis az epidermolysis bullosa simplex egy ritka altípusában: Epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation Magyarországon. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*, 83: 214.
  7. Blazsek A, Virágh Zs, Németh M, Hatvani Zs, Barna K, Lepesi-Benkő R, **Bóna A**, Katona M, Medvecz M, Kárpáti S. (2008) Epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation – analysis of a four-generation Hungarian case. *J Invest Dermatol*, 128(Suppl.1s): 734.

### **VI.3. Nem az értekezés témájában megjelent idézhető absztraktok**

1. Csikós M, Rácz E, Benkő R, **Bóna A**, Lászik A, Szakács O, Horváth A, Kárpáti S. (2004) Maternal Germline Mosaicism, *LAMB3* hotspot mutation R635X and Prenatal Testing in Herlitz Junctional Epidermolysis Bullosa. *J Invest Dermatol*, 123(2): 133.
2. Becker K, **Bóna A**, Csikós M, Kárpáti S. (2004) Two Novel Mutations in the *EBP* gene in Conradi-Hünemann-Happle Syndrome. *J Invest Dermatol*, 123(2): 136.
3. Csikós M, Rácz E, Benkő R, **Bóna A**, Bégány Á, Horváth A, Kárpáti S. (2003) Sikeres DNS-alapú prenatális diagnózis epidermolysis bullosa junctionalis (Herlitz) variánsban. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*, 79: 241.
4. Benkő R, Csikós M, Sárdy M, **Bóna A**, Kárpáti S. (2004) A *SPINK5* gén mutációanalízise Comel-Netherton szindrómában. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*, 80: 295.
5. Lepesi-Benő R, Medvecz M, Becker K, Sárdy M, **Bóna A**, Blazsek A, Sajó R, Hatvani Zs, Kornseé Z, Kárpáti S. (2006) Mutation Analysis of Patients with Comel-Netherton Syndrome in Hungary. *J Invest Dermatol*, 126(Suppl.3s): 221.
6. Blazsek A, Németh M, Hatvani Zs, Lepesi-Benkő R, **Bóna A**, Medvecz M, Kárpáti S. (2007) Multi-locus genetic analysis of monilethrix in a 3 generation Hungarian pedigree. *J Invest Dermatol*, 127(Suppl.2s): 502.
7. Blazsek A, Virágh Zs, **Glász-Bóna A**, Wikonkál N, Hársing J, Mazán M, Hatvani Zs, Medvecz M, Kárpáti S. (2009) Dowling Degos Disease – Diagnosis confirmed by the identification of a recurrent *KRT5* mutation. *J Invest Dermatol*, 129(Suppl.2s)



---

#### VI.4. Az értekezés témájában elhangzott előadások és poszterek

1. **Bóna A**, Csikós M, Sajó R, Kárpáti S, Horváth A. Keratin 5 és keratin 14 gének mutációanalízise epidermolysis bullosa simplex kórképek hátterében. (poszter), IV. Magyar Sejtanalitikai Konferencia Budapest, 2004. május 6-8.
2. **Bóna A**, Csikós M, Sajó R, Kárpáti S, Horváth A. Novel keratin 5 and keratin 14 genes mutation in patients with Epidermolysis bullosa simplex. (előadás), 3th Congress of the German-Hungarian Dermatologic Society (DUDG), Pécs, 2004. augusztus 27-29.
3. **Bóna A**, Medvecz M, Németh M, Hatvani Zs, Sajó R, Lepesi-Benkő R, Tulassay Zs, Katona M, Blazsek A, Kárpáti S. Keratin 5 (*KRT5*) and keratin 14 (*KRT14*) mutation analysis by a novel approach. (poszter) - **I. díj**, 7th Congress of the German-Hungarian Dermatologic Society (DUDG), Budapest, 2008. június 19-21.
4. **Bóna A**, Sajó R, Blazsek A, Lepesi-Benkő R, Hatvani Zs, Virágh Zs, Németh M, Medvecz M, Kárpáti S. Epidermális keratin mutációk vizsgálata genodermatózisokban. (előadás), Magyar Humángenetikusok VII. Munkakonferenciája, Pécs, 2008. július 11-13.
5. **Glász-Bóna A**, Blazsek A, Hatvani Zs, Virágh Zs, Medvecz M, Kárpáti S. Epidermolysis bullosa simplex mottled pigmentációval (EBS-MP) – Az első magyarországi eset mutációanalízise. (poszter), Magyar Humángenetikusok VIII. Munkakonferenciája, Debrecen, 2010. szeptember 2-4.