

Innovatív multimodális képzőképző módszerek  
alkalmazása pseudoxanthoma elasticum által érintett  
betegek bőrelváltozásainak értékelésére

Doktori értekezés

**Dr. Farkas Klára**

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola  
Rácz Károly Konzervatív Orvostudományi  
Tagozat



Témavezetők:

Dr. Medvecz Márta, Ph.D.

Dr. Kiss Norbert, Ph.D.

Hivatalos bírálók:

Dr. Szlávicz Eszter, Ph.D.

Dr. Varsányi Balázs, Ph.D.

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Somogyi Anikó, Ph.D., DSc.

Tagok: Dr. Lengyel Zsuzsanna, Ph.D.

Dr. Molnár-Érsek Barbara, Ph.D.

Budapest  
2024

## **Bevezetés**

A pseudoxanthoma elasticum (PXE, OMIM#264800, ORPHA:758) egy multiszisztémás érintettséggel járó kórkép, mely az örökletes kötőszöveti betegségek, közelebbről az elastinopathiák közé tartozik. Autoszomális recesszív öröklődésmentet mutató ritka betegség. Kialakulásának hátterében egy humán ABC transzporter, az *ABCC6* (ATP Binding Cassette Subfamily C Member 6) gén patogén variációi tehetők felelőssé. E mutációk miatt a hepatocytákban csökken az ATP felszabadulás, így a vér pirofoszfát szintje alacsonyabb lesz, mely egy fontos antimineralizációs faktor. Ennek következtében ektópiás mineralizáció alakul ki, mely az elasztikus rostok fragmentációját okozza. Kalciumsók (kalcium-hidroxiapatit, kalcium-hidrogén-foszfát) rakódnak le, leggyakrabban a bőrben, a szemben és az erekben.

Az első elváltozások a bőrön apró, 1-5 mm-es sárga papulák és plakkok formájában jelennek meg a predilekciós területeken, leggyakrabban a nyak dorsolateralis részén vagy a hajlatokban, de érintheti a periumbilikális területet is. Később a papulák plakkokká

konfluálnak, és az elváltozások egyre kiterjedtebbé válnak, nagyobb bőrfelületet érintenek. Az elasztikus rostok fragmentációja következtében a bőr elveszíti rugalmasságát, lazává válik és redundáns bőrredők alakulnak ki.

PXE-ben az életminőséget főképp a visuscsökkenés befolyásolja, emiatt a páciensek gyakran szemészeti panaszokkal fordulnak először orvoshoz. Enyhébb szemészeti elváltozás a Peau d'orange, a Bruch-membrán (BM) mikrokalcifikációjának megjelenése. A BM repedése a látóidegfő körül angioid csíkok (AS) formájában jelenik meg. Később érújdonképződés (choroidal neovascularization, CNV), ödéma és hegesedés alakul ki, mely látáscsökkenést okoz.

Vaszkuláris eltérések a perifériás és koszorúereket egyaránt érinthetik. Kialakulhat korai atherosclerosis, magasvérnyomás, claudicatio intermittens, stroke, gyomor-bélrendszeri vérzés, valamint a koszorúerek érintettsége miatt angina pectoris és myocardialis infarktus is.

A PXE-re típusos bőrtünetek észlelésekor szövettani mintavétel erősítheti meg a diagnózist. A jellegzetes bőrszövettani eltérések különböző specifikus festésekkel

fénymikroszkóp alatt megjeleníthetők. *Ex vivo* nemlineáris mikroszkópia módszerrel PXE betegek bőrében a feltöredezett elasztikus rostokat, kalcium depozitokat és kollagénrostokat szelektíven tudjuk elkülöníteni. A bőrstátusz felmérése dematoszkóp mellett egyéb noninvazív eszközökkel is lehetséges, mint a magasfrekvenciájú ultrahang, reflectancia konfokális mikroszkópia, optikai koherencia tomográfia vagy PET-CT-vel (pozitronemissziós tomográfia- computer tomográfia).

PXE diagnózisa *Plomp és mtsai.* által kidolgozott diagnosztikus kritériumrendszer szerint major és minor kritériumok figyelembevételével, bőr, szem és genetikai érintettség alapján történik.

Fenotípus súlyosságának értékelésére és a betegség prognózisának követésére *Legrand és mtsai* által kibővített Phenodex score (Phenodex+) használatos.

### **Célkitűzések**

I. vizsgálatunk célja új *in vivo* képalkotó technika bevezetése a PXE betegek bőrelváltozásainak vizualizálására és kvantitatív értékelésére.

II. vizsgálatunkban célul tűztük ki PXE bőrtünetek kiterjedésének és a szisztémás érintettség súlyossága közötti összefüggés feltárását.

Továbbá célunk volt a bőrtünetek súlyosságának objektív felmérése *ex vivo* nemlineáris mikroszkópiával, a kalcifikációs paraméterek meghatározásával.

## **Módszerek**

### ***Betegek***

#### I. vizsgálat

Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinikán diagnosztizált, a Genti Egyetem Klinikai Genetikai Központjában molekuláris genetikai vizsgálatokkal is verifikált öt PXE-ben szenvedő beteget (3 nő és 2 férfi, átlagos életkoruk:  $55 \pm 8.1$  év) vizsgáltunk *in vivo* LED alapú képalkotó módszerrel. Etikai engedélyünk száma SE RKEB 228/2018.

#### II. vizsgálat

A beválasztás során Angers Egyetemi Kórház (Franciaország) PXE Nemzeti Referencia Központjában diagnosztizált 106 PXE beteg szövettani mintáin fénymikroszkóp alatt semikvantitatív módszerekkel mértük fel a kalcium-sók kiterjedését, mely alapján öt súlyossági csoportot alakítottunk ki. Minden súlyossági

kategóriából öt, a legjobb minőségű mintát választottunk ki, így összesen 25 beteget (17 nő és 8 férfi, átlagéletkoruk:  $49 \pm 13,8$  év) vontunk be a II. vizsgálatba. A bőrszöveti mintákat nemlineáris mikroszkópia alatt is vizsgáltuk, a betegektől részletes kórelőzményt gyűjtöttünk (betegek életkora, neme, betegség kezdete és időtartama, dohányzási szokások, bőrtünetek kiterjedtsége, szemészeti és kardiovaszkuláris tünetek, veseérintettség, osteoporosis jelenléte és laboratóriumi vérvizsgálatok eredményei). Betegség súlyosságát Phenodex+ pontszám alapján értékeltük. Etikai engedélyünk száma SE RKEB 193-2/2017.

### ***Multispektrális LED alapú képalkotó módszer***

A multispektrális LED alapú eszköz 5 megapixeles IDS kameráját (MT9P006STC, IDS uEye UI3581LE-C-HQ, Obersulm, Németország) az *in vivo* képalkotás során a vizsgálni kívánt bőrfelületről 60 mm-re rögzítjük. Az eszközbe beépített LED-gyűrű különböző hullámhosszú fényforrásaival történik a bőr megvilágítása, melyek különböző molekulákat gerjesztenek és tesznek láthatóvá. Az AF jelet 405 nm-es hullámhosszon, 515 nm-es nagyfrekvenciás szűrő alkalmazásával detektáltuk. A diffúz reflektancia képeket 660 és 940 nm-es

megvilágítási hullámhosszon (SML-LXL8047UVC, Lumex Inc., Ronkonkoma, NY, USA) rögzítettük. A látómező  $2 \times 2 \text{ cm}^2$ , a besugárzási teljesítménysűrűség  $20 \text{ mW/cm}^2$  volt. Minden betegről hét különböző PXE által érintett bőrfelületet vizsgáltunk és ImageJ v1.52a szoftverrel (NIH, Bethesda, MD, USA) elemeztük a 405 nm, 660 nm és 940 nm hullámhosszon kapott képeket. A dermatoszkópos morfológia alapján kézzel kijelöltük az érintett régiókat. A kontroll csoportot a PXE által nem érintett háttérbőr adta. Az átlagos, minimális és maximális intenzitásértékeket elemeztük és hasonlítottuk össze a PXE által érintett és az ép bőrfelszín között.

A statisztikai elemzéseket a GraphPad Prism v9.0.0.0 szoftverrel (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) végeztük el, kétmintás Student-féle t-próba alkalmazásával.

### ***Nemlineáris mikroszkópia***

Az *ex vivo* nemlineáris mikroszkópiás méréseket az MTA Wigner Fizikai Kutatóintézet Nemlineáris mikroszkópia Laboratóriumában végeztük. Az alkalmazott optikai elrendezésben 20 MHz körüli ismétlési frekvenciájú lézert (FemtoRose 300 TUN LC, R&D Ultrafast Lasers Ltd., Budapest, Magyarország) 800 nm centrális

gerjesztési hullámhosszal,  $<2$  nm sávszélességgel használtunk.

525/50 nm sávszélességű emissziós szűrőt alkalmaztunk az elasztin és a kalcium depozitok kétfoton-abszorpciós fluoreszcencia jeleinek összegyűjtésére, míg 405/20 nm sávszélességű szűrőt a másodharmonikus keltés jel elkülönítésére. A kétfoton-abszorpciós fluoreszcenciával és másodharmonikus keltéssel kapott képeket ImageJ v1.46 szoftverrel (NIH, Bethesda, MD, USA) kétszínű mozaikképekké alakítottuk.

A kalcifikáció mértékének meghatározásához minden beteg esetében tíz reprezentatív területet választottunk ki. Megmértük a meszesedés által érintett relatív területet (calcification area, CA) és a meszesedés sűrűségét (calcification density, CD). A teljes meszesedési pontszámot (total calcification score, CS) a CD és a CA szorzataként kaptuk. Statisztikai értékelés során Student-féle t-próbát, Mann-Whitney Wilcoxon exact tesztet, egyutas ANOVA-tesztet, Pearson-féle korrelációt, Spearman-féle korrelációt, logisztikus regressziót vagy Poisson-regressziós modellt használtuk. Az elasztikus rostokat manuálisan számoltuk és mértük meg az ImageJ szoftver segítségével.



## Eredmények

### I. vizsgálat

A bevont betegeknél eltérő súlyosságú bőrtüneteket észleltünk. Bőrbiopsziás mintavétel után fénymikroszkóp alatt különböző festésekkel azonosítottuk a PXE-re jellegzetes struktúrákat. Az érintett bőrrégiókat dermatoszkóp alatt vizsgálva változó mintázatokat azonosítottunk.

Multispektrális képalkotó vizsgálat során az AF képeken a PXE által érintett bőrterületek magas intenzitású jelet mutattak, még azokon a bőrterületeken is, ahol dermatoszkóp alatt atípusos mintázat volt, vagy nem észleltünk mintázatot.

A kvantitatív elemzések szignifikánsan magasabb átlagos AF intenzitásértékeket mutattak ki a PXE-vel érintett bőrterületeken az ép bőrhöz képest ( $60,74 \pm 23,86$  vs.  $43,40 \pm 16,76$  A.U.;  $p < 0,0008$ ). Szignifikánsan magasabb minimum ( $36,14 \pm 15,29$  vs.  $25,17 \pm 11,66$  A.U.;  $p < 0,0012$ ) és maximum ( $109,8 \pm 30,87$  vs.  $79,69 \pm 23,76$  A.U.;  $p < 0,0001$ ) AF intenzitás értékek adódtak az érintett területeken. A 660 és 940 nm hullámhosszon készült képeken nem találtunk szignifikáns különbségeket.

## II. vizsgálat

Az átlagos CA  $23,35 \pm 16,15$  %, a CD  $52,02$  % ( $43,11-71,03$ ), a CS pedig  $1387$  ( $264,9-1996$ ) volt.

A Phenodex-score alapján a súlyos betegeknél szignifikánsan magasabb CA-t, CD-t és CS-t találtunk, mint az enyhe PXE-s betegeknél ( $p=0,036$ ;  $p=0,027$ ;  $p=0,010$ ). Továbbá, szignifikánsan magasabb volt a CS a súlyos vs. mérsékelt Phenodex pontot elért betegeknél ( $p=0,041$ ).

Szignifikánsan magasabb CA értékeket találtunk súlyosabb szemészeti szövödményeknél ( $p=0,04$ ), magasabb V-score esetében ( $p=0,005$ ) és redundáns bőrredőkkel ( $p=0,024$ ) rendelkező betegeknél. A CA szignifikánsan korrelált a vaszkuláris érintettség mértékével (V-score) ( $r=0,434$ ), a perifériás érelmeszesedéssel ( $r=0,44$ ), a Phenodex+ pontszámmal ( $r=0,435$ ), az érintett bőrfelületek számával ( $r=0,48$ ) és a betegség időtartamával ( $r=0,48$ ). A macula atrophia ( $\beta=-0,44$ ,  $p=0,032$ ), az akneiform elváltozások ( $\beta=0,40$ ,  $p=0,047$ ) és a késői kezdetű betegség ( $\beta=-0,48$ ,  $p=0,017$ ) jelenléte statisztikailag szignifikáns összefüggést mutatott a magasabb CA-val.

Szignifikánsan magasabb CD-t találtunk magasabb V-score-al ( $p=0,018$ ) és az artéria carotis interna hypoplasiával (ICAH) rendelkező betegeknél ( $p=0,045$ ). A CD szignifikáns korrelációt mutatott a V-score-al ( $r=0,539$ ), a perifériás atherosclerosissal ( $r=0,41$ ) és a Phenodex+ pontszámmal ( $r=0,46$ ).

Szignifikánsan magasabb volt a CS az akneiform bőrelváltozásokkal rendelkező betegeknél. A CS szignifikáns korrelációt mutatott a V-score-al ( $r=0,507$ ), a perifériás érlemeszesedéssel ( $r=0,45$ ), a Phenodex+ pontszámmal ( $r=0,503$ ), az érintett típusos bőrterületek számával ( $r=0,49$ ) és a betegség időtartamával ( $r=0,40$ ).

Az érintett típusos bőrterületek száma szignifikánsan magasabb volt a CNV-ben ( $p=0,033$ ) szenvedő betegeknél, redundáns bőrredők jelenlétekor ( $p<0,0001$ ), magasabb S-score ( $p<0,0001$ ) esetében, és szignifikánsan korrelált a Phenodex+ pontszámmal ( $r=0,56$ ,  $p=0,003$ ).

Az érintett, nem típusos bőrterületek jelenlétekor nagyobb volt a CNV előfordulása ( $pOR$  5,02, 95% CI [1,33 - 2225,12],  $p=0,02$ ).

## **Következtetések**

### **I. vizsgálat**

*In vivo* multispektrális LED alapú képalkotó módszerrel jelenítettük meg a jellegzetes bőrelváltozásokat, dermatoszkópos mintázatot PXE betegeknél. Autofluoreszcens hullámhosszt alkalmazva a kalcifikált területek nagy intenzitással jelentek meg. Kvantitatív analízis során szignifikánsan magasabb átlagos autofluoreszcens intenzitást, szignifikánsan magasabb minimum és maximum autofluoreszcens értékek adódtak az érintett területeken az ép bőrterületekkel összehasonlítva.

### **II. vizsgálat**

*Ex vivo* nemlineáris mikroszkópia alkalmazásával, objektív paraméterekkel (CA, CD, CS, elasztikus rost száma és hossza), kvantitatív elemzésekkel mértük fel a bőrtünetek súlyosságát. Szignifikáns korrelációt találtunk a vizsgált kalcifikációs paraméterek és a szisztémás érintettség között.

## Saját publikációk jegyzéke

*Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények:*

Farkas K, Bozsányi Sz, Plázár D, Bánvölgyi A, Fésűs L, Anker P, Zakariás S, Lihacova I, Lihachev A, Lange M, Arányi T, Wikonkál NM, Medvecz M, Kiss N. Autofluorescence Imaging of the Skin Is an Objective Non-Invasive Technique for Diagnosing Pseudoxanthoma Elasticum. *Diagnostics* (Basel). 2021 Feb 8;11(2):260. doi: 10.3390/diagnostics11020260. **IF: 3,992**

Fésűs L, Kiss N, Farkas K, Plázár D, Pálla S, Navasiolava N, Róbert L, Wikonkál NM, Martin L, Medvecz M. Correlation of systemic involvement and presence of pathological skin calcification assessed by ex vivo nonlinear microscopy in Pseudoxanthoma elasticum. *Arch Dermatol Res*. 2023 Sep;315(7):1897-1908. doi: 10.1007/s00403-023-02557-x. Epub 2023 Feb 27. **IF: 3,0**

Farkas K, Kiss N, Szabó V, Resch M, Vámos R, Borbándy Á, Nagy A, Apor A, Arányi T, Szeri F, Wikonkál N, Nagy Z, Merkely B, Medvecz M. Pseudoxanthoma elasticumban szenvedő betegek multidiszciplináris ellátása [Multidisciplinary management of patients affected with pseudoxanthoma elasticum]. *Orv Hetil*. 2022 May 1;163(18):702-711. Hungarian. doi: 10.1556/650.2022.32438. **IF: 0,6**

*Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – közlemények:*

Bozsányi Sz, Farkas K, Bánvölgyi A, Lőrincz K, Fésűs L, Anker P, Zakariás S, Jobbágy A, Lihacova I, Lihachev A, Lange M, Bliznuks D, Medvecz M, Kiss N, Wikonkál NM. Quantitative Multispectral Imaging Differentiates Melanoma from Seborrheic Keratosis. *Diagnostics* (Basel). 2021 Jul 22;11(8):1315. doi: 10.3390/diagnostics11081315. **IF: 3,992**

Bozsányi Sz, Varga NN, Farkas K, Bánvölgyi A, Lőrincz K, Lihacova I, Lihachev A, Plorina EV, Bartha Á, Jobbágy A, Kuroli E, Paragh G, Holló P, Medvecz M, Kiss N, Wikonkál NM. Multispectral Imaging Algorithm Predicts Breslow Thickness of Melanoma. *J Clin Med*. 2021 Dec 30;11(1):189. doi: 10.3390/jcm11010189. **IF: 3,9**

Bozsányi Sz, Boostani M, Farkas K, Hamilton-Meikle P, Varga NN, Szabó B, Vasanits F, Kuroli E, Meznerics FA, Lőrincz K, Holló P, Bánvölgyi A, Wikonkál NM, Paragh G, Kiss N. Optically Guided High-Frequency Ultrasound to Differentiate High-Risk Basal Cell Carcinoma Subtypes: A Single-Centre Prospective Study. *J Clin Med*. 2023 Nov 3;12(21):6910. doi: 10.3390/jcm12216910. **IF: 3,9**

Kiss N, Farkas K, Tosti G, De Gado F, Bergler-Czop B, Fazia G, Tammaro A, Cantisani C. Photodynamic Therapy with 5-Aminolevulinic Acid Patch for the Treatment of Actinic Keratosis. *J Clin Med*. 2022 Jun 2;11(11):3164. doi: 10.3390/jcm11113164. **IF: 3,9**

Plázár D, Meznerics FA, Pála S, Anker P, Farkas K, Bánvölgyi A, Kiss N, Medvecz M. Dermoscopic Patterns of Genodermatoses: A Comprehensive Analysis. *Biomedicines*. 2023 Oct 6;11(10):2717. doi: 10.3390/biomedicines11102717. **IF: 4,7**

Pála S, Anker P, Farkas K, Plázár D, Kiss S, Marschalkó P, Szalai Z, Bene J, Hadzsiev K, Maróti Z, Kalmár T, Medvecz M. Co-occurrence of neurofibromatosis type 1 and pseudoachondroplasia - a first case report. *BMC Pediatr*. 2023 Mar 8;23(1):110. doi: 10.1186/s12887-023-03920-7. **IF: 2,4**

Anker P, Kiss N, Kocsis I, Czemplé É, Becker K, Zakariás S, Plázár D, Farkas K, Mayer B, Nagy N, Széll M, Ács N, Szalai Z, Medvecz M. Report of a Novel ALOX12B Mutation in Self-Improving Collodion Ichthyosis with an Overview of the Genetic Background of the Collodion Baby Phenotype. *Life (Basel)*. 2021 Jun 27;11(7):624. doi: 10.3390/life11070624. **IF: 3,253**

Jobbágy A, Kiss N, Meznerics FA, Farkas K, Plázár D, Bozsányi S, Fésűs L, Bartha Á, Szabó E, Lőrincz K, Sárdy M, Wikonkál NM, Szoldán P, Bánvölgyi A. Emergency Use and Efficacy of an Asynchronous Teledermatology System as a Novel Tool for Early Diagnosis of Skin Cancer during the First Wave of COVID-19 Pandemic. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Feb 25;19(5):2699. doi: 10.3390/ijerph19052699. **IF: 4,614**

Bozsányi Sz, Czurkó N, Becske M, Kasek R, Lázár BK, Boostani M, Meznerics FA, Farkas K, Varga NN, Gulyás L, Bánvölgyi A, Fehér BÁ, Fejes E, Lőrincz K, Kovács A, Gergely H, Takács S, Holló P, Kiss N, Wikonkál N, Lázár I. Assessment of Frontal Hemispherical Lateralization in Plaque Psoriasis and Atopic Dermatitis. *J Clin Med.* 2023 Jun 21;12(13):4194. doi: 10.3390/jcm12134194. **IF: 3,9**

Szalai K, Farkas K, Gergely H, Varga NN, Magyar M, Nagy ZZs, Fésűs L, Bozsányi Sz, Jobbágy A, Medvecz M, Bánvölgyi A, Lőrincz K, Wikonkál NM\*\*, Kiss N. Magas frekvenciájú ultrahang, optikai koherencia tomográfia és mágnesesrezonancia képalkotás alkalmazási lehetőségei a bőrgyógyászati gyakorlatban [Clinical application of high-frequency ultrasound, optical coherence tomography and magnetic resonance imaging in dermatology]. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle.* 2022 (0006-7768 2064-261X): 98-103 pp 125-132

Farkas K, Kiss N, Szabó V, Lesch B, Szabó A, Maneschg O, Apor A, Nagy AI, Medvecz M. A pseudoxanthoma elasticum örökletes ektópiás mineralizációs zavar komplex multidiszciplináris ellátása [Complex multidisciplinary care of hereditary ectopic mineralization disorder pseudoxanthoma elasticum]. *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle.* 2023 (0006-7768 2064-261X): 99-103 p. 39.



Fésűs L, Kiss N, Jobbágy A, Farkas K, Meznerics F, Bozsányi Sz, Bánvölgyi A, Wikonkál NM, Lőrincz K. Innovatív *in vivo* képalkotó módszerek a bőrgyógyászatban [Innovative *in vivo* imaging techniques in dermatology]. Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle. 2022 (0006-7768 2064-261X): 98 3 pp 133-141

Jobbágy A, Meznerics FA, Farkas K, Plázár D, Bozsányi Sz, Fésűs L, Róbert L, Schveibert Á, Kuzmanovszki D, Szoldán P, Lőrincz K, Kiss N, Wikonkál NM, Sárdy M, Bánvölgyi A. Teledermatológia: a digitalizáció új korszaka a bőrgyógyászati betegellátásban [Teledermatology: the new era of digitalization in dermatology care]. Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle. 2022 (0006-7768 2064-261X): 98 3 pp 100-107

Medvecz M, Anker P, Pála S, Plázár D, Farkas K, Kiss N, Becker K. Örökletes ichthyosisok klinikai és genetikai vonatkozásai [Clinical and genetic aspects of inherited ichthyoses]. Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle. 2022 (0006-7768 2064-261X): 98 2 pp 44-54