

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Az immun és permeabilitási barrier vizsgálata  
hidradentis suppuratívában**

Somogyi Orsolya

Témavezető: Dr. Prof. Szegedi Andrea, az MTA doktora



DEBRECENI EGYETEM  
Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai És  
Allergológiai Doktori Iskola

Debrecen, 2024

## **Az immun és permeabilitási barrier vizsgálata hidradentis suppuratívában**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
A Klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Somogyi Orsolya okleveles klinikai laboratóriumi kutató

Készült a Debreceni Egyetem Petrányi Gyula Klinikia Immunológiai És  
Allergológiai doktori iskolája keretében

Témavezető: Prof. Dr. Szegedi Andrea, az MTA doktora

Az értekezés bírálói: Dr. Bánvölgyi András, PhD  
Dr. Papp Gábor, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Bácsi Attila, az MTA doktora  
tagok: Dr. Bánvölgyi András, PhD  
Dr. Papp Gábor, PhD  
Prof. Dr. Bata-Csörgő Zsuzsanna, az MTA doktora  
Dr. Szamosi Szilvia Katalin, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, ÁOK Belgyógyászati Intézet  
„A” épület Tanterme, 2025. január 29 13:00

## BEVEZETÉS

A hidradenitis suppurativa (HS) az apokrin mirigyben gazdag (AGR) bőrrégióra lokalizálódó immunmediált gyulladásos bőrbetegség, melynek pathomechanizmusában a T-helper (Th) 1/17 citokin környezet már jól karakterizált; a betegségre jellemző immunmilió kialakulásának stádiumai, időbeli lefolyása azonban még nem ismert. Egy korábbi vizsgálatunkban fehérje és gén szinten megvizsgáltuk az egészséges AGR bőr és HS léziós bőr immunológiai jellegzetességeit. Eredmények szerint a CD4+ T-sejtek, CD11c+ myeloid dendritikus sejtek (DC) és a CD163+ makrofágok száma, valamint a dermális Th1/Th17 környezethez kapcsolódó molekulák, keratinocita (KC) eredetű proinflammatorikus citokinek és kemokinek kifejeződése szignifikánsan eltér a léziós HS bőrben az AGR bőrhöz hasonlítva. Ugyanakkor a gyulladás kezdeti okairól, a betegség kialakulásának első lépéseiről keveset tudunk. Egyre több információ utal arra, hogy a lézió melletti, egészségesnek tűnő nem léziós bőr az immunmediált bőrbetegségekben (pl. pikkelysömör) szenvedő betegek léziós bőre és az egészséges bőr közötti köztes állapotot képviseli, egy szubklinikus állapotot reprezentál, melynek vizsgálata a betegség kialakulásának kezdeti lépéseit tudja feltárni számunkra. Értekezésem első felében részletesen bemutatom azon kutatási eredményeinket, melyek a nem léziós HS bőr immunológiai jellegzetességeinek feltárására irányultak.

Több krónikus gyulladásos bőrbetegség, mint például az atópiás dermatitis (AD) vagy a papulopustuláris rosacea (PPR) esetében a permeabilitási barrier károsodása valószínűleg a KC-k aktiválódásán keresztül váltja ki a betegség kezdeti fázisait. Ugyanakkor a HS-ben nem vizsgálták még a permeabilitási barrier megváltozásának, mint KC-aktiváló eseménynek a lehetséges szerepét. Kutatócsoportunk elsőként vizsgálta a permeabilitási barrier eltéréseit molekuláris szinten HS-ben, disszertációm második felében erről számolok be.

## CÉLKITŰZÉS

### **Az immunbarrier vizsgálata HS-ben**

A hidradenitis suppurativa az apokrin mirigyben gazdag bőrrégióra lokalizálódó immunmediált gyulladáshoz vezető bőrbetegség, mely pathomechanizmusában a Th1/17 citokin környezet már jól karakterizált; a betegségre jellemző immunmilió kialakulásának stádiumai, időbeli lefolyása azonban nem ismert. Kutatásunk során az alábbi vizsgálatok elvégzését tűztük ki célul klinikai tünetet nem mutató, nem léziós HS bőrben, léziós HS és egészséges apokrin mirigyben gazdag, nedves bőrben:

1. Immunsejtek, Th1/Th17- sejtekhez kapcsolódó molekulák és KC-khoz köthető szenzorok és mediátorok meghatározása RNAseq módszerrel
2. Immunsejtek gén (RT-qPCR) és fehérje szintű (immunhisztokémia-IHC) vizsgálata
3. Th1/Th17- sejtekhez kapcsolódó molekulák gén (RT-qPCR) és fehérje szintű (IHC) vizsgálata
4. KC-khoz köthető szenzorok és mediátorok gén (RT-qPCR) és fehérje szintű (IHC) vizsgálata
5. TNF $\alpha$  és IL23 immunfluoreszcens (IF) festése HS bőrben

### **A permeabilitási barrier vizsgálata HS-ben**

A korábbi vizsgálatunk eredményei alapján a KC-k már a HS kialakulásának kezdeti szakaszában is fontos szerepet játszanak. Az azonban még nem ismert, hogy mely tényezők aktiválják a KC-kat. Az egyik fő exogén tényező a KC-k aktiválásában a permeabilitási barrier megváltozása lehet. Azonban a permeabilitási barrier megváltozásának, mint KC-aktiváló eseménynek a lehetséges szerepét nem vizsgálták még részletesen a HS-ben. Célul tűztük ki a permeabilitási barrier molekuláris szintű tanulmányozását a HS-ben, az AGR régióval összehasonlítva.

1. A transepidermális vízvesztés vizsgálata a permeabilitási barrier működésének tanulmányozása céljából (funkcionális vizsgálatok)
2. SC molekulák gén- és fehérjeszintű vizsgálata
  - a) CE intracelluláris struktúrmolekulák
  - b) Korneocita deszkvamációban szerepet játszó molekulák
  - c) Korneodezmoszóma komponensek
3. TJ molekulák gén és fehérjeszintű vizsgálata
4. A kapcsoló struktúrák eloszlásának vizualizálása konfokális mikroszkóp alkalmazásával

## ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### **Bőrbiopsziás minták gyűjtése és feldolgozása**

A vizsgálatainkhoz HS-ben szenvedő betegek léziós és nem léziós (periléziós terület,  $\geq 3$  cm-re az elváltozástól) bőréből, valamint kontrollként plasztikai műtéten átesett egészséges személyek apokrin mirigyben gazdag (AGR) bőrrégiójából gyűjtöttünk punch biopsziát. Az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (ETT-TUKEB) és a Debreceni Egyetem Regionális Etikai Bizottsága engedélyezte a kutatást. A mintavétel előtt minden beteg a Helsinki Nyilatkozat elveinek megfelelően írásbeli beleegyezését adta a bőrmintáik kutatási célból való felhasználására. A vizsgálatba a következő kritériumok alapján vontuk be a HS-betegeket: 18. életévét betöltött egyének, akiknél közepesen súlyos vagy súlyos HS-t diagnosztizáltak, és a betegség legalább 6 hónapja fenn állt. A klinikai súlyosságot a Sartorius-pontszám (minimum 15) és a bőrgyógyászati életminőségi index (DLQI) alapján határoztuk meg, melynek értéke minden esetben 10 fölötti volt. A bőrbiopsziás mintavétel előtt egyik beteg sem kapott biológiai terápiát, és minden korábbi hagyományos szisztémás kezelést 4 héttel a mintavétel előtt felfüggesztettek. A helyi kezeléseket 4 nappal a mintavétel előtt hagyták abba. Minden egyes biopszia egyik felét RNAlaterben (Qiagen, Hilden, Németország)  $-70^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk az RNS izolálásáig az RT-PCR vizsgálatokhoz, a biopszia másik felét formalinban fixáltuk és paraffinba ágyasztuk IHC és IF vizsgálatokhoz. A hematoxin-eozin (H&E) festést követően a mintákat az apokrin mirigyek száma szerint osztályoztuk, és AGR bőrként definiáltuk, ha 100x-os nagyításban  $n \geq 2$  apokrin mirigyet azonosítottunk a látómezőben.

### **RNAseq**

Az RNASeq analízishez szükséges komplementer DNS (cDNS)-könyvtárat 1  $\mu\text{g}$  teljes RNS-ből hoztuk létre a TruSeq RNA Sample Preparation Kit (Illumina, San Diego, CA) használatával, a gyártó által megadott protokoll szerint. Az Illumina HiScan SQ készüléken (Illumina) egy 50 bázispáros szekvenálás futtatást végeztünk, és mintánként 16-18 millió leolvasást kaptunk. A szekvenált leolvasásokat a TopHat és a Cufflinks algoritmusok segítségével a Human Genome v19-hez igazítottuk, és bam fájlokat hoztuk létre. A további statisztikai elemzéshez a StrandNGS szoftvert használtuk. A statisztikailag szignifikáns génexpressziós mintázatok azonosítására nem-parametrikus Mann-Whitney-tesztet alkalmaztunk. A könyvtárkészítést, a szekvenálást és az adatelemzést a Debreceni Egyetem Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratórium végezte el. A célmolekulák

expressziós szintjeit tartalmazó mátrixadatokat manuálisan gyűjtöttük össze. A heatmapet Morpheus programmal hoztuk létre.

### **RNS izolálás, Reverz Transzkripció**

Minden mintát TriReagens oldatban (Sigma-Aldrich, Dorset, Egyesült Királyság) Tissue Lyser (QIAGEN, Hilden, Németország) használatával homogenizáltunk, fémgyöngyökkel (Analytik Jena, 845-CS-1020050) előzetesen feltöltött innuSPEED líziscsővek segítségével majd total RNS-t izoláltunk. Az RNS-minták koncentrációját és tisztaságát NanoDrop spektrofotométerrel (Thermo Scientific, Bioscience, Budapest, Magyarország) határoztuk meg. Az RNS minőségét Agilent 2100 bioanalizátorral (Agilent, Santa Clara, CA, USA) ellenőriztük. Az RNS-t tartalmazó mintákat cDNS-sé írtuk át a gyártó utasításai és a megadott hőkezelési protokoll szerint High Capacity cDNA Archive Kit (Invitrogen, Life Technologies, San Francisco, CA, USA) segítségével. Ezt megelőzően a mintákat DNáz I enzim (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) kezelésnek vetettük alá.

### **Kvantitatív Valós-idejű Polimeráz Láncreakció (qRT-PCR)**

Az RT-qPCR méréseket triplikátumokban végeztük el a gyártó által tervezett FAM-MGB assay, valamint a TaqMan® Gene Expression Master Mix (Applied Biosystem, Life Technologies, San Francisco, CA) segítségével. A mérésekhez LightCycler 480 (Roche, Basel, Switzerland) készüléket használtunk. A célgének relatív mRNS szintjét a  $2^{-\Delta\Delta CT}$  módszerrel határoztuk meg, minden esetben a PPIA mRNS expresszióra normalizálva.

### **Immunhisztokémia (IHC), immunfluoreszcens (IF) és rutin festések**

Az IHC vizsgálatokhoz a HS-betegek és az egészséges kontrollok bőrmintáiból készült paraffinba ágyazott metszeteket deparaffináltuk, majd rehidratáltuk. Az endogén peroxidázok gátlásának érdekében egy 15 perces 3%-os  $H_2O_2$ -dal történő kezelést alkalmaztunk, majd hővel indukált antigén feltárást végeztünk. Ezt követően az 5%-os borjú szérum albumin (BSA) oldattal történő blokkolás után a metszeteket egy éjszakán át inkubáltuk primer antitestekkel  $4^\circ C$ -on. Másnap a metszeteket anti egér/nyúl (Dako) HRP-konjugált másodlagos antitesttel inkubáltuk. Az antitestekkel való inkubálás előtt és után a mintákat 3x5 percig mostuk, majd a festődés detektálására ImmPACT™ NovaRED™ Kit-et (VECTOR Laboratories, Burlingame, CA, USA) használtunk. A háttérfestést metil zölddel végeztük. Az egyes fehérjék előhívását minden metszeten párhuzamosan, egyidejűleg végeztük el, annak érdekében, hogy a fehérjeszintek értékelése során összehasonlíthatóak legyenek egymással. Pozitív, IgG és izotípus kontrollokat is használtunk az összes fehérjével szembeni festés normalizálásához

[egér és nyúl IgG (Covalab), nyúl immun-globulin frakció (Dako)]. Az AGR bőrminták H&E-vel is megfestésre kerültek. Az apokrin mirigyek vizuális pontozását patológus végezte. Az IHC metszeteket Zeiss Mirax Midi szkennelrel (Zeiss, Oberkochen, Németország) digitalizáltuk. A metszetek kiértékelése a Panoramic Viewer szoftver HistoQuant alkalmazásával történt (3DHistech, Budapest, Magyarország). Betanítottuk az alkalmazást az egyes molekulák esetében a pozitív területnek (melyik pixel pozitív) és a háttérfestés elkülönítésére. Mindegyik metszetben három egységnyi hosszt jelöltünk ki az epidermiszen belül (értékes terület=ROI), amelyek reprezentálták a festődést és azon belül értékeltük ki az adott fehérjemennyiséget. Az előre betanított algoritmus kiértékelte a ROI-kat minden szakaszban. Végül meghatároztuk a teljes festődési intenzitást, és összehasonlítottuk a mintacsoportok között.

### **Transzepidermális vízvesztés mérése**

A méréseket HS betegek (n=16) és egészséges személyek (n=20) esetében végeztük el standardizált laboratóriumi körülmények között, 22-25°C-os hőmérsékleten és 40-60%-os páratartalom mellett. A mérések előtt az egyének 15 percig aklimatizálódtak a fenti szobai körülmények között. Dermalab Combo (Cortex Technology, Hadsund, Dánia) készüléket használtuk a TEWL (g/hm<sup>2</sup>) meghatározására az egészséges egyének hónaljában (amely az AGR területet képviseli) és a HS betegek lézionális és nem lézionális területein. Három párhuzamos mérést végeztük, melyek egyenként 30 másodpercig tartottak.

### **Konfokális mikroszkópia**

A konfokális mikroszkópos vizsgálatunkhoz 3-3db, 30 µm vastagságú paraffinba ágyazott bőrmintát használtunk a HS-NL és az egészséges AGR mintacsoportokból. Első lépésként az úszó metszeteket deparaffináltuk, majd hővel indukált antigén feltárást végeztünk. Az elsődleges (anti-humán CLDN1: rabbit poliklonális IgG, ab15098, Abcam; anti-humán DSG1: egér monoklonális IgG, 129204, Novus) antitestekkel 48 órán keresztül 4° C-on, illetve a másodlagos antitestekkel (Alexa Fluor™ 488 és 555 kecske anti-egér IgG (H+L), Thermo Fisher Scientific) 2 órán keresztül szobahőmérsékleten inkubáltuk az úszó mintákat. Végül a mintákat tárgylemezre helyeztük, és DAPI-t tartalmazó VECTASHIELD® HardSet™ Antifade Mounting Mediummal (Vector Laboratories) fedtük le. Az immunfestett mintákat Olympus FV3000 konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk 40x vagy 60x olaj-immersiós lencsével (NA: 1,40-1,42). A beállítások (lézerteljesítmény, konfokális rekesz és erősítés, detektorparaméterek) minden minta esetében azonosak voltak. Több 1 µm vastagságú optikai metszet készült 0,5 µm-es távolsággal a Z tengelyen. Az optikai metszetek száma minden egyes

minta esetében 6 db volt. Az ábrák képeit az Adobe Photoshop CS5 szoftverrel készítettük el. A CLDN és a DSG1 eloszlásának szabályosságát, mintázatát a sejtmembrán keresztmetszete mentén két szomszédos immunfestett pont közötti távolság mérésével elemeztük.

### **Statisztikai analízis**

Az adatok normalitását a Shapiro-Wilk-tesztel vizsgáltuk. A csoportok közötti statisztikai különbségek meghatározására one-way ANOVA-t és Tukey post hoc tesztet (normál eloszlás) vagy Kruskal-Wallis tesztet Dunn post hoc tesztel (nem normál eloszlás) alkalmaztunk (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ). Az ábrák a mediánt és a megfelelő 95%-os felső és alsó konfidenciaintervallumokat, valamint a maximális és minimális értékeket mutatják. A statisztikai elemzéseket a GraphPad Prism szoftver 7-es verziójával (GraphPad Software Inc. San Diego, CA, USA) végeztük.

## **EREDMÉNYEK**

### **Immunbarrier vizsgálata HS -ben**

Kutatócsoportunk már egy korábbi tanulmányában megvizsgálta, hogy az egészséges AGR bőrre jellemző immunmillió hogyan változik meg HS léziós bőrben. Jelenlegi kutatásunkban a klinikai tünetet nem mutató, nonlézionális HS bőr immunkarakterisztikájának a részletes feltárását tűztük ki célul, annak érdekében, hogy a HS kialakulásban lejátszódó első lépéseket megismerjük. A CD4<sup>+</sup> T-sejtek, CD11c<sup>+</sup> myeloid DC-k és CD163<sup>+</sup> makrofágok számát, valamint a Th1/Th17 immunmilióhoz kapcsolódó molekulák (L-12B, TBX21, IFNG, TNFA, IL-17, IL10, IL-23A, TGFB1, RORC, CCL20), KC-eredetű szenzorok (TLR2,4,), mediátorok (S100A7, S100A8, S100A9, DEFB4B, LCN2, CAMP, CCL2) és proinflammatorikus molekulák (IL1B, IL6, TNFA, IL-23A) expresszióját vizsgáltuk mRNS és/vagy fehérje szinten.

### **Az immunológiai jellemzők meghatározása RNASeq vizsgálattal az egészséges AGR, a nem léziós és léziós HS bőrmintákban**

Összegyűjtöttük a célmolekulák normalizált génexpressziós szintjeit a 3 mintacsoportból származó RNASeq-adatsorból. A heatmap alapján a legtöbb célmolekula mRNS-expressziója első ránézésre hasonló volt a nem léziós HS és az egészséges AGR bőr között. A KC-eredetű mediátorok és szenzorok közül az S100A7, S100A8 és S100A9 AMP-k mRNS-szinten jelentős és szignifikáns emelkedést mutattak, míg a TLR4 expressziója szignifikánsan alacsonyabb volt nem léziós HS bőrben az egészséges AGR bőrhöz képest. Az

immunsejtek sejtfelszíni markerei (CD4, CD11c, CD83 és CD163), valamint a Th1/Th17-hez kapcsolódó mediátorok és transzkripciós faktorok tekintetében nem találtunk jelentős különbségeket a két csoport között, kivéve a TGFB1-t, aminek expressziója enyhén, de statisztikailag szignifikáns módon csökkent értéket mutatott nem léziós HS bőrben az egészséges AGR bőrhöz képest

A léziós HS és a nem léziós HS minták összehasonlításakor a target molekulák eltérő expressziója egyértelműen kimutatható volt. A KC-eredetű mediátorok és szenzorok szintje nagymértékben és szignifikánsan emelkedett léziós HS-ben, kivéve az LCN2-t és a Cathelicidint (CAMP), ahol a különbség nem volt szignifikáns. Hasonlóképpen, a sejtfelszíni markerek és a Th1/Th17-hez kapcsolódó mediátorok és transzkripciós faktorok mRNS-szintje lényegesen magasabb volt a léziós HS-ben a nem léziós HS mintákhoz képest, beleértve a TBX21-et, a gyulladással Th17 és Th1 sejtek fő transzkripciós faktorát is. Kiemelendő, hogy a nem gyulladással Th17 sejtek fő transzkripciós faktorának, a RORC-nak az expressziója ellenkező irányban változott.

### **Immunsejtek vizsgálata HS-es és egészséges AGR bőrben RT-qPCR és IHC módszerekkel**

A HS-es gyulladás kialakulásának kezdeti tényezőit tovább vizsgálva az egészséges AGR, és a nem léziós és léziós HS-es bőrmintákat RT-qPCR és IHC segítségével hasonlítottuk össze. Elsőként a T sejtek, DC-k és makrofágok mRNS és fehérjeszintű vizsgálatát végeztük el. Ezen eredményeink alapján a CD83 DC aktivációs marker mRNS kifejeződése szignifikánsan magasabb volt a léziós HS bőrben a nem léziós HS-hez képest, azonban az AGR és HSNL bőrben hasonló volt a szintje. Az IHC vizsgálataink alapján a CD4<sup>+</sup> T sejt, a CD11c<sup>+</sup> DC és a CD163 makrofág száma hasonló volt az egészséges AGR és a nem léziós HS bőrben, míg a mennyiségük szignifikánsan megemelkedett a léziós HS bőrmintákban.

### **Th1/Th17-hez kapcsolódó molekulák vizsgálata HS-es és egészséges AGR bőrben RT-qPCR és IHC módszerekkel**

A Th1/Th17 jelátvitelhez kapcsolódó mediátorok kifejeződése mRNS- és fehérjeszinten is hasonló volt az AGR és a nem léziós HS bőrben. Az IFNG, IL17A, IL10, IL6, IL23A, TGFB és az IL1B mRNS expressziója szignifikánsan magasabb volt a léziós HS bőrmintákban, mint a nem léziós HS-ben. Azonban az IL12B, TBX21, TNFA, CCL20 molekulák esetében nem detektáltunk szignifikáns eltérést a HS-es minták összehasonlításakor, de egy tendenciózus emelkedés megfigyelhető minden esetben. A RORC gén esetében egy fordított trend látható, melynek oka, hogy ez a nem patogén IL17 transzkripciós faktora. Fehérje szinten minden

vizsgált dermális Th1/Th17 mediátor szignifikánsan emelkedett expressziót mutatott a léziós HS mintákban.

### **KC-hez kapcsolódó szenzorok és mediátorok vizsgálata HS és egészséges AGR bőrben RT-qPCR és IHC módszerekkel**

TLR2 és TLR4 szenzorok mRNS alapú vizsgálatok azt kaptuk, hogy az egészséges és a nem léziós HS bőrben hasonlóan fejeződtek ki, míg a léziós HS bőrben szignifikánsan magasabb szinten expresszálódtak. Ezzel szemben az összes vizsgált KC eredetű AMP mRNS-szinten jelentős mértékben megemelkedett már a nem léziós HS bőrben is az AGR-hez képest, melyek közül az S100A7, S100A8, S100A9 és a CAMP szignifikáns szintet ért el, és a szintjük tovább emelkedett a léziós HS bőrben. Ezt követően fehérje szinten is megvizsgáltuk ezen molekulákat. Az S100A8, a LCN2 és a hBD-2 jelenléte szembetűnő volt a nem léziós HS bőr interfollikuláris epidermiszében; azonban a különbségek statisztikailag nem voltak szignifikánsak. A proinflammatorikus citokinek közül az IL-1 $\beta$  szignifikánsan megnövekedett epidermális expressziója mellett a TNF- $\alpha$  és az IL-23 szintje is szignifikánsan emelkedett a nem léziós HS interfollikuláris epidermiszben, de a dermiszben nem. A léziós HS interfollikuláris epidermiszben az IL-23 szintje tendenciózusan növekedett, míg a TNF- $\alpha$  és az IL-1 $\beta$  expressziója magas szinten maradt, további emelkedés nélkül a nem léziós bőrhöz képest, ami valószínűleg expressziójuk csökkenő sebességét jelzi. Azonban az IL-23 és TNF $\alpha$  dermális immunfestődése alapján a léziós HS bőrben szignifikánsan magasabb számban fordultak elő.

A follikuláris epidermisz festődési mintázatát tekintve a fent említett molekulák erős pozitívítást mutattak a nem léziós HS bőrben. Bár a szőrtüszők eltérő eloszlása miatt a bőrmintákban nem lehetett számszerűsíteni a follikuláris epidermisz fehérjeszintjét, azonban szintjük az interfollikuláris epidermiszhez képest emelkedő tendenciát mutat. Mivel a léziós HS bőrben a szőrtüszők elpusztulnak az erőteljes immunaktiváció következtében, így a follikulosok festődési mintázatát nem tudtuk értékelni.

### **Az IL-23 és a TNF $\alpha$ immunfluoreszcens festése HS bőr epidermiszében**

Az IL-23 és a TNF- $\alpha$  meglepő korai epidermális jelenléte a nem léziós HS mintákban arra ösztönzött bennünket, hogy ezeket az eredményeket IF segítségével is megerősítsük, hogy bizonyítsuk e fehérjék festődési mintázatát egy torna-peroxidáz-független rendszerben. Az IF-vizsgálatok tovább erősítették az IL-23 és a TNF- $\alpha$  fokozott epidermális expresszióját a nem léziós HS mintákban, míg a dermális előfordulásuk kevésbé volt szembetűnő. Festődési mintázatát tekintve a TNF- $\alpha$  főként az epidermisz felső, apikális részében lokalizálódott, a

bazális epidermiszréteg felé haladva a szintje fokozottan csökkent. Ezzel szemben a proliferáló KC bazális rétegek erős citoplazmatikus festődést mutattak az IL-23 tekintetében, míg az egész epidermiszben enyhe pozitivitás volt kimutatható. A léziós HS-ben feltűnően sok IL-23<sup>+</sup> és TNF $\alpha$ <sup>+</sup> dermális infiltrátum volt jelen, hasonló epidermális festődéssel.

### **A permeabilitási barrier vizsgálata hidradenitis suppuratívában**

Kutatásunk során megvizsgáltuk a fő permeabilitási barrier elemeket, nevezetesen a stratum corneumot és tight junctiont mRNS szinten RT-qPCR segítségével. Az SC komponensek közül a CE-képződéssel (FLG, LOR, KRT1, KRT10, TGM5), a deszkvamációval (KLK5, KLK7, KLK14) és a korneodezmoszóma-szerveződéssel (DSG1, DSC1, PKP1, CDSN) kapcsolatos molekulákat tanulmányoztuk, valamint a TJ molekulákat (CDH1, CLDN1, OCLN) és a barrier alarminokat (KRT6A, KRT16) elemeztük léziós és nem léziós HS bőrben, valamint kontrollként egészséges bőrmintákban (AGR). Mivel a génexpressziós szintek nem mindig tükrözik a fehérjeszinteket, az SC és a TJ kialakításában résztvevő reprezentatív képviselőket fehérjeszinten is megvizsgáltuk IHC-val. Fontos megjegyezni, hogy a HS egy follikuláris betegség, ezért a nem léziós HS mintákban a barrier molekulákat külön elemeztük az interfollikuláris és a follikuláris epidermiszben. A léziós HS mintákban a follikuláris epidermiszt nem lehetett kvantifikálni a szőrtüszők egyenlőtlen eloszlása miatt.

### **A permeabilitási barrier funkcionális vizsgálata**

A permeabilitási barrier funkciójának vizsgálatához megmértünk a TEWL-t HS-betegek (n = 16) léziós és nem léziós területein, és összehasonlítottuk egészséges önkéntesek (n = 20) AGR (hónalji) régióiban mért értékeivel. Minden esetben három párhuzamos mérést végeztünk. A léziós HS ( $58,48 \pm 20,26$  g/m<sup>2</sup>h) és nem léziós HS ( $41,5 \pm 20,15$  g/m<sup>2</sup>h) bőrben kapott TEWL-értékek nem különböztek jelentősen az AGR bőrben mért értéktől ( $49,61 \pm 20,81$  g/m<sup>2</sup>h), ami arra utal, hogy a HS-ben nincs kimutatható barrier diszfunkció.

### **A CE- képződéssel kapcsolatos molekulák expressziójának vizsgálata HS-es és AGR bőrben**

Elsőként az SC komponensek közül a CE intracelluláris struktúr molekulák vizsgálatát végeztük el mRNS majd fehérje szinten. A CE kialakításában résztvevő molekulák (FLG, KRT1, KRT10, LOR, TGM5) tekintetében nem találtunk szignifikáns különbséget a nem léziós HS és az AGR minták között sem mRNS, sem fehérje szinten. Bár a legtöbb CE molekula

szignifikánsan alacsonyabb génextpressziós szintet mutatott a léziós HS mintákban a nem léziós HS és az AGR mintákhoz képest; fehérje szinten csak a KRT1 szignifikáns csökkenését tudtuk megerősíteni a léziós HS bőrben egészséges bőrrégióhoz képest.

### **KLK proteázok vizsgálata a HS-es és egészséges bőrrégiókban**

A bőr hámlásában fontos szerepet játszó KLK enzimek mRNS és fehérje szintű vizsgálatakor a nem léziós HS és AGR minták között nem detektáltunk jelentős különbséget. Azonban a KLK5 és KLK7 mRNS szintű kifejeződése szignifikánsan csökkent a léziós HS bőrben a nem léziós HS bőrhöz hasonlóan. Ezzel ellentétben fehérje szinten a KLK7 enzim a léziós HS mintákban szignifikánsan megemelkedett a nem léziós HS és AGR bőrmintákhoz képest. Ugyanakkor a KLK5 szintje az immunfestés alapján szignifikánsan csökkent a léziós HS bőr mintákban AGR bőrrégióhoz képest.

### **Korneodezmoszóma és TJ komponensek vizsgálata HS-es és egészséges bőrrégiókban**

A korneodezmoszóma molekulák mRNS vizsgálata során hasonló expressziós szinteket találtunk a nem léziós HS és AGR bőr mintákban. A nem léziós és léziós HS bőrminták összehasonlításakor azt tapasztaltuk, hogy a CDSN, DSC1 és DSG1 desmoszóma komponensek génextpressziós szintjei szignifikánsan csökkentek a léziós HS mintákban a nem léziós HS mintákhoz képest. Egészséges bőrhöz képest pedig az összes dezmoszóma molekula szignifikánsan alacsonyabb kifejeződést mutatott mRNS szinten a léziós HS bőrben. Fehérje szinten a DSG1 szignifikánsan nagyobb mennyiségben volt kimutatható a léziós HS bőrben az AGR képest, míg a CDSN fehérje expressziója nem tért el a három vizsgált bőrterületen.

A CDH1, CLDN1 és OCLN TJ molekulák gén szintű vizsgálatakor nem találtunk nagymértékű eltérést a nem léziós HS és AGR bőrminták között, viszont léziós HS bőrben a CDH1 és CLDN1 mRNS kifejeződése szignifikánsan csökkent az egészséges és nem léziós HS bőrhöz képest. Ugyanakkor a TJ molekulák fehérje expressziója hasonló volt a három vizsgált mintacsoport interfollikuláris és follikuláris epidermiszének összehasonlítása során.

### **Barrier alarminok vizsgálata HS-es és AGR bőrben**

A KRT6 és KRT16 barrier alarminok mRNS expressziója szignifikánsan megnőtt a léziós HS mintákban az AGR mintákhoz képest. A KRT6 fehérje mennyisége kiemelkedően, de nem szignifikánsan emelkedett a nem léziós HS mintákban az egészséges mintákhoz hasonlóan, azonban a léziós HS bőrben expressziója feltűnően magas volt a nem léziós HS és az AGR bőrhöz képest, ami a festődési mintázatában is tükröződött.

## **Sejtkapcsoló struktúrák organizációjának vizsgálata nem léziós HS és AGR bőrben**

Mivel az mRNS- és fehérje szintű vizsgálataink nem minden esetben mutatták ugyanazt az eredményt (több molekula mRNS-szinten csökkenést mutatott, míg fehérje szinten nem változott), ezért a sejtkapcsoló struktúrák organizációját konfokális mikroszkópiával vizsgáltuk meg. A DSG1 és CLDN1 immunfluoreszcens festésével a (corneo)desmosoma és a TJ struktúrákat vizualizáltuk az egészséges és a nem léziós HS minták epidermiszében. Léziós HS mintákat itt nem vizsgáltunk a szórtüszők nagymértékű károsodása miatt.

Hasonló és jól szervezett expressziós mintázatot detektáltuk a CLDN1 esetében mind a nem léziós HS, mind az AGR minták folliculáris és interfollikuláris epidermiszében. Az interfollikuláris területen a pontok közötti távolságok átlaga szignifikánsan kisebb volt a nem léziós HS-ben mint az AGR mintákban, míg a folliculáris epidermiszben mért távolságok hasonlóak voltak a két mintacsoportban, azonban a távolságok eloszlása nagymértékben átfedett.

A DSG1 kifejeződése a sejtmembrán mentén kevésbé szervezett eloszlást mutatott mind a négy mintában, mint a CLDN-é, és a festődési mintázata mindegyik állapotban hasonlóan mutatkozott. A pontok közötti távolságok átlaga szignifikánsan nagyobb volt a nem léziós HS bőrnek mind a folliculáris, mind az interfollikuláris régiójában, és az adatpontok szórása (azaz az interpuncta távolságok variabilitása) is nagyobb volt a nem léziós HS bőr folliculáris és interfollikuláris régióiban. Összefoglalva, a TJ-k és a corneodesmosomák festődési mintázata hasonló volt a nem léziós HS és AGR mintákban, és a sejtkapcsoló struktúrák távolságával kapcsolatos különbségek nagyon kicsik voltak és ellentétes irányúak (FC HS-NLvs AGR=-1,08 és 1,1, illetve), megerősítve korábbi eredményeinket.

## **MEGBESZÉLÉS**

A disszertációm első témakörével kapcsolatos jelenlegi eredményeink a korábbi tanulmányunkkal összhangban megerősítik, hogy a HS kialakulásában az epidermális KC-k aktivációja indítja el az immunológiai eseményeket. Ezt egyrészt alátámasztja, hogy az összes vizsgált AMP jelentős mértékben expresszálódott már a nem léziós HS bőrben, másrészt az IL-1 $\beta$ , IL-23 és TNF- $\alpha$  is szignifikáns emelkedést mutatott a nem léziós HS bőr epidermiszében, azonban a dermális megjelenésük nem volt még jellemző, ami szintén tovább erősíti a KC-k vezető szerepét a betegség kialakulásában. A dermális IL-23 és a TNF- $\alpha$  kifejeződése csak a léziós HS bőrben mutatott szignifikáns növekedést, a T-sejtek, dendritikus sejtek és makrofágok beáramlásával, valamint az IL-12, IFN $\gamma$ , IL 17A, IL-10, TGF $\beta$  és CCL20

expressziós szintjének megemelkedésével együtt. A léziós HS bőrben az epidermális IL-1 $\beta$ , IL-23, TNF $\alpha$  és CCL2 fehérje szintje szintén magas maradt (további szignifikáns növekedés nélkül), míg az S100A8 és LCN2 szintje még tovább emelkedett a nem léziós HS-hez képest. Összességében ezek az eredmények megerősítik, hogy a KC-k a HS patomechanizmusában már a betegség kezdetekor is kulcsfontosságú szerepet töltenek be.

A KC-k kiemelkedő szerepét a HS-léziók kialakulásának korai fázisaiban már más kutatócsoportok is felvetették. Hotz és munkatársai szintén kimutatták egyes gyulladásozó citokinek, kemokinek és AMP-k fokozott génexpresszióját RT-qPCR és Luminex assay segítségével, bár eredményeik elsősorban HS-betegek szőrtüszőiből izolált KC-k vizsgálatán alapultak. Hasonlóképpen, Coates és munkatársai is megemelkedett AMP-szintet találtak a HSL bőrben, és feltételezésük szerint a HS kialakulását a megváltozott AMP-expresszió okozhatja. További kutatócsoportok is tanulmányozták az AMP-k mRNS- vagy fehérjeszintű változásait nem léziós és léziós HS bőrben, azonban ezekben a vizsgálatokban nem használtak egészséges bőrmintákat kontrollként. Ami az IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  és IL-23 jelenlétét illeti, számos tanulmány csak a dermális jelenlétükre összpontosított, anélkül, hogy kiemelte volna epidermális kifejeződésüket, míg más tanulmányok olyan módszereket alkalmaztak, amelyek nem voltak alkalmasak ezen molekulák in situ kimutatására.

Jelenlegi vizsgálatunkban a KC-k aktivitása a nem léziós HS bőrben nemcsak az interfollikuláris epidermiszben, hanem a follikuláris epidermiszben is erőteljesnek mutatkozott. A follikuláris KC-k kiemelkedő szerepét a HS patogenezisében egy korábbi kutatásunkban is felvetettük már. Ezen korábbi eredményeink szolgáltatták az első bizonyítékot arra, hogy a follikuláris KC-k immunválaszának diszregulációja lehet a HS egyik fő kiváltó oka. A vizsgálat a follikuláris AMP-termelésre fókuszált léziós és nem léziós HS-ben.

Mostani kutatási eredményeink összhangban vannak a fent említett vizsgálatokkal, sőt, eredményeink alapján elmondható, hogy a KC-k molekuláris változásai megelőzik a dermális aktivációt. Az egészséges, nem léziós HS és léziós HS bőrminták összehasonlítása során - RNASeq és RT-qPCR módszerekkel és párhuzamosan morfológiai festési módszerek alkalmazásával - megfigyelhettük a betegség patogenezisének három stádiumát jellemző immunológiai változások lokalizációját. A pikkelysömör esetében már elfogadott, hogy az egészségesnek tűnő, nem léziós bőr az egészséges és a léziós bőr közötti köztes stádiumot képviseli, és prediktív fenotípust mutat. Ugyanezt az elgondolást alkalmazva jelen tanulmányunkban nemcsak a mediátorok epidermális és dermális lokalizációját tudtuk elkülöníteni a bőrszöveten belül, hanem az immunológiai változások lehetséges sorrendjét is ki

tudtuk mutatni a HS kialakulása során. Eredményeink hangsúlyozzák az RNS és az in situ fehérje alapú módszerek együttes alkalmazásának fontosságát is, ahelyett, hogy külön-külön alkalmaznánk őket, ezek az eredmények kiegészítik egymást, és értékes, átfogó adatokat nyújtanak.

Korábbi vizsgálatunkban az egészséges AGR bőrben nagyszámú nem gyulladós Th17-sejtet mutattunk ki, míg a léziós HS bőrben a gyulladós típusú Th17-sejtek domináns jelenlétét detektáltuk. A korábbi tanulmányokkal összhangban a jelenlegi eredményeink arra utalnak, hogy az IL-1 $\beta$  és az IL-23 fokozott epidermális termelése indíthatja el a rezidens T-sejtek fenotípus váltását az IL-17/IL-10-et termelő nem gyulladós Th17 [Th17( $\beta$ )] sejtekről az IL-17/IFN $\gamma$ -t termelő gyulladós Th17 [Th17(23)] sejtekre. Ezt a változást az RNASeq-adatok (heatmap) is megerősítették, amelyek a Th17( $\beta$ ) sejtek fő transzkripciós faktorának, a RORC-nak erősen alulszabályozott mRNS-szintjét, míg a Th17(23) sejtek fő transzkripciós faktorának, a TBX21-nek a jelentősen emelkedett génexpressziós szintjét mutatta HS-ben. Számos tanulmányban leírták, hogy HS-ben a gyulladós Th17-sejtek száma megemelkedik, mellyel egyidőben az effektor Th17/Treg arány emelkedetté válik, ami a betegség patogenezisének fontos lépésének tekinthető. Másrészt a TNF- $\alpha$  epidermális termelődése növelheti az IL-17 gyulladáskeltő potenciálját, mivel a legújabb immunológiai adatok szerint a TNF $\alpha$  és az IL-17 együttes jelenléte szinergista módon, erősebben indukálja a gyulladós mediátorokat, míg az IL-17 önmagában nem képes hatékonyan gyulladást kiváltani.

A TNF- $\alpha$  és az IL-23 citokinek fontosságát bizonyítja, hogy a TNF- $\alpha$  elleni biológiai szereket már engedélyezték a HS terápiájában, és az IL-23 elleni monoklonális antitestek klinikai vizsgálata is folyamatban van. Bár ezek a terápiás szerek jelentős hatékonysággal rendelkeznek HS betegek esetében, azonban mégsem olyan erőssel, mint azt a pikkelysömörös betegeknél tapasztalták. Ennek a jelenségnek az oka eddig ismeretlen. A HS-ben detektált rendkívül magas dermális TNF- $\alpha$  és IL-23 szint lehet erre magyarázat, míg egy másik magyarázat lehet a magas epidermális termelődésük. Hasznos lenne e nagy molekulásúlyú (anti-TNF: 148 kDa; anti-IL-23: 143 kDa) monoklonális antitestek retrográd penetrációjának részletes vizsgálata HS epidermiszben, mely elképzelhetően igen alacsony és így terápiás sikertelenséghez vezethet.

Összefoglalva, a betegség patogenezisének jobb megértése érdekében egy átfogó elemzést végeztünk az egészséges AGR, a nem léziós HS és a léziós HS bőrben több mRNS és fehérje alapú módszerrel. Eredményeink rávilágítottak a KC-k fontosságára a HS

patológiájában, mivel kiemelkedő mediátor termelésük kulcsszerepet játszik a nem gyulladós Th17 sejtek gyulladós típusú Th17 sejtekké való átalkulásában, és erősíti a gyulladást.

A disszertációm alapját képző második tanulmányban a permeabilitási barrier jellemzőit vizsgáltuk HS-ben. A bőr számos funkciója közül az egyik a permeabilitási barrier kialakítása és fenntartása, amely az elsődleges védelmi vonalat biztosítja a különböző exogén fizikai, biológiai és kémiai stresszorokkal szemben. Ugyanakkor a permeabilitási barrier megakadályozza az endogén vízvesztést. A bőr permeabilitási barrier funkciójáért elsősorban a SC réteg és a stratum granulosumban található TJ hálózat felelős.

Krónikus gyulladós bőrbetegségekben, mint az atópiás dermatitisben (AD) és valószínűleg papulopustuláris rosaceában (PPR) is, feltehetően a permeabilitási barrier károsodása aktiválja a KC-kat. AD esetében genetikai és szerzett barrier-károsodás bizonyítottan képes aktiválni a KC-kat, amelyek citokinjei (TSLP, IL-33, IL-25) elindítja a DC-k aktiválódását, ezáltal a 2-es típusú adaptív immunválaszt és a gyulladást. Nemrégiben PPR-ben is nagyon hasonló permeabilitási barrier károsodást írtak le, ami a betegség kialakulásában játszik szerepet. A HS-ben a KC-k elsődleges immunaktivátor szerepét mutattuk ki a disszertációm első részét képző tanulmány során, de a barrier károsodás szerepét, mint KC aktiváló tényezőt nem vizsgálták eddig átfogóan. Ezért megvizsgáltuk a permeabilitási barrier jellemzőit a léziós és nem léziós HS bőrmintákban, és összehasonlítottuk őket az egészséges AGR bőrrel. Célunk az SC és a TJ, mint a permeabilitási barrier két fő barrierelemének vizsgálata volt. A CE kialakulásával, a SC deszkvamációval, az intercelluláris lipidlamellák kialakulásával és a korneodezmoszóma szerveződésével kapcsolatos molekulákat, valamint a TJ molekulákat és a barrier alarminokat elemeztük mRNS és fehérje szinten.

Eredményeink szerint a nem léziós HS bőrben a vizsgált molekuláknak sem az mRNS, sem a fehérje szintű expressziója nem különbözött jelentősen a normál bőrétől. Léziós HS bőrben több molekula mRNS-szintje jelentősen különbözött az AGR bőréhez képest; a relevánsabb, fehérjeszintű vizsgálatok azonban nem tudták megerősíteni ezeket a különbségeket. A léziós HS csak enyhe, és ellentétes irányú változásokat mutatott fehérje szinten (a KRT1 és a KLK5 csökkent, a KLK7, a KRT6 és a DSG1 nőtt). Közülük csak a KRT6 mutatott nagymértékű, azonos irányú változást a léziós HS bőrben mind mRNS, mind fehérje szinten. A KRT6 expressziójáról HS-ben más kutatócsoportok is beszámoltak. Mivel a KRT6 inkább az erősen aktivált és proliferatív KC-k markere patológiás körülmények között, mint barrier alarmin molekula, eredményünk inkább abnormális KC-proliferációra/gyulladásra utal, mint barrier hibára. Funkcionális és konfokális mikroszkópos vizsgálataink megerősítették

immunhisztokémiai eredményeinket, mivel mind a léziós HS, mind a nem léziós HS mintákban hiányoztak a súlyos barrier eltérések; a TEWL és konfokális mikroszkópos eredmények sem jelezték a permeabilitási barrier működésének vagy a junction struktúrák kifejeződésének jelentős károsodását.

Eddig csak néhány tanulmány vizsgálta az permeabilitási barrier a HS-ben. Azonban ők nem alkalmaztak egyidejűleg RNS- és fehérjealapú vizsgálatokat vagy konfokális módszert, és nem vizsgálták le az összes fő barrier elemet. Továbbá a korábbi publikációkban csak a léziós bőrt tanulmányozták, a nem léziós bőrt nem. HS-ben az egészségesnek tűnő nem-léziós bőrt, amely köztes állapotot képvisel a betegek egészséges és léziós bőre között, gyakran használják fel a betegség patogenezis korai eseményeinek (korai mediátorok és sejtkeponensek) kimutatására. Ezért vizsgálatunkba nem léziós HS bőrmintákat is bevontunk.

A rendelkezésre álló, barrier molekulákat vizsgáló tanulmányok közül a CE szerkezeti komponenseit, az FLG-t és a LOR-t Navrazhina és munkatársai vizsgálták, és hasonló eredményeket kaptak, a léziós HS és a kontroll csoportok között nem mutattak ki szignifikáns különbségeket. Megjegyzendő, hogy a fehérje szinteket ebben az esetben nem számszerűsítették. A HS-ben a dezmoszómát alkotó molekulák expressziós szintjét vizsgáló két publikáció eredményei is összhangban voltak a mi vizsgálatunkkal, mivel a DSG1 megnövekedett szintjét találták a gyulladt HS-bőrben. Nem vizsgálták azonban a DSG1 mRNS-szintjét, és nem vizsgáltak nem léziós HS mintákat. Legjobb tudomásunk szerint a TJ molekulák változásait HS-ben korábban nem vizsgálták.

Összefoglalva, eredményeink arra utalnak, hogy a barrier károsodása nem játszik kiemelkedő szerepet a betegség kialakulásában. Mivel a HS folliculáris betegség, fehérjeszintű vizsgálatokat (IHC és konfokális mikroszkópia segítségével) mind az interfolliculáris, mind a folliculáris epidermiszben elvégeztük, és egyik esetben sem tapasztaltunk súlyos barrierkárosodást. Ezen eredmények alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy valószínűleg nem a barrier károsodása, hanem más kiváltó okok, például mutációk, mechanikai stressz, hormonális változások, a verejték megváltozott termelése vagy pH-ja, valamint a diszregulált mikrobióta aktiválhatják a genetikailag érzékeny KC-eket, és a veleszületett, majd az adaptív immunrendszeren át gyulladást indíthatnak el, ami a HS klinikai manifesztációjához vezet.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A hidradenitis suppurativa az apokrin mirigyekben gazdag bőrrégióra lokalizálódó immunmediált gyulladásoos bőrbetegség, mely pathomechanizmusában a Th1/17 citokin környezet már jól ismert; a betegségre jellemző immunmilió kialakulásának stádiumai, időbeli lefolyása azonban még nem. A HS kialakulásnak kezdeti lépéseinek megismerése érdekében végzett vizsgálat során a CD4<sup>+</sup> T-sejtek, CD11c<sup>+</sup> myeloid DC-k és CD163<sup>+</sup> makrofágok számát, valamint a Th1/Th17 immunmilióhoz kapcsolódó molekulák, KC-eredetű faktorok, pro-inflammatorikus molekulák és kemokinek expresszióját elsőként mRNS szinten RNASeq, kvantitatív valós idejű PCR (RT-qPCR) módszerekkel tanulmányoztuk, majd fehérjeszinten IHC és IF segítségével vizsgáltuk meg. Eredményeink alapján elmondható, hogy az összes vizsgált AMP, valamint az IL-1 $\beta$ , IL-23 és TNF-a már a nem léziós HS bőr epidermiszében is jelentős mértékben kifejeződött. Másrészt a dermális IL-23 és a TNF-a csak a léziós HS bőrben mutatott szignifikáns növekedést, a T-sejtek, DC-k és makrofágok beáramlásával, valamint az IL-12, IFN $\gamma$ , IL 17A, IL-10, TGF $\beta$  és CCL20 expressziós szintjének megemelkedésével együtt. Összességében ezek az eredmények megerősítik, hogy a KC-k a HS patomechanizmusában kulcsfontosságú iniciáló szerepet töltenek be.

A második kutatásunk során megvizsgáltuk a HS permeabilitási barriererjét, mint a KC aktivációban szerepet játszó tényező lehetséges szerepét, mivel számos krónikus gyulladásoos bőrbetegségben a permeabilitási barrier károsodása feltehetően a KC-k aktiválódásán keresztül váltja ki a betegség elsődleges lépéseit. Elsőként megmértük a TEWL-t a HS-betegek léziós és nem léziós területein, és összehasonlítottuk egészséges önkéntesek AGR régióiban mért értékeivel. A léziós HS és nem léziós HS bőrben végzett TEWL-mérések nem különböztek jelentősen az AGR bőrben mért értéktől, ami arra utal, hogy a HS-ben nincs kimutatható barrier diszfunkció. Ezt követően mRNS és fehérje szinten tanulmányoztuk a permeabilitási barrier két fő barrierelemét az SC-t és a TJ-t. A cornified envelope kialakulásával, a stratum corneum deszkvamációval, az intercelluláris lipidlamellák kialakulásával és a korneodezmoszómák szerveződésével kapcsolatos molekulákat, és a barrier alarminokat is vizsgáltuk. Eredményeink szerint a nem léziós HS bőrben a vizsgált molekuláknak sem az mRNS-, sem a fehérjeexpressziója nem különbözött jelentősen a normál bőrtől. A HS léziós bőrben bár néhány molekula mRNS-szintje jelentős különbséget mutatott az AGR bőrhez képest, fehérje szinten csak enyhe, ellentétes irányú változásokat tudtunk detektálni (a KRT1 és a KLL5 csökkent, a KLL7, a KRT6 és a DSG1 nőtt). Közülük csak a KRT6 mutatott nagymértékű, és azonos irányú változást a léziós HS bőrben mind mRNS, mind fehérje szinten. A konfokális mikroszkópos

vizsgálataink megerősítették immunhisztokémiai eredményeinket, mivel nem jelezték a permeabilitási barrier működésének vagy a junction struktúrák kifejeződésének jelentős károsodását. Eredményeink alapján valószínűleg nem a barrier károsodása aktiválhatja a genetikailag érzékeny KC-eket, hanem más kiváltó okok, például mutációk, mechanikai stressz, hormonális változások, a verejték megváltozott termelése vagy pH-ja, valamint a diszregulált mikrobióta, melyek együttesen indíthatják el a gyulladást, ami a HS klinikai megjelenéséhez vezet.



Nyilvántartási szám: DEENK/120/2024.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Somogyi Orsolya

Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Somogyi, O.**, Dajnoki, Z., Szabó, L., Gáspár, K., Hendrik, Z., Zouboulis, C. C., Dócs, K., Szűcs, P., Dull, K., Töröcsik, D., Kapitány, A., Szegedi, A.: New Data on the Features of Skin Barrier in Hidradenitis Suppurativa.  
*Biomedicines*. 11 (1), 1-12, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines11010127>  
IF: 4.7 (2022)
2. Dajnoki, Z., **Somogyi, O.**, Retzlerné Medgyesi, B., Jenei, A., Szabó, L., Gáspár, K., Hendrik, Z., Gergely, P., Imre, D., Pólska, S., Töröcsik, D., Zouboulis, C. C., Prens, E. P., Kapitány, A., Szegedi, A.: Primary alterations during the development of hidradenitis suppurativa.  
*J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 36 (3), 462-471, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jdv.17779>  
IF: 9.2

### További közlemények

3. Szabó, L., Kapitány, A., **Somogyi, O.**, Alhafez, I., Gáspár, K., Palatka, R., Soltész, L., Töröcsik, D., Hendrik, Z., Dajnoki, Z., Szegedi, A.: Antimicrobial Peptide Loss, Except for LL-37, is not Characteristic of Atopic Dermatitis.  
*Acta Derm.-Venereol.* 103, adv9413, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.2340/actadv.v103.9413>  
IF: 3.6 (2022)
4. Szabó, L., Dajnoki, Z., **Somogyi, O.**, Gáspár, K., Hendrik, Z., Szabó, I. L., Szöllősi, A. G., Dinya, T., Töröcsik, D., Kapitány, A., Szegedi, A.: Cytokine profile of the epidermis is region specific and may determine the characteristics of inflammation.  
*Exp. Dermatol.* 32 (7), 1120-1131, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/exd.14820>  
IF: 3.6 (2022)





5. Kapitány, A., Retzlerné Medgyesi, B., Jenei, A., **Somogyi, O.**, Szabó, L., Gáspár, K., Méhes, G.,  
Hendrik, Z., Dócs, K., Szűcs, P., Dajnoki, Z., Szegedi, A.: Regional Differences in the  
Permeability Barrier of the Skin: implications in Acantholytic Skin Diseases.  
*Int. J. Mol. Sci.* 22 (19), 1-15, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms221910428>  
IF: 6.208

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 27,308**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
13,9**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai  
ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján  
elvégezte.

Debrecen, 2024.03.26.

