

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Somogyi Orsolya

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

DEBRECENI EGYETEM

**PETRÁNYI GYULA KLINIKIA IMMUNOLÓGIAI ÉS
ALLERGOLÓGIAI DOKTORI ISKOLA**

DEBRECEN, 2024

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

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

Somogyi Orsolya

Témavezető: Prof. Dr. Szegedi Andrea



**DEBRECENI EGYETEM
PETRÁNYI GYULA KLINIKAI IMMUNOLÓGIAI ÉS
ALLERGOLÓGIAI DOKTORI ISKOLA
Debrecen, 2024**

TARTALOM JEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	9
2.1. Bőr felépítése.....	9
2.2 Bőr barrier elemei	10
2.2.1 Mikrobiális barrier.....	11
2.2.2 Kémiai barrier.....	12
2.2.3. Immunológiai barrier.....	12
2.2.3.1. Keratinociták	13
2.2.3.2. A dendritikus sejtek	13
2.2.3.3 A makrofágok.....	14
2.2.3.4. A T sejtek	15
2.2.3.5. Az immunbarrier eltérése a különböző bőrrégiókban	17
2.2.4. Permeabilitási barrier	17
2.2.4.1. Cornifield envelope	18
2.2.4.2. Intercelluláris lipid lamellák képződése	19
2.2.4.3. Korneodezmoszóma	19
2.2.4.4. Korneocita deszkvamáció.....	20
2.2.4.5. Tight junction	20
2.2.4.6. A topográfiai eltérő bőrterületek permeabilitási barrierének a vizsgálata	20
2.3. Hidradentis suppurativa	21
2.3.1. Kockázati tényezők	22
2.3.1.1. Dohányzás, obezitás	22
2.3.1.2. Genetikai faktorok	22
2.4. A HS immunpathomechanizmusa.....	23
2.5. Terápia	25
2.5.1. Helyi kezelés	25
2.5.2 Szisztémás kezelés.....	26
2.5.3. Sebészi kezelés	26
3. CÉLKITŰZÉS	27
3.1. Az immunbarrier vizsgálata HS-ben	27
3.2. A permeabilitási barrier vizsgálata HS-ben.....	27
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	28
4.1. Bőrbiopsziás minták gyűjtése és feldolgozása.....	28
4.2. RNaseq.....	30

4.3. RNS izolálás, Reverz Transzkripció	30
4.4. Kvantitatív Valós-idejű Polimeráz Láncreakció (qRT- PCR)	30
4.5. Immunhisztokémiai (IHC), immunfluoreszcens (IF) és rutin festések	31
4.6. Transzepidermális vízvesztés mérése	33
4.7. Konfokális mikroszkópia	33
4.8 Statisztikai analízis	34
5. EREDMÉNYEK	35
5.1 Immunbarrier vizsgálata HS-ben	35
5.1.1 Az immunológiai jellemzők meghatározása RNASeq vizsgálattal az egészséges AGR, a nem léziós és léziós HS bőrmintákban	35
5.1.2 Immunsejtek vizsgálata HS-es és egészséges AGR bőrben RT-qPCR és IHC módszerekkel.....	36
5.1.3 Th1/Th17-hez kapcsolódó molekulák vizsgálata HS-es és egészséges AGR bőrben RT-qPCR és IHC módszerekkel	37
5.1.4 KC-hez kapcsolódó szenzorok és mediátorok vizsgálata HS és egészséges AGR bőrben RT-qPCR és IHC módszerekkel.....	40
5.1.5. Az IL-23 és a TNF- α immunfluoreszcens festése HS bőr epidermiszében.....	44
5.2. Hidradenitis suppurativa permeabilitási barrier vizsgálatai	45
5. 2.1 A permeabilitási barrier funkcionális vizsgálata	45
5.2.2. CE képződéssel kapcsolatos molekulák expressziójának vizsgálata HS-es és AGR bőrben.....	45
5.2.3.KLK proteázok vizsgálata a HS-es és egészséges bőrrégiókban.....	45
5.2.4. Korneodezmoszóma és TJ komponensek vizsgálata HS-es és egészséges bőrrégiókban	46
5.2.5 Barrier alarminok vizsgálata HS-es és AGR bőrben	46
5.2.6. Sejtkapcsoló struktúrák organizációjának vizsgálata nem léziós HS és AGR bőrben	50
6. MEGBESZÉLÉS	52
7. ÖSSZEFOGLALÁS	58
8. SUMMARY	60
9. IRODALOMJEGYZÉK	62
10. KULCSSZAVAK	68
11. KEYWORDS	69
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	70
13. PUBLIKÁCIÓS LISTA	71

Az értekezésben előforduló rövidítések jegyzéke

AD	Atópiás dermatitis
AGR	Apocrine gland rich, apokrin mirigyben gazdag
AMP	Antimikrobiális peptid
ANOVA	One-way analysis of variancia
CAMP	Cathelicidin
CCL	Kemokin Ligand
cDNS	Komplementer DNS
CE	Cornified envelope
CDH1	Cadherin-1
CDSN	Corneodesmosin
CLDN	Claudin
DAPI	4', 6-diamino-2-fenilindol
DC	Dendritikus sejt
DDC	Dermális dendritikus sejt
DEFB4	Defensin beta 4B
DSC	Dezmocollin
DSG	Dezmoglein
FC	Fold Change
FLG	Filaggrin
GP	Gland poor, mirigyben szegény
HRP	Horseradish peroxidase
hBD	Humán béta-defenzin
HS	Hidradenitis suppurativa
IDEC	gyulladásos dendritikus epidermális sejtek
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobulin
IF	Immunfluoreszcens
IHC	Immunhisztokémia
IL	Interleukin
KC	Keratinocita
KLK	Kallikrein

KRT	Keratin
LC	Langerhans sejt
LCN	Lipocalin
LEKTI	Lympho-epithelial type inhibitor
LOR	Loricrin
MA	Mask area, Maszkolt terület
mRNS	Messenger RNS
NKT	Natural Killer T cell, Természetes ölő sejt
NMF	Natural Moisturizing Factor, Természetes hidratáló faktor
OCLN	Occludin
PAMP	Patogén-asszociált molekuláris mintázat
pDC	Plazmacitoid dendritikus sejt
PKP1	Plakophilin-1
PPIA	Peptidylprolyl isomerase A
PPR	Papulopustular rosacea
PRR	Mintázatfelismerő receptorok
qRT-PCR	Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction, Kvantitatív Valós-idejű polimeráz láncreakció
ROI	Region of interest, értékes terület
S100A	S100 calcium-binding protein-A
SB	Stratum basale
SC	Stratum corneum
SD	Standard deviáció
SG	Stratum granulosum
SGR	Sebaceous gland rich, Faggyúmirigyben gazdag
SIS	Skin Immune System, Bőr immunrendszer
SPINK5	Kazal-típusú szerint proteáz-inhibitor
SPRR	Small prolin rich protein
SS	Stratum spinosum
TEWL	Transepidermal Water Loss, Transzepidermális vízvesztés
TGF	Transzformáló növekedési faktor
TGM	Transzglutamináz
Th	T helper sejt

TJ	Tight junction
TNF	tumor nekrosis faktor
TSLP	Thymic Stromal Lymphopietin
UV	ultraibolya
ZO	Zonulae occludens

1. BEVEZETÉS

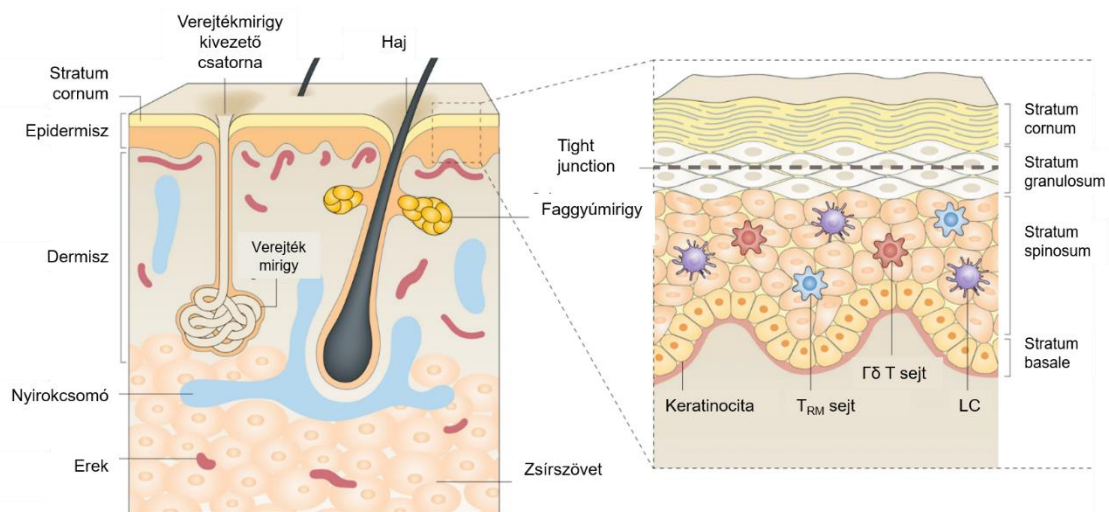
A hidradenitis suppurativa (HS) az apokrin mirigyben gazdag (AGR) bőrrégióra lokalizálódó immunmediált gyulladásos bőrbetegség, melynek pathomechanizmusában a T-helper (Th) 1/17 citokin környezet már jól karakterizált; a betegségre jellemző immunmilió kialakulásának stádiumai, időbeli lefolyása azonban 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.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Bőr felépítése

A bőr testünk egyik legnagyobb szerve, melynek számos fontos feladata van. Fizikai barrierként megakadályozza a kórokozók, toxinok és idegen anyagok behatolását a szervezetbe, így segít megelőzni a fertőzések és betegségek kialakulását; mindemellett csökkenti a vízvesztést és részt vesz a test hőszabályozásában, ezáltal a homeosztázis fenntartásában is fontos szerepe van [1]. A bőr szerkezetét tekintve három rétegből áll: epidermisz (hám), dermisz (írha) és a zsírszövetben gazdag subcutis rétegekből (**1.ábra**).



1.ábra A bőr felépítése Az epidermiszben a stratum corneum alatt (a stratum granulosumban) tight junction struktúrák helyezkednek el. A keratinociták között háromféle immunsejt-populáció (Langerhans-sejtek (LC), $\gamma\delta$ T-sejtek és rezidens memória T-sejtek (TRM)) található. (Forrás: Kenji Kabashima, The immunological anatomy of the skin. Nature Reviews Immunology. 2019,19(1):19-30.)

Az epidermisz a bőr legfelső rétege, vékony, többrétegű elszarusodó laphám, amely négy sejtrétegnyi, fokozatosan differenciálódó KC-ból áll. Nem rendelkezik saját vérrellátással, hanem az alatta lévő rétegekben futó erek táplálják [2]. A hám legalsó rétege a *stratum basale* (SB), amely a sejtek folyamatos megújulásáért felelős. Ez a réteg csak egy sor differenciálatlan epidermális sejtet tartalmaz, a bazális KC-kat, amelyek folyamatosan osztódnak, hogy új sejteket hozzanak létre. A bazális KC-k a következő rétegbe, a *stratum spinosumba* (SS) - más néven tüskés sejtréteg - vándorolnak miközben folyamatosan differenciálódnak. Itt helyezkednek el a melanociták is, melyek a melanin termelés révén biztosítják az ultraibolya (UV) sugárzás elleni védelmet és a bőr pigmentációjáért felelősek. Szintén ebben a rétegben található a Langerhans-sejtek (LC) is [1, 3]. A KC-k oszlopos alakúból sokszögletűvé válnak, és elkezdnek olyan keratinokat (KRT) szintetizálni, amelyek eltérnek a bazális rétegben található keratinoktól. A KC-k egyre laposabbá válnak a differenciálódásuk során ahogy a

stratum granulosum (SG) réteg felé haladnak. Ebben a rétegben a KC-k a sejtmagjukat elvesztik, citoplazmájuk keratohialin szemcséket tartalmaz. Ezek a granulomok hisztidinben és ciszteinben gazdag fehérjéket foglalnak magukba, és fő funkciójuk a KRT filamentumok összekötése. Ezt követi az epidermisz legfelső rétege a *stratum corneum* (SC), amely a bőr legkülső rétegét képezi. Az itt található sejtek a korneociták, melyek elhalt KC-k. Ezek a sejtek megakadályozzák, hogy a káros anyagok behatoljanak a bőrbe, miközben lehetővé teszik a bőr nedvességének megőrzését [1, 3].

A dermisz az epidermisz alatt található, főként kötőszövetből álló réteg, mely kollagén- és elasztikus rostokat tartalmaz, amivel a bőr szilárdságát és rugalmasságát biztosítja. A dermiszben található kapilláris- és nyirokerek oxigénnel és tápanyagokkal látják el az epidermisz sejtjeit, továbbá az immunsejtek be- és kilépési helyeül szolgálnak. A dermiszben a bőr immunrendszerének különböző sejtjei találhatóak meg, köztük a dendritikus sejtek, CD4⁺ T-helper (Th) sejtek, $\gamma\delta$ T-sejtek, természetes ölő sejtek (NKT sejtek) és a makrofágok. Emellett itt helyezkednek el a bőrfüggelékek, mint például szőrtüszők, faggyúmirigyek, valamint idegvégződés is [1, 2, 4].

A bőr legmélyebb rétege a subcutis, amely zsírszövetből és kötőszövetből áll. A subcutisban található zsírsejtek segítenek elszigetelni a testet a külvilágtól, és védik a testet a hővesztéstől [2].

2.2 Bőr barrier elemei

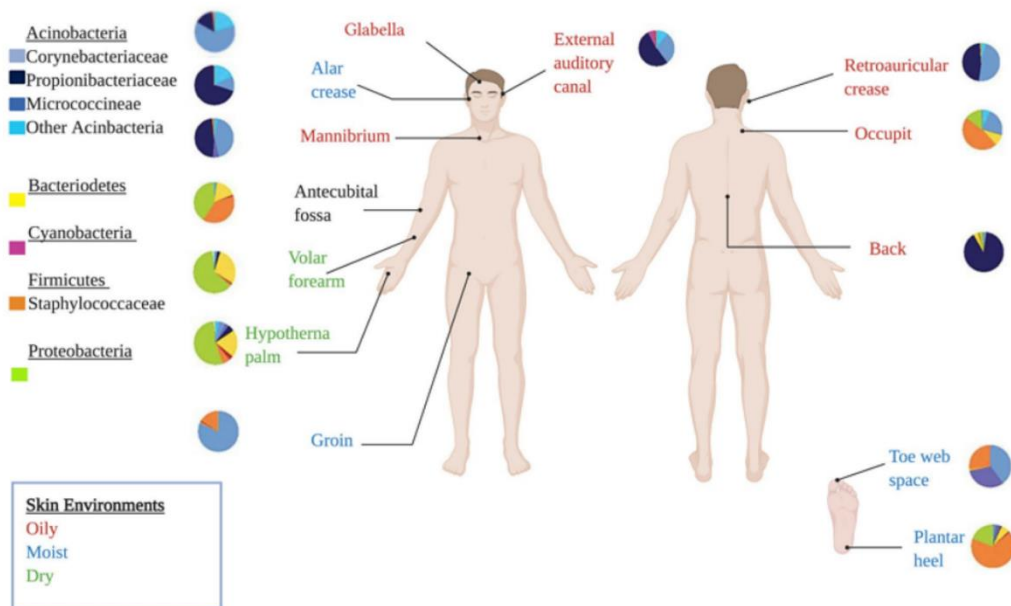
A bőr - mint barrier szerv- legfontosabb feladata a barrier funkció, mely egy komplex, összetett feladatkör. Számos közlemény az egyszerűbb tárgyalhatóság kedvéért a bőr barrier működését négy - funkcionálisan és anatómiailag is eltérő - szintre osztja: a mikrobiális barrier, a kémiai barrier, az immunológiai barrier és a fizikai barrier (permeabilitási barrier) részekre, amelyek egymással át is fedhetnek [5, 6]. Ezek egymással szorosan együttműködve, együttesen játszanak szerepet a bőr homeosztázisának fenntartásában, illetve különböző védekezési mechanizmusokban. Szoros együttműködésük miatt bármelyik elem károsodása a többi elem módosulását eredményezheti, ami később akár gyulladással járó bőrbetegségek kialakulásához járulhat hozzá [5].

Bár az egészséges bőr barrieret korábban egységesnek gondolták, az elmúlt évtizedben mind a 4 fentebb említett szintjéről kiderült, hogy regionális eltéréseket mutat a test különböző területein. A bőr anatómiai és szövettani szerkezete a *stratum corneum* eltérő vastagsága, továbbá a különböző testtájakon található faggyúmirigyek, ekkrin és apokrin mirigyek változó száma miatt jelentős különbségek az egyes régiókban, ami a bőrfelszín változatos kémiai miliójét eredményezi. Ezen különbségek alapján megkülönböztetünk apokrin mirigyben gazdag

(apocrine gland-rich (AGR)), faggyúmirigyben gazdag (sebaceous gland-rich (SGR)), és mirigyben szegény (gland-poor (GP)) bőrrégiókat. Ezzel a változatos kémiai milióval párhuzamosan a bőr mikrobiótája is figyelemre méltó különbségeket mutat a topográfiaileg különböző bőrfelületeken [7, 8].

2.2.1 Mikrobiális barrier

A mikrobiális barrier a bőr legkülső barrier rétege. Az epidermisz külső felszínét egy változatos mikrobiomréteg kolonizálja, amelyben komenzális baktériumok és egyéb mikroorganizmusok találhatóak, például *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Brevibacterium* és *Micrococcus* [5, 7, 9]. Az összetételét számos tényező befolyásolja, mint például a pH, a hőmérséklet, az anatómiai felépítés, a hormonális állapot és az életkor. A komenzális mikrobák képesek kölcsönhatásba lépni a bőr kémiai és immunológiai barrierjével, jelzéseket küldve a KC-knak, mely sejtek antimikrobiális peptideket (AMP-eket) termelnek [10]. Ilyen AMP-k például a humán béta-defenzinek (hBD-k) és a katelicidinek, amelyek gátolják a mikroorganizmusok növekedését [11]. Az AMP-k nemcsak antimikrobiális tulajdonságokkal rendelkeznek, hanem részt vesznek az immunrendszer szabályozásában, a KC aktiválásában és a bőr barrier funkciójában is [6]. Segre és munkacsoportja mutatta ki elsőként, hogy a mikrobiális barrier különbözik az eltérő bőrrégiókban. Az SGR területeken (arc, mellkas, hát) olyan fajok vannak túlsúlyban, amelyek számára ideális a lipidben gazdag, oxigénhiányos környezet. Ilyen például a *Propionibacteria* és a *Malassezia*, amelyek képesek alkalmazkodni ezen körülményekhez. Az AGR bőrrégióban leggyakrabban *Staphylococcus* és *Corynebacterium* fajok találhatóak, míg a mirigyben szegény területeken *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Enhydrobacter* és *Streptococcus* fajok dominálnak [7]. **(2. ábra)**



2.ábra A baktériumok összetételének eltérései a különböző bőrrégiókban. (Forrás: IJ. McLoughlin, Skin Microbiome—The Next Frontier for Probiotic Intervention. Probiotics Antimicrobial Proteins. 2022;14(4):630-647.)

2.2.2 Kémiai barrier

A bőr barrier következő rétege a kémiai barrier, amely magában foglalja a különböző mirigyek váladékát (pl. faggyú), lipideket, valamint a természetes hidratáló faktort (NMF) alkotó elemeket, például aminosavakat és származékait, laktátot, karbamidot és elektrolitokat. Ezek együttesen biztosítják, hogy a bőr barrier megfelelően hidratált, diszbiózistól védett legyen, és olyan pH-val rendelkezzen, amely optimalizálja a kornifikáció, a hámlás és a lipidszintézis enzimátikus működését [5, 12]. A lipidek mind a fizikai, mind a kémiai barriernek részei. Védik az SC-t a transzepidermális vízvesztéstől (TEWL), az UV-sugárzástól és a kórokozóktól. A kémiai barrier másik fontos összetevője a bőr pH-ja, melynek értéke a különböző bőr régiókban eltér a lipidtartalom és a mirigyváladékok eltérései miatt [6]. A bőrünk pH-ja 4,2 és 7,9 között változik. Ezen széles tartományon belül a homlokon savas, 4,75 és 5,04 közötti pH-értékeket mértek, az alkart már egy kevésbé savas pH jellemzi (5,06-5,13), míg a legmagasabb pH-t a hónalj területén mérték (5,84-7,9) [12-14].

2.2.3. Immunológiai barrier

A bőr, mint a külvilággal szembeni elsődleges immunológiai barrier, gazdag immunsejtekben. Veleszületett és adaptív immunsejteket egyaránt tartalmaz, melyek egy komplex hálózatot alkotnak, ezt "bőr immunrendszernek" (SIS) nevezzük [15] (**3.ábra**).

2.2.3.1. Keratinociták

A KC-k a bőr immunrendszerének fontos alkotóelemei. Olyan mintázatfelismerő receptorokat (PRR) expresszálnak, amelyek a behatoló mikroorganizmusokat a sejtfelszínükön kifejeződő patogén-asszociált molekuláris mintázatok (PAMP) révén képesek felismerni. PRR közé tartoznak a Toll-like receptorok (TLR), amiket a KC-k konstitutívan expresszálnak felszínükön. A KC-k képesek immunválaszt kiváltani azáltal, hogy különbséget tesznek az ártalmatlan és a káros mikróbák között [16-18]. A KC-k továbbá érzékelik a sebkárosodást is, és olyan gyulladáshoz vezető citokineket és kemokineket termelnek, mint például interleukin-1 β -t (IL-1 β), IL-8-at és kemokin ligand 20-at (CCL20), amik a leukocitákat a sérülés helyére toborozzák. Ezenkívül képesek antigének bemutatására is a CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek számára, ami adaptív immunválaszt indít el. A KC-k AMP-k, proinflammatorikus citokinek és kemokinek összehangolt termelésével időben reagálnak a káros hatásokra, tehát szerepük sokrétű, és kiemelkedő fontossággal bírnak a bőr egészségének és funkciójának megőrzésében [3, 19-21].

2.2.3.2. A dendritikus sejtek

A bőr dendritikus sejtjeit csoportosíthatjuk az elhelyezkedésük szerint: a Langerhans-sejtek az epidermisz fő DC-alcsoportját alkotják, amelyek a szuprabazális rétegekben, a KC-k között szabályos eloszlásban helyezkednek el, míg a dermális DC-k a dermiszben, közvetlenül az epidermisz dermisz határ alatt, szétszórtan találhatóak [22].

A Langerhans sejteket egy különleges intracitoplazmatikus organelum, a Birbeck-granulum jellemzi. Más sejtektől egérben a langerin, míg emberben a CD1a kifejeződés alapján különböztetik meg. Az LC-k az elsők között találkoznak a mikrobiális antigénnel, és mivel képesek felismerni az idegen anyagokat és immunválaszt elindítani, kulcsfontosságúak a bőr immunitásában. *In vitro* vizsgálatok kimutatták, hogy a LC-k lipid antigéneket és mikrobiális fragmentumokat vesznek fel az effektor T-sejtek számára történő prezentáció céljából, továbbá fontos szerepet játszanak a tolerancia fenntartásában is a normál bőrben azáltal, hogy a regulatorikus T sejtek aktiválódását és proliferációját indukálják [23]. Az atópiás betegek epidermiszében megtalálható egy további epidermális DC-alcsoport is, az úgynevezett gyulladáshoz vezető dendritikus epidermális sejtek (IDEC), amelyeket a CD206 mannóz receptor expressziója különbözteti meg a Langerhans-sejtektől. Az IDEC sejteket az Fc ϵ RI receptor overexpressziója jellemzi [24-26].

A dermális dendritikus sejtek (DDC) a dermiszben helyezkednek el, képesek felismerni a kórokozókat és az antigéneket, majd ezeket továbbítják a nyirokcsomókba, ahol a T és B-sejtekkel találkozva immunválaszt indítanak el. A DDC-k fontos szerepet játszanak a bőr

allergiás reakcióinak szabályozásában és a bőr sebgyógyulási folyamataiban is. Az általuk termelt növekedési faktorok segítik a sejtek regenerálódását, ami gyorsítja a sebgyógyulást [1]. Az emberi bőrben három fő dermális DC-alcsoportot azonosítottak: a CD1c⁺, a CD141^{hi} myeloid DC-eket (mDC-k) valamint a monocyta-szerű CD14⁺ alcsoportokat. A myeloid DC-k a CD11c, CD13, CD33 és CD11b tipikus myeloid antigéneket expresszálják, és CD1c⁺ és CD141⁺ frakciókra oszthatók. A CD1c⁺ mDC-k a humán mDC-k fő populációja, mely DC-k jó stimulátorai a naív CD4 T-sejteknek, de a CD141⁺ DC-khez képest kevésbé képesek antigén keresztprezentálására a CD8 T-sejtek számára. Stimuláció esetén tumor nekrozis faktor- α -t (TNF- α), interleukin-8-at (IL-8) és IL-10-et választanak ki, és IL-12-t termelnek válaszul a TLR7/8 ligációra. A CD141 kifejeződését a humán vér mDC-k mintegy 10%-án az ezredforduló környékén figyelték meg, de azóta a CD141⁺ DC-eket több szervben is azonosították: a nyirokcsomóban, a mandulákban, a lépben, valamint a bőrben, a tüdőben és a májban is. A szövetekben és nyirokcsomókban található CD14⁺ DC-k a CD11c⁺ sejtek egy harmadik alcsoportja, amelyet eredetileg "interstitialis DC-ként" írtak le. Ezek inkább monocita- vagy makrofág-szerű sejtek [22, 26, 27].

A plazmacitoid DC-k (pDC) előfordulása ritkább az emberi bőrben, és főként a dermiszben találhatóak. Elsősorban az jellemzi őket, hogy vírusfertőzések során nagy mennyiségű 1-es típusú IFN-t képesek termelni, továbbá serkentik a makrofágokat és a DC-eket, és indukálják az NK sejtek aktiválódását és vándorlását. Antigénprezentáló sejt-ként elősegítik a T-limfocita válaszokat, az immunregulációt, a plazmasejtek differenciálódását és az antitest-szekrúciót. Fontos szerepük van bizonyos bőrbetegségekben, például psoriasisban [28, 29].

2.2.3.3 A makrofágok

A bőr makrofágjai kulcsfontosságú szerepet játszanak a bőr immunvédelmében és az immunfolyamatok szabályozásában. Fő szerepük a fagocitózis, azaz a kórokozók és az elhalt sejtek eltávolítása a bőrből. Emellett képesek az antigénprezentációra, továbbá fontos szerepet játszanak bizonyos citokinek (IL-1, IL-6, TNF- α és IL-12) termelésben, amelyek befolyásolják a bőrben levő sejtek működését és a bőr immunfolyamatait. Részt vesznek a szöveti regenerációban és a sebgyógyulásban is, mivel elősegítik a sejtosztódást és a sejtek migrációját, illetve a bőr immunológiai homeosztázisának fenntartásában is részt vesznek. A CD163-at a dermális makrofágok jó markerének tartják, mivel specifikusan azonosítja a bőrspecifikus makrofágokat [2, 30].

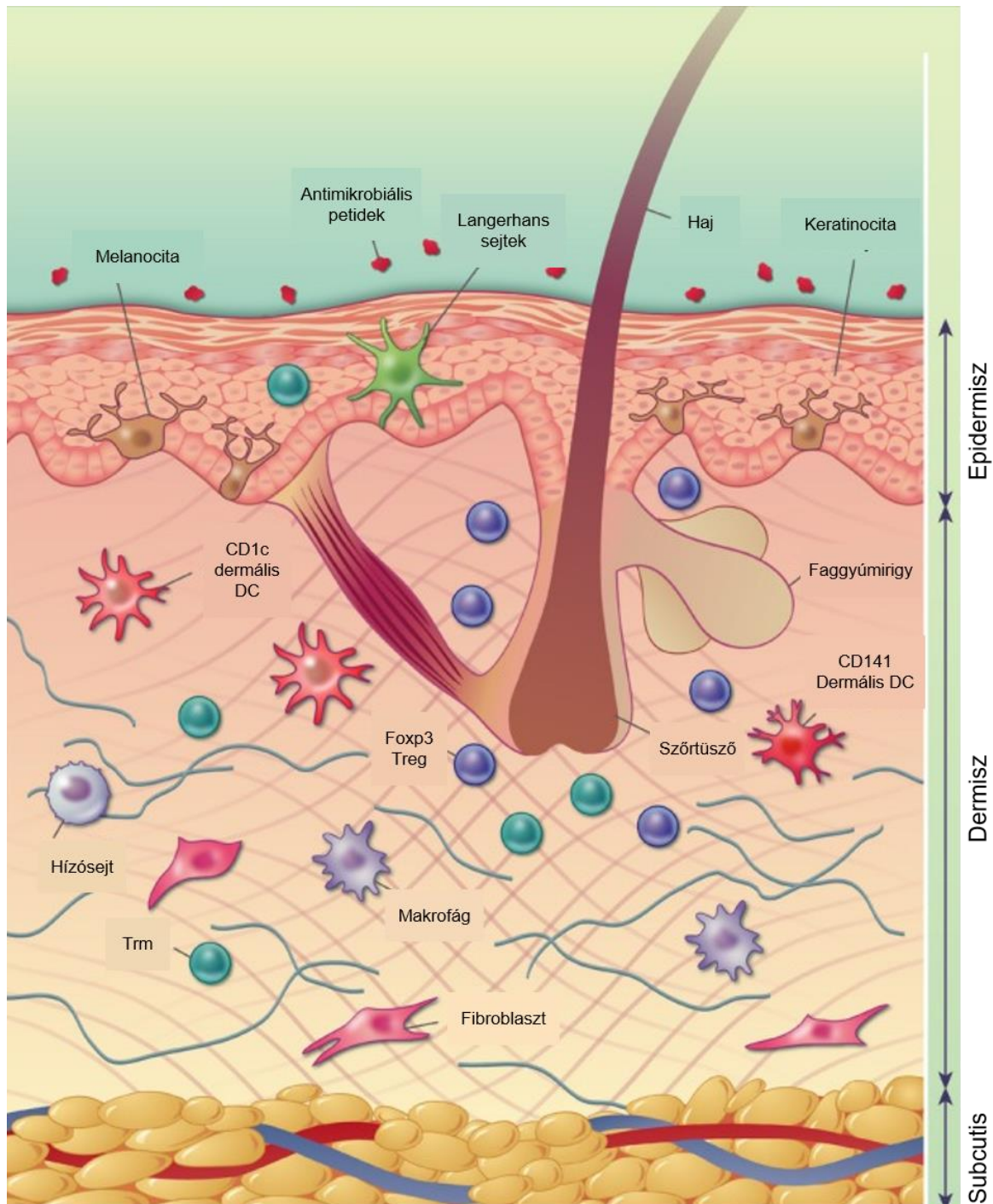
2.2.3.4. A T sejtek

Az egészséges bőrben található T-sejtek száma közel kétszer annyi, mint a perifériás vérben levőké. Az epidermiszben a T-sejtek főként a bazális és szuprabazális rétegben oszlanak el, gyakran a Langerhans-sejtek közvetlen közelében, míg a dermiszben elsősorban a posztkapilláris venulák körül csoportosulnak, és gyakran közvetlenül a dermális-epidermális junkció alatt vagy a bőrfüggelékek szomszédságában helyezkednek el. A bőrben található effektor T-sejteknek két fő alcsoportja van: a CD4⁺ és a CD8⁺ T-sejtek, melyek körülbelül azonos számban vannak jelen a bőrben, és a legtöbbjük CD45RO és más memóriamarkereket kifejező memória T-sejt. A CD4⁺ Th-sejtek öt fő típusát azonosították a bőrben különböző gyulladásos betegségek során: a Th1, Th2, Th17, Th22 és Th9 sejteket [1, 31-33].

A Th1 sejtek intracelluláris kórokozókkal történő fertőzések során vannak jelen, és leginkább I-es típusú citokineket termelnek, mint pl. interferon (IFN) γ -t, IL-2-t vagy transzformáló növekedési faktor (TGF)- β -t, a mikroorganizmusok elpusztítására [34, 35]. A Th2 típusú sejtek II-es típusú citokineket termelnek, elsősorban IL-4, IL-5, IL-13, IL-24, IL-25 és IL-31-et. Központi szerepet játszanak olyan atópiás betegségekben, mint az asztma, az atópiás dermatitisz és az ételallergiák, valamint a parazita férgek elleni védekezésben [36-38]. A Th17 sejtek nélkülözhetetlenek a különféle gombás és bakteriális fertőzésekkel szembeni védekezésben. Ez az alcsoport nem gyulladásos (nem-patogén), más néven "Th17(β)" és gyulladásos (patogén) Th17, azaz "Th17(23)" sejtekre osztható. IL-23 hatására a nem patogén Th17 sejtek patogén formává alakulnak, amely olyan autoimmun betegségek kialakulásában játszanak szerepet, mint a pikkelysömör, a rheumatoid arthritis és a sclerosis multiplex [39]. Nemrégiben a keringő T-sejtek egy olyan alcsoportját azonosították AD-ban, amely IL-22-t termel, viszont IL-17-et vagy IFN- γ -t nem. Ezeket Th22-es sejteknek nevezzük. A bőrben található Th22 sejtek CCR4, CCR6 és CCR10-et expresszálnak. Funkciójuk az IL-22-höz köthető, ami egy olyan IL-10-családba tartozó citokin, ami pro- és antiinflammatorikus hatással is bír, és melyet Th22 sejtek mellett a Th1, Th17 és γ dT sejtek is termelnek [40]. A Th9 sejtek Th2 típusú vagy naiv T-sejtekből IL-4 és TGF β hatására jönnek létre. Ezek a sejtek TNF- α -t, granzim B-t és IL-9-et termelnek. Az IL-9-t termelő Th9 sejtek száma pikkelysömörben és AD-ben megemelkedik [41, 42].

A CD8⁺ T-sejtek, más néven killer vagy citotoxikus T-limfociták, melyek felismerik az MHC-I antigéneket és fontos szerepet játszanak különböző bőrbetegségekben. Alapállapotban a bőr CD8⁺ T-sejtjei rezidens memória (Trm) sejtek, amelyek az epidermiszben találhatóak, és nem kerülnek a keringésbe. Főként vírusfertőzött sejtek és a daganatsejtek ellen harcolnak,

ezenkívül részt vesznek a bőr immunválaszának szabályozásában és a sejtes immunválasz kialakításában [43, 44].



3.ábra Az emberi bőr immunbarrier felépítése A bőr felszínén antimikrobiális peptidok és lipidek találhatóak, amelyek egy része a szőrtüsző közelében található faggyúmirigyből származik. Az epidermisz leginkább keratinocitákból áll, amelyek között melanociták, Langerhans-sejtek és rezidens T memóriasejtek (Tm) is találhatóak. A dermisz a sejtek sokféleségét tekintve változatosabb, itt helyezkednek el a fibroblasztok, valamint az immunsejtek, mint például a dermális dendritikus sejtek

(DC-k), a makrofágok, a CD4⁺ és CD8⁺ T sejtek, a hízósejtek és a Foxp3⁺ regulatórikus T sejtek. A bőr legalsó rétege a bőr alatti zsírréteg, amely elsősorban adipocitákból áll. (Forrás: Emma S Chambers, Skin barrier immunity and ageing. Immunology.2020;160(2):116-125)

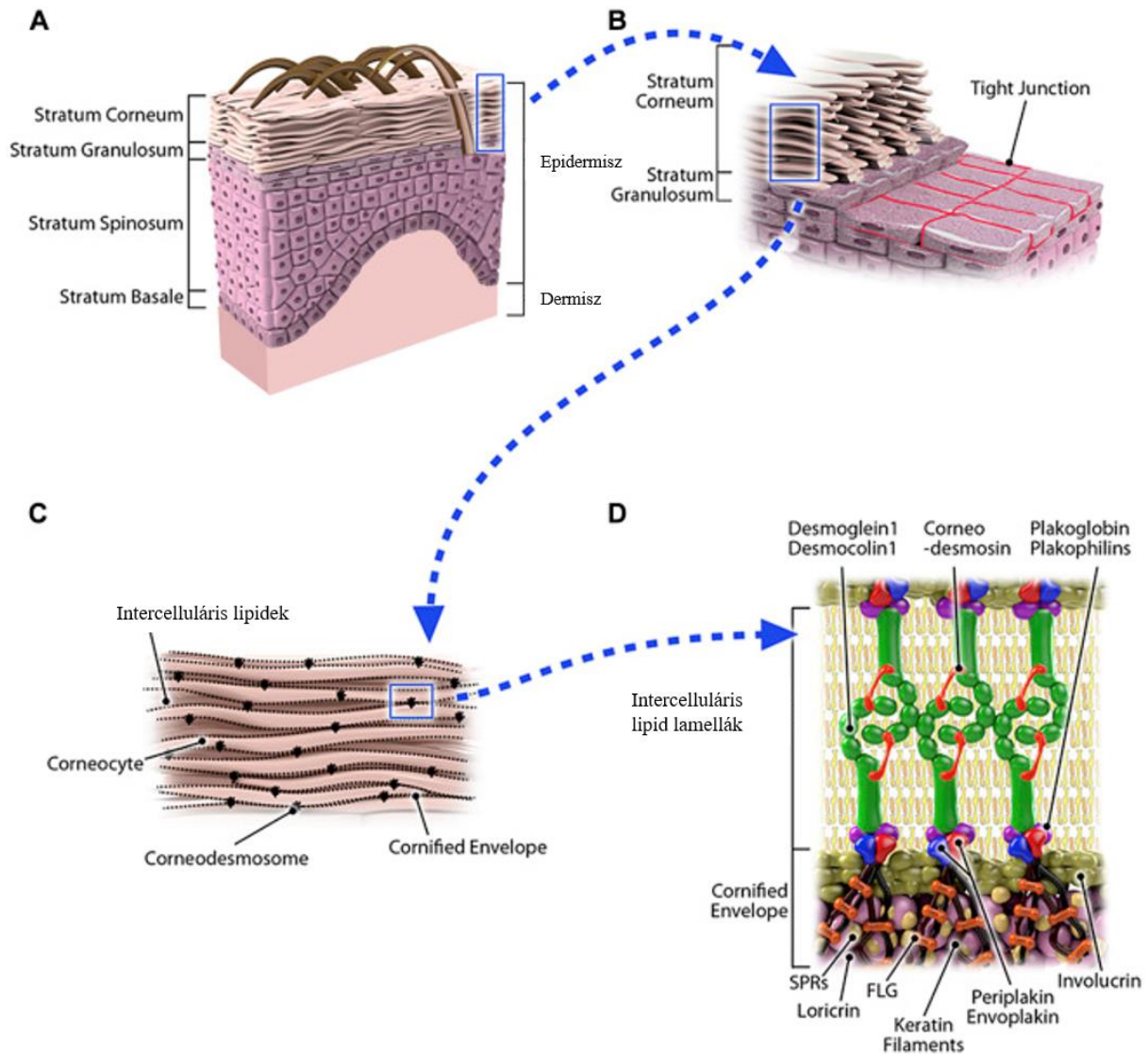
2.2.3.5. Az immunbarrier eltérése a különböző bőrrégiókban

Mivel a mikrobióta régióspecifikus eltéréseket mutat, és azt is kimutatták, hogy a mikrobióta hatással van a bőr immunrendszerére, felmerült a kérdés, hogy az immunbarrier is mutat-e hasonló különbségeket a különböző bőrterületeken? Ezt vizsgálva munkacsoportunknak elsőként sikerült bizonyítania, hogy a különböző bőrterületek jellegzetes, egymástól eltérő veleszületett és adaptív immunbarrier milióval rendelkeznek. Korábbi vizsgálataink során az SGR bőrben szignifikánsan nagyobb számú, nem gyulladáso CD11c⁺ DC, CD4⁺ T-sejt jelenlétet és jellegzetes IL17/IL10 citokin expressziós mintázatot detektáltunk. Emellett megnövekedett kemokin (CCL2, 3, 19, 20, 23, 24) és antimikrobiális peptid (S100A7, A8, A9, lipocalin, β-defenzin-2) expressziót figyeltünk meg az SGR bőrben a GP-hez képest. Összességében tehát az SGR bőrrégiót egy nem gyulladáso Th17/IL-17 dominancia jellemzi a GP-hez képest [45, 46]. Egy másik vizsgálatunkban arra voltunk kíváncsiak, hogy az AGR bőrrégió immun-barrierje is különbözik-e a GP régiótól. Kimutattuk, hogy az AGR bőrrégiót is egy nem gyulladáso IL17/IL10 citokin környezet jellemzi, az SGR bőrhöz hasonlóan megnövekedett CD11c⁺ DC és CD4⁺ Th sejt számmal. Az IL-17-hez kapcsolódó kemokinek és AMPk expressziója az AGR bőrben is szignifikánsan megemelkedett a GP régiókhöz képest [47]. Az egyik legújabb kutatásunk során a különböző KC-eredetű citokinek expresszióját vizsgáltuk a három régióban. Kimutattuk, hogy az SGR és a GP terület eltérő citokin mintázatot mutat: míg az SGR bőrre az IL-23 és IL-17C, addig a GP régióra az IL-25, IL-33, IL-36RA és IL-38 citokinek jelenléte a jellemző. A nedves bőrterület kevert citokin mintázattal rendelkezik [48].

2.2.4. Permeabilitási barrier

Míg a bőr immunrendszerét különböző sejtek és oldható mediátorok komplex hálózata alkotja, a bőr permeabilitási barrierjének felépítésében két fő elem, a stratum corneum és a tight junction (TJ) vesz részt [49]. A bőr barrier funkciója nagymértékben függ az SC-től, a hám legkülső rétegétől, ami a keratinociták differenciálódásának szigorúan szabályozott folyamata, a kornifikáció során alakul ki. A KC-k az elszarusodást a korábban leírt módon, az epidermisz sejtrétegein keresztülhaladva érik el. Az SC-ben található ellaposodott, magnélküli KC-kat már korneocitáknak nevezzük, melyek membránját egy speciális barrier-struktúra, a cornified envelope (CE) váltja fel. A KC-k által termelt keratohialin granulomok az SC intracelluláris elemeit tartalmazzák (pl. filaggrin [FLG], lorikrin [LOR] és keratin filamentumok), míg a

lamelláris testek extracelluláris komponenseket (pl. lipidek, corneodesmosin és kallikreinek [KLK-k]) tárolnak. Az SG és az SC határán a lamelláris testek kiválasztódnak a korneociták közötti térbe, és lipid természetű anyagokkal töltik fel azt. Így ezeket a struktúrákat gyakran téglaként (korneociták) és habarcsként (intercelluláris lipidek) asszociálják, melyek együttesen egy erősen hidrofób barriert képeznek a környezettel szemben [49, 50]. (4. ábra)



4.ábra A bőr barrier struktúrája. **A,** Az epidermisz felépítése. **B,** Az SC és a TJ szerkezete. **C,** Az SC "tégla és habarcs" struktúrája. **D,** A CE és a corneodermoszóma felépítése. (G. Egawa, Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2016;138(2):350-358.e1.)

2.2.4.1. Cornifield envelope

A CE egy speciális barrierstruktúra, melyet a SC-ban található differenciált, sejtmag nélküli KC-k (korneociták) alakítanak ki, és mely a sejtfalhoz hasonlóan ellenálló burokként veszi körül a KC-k sejtmembránját. Legfőbb feladata, hogy védelmet biztosítson a környezettel szemben [51]. A CE erősen térhálósodott, oldhatatlan fehérjékből és a rajta lehorgonyzó

extracelluláris lipidekből áll. Kialakulása az SS felső sejtrétegeiben kezdődik. A megnövekedett intracelluláris Ca^+ -szintre válaszul a KC-k envoplakint, periplakint és involukrint kezdenek el termelni, majd az envoplakin és periplakin heterodimereket alkot, amelyek az involukrinnal együtt a plazmamembrán alatt halmozódnak fel [52]. Ez a három fehérje a transzglutamináz (TGM) 1 és 5 segítségével kapcsolódik egymáshoz, és fokozatosan egy monomolekuláris réteget képeznek a plazmamembrán teljes belső felszíne mentén [53]. Az involukrin a CE vázaként működik, míg a plakin dimerek a keratin filamentumok kötőhelyeként funkcionálnak, és összekapcsolják őket a dezmoszómális fehérjékkel. Mivel a plakin fehérjék szorosan keresztkötődnek az involukrin vázhoz, a dezmoszómák és a keratin filamentumok mereven kapcsolódnak a CE-ben, ezáltal mechanikai szilárdságot biztosítanak a korneociták számára [49]. Ezt követően a granuláris rétegben egyes lipidek kovalensen kötődnek a CE fehérjékhez, valamint lezajlik a LOR keresztkötődése a small prolin rich fehérjékhez (SPR) a TGM3 és TGM1 enzimek segítségével [51, 54]. Ez a folyamat többször megismétlődik, ami egy megerősített CE-t eredményez, amelyben a fehérjék 80%-a LOR-ból áll. Ezután a lipid envelope kialakulása során a Golgiból származó, lamelláris test lipidjei a TGM5 és TGM1 által keresztkötődnek a már keresztkötött fehérjékhez (envoplakin, periplakin, involukrin). Végül a TGM1 extracelluláris ceramid-lipideket is hozzáköt az involukrin vázhoz, és végül a ceramidok helyettesítik a plazmamembrán lipid kettősrétegét [51, 55].

2.2.4.2. Intercelluláris lipid lamellák képződése

A sejtek közötti lipidek (a "habarcs") az SC barrier szerves részét képezik. Ceramidok, szabad zsírsavak és koleszterin heterogén keverékéből épülnek fel. Ezek a lipidek az SG-ben termelődnek és lamelláris testekben tárolódnak, melyek később az extracelluláris térbe választódnak ki. A lamelláris testek transzmembrán szállítását az ABCA12 lipid transzporter végzi [56].

2.2.4.3. Korneodezmoszóma

A korneociták összekötését a korneodezmoszóma, a KC-k összekötését a dezmoszóma teszi lehetővé. A dezmoszóma 3 fehérjecsalcából áll: dezmoszómális kadherin, armadillo és plakin fehérjékből. A korneodezmoszómában a dezmoглеin 1 és a dezmocollin 1 (a kadherin család tagjai) kölcsönhatásba lép a plakoglobinnal és a plakofilinnekkel (armadillo fehérjék), amelyek az envoplakinhoz és a periplakinhoz kapcsolódnak. A korneodezmoszin a korneodezmoszómális adhézió másik fontos eleme. A lamelláris testekben tárolódik, és az SC intracelluláris terébe szekretálódik, hogy kölcsönhatásba lépjen a kadherin fehérjékkel és

elősegítse azok adhézióját. A korneodezmoszóma rendellenességei hajlamossá teszik a bőrt a szarurétegek rendellenes hámlására, ami bőr barrier sérüléséhez és gyulladáshoz vezethet [57].

2.2.4.4. Korneocita deszkvamáció

A szarurétegek folyamatosan leválnak az SC felszíni rétegeről. Ezt a jelenséget hámlásnak, vagy deszkvamációnak nevezik, és az SC homeosztázisának a fenntartásában egy igen fontos folyamat. A deszkvamációt elsősorban a KLK-hez kapcsolódó peptidázok, mint például a KLK5, KLK7 és KLK14 proteolitikus kaszkádja szabályozza. Ezeknek a proteázoknak az aktivitása pH-függő, és fokozódik, ha az SC pH-értéke megemelkedik [58]. Aktivitásukat egy proteáz-inhibitor koktél is szigorúan szabályozza, amibe bele tartozik a limfo-epiteliális Kazal-típusú 5 szerin-proteáz-inhibitor (LEKTI), amelyet a szerin-proteáz-inhibitor Kazal-típusú 5 (SPINK5) kódol. A KLK-k és a LEKTI lamelláris testekben tárolódnak, és a sejtek közötti térbe szekretálódnak az SG-SC határfelületen. A KLK-k hasítják a korneodezmoszómális kadherineket, ezáltal elősegítik a korneociták hámlását [59].

2.2.4.5. Tight junction

Az SC mellett a TJ-k olyan struktúrák, amelyek nélkülözhetetlenek a bőr barrier integritásához. A bőr SG rétegében a TJ-k a szomszédos keratinociták közt szoros kapcsolatot alakítanak ki, így barrierként működnek a víz és az oldott anyagok számára. A TJ-k transzmembrán fehérjékből, különösen claudin és occludin családokba tartozó fehérjékből, valamint számos citoszolikus vázfehérjékből, mint például, zonula occludensből (ZO) állnak. Mivel a bőr felszínének nagy részét az SC borítja, így ezeken a részeken a TJ-k másodlagos védelmi vonalként működnek a kórokozókkal szemben; azonban elsődleges barrier struktúraként szolgálnak az SC-vel nem rendelkező bőrfüggelékben, például a szőrtüszőkben és a verejtmirigyekben. Jól ismert, hogy a szőrtüszők fontos "mellékútvonalak" a bőrbe jutó gyógyszerek és vegyi anyagok számára. [60]

2.2.4.6. A topográfiai eltérő bőrterületek permeabilitási barriérének a vizsgálata

Mivel a 3 barrier egység, azaz a kémiai milliő, a mikrobióta összetétel és az immunaktivitás is jelentős különbségeket mutat a különböző egészséges bőrterületeken, kutatócsoportunk egy korábbi vizsgálatában célul tűzte ki a permeabilitási barrier fő komponenseinek (stratum corneum és TJ) összehasonlítását mRNS és fehérje alapú módszerekkel, valamint a dezmoszómák és TJ-k eloszlásának vizsgálatát konfokális mikroszkóppal egészséges SGR, AGR és GP bőrterületeken. Emellett funkcionális vizsgálatként meghatároztuk a transzepidermális vízvesztés mértékét is. Eredményeink szerint a CE struktúrkomponensek hasonlóan fejeződtek ki a mirigyben gazdag (SGR és AGR) és GP

területeken mind gén, mind fehérje szinten. Ezzel szemben az SGR/AGR területeken szignifikánsan alacsonyabb fehérje expressziót mutattunk ki a korneodezmoszómákat (DSG1 és CDSN) és a TJ-ket (OCLN és CLDN1) alkotó fehérjék esetében a GP területekhez képest, (bár mRNS szinten hasonlóan fejeződtek ki ezek a molekulák a vizsgált bőrrégiókban). Ezzel párhuzamosan a KLK proteázok szintje szignifikánsan magasabb volt a mirigyben gazdag régiókban. Ezenkívül a mirigyekben gazdag területeken a TEWL is szignifikánsan magasabbnak mutatkozott a GP bőrhöz hasonlítva. Megállapításaink szerint tehát bőrünk permeabilitási barrierje sem egységes, a mirigyekben gazdag területeket a GP régiókhoz képest gyengébb permeabilitási barrier jellemzi. Ezek az eredmények fontos klinikai jelentőséggel is bírnak, hiszen magyarázatot adhatnak bizonyos acantholyticus bőrbetegségek mirigyekben gazdag bőrterületeken való lokalizációjára (pl. Pemphigus foliaceus, Darier-kór és Hailey-Hailey-kór) [61].

2.3. Hidradentis suppurativa

A hidradentis suppurativa (HS), korábbi néven acne inversa, egy gyulladással járó bőrbetegség, amely az átlagos populáció körülbelül 1% -át érinti, a HS előfordulására vonatkozó epidemiológiai adatok 0,00033% és 4,1% között mozognak [62]. A kórképben megfigyelhető a női dominancia. A betegeknél fájdalmas, gyulladt csomók, váladékozó fisztulák és tályogok alakulnak ki, melyek tipikusan a test axilláris, inguinális, gluteális és perianalis régióinak bőrredőiben fordulnak elő [63]. Általában korai felnőttkorban kezdődik, és a tünetek sok esetben annál súlyosabbak, minél fiatalabb korban jelentkezik a betegség [64]. A betegség klinikai súlyosságát többek között a Hurley stádiumok alapján lehet megállapítani [65].

A HS etiológiája multifaktoriális, magában foglalja a genetikai és környezeti tényezőket, az életmódot, a hormonális állapotot és a mikrobiom változásait. Ezek a tényezők a bőr immunrendszer aktiválásához, és először szubklinikai majd manifeszt gyulladáshoz vezethetnek az apokrin miriggyel rendelkező terminális szőrtüszők körül, és a folliculus infundibulumának hiperkeratózisát, majd a szőrtüsző elzáródását és rupturáját eredményezik. Súlyos, életminőség romlással járó bőrgyulladás alakul ki, ami a legtöbb krónikus bőrbetegséggel ellentétben végül a kiterjedt gennyképződés mellett irreverzibilis szövetpusztulást és hegeseledést is eredményez az apokrin mirigyben gazdag régiókban [66]. A HS nem fertőző betegség, de a baktériumok szaporodása a hajlatokban, különösen az elzáródott szőrtüsző egységekben fokozza az immunrendszer aktivációját, ami kulcsfontosságú szerepet játszik a bőrelváltozások progressziójában. A veleszületett immunrendszer (például

makrofágok és granulociták) és az adaptív immunrendszer (például a Th1 sejtek és a Th17 sejtek) rezidens és vándorló sejtjei proinflammatorikus citokineket (TNF- α , IL-1 β és IL-17) szekretálnak a szöveti sejtek aktiválására, tovább fokozva az immunsejt infiltrációt és gyulladást [67, 68].

A HS gyakran társul más betegségekkel, mint például rheumatoid arthritis, psoriasis, metabolikus szindróma, 2-es típusú cukorbetegség, érlemeszesedés vagy gyulladással járó bélbetegség (IBD) és depresszió. A metabolikus és a kardiovaszkuláris elváltozások hozzájárulnak a HS betegek életminőségének további romlásához [69-75].

2.3.1. Kockázati tényezők

2.3.1.1. Dohányzás, obezitás

A HS-ban szenvedő betegek kb. 90%-a dohányzik, vagy korábban dohányzott, és a dohányzás, különösen a nikotin, különféle módon járulhat hozzá a betegség kialakulásához és progressziójához [76, 77]. A nikotin epidermális hiperpláziát okoz, ami infundibularis hiperkeratózishoz és elzáródáshoz vezethet, továbbá elősegíti a baktériumok szaporodását és az intracelluláris felhalmozódásukat [78]. Ezenkívül növeli a HS patogenezisében fontos citokin, az IL-10 termelését az aktivált immunsejtekben [79]. A HS betegek körében gyakori az elhízás (60%) is, ami tovább fokozza a gyulladást. Az obezitás főként a szubklinikai gyulladáson, az anyagcsere-változásokon keresztül és a bőrredők fokozott súrlódása révén járulhat hozzá a HS patogeneziséhez [69].

2.3.1.2. Genetikai faktorok

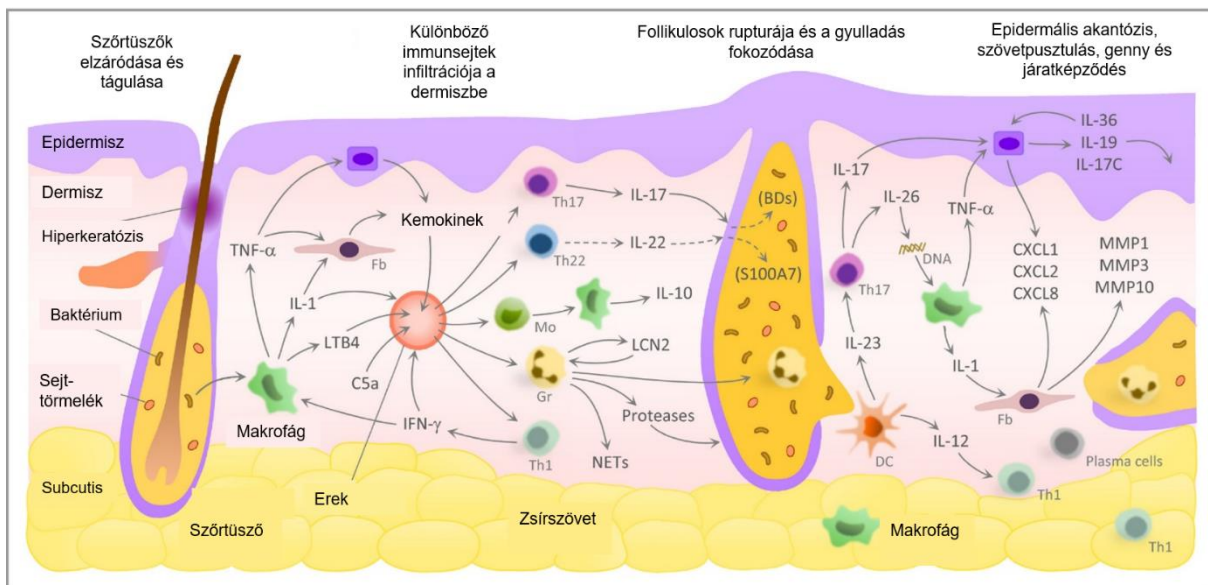
A genetikai háttér fontosságára akkor figyeltek fel először, amikor Fitzsimmons és Guilbert 23 beteg családból 14-ben észlelte a betegség családi halmozódását [80]. Gyakorlatban a betegek körülbelül 30-40% -a számolt be pozitív családi anamnézisérről, amely autoszómális domináns öröklésmenetet mutat [81]. 2006-ban Gao és munkatársai egy kínai család tagjain teljes genom vizsgálatot végeztek, amely 4 generációban mutatott autoszómális domináns öröklődési mintázatot. Feltérképezték a HS kialakulásában szerepet játszó régiót, amely az 1. kromoszómán helyezkedik el (1p21.1–1q25.3) és több mint 800 lehetséges gént tartalmazott. 2010-ben Yang és munkatársai ezt a régiót tovább szűkítették (1q21,3–1q23,2), amely már csak 200 génből állt [82]. Ugyanabban az évben egy másik kutatócsoport (Wang és munkatársai) hat kínai család teljes genom vizsgálatát végezte el, amely során a betegséget okozó gént a γ -szekretáz komplex összetevőjeként azonosították, és a nicastrin gént találták a korábban azonosított 1p21.1-1q25.3 régióban [83]. A γ -szekretáz több különböző mutációját írták le a HS-ben, ezek többségét a nicastrin alegység génjében. A γ -szekretáz károsodás és a HS közötti

kapcsolatot a γ -szekretáz komponensek genetikai hiányában szenvedő fiatal egerekben bekövetkező bőrelváltozások támasztják alá. Egérmodellekben a γ -szekretáz hiány a szőrtüszők epidermális cisztákká alakulását és a faggyúmirigyek hiányát eredményezi, ez utóbbi megfigyelés összhangban van a faggyúmirigyek számának csökkenésével a HS-ben szenvedő emberek bőrében. A humán γ -szekretáz mutációi a KC-k hiperproliferációjához vezethetnek. Ugyanakkor a pozitív családi anamnézissel rendelkező HS betegek többsége (> 90%) nem rendelkezik γ -szekretáz mutációval, ezekben a betegekben a betegség kialakulásához hozzájáruló genetikai tulajdonságok továbbra sem ismertek [84].

2.4. A HS immunpathomechanizmusa

A HS pontos patomechanizmusa nem ismert. Valószínűleg a korai bőrelváltozások a környezeti kockázati tényezők (dohányzás, elhízás és hormonok) és a genetikai hajlam együttes hatására alakulnak ki. A HS kialakulása a szőrtüsző körül kezdődik, a szőrtüsző összejt kompartmentjének intrinsic diszregulációja együtt a szerzett faktorokkal elősegíti az infundibularis epithelium hiperplasiáját ami szőrtüsző elzáródásához, keratin és baktériumok felhalmozódásához, valamint szőrtüsző tágulatok és cysta képződéshez vezet [85-87]. Ezt a ciszta képződést egy szubklinikai gyulladás kíséri, amely során a KC-k és makrofágok proinflammatorikus mediátorokat termelnek, melynek következtében immunsejtek kezdenek el beáramlani és a szőrtüsző körül gyulladós infiltrátumot képeznek [88-90]. A beáramló monociták makrofágokká és DC-ké alakulnak, amelyek az IL-12 vagy IL-23 termelés révén indukálják a Th1, illetve Th17 sejtek kialakulását. A Th1 sejtek IFN- γ -t termelnek, amely aktiválja az endotélsejteket, elősegítve ezzel további immunsejtek beszivárgását. A Th17 sejtek szerepe kiemelkedő a HS léziós bőrben; IL-17A-t, IL-22-t és TNF-et termelnek, és felerősítik a gyulladós kaszkádot. A makrofágok a HS-léziós bőrben az IL-1 β , TNF és IL-6 szekrécióján keresztül járulnak hozzá a gyulladós válasz létrehozásához. [91-93] Ez az infiltrátum a proinflammatorikus citokinek és kemokinek szekréciója révén elősegíti az interfollikuláris epidermis hiperplasiát is a betegség előrehaladott súlyos formájában. A KC-k fokozott osztódási aktivitása révén a környező dermiszben keratin tartalmú cysták és sinusjáratok alakulnak ki [88, 94, 95]. Ezen járatok megfelelő körülményeket biztosítanak az anaerob baktériumok, mint például a *Prevotella* és *Actinomyces spp.* kolonizációjához [96]. A ciszta rupturáját valószínűleg a mechanikai stressz és/vagy a KC-k által szekretált, veszély asszociált molekuláris mintázatokra (DAMP) reagáló immunsejt-infiltráció és -aktiváció által okozott szövetkárosodás váltja ki [97]. A ciszta rupturáját követően további keratin darabok és baktériumok kerülnek a dermiszbe, ami akut gyulladós választ eredményez, melyet a myeloid

sejtek (neutrofilek, makrofágok és DC-k) beáramlása, majd Th1, Th17 és B sejtek aktivációja jellemző. Ez a folyamat tályogok, sinusjartok, sipolyok klinikai tüneteinek megjelenéséhez vezet. Ez további makrofág aktiválódást eredményez és egy ördögi kör jön létre. Ebben a körben a KC-k, az adaptív immunsejtek (T és B sejtek), és az innate immunsejtek (makrofágok DCk, neutrofil granulociták) vesznek részt és egymást aktiválják. Az előrehaladott folyamatban végül a fibroblasztok is aktív szerephez jutnak, IL-1 β -ra aktiválódnak és további kemokinek és mátrix metalloproteinázok (MMP-k) termelésével reagálnak, amik elősegítik a szöveti átépülést [88, 98]. A komplement rendszer elemei (C3a és C5a) szintén szerepet kapnak, lehetővé teszik a baktériumok opsonizálását, a fagocitózist és a neutrofil infiltrációt [99, 100]. A neutrofil beáramlást tovább segítik a KC-k (LCN2, IL-8 és IL-36), neutrofilek (LCN2), fibroblasztok (G-CSF) és makrofágok (leukotrién B4) által termelt további kemoattraktánsok. A HS-léziókban a neutrofilek az NLRP3 inflammaszóma aktiválódását okozzák, ami a gyulladás további erősödéséhez, valamint a pDC-k aktiválásához, és I. típusú IFN-válaszhoz vezet [101-103]. (5.ábra)



5.ábra A HS patogeneze A betegségre hajlamosító tényezők perifollikuláris immunaktivációt, valamint a szőrtüszőegység elzáródását, a faggyú pangását és tágulását idézik elő. Ez az elzáródott szőrtüszőben baktériumok szaporodásához és olyan molekulák felszabadulásához vezet, amelyek a helyi immunsejteket, különösen a makrofágokat, gyulladásos citokinek, például TNF- α és IL-1 β , termelésére serkentik. Ezek a citokinek különböző immunsejt-populációk beáramlását idézik elő. Ezek közé tartoznak a neutrofil granulociták, monociták (amelyek a bőrben makrofágokká vagy dendritikus sejtekké differenciálódhatnak), B/plazmasejtek, valamint az effektor/memória T-sejtek különböző funkcionális alcsoportjai. Míg a Th1 és Th17 sejtek és fő mediátorai, az IFN- γ (Th1), IL-17A/F és IL-26 (Th17) nagy mennyiségben fordulnak elő a HS bőrben, a Th22 sejtek és az IL-22 nem. Az IL-22 mérsékelt upregulációja miatt az antimikrobiális fehérjék [beleértve a β -defenzinteket (BD-eket) és az S100A7-et] epidermális termelése túl alacsony ahhoz, hogy korlátozza a bőrben a baktériumok szaporodását. A neutrofil granulociták proinflammatorikus citokinek termelnek. Ezek a sejtek neutrofil extracelluláris csapdákat is képeznek, amelyek gátolhatják a baktériumok növekedését, de az

autoimmun funkcióknak is kedveznek. A beszivárgott B/plazmasejtek antitesteket termelnek, és hozzájárulhatnak a komplementrendszer aktiválásához. A szekretált proteolitikus enzimek tovább növelhetik a szórtüszőegységet körülvevő bazális membrán sérülékenységet. A baktériumok mennyisége a HS léziókon belül növekszik, a jellegzetes komenzális fajok gyakorisága fokozatosan csökken, és a szigorúan anaerob Gram-negatív fajok nagymértékben megjelennek. A baktériumok számának növekedése tovább fokozza a gyulladást. A gyulladós folyamat és a szórtüsző sérülékenysége a szórtüszőegység megrepedéséhez vezet, amelynek immunstimuláló tartalma a környező szövetekbe kerül. A folyamatos gyulladás gennyképződéssel, a szétesett szöveten belüli hámosodással és az extracelluláris mátrixot lebontó enzimek (mátrix metalloproteinázok, MMP-k) bőséges mennyiségével végül a gennyet elvezető járatok kialakulásához és a bőr szerkezetének pusztulásához vezet. Az önmagukat erősítő gyulladós útvonalak, amelyek számos további citokint (pl. IL-17C, IL-19, IL-36 és LCN2) és tartósan jelenlévő anaerob baktériumokat vonnak be, amik támogatják a léziók krónikussá válását és visszatérő jellegét. DC, dendritikus sejt; Fb, fibroblaszt; Gr, neutrofil granulocita; Mo, monocita. (Forrás: K.Wolk, Aetiology and pathogenesis of hidradenitis suppurativa. British Journal of Dermatology. 2020;183(6):999-1010.)

2.5. Terápia

A HS-nek nincs egyetlen hatékony terápiája, ezért a klinikusok általában különböző kezelési módok közül választanak, gyakran kombinációban. A kezelési mód megválasztása a betegség általános súlyosságától, az elváltozások anatómiai helyétől, a gyulladás aktivitásának mértékétől, a társbetegségektől, valamint a kezelés költségeitől és elérhetőségétől függ. A HS súlyosságának leírására különféle pontrendszereket használnak: ilyen a Hurley stádium, a Módosított Sartorius skála (MMS), a Physician Global assessment (HS-PGA), a Hidradenitis Suppurativa Súlyossági Index (HSSI) és a Hidradenitis Suppurativa Clinical Response (HiSCR). Mivel a dohányzás és az elhízás hozható leginkább összefüggésbe a betegség súlyosságával, ezért javasolt a HS-ben szenvedőknek a dohányzás elhagyása és a testsúlycsökkentés. Ezenkívül ajánlott a laza szabású ruházat viselete a mechanikai súrlódásból fakadó irritáció elkerülése érdekében. Az akut és krónikus fájdalom hozzájárul az életminőség romlásához a HS betegeknél, ezért is fontos a gyulladás mielőbbi csökkentése (helyi fájdalomcsillapító, nem szteroid gyulladáscsökkentő). A HS-s betegek körében gyakoribb a depresszió előfordulása, tehát lényeges a betegek pszichés támogatása is [104, 105].

2.5.1. Helyi kezelés

A HS korai akut stádiumában és enyhe formáiban többféle terápia alkalmazható a tünetek enyhítésére és a gyulladás kezelésére. Az egyik lehetséges kezelési módszer az antiszeptikumok és antibiotikumok használata. Ezek segíthetnek a baktériumok elpusztításában és a gyulladás csökkentésében. Például a 1%-os clindamycin krémet gyakran alkalmazzák a léziók kezelésére. A keratolyticumok segíthetnek a bőr felső rétegének lehámlásában és a pórusok tisztításában. A HS esetében a 15%-os resorcin keratolyticumként alkalmazható, ami elősegíti a gyulladt területek gyógyulását és csökkenti az újabb gyulladások kialakulásának kockázatát. A harmadik lehetőség az intralézionális kortikoszteroidok alkalmazása. Ezek a

kortikoszteroidok közvetlenül a gyulladt területre kerülnek, hogy csökkentsék a gyulladást, a duzzanatot és a fájdalmat. Ezáltal elősegítik a gyógyulást és enyhítik a tüneteket [105, 106].

2.5.2 Szisztémás kezelés

Középsúlyos-súlyos HS esetén első vonalban alkalmazható orális tetraciklin (például napi 2x500 mg tetraciklin) vagy 2x300 mg clindamycin és 1x600 mg rifampicin kombinációja akár 12 hétig. Emellett más antibiotikumok, például doxycyclin is kipróbálható. Az antibiotikumokat gyulladáscsökkentő hatásuk miatt alkalmazzák HS-ben, nem pedig antibakteriális okokból, hiszen ez nem egy fertőző betegség, hanem egy immun mediált gyulladás. A retinoidok közül az acitretin alkalmazását ajánlják Hurley II és Hurley III stádiumban, mint másodvonalbeli terápia. A Dapsone napi 25-200 mg dózisban hatékony és biztonságos alternatív terápia lehetőség a Hurley II-III stádiumban lévő betegek számára, mint hosszú távon fenntartó terápia. Antibakteriális és gyulladáscsökkentő hatással bír [105, 106].

Az adalimumab és a secukinumab olyan biológiai terápiák, amelyek jelentős előrelépést hoztak a HS kezelésében. Az adalimumabot 2015-ben, míg a secukinumabot 2023-ban törzskönyvezték a betegségben [107] [108]. Mind az adalimumab, mind a secukinumab subcutan injekció formájában alkalmazhatók, ami kényelmes és hatékony módszer a kezelés során. Klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy mindkét terápiával csaknem a betegek felénél elérhető legalább 50%-os klinikai javulás. Fontos megjegyezni, hogy minél előrehaladottabb és súlyosabb a betegség állapota, annál kisebb az esély a tartós klinikai javulásra. Ezért javasolt minél hamarabb elkezdeni a biológiai terápiát, hogy nagyobb klinikai hatékonyság érhető el [105].

2.5.3. Sebészi kezelés

A sebészi kezelés módjának megválasztásakor a kórkép súlyossága és a beteg compliance-e is mérlegelendő. Hurley I-II stádiumban a jól körülírt, szoliter léziók egyszerű kimetszéssel eltávolíthatók, alkalmazható derofing vagy STEEP technika. Fájdalmas tályogok esetén, amik gyógyszeres terápiával nem kezelhetők hatékonyan, kiegészítésként drenázs alkalmazása javasolt. Krónikus fennállás és visszatérő léziók esetén kiterjesztett eltávolítás a megfelelő beavatkozás a rekurrencia megakadályozására. Ez történhet hagyományos módszerrel, illetve CO₂ lézerrel. Új terápia lehetőség a folliculáris apparátus neodmium doped yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) lézeres roncsolása az axilláris és ágyéki területeken Hurley II-III stádiumú betegek esetében [104].

3. CÉLKITŰZÉS

3.1. Az immunbarrier vizsgálata HS-ben

A hidradenitis suppurativa az apokrin mirigyben gazdag bőrrégióra lokalizálódó immunmediált gyulladásoos 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- α és IL23 immunfluoreszcens (IF) festése HS bőrben

3.2. 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 aktiválódásában 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 transzepidermális 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

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Bőrbiopsziás minták gyűjtése és feldolgoása

A vizsgálatainkhoz HS-ben szenvedő betegek léziós és nem léziós (periléziós terület, ≥ 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°C -on tároltuk az RNS izolálásáig az RT-PCR vizsgálatokhoz, a biopszia másik felét formalinban fixáltuk és paraffinba ágyaztuk 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.

1. Az immunbarrier vizsgálat

Hidradenitis suppuratívás betegek (n = 10)			
HS betegek	Nem	Életkor	Lokalizáció
HS1	N	29	axilla
HS2	N	25	axilla
HS3	F	30	axilla
HS4	F	26	axilla
HS5	F	16	axilla
HS6	N	20	axilla
HS7	F	31	axilla
HS8	F	43	axilla
HS9	N	22	axilla
HS10	N	33	axilla
Átlag életkor \pm SD		27,5 \pm 7,6	

Egészséges donorok (n = 8)			
Egészséges donorok	Nem	Életkor	Lokalizáció
AGR1	N	48	axilla
AGR2	N	60	axilla
AGR3	N	38	axilla
AGR4	N	45	axilla
AGR5	N	55	axilla
AGR6	N	57	axilla
AGR7	N	41	axilla
AGR8	N	60	axilla
Átlag életkor ± SD		50,5±8,6	

2. Permeabilitási barrier vizsgálat

Hidradenitis suppuratívás betegek (n = 10)			
HS betegek	Nem	Életkor	Lokalizáció
HS1	F	29	axilla
HS2	F	25	axilla
HS3	F	61	axilla
HS4	F	35	axilla
HS5	F	24	axilla
HS6	N	30	axilla
HS7	F	20	axilla
HS8	N	51	axilla
HS9	N	31	axilla
HS10	N	43	axilla
Átlag életkor ± SD		34.9 ± 13.0	

Egészséges donorok (n = 10)			
Egészséges donorok	Nem	Életkor	Lokalizáció
AGR1	N	60	axilla
AGR2	F	31	axilla
AGR3	N	38	axilla
AGR4	N	60	axilla
AGR5	F	19	axilla
AGR6	F	30	axilla
AGR7	N	55	axilla
AGR8	N	57	axilla
AGR9	N	61	axilla
AGR10	N	57	axilla
Átlag életkor ± SD		46.8 ± 15.7	

- 1. Táblázat Hidradenitis suppuratívás (HS) betegek és léziós és nem léziós területeiről származó bőrmintáik, valamint egészséges személyek és apokrin mirigyben gazdag (AGR) bőrterületekről származó bőrmintáik jellemzői.**
Rövidítések: AGR, apokrin mirigyben gazdag; F, férfi; HS, hidradenitis suppurativa; N, nő; SD, szórás

4.2. RNAseq

Az RNASeq analízishez szükséges komplementer DNS (cDNS)-könyvtárat 1 µg 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 adatokat a TopHat és a Cufflinks algoritmusok segítségével a Human Genome v19-hez igazítottuk, és bam fájlkat 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 a Morpheus programmal hoztuk létre.

4.3. 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.

4.4. Kvantitatív Valós-idejű Polimeráz Láncreakció (qRT-PCR)

Az RT-qPCR vizsgálatokat 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 vizsgálatokhoz 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. A 2. táblázat foglalja össze a felhasznált primereket.

Célgén	Assay ID	Célgén	Assay ID	Célgén	Assay ID
CAMP (LL-37)	Hs00189038_m1	IL10	Hs00174086_m1	LCN2	Hs01008571_m1
CCL2	Hs00234140_m1	IL-12B	Hs01011518_m1	OCN	Hs00170162_m1
CCL20	Hs00355476_m1	IL17A	Hs00174383_m1	PKP1	Hs00240873_m1
CD83	Hs00188486_m1	IL1B	Hs00174097_m1	PPIA	Hs99999904_m1
CDH1	Hs01023895_m1	IL-23A	Hs00900829_g1	RORC	Hs01076112_m1
CDSN	Hs00169911_m1	IL6	Hs00985639_m1	S100A7	Hs00161488_m1
CLDN1	Hs00221623_m1	KLK5	Hs01548153_m1	S100A8	Hs00374264_g1
CLDN23	Hs01013638_s1	KLK7	Hs00192503_m1	S100A9	Hs00610058_m1
DEFB4B (hBD-2)	Hs00175474_m1	KLK14	Hs00983577_m1	TBX21	Hs00203436_m1
DSC1	Hs00245189_m1	KRT1	Hs00196158_m1	TGM5	Hs00909973_m1
DSG1	Hs00355084_m1	KRT10	Hs00166289_m1	TLR2	Hs01872448_s1
FLG	Hs00856927_g1	KRT16	Hs00373910_g1	TLR4	Hs00152939_m1
IFNγ	Hs00174143_m1	KRT6A	Hs01699178_g1	TNFA	Hs00174128_m1

2. Táblázat: A qPCR vizsgálatok során alkalmazott primerek

4.5. Immunhisztokémiai (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 H₂O₂-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°C-on (**3.táblázat**). Másnap a metszeteket anti egér/nyúl (Dako) Horseradish peroxidase (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 az értékelés 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 szkennelvel (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 hosszú 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.

Antitest neve	Klonalitás	Izotípus	Gyártó	Katalógus szám
beta 2 defensin	Poliklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab63982
CCL2/MCP1	Monoklonális	egér, IgG	Novus	NBP2-22115
CD11c	Monoklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab52632
CD163	Monoklonális	egér, IgG	Origene	BM4041B
CD4	Monoklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab133616
CDSN	Poliklonális	nyúl, IgG	Sigma-Aldrich	HPA054184
CLDN1	Poliklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab15098
DSG1	Poliklonális	nyúl, IgG	Novus	NBP1-84567
FLG	Monoklonális	egér, IgG	Abcam	ab17808
CCL20/ MIP-3-a	Poliklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab9829
IFN-γ	Poliklonális	nyúl, IgG	Novus	[NBP1-19761
IL-10	Monoklonális	egér, IgG	Covalab	mab30207
IL-12	Monoklonális	egér, IgG	Origene	CF808081
IL-17	Poliklonális	nyúl, IgG	Bioss Antibodies	bs-2140R
IL-1β	Poliklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab9722

IL-23	Poliklonális	nyúl, IgG	Thermo Fisher Scientific	PA5-20239
IL-6	Poliklonális	egér, IgG	Sigma-Aldrich	SAB1400139
KLK5	Poliklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab7283
KLK7	Poliklonális	nyúl, IgG	Novus Biologicals	NBP1-31428
KRT1	Monoklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab185628
KRT6	Monoklonális	egér, IgG	Abcam	ab18586
lipocalin/NGAL	Poliklonális	nyúl, IgG	Invitrogen	PA5-32476
LOR	Monoklonális	nyúl, IgG	Novus Biologicals	NBP133610
OCLN	Monoklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab216327
S100A8	Poliklonális	nyúl, IgG	Sigma-Aldrich	HPA024372
TGFβ-1	Monoklonális	egér, IgG	Invitrogen	MA1-34093
TGM5	Poliklonális	nyúl, IgG	Abcam	ab133786
TNF-α	Monoklonális	egér, IgG	Sigma-Aldrich	SAB1404480

3. Táblázat: Az IHC vizsgálat során alkalmazott elsődleges antitestek

4.6. 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/hm²) 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.

4.7. 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, detektor paraméterek) 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.

4.8 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.

5. EREDMÉNYEK

5.1 Immunbarrier vizsgálata HS-ben

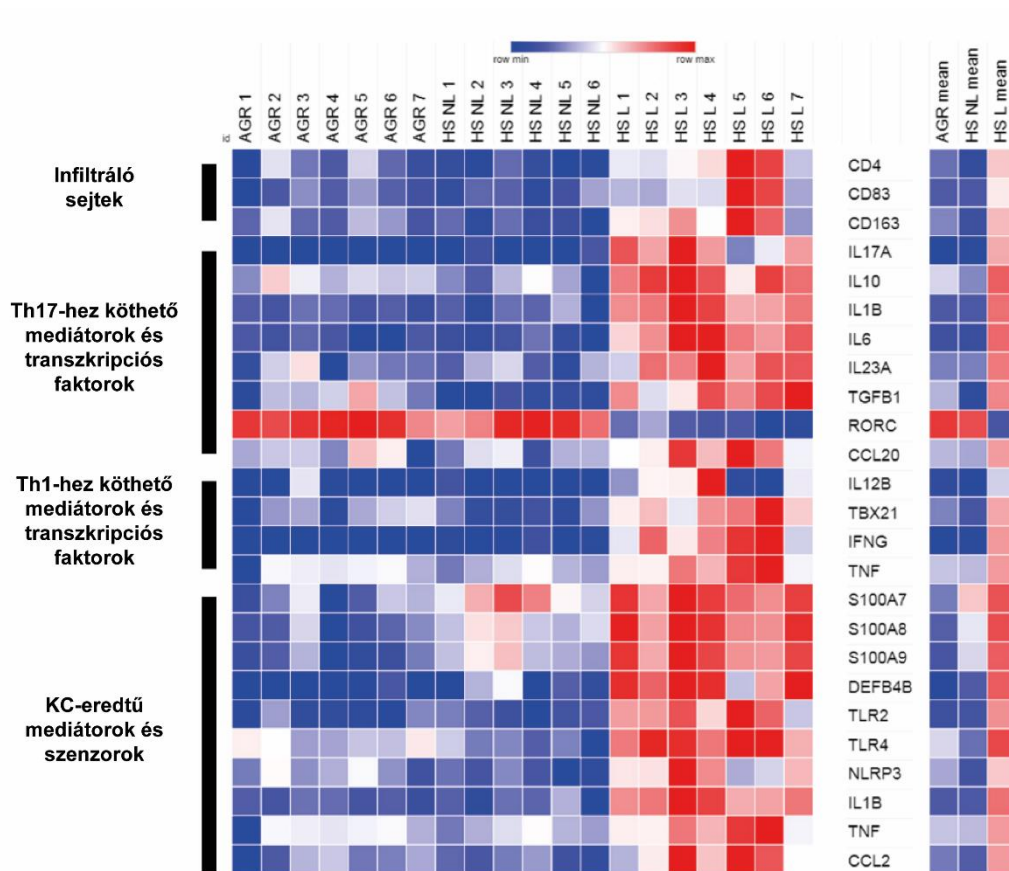
Kutatócsoportunk már egy korábbi tanulmányában megvizsgálta, hogy az egészséges AGR bőrre jellemző immunmillió hogyan változik meg HS léziós bőrben. Jelenlegi kutatásunkban a klinikai tünetet nem mutató, nonlézionális HS bőr immunkarakterisztikájának a részletes feltárását tűztük ki célul, annak érdekében, hogy a HS kialakulásban lejátszódó első lépéseket megismerjük. A CD4⁺ T-sejtek, CD11c⁺ myeloid DC-k és CD163⁺ makrofágok számát, valamint a Th1/Th17 immunmillióhoz 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.

5.1.1 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 (**6. ábra**).

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 gyulladásoos Th17 sejtek fő transzkripciós faktorának, a RORC-nak az expressziója ellenkező irányban változott.



6. ábra Heatmap A heatmap-et az egészséges, valamint a nem léziós és léziós HS minták RNASeq adatsorából származó, szignifikáns eltérést mutató célmolekulák normalizált génexpressziós szintjeiből állítottuk elő. Nyilvánvalók voltak léziós HS-ben a jelentősen megemelkedett expressziós szintek, míg a nem léziós HS és az egészséges AGR bőr hasonlóan tűnt. A KC-hez kapcsolódó AMP-k már a nem léziós HS bőrben is nagymértékben felszabályozottak voltak, ami a keratinocitákra, mint a betegség lehetséges vezető sejtj típusára utal. Rövidítések: KC, keratinocita; Th, T helper.

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

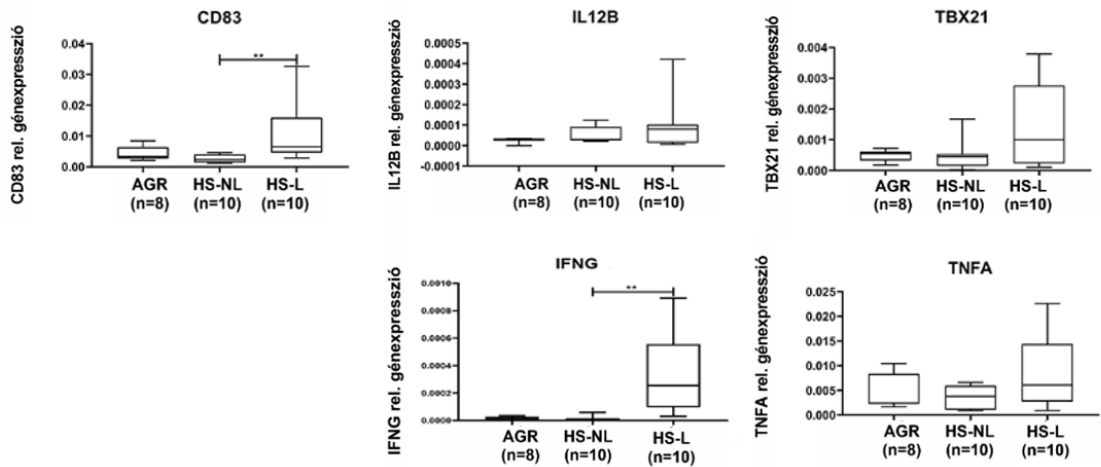
A HS-es gyulladás kialakulásának kezdeti tényezőit tovább vizsgálva az egészséges AGR, és a nem léziós és léziós HS-es bőrmintákat RT-qPCR és IHC segítségével hasonlítottuk össze. Elsőként a T sejtek, DC-k és makrofágok mRNS és fehérjeszintű vizsgálatát végeztük el. Ezen eredményeink alapján a CD83 DC 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 (**7. ábra**). Az IHC vizsgálataink alapján a CD4⁺ T sejt, a CD11c⁺ 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 (**8. ábra**).

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

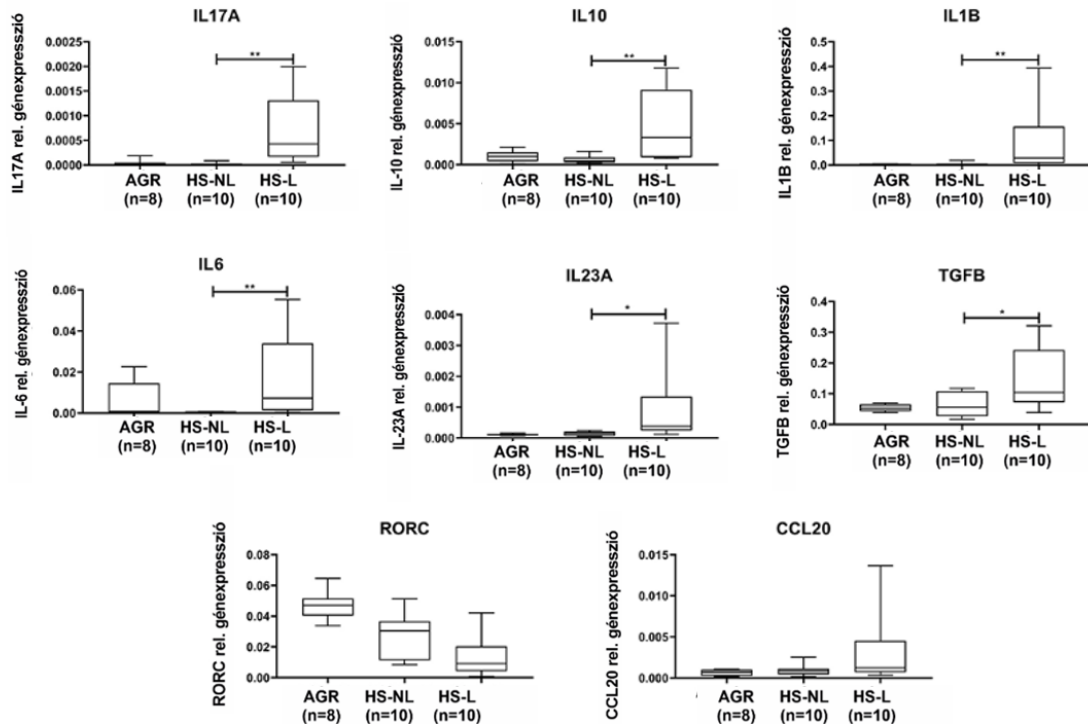
A Th1/Th17 jelátvitelhez kapcsolódó mediátorok kifejeződése mRNS- és fehérjeszinten is hasonló volt az AGR és a nem léziós HS bőrben. Az IFNG, IL17A, IL10, IL6, IL23A, TGFB és az IL1B mRNS expressziója szignifikánsan magasabb volt a léziós HS bőrmintákban, mint a nem léziós HS-ben (**7. ábra**). Azonban az IL12B, TBX21, TNFA, CCL20 molekulák esetében nem detektáltunk szignifikáns eltérést a HS-es minták összehasonlításakor, de egy tendenciózus emelkedés megfigyelhető minden esetben (**7. ábra**). A RORC gén esetében egy fordított trend látható, melynek oka, hogy ez a nem patogén IL17 transzkripció faktor (b) (**7. ábra**). Fehérje szinten minden vizsgált dermális Th1/Th17 mediátor szignifikánsan emelkedett expressziót mutatott a léziós HS mintákban (**8. ábra**).

Sejt komponensek

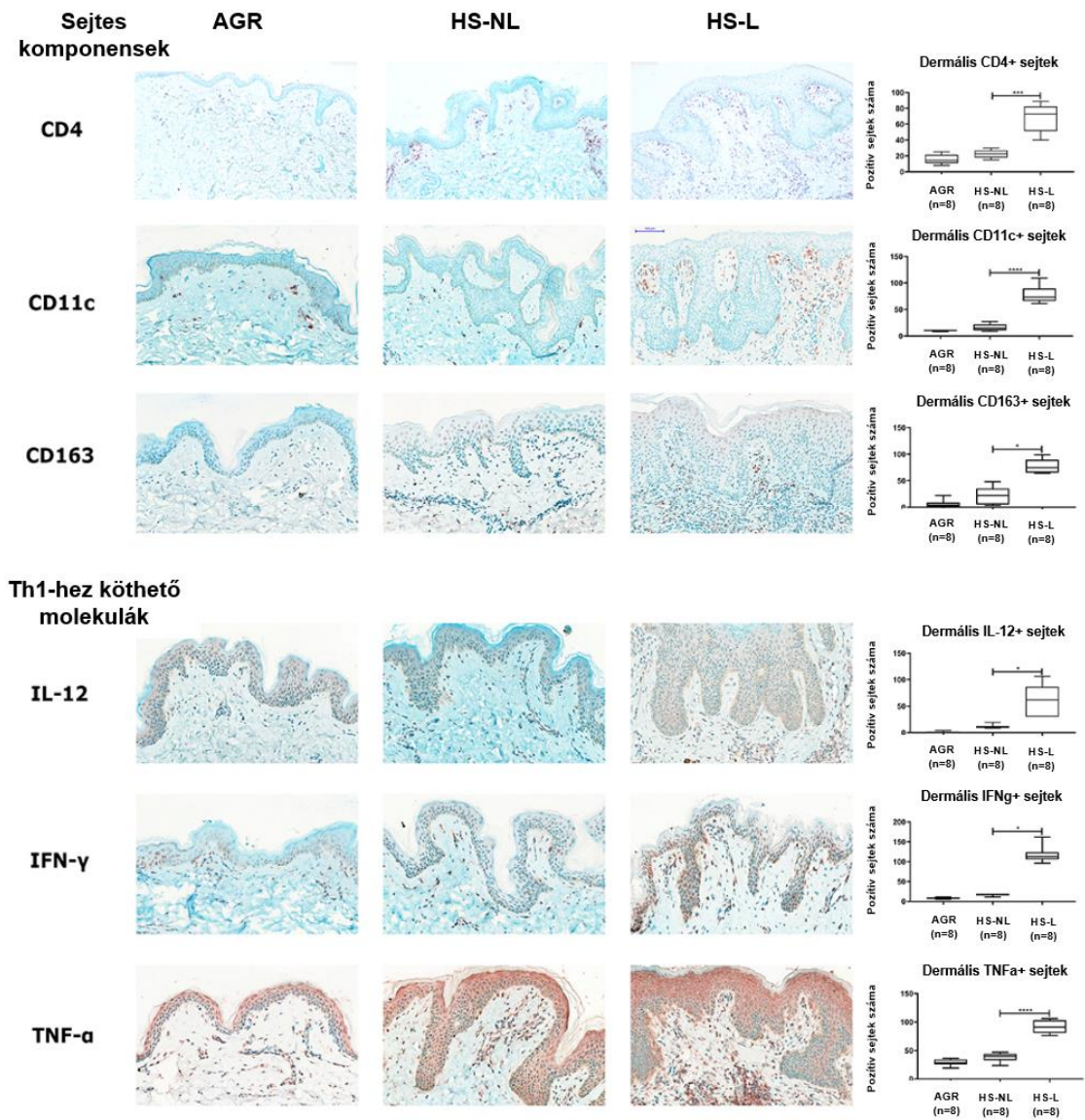
Th1-hez köthető faktorok

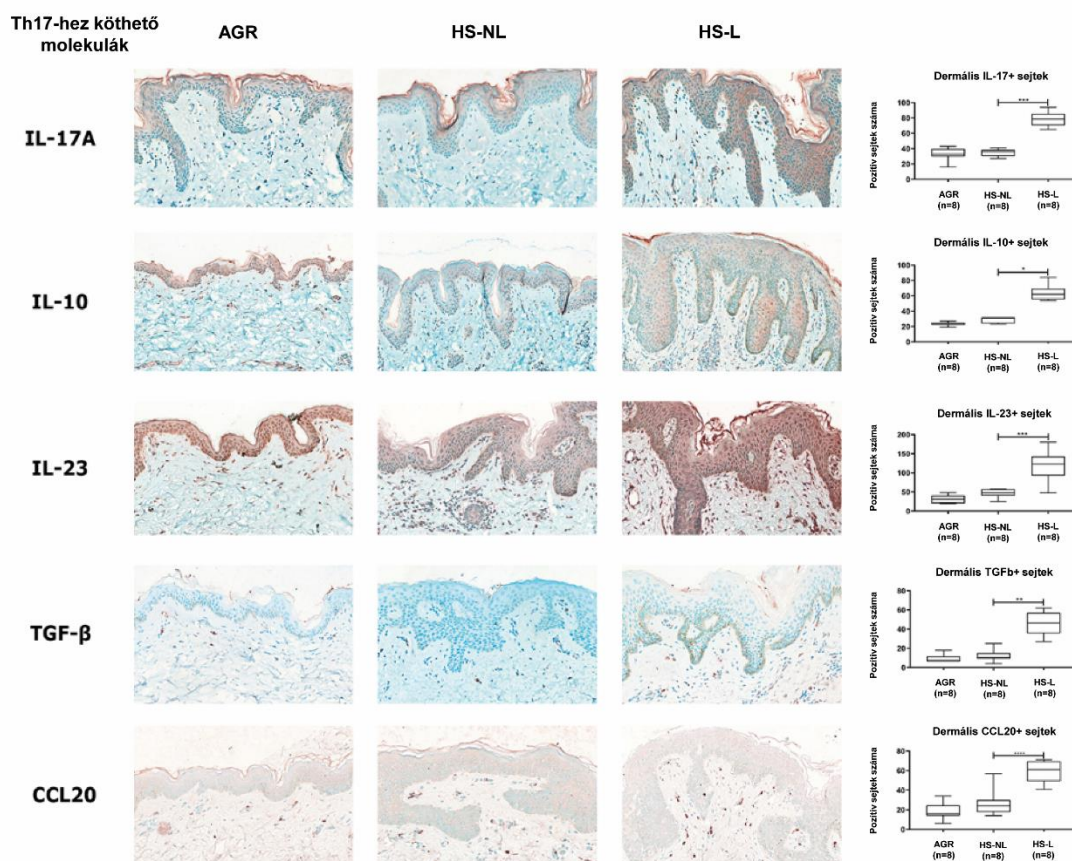


Th17-hez köthető faktorok



7.ábra Th1 és Th17-hez kapcsolódó mediátorok génexpressziós szintjei egészséges AGR, nem-leziós HS és léziós HS bőrben qRT-PCR-rel vizsgálva. Az egyes ábrák a mért mRNS transzkripciós szintek mediánját \pm 95%-os konfidencia intervallumát mutatják (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, normál eloszlás esetén egyirányú varianciaanalízist, majd Sidak post hoc tesztet alkalmaztunk, illetve Dunn post hoc tesztet, ha az adatok eloszlása nem normál eloszlást mutatott).





8. ábra Sejtes komponensek, valamint a Th1 és Th17-hez kapcsolódó mediátorok dermális fehérje kifejeződése egészséges AGR, nem léziós HS és léziós HS bőrmintákban. A fehérjeszinteket vakon értékeltük ki a Panoramic Viewer szoftverrel. A negatív kontrollfestés a léziós HS-képek jobb alsó sarkában látható. Méretség = 100 µm. A grafikonok a mért fehérjeszintek mediánját ± 95%-os konfidenciaintervallumát mutatják (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001, normál eloszlás esetén One-way ANOVA, majd Sidak post hoc teszttel meghatározva, illetve Dunn post hoc teszttel, ha az adatok nem normál eloszlást mutattak). Rövidítések: AGR, apokrin mirigyben gazdag; HS, Hidradenitis suppurativa; HS-L, léziós HS bőr; HS-NL, nem léziós HS bőr

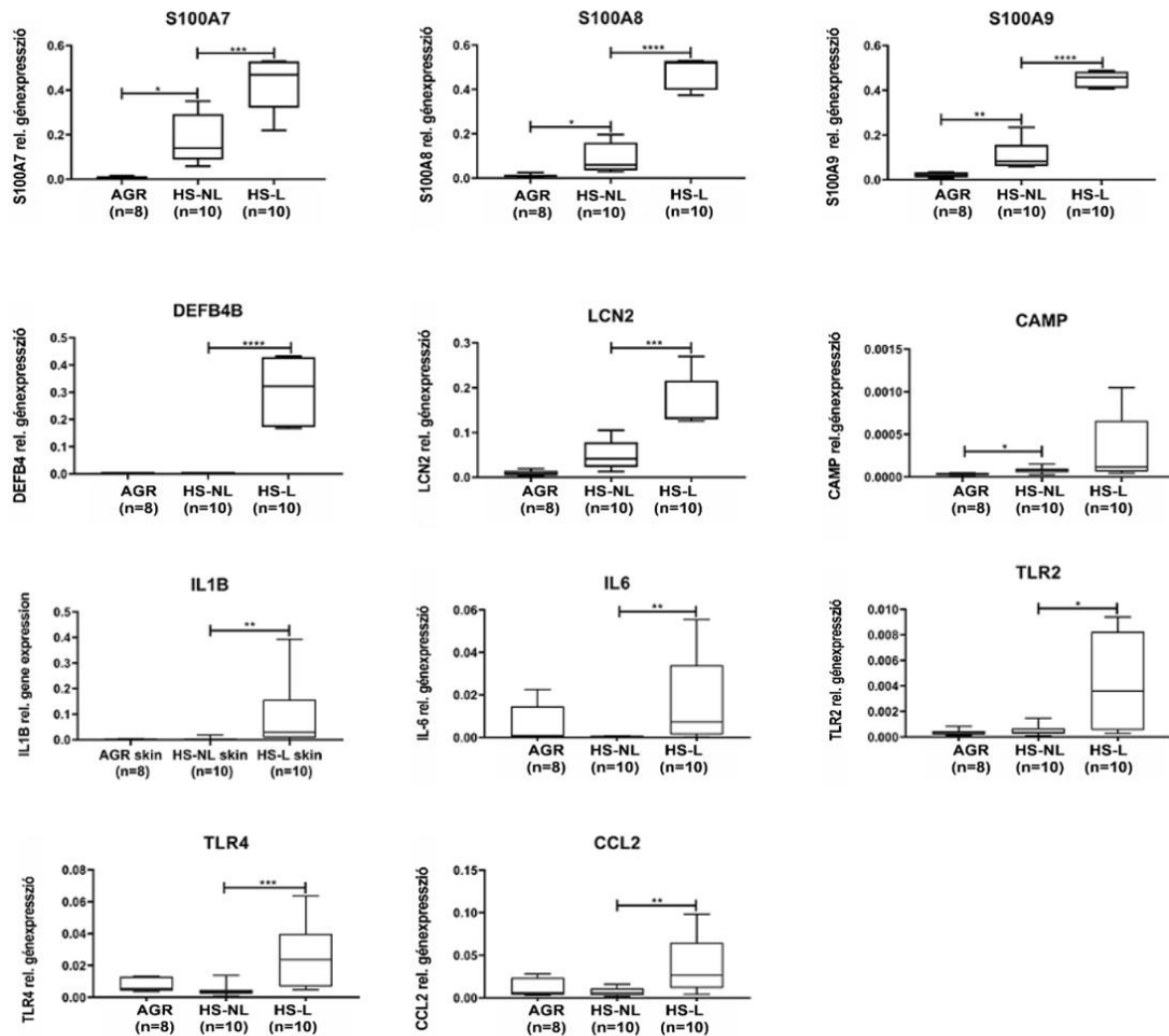
5.1.4 KC-hez kapcsolódó szenzorok és mediátorok vizsgálata HS és egészséges AGR bőrben RT-qPCR és IHC módszerekkel

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 (**9. ábra**). 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 (**10. ábra**). A proinflammatorikus citokinek közül az IL-1β szignifikánsan megnövekedett epidermális expressziója mellett a TNF-α és az IL-23 szintje is szignifikánsan

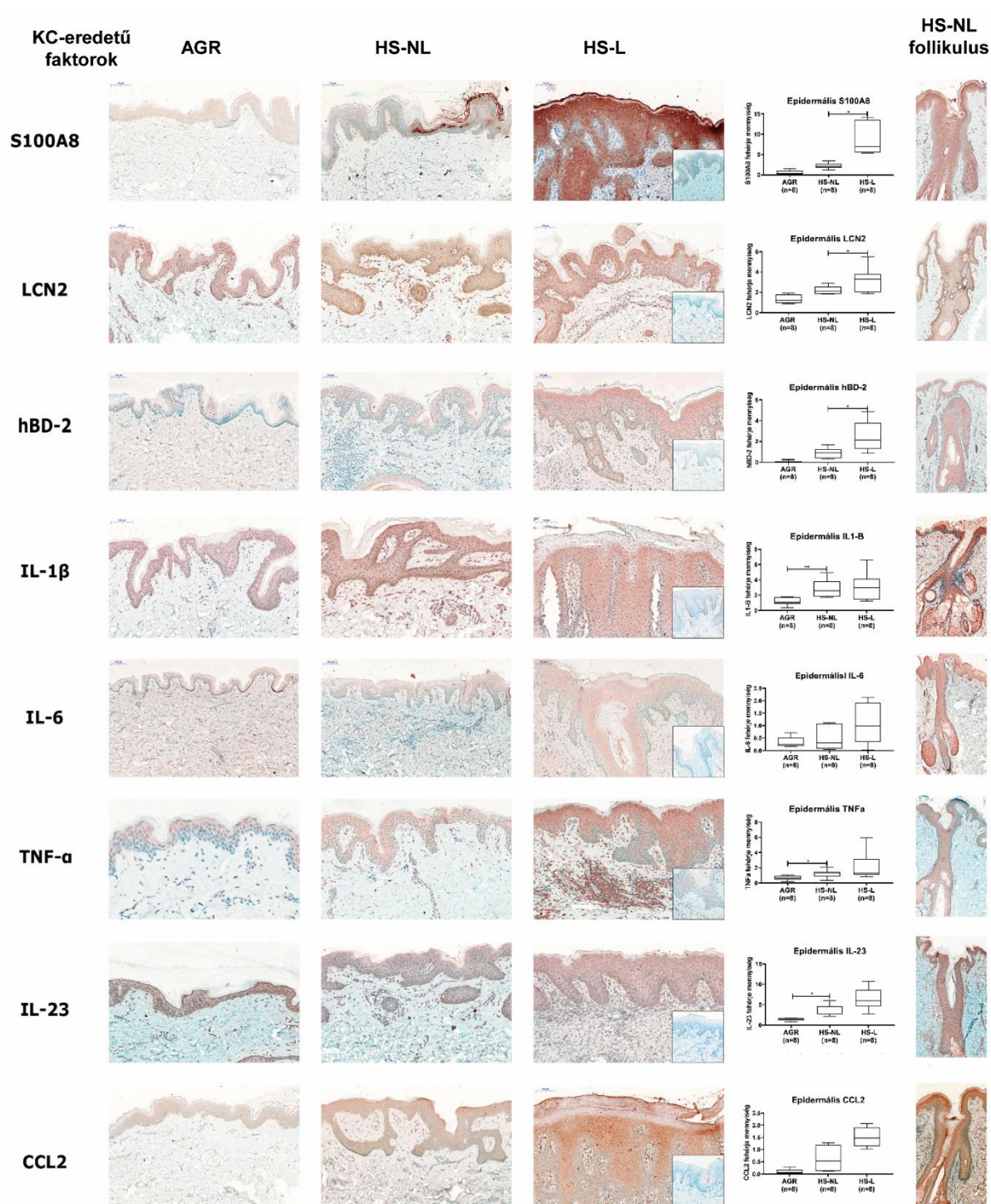
emelkedett a nem léziós HS interfollikuláris epidermiszben, de a dermiszben nem (**10. ábra**). A léziós HS interfollikuláris epidermiszben az IL-23 szintje tendenciózusan növekedett, míg a TNF- α és az IL-1 β expressziója magas szinten maradt, további emelkedés nélkül a nem léziós bőrhöz képest, ami valószínűleg expressziójuk növekedésének csökkenő sebességét jelzi. Azonban az IL-23 és TNF- α dermális immunfestődése alapján a léziós HS bőrben szignifikánsan magasabb számban fordultak elő (**8. ábra**).

A follikuláris epidermisz festődési mintázatát tekintve a fent említett molekulák erős pozitívást 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 (**10. ábra**).

KC-eredetű mediátorok és szenzorok



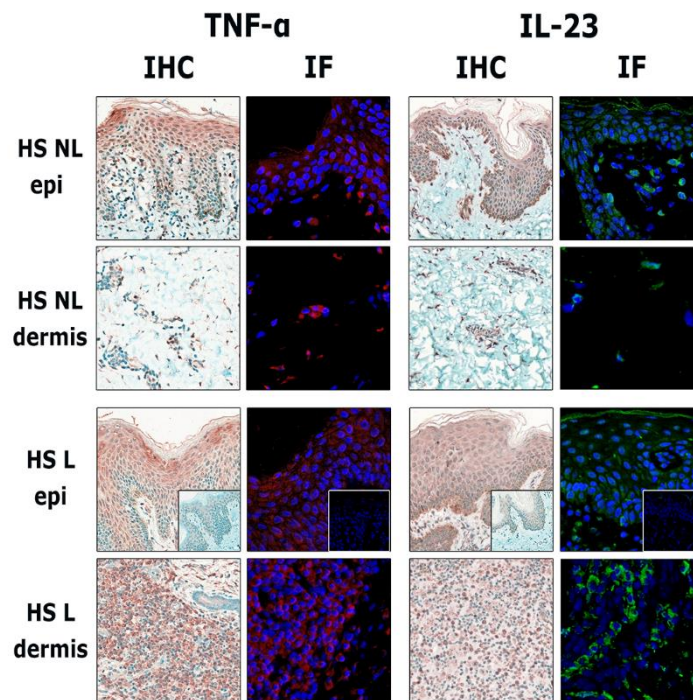
9.ábra A KC-hez kapcsolódó mediátorok géneexpressziós szintjei egészséges AGR, nem-leziós HS és léziós HS bőrben qRT-PCR-rel vizsgálva. Az egyes ábrák a mért mRNS transzkripciós szintek mediánját \pm 95%-os konfidencia intervallumát mutatják (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001, normál eloszlás esetén egyirányú varianciaanalízist, majd Sidak post hoc tesztet alkalmaztunk, illetve Dunn post hoc tesztet, ha az adatok eloszlása nem normál eloszlást mutatott).



10. ábra. A KC-hez kapcsolódó mediátorok immunfestésének reprezentatív képei és epidermális kvantitatív meghatározásuk egészséges AGR, nem léziós HS és léziós HS bőrmintákban. A fehérjeszinteket vakon elemeztük a Panoramic Viewer szoftverrel. A negatív kontrollfestés a léziós HS képek jobb alsó sarkában látható. Az utolsó oszlopban a KC-hez kapcsolódó mediátorok folliculáris epidermális mintázatának reprezentatív képeit mutattuk be nem léziós HS bőrmintákban.

5.1.5. Az IL-23 és a TNF- α immunfluoreszcens festése HS bőr epidermiszében

Az IL-23 és a TNF- α 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- α fokozott epidermális expresszióját a nem léziós HS mintákban, míg a dermális előfordulásuk kevésbé volt szembetűnő. Festődési mintázatot tekintve a TNF- α 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 pozitívítás volt kimutatható. A léziós HS-ben feltűnően sok IL-23⁺ és TNF- α ⁺ dermális infiltrátum volt jelen, hasonló epidermális festődéssel (**11. ábra**).



11. Ábra. TNF α és IL-23 immunfluoreszcens festődése HS bőrben Az immunfluoreszcens festés szintén megerősíti az IL-23 és a TNF- α epidermális jelenlétét a HS-ben. Az IL-23 és a TNF- α festődés a nem léziós HS epidermiszében volt kiemelkedő, míg dermális előfordulásuk gyenge volt. Léziós HS-ben az IL-23⁺ és TNF- α ⁺ dermális sejtek száma figyelemre méltó volt, míg az epidermális jelenlétük még hangsúlyosabbá vált. A negatív kontroll festés a harmadik sorban lévő képek jobb alsó sarkában látható.

5.2. Hidradenitis suppurativa permeabilitási barrier vizsgálatai

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 folliculáris betegség, ezért a nem léziós HS mintákban a barrier molekulákat külön elemeztük az interfolliculáris és a folliculáris epidermiszben. A léziós HS mintákban a folliculáris epidermiszt nem lehetett kvantifikálni a szőrtüszők egyenlőtlen eloszlása miatt.

5. 2.1 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 (hónalj) régióiban mért értékeivel. Minden esetben három párhuzamos mérést végeztünk. A léziós HS ($58,48 \pm 20,26$ g/m²h) és nem léziós HS ($41,5 \pm 20,15$ g/m²h) bőrben kapott TEWL-értékek nem különböztek jelentősen az AGR bőrben mért értéktől ($49,61 \pm 20,81$ g/m²h), ami arra utal, hogy a HS-ben nincs kimutatható barrier diszfunkció. (**12. ábra**).

5.2.2. 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 génexpressziós 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 (**12. és 13. ábra**).

5.2.3.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 hasonlítva (**12. ábra**). 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 (**13. ábra**).

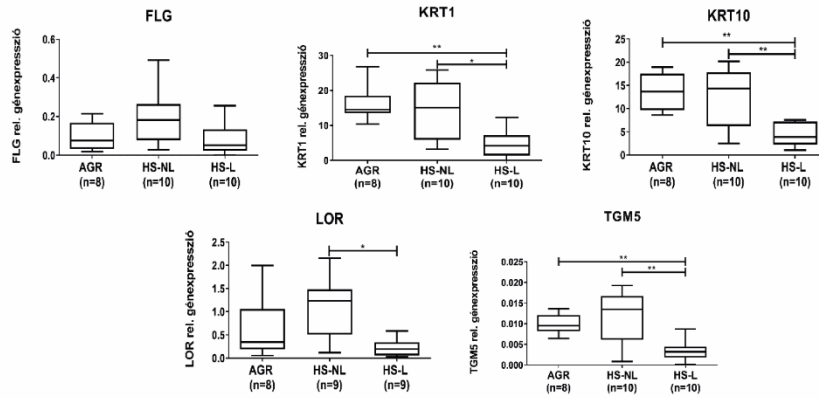
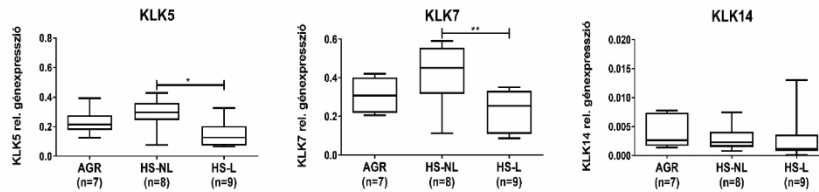
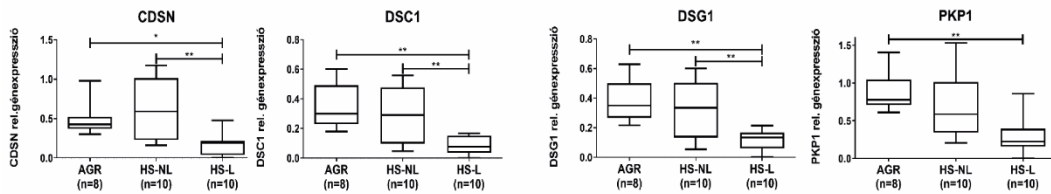
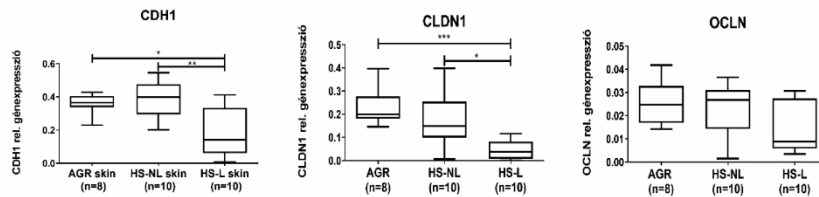
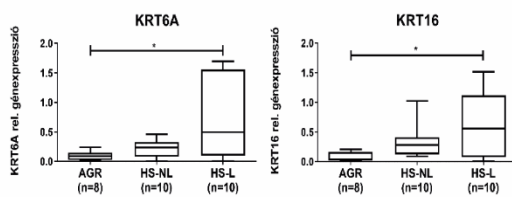
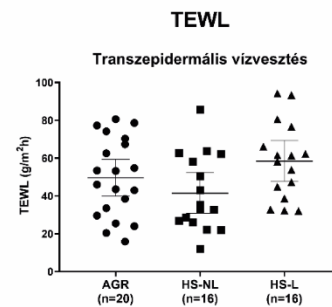
5.2.4. Korneodezmoszóma és TJ komponensek vizsgálata HS-es és egészséges bőrrégiókban

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 génexpressziós 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 (**12. ábra**). 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 (**13. ábra**).

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 (**12. ábra**). Ugyanakkor a TJ molekulák fehérje expressziója hasonló volt a három vizsgált mintacsoport interfollikuláris és follikuláris epidermiszének összehasonlítása során (**13. ábra**).

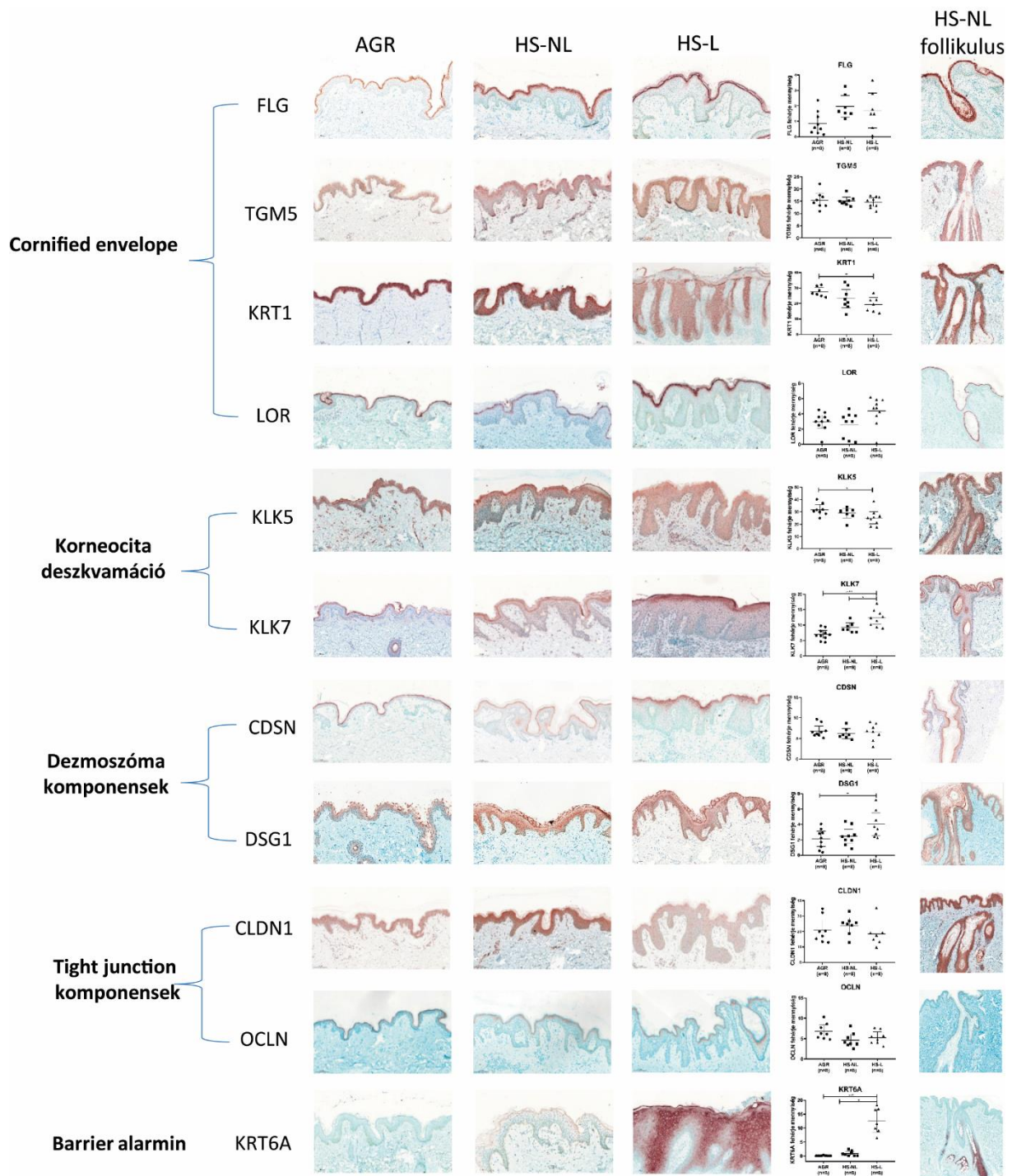
5.2.5 Barrier alarminok vizsgálata HS-es és AGR bőrben

A KRT6 és KRT16 barrier alarminok mRNS expressziója szignifikánsan megnőtt a léziós HS mintákban az AGR mintákhoz képest (**12. ábra**). A KRT6 fehérje mennyisége kiemelkedően, de nem szignifikánsan emelkedett a nem léziós HS mintákban az egészséges mintákhoz hasonlítva, azonban a léziós HS bőrben expressziója feltűnően magas volt a nem léziós HS és az AGR bőrhöz képest, ami a festődési mintázatában is tükröződött (**13. ábra**).

A**Cornified envelope****Korneocita deszkvamáció****Dezmoszóma komponensek****Tight junction komponensek****Barrier alarminok****B**

12. ábra (A) A permeabilitási barrier komponensek génexpressziós szintjei az egészséges AGR, a nem léziós HS és a léziós HS bőrben qRT-PCR módszerrel vizsgálva. Az ábrák a mért mRNS-transzkriptomok szintjeinek mediánját \pm 95%-os konfidenciaintervallumát mutatják (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, normál eloszlás esetén egyirányú varianciaanalízissel, majd Sidak post hoc teszttel, illetve Dunn post hoc teszttel, ha az adatok eloszlása nem volt normál). Rövidítések: AGR, apokrin mirigy gazdag; CDH1, Cadherin 1/CDSN, corneodesmosin; CLDN, claudin; DSG1, desmoglein 1; DSC1, desmocollin; FLG, filaggrin; HS-L, léziós HS bőr; HS-NL, nem léziós HS bőr; KLK, kallikrein; KRT, keratin; LOR, loricrin; OCLN, occludin; PKP1, plakofilin; TGM, transzglutamináz.

(B) Transzepidermális vízvesztés szintje egészséges AGR, nem léziós HS és léziós HS bőrben. A méréseket Dermalab Combo (Cortex Technology, Hadsund, Dánia) készülékkel végeztük az érintett egészséges egyének és betegek hónalji régióiban. Rövidítések: AGR, apokrin mirigyben gazdag; HS-L, léziós HS bőr; HS-NL, nem léziós HS bőr.



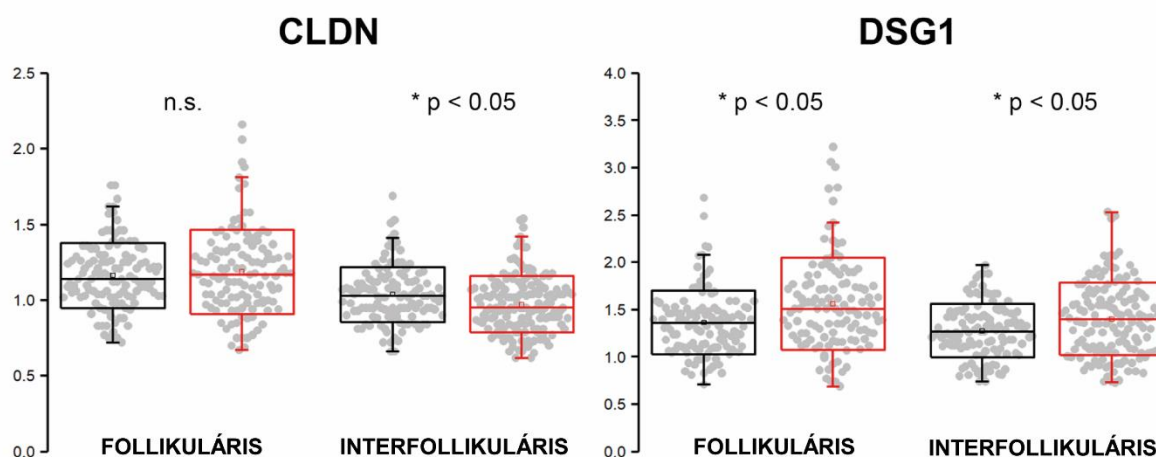
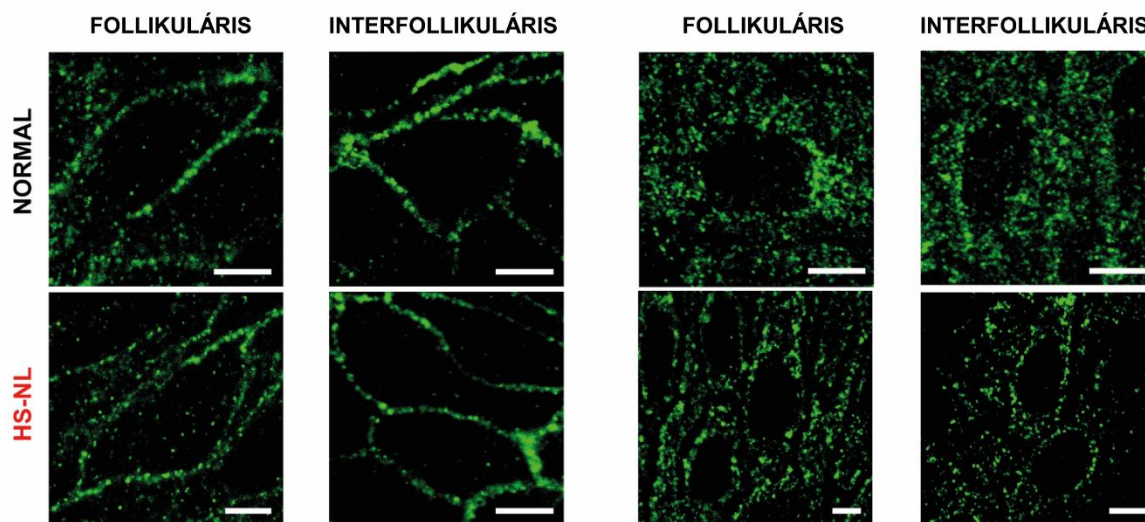
13. ábra Reprezentatív ábrák a SC és a sejtkapcsoló komponensek immunfestéséről és epidermális kvantitatív meghatározásáról egészséges AGR, nem léziós HS és léziós HS bőrmintákban. A fehérjeszintek vakon kerültek meghatározásra a Panoramic Viewer szoftverrel. Az utolsó oszlopban a permeabilitási barrier komponensek folliculáris epidermális mintázatát bemutató reprezentatív ábrák láthatók nem léziós HS bőrmintákban. Méretsávok = 100 μ m. A grafikonok a mért fehérjeszintek mediánját \pm 95%-os konfidenciaintervallumát mutatják (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, normális eloszlás esetén egyirányú varianciaanalízissel, majd Sidak post hoc teszttel, illetve Dunn post hoc teszttel, ha az adatok eloszlása nem volt normális). Rövidítések: AGR, apokrin mirigyekben gazdag; CDSN, corneodesmosin; CLDN, claudin; DSG1, desmoglein 1; FLG, filaggrin; HS, Hidradenitis suppurativa; HS-L, léziós HS bőr; HS-NL, nem léziós HS bőr; KLK, kallikrein; KRT, keratin; LOR, lorincin; OCLN, occludin; TGM, transzglutamináz

5.2.6. 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 (**14. ábra**).

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-NL vs AGR = -1,08 és 1,1, illetve), megerősítve korábbi eredményeinket.



14. ábra A sejtkapcsoló struktúrák szerveződése egészséges AGR és HS-NL bőrmintákban A CLDN (zöld; balról az első és második oszlopban) és a DSG1 (zöld; balról a harmadik és negyedik oszlopban) immunfluoreszcens festése normál és HS-NL (follikuláris és interfollikuláris) bőr epidermiszében. Méretség minden képen: 5 μ m. Az Y-tengely tartalmazza a pontok közötti távolságokat mikrométerben a box-plotokon. n.s., nem szignifikáns.

6. 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 expresszáldott már a nem léziós HS bőrben, másrészt az IL-1 β , IL-23 és TNF- α 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- α kifejeződése csak a léziós HS bőrben mutatott szignifikáns növekedést, a T-sejtek, dendritikus sejtek és makrofágok beáramlásával, valamint az IL-12, IFN γ , IL 17A, IL-10, TGF β és CCL20 expressziós szintjének megemelkedésével együtt. A léziós HS bőrben az epidermális IL-1 β , IL-23, TNF α 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 (**15. ábra**). 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 [86]. Hasonlóképpen, Coates és munkatársai is megemelkedett AMP-szintet találtak a HSL bőrben, és feltételezésük szerint a HS kialakulását a megváltozott AMP-expresszió okozhatja [110]. 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 [111, 112]. Ami az IL-1 β , TNF- α 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 [91, 113, 114].

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 [109].

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 [115-117]. 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 [47]. A korábbi tanulmányokkal összhangban a jelenlegi eredményeink arra utalnak, hogy az IL-1 β 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(β)] sejtekről az IL-17/IFN γ -t termelő gyulladós Th17 [Th17(23)] sejtekre. Ezt a változást az RNASeq-adatok (heatmap) is megerősítették, amelyek a Th17(β) 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 [47, 118]. Másrészt a TNF- α epidermális termelődése növelheti az IL-17 gyulladáskeltő potenciálját, mivel a legújabb immunológiai adatok szerint a TNF- α és az IL-17 együttes jelenléte szinergista módon, erősebben indukálja a gyulladós mediátorokat, míg az IL-17 önmagában nem képes hatékonyan gyulladást kiváltani [119].

A TNF- α és az IL-23 citokinek fontosságát bizonyítja, hogy a TNF- α 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- α és IL-23 szint lehet erre magyarázat, míg egy másik magyarázat lehet a magas szintű epidermális termelődésük. Hasznos lenne e nagy molekulású (anti-TNF: 148 kDa; anti-IL-23: 143 kDa) monoklonális antitestek retrográd penetrációjának részletes vizsgálata HS epidermiszben, mely valószínűsíthetően 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 mRNA és fehérje alapú módszerrel. Eredményeink rávilágítottak a KC-k fontosságára a HS patológiájában, mivel kiemelkedő mediátor termelésük kulcsszerepet játszik a nem gyulladásos Th17 sejtek gyulladásos típusú Th17 sejtekké való átalakulásában, és erősíti a gyulladást.

Egészséges, AGR bőr		Nem-léziós HS bőr vs Egészséges, AGR bőr		Léziós HS bőr vs Nem-léziós HS bőr	
Epidermisz	TNF α		↑↑	TNF α	NFI
	IL-23		↑↑↑	IL-23	NFI
	IL-1 β		↑↑	IL-1 β	↑
	IL-6		NFI	IL-6	↑
	CCL2		↑	CCL2	↑↑
	S100A8		↑	S100A8	↑↑
	LCN2		NFI	LCN2	↑↑
	hBD-2		↑	hBD-2	↑↑
Dermisz	CD4 ⁺ T sejt		NFI	CD4 ⁺ T sejt	↑↑
	CD11c ⁺ DC		NFI	CD11c ⁺ DC	↑↑
	CD163 ⁺ M		↑	CD163 ⁺ M	↑↑
	IL-12		↑	IL-12	↑↑
	IFN γ		↑	IFN γ	↑↑
	TNF α		NFI	TNF α	↑↑
	IL-23		NFI	IL-23	↑↑
	IL17		NFI	IL17	↑↑
	IL10		NFI	IL10	↑↑
	TGF β		NFI	TGF β	↑↑
CCL20		NFI	CCL20	↑↑	

15.ábra A keratinociták a HS patofiziológiájának kulcsfontosságú, vezető szereppel bíró sejtjeinek tekinthetők Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy az epidermális, KC-mediált immunaktivitás az első lépése a HS kialakulásának, mivel az összes vizsgált AMP-t és pro-inflammatorikus citokint, az IL-1 β -t, IL-23-t és a TNF- α -t már a nem léziós HS bőrben nagymértékben expresszálják a KC-k. A betegség progressziója során, amikor a HS-re jellemző elváltozások kialakulnak, az IL-23 és a TNF- α dermális termelődése is jelentősen megnő, kiegészülve a gyulladásos sejtek fokozott beáramlásával és a Th1/Th17-hez kapcsolódó citokinek és kemokinek emelkedett

expressziójával a dermiszben. Ugyanakkor az IL-1 β , IL-23 és TNF- α fehérjék jelenléte az epidermiszben magas marad, további szignifikáns növekedés nélkül, a nem léziós HS-hez képest. Összességében ezek az eredmények megerősítik, hogy a KC-k a HS patogenezisének kulcsfontosságú driver sejtjei. A bemutatott adatok fehérjeszinten végzett vizsgálataink eredményein alapulnak. A zöld nyilak tendenciózus emelkedést jelentenek, de nincs szignifikáns upreguláció $FC \geq 2$, míg a duplikált nagyobb piros nyilak szignifikáns upregulációt jeleznek. Az NFI azt jelenti, hogy "nincs további növekedés", és nem szignifikáns változásokat jelent, amelyeknél a fold change (FC) kisebb, mint 2. Rövidítések: AGR, apokrin mirigyben gazdag; CD163+ M, CD163+ makrofág; DC, dendritikus sejt; HS, Hidradenitis suppurativa; HS-L, léziós HS; HS-NL, nem-léziós. HS; IF, immunfluoreszcencia; IHC, immunhisztokémia; KC, keratinocita).

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 [3, 120, 121].

Krónikus gyulladással járó bőrbetegségekben, mint az atópiás dermatitisben (AD) és valószínűleg papulopustuláris rosaceában (PPR) is, feltehetően a permeabilitási barrier károsodása aktiválja a KC-kat [122-130]. 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 [122, 127]. Nemrégiben PPR-ben is nagyon hasonló permeabilitási barrier károsodást írtak le, ami a betegség kialakulásában játszik szerepet [129]. A HS-ben a KC-k elsődleges immunaktivátor szerepét mutattuk ki a disszertációm első részét képező 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 bőrtől. 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 [109, 131]. Mivel a KRT6 inkább az erősen aktivált és proliferatív KC-k markere patológiás körülmények között, mint barrier alarmin molekula [132, 133], 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 a permeabilitási barrieret a HS-ben. Azonban ők nem alkalmaztak egyidejűleg RNS- és fehérjealapú vizsgálatokat vagy konfokális módszert, és nem vizsgálták meg az összes fő barrier elemet [131, 134, 135]. 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 sejtkomponensek) kimutatására [115-117]. 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 [134]. 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 [131, 135]. 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 vizsgálatainkat (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 [90, 136, 137].

7. 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⁺ T-sejtek, CD11c⁺ myeloid DC-k és CD163⁺ 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 β , IL-23 és TNF- α már a nem léziós HS bőr epidermiszében is jelentős mértékben kifejeződött. Másrészt a dermális IL-23 és a TNF- α csak a léziós HS bőrben mutatott szignifikáns növekedést, a T-sejtek, DC-k és makrofágok beáramlásával, valamint az IL-12, IFN γ , IL 17A, IL-10, TGF β 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 barrierjét, 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 mértük meg 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 KLK5 csökkent, a KLK7, 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.

8. SUMMARY

Hidradenitis suppurativa is an inflammatory skin disease of the apocrine gland-rich skin region, whereas the pathomechanism of the Th1/17 cytokine environment is well understood; however, the stages of immune milieu development and the time course of the disease are not yet known. To understand the initial steps of HS development, we investigated the number of CD4⁺ T cells, CD11c⁺ myeloid DCs and CD163⁺ macrophages, as well as the molecules related to the Th1/Th17 immune milieu, KC-derived factors, pro-inflammatory molecules and chemokines were first investigated at the mRNA level by RNASeq, quantitative real-time PCR (RT-qPCR) and at the protein level by IHC and IF. According to our results, all the investigated AMPs as well as IL-1 β , IL-23 and TNF- α were already significantly expressed in the epidermis of non-lesional HS skin. On the other hand, dermal IL-23 and TNF- α showed a significant increase only in lesional HS skin, together with an infiltration of T cells, DCs and macrophages, and an increase in the expression levels of IL-12, IFN γ , IL 17A, IL-10, TGF β and CCL20. In conclusion, these results confirmed that KCs play a key role in the pathomechanism of HS.

Our second study investigated the potential role of the permeability barrier of HS as a factor in KC activation, because damage to the permeability barrier in many chronic inflammatory skin diseases is thought to trigger the primary steps of disease through activation of KCs. First, we measured TEWL in lesional and non-lesional regions of HS patients and compared it with AGR regions of healthy volunteers. TEWL measurements in lesional HS and non-lesional HS skin showed no significantly different levels from those in AGR skin, suggesting that there is no detectable barrier dysfunction in HS. We investigated the two major barrier elements of the permeability barrier, SC and TJ, at the mRNA and protein levels. Molecules involved in cornified envelope formation, stratum corneum desquamation, intercellular lipid lamellae formation, corneodesmosome organization, and barrier alarmins were also investigated. Our results showed that in non-lesional HS skin, neither mRNA nor protein expression of the studied molecules differed significantly from normal skin. In HS lesional skin, although the mRNA levels of some molecules showed significant differences compared to AGR skin, only slight changes in the opposite direction were detected at the protein level (KRT1 and KLK5 decreased, KLK7, KRT6 and DSG1 increased). Among them, only KRT6 showed a large and consistent change in lesional HS skin at both mRNA and protein level. The confocal microscopy analysis confirmed our immunohistochemical results, as it did not indicate any significant impairment of permeability barrier function or junctional structure expression. Our results suggest that it is likely that it is not barrier damage that activates

genetically sensitive KCs, but other triggers, such as mutations, mechanical stress, hormonal changes, altered sweat production or pH, and dysregulated microbiota, which may combine to trigger inflammation leading to the clinical presentation of HS.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Nestle, F.O., et al., *Skin immune sentinels in health and disease*. Nat Rev Immunol, 2009. **9**(10): p. 679-91.
2. Chambers, E.S. and M. Vukmanovic-Stejic, *Skin barrier immunity and ageing*. Immunology, 2020. **160**(2): p. 116-125.
3. Hanel, K.H., et al., *Cytokines and the skin barrier*. Int J Mol Sci, 2013. **14**(4): p. 6720-45.
4. Tay, S.S., et al., *The Skin-Resident Immune Network*. Curr Dermatol Rep, 2014. **3**(1): p. 13-22.
5. Eyerich, S., et al., *Cutaneous Barriers and Skin Immunity: Differentiating A Connected Network*. Trends Immunol, 2018. **39**(4): p. 315-327.
6. Rajkumar, J., et al., *The Skin Barrier and Moisturization: Function, Disruption, and Mechanisms of Repair*. Skin Pharmacol Physiol, 2023. **36**(4): p. 174-185.
7. Grice, E.A., et al., *Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome*. Science, 2009. **324**(5931): p. 1190-2.
8. Grice, E.A. and J.A. Segre, *The skin microbiome*. Nat Rev Microbiol, 2011. **9**(4): p. 244-53.
9. Byrd, A.L., Y. Belkaid, and J.A. Segre, *The human skin microbiome*. Nat Rev Microbiol, 2018. **16**(3): p. 143-155.
10. Schitteck, B., et al., *Dermodin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands*. Nat Immunol, 2001. **2**(12): p. 1133-7.
11. Nakatsuji, T., et al., *Sebum free fatty acids enhance the innate immune defense of human sebocytes by upregulating beta-defensin-2 expression*. J Invest Dermatol, 2010. **130**(4): p. 985-94.
12. Proksch, E., *pH in nature, humans and skin*. J Dermatol, 2018. **45**(9): p. 1044-1052.
13. Dreno, B., et al., *Microbiome in healthy skin, update for dermatologists*. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2016. **30**(12): p. 2038-2047.
14. Bouslimani, A., et al., *Molecular cartography of the human skin surface in 3D*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015. **112**(17): p. E2120-9.
15. Kabashima, K., et al., *The immunological anatomy of the skin*. Nat Rev Immunol, 2019. **19**(1): p. 19-30.
16. Janeway, C.A., Jr., *Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology*. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1989. **54 Pt 1**: p. 1-13.
17. Lebre, M.C., et al., *Human keratinocytes express functional Toll-like receptor 3, 4, 5, and 9*. J Invest Dermatol, 2007. **127**(2): p. 331-41.
18. Miller, L.S. and R.L. Modlin, *Human keratinocyte Toll-like receptors promote distinct immune responses*. J Invest Dermatol, 2007. **127**(2): p. 262-3.
19. Belkaid, Y. and J.A. Segre, *Dialogue between skin microbiota and immunity*. Science, 2014. **346**(6212): p. 954-9.
20. Quaresma, J.A.S., *Organization of the Skin Immune System and Compartmentalized Immune Responses in Infectious Diseases*. Clin Microbiol Rev, 2019. **32**(4).
21. Schaubert, J. and R.L. Gallo, *Antimicrobial peptides and the skin immune defense system*. J Allergy Clin Immunol, 2008. **122**(2): p. 261-6.
22. Klechevsky, E., *Human dendritic cells - stars in the skin*. Eur J Immunol, 2013. **43**(12): p. 3147-55.
23. Rajesh, A., L. Wise, and M. Hibma, *The role of Langerhans cells in pathologies of the skin*. Immunol Cell Biol, 2019. **97**(8): p. 700-713.
24. Clausen, B.E. and P. Stoitzner, *Functional Specialization of Skin Dendritic Cell Subsets in Regulating T Cell Responses*. Front Immunol, 2015. **6**: p. 534.
25. Boltjes, A. and F. van Wijk, *Human dendritic cell functional specialization in steady-state and inflammation*. Front Immunol, 2014. **5**: p. 131.
26. Haniffa, M., M. Gunawan, and L. Jardine, *Human skin dendritic cells in health and disease*. J Dermatol Sci, 2015. **77**(2): p. 85-92.

27. Collin, M. and V. Bigley, *Human dendritic cell subsets: an update*. Immunology, 2018. **154**(1): p. 3-20.
28. Dias de Oliveira, N.F., et al., *Plasmacytoid dendritic cells in dermatology*. An Bras Dermatol, 2021. **96**(1): p. 76-81.
29. Nestle, F.O., et al., *Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production*. J Exp Med, 2005. **202**(1): p. 135-43.
30. Epelman, S., K.J. Lavine, and G.J. Randolph, *Origin and functions of tissue macrophages*. Immunity, 2014. **41**(1): p. 21-35.
31. Clark, R.A., *Skin-resident T cells: the ups and downs of on site immunity*. J Invest Dermatol, 2010. **130**(2): p. 362-70.
32. Nomura, T., K. Kabashima, and Y. Miyachi, *The panoply of alphabetaT cells in the skin*. J Dermatol Sci, 2014. **76**(1): p. 3-9.
33. O'Shea, J.J. and W.E. Paul, *Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4+ T cells*. Science, 2010. **327**(5969): p. 1098-102.
34. Honda, T., et al., *Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis*. J Invest Dermatol, 2013. **133**(2): p. 303-15.
35. Lazarevic, V. and L.H. Glimcher, *T-bet in disease*. Nat Immunol, 2011. **12**(7): p. 597-606.
36. Kim, B.S., E.D. Wojno, and D. Artis, *Innate lymphoid cells and allergic inflammation*. Curr Opin Immunol, 2013. **25**(6): p. 738-44.
37. Vercelli, D., *Immunoglobulin E and its regulators*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2001. **1**(1): p. 61-5.
38. Kabashima, K., *New concept of the pathogenesis of atopic dermatitis: interplay among the barrier, allergy, and pruritus as a trinity*. J Dermatol Sci, 2013. **70**(1): p. 3-11.
39. Kurebayashi, Y., et al., *Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells*. Genes Cells, 2013. **18**(4): p. 247-65.
40. Fujita, H., *The role of IL-22 and Th22 cells in human skin diseases*. J Dermatol Sci, 2013. **72**(1): p. 3-8.
41. Schmitt, E., M. Klein, and T. Bopp, *Th9 cells, new players in adaptive immunity*. Trends Immunol, 2014. **35**(2): p. 61-8.
42. Schlapbach, C., et al., *Human TH9 cells are skin-tropic and have autocrine and paracrine proinflammatory capacity*. Sci Transl Med, 2014. **6**(219): p. 219ra8.
43. Heath, W.R. and F.R. Carbone, *The skin-resident and migratory immune system in steady state and memory: innate lymphocytes, dendritic cells and T cells*. Nat Immunol, 2013. **14**(10): p. 978-85.
44. Mueller, S.N., et al., *Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence*. Annu Rev Immunol, 2013. **31**: p. 137-61.
45. Beke, G., et al., *Immunotopographical Differences of Human Skin*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 424.
46. Dajnoki, Z., et al., *Sebaceous Gland-Rich Skin Is Characterized by TSLP Expression and Distinct Immune Surveillance Which Is Disturbed in Rosacea*. J Invest Dermatol, 2017. **137**(5): p. 1114-1125.
47. Jenei, A., et al., *Apocrine Gland-Rich Skin Has a Non-Inflammatory IL-17-Related Immune Milieu, that Turns to Inflammatory IL-17-Mediated Disease in Hidradenitis Suppurativa*. J Invest Dermatol, 2019. **139**(4): p. 964-968.
48. Szabo, L., et al., *Cytokine profile of the epidermis is region specific and may determine the characteristics of inflammation*. Exp Dermatol, 2023. **32**(7): p. 1120-1131.
49. Egawa, G. and K. Kabashima, *Barrier dysfunction in the skin allergy*. Allergol Int, 2018. **67**(1): p. 3-11.
50. Matsui, T. and M. Amagai, *Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum*. Int Immunol, 2015. **27**(6): p. 269-80.

51. Kalinin, A., L.N. Marekov, and P.M. Steinert, *Assembly of the epidermal cornified cell envelope*. J Cell Sci, 2001. **114**(Pt 17): p. 3069-70.
52. DiColandrea, T., et al., *Subcellular distribution of envoplakin and periplakin: insights into their role as precursors of the epidermal cornified envelope*. J Cell Biol, 2000. **151**(3): p. 573-86.
53. Eckert, R.L., et al., *Transglutaminase function in epidermis*. J Invest Dermatol, 2005. **124**(3): p. 481-92.
54. Candi, E., et al., *Transglutaminase cross-linking properties of the small proline-rich 1 family of cornified cell envelope proteins. Integration with loricrin*. J Biol Chem, 1999. **274**(11): p. 7226-37.
55. Nemes, Z., et al., *A novel function for transglutaminase 1: attachment of long-chain omega-hydroxyceramides to involucrin by ester bond formation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(15): p. 8402-7.
56. Masukawa, Y., et al., *Characterization of overall ceramide species in human stratum corneum*. J Lipid Res, 2008. **49**(7): p. 1466-76.
57. Lundstrom, A., et al., *Evidence for a role of corneodesmosin, a protein which may serve to modify desmosomes during cornification, in stratum corneum cell cohesion and desquamation*. Arch Dermatol Res, 1994. **286**(7): p. 369-75.
58. Brattsand, M., et al., *A proteolytic cascade of kallikreins in the stratum corneum*. J Invest Dermatol, 2005. **124**(1): p. 198-203.
59. Deraison, C., et al., *LEKTI fragments specifically inhibit KLK5, KLK7, and KLK14 and control desquamation through a pH-dependent interaction*. Mol Biol Cell, 2007. **18**(9): p. 3607-19.
60. Kirschner, N., et al., *Tight junctions form a barrier in human epidermis*. Eur J Cell Biol, 2010. **89**(11): p. 839-42.
61. Kapitany, A., et al., *Regional Differences in the Permeability Barrier of the Skin-Implications in Acantholytic Skin Diseases*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(19).
62. Jemec, G.B. and A.B. Kimball, *Hidradenitis suppurativa: Epidemiology and scope of the problem*. J Am Acad Dermatol, 2015. **73**(5 Suppl 1): p. S4-7.
63. Saunte, D.M.L. and G.B.E. Jemec, *Hidradenitis Suppurativa: Advances in Diagnosis and Treatment*. JAMA, 2017. **318**(20): p. 2019-2032.
64. Ingram, J.R., et al., *Population-based Clinical Practice Research Datalink study using algorithm modelling to identify the true burden of hidradenitis suppurativa*. Br J Dermatol, 2018. **178**(4): p. 917-924.
65. Horvath, B., et al., *Hurley Staging Refined: A Proposal by the Dutch Hidradenitis Suppurativa Expert Group*. Acta Derm Venereol, 2017. **97**(3): p. 412-413.
66. Sabat, R., et al., *Hidradenitis suppurativa*. Nat Rev Dis Primers, 2020. **6**(1): p. 18.
67. Wolk, K., O. Join-Lambert, and R. Sabat, *Aetiology and pathogenesis of hidradenitis suppurativa*. Br J Dermatol, 2020. **183**(6): p. 999-1010.
68. Wolk, K., et al., *Deficiency of IL-22 contributes to a chronic inflammatory disease: pathogenetic mechanisms in acne inversa*. J Immunol, 2011. **186**(2): p. 1228-39.
69. Sabat, R., et al., *Increased prevalence of metabolic syndrome in patients with acne inversa*. PLoS One, 2012. **7**(2): p. e31810.
70. Shlyankevich, J., et al., *Hidradenitis suppurativa is a systemic disease with substantial comorbidity burden: a chart-verified case-control analysis*. J Am Acad Dermatol, 2014. **71**(6): p. 1144-50.
71. Schneider-Burrus, S., et al., *High Prevalence of Back Pain and Axial Spondyloarthritis in Patients with Hidradenitis Suppurativa*. Dermatology, 2016. **232**(5): p. 606-612.
72. Richette, P., et al., *Hidradenitis suppurativa associated with spondyloarthritis -- results from a multicenter national prospective study*. J Rheumatol, 2014. **41**(3): p. 490-4.
73. Deckers, I.E., et al., *Inflammatory bowel disease is associated with hidradenitis suppurativa: Results from a multicenter cross-sectional study*. J Am Acad Dermatol, 2017. **76**(1): p. 49-53.
74. Egeberg, A., et al., *Prevalence and Risk of Inflammatory Bowel Disease in Patients with Hidradenitis Suppurativa*. J Invest Dermatol, 2017. **137**(5): p. 1060-1064.

75. Gonzalez-Lopez, M.A., et al., *Increased prevalence of subclinical atherosclerosis in patients with hidradenitis suppurativa (HS)*. J Am Acad Dermatol, 2016. **75**(2): p. 329-35.
76. Revuz, J.E., et al., *Prevalence and factors associated with hidradenitis suppurativa: results from two case-control studies*. J Am Acad Dermatol, 2008. **59**(4): p. 596-601.
77. Konig, A., et al., *Cigarette smoking as a triggering factor of hidradenitis suppurativa*. Dermatology, 1999. **198**(3): p. 261-4.
78. Hana, A., et al., *Functional significance of non-neuronal acetylcholine in skin epithelia*. Life Sci, 2007. **80**(24-25): p. 2214-20.
79. Wittebole, X., et al., *Nicotine exposure alters in vivo human responses to endotoxin*. Clin Exp Immunol, 2007. **147**(1): p. 28-34.
80. Fitzsimmons, J.S. and P.R. Guilbert, *A family study of hidradenitis suppurativa*. J Med Genet, 1985. **22**(5): p. 367-73.
81. Ingram, J.R., *The Genetics of Hidradenitis Suppurativa*. Dermatol Clin, 2016. **34**(1): p. 23-8.
82. Gao, M., et al., *Inversa acne (hidradenitis suppurativa): a case report and identification of the locus at chromosome 1p21.1-1q25.3*. J Invest Dermatol, 2006. **126**(6): p. 1302-6.
83. Wang, B., et al., *Gamma-secretase gene mutations in familial acne inversa*. Science, 2010. **330**(6007): p. 1065.
84. Wang, Z., Y. Yan, and B. Wang, *gamma-Secretase Genetics of Hidradenitis Suppurativa: A Systematic Literature Review*. Dermatology, 2021. **237**(5): p. 698-704.
85. Orvain, C., et al., *Hair follicle stem cell replication stress drives IFI16/STING-dependent inflammation in hidradenitis suppurativa*. J Clin Invest, 2020. **130**(7): p. 3777-3790.
86. Hotz, C., et al., *Intrinsic Defect in Keratinocyte Function Leads to Inflammation in Hidradenitis Suppurativa*. J Invest Dermatol, 2016. **136**(9): p. 1768-1780.
87. Hessam, S., et al., *Inflammation induced changes in the expression levels of components of the microRNA maturation machinery Drosha, Dicer, Drosha co-factor DGRC8 and Exportin-5 in inflammatory lesions of hidradenitis suppurativa patients*. J Dermatol Sci, 2016. **82**(3): p. 166-74.
88. Dunstan, R.W., et al., *Histologic progression of acne inversa/hidradenitis suppurativa: Implications for future investigations and therapeutic intervention*. Exp Dermatol, 2021. **30**(6): p. 820-830.
89. von Laffert, M., et al., *Hidradenitis suppurativa/acne inversa: bilocated epithelial hyperplasia with very different sequelae*. Br J Dermatol, 2011. **164**(2): p. 367-71.
90. van der Zee, H.H., et al., *Alterations in leucocyte subsets and histomorphology in normal-appearing perilesional skin and early and chronic hidradenitis suppurativa lesions*. Br J Dermatol, 2012. **166**(1): p. 98-106.
91. Kelly, G., et al., *Dysregulated cytokine expression in lesional and nonlesional skin in hidradenitis suppurativa*. Br J Dermatol, 2015. **173**(6): p. 1431-9.
92. Moran, B., et al., *Hidradenitis Suppurativa Is Characterized by Dysregulation of the Th17:Treg Cell Axis, Which Is Corrected by Anti-TNF Therapy*. J Invest Dermatol, 2017. **137**(11): p. 2389-2395.
93. Qiao, P., et al., *Mechanical Stretch Exacerbates Psoriasis by Stimulating Keratinocyte Proliferation and Cytokine Production*. J Invest Dermatol, 2019. **139**(7): p. 1470-1479.
94. Danby, F.W., et al., *Preliminary findings suggest hidradenitis suppurativa may be due to defective follicular support*. Br J Dermatol, 2013. **168**(5): p. 1034-9.
95. Nelson, A.M., et al., *E-cadherin and p120ctn protein expression are lost in hidradenitis suppurativa lesions*. Exp Dermatol, 2019. **28**(7): p. 867-871.
96. Langan, E.A., et al., *The Role of the Cutaneous Microbiome in Hidradenitis Suppurativa-Light at the End of the Microbiological Tunnel*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(4).
97. van Straalen, K.R., E.P. Prens, and J.E. Gudjonsson, *Insights into hidradenitis suppurativa*. J Allergy Clin Immunol, 2022. **149**(4): p. 1150-1161.

98. Witte-Handel, E., et al., *The IL-1 Pathway Is Hyperactive in Hidradenitis Suppurativa and Contributes to Skin Infiltration and Destruction*. *J Invest Dermatol*, 2019. **139**(6): p. 1294-1305.
99. Gudjonsson, J.E., et al., *Contribution of plasma cells and B cells to hidradenitis suppurativa pathogenesis*. *JCI Insight*, 2020. **5**(19).
100. Hoffman, L.K., et al., *Integrating the skin and blood transcriptomes and serum proteome in hidradenitis suppurativa reveals complement dysregulation and a plasma cell signature*. *PLoS One*, 2018. **13**(9): p. e0203672.
101. Penno, C.A., et al., *Lipidomics Profiling of Hidradenitis Suppurativa Skin Lesions Reveals Lipoyxygenase Pathway Dysregulation and Accumulation of Proinflammatory Leukotriene B4*. *J Invest Dermatol*, 2020. **140**(12): p. 2421-2432 e10.
102. Wolk, K., et al., *Lipocalin-2 is expressed by activated granulocytes and keratinocytes in affected skin and reflects disease activity in acne inversa/hidradenitis suppurativa*. *Br J Dermatol*, 2017. **177**(5): p. 1385-1393.
103. Wolk, K., et al., *Activity and components of the granulocyte colony-stimulating factor pathway in hidradenitis suppurativa*. *Br J Dermatol*, 2021. **185**(1): p. 164-176.
104. Seyed Jafari, S.M., R.E. Hunger, and C. Schlapbach, *Hidradenitis Suppurativa: Current Understanding of Pathogenic Mechanisms and Suggestion for Treatment Algorithm*. *Front Med (Lausanne)*, 2020. **7**: p. 68.
105. Zouboulis, C.C., et al., *European S1 guideline for the treatment of hidradenitis suppurativa/acne inversa*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2015. **29**(4): p. 619-44.
106. Lewandowski, M., Z. Swierczewska, and W. Baranska-Rybak, *Hidradenitis suppurativa: a review of current treatment options*. *Int J Dermatol*, 2022. **61**(9): p. 1152-1164.
107. Kimball, A.B., et al., *Two Phase 3 Trials of Adalimumab for Hidradenitis Suppurativa*. *N Engl J Med*, 2016. **375**(5): p. 422-34.
108. Marzano, A.V., et al., *Evidence for a 'window of opportunity' in hidradenitis suppurativa treated with adalimumab: a retrospective, real-life multicentre cohort study*. *Br J Dermatol*, 2021. **184**(1): p. 133-140.
109. Zouboulis, C.C., et al., *Alterations in innate immunity and epithelial cell differentiation are the molecular pillars of hidradenitis suppurativa*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2020. **34**(4): p. 846-861.
110. Coates, M., et al., *The skin transcriptome in hidradenitis suppurativa uncovers an antimicrobial and sweat gland gene signature which has distinct overlap with wounded skin*. *PLoS One*, 2019. **14**(5): p. e0216249.
111. Lima, A.L., et al., *Keratinocytes and neutrophils are important sources of proinflammatory molecules in hidradenitis suppurativa*. *Br J Dermatol*, 2016. **174**(3): p. 514-21.
112. Bechara, F.G., et al., *Acne inversa: evaluating antimicrobial peptides and proteins*. *Ann Dermatol*, 2012. **24**(4): p. 393-7.
113. Schlapbach, C., et al., *Expression of the IL-23/Th17 pathway in lesions of hidradenitis suppurativa*. *J Am Acad Dermatol*, 2011. **65**(4): p. 790-798.
114. van der Zee, H.H., et al., *Elevated levels of tumour necrosis factor (TNF)-alpha, interleukin (IL)-1beta and IL-10 in hidradenitis suppurativa skin: a rationale for targeting TNF-alpha and IL-1beta*. *Br J Dermatol*, 2011. **164**(6): p. 1292-8.
115. Szel, E., et al., *Comprehensive Proteomic Analysis Reveals Intermediate Stage of Non-Lesional Psoriatic Skin and Points out the Importance of Proteins Outside this Trend*. *Sci Rep*, 2019. **9**(1): p. 11382.
116. Bozo, R., et al., *Could basement membrane alterations, resembling micro-wounds at the dermo-epidermal junction in psoriatic non-lesional skin, make the skin susceptible to lesion formation?* *Exp Dermatol*, 2021. **30**(6): p. 765-772.
117. Nosbaum, A., et al., *Psoriasis is a disease of the entire skin: non-lesional skin displays a prepsoriasis phenotype*. *Eur J Dermatol*, 2021. **31**(2): p. 143-154.

118. Melnik, B.C., et al., *T helper 17 cell/regulatory T-cell imbalance in hidradenitis suppurativa/acne inversa: the link to hair follicle dissection, obesity, smoking and autoimmune comorbidities*. Br J Dermatol, 2018. **179**(2): p. 260-272.
119. Veldhoen, M., *Interleukin 17 is a chief orchestrator of immunity*. Nat Immunol, 2017. **18**(6): p. 612-621.
120. Boer, M., et al., *Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function*. Postepy Dermatol Alergol, 2016. **33**(1): p. 1-5.
121. Brandner, J.M., et al., *Epidermal tight junctions in health and disease*. Tissue Barriers, 2015. **3**(1-2): p. e974451.
122. Elias, P.M., L.C. Wood, and K.R. Feingold, *Epidermal pathogenesis of inflammatory dermatoses*. Am J Contact Dermat, 1999. **10**(3): p. 119-26.
123. Taieb, A., *Hypothesis: from epidermal barrier dysfunction to atopic disorders*. Contact Dermatitis, 1999. **41**(4): p. 177-80.
124. Cork, M.J., et al., *New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions*. J Allergy Clin Immunol, 2006. **118**(1): p. 3-21; quiz 22-3.
125. Callard, R.E. and J.I. Harper, *The skin barrier, atopic dermatitis and allergy: a role for Langerhans cells?* Trends Immunol, 2007. **28**(7): p. 294-8.
126. Bieber, T., *Atopic dermatitis*. N Engl J Med, 2008. **358**(14): p. 1483-94.
127. Cork, M.J., et al., *Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis*. J Invest Dermatol, 2009. **129**(8): p. 1892-908.
128. Lee, H.J. and S.H. Lee, *Epidermal permeability barrier defects and barrier repair therapy in atopic dermatitis*. Allergy Asthma Immunol Res, 2014. **6**(4): p. 276-87.
129. Beck, L.A., et al., *Type 2 Inflammation Contributes to Skin Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis*. JID Innov, 2022. **2**(5): p. 100131.
130. Medgyesi, B., et al., *Rosacea Is Characterized by a Profoundly Diminished Skin Barrier*. J Invest Dermatol, 2020. **140**(10): p. 1938-1950 e5.
131. Kurzen, H., et al., *Forms of epithelial differentiation of draining sinus in acne inversa (hidradenitis suppurativa)*. Br J Dermatol, 1999. **141**(2): p. 231-9.
132. Sun, T.T., et al., *Keratin classes: molecular markers for different types of epithelial differentiation*. J Invest Dermatol, 1983. **81**(1 Suppl): p. 109s-15s.
133. Koch, P.J. and D.R. Roop, *The role of keratins in epidermal development and homeostasis--going beyond the obvious*. J Invest Dermatol, 2004. **123**(5): p. x-xi.
134. Navrazhina, K., et al., *Epithelialized tunnels are a source of inflammation in hidradenitis suppurativa*. J Allergy Clin Immunol, 2021. **147**(6): p. 2213-2224.
135. Criswell, S., *Altered expression of epithelial proteins in hidradenitis suppurativa*. J. Clin. Exp. Dermatol. Res, 2022. **13**.
136. Tuzun, Y., et al., *Bacterial infections of the folds (intertriginous areas)*. Clin Dermatol, 2015. **33**(4): p. 420-8.
137. Vekic, D.A., J. Frew, and G.D. Cains, *Hidradenitis suppurativa, a review of pathogenesis, associations and management. Part 1*. Australas J Dermatol, 2018. **59**(4): p. 267-277.

10. KULCSSZAVAK

Hidradenitis suppurativa, immunbarrier, permeabilitási barrier, keratinocita, tight junction

11. KEYWORDS

Hidradenitis suppurativa, immune barrier, permeability barrier, keratinocyte, tight junction

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálásan köszönöm témavezetőmnek Prof. Dr. Szegedi Andreának, hogy lehetővé tette számomra, hogy kezdő kutatóként a Bőrgyógyászati Tanszéken elkezdhettem a tudományos munkavégzésemet, valamint folyamatos támogatásával hozzájárult a szakmai fejlődésemhez és a doktori disszertációm elkészüléséhez.

Hálával és köszönettel tartozom a kutatócsoportunk további tagjainak Dr. Kapitány Anikónak és Dr. Dajnoki Zsoltank, akik mindvégig segítőkészen álltak mellettem a munkám során, értékes tanácsaikkal és szakmai mentorálásukkal támogattak engem.

Szeretném megköszöni kollegáimnak, Dr. Dull Katalinnak, Dr. Retzlerné Medgyesi Barbarának, Dr. Janka Eszternek, Toka Farkas Tündének, Dr. Póliska Szilárdnak és Dr. Hendrik Zoltánnak, hogy hozzájárultak a disszertációm alapjául szolgáló közlemények megszületéséhez. Hálásan köszönöm barátnőmnek és kolleganőmnek, Szabó Lillának az alázatos munkáját, a rengeteg segítséget és támogatást az együtt töltött munka során. Szeretnék köszönetet mondani a szövettani laboratóriumban dolgozó kolléganőknek, Csapóné Sandra Ildikónak és Vágóczki Erzsébetnek, akik kivételes szakmai tudásukkal és segítőkészségükkel hozzájárultak a laboratóriumi munkáim sikeres végrehajtásához.

Az értekezésem elkészítését az OTKA-K128250 számú és EFOP3.6.1-16-2016-00022 számú projektek támogatták. A projekt az Európai Unió támogatásával, Európai Regionális Fejlesztési Alap és az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg. Köszönettel tartozom az Eötvös Lóránd Kutatói Hálózat Támogatott Kutatóhelyek Irodájának, az ELKH-DE Allergológiai Kutatócsoportnak.

Nagy hálával és köszönettel tartozom családomnak és barátaimnak az állandó támogatásukért és türelmükért.

13. PUBLIKÁCIÓS LISTA



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

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

Jelölt: Somogyi Orsolya

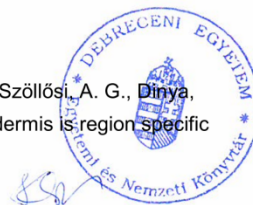
Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

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.



