

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**

**A PPAR $\gamma$  molekula szerepe  
ép és kóros humán faggyúmirigyekben**

**dr. Dózsa Anikó**

**Témavezető: Prof. Dr. Nagy László**



**DEBRECENI EGYETEM**  
**MOLEKULÁRIS SEJT- ÉS IMMUNBIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA**  
**Debrecen, 2016**

## **A PPAR $\gamma$ molekula szerepe ép és kóros humán faggyúmirigyekben**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
az elméleti orvostudományok tudományágban

Írta: dr. Dózsa Anikó, bőrgyógyász szakorvos

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Sejt- és Immunbiológia  
doktori iskolája keretében

Témavezető: Prof. Dr. Nagy László, akadémikus

A doktori szigorlati bizottság tagjai:

elnök: Prof. Dr. Fésüs László, akadémikus  
tagok: Prof. Dr. Szegedi Andrea, az MTA doktora  
Dr. Arányi Tamás, PhD

A doktori szigorlat helyszíne és időpontja:  
Debreceni Egyetem ÁOK, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet Diskussziós  
szoba, 2016.december 8. 11 óra

Az értekezés bírálói:  
Prof. Dr. Széll Márta, az MTA doktora  
Dr. Emri Gabriella, MD, PhD

A bírálóbizottság:  
elnök: Prof. Dr. Fésüs László, akadémikus  
tagok: Prof. Dr. Szegedi Andrea, az MTA doktora  
Prof. Dr. Széll Márta, az MTA doktora  
Dr. Arányi Tamás, PhD  
Dr. Emri Gabriella, PhD

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja:  
Debreceni Egyetem ÁOK, Bőrgyógyászati Intézet „A” épület tanterme  
2016.december 8. 13 óra

## BEVEZETÉS

### 1. A humán faggyúmirigyek anatómiája

A faggyúmirigy (FM) módosult keratinocytákból álló holokrin mirigy. Két részből áll: centrális mirigyrészből, (lobulus) és egy kivezető csőből (ductus). A centrális mirigyrészben bazális, suprabazális érett sejtek, és centrális sejtek vannak. A bazális sejtek feladata az osztódás, a suprabazális sejtek lipideket termelnek, a centrális sejtek kiérnek, lelökődnek, és a faggyút alkotják. A kicserélődési idő (turnover) 14 nap. A ductus két szakaszra bontható: a lobulushoz közeli, infrainfundibuláris és távolabbi, acroinfundibuláris részre. A ductus sejtjei hasonlóak az epidermis hámsejtjeihez. Az acroinfundibuláris rész ritkán a külvilág felé nyílik, gyakrabban egy szőrtüsző infundibulumhoz kapcsolódik, ilyenkor a mirigy és szőrtüsző együttesét pilosebaceous egységnek hívjuk. Az elhalt infrainfundibularis sejtek a faggyúval távoznak, az acroinfundibularis sejtek viszont közvetlenül az epidemisre ürülnek. Az emberi bőr faggyúmirigyben gazdag területei: axilla, arc, hát felső része, mellkas, haja fejbőr, felső végtag külső proximalis területe. Tenyerek és talpak faggyúmirigyeket nem tartalmaznak.

### 2. A faggyúmirigy sejtek funkciója az emberi bőrben

Az emberi bőr felszínét a sejtrétegek felett lipidek, fehérjék borítják. Ezek feladata a bőr védelme. A FM faggyút/sebumot és más kisebb lipideket, fehérjéket termel. A faggyú sárga, viszkózus folyadék, amely glicerideket és szabad zsírsavakat (57%), szkvalént (12%), viaszt és szterol észtereket (29%), és szabad szterolokat (2%), elhalt sejtek organellumait, és fehérjéket tartalmaz (később részletezzük). A bőr felszíni lipidek 80%-át ezek, az ún. major lipidek teszik ki. A bőr FM szegény területeinél az epidermis biztosítja a lipideket. A sebum lipidtartalmát hormonok szabályozzák. Ma a legfontosabb szabályozó hormonoknak az androgéneket tartjuk.

A FM fehérjét is termel (pl. androgén receptor fehérje, fibroblast növekedési faktor receptor FGFR, FoXO protein, Insulin –szerű növekedési faktor receptor (IGF-R) melyek a FM sejteket és a FM-et körülvevő sejteket szabályozzák. Ezen kívül néhány fehérje (pl. IL-6, IL-1) a FM gyulladásos folyamataiban, betegségek kialakulásában szerepet játszik.

### **3. Faggyúmirigyek betegségei**

A faggyúmirigyeknek számos kóros állapota ismert, melyek javarészt nem a faggyúmirigyekből indulnak ki, hanem azt másodlagosan érintik. Kutatásunk során néhány, faggyúmirigyből kiinduló betegséget tanulmányoztunk, ezeket röviden ismertetjük: tumorok (FM hiperplázia, adenoma, carcinoma) és acne vulgaris.

A FM hiperplázia az újszülöttek felét érinti, majd később spontán megszűnik, később 40 év feletti felnőttek 1%-ban jelentkezik (USA adatok szerint). A hiperpláziás FM akár 10x méretűre is növekedhetnek, és nagyon kevés faggyút termelnek. Szövettani vizsgálattal a normál lobuláris FM szerkezet látszik, a bazális sejtsor megvastagodása nélkül. A FM adenoma ritka tumor, makroszkóposan bőrszínű vagy sárga, jól körülírt papula vagy csomó, mely általában az arcon, hajas fejbőrön, vagy törzsön jelentkezik. Szövettani képen FM sejtekhez hasonló sejt csoportokat, lobulusokat láthatunk a dermis alsó részén. A tumorban bazaloid sejtek és nagy világos citoplazmatikus lipid vakuólumokat tartalmazó sejtek láthatóak, de a szerkezet nem alakít ki faggyúmirigyet, úgy, mint FM hiperpláziánál láttuk. Sebaceus carcinoma nagyon ritka daganat, két formája ismert: okuláris (80%) és extraokuláris (20%), ilyenkor arc, nyak, genitális régió, törzs érintett. Extracutan formája extrém ritka, a nyálmirigyben lehet. A tumor puha tapintatú, bőrszínű, néhány mm nagyságú. Szövettani képen atípusos epidermális sejtek Pagetoid invázióval, polygonalis, változatos morfológiájú carcinoma sejtek láthatóak, néhány világos citoplazmájú, nagymagvú sejttel együtt. A sejtek lobulusokat alkothatnak a dermisben.

Az acne vulgaris a FM.ből kiinduló gyulladásos betegség, mely szinte minden embert érint élete folyamán. Acne vulgarisban megjelenő bőrtünetek: seborhea, komédo (nyílt vagy zárt), hiperémiás papulák, pustulák, csomók, melyek típusosan a FM gazdag bőrterületeken jelennek meg. Az acne vulgaris a pubertázs korban indul, androgén függő folyamatként. Az acne kialakulásának lépései a klasszus értelmezés szerint FM kivezetőcsövének infundibuláris hiperkeratinizációjával indul, fokozott faggyútermelés mellett. A hiperkeratinizáció miatt nem tud kiürülni a faggyú, így dugót képez. Ez a FM sejteket összenyomja, és a lipid termékek kiürülése gátolt, mely helyileg gyulladásos választ indít be, és segíti a P.acnes baktériumtörzsek elszaporodását. A klasszikus leírással szemben vannak szerzők, akik új koncepciót vetnek fel: a gyulladást, mint primer folyamatot írják le, mely beindítja a bőrbetegséget, és az acne vulgarist autoinflammatorikus bőrbetegséggé definiálják.

A FM –ből kiinduló bőrbetegségek pathomechanizmusa összetett folyamat. Ahhoz, hogy ezeket a betegségeket hatékonyan tudjuk kezelni, érdemes megismernünk részleteiben a faggyúmirigyek működését szabályozó molekuláris mechanizmusokat.

#### **4. A faggyúmirigyek működését szabályozó molekulák**

A faggyúmirigyek működését először az acne vulgaris pathomechanizmusával foglalkozó kutatások kezdték vizsgálni.

##### **4.1 Hormonok**

Számos olyan szindróma ismert, melynek az acne vulgaris bőrtünete, és emelkedett szérumszinttel jár, mint például a kongenitális adrenális hiperplázia (CAH), seborrhea – acne – hirsutizmus - androgén alopecia ( SAHA), szindróma vagy az androgén termelő tumorok. Emellett kimutatták, hogy a CAH tünetcsoportban az androgén receptort kódoló gének rövidebb CAG és GGN ismétlődő szakaszokat tartalmaznak, mint az egészségesek, vagy az androgén koregulátor molekulák módosulása következik be. Ugyanezt figyelték meg akkor is, ha a gonadális vagy mellékvese eredetű androgéntermelés emelkedett

volt. Az acne vulgaris típusosan pubertázskorban jelentkezik, amikor magas a szérumban androgén szint. Érdekes, hogy néhány csecsemőnél is jelentkezik acne, amelynek hátterében valószínűleg a magas anyai androgén szint áll.

Az inzulin – szerű hormonok a kutatások szerint szintén szerepet játszanak az acne vulgaris kialakulásában. Ismert, hogy a magas glikémiás index-szel rendelkező táplálékok, mint a tej, tejtermék, gyakori cukorfogyasztás, süteményfogyasztás együtt jár enyhe és középsúlyos acne-val. Ugyanakkor endokrinológiai megbetegedések, melyekben magas a szérumban inzulin/IGF-1 szint, mint a policisztás ovárium szindróma (PCO), vagy a hiperandrogenizmus - inzulin rezisztencia - acanthosis nigricans (HAIR-AN) szindróma szintén acne bőrtünettel együtt jelentkeznek.

Pubertázskorban az emelkedett növekedési hormon szint serkenti a máj IGF-1 szekrécióját, mely egy újabb magyarázat arra, miért ezt a korosztály érinti leginkább a betegség. Megfigyelték SEB-1 tenyésztett humán sebocitákban, hogy nagy dózisu inzulinkezeléssel a sejtek IGF-1-et termelnek, melyek a sterol-response-element-kötő protein 1 típusával (SREBP-1) kapcsolódva a lipid szintet emelik. A sebociták expresszálnak fibroblaszt növekedési faktor receptort (FGFR), mely az androgén függő tirozin kinázok közé tartozik. A receptor génjében bekövetkező delécio FM atrófiát eredményez.

Kortikoszteroidok kapcsán megfigyelték, hogy rendszeres, krónikus adagolás mellett acne alakult ki a betegek bőrén. CRH (corticotrop releasing hormon) CRH-receptorok a bőrben számos sejtben expresszálnak, így a FM sejtekben is. CRH fokozott kifejeződését figyelték meg acne vulgarisban a FM sejteken, és kimutatták, hogy dihidrotesztoszteronon keresztül tesztoszteron szintézisben szerepet játszik. CRH molekula befolyásolja a gyulladást, mint proinflammatorikus molekula parakrin módon a hízósejteken. A központi idegrendszerben a CRH molekula felelős az IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  molekulák termelődéséért. Ezek a citokinek nagy mennyiségben termelődnek acne vulgarisban. A CRH, és a CRH-1

receptor szintén nagy mennyiségben expresszálódik, emiatt a CRH-nak valószínűleg szerepe van az acne kialakulásában, szabályozó molekulaként – ezt a hipotézist Zouboulis és mtsai.

„a faggyúmirigy, mint agy a bőrben” jelölik meg.

Az endocannabinoidok a 2 típusú cannabinoid receptoron keresztül serkentik a humán faggyúmirigysejtek lipidtermelését és apoptózisát. Forkhead Box Transzkripció Faktorok O1A gén típusa tápanyag és növekedési faktor érzékeny faktor, mely a FM-ben jelen van, és androgén receptor aktivitást, alapvető sejtleletani jelenségeket szabályozza.

A PPAR $\gamma$  molekula az acne vulgarisban és más, FM involváló, lipidtermelési defektusokkal és gyulladásos reakcióval járó bőrbetegségekben meghatározó szerepű lehet.

#### 4.2 Citokinek

Alesta és mtsai. Írták le, hogy a FM a következő citokineket termeli: IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ . A PG (COX) jelátviteli útvonalat is tanulmányozták, a PGE<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub> emelkedett szintjét látták acne vulgarisban, így megállapították a leukotrién útvonal felerősödését acne vulgarisban, valamint IL-6 és IL-8 magas szintű termelődését. Magyarországon Szabó és mtsai. nemrégiben pozitív összefüggést találtak az ILA minor T allél (34845 G>T) egy nukleotidos polimorfizmus (SNP) és az acne megjelenése, valamint a gyulladásos acne súlyossága között. Emellett a TNF $\alpha$  308G >A allél polimorfizmus hasonló hatású, de a 857 C>T SNP –t protektív faktornak találták. Az acnés keratinocitákban magasabb TLR2 és TLR4 szintet, az acnés léziók melletti monocytákban pedig magas TLR2 szintet észleltek. Továbbá, a P- acnes baktériumok bizonyos törzsei szelektív IL-8 ,  $\beta$  –defenzin szintet indukáltak Toll like receptorokon keresztül az acnés keratocytákban. Az IL1-R és a TLR szerkezete nagyon hasonló, ami magyarázhatja azt, hogy az IL-1 $\alpha$  hatására miért indukálódik TLR- mediált immunválasz acne vulgarisban.

### 4.3 Transzkripciós faktorok

Számos olyan transzkripciós faktornak, mely a zsírsejtek szabályozásában szerepet játszik, szerepe van a FM-ben. A C/EBP $\beta$ , C/EBP $\alpha$ , KLF a faggyúmirigyekben in situ és a tenyésztett SZ95 sebocytákban is jelen van. Early B Factor célgénjét, az SREBP-1 molekulát és sok más, steroidogén enzimet leírtak sebocitákban. A melanocortin 5 receptor állatmodellekben bizonyítottan szerepet játszik a FM lipid termelésében. A PPAR molekuláknak szintén szerepük lehet a faggyútermelésben.

## 5. Peroxiszóma proliferáció aktiválta receptor $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )

### 5.1 A PPAR $\gamma$ funkciója

A PPAR $\gamma$  sejtmagi receptort (vagy NR1C3) eredetileg, mint a zsírképződés fő szabályozó molekuláját írták le, és az első célgénje az FABP4/aP2 gén volt. Azonban később számos tanulmány bizonyította, hogy a PPAR $\gamma$  molekula jelen van és aktív több más sejttípusban is, például immunsejtekben, simaizom sejtekben, gastrointesztinális epithel sejtekben. Emellett több sejtleletani folyamatban, a zsírképződésen kívül is leírták a PPAR $\gamma$  molekula szerepét, mint a gyulladás, atherosclerosis, csontképződés és rák. Továbbá, a PPAR $\gamma$  molekula FM-ben is termelődik. Leírták, hogy fontos szerepe lehet az acne vulgarisban, mely a leggyakoribb FM involváló, gyulladással és fokozott zsírképződéssel járó betegség. Megfigyelték, hogy a PPAR $\gamma$ -nak szerepe lehet PCO ( policisztás ovárium) szindrómában, melynél acne és hirsutizmus a bőrtünet, és gyakran 2. típusú diabetesszel, obezitással jár együtt, magas szérum inzulin és androgén szint mellett. Bizonyos molekulák a PPAR $\gamma$  molekulával együttműködnek, mint az LXR ( liver X receptor), amelyről leírták, hogy SZ95 sejtekben a lipid metabolizmust szabályozza. A FoxO1, mint kosuppressor a PPAR $\gamma$  molekula működését és a molekula szintézisét is gátolja.

### 5.2 PPAR $\gamma$ ligandok

A PPAR molekulák ligandjai lehetnek exogének és endogének. Az exogének, melyek a szervezeten kívülről kerülnek a sejtbe, szintetikus molekulák lehetnek: a thiazolidinedionok ( troglitazon, pioglitazon, ciglitazon, englitazon) melyek antidiabetikumok, inzulin-érzékenyítők a perifériás sejtekben. Néhány non-szteroid gyulladás gátló a PPAR $\alpha$  és  $\gamma$  molekulákhoz kötődik (indomethacin, fenoprofen, flufenaminsav, ibuprofen). Azonban az endogén ligandok, melyek a szervezetben képződnek, még nem pontosan ismertek így a bőrben jelen lévő ligandok sem. Potenciális ligandok a zsírsavak, a különféle eikozanoidok, és más lipidek, melyek a bőrben vannak, és a FM- ben is. A korábbi kutatások megmutatták, hogy az arachidonsav (AA) képes a PPAR $\gamma$  molekulát aktiválni, azonban nagyon valószínű, hogy nem maga az arachidonsav, hanem a származékai azok, amelyek a PPAR $\gamma$  legfontosabb bioaktív mediátorai a bőrben.

Összegezve a fentieket, az eredmények alapján célul tűztük ki , hogy szisztematikusan megvizsgáljuk a PPAR $\gamma$  molekula szerepét az emberi faggyúmirigy sejtekben. Azt is elhatároztuk, hogy az AA származékok között megkeressük a PPAR $\gamma$  molekula endogén ligandját, amely a receptort aktiválja, emellett a célgéneket és ezek szerepét a differenciációban és a lipid metabolizmusban in situ és in vitro.

Ahhoz, hogy ezeket a céljainkat megvalósítsuk, és emellett PPAR molekulák expressziós szintjeit és a PPAR $\gamma$  molekula expresszióját ép és kóros faggyúmirigyekben lemérhessük, két különböző FM modellt alkalmaztunk: i, lézer mikrodisszekált FM friss fagyasztott metszetekben és ii, humán immortalizált sebocitákat, SZ95 sejteket. Meghatároztuk a PPAR $\gamma$  molekula expressziós mintázatát FM hiperpláziában, adenomában és carcinomában. Azt találtunk, hogy az AA és az AA- származék keto-metabolitok befolyásolják a PPAR $\gamma$  molekula aktivitását, amelynek fontos szerepe lehet a sebociták differenciációjában és lipid termelésében.

## CÉLKITŰZÉS

Vizsgálatunk célja a PPAR $\gamma$  transzkripciós faktor faggyúmirigyekben betöltött szerepének megismerése volt. Szűkebben megfogalmazva, célunk volt:

- 1) PPAR $\gamma$  molekula és más differenciációs markerek azonosítása az ép és kóros szebocitákban ,
- 2) PPAR $\gamma$  molekula és aktivitására utaló molekulák azonosítása a szebocitákban in situ és in vitro,
- 3) a PPAR $\gamma$  molekula endogén ligandjainak azonosítása FM –ben,
- 4) PPAR $\gamma$  molekula szerepét a szebociták zsírtermelésében megismerni, és karakterizálni a PPAR $\gamma$  molekula aktivációja során a szebocita lipid profilban bekövetkezett változásokat,
- 5) acne vulgarisban szenvedő betegeken a PPAR $\gamma$  molekula expressziót meghatározni és PPAR $\gamma$  molekula endogén ligandjait azonosítani.

## **ANYAG ÉS MÓDSZER**

### **1. Sejttenyésztés**

Az SZ95 humán immortalizált sebecita sejtvonalat Sebomed médiumban tenyésztettük, 10%-os FCS, 1mM CaCl<sub>2</sub> 5 ng/ml humán rekombináns epidermális növekedési faktor, 50 U/ml penicillin, 50 µg streptomycin hozzáadásával.

### **2. Intracelluláris lipidek meghatározása fluorimetriás módszerrel**

SZ95 sejttenyészetben a lipidek szemikvantitatív meghatározásához fluorimetriás módszert alkalmaztunk. A sejtek foszfát pufferes (PBS) mosása után Nílus vörös festést alkalmaztunk, 1 µg/ml Nílus vörös (Sigma-Aldrich) PBS oldatban. 20 percig 37°C –on inkubáltuk a sejteket, majd a fluoreszcenciát fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk meg (Leica microsystems). A kvantitatív meghatározást Molecular Devices FlexStation384 II Fluorescence Image Microplate Reader (FLIPR, Molecular Devices, San Francisco, CA USA) segítségével a Debreceni Egyetem ÁOK Élettani Intézésében végeztük.

### **3. Membrán lipid alosztályok meghatározása elektronspray tandem ionizációs tömeg spektrometria (ESI-MS/MS) módszerrel**

Membrán lipid alosztályok meghatározása SZ95 sebecitákból kvantitatívan ESI-MS/MS-val történt, pozitív ion módot használva. A méréseket Gerhard Liebisch és Gerd Schmitz végezte (Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, University Hospital Regensburg, Germany).

### **4. Major lipid alosztályok azonosítása**

Az SZ95 sejtekben a major lipid alosztályokat *“high performance thin layer chromatography, time of flight mode mass spectrometry”* (HPTLC-ToF/MS és HPLC-MS) módszerekkel Mauro Picardo and Emanuela Camera (Istituto Dermatologico San Gallico, Rome, Italy) határozta meg.

## **5. Eicosanoid/docosanoid fajták azonosítása HPLC-MS-MS módszerrel**

Eicosanoid/docosanoid azonosítás SZ95 sejtekből HPLC-MS-MS módszerrel Ralph Rühl végezte (Debreceni Egyetem Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet).

## **6. RNS izolálás, valós idejű kvantitatív PCR (RT-qPCR)**

Az SZ95 sejtekből Trizol reagens (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) segítségével RNS-t izoláltunk a gyártó protokollja szerint. A reverz transzkripció (RT) 42°C 30 percig történt 100ng totál RNS-ből. A méréshez Superscript II reverz transzkriptázt alkalmaztunk (Invitrogene, Carlsbad, CA, USA). A kvantitatív PCR ABI PRISM 7900 készülékkel történt (Applied Biosystems Foster City, CA, USA). A transzkriptumok kvantifikálására összehasonlító Ct módszert használtunk, az értékeket human cyclophilin A transzkriptumra normalizáltuk.

Lézer mikrodisszekált mintákból az RT és a PCR reakció egy elegyben történt, Cells Direct One Step RT-qPCR kit segítségével (Invitrogene, Cat. No: 11754-100, Carlsbad, CA, USA) a gyártó protokollja szerint.

## **7. Statisztikai elemzés**

Az adatokat átlag± szórás (SD) értékekkel adtuk meg. Az elemzést egyoldalú, kétmintás t-próbával vagy egyutas ANOVA –t követő Boferroni és Dunnett post hoc tesztekkel végeztük, és  $p < 0,05$  értéket tekintettük szignifikánsnak.

## **8. Ligandok**

A sejtek kezeléséhez a következő ligandokat használtuk: PPAR $\gamma$  szelektív agonista rosigliazone (RSG), antagonistá GW9662 (Alexis Biochemicals), RXR antagonistá LG100268, R. Heyman jóvoltából (Ligand Pharmaceuticals), arachidonsav (Sigma), 5-KETE, 12-KETE, 15-KETE (Cayman Biochemicals).

## **9. Humán szövetminták**

A humán szövetmintákat a Debreceni Egyetem Intézményi Kutatásetikai Bizottságának jóváhagyásával használtuk kutatási célra, a Helsinki Deklaráció irányelveinek megfelelően. A formalin fixált paraffinba ágyazott human szövetminták a Debreceni Egyetem Bőrklinikájáról és a Pathológiai Intézetből származtak. A szövetmintákat anoním módon használtuk fel. 2 mintát kettévágtunk, egyik részét -80°C-on fagyasztottuk a további felhasználásig, másik részét formalinnal fixáltuk és paraffinba ágyasztuk.

Acne vulgarisba szenvedő betegeknél a betegség súlyosságát a Global Acne Grading System pontrendszere segítségével értékeltük. A hát felső részéből acne tünetes papulát és tünetmentes bőrt punch biopsziával nyertünk. Egészséges önkéntesekből ugyanezen területből kontroll mintát vettünk.

## **10. Immunhisztokémia (IHC), immuncitokémia és immunfluoreszcens szöveti jelölés**

A PPAR $\gamma$  molekula jelölése immunhisztokémiai módszerrel történt, biotin- mentes CSA II kit segítségével ( Dako, Gostrup, Dánia) a gyártó leírása szerint. Egy lépéses IHC módszert alkalmaztunk AR Ki-67 és p63 fehérje kimutatáshoz, standard immunperoxidáz módszerrel, ENVision HRP jelölő kittet vagy jelölő automatát alkalmazva (Bond\_Leica, UK). Az alkalmazott antitestek: PPAR $\gamma$  (Santa-Cruz, E8; 1:75), mab-AR and mab-p63 both from Novocastra (Newcastle, UK), ki67 (1:30; clone EPR3611, BioGenex, San Ramon, CA, USA) a gyártó utasításai szerint. Az IHC jelölt metszeteket szemi-kvantitatívan értékeltük. A faggyúmirigyek/ tumorok festődése a lézióban talált pozitív sejtek százaléka szerint: -, negative; 1+, 0-20%; 2+, 20-50%; 3+, 50-75%; 4+, 75-100%. Kettősjelölésnél immuneperoxidase festéssel PPAR $\gamma$  és Ki67 proteineket standard szekvenciális jelöléssel végeztük.

Magfestésnek metilénkéket alkalmaztunk, vagy Meyers hematoxylint. Immunfluoreszcens kettős jelöléshez TSA-TMR/FITC rendszert alkalmaztuk, magfestéshez DAPI festéket.

A kettős jelöléseket Prof. dr. Dezső Balázs és Besenyei Mária végezte (Debreceni Egyetem, Pathológia intézet).

### **11. Lézermikrodisszekció (LCM) és RNS izolálás**

A szövetmintákból cryo-mikrotom segítségével 5µm vastagságú sorozatmetszeteket készítettünk, LCM technikához alkalmazott polyethylene membránra (Olympus Europe and Molecular Machines and Industries, Hamburg, Germany), majd két lépésben 70% és 100% alkohollal dehidráluk és fixáltuk a mintákat. MMI-Olympus Cellcut Laser Capture Microdissection rendszerrel (Olympus Europe and Molecular Machines and Industries, Hamburg, Germany) a kívánt szöveti részt kivágtuk és steril ribonukleáz mentes eppendorf csőbe gyűjtöttük. Ebből Absolutely RNA Nanoprep kit (cat. No: 400753, Stratagene, La Jolla, CA, USA) segítségével RNS-t izoláltunk. A mintákat -70°C –on tároltuk.

### **12. A sejtek életképességének meghatározása MTT assay-vel**

MTT( 3- (4,5- dimethylthiazol) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assayt Bodó és mtsai. szerint végeztük.

## **EREDMÉNYEK**

### **1. PPAR $\gamma$ molekula és célgénjei az ép humán faggyúmirigyekben expresszálódnak**

Munkánk során először humán FM-ben in situ a PPAR $\gamma$  és a molekula aktivitását jelző célgének expresszióját vizsgáltuk meg. A PPAR $\gamma$  protein expressziója immunhisztokémiai módszerrel kimutatható volt, legnagyobb mértékben az egészséges önkéntesekből vett bőrmintákban található FM sejtek sejtmagjában (n=10). Ezen felül, egészséges önkéntesekből (n=5) és betegekből származó(n=2) bőrmintákban lézer mikrodisszekciós módszerrel FM –et izoláltunk, és meghatároztuk a PPAR $\gamma$  mRNS szintjét valós idejű PCR segítségével (RT-qPCR). PPAR $\gamma$  mRNS expresszió az ép FM-ben magasabb volt, mint a kóros FM-ben, bár az utóbbiból csak kevés mintánk volt.

Elfogadott, hogy a PPAR $\gamma$  molekula aktivitását az általa indukált célgének mRNS expressziója jelzi. Vizsgálatunkban az adipocytá differenciációt jelző protein (ADRP) és PPAR $\gamma$  angioprotein kapcsolt protein (PGAR) expresszióját mértük. Ezeket a molekulákat, mint célgéneket már korábban adipocytákban, makrofágokban és dendritikus sejtekben leírták. Lézer mikrodisszekált ép human FM-ben az ADRP és a PGAR mRNS expresszió magasabb volt, mint a kóros FM-ben. Ezek az adatok azt sugallják, hogy a PPAR $\gamma$  és célgénjei a human FM-ben jelen vannak.

### **2. A PPAR $\gamma$ jelen van és aktív a human SZ95 szebocitákban**

A három PPAR izoforma mRNS expresszióját SZ95 szebocitákban megvizsgáltuk, és a PPAR $\gamma$  expressziós szintje volt a legmagasabb. Majd a PPAR $\gamma$  aktivitását is mértük az SZ95 szebocitákban. Ezután a szebocitákat szintetikus PPAR $\gamma$  agonista rosiglitazonnal (RSG) kezeltük és a két célgén, a PGAR és az ADRP mRNS expresszióját mértük meg. Az RSG (1-10  $\mu$ M) szignifikánsan emelte a PGAR és ADRP molekulák mRNS expresszióját. A PPAR $\gamma$

antagonista GW09662 dózis függően gátolta ezt a hatást (1-10  $\mu$ M). Mindezek alapján úgy látszik, a PPAR $\gamma$  kifejeződik és aktív a humán SZ95 sebocitákban.

### **3. A PPAR $\gamma$ expressziója a sebociták differenciáltsági állapota szerint különbözik**

Ezután a PPAR $\gamma$  molekula szerepét vizsgáltuk a sebocita deifferenciálódásban. Ezért, human ép bőrt, benignus és malignus proliferatív FM betegségeket vizsgáltunk meg. Immunhisztokémiai vizsgálattal kimutattuk a PPAR $\gamma$  sejtmagi expresszióját FM-ben. Érdekes, hogy a PPAR $\gamma$  protein alig kimutatható a FM bazális, éretlen (nem-differenciált) sejteiben SG (n=10). A PPAR $\gamma$  protein hiperpláziás FM –ben magas (n=10). FM tumorokat is vizsgálunk. A PPAR $\gamma$  expressziója az ép és a hiperpláziás FM sejteihez képest a sebaceus adenoma (n=10) sejtekben alacsonyabb volt, és még ennél is alacsonyabb a sebaceus carcinoma (n=9) sejtekben. Az alacsonyan differenciált neoplasztikus sejtekben PPAR $\gamma$  alig detektálható. A sejtciklus aktivitását jelző markerekkel, mint Ki67, p63 és AR molekulák, eredményeinket megerősítettük.

Majd megvizsgáltuk a PPAR $\gamma$  expressziós mintázatát és jelátviteli útvonalát a normál differenciációban. E célból és FM-ben in situ lézer mikrodisszekciós módszerrel elkülönítettük a terminálisan differenciált sebocitákat (vagyis a FM centrális zónáját) és az éretlenebb sejteket (a bazális-parabazális zónákat) friss fagyasztott bőrszövetmintákban, 5 különböző donortól. A bazális zónában a PPAR $\gamma$ , ADRP and PGAR alacsony szinten expresszáldott, míg a centrális zónában az expresszió magas volt. Ezek az adatok az immunhisztokémiai festéssel 10 mintán talált adatokkal együtt azt jelzik, hogy lehetséges, hogy a PPAR $\gamma$  a sebociták differenciáltságát jelzi.

#### **4. Az arachidonsav (AA) szabályozza a szebociták differenciálódását, részben PPAR $\gamma$ -mediált jelátviteli útvonalon keresztül**

Célunk volt, hogy a PPAR $\gamma$  aktiváció biológiai következményeit jobban megismerjük a FM sejtekben, ezért a PPAR $\gamma$  működését in vitro a SZ95 szebocitákban vizsgáltuk. A szebociták differenciációját a különféle lipidek termelése jelzi, melyeknek nagyobb részét a neutrális lipidek alkotják (major lipidek). Korábbi vizsgálatainkat megerősítve kimutattuk, hogy az AA, ami az egyik leghatékonyabb differenciáció induktor molekula a szebocitákban, jelentősen serkentette a sejtek lipid termelését. Kvantitatív fluorimetriás módszerrel kimutattuk, hogy az AA dózis függően emeli a neutrális lipidek szintjét az SZ95 szebocitákban. Emellett a PPAR $\gamma$  agonista RSG szintén emelte a neutrális lipidek szintjét az SZ95 szebocitákban. Továbbá az AA emelte a PPAR $\gamma$  célgénének (PGAR and ADRP) szintjét, a hatást a PPAR $\gamma$  antagonistá GW9662 gátolta. Emellett a PPAR $\gamma$  antagonistá szignifikánsan gátolta az AA lipid szint emelő hatását is. Végül, azt is láttuk, hogy az AA kezelt szebocitákban a PPAR $\gamma$  mRNS szintje emelkedett.

#### **5. Az AA PPAR $\gamma$ molekulán keresztül szabályozza bizonyos major és minor lipidfajták szintézisét**

Abból a célból, hogy megismerjük, hogy a PPAR $\gamma$  aktiváció milyen módon befolyásolja a szebociták lipid termelését, a szebocitákat egyszerre kezeltük AA (25  $\mu$ M) és PPAR $\gamma$  antagonistával GW9662 (10  $\mu$ M). Majd 24 óra múlva analizáltuk a major neutrális lipidek és a specifikus, membrán lipidek szintjét. Meghatároztuk a major neutrális lipidek szintjét HPTLC-vel, mint triglicerid (TG), szabadzsírsavak (FFA), koleszterol észterek (CE), koleszterol (CH), viaszészterek (WE), és szkvalén (SQ), majd denzitomerikus analízist végeztünk. HPLC-QqQ/MS alkalmazásával az AA szintjét meghatároztuk, HPLC-ToF/MS alkalmazásával a SQ és CH, és az AA-indukált diacilglicerol (DG) and TG szintek relatív változását mértük. A sejtperleletekből nyert lipid extraktumokból CH, FFA, TG, WE és CE

lipideket tudtunk kimutatni. SQ and DG nem volt detektálható ezzel a módszerrel. A HPTLC spot-ok denzitometriai analízise szerint a TG szinteket az AA szignifikánsan emelte, és ezt a hatást a PPAR $\gamma$  inhibitor részlegesen gátolta. Az AA koncentrációt kvantitatívan meghatároztuk, és szignifikáns emelkedést láttunk az AA adagolásakor. Az antagonistá GW9662 mellett is az AA szintje változatlan volt a sejtekben.

A TG bioszintézis egy több lépéses folyamat a sejtekben, melynek különféle intermediér termékei vannak. A PPAR $\gamma$  aktiváció megismerése céljából meghatároztuk az AA- indukált DG és TG szinteket HPLC-MS analízissel. A DG 40:8 szint AA hatásra szignifikánsan emelkedett, az antagonistá GW9662 nem befolyásolta a DG 40:8 szintet. A TG 60:12 szintje ( mely az AA-tartalmazó TG jelzi) szignifikánsan emelkedett. Ha az AA – al együtt PPAR $\gamma$  antagonistát adtunk, akkor a TG 60:12 szint emelkedését gátoltuk, totál TG szint emelkedéseét is gátoltuk. AA emelte a WE szinteket, azonban ebben az esetben a PPAR $\gamma$  antagonistá ezt a hatást nem befolyásolta. Továbbá, az AA –nak nem volt szignifikáns hatása a total CE szintekre, függetlenül a PPAR $\gamma$  antagonistától. Azonban, a PPAR $\gamma$  antagonistá GW9662 csökkentette a bazális CH szintet. Ezzel szemben SQ szintet az sem az AA, sem a PPAR $\gamma$  antagonistá nem befolyásolta.

Ezután ESI-MS/MS spektromtriával kilenc főbb membrán lipid csoportot vizsgáltunk: foszfatidilnozitol, lizofoszfatidilkolin, szfingomielin, dihidroszfingomielin, foszfatidiletanolamin, ceramid és glükoceramid. AA nem volt szignifikáns hatással ceramidok és glükoceramidok csoportjára. A további 7 csoportban AA hatására 198 molekula közül 136 molekula szintje változott. Fontos, hogy a PPAR $\gamma$  antagonistá GW9662 csak 8 molekula esetén tudta gátolni az AA hatását. Ezek közül az AA molekula 7 molekula szintjét csökkentette, ezek foszfatidilnozitol csoportba tartoztak (PI) és egyet, a 18:2 lizofoszfatidilkolin molekula szintjét emelte. Ez eredmények azt jelzik, hogy az AA a PPAR $\gamma$  molekulán keresztül szabályozza ezen membrán lipidek szintjét.

Tehát, a AA-mediált PPAR $\gamma$  jelátviteli útvonal szerepet játszhat mind a major neutrális lipidek, mind a membrán foszfolipidek szintézisében. Ezekkel a vizsgálatokkal átfogóan megvizsgáltuk szebocitákban az AA kezelést követő lipid szint változásokat, és kiválasztottuk azokat, amelyek PPAR $\gamma$  aktiváció függőek.

#### **6. AA metabolitok aktiválják a PPAR $\gamma$ molekulát és serkentik a lipogenezist a szebocitákban**

Az AA metabolizáció során sok jelátvivő lipidmolekula keletkezik, mely számos sejtelétti folyamatot szabályoz. Ezért kíváncsiak voltunk arra, hogy vajon bizonyos AA metabolitok hasonlóan működnek –e a humán szebocitákban. Az SZ95 szebocitákat AA-al kezeltük 6 órán át, majd HPLC-MS alkalmazásával kvantitatívan meghatároztuk az AA metabolitok szintjét. AA kezelés hatására a 5-oxo-6E,8Z,11Z,14Z-eicosatetraén sav (5-KETE), 12-oxo-5Z,8Z,10E,14Z-eicosatetraén sav (12-KETE), és 15-oxo-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraén sav (15-KETE) molekulák szintje emelkedett. Továbbá ezek az AA metabolitok a szebociták neutrális lipid szintjét és az ADRP, PGAR gének mRNS szintjét szignifikánsan emelték. Azonban a PPAR $\gamma$  antagonistá GW9662 mellett a PGAR indukcióját csak a 12-KETE és az 5-KETE, az ADRP indukcióját csak a 12-KETE esetén gátolta. Összességében ezek az eredmények az jelzik, hogy az AA metabolitok a faggyúmirigy sejtek lipogenezisében szerepet játszanak, és ezek közül a 12-KETE and 5-KETE molekulák valószínűleg a PPAR $\gamma$  receptoron keresztül hatnak.

#### **7. PPAR $\gamma$ és célgénjei in situ expresszálódnak az ép és aknés betegekből származó faggyúmirigyekben**

Immunhisztokémiai jelöléssel dominánsan nukleáris PPAR $\gamma$  protein expressziót láttunk egészséges önkéntesekből származó ép FM-ben (n=5), azonban acnés betegekből származó bőrmintákban mind a nem-akne-involváltság (NAS, n=9) és az akne –involváltság (AS, n=9) FM-ben alacsony volt a PPAR $\gamma$  protein expresszió. A PPAR $\gamma$ , ADRP, PGAR

mRNS expresszió magasabb volt az egészségesekből származó ép FM-ben , mint a NAS és AS mintákban. Az adatok alapján mind a PPAR $\gamma$ , mind a célgénjei expresszálnak az acnés betegek FM-ben, és a kor illesztett kontroll FM-ben is.

Meghatároztuk a különféle PPAR $\gamma$ -aktivátor eikozanoid szintjét a bőrbioopsziákban. A PPAR $\gamma$ -aktivator eikozanoidok szintje az ép bőrben volt a legalacsonyabb, a NAS bőrben magasabb és AS-ben mutatkozott legmagasabb szinten. Ez jelezheti, hogy PPAR $\gamma$ -aktivator eikozanoidok szintje elégséges vagy akár feleslegben van az aknés FM-ben, talán az acnés mintákban észlelt alacsony szintű PPAR $\gamma$  miatti negatív visszacsatolási szabályozás hiánya miatt.

## MEGBESZÉLÉS

Vizsgálatok korábban kimutatták a PPAR $\gamma$  receptor expresszióját izolált humán és állati FM-ben, primer humán és állati szebocitákon és SZ95 humán szebocitákon. Azonban keveset tudunk a receptor expressziójáról az in situ FM-ben, ezért alkalmaztunk lézer mikrodisszekciós módszert. Eredményeink szerint az alacsonyabban differenciált szebociták alacsonyabb szintű PPAR $\gamma$  és célgén expressziót mutatnak, mint a differenciáltabb szebociták. Az eredmények és a módszer megerősítésére kontrollként jól definiált differenciációs és sejtciklus markerek szintjét is megmértük és immunhisztokémiai módszerrel is detektáltuk. FM hiperplázia, adenoma és carcinoma mintákban is vizsgáltuk a PPAR $\gamma$  expressziót. FM hiperpláziában a receptor fehérje szintje azonos volt, mint az ép FM-ben. Az adenoma és carcinoma mintákban a receptor protein szintje alacsonyabb volt, mint az ép FM-ben, de magasabb volt a Ki67, és p63 pozitív sejtek aránya. Cottle et al. közleményében AR (bazális, parabazális sejtek), Ki67 (bazális sejtek) és PPAR $\gamma$  (intermedier, vagyis külső centrális zóna) egér FM vizsgálata során a miénkhez hasonló eredményeket kapott AR illetően ép, és tumoros FM léziókban. Továbbá láttuk, hogy a sebaceus carcinoma sejtek differenciáltsági állapota és PPAR $\gamma$  molekula tumoros sejtekben való kifejeződése között pozitív összefüggés van. Ez azt sugallja, hogy a PPAR $\gamma$  megbízható diagnosztikus markere lehet a szebociták differenciáltsági állapotának. Ezen túl kimutattuk, hogy a PPAR $\gamma$  és célgénjei, ADRP és PGAR mRNS expressziója alacsonyabb volt az AS szebocitákban, mint az egészséges kontrollokból származó bőr szebocitáiban. Érdekes, hogy a receptor és célgénjei a NAS FM sejtekben is alacsonyabb szinten expresszáálódtak, mint az ép FM-ben. Ezek az adatok egybehangzóak azzal a korábbi eredménnyel, hogy gyulladásos bélbetegségekben a PPAR $\gamma$  anti-inflammatorikus szerepét tapasztalták. Emellett lichen

planopilarisban is azt találták, hogy a gyulladásos környezetben alacsonyabb a receptor szintje és nem/vagy kisebb mértékben tölti be a jelátviteli folyamatokban a szerepét.

SZ95 szebocitákban, amely a humán szebociták egyik legjobb, ma elérhető modellrendszere, korábbi megfigyelésünket, mely szerint a PPAR $\gamma$  és célgénjei expresszálnak az SZ95 szebocitákban megerősítettük. AA kezelt differenciált szebocitákat használtunk modellként, és megfigyeltük, hogy a lipidben gazdag SZ95 szebocitákban a PPAR $\gamma$  és célgénjei, a PGAR és ADRP magas szinten expresszálnak. Ez a megfigyelés korábbi, endocannabinoiddal előidézett differenciált szebocitában talált eredménnyel korrelált, ahol kimutattuk, hogy a lipid termelés PPAR $\gamma$  mediált útvonalon keresztül történt. Összességében ezek az eredmények bizonyítják, hogy a PPAR $\gamma$  aktív humán SZ95 szebocitákban.

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a RSG-aktivált PPAR $\gamma$  szerepet játszik a szebociták lipidtermelésében, amely a szebocita differenciáció markere. Vizsgálatunkban mind a természetes PPAR $\gamma$  ligandok prekursora, az AA és a RSG is szebocitákban lipogenezist indukált, a korábbi eredményekhez hasonlóan. Ezen felül, dózis-hatás vizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy a specifikus PPAR $\gamma$  antagonistá GW9662 dózisfüggően gátolta ezt az AA indukált célgén expressziót. Ez azt sugallja, hogy az AA/vagy metabolitjai által aktivált PPAR $\gamma$ -indukált génaktiváció egybe esik a szebociták neutrális lipid termelésével. A neutrális lipidek a faggyú fő, vagyis un. major lipidjei. Ezeket analizáltuk, és emellett a membrán lipideket vagy minor lipideket is vizsgáltuk. Azt találtuk, hogy az AA szignifikánsan emelte a TG szinteket, ezt a hatást a PPAR $\gamma$  antagonistá kb. 25%-al csökkentette. A PPAR $\gamma$  antagonistá GW9662 csökkentette a bazális CH szintet; azonban az AA-nak nem volt hatása a CH szintre. Lehetséges, hogy a kísérleti rendszerben, amit használtunk az AA a zsírsav oldalláncokat tartalmazó lipid típusok remodellicióját végezte el, pl. GLP és TG, és csak minimális hatása volt a nem-észterifikált lipid típusokra. Összegezve,

eredményeink azt sugallják, hogy a szebocitákban a TG és CH szintézis PPAR $\gamma$  által szabályozott folyamat, bár az AA (az alkalmazott dózisban) nem hatott a CH szintre. Az is lehetséges, hogy más útvonalakon keresztül is hat az AA, és szabályozza a neutrális lipidek képződését.

Emellett, az AA kezelés hatására bizonyos minor lipidek,- mint az LPC és PI típusok - ,szintje PPAR $\gamma$ - függő módon emelkedett. A szebocitákban a LPC a lipideket tartalmazó citoplazmatikus vakuólumokat körülvevő egyrétegű membránok egyik foszfolipidje. A lipid vakuolumok sokféle sejtben ( pl. adipocita, keratinocita) felelősek a neutrális lipidek szállításáért és raktározásáért, a felszínükön ADRP proteint hordoznak. Ezek az eredmények jelezhetik, hogy a PPAR $\gamma$  szerepet játszik ezeknek a lipid vakuolumoknak a keletkezésében, és a neutrális lipidek raktározásában és termelésében.

Az AA PPAR $\gamma$ -függően szignifikánsan csökkentette a PI molekulák szintjét. Ebből arra következtethetünk, hogy a PI szintézist/degradációt szabályozó enzimek működése függ a magreceptor aktivitásától. Továbbá a PI molekulák szignáltranszduktor molekulák. Az inozitol trifoszfát, MAP kináz indukált jelátviteli útvonalban játszanak szerepet. Ez a jelátviteli útvonal a szebocitákban az endocannabinoidok által PPAR $\gamma$  receptoron keresztül lipidszintézist indukált.

A foszfolipáz A2 (PLA2) enzim zsírsavak hidrolízisét végzi, pl. glicerofoszfolipidekből AA-t hasít le. Ezért működése a sejtekben jelen lévő AA mennyiségét befolyásolja. PLA2 a bőr számos sejtében, és az SZ95 szebocitákban is jelen van. Aktív PLA2 enzim a szebociták neutrális és poláris lipidszintézisét emelte. Emiatt lehetséges, hogy a PLA2 az endogén AA szintézis egyik szabályozó molekulája a szebocitákban, mely a PPAR $\gamma$  aktivációt is részben meghatározza. A szebocitákban endogén AA metabolitok (5-KETE, 12-KETE) azonosításával ezt a lehetőséget megerősítettük. Emellett, a PI szint csökkenése szintén arra utal, az AA exogén adagolása esetén az AA

szintézis szabályozódik egy negatív visszacsatolási útvonal révén. Bár lehetséges, hogy a PPAR $\gamma$  szabályozza a major neutrális lipidek, az LPC és a PI típusok szintjét, ennek a szabályozásnak a szebocita differenciáció folyamatában betöltött szerepe egyelőre nem ismert.

További célunk volt, hogy endogén PPAR $\gamma$  aktivátor ligandokat találjunk a szebocitákban. Jelen munkánkban sikerült kimutatnunk olyan AA keto-metabolitokat (5-KETE és 12-KETE), amelyek a szebocitákat aktiválhatják. Ezek az SZ95 sejtekben mint endogén PPAR $\gamma$  ligandok működtek, és PPAR $\gamma$  – függően emelték a szebociták lipidszintézisét. Eredményeink szerint ugyanezek a molekulák jelen vannak az aknés bőrben is, emelkedett szinten. Emiatt feltételezhetjük, ezek az AA keto-metabolitok egy negatív visszacsatolási útvonal révén szabályozódnak. Természetesen más molekulák, lipidek, citokinek is részt vehetnek a szabályozásban. Összességében eredményeink azt sugallják, hogy a PPAR $\gamma$  az ép szebocitákban mint protektív faktor lehet jelen, mely a túlzott lipidprodukción és a gyulladásos válasz kialakulása ellen védi a sejteket, a sejtműködések egyensúlyát tartja fenn. Az aknés betegek bőrében vizsgált gyulladt FM-ben a PPAR $\gamma$  szintje alacsonyabb, vagy akár nem is detektálható, mely fontos lehet abban, hogy a lipid homeosztázis felborul a gyulladt FM-ben. Megerősíti ezt az elgondolást, hogy azaleinsav-terápia aknéban anti-inflammatorikus hatású, így lehetséges, hogy a PPAR $\gamma$ -nak a szebocitákban anti-inflammatorikus szerepe van.

## ÖSSZEFOGLALÁS

1, A PPAR $\gamma$  molekula és célgénjei, az ADRP és a PGAR gének expresszálódnak a sebocytákban, expressziós szintjük a differenciált sejtekben magasabb, mint az alacsonyan differenciált sebocytákban.

2, A PPAR $\gamma$  molekulát kimutattuk ép és hiperpláziás faggyúmirigyekben, itt azonos szinten expresszálódnak, míg a faggyúmirigy adenoma és carcinoma sejtekben expressziójuk csökken, ez szintén azt támasztja alá, hogy a PPAR $\gamma$  molekula expressziója a sejt érettségétől függ.

3, A PPAR $\gamma$  molekula és célgénjei az acne vulgarisban szenvedő betegek faggyúmirigysejtjeiben alacsonyabb szinten expresszálódnak, mint az ép sebocitákban .

4, SZ95 immortalizált sebocitákban kimutattuk, hogy az endogén jelenlévő arachidonsav és arachidonsav keto-metabolitok (5-KETE, 12-KETE) a PPAR $\gamma$  molekula jelátviteli útvonalait szabályozzák, melyek befolyásolják a sejtek foszfolipid bioszintézisét és indukálják a neutrális lipidek szintézisét, így szerepük van a sebociták differenciációjában.

Eredményeink bemutatják, hogy az endogén-ligandok által szabályozott PPAR $\gamma$  molekulának kulcsszerepe van a sebocyták működésében, és így ígéretes gyógyászati célpont a faggyúmirigy betegségeinek kezelésében.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni sok-sok embernek, aki támogatott és oktatott PhD munkám során.

Köszönöm elsősorban témavezetőm Prof. Nagy László támogatását, aki nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre. Hálás vagyok Prof. Fésüs Lászlónak és Prof. Tőzsér Józsefnek, a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet korábbi és jelenlegi vezetőinek, hogy az intézetben dolgozhattam. Köszönettel tartozom Aradi Jánosnak és Szatmári Istvánnak, akiknek a tudomány iránti lelkesedése és elkötelezettsége példa volt számomra, mikor hallgatóként laboratóriumban kezdtem dolgozni.

Köszönet a Magreceptor laboratórium minden korábbi és jelenlegi munkatársának, feltétlen és mindenkor segítségükért. Hálás vagyok a munkámat segítő aszisztensek Fürtös Ibolya, Besenyei Mária, Marton Erika, Csontos Katalin, Porcelán Mónika, Beke Livia, Béládi Márta, Szalka Beáta kiváló munkájáért.

Köszönettel tartozom kollaborációs partnereimnek, akiktől nemcsak tanácsot kaptam, hanem a legrészletesebb technikai részletek megoldásában is segítettek, módszereket tanulhattam tőlük, és emberileg is támogattak: Prof. Dezső Balázs, Prof. Remenyik Éva, Ralph Rühl, Prof. Bíró Tamás, Bácsi Attila, Bacsó Zsolt, Tóth I. Balázs, Oláh Attila, Dobrosi Nóra, Mihály Johanna, Markó Lóránt, Prof. Christos C. Zouboulis, Prof. Mauro Picardo, Emanuela Camera, Gerhard Liebisch, Prof. Gerd Schmitz.

Külön köszönet korábbi és jelenlegi kollégáimnak a Debreceni Bőrgyógyászati Klinikán és Miskolcon, a Semmelweis Kórház Bőrgyógyászati Osztályán, a Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház Velkey László Gyermekegészségügyi Központjában, és az Erzsébet Fürdő Gyógyászati Központban.

És nem utolsó sorban köszönöm családomnak a türelmet és a kitartó támogatást: szüleimnek Agyiljának és Lászlónak, kedves Attilámnak, és gyermekeimnek.



Nyilvántartási szám: DEENK/218/2016.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Dózsa Anikó  
Neptun kód: AXTEDX  
Doktori Iskola: Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Dózsa, A.**, Mihály, J., Dezső, B., Csizmadia, É., Keresztessy, T., Markó, L., Rühl, R., Remenyik, É., Nagy, L.: Decreased peroxisome proliferator-activated receptor [gamma] level and signalling in sebaceous glands of patients with acne vulgaris.  
*Clin. Exp. Dermatol.* 41 (5), 547-551, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ced.12794>  
IF: 1.315 (2015)
2. **Dózsa, A.**, Dezső, B., Tóth, I. B., Bácsi, A., Pólska, S., Camera, E., Picardo, M., Zouboulis, C. C., Bíró, T., Schmitz, G., Liebisch, G., Rühl, R., Remenyik, É., Nagy, L.: PPAR $\gamma$ -Mediated and Arachidonic Acid-Dependent Signaling is Involved in Differentiation and Lipid Production of Human Sebocytes.  
*J. Invest. Dermatol.* 134 (4), 910-920, 2014.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2013.413>  
IF: 7.216

### További közlemények

3. Paulenka, K., **Dózsa, A.**, Mórocz, I., Barna, T., Károlyi, Z.: Sister Mary Joseph csomó: colon adenocarcinoma metastasis a köldökben.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 92 (2), 82-84, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.7188/bvsz.2016.92.2.7>
4. **Dózsa, A.**, Károlyi, Z., Mórocz, I.: Sutton naevus utánzó melanoma.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 92 (2), 76-80, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.7188/bvsz.2016.92.2.6>





5. Tsakiris, I., Törőcsik, D., Gyöngyösi, A., **Dózsa, A.**, Szatmári, I., Szántó, A., Soós, G., Nemes, Z., Igali, L., Márton, I., Takáts, Z., Nagy, L., Dezső, B.: Carboxypeptidase-M is regulated by lipids and CSFs in macrophages and dendritic cells and expressed selectively in tissue granulomas and foam cells.  
*Lab. Invest.* 92 (3), 345-361, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.2011.168>  
IF: 3.961
6. Simkó, J., Nagy, G., **Dózsa, A.**, Lőrincz, I.: Sinus node dysfunction due to psychotropic agents combination.  
*Acta Neuropsychiatr.* 24 (4), 247-250, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5215.2011.00639.x>  
IF: 0.606
7. Tóth, I. B., Géczy, T., Griger, Z., **Dózsa, A.**, Seltmann, H., Kovács, L., Nagy, L., Zouboulis, C. C., Paus, R., Bíró, T.: Transient receptor potential vanilloid-1 signaling as a regulator of human sebocyte biology.  
*J. Invest. Dermatol.* 129 (2), 329-340, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2008.258>  
IF: 5.543
8. Dobrosi, N., Tóth, I. B., Nagy, G., **Dózsa, A.**, Géczy, T., Nagy, L., Zouboulis, C. C., Paus, R., Kovács, L., Bíró, T.: Endocannabinoids enhance lipid synthesis and apoptosis of human sebocytes via cannabinoid receptor-2-mediated signaling.  
*FASEB J.* 22 (10), 3685-3695, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1096/fj.07-104877>  
IF: 7.049
9. Remenyik, É., Törőcsik, D., Balogh, A., Paragh, G., **Dózsa, A.**, Beke, L., Markó, L., Emri, G., Horkay, I.: Magreceptorok.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 83 (3), 109-114, 2007.
10. **Dózsa, A.**, Pocsai, Z., Paragh, G.: A környezeti tényezők és az apo-E polimorfizmus szerepe II/B hyperlipidaemiás betegek lipidparamétereinek alakulásában.  
*Metabolizmus* 3 (4), 193-198, 2005.
11. **Dózsa, A.**, Károlyi, Z., Degrell, P.: Bilateral blepharochalasis.  
*J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 19 (6), 725-728, 2005.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2005.01252.x>  
IF: 1.638





**DEBRECENI EGYETEM**  
**EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**



12. Kemény-Beke, Á., Facskó, A., **Dózsa, A.**, Szatmári, I., Aradi, J., Berta, A.: Szemészeti tumorok telomerázaktivitása I.  
*Szemészet.* 139 (1), 55-59, 2002.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 27,328**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 8,531**

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, 2016.08.23.

