

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

FUNKCIONÁLIS FAGGYÚIMMUNBIOLÓGIA

Dr. Törőcsik Dániel



DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
BŐRGYÓGYÁSZATI TANSZÉK

DEBRECEN
2023

BEVEZETÉS

A faggyúmirigy (FM) fénymikroszkópos vizsgálattal is jól azonosítható, faggyúsejtekből álló multiacináris mirigy, amely az emberi bőrben a tenyeret, a talpat és a lábfejet kivéve mindenhol megtalálható. A FM a glans penis és a kis szeméremajkak kivételével a pilosebaceus egység – amely magában foglalja a haját, a szőrtüszőt és az *arrector pili* izmokat is – részeként van jelen. A FM-et fibroblasztokban és az általuk termelt kollagénrostokban gazdag kötőszöveti hüvely veszi körül, egy trabekuláris szerkezetű burkot létrehozva, egyben elválasztva az egyes acinusokat is, számukra támogató stromát biztosítva. Szerkezeti megjelenését tekintve a FM a legtöbb esetben multilobuláris, hajszára kötött karfiolfejekre hasonlít.

A FM elsődleges feladata a faggyú termelése, mely számos zsírféleséget tartalmaz, úgymint triglicerideket (TG), zsírsavak bomlástermékeit, viaszésztereket, szkvalént (SQ), továbbá koleszterin-észtereket és koleszterint (CH). A faggyú termelése jól követhető holokrin szekréciós folyamat: az acinusokon belüli faggyúsejtek jellegzetes megnagyobbodása jelzi az egyre aktívabb zsíryanycserét és azzal összefüggésben a sejtelhalást (bár az utóbbi időben egyre inkább nyilvánvalóvá vált, hogy ez a folyamat jóval bonyolultabb mintsem, hogy szimplán elhalnak a faggyúsejtek), majd a felső réteget képező, elpusztult sejtek zsírtartalmukat mikrocatornába ürítik, amelyek konvergálva a pilaris csatornába nyílnak.

Bár a FM jelenléte nem, de a FM funkciói és a faggyú összetétele erősen fajspecifikus. Míg az állatvilágban fontos szerepet kap a szőrzet faggyúval való bevonása révén a túlnedvesedés elleni hidrofób védelemben, a hőszigetelésben, valamint a feromonok kibocsátásával a szexuális viselkedés alakításában, addig emberben a FM ezen funkciói korlátozott jelentőséggel bírnak. Ugyanakkor, a megnövekedett FM-aktivitás szoros kapcsolata a pattanásos bőrrel, az aknéval, mely kizárólag emberben fordul elő, jelzi, hogy azon kijelentések, mely szerint a FM pusztán egy atavisztikus maradvány, egy „élő kövület”, amelynek múltja van, de nincs jövője, nem helytálló. Kiküszöbölve a humán FM-ek működésének szimulációjára alkalmas ideális állatmodell hiányát, az elmúlt 20 évben az emberi FM-ek *in vitro* vizsgálatára szolgáló sejtkultúrákon nyert eredmények nemcsak megcáfolták ezen posztulátumot, de lehetővé tették, hogy számos ismeretlen vagy korábban figyelmen kívül hagyott funkciót azonosítsunk. Felülvizsgálva a FM emberi bőrben betöltött szerepét, tudásunk a faggyúsejtek lipogenezisére és differenciálódására, a FM komplex endokrin tulajdonságaira, továbbá a faggyúsejtekben jelenlévő számos receptor szerepére vonatkozóan jelentősen bővült. Az a felismerés pedig, hogy több bőrbetegség esetén is mind a faggyú mennyiségében mind pedig összetételében vannak jellegzetes változások, felvetette, hogy ezen eltérések nem egyszerűen a betegségek markerei, de azok patogenezisében és így terápiájában is jelentősek lehetnek.

Az akne esetében számos tanulmány erősítette meg, hogy a megnövekedett faggyútermelés és a *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) fokozott jelenléte mellett a faggyúban az egyszerűen telített zsírsavak (MUFA) és többszörösen telített zsírsavak (PUFA) aránya a telítettekhez képest megnő, továbbá lecsökken a linolsav (LA) tartalom, mely mind arra utal, hogy a zsírsavak átalakulása fontos szerepet kaphat az akne kialakulásában.

Bár a rosacea a test FM-ekben gazdag területein fordul elő, érdekes módon a faggyú kiválasztás mennyisége nem mutat érdemi változást a rosaceás betegekben az egészséges kontrollokhoz képest – annak ellenére, hogy számos esetben száraz bőrrel jár, ami elsősorban a keratinociták csökkent zsírtermelésével magyarázható. Ugyanakkor változások vannak a faggyú relatív összetételében; az érintett egyéneknél emelkedett a mirisztinsav és csökkent a telített, hosszú szénláncú zsírsavak szintje. Mivel ezek a lipidek szerepet játszanak a bőr védelmi rétegének megőrzésében, így joggal feltételezhető, hogy a megváltozott faggyúzsírsavprofil is szerepet kaphat a rosaceában tapasztalt „bőr barrier” diszfunkcióban.

A szeborreás dermatitisszel kapcsolatban a vizsgálatok felvetik, hogy a lipofil *Malassezia* gombák által termelt lipázok és foszfatázok hidrolizálják a faggyút alkotó zsírokat, ami csökkent TG és ennek megfelelően emelkedett szabad zsírsav (FFA) szinteket eredményez; utóbbiak irritációt/steril gyulladást okozhatnak. Vélhetően így nem is annyira a *Malasseziával* szembeni immunválasz, hanem az irritáló FFA-val szembeni egyéni érzékenység az, ami meghatározza a következményes gyulladásos választ, és így a szeborreás dermatitisszel szembeni fogékonyságot.

A pikkelysömörös vagy más néven psoriasisos bőrmintákban a FM különböző fokú atrófiája figyelhető meg, azonban ennek mértéke nem mutatott összefüggést sem a psoriasis kiterjedésével, sem pedig a bőrpír és a gyulladásos infiltráció mértékével. Az atrófiával párhuzamosan a termelt faggyú összetételében azonban tapasztaltak változásokat: a foszfolipidek, a triacilglicerolok és a CH relatív mennyisége megnőtt a pikkelysömörben szenvedő betegek epidermiszében, ami viszont már korrelált a pikkelysömör súlyosságával, számos megválaszolandó kérdéseket felvetve.

Bár az atópiás dermatitis-es (AD-es) bőrmintákat elősorban a keratinociták nem megfelelő ceramid termelése jellemzi, úgy tűnik, hogy az AD-betegekben jelentősen lecsökken a faggyútermelés is. Ezen változások együttesen járulhatnak hozzá a bőr hidratáltságának csökkenéséhez, melynek szerepe az AD kialakulásában szintén nem teljesen tisztázott. További kutatások kindulópontjai lehetnek azon klinikai megfigyelések is, hogy az AD klasszikus lokalizációi a könyök- és térdhajlatok, melyek FM-ben szegények.

Összességében, míg a megnövekedett faggyútermelés és ezzel együtt a megváltozott lipidösszetétel az egyik legfontosabb tényező az akne kialakulásában, addig az AD egyik kulcsfontosságú jellemzője a lipidtermelés csökkenése. A lipidtermelés szabályozása így nem csak az aknés betegek számára lehet előnyös, de az AD-s betegeknél megfigyelt súlyos bőrszárazság is orvosolható lehet a faggyútermelés és a faggyú összetételének megváltoztatásával, ami zsírosító hatásán túl potenciálisan helyreállíthatja a sérült bőr barrier is.

További áttörést azon eredmények hoztak, melyek bizonyították, hogy a faggyúsejtek szerepe túlmutat pusztán a zsírtermelésen, hisz olyan fehérjéket is képesek termelni melyeket kiválasztva befolyásolhatják a mikrokörnyezetet. Megállapították, hogy a *C. acnes* nemcsak a faggyú TG-eket képes FFA-vá metabolizálni a bőr felszínén és így megváltoztatni a faggyúsejtek által termelt sebum összetételét a különböző lipázain és peroxidázain keresztül, de a faggyúsejteken is kifejeződő Toll-like receptor (TLR) aktiválásával gyulladásos fehérjék indukálásában is szerepet játszik. További kísérletes adatok alátámasztották, hogy a TLR4 útvonalon keresztül ható Gram-negatív baktérium eredetű lipopoliszacharidok (LPS) szintén képesek olyan citokinek és kemokinek, mint pl. az interleukin (IL) 6 vagy az IL8, expresszióját indukálni faggyúsejtekben, amelyek expresszióját *in vivo* akne léziós minták FM-eiben is leírták. A fentieken kívül egyes antimikrobiális peptidek, mint a humán β -defensin 2 (hBD2) indukciója szintén kimutatható LPS kezelés hatására, továbbá a cyclooxygenase-2 (COX2), prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) és a pro-matrix metalloproteinase-2 (pro-MMP-2) expressziója is megemelkedett LPS-sel kezelt, hőröcsögből származó FM-ekben.

Ezen eredményekre építve munkánk célja volt, hogy mind sejt-, mind pedig szövetszinten közelebb kerüljünk a faggyúsejtek működésének megértéséhez, illetve részletesebben feltárjuk azon képességüket, mellyel összekapcsolják zsírtermelésüket és gyulladásos válaszukat különböző gyulladásos bőrbetegségekben.

FŐBB VIZSGÁLATI CÉLKITÚZÉSEK

Mivel a TLR2 és 4 jelátviteli útvonalaknak kulcsfontosságú szerepe van a faggyúsejteket is érintő patomechanizmusok szabályozásában, így célul tűztük ki azok hatásának jellemzését a faggyúsejtek génexpressziós profiljának feltárásával mind mRNS mind pedig micro-RNS (miRNS) szinten.

Ismerve, hogy a faggyúsejtek nagyban hasonlítanak a zsírsejtekre, hiszen a jelentős zsíryanycseréjük mellett, mely során a faggyút termelik, sejtszinten képesek összekapcsolni a zsíryanycserét és a gyulladást, vizsgálataink további célkitűzése volt az adipokinek expressziós profiljának meghatározása egészséges és különböző betegségekkel érintett egyének szöveti mintáinak FM-eiben.

Miután azt találtuk, hogy a faggyúsejtek hasonlóan a zsírsejtekhez, képesek leptint termelni, kísérleti szinten eldöntendő kérdésnek tekintettük, hogy képesek-e a faggyúsejtek a környezet megnövekedett leptin tartalmára a fehérje- és zsíryanycsere szintjén reagálni.

A bőr anatómiai és szövettani szerkezetét vizsgálva jelentős eltérések figyelhetők meg különböző, a FM-ek denzitásával is összefüggést mutató testtájékokról származó mintákban, mellyel párhuzamosan a kémiai miliő és a bőr mikrobiomja is jelentős különbségeket mutat. Így arra a kérdésre is választ kerestünk, hogy a bőr mikrobiomjában és kémiai miliójében észlelhető, első megközelítésben a FM-denzitás eltéréssel jellemezhető topográfiai különbségek a bőr immunaktivitásában is eltérésekhez vezetnek-e.

A feltárt szöveti eltérések hátterében álló útvonalak azonosítása során tisztázni kívántuk, hogy a faggyúsejtek képesek-e az általuk termelt fehérjéken keresztül a limfociták működését befolyásolni, továbbá az általuk termelt zsírok hatással vannak-e az immunrendszer, elsősorban a makrofágok működésére és a bőr homeosztázisára a keratinocitákon és magukon a faggyúsejteken keresztül.

Kutatási eredményeinkre építve próbáltuk (újra)értelmezni a serdülőkori pattanás kialakulását, illetve az akne kezelésben máig leghatásosabb isotretinoin hatását a faggyúsejtek működésére.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

- Sejtszintű munkákhoz humán immortalizált SZ95 faggyúsejteket, humán immortalizált (HaCaT) és normál humán epidermális keratinocita (NHEK) sejteket használtunk, valamint egészséges donorok perifériás vér mononukleáris sejtjeiből (PBMC) CD14 mikrogönggyökkel monocitákat izoláltunk, melyeket makrofágokká vagy dendritikus sejtekké (DC) differenciáltattunk. Kollaborációs partnerünkkel CD4+ sejteket izoláltunk, majd CD45RO vagy CD45RA gönggyökkel végzett pozitív szelekcióval elkülönített sejteket használtunk a kevert leukocita reakció vizsgálatára.
- A faggyúsejtek sejtproliferációját 4-methylumbelliferyl heptanoate módszerrel vagy a sejtmagok propidium iodide-dal való festését követően a sejtek DNS tartalma alapján határoztuk meg, az SZ95 faggyúsejtek sejtproliferációs rátáját Sulforhodamine B kolorimetriás módszerrel is elemeztük. Az adatok elemzését FlowJo szoftverrel végeztük.
- Szöveti vizsgálatainkhoz a Debreceni Egyetem Regionális és Intézményi Etikai Bizottságának jóváhagyását követően a Debreceni Egyetem Bőrgyógyászati Klinikájának szöveti archívumából származó anonimizált, fagyasztott vagy formalinnal fixált majd paraffinba ágyazott (FFPE) akne léziós mintákat a háti régióból (lapocka), papulopustuláris rosacea (PPR) mintákat az arcról, illetve kontrollként egészséges régióazonos (szövettanilag később igazolt jóindulatú melanocitás elváltozásokkal, plasztikai műtétből vagy amputált alsó végtagokról származó) bőrmintákat használtunk.
- Génexpressziós vizsgálatainkat real-time reverse transcription quantitative PCR (RT-qPCR) módszerrel és RNS szekvenálással végeztük, mely utóbbi során nyert adatainkat szoftverekkel (CASAVA, GeneSpring, StrandNGS) elemeztük. Az azonosított gének lehetséges biológiai szerepének megállapításához útvonalelemzéseket végeztünk PANTHER, ClueGO alkalmazással kiegészített Cytoscape, vagy Ingenuity Pathway Analysis szoftverekkel.
- Az SZ95 faggyúsejtek génexpresszióját specifikus microRNS inhibitorokkal, mimic szekvenciákkal, illetve kis interferáló RNS (siRNS)-sel moduláltuk transzfekcióval.
- miRNS-ek sejten belüli kimutatásához kromogén in situ hibridizáció-t használtunk FFPE humán szöveti mintákból származó metszeteken, illetve sejtenyészetekből nyert sejtpreparátumokon.
- A szövetszintű fehérjedetektáláshoz immunhisztokémiai (IHC), a sejtszintű mérésekhez immuncitokémiai, továbbá western blot módszereket és áramlási citometriás analíziseket végeztünk. A szekréciós viszonyok jellemzésére a sejtek felülúszójában lévő adott fehérjék mennyiségét ELISA módszerrel határoztuk meg.
- A stratum corneum thymic stromal lymphopoietin (TSLP) szintjének méréséhez „tape-stripping” módszert és immunfestést végeztük.
- A vizsgált, faggyúban is megtalálható zsírok epidermiszen való átjutásának lehetőségét Raman spektroszkópiával vizsgáltuk kollaborációs partnerünk segítségével, melyhez a bőrbioptikák hasi rekonstrukciós műtétből származtak.

- Oil Red O festést használtunk a bőrbíopsziákból készített fagyasztott metszetek zsírtartalmának vizsgálatához. Szintén Oil Red O festést, illetve AdipoRed Assay-t használtunk a sejt kultúrákban tenyésztett sejtek intracelluláris lipiddartalmának meghatározásához.

- A faggyúsejtekben lévő lipid cseppek jelölését BODIPY festéssel végeztük, majd konfokális lézer pásztázó mikroszkóphoz kapcsolt CCD IMAC kamerával analizáltuk. A kiértékeléshez ISIS fluoreszcens képalkotó rendszert használtunk.

- A faggyúsejtek zsírtartalmának elemzését kollaborációs partnereinkkel együtt végeztük High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) – Mass Spectrometry (MS) és Gas Chromatography (GC) MS módszereket használva.

- A faggyúsejtek felülúszójának kemotaktikus hatását egészséges donorokból CD14 és CD3 mikrogyöngyökkel izolált neutrofilek, monociták és T-sejtek használatával vizsgáltuk, 5 µm pórusméretű membránt használva.

- A makrofágok fagocita funkciójának vizsgálatához használt *C. acnes*-t fluoreszcein-izotiocianát festékkel jelöltük, majd a fagocitózis mértékét áramlási citometriás méréssel határoztuk meg FACS Calibur segítségével, és Flowing Software-rel elemeztük.

- Statisztikai elemzések:

Minden mérés esetében, a legalább három független kísérletből származó adatokból átlag ± szórás (SD vagy SEM) számoltunk.

Az RT-qPCR vizsgálattal nyert eredményeket független (kétszélű) t-tesztel elemeztük. Statisztikailag szignifikánsnak a $p < 0,05$ értéket tekintettük.

Az ELISA adatokat független t-teszt, One-way ANOVA és Tukey post-hoc tesztekkel elemeztük.

Az RNS szekvenálás adatait kétoldali hipergeometriai tesztel és Bonferroni step-down tesztel elemeztük a Cytoscape 3.9.0 szoftver ClueGO v2.5.8 plug-in program segítségével. Statisztikailag szignifikánsnak a $p < 0,05$ értéket tekintettük. További RNS szekvenálási adatok analíziséhez One-way ANOVA és Tukey post-hoc tesztekkel használtunk.

A sejtproliferációs mérések adatait Two-way ANOVA és Tukey post hoc tesztekkel elemeztük. A lipid mérések és az ELISA vizsgálatok adatainak értékelésére Kruskal-Wallis tesztel és Dunn post-hoc tesztel használtunk. A $p < 0,05$ értékeket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

A statisztikai szignifikanciát két stimulációs körülmény között a Wilcoxon matched-pairs signed-rank tesztel határoztuk meg a naív és a memória CD4⁺ sejtek stimulációs vizsgálataiban. A több mint két stimulációs feltétellel végzett statisztikai elemzést a Kruskal-Wallis tesztel és a Dunn-féle többszörös összehasonlító tesztel végeztük el a többszörös tesztelés korrigálása érdekében.

A lipid analízis statisztikai elemzéséhez One-way ANOVA és Tukey post hoc tesztel, továbbá Kruskal-Wallis tesztel és Dunn's post hoc tesztel használtunk. A statisztikai számításokat GraphPad Prism 7 segítségével végeztük.

EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

A faggyúimmunbiológia sejtszintű megközelítése

A faggyúsejtek Toll-like receptorokon keresztül indukálódott gyulladásos válaszána vizsgálata

Ahogy az a bevezetőben is kiemelésre került, a faggyúsejteket sokáig, mint a bőr zsírosságát befolyásoló sejtípust ismerték, melyek sokkal inkább a gyulladás végpontjai, mint annak aktív résztvevői. A legelső vizsgálat, mely felvetette a faggyúsejtek immunkompetenciáját, 2006-ban jelent meg, bemutatva, hogy ha a faggyúsejtek bizonyos *C. acnes* törzsekkel vagy a TLR4-et aktiválni képes LPS-sel találkoznak, jelentős mennyiségű gyulladásos citokint és antimikrobiális fehérjét képesek termelni. Ezen vizsgálat eredményei alapján a faggyúsejtek besorolódtak azon sejtek közé, melyek képesek immunsajátságokkal bírni, és felvetették a TLR receptorok – kiemelten a TLR2 és TLR4 – központi szerepét ennek iniciálásában. Ugyanakkor a kérdés nyitva maradt, hogy a két TLR-receptor ugyanazokat a változásokat közvetíti-e a faggyúsejtekben, mint ahogyan azt például a PBMC esetében látjuk, vagy pedig azok különböznek.

A kérdésekre a választ TLR1/2 és TLR4 specifikus aktivátorokkal kezelt faggyúsejtek teljes, valamennyi átíródott mRNS-t tartalmazó transzkriptomának új generációs szekvenálásával, majd a kapott génexpressziós profilok és az érintett szabályozási útvonalak elemzésével kerestük. Az akne léziók teljes szövetmintáiból származó, már rendelkezésre álló génexpressziós adatok és saját eredményeink összehasonlító elemzésével munkánkat kiterjesztettük a FM-ek gyulladásos környezet kialakításában játszott szerepének elemzésére is, továbbá génexpressziós adataink alapján olyan *in vivo*, FM-specifikus biomarker(ek) azonosítását is célul tűztük ki, amely diagnosztikai és terápiás jelentőséggel bírhat(nak).

Eredményeink megerősítették, hogy az elsődlegesen a lipidek metabolizálásában szerepet játszó humán faggyúsejtek veszélyjelzések hatására gyorsan képesek immun-kompetens státuszba kerülni. Ez a jelenség hangsúlyosan veti fel annak lehetőségét is, hogy a faggyúsejtek nem csupán a gyulladás végpontjai, de hozzájárulhatnak annak kialakulásához és fenntartásához is.

Vizsgálataink másik fontos eredménye a serum amyloid A (SAA) 1/2-nek, mint az aktivált faggyúsejtek biomarkerének az azonosítása volt, ami nemcsak az aktivációt jelezheti, de különböző betegségek kialakulásában is szerepet játszhat: a SAA-t túlnyomórészt a máj és a zsírsejtek termelik szoros összefüggést mutatva a testtömeggel, s emelkedett szérumkoncentrációja a gyulladás akut fázisát jelzi. Fontos megfigyelésünk volt továbbá, hogy a FM-ek nem csak az aknés mintákban, hanem rosaceában is SAA1/2-re erősen pozitívak voltak, ami alátámasztja, hogy a FM-ek az aknén kívül más gyulladásos állapotokban is aktiválódhatnak, azonban ennek patomechanizmusa és klinikai jelentősége további elemzésre vár. Munkánk további érdekessége, hogy a FM-eken belül az SAA1/2 immunreaktivitás a bazális sejtekre korlátozódott, hasonlóan az IL6 esetében megfigyelt eloszlásra, ami funkcionális kompartmentalizációra utal. Ez a megfigyelés akkor nyeri el jelentőségét, amikor arra a kérdésre keressük a választ, hogy mi védi a faggyúsejteket a saját szekretált lipidjeiktől, amelyek közül számos jól ismert gyulladásos aktivátor. Eredményeink alapján azt a hipotézist fogalmaztuk meg, hogy míg a bazális sejtréteg a FM-ek potenciális immunreaktív kompartmentje, addig az éréssel a felsőbb rétegek elveszítik immunpotenciáljukat, s ezáltal a szekretált lipidekkel szemben védelmet nyerhetnek. A mögöttes változások azonosítása mindenképpen kihívást jelentő terület, amely magában foglalja az epigenetikai, valamint a fehérje- és jelátviteli útvonalak további vizsgálatát.

A miRNS kísérleteink eredményeinek értékelésekor a miR-146a-t azonosítottuk, mint a TLR1/2 és TLR4 aktivált SZ95 faggyúsejtekben a legnagyobb mértékben indukálódott miRNS-

t. Megállapítottuk, hogy a miR-146a megemelkedett szintje az IL8 szekréció csökkenéséhez vezetett, csökkentette a faggyúsejtek kemoattraktív potenciálját és serkentette azok proliferációját. A miR-146a inhibitor szekvenciával kezelt SZ95 faggyúsejtek génexpressziós profilját vizsgálva a GNG7 gén indukciója volt az egyik legmagasabb, míg a sejteket miR-146a mimic szekvenciával transzfektálva a GNG7 expressziója csökkent. Ezek az eredmények korreláltak az *in situ* hibridizációs eredményeinkkel, miszerint a kontrollhoz képest a miR-146a fokozott, míg a GNG7 csökkent expressziót mutatott az akne léziós minták FM-eiben. További adataink alapján a GNG7-t kódoló mRNS gátlásakor az SZ95 faggyúsejtek lipidtartalma nőtt, míg proliferációjuk csökkent.

Eredményeink klinikai értelmezése során közelebb jutottunk a FM-ek aknéban megfigyelhető morfológiai és funkcionális változásainak megértéséhez is, mivel a fokozott faggyútermelés jellegzetes változásai alapján megalapozottan feltételezhető, hogy a faggyúsejtek proliferációja és lipidtermelése egyszerre serkentődik. Egy nemrégiben megjelent publikáció alapján az akne kialakulásának alapja a faggyúsejtek differenciálódásának megváltozása: minél kevésbé differenciáltak és ezzel együtt minél jobban proliferálnak a faggyúsejtek, annál jobban reagálnak az őket érő ingerekre. Ezért eredményeink rámutatnak arra a terápiás potenciálra, amelyet a miR-146a és ezzel együtt a GNG7 szintjének modulációja biztosíthat az akne terápiájában, egyszerre célozva a faggyúsejtek hiperproliferációját és megnövekedett faggyúszekrécióját.

A faggyúsejtek sejtszintű immunkompetenciájának további megerősítése a zsírszövettel való hasonlóságból kiindulva

A faggyúsejtek nagymértékben hasonlítanak a zsírsejtekre, hiszen a jelentős zsíryanycseréjük (mely során a faggyút termelik) mellett, sejtszinten képesek összekapcsolni a zsíryanycserét és a gyulladást. A két sejtípus közötti hasonlóságot olyan lipogén faktorok jelenléte is alátámasztja, mint az sterol regulatory-element binding protein-1, peroxiszóma proliferátor-aktivált receptorok, Liver X receptor vagy a resistin és galectin-12 fehérjék, melyek szövettani minták FM-eiben, valamint SZ95 faggyúsejtekben is azonosításra kerültek. Ezek a faktorok kulcsfontosságú szerepet játszanak a zsírsejtek differenciálódásában, valamint lipid metabolizmusában, így jelenlétük a faggyúsejtekben arra utal, hogy fontos jelátviteli közvetítők faggyúbiológiai szempontból is.

Az adipokinek kis molekulaméretű bioaktív fehérjék, melyeket elsősorban a zsírsejtek termelnek különböző stimulusok hatására. Az adipokinek csoportjába sorolható pl. az adiponectin (ADIPOQ), az IL6, resistin, leptin, serpine E1, visfatin, apelin, chemerin, retinol binding protein 4 (RBP4) és monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1). Biológiai tulajdonságaik széles köre és változatos sejtcélpontjaik miatt az adipokinek a (pato)fiziológias folyamatok széles skálájának szabályozásában vesznek részt; többek között a zsírszövetgyulladást indukáló hatásainak közvetítéséért felelősek a helyi szöveti környezetben, valamint a keringés útján a különböző szervekben.

Mivel az adipokinek szérumban mérhető szintje változást mutat számos bőrgyógyászati betegségekben, mint pl. aknéban vagy psoriasisban, így vizsgálataink során célul tűztük ki, hogy meghatározzuk az adipokinek (ADIPOQ, IL6, resistin, leptin, serpine E1, visfatin, apelin, chemerin, RBP4 és MCP1) expressziós profilját egészséges bőr és különböző betegségek (akne, rosacea, melanoma és psoriasis) szövettani mintáinak FM-eiben. Az SZ95 humán faggyúsejtvonal felhasználásával további szisztematikus analízist végeztünk annak érdekében, hogy meghatározzuk az adipokinek expressziós és szekréciós profilját, és olyan mechanizmusokat keressünk, amelyek részt vehetnek ezeknek a folyamatoknak a szabályozásában.

Normál humán bőrből, illetve különböző bőrgyógyászati betegségekből származó minták immunhisztokémiai festése igazolta, hogy a FM-ek az IL6 és a resistin mellett ADIPOQ-t, leptint, serpine E1-et és visfatint is expresszálnak. Habár expressziójuk ismert a zsírsejtekben, az apelin, a chemerin, az RBP4 és az MCP1 nem volt kimutatható a FM-ben a vizsgált egészséges és patológiás bőrminták egyikében sem. A szövettani minták tárolása, valamint a paraffinba való ágyazása miatt esetlegesen kialakuló álnegatív eredmények kizárása érdekében a rendelkezésre álló normál humán bőrminták fagyasztott metszetein is immunhisztokémiai reakciókat végeztünk, és a FFPE mintákon kimutatottal azonos adipokin expressziós profilt detektáltunk.

Pro-inflammatorikus stimulusok, mint a TLR1/2 és TLR4 aktivátorok, hatásának vizsgálata során, a leptin, a serpine E1 és a visfatin esetében is az IL6 aktiváció során észlelthez hasonló expressziós mintázatok voltak megfigyelhetők. Így megalapozott az a feltételezés, hogy ezek az adipokinek fontos szerepet játszanak az akne patogenezisében, s akár terápiás célpontok is lehetnek.

A komplex biológiai funkcióik vizsgálata mellett az adipokinek génexpressziós és fehérje profiljának meghatározása markerként szolgálhat gyógyszer-jelölt vegyületek *in vitro* tesztelésében is. Ezért a legszélesebb körben használt akne elleni szernek, a 13-*cisz*-retinsav (13-*cisz*RA)-nak a faggyúsejtek adipokin termelésére gyakorolt hatását is megvizsgáltuk. A 13-*cisz*RA hatására megnövekedett leptin és csökkent adiponectin expresszió volt kimutatható, ugyanakkor nem befolyásolta más gyulladásos adipokinek szintjét. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a 13-*cisz*RA az adipokineken keresztül a faggyúsejtek differenciálódási folyamatainak és lipid metabolizmusának szabályozásában is részt vehet.

Eredményeink alapján, élve a spekuláció adta lehetőségekkel, ha figyelembe vesszük a FM-ek nagy számát a bőrben, akár azt is felvethetjük, hogy a FM-ek a „bőr úszógumijai” – utalva arra, hogy mennyiségi és méretbeli változásaik hatással lehetnek metabolikus és gyulladásos folyamatokra egyaránt.

A leptin faggyúsejtekre kifejtett hatásának vizsgálata

A leptin, mint a zsírsejtekből származó olyan hormon/citokin ismert, amely összekapcsolja a táplálékfelvételt és az energiafelhasználást a neuroendokrin- és az immunfunkciókkal. Neve, „jóllakottsági” hormon, utal azon tulajdonságára, hogy a zsírsejtek a felvett zsír mennyiségétől függően képesek megemelni a keringésben lévő leptin szintjét, ami a hipotalamuszban lévő receptorain keresztül kulcsszerepet játszik az energia felvétel és leadás szabályozásában. Kiemelendő ugyanakkor, hogy a leptin számos egyéb sejttypus, például immunsejtek működését is képes befolyásolni.

Ahogy azt vizsgálatainkban kimutattuk, a faggyúsejtek hasonlóan a zsírsejtekhez, képesek leptint termelni; így felvetődik az a lehetőség, hogy képesek választ is adni a környezet megnövekedett leptin tartalmára. Ezt a hipotézist támasztja alá az a megfigyelés, miszerint a leptinhiányos (ob/ob) egerek FM-ei megnagyobbodnak, a vízszállítás szempontjából fontos II-es típusú viaszdiéshozadék termelődése pedig lecsökken.

Kíséreleteink során megállapítottuk, hogy a leptin kezelés a lipidcseppek megnagyobbodásával járt az SZ95 faggyúsejtekben, mely arra enged következtetni, hogy a leptin befolyásolhatja az intracelluláris lipidraktározást és, hogy a leptinnel kezelt faggyúsejtekben a lipidcseppek növekedése a fokozott lipidtermelés és -szekréció markerének tekinthető. A lipidtesteknek a kialakulásáról, megnagyobbodásáról és sorsáról ugyanakkor több adatra van szükség ahhoz, hogy megértsük a lipidtestek pontos szerepét a (leptinnel kezelt) faggyúsejtekben.

Bizonyítékot szolgáltatunk arra is, hogy más sejttypusokhoz hasonlóan a faggyúsejtek is megváltozott lipogenezissel képesek reagálni a leptin jelenlétére. Ebben a folyamatban az FFA-k deszaturációja kulcsfontosságú esemény lehet, amint azt a különböző MUFA-k és PUFA-k

relatív felhalmozódása mutatja. Azon feltételezés alátámasztására, miszerint a leptin szerepet játszhat az akne patofiziológiájában, vizsgálatainkban további adatokat szolgáltatunk azáltal, hogy kimutattuk, hogy a leptin az SZ95 sejtekben megnöveli a telítetlen FFA mennyiségét, különösen az FFA 16:1/16:0 arányát, ezáltal olyan lipidprofil alakít ki, mely nagyban hasonlít az aknés betegekben megfigyelhető faggyú összetételére. Továbbá bemutattuk, hogy a gyulladásos folyamatok modulálásában fontos szerepet betöltő fehérjék (mint a COX2 és 5LOX, vagy az IL6 és IL8) expressziója is szignifikánsan megemelkedett leptin kezelés hatására, ami méginkább alátámasztja, hogy a leptin potenciálisan szerepet játszhat a humán faggyúsejtek gyulladásos viselkedésében.

A faggyúimmunbiológia szövetszintű vizsgálata

A faggyúmirigyek jelenléte befolyásolja az adott bőrrész immunológiai sajátosságait – a faggyúmirigyben gazdag testtájékokon a T helper-17 válasz dominál

A bőr anatómiai és szövettani szerkezetét vizsgálva jelentős eltérések figyelhetők meg a különböző testtájékokról származó mintákban, nem csak a stratum corneum inhomogén vastagságának szintjén, de a különböző területeken található FM-ek, eccrine és apokrin mirigyek eltérő számában is, ami diverz kémiai környezetet eredményez. Ezzel párhuzamosan a bőr mikrobiomja is jelentős különbségeket mutat a topográfiailag különböző bőrterületeken; specifikus kommenzális flóra figyelhető meg a nedves, a száraz vagy az FM-ben gazdag mikrokörnyezetben, mely a bélflóra topográfiailag variabilis összetételéhez és funkciójához hasonlóan kapcsolatban lehet az adott bőr-régió fiziológiai sajátosságaival, beleértve a helyi immunitást is.

Munkánk folytatásaként a FM-ben gazdag (SGR) és a FM-ben szegény (SGP) bőrrégiók közötti feltételezett különbségek további, mélyreható elemzését tűztük ki célul és összehasonlító transzkriptomikai és útvonalelemzéseket, valamint a markerként kiválasztott molekulák gén- és fehérjeszintű validálását végeztük el.

Mivel a bélnyálkahártya immunaktivitásával kapcsolatos korábbi vizsgálatok a TSLP karakterisztikus jelenlétét mutatták be bizonyos bélszakaszokban, így először a TSLP-t, mint a keratinociták fontos citokinjét vizsgáltuk. Konstitutív TSLP fehérje expressziót azonosítottunk IHC és immuncitokémiai módszerrel egyaránt egészséges SGR bőrben, míg az egészséges SGP területeken a TSLP gyakorlatilag hiányzott.

Mivel a DC-k a TSLP fő célsejtjei, az SGR-bőr szignifikánsan magasabb TSLP-szintje arra utalt, hogy az SGR és az SGP területek között más „immun surveillance” faktorokban is lehetnek eltérések. Nem találtunk különbséget az Langerhans sejtek (LC) számában, de a CD11c+ DC-k száma szignifikánsan emelkedett volt az SGR bőrben az SGP területekhez képest, ugyanakkor ezek a DC-k nagy számuk ellenére sem mutattak figyelemre méltó aktivitást. A thymus- and activation-regulated chemokine (TARC)+ sejtek teljes hiánya is azt jelezte, hogy az SGR bőr által expresszált TSLP valószínűleg nem úgy működik, mint ahogyan az AD bőrre le van írva, ahol a TSLP TARC+ DC-ket indukál, elősegítve ezzel a Th2 immunválaszt. Utalva azon bélmintákon végzett kísérletek eredményeire melyek felvetették, hogy a TSLP-nek nemcsak gyulladásos, de tolerogén funkciója is lehet (főleg kisebb mennyiségben), feltételezzük, hogy az SGR bőrben megjelenő TSLP-nek is hasonló szerepe van.

Különbségeket találtunk továbbá az SGR és SGP bőr között a T-sejtek számát és a citokinek szintjét, valamint a különböző Th alcsoportokra jellemző transzkripciós faktorok expresszióját illetően is. Lényegesen több T-sejt volt jellemző az SGR bőrre, amelyek dominánsan Treg-sejtek és valószínűleg Th17-sejtek voltak. A Th17 sejteken belül nem patogén Th17(β) és patogén Th17(23) sejtek csoportjai különíthetők el. Míg a Th17(β) sejteket IL17 és IL10

termelés, valamint RAR related orphan receptor Ct (ROR γ t) expresszió jellemzi, addig a Th17(23) sejtek fontos szerepet játszanak a gyulladásos és autoimmun betegségek kialakulásában, IL17-et, INF γ -t és granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-t termelve, valamint T-bet és ROR γ t transzkripciósfaktorokat expresszálva. Bár szignifikánsan több IL17+ és IL10+ sejtet azonosítottunk az SGR bőrben, viszont az interferon γ (IFN γ)+ sejtek teljesen hiányoztak, és a magasabb ROR γ t expresszió mellett a T-bet mRNS szintje sem különbözött az SGP bőrhöz képest, ezért feltételezhető, hogy nem patogén Th17(β) sejtek kolonizálódnak az SGR bőrben.

Bizonyítékot szolgáltatunk arra vonatkozóan is, hogy szignifikánsan megnövekedett veleszületett (kemokin, antimikrobiális peptid [AMP]) és adaptív (domináns Th17 jelenlét) immunválaszok és megváltozott barrier funkciók (keratin [KRT] 17, 79) jellemzik az SGR bőrt az SGP bőrhöz képest. A pro-inflammatorikus citokinek (IL1 α , IL6, IL8, IL33, tumor necrosis factor α [TNF α]) tekintetében hasonlóan alacsony szint volt kimutatható mind a SGP mind pedig a SGR egészséges bőrterületen, ami a gyulladás hiányára utal. Vizsgálataink talán legfontosabb eredménye, hogy nem csak a Th17 jelátviteli útvonal elemei (Th17 érési citokinek és egy Th17 effektor kemokin), de az IL1 β , IL23A és CCL20 szintek is szignifikánsan magasabbak voltak az SGR bőrben az SGP bőrhöz képest. Ezek az eredmények jól korreláltak egyéb adatainkkal, ahol RT-qPCR módszerrel és immunfestéssel szignifikánsan magasabb IL17A mRNS és fehérje expressziót azonosítottunk SGR bőrben az SGP bőrhöz viszonyítva. Fontos megjegyezni továbbá, hogy nem csak az IL17 jelenlétét, hanem annak hatását is megfigyeltük az SGR bőrben, mivel az AMP-k, a kemokinek és a barrier molekulák expressziójában lévő különbségek az SGR és SGP között alapvetően az IL17 hatásával magyarázhatók.

Összefoglalva, eredményeink azt sugallják, hogy topográfiai különbségek vannak az emberi bőr immunrendszerének aktivitásában a TSLP szintje, a DC-k és a T-sejtek száma és eloszlása tekintetében, mely kapcsolatban állhat a FM-ek jelenlétével. Továbbá eredményeink magyarázatot adhatnak bizonyos immun-mediált bőrbetegségek jellegzetes lokalizációjára is, azaz topográfiailag speciális bőrterületeken (pl. az AD az SGP bőrterületeken, a rosacea az SGR bőrterületeken) történő megjelenésére. Ezen túlmenően adataink egyrészt rávilágítanak a megfelelő, topográfiailag azonos kontroll bőrminták használatának fontosságára a tudományos vizsgálatokban, másrészt befolyásolhatják a jövőbeni, a bőr barrier helyreállítását célzó, terápiás megközelítéseket is.

A faggyúmirigyben gazdag szövetre jellemző eltérések hátterében álló útvonalak azonosítása

A faggyúsejtek által termelt fehérjék hatása a limfocitákra

Munkánk további folytatásaként célul tűztük ki, hogy azonosítsuk a faggyúsejtek és az immunrendszer sejtjei, kiemelten a T limfociták, közötti kapcsolatot. Építve saját és korábbi irodalmi adatokra, arra a kérdésre kerestünk választ, hogy a faggyúsejtek képesek-e immunsejteket vonzani a gyulladás helyére, és tudják-e azok működését modulálni. Mivel a *C. acnes* is képes befolyásolni a T sejtek érését, azok Th17 irányú differenciálódását és ezzel együtt IL17 termelését, így azt is megvizsgáltuk, hogy a faggyúsejtek és a *C. acnes* között lehetséges-e szinergizmus a gyulladásos válasz előidézésében, amely érvényre juthat a bőr homeosztázisában és/vagy immunreakcióiban, s nevezetesen az akne kialakulásában.

Eredményeink tovább erősítették azt a hipotézist, hogy a faggyúsejtek nem csak végpontjai és így tétlen elszenvedői a bőr gyulladásos folyamatainak, de az általuk termelt kemokineken és citokineken keresztül aktívan képesek modulálni azt. Vizsgálatainkban bizonyítékot szolgáltatunk egyrészt arra, hogy a faggyúsejtek és a T-sejtek között aktív kommunikáció zajlik, amely a korábban részletesen ismertetett Th17-domináns immunválasz kiváltását eredményezi, másrészt pedig bemutattuk, hogy a *C. acnes* a faggyúsejteken és a DC-ken keresztül közvetett módon járulhat hozzá az aknéval összefüggő gyulladásához.

Ismert, hogy az aknés lézióban a neutrofilek az első immunsejtek, melyek megjelennek illetve, hogy a makrofágokkal együtt T-limfociták is jelen vannak a kialakuló gyulladásos elváltozások helyén. Eredményeink szerint ezek toborzásához a faggyúsejtek is hozzájárulhatnak elsősorban az általuk (is) termelt IL8 által, mely hátterében a faggyúsejtek aktiválódása állhat pro-inflammatórikus citokinek és/vagy bakteriális termékek hatására, ami további kemokinek és citokinek fokozott szekréciójához vezethet, s az így megnövekedett IL8 szint pedig további kemoattraktáns potenciállal bírhat.

A T-sejtek és a faggyúsejtek közötti kapcsolat vizsgálatakor kimutattuk, hogy a faggyúsejtek által felszabaduló faktorok nem hatnak a CD4⁺ CD45RO⁺ effektor T-sejtek citokinszekréciójára, utalva arra, hogy a faggyúsejtek valószínűleg nem befolyásolják a már korábban meghatározott T-sejt fenotípust. Az IL22 termelés enyhe növekedése ugyanakkor arra utal, hogy a faggyúsejtek elősegíthetik az IL22/TNF α tengely aktiválódását, mely a barrier homeosztázisban játszik szerepet. Ugyanakkor, az effektor sejtekkel ellentétben, a faggyúsejtek befolyásolhatják a CD4⁺ CD45RA⁺ naiv T-sejtek differenciálódását, ugyanis a faggyúsejtek képesek voltak IL6 és IL1 β fehérjéket termelni, melyek a Th17 sejtek *de novo* differenciálódásának kulcsfontosságú citokinjei. Eredményeinkkel bemutattuk azt is, hogy a faggyúsejt-felülúszó önmagában is képes a Th17 fenotípus indukálására naiv T-sejtekben és ez a hatás elsősorban az IL1 β termeléstől függ. Mivel a T-sejt „priming” nem megy végbe perifériás szövetekben, feltételezzük, hogy a faggyúsejtek egy olyan lokális mikrokörnyezet kialakulásához járulnak hozzá, amely a környéki nyirokcsomókban a naiv T-sejtek Th17 fenotípus felé történő differenciálódását mozdítja elő.

A *C. acnes* hatása kapcsán egyik kulcsmomentumnak tartják, hogy az NLRP3 inflammaszóma aktiválásán keresztül hatékonyan indukálja az IL1 β szekréciót a faggyúsejtekben. A *C. acnes*-szel előkezelt faggyúsejtek esetében mi is kimutattuk az IL1 β szint növekedését; azonban nem tapasztaltunk további növekedést a Th17 differenciálódásban, amit az IL1 β nyugalmi állapotban is meglehetősen magas „intrinsic” szintje – ami teljes mértékben elegendő a Th17 differenciációhoz – magyarázhat. Adataink így arra engednek következtetni, hogy *in vivo* a faggyúsejtek egyfajta „steady-state” állapotban indukálják a Th17 sejteket a bőr homeosztázisának fenntartása érdekében, ha azonban kóros körülmények között a pilosebaceous egységet a *C. acnes* kolonizálja, a Th17 válasz tovább fokozódhat. Ezzel

összhangban, egészséges bőrben a FM-ek környékén csak elvétve tudunk CD4+ IL17+ sejteket kimutatni, míg aknés léziókban ezek a sejtek gyakran kolokalizálódnak a faggyúsejtekkel. Bár az SZ95 faggyúsejtvonal egy széles körben elfogadott és használt modell, amely hasonló viselkedést mutat más faggyúsejtvonalakkal és primer faggyúsejtekkel is, vizsgálataink korlátai az elvégzett kísérletek *in vitro* jellegéből (sejtvonal használatából) adódóan egyértelműek. Ugyanakkor e korlátok ellenére eredményeink bizonyítékot szolgáltatnak arra vonatkozóan, hogy a faggyúsejtek aktívan részt vehetnek a bőr gyulladásos folyamataiban az immunsejtek toborzása és a T-sejtekkel való aktív kommunikáció révén, amely kifejezett Th17 differenciálódáshoz vezet. Ez a kölcsönhatás fontos lehet az akne patogenezisének megértésében; azonban további vizsgálatok szükségesek annak a kérdésnek a tisztázásához, hogy a faggyúsejt–Th17 tengely a szervezet jótékony védelméhez járul-e hozzá vagy a gyulladásos folyamat ördögi körét tartja fent.

A faggyúsejtek által termelt zsírok hatása a makrofágokra

A faggyúsejtek zsírtermelésére jelentős hatással van a gyulladásos környezet, melynek valószínű következménye, hogy a faggyút alkotó zsírok mennyisége és minősége több betegségben is megváltozik. Tekintve, hogy számos zsírról ismert, hogy képes befolyásolni az immunsejtek gyulladásos választ, joggal vetődik fel a kérdés, hogy hatással van-e a FM a bőr immunválaszáinak sajátosságaira az általa termelt zsírokon keresztül.

A kérdést, hogy vajon a FM-ben gazdag bőr magasabb zsírtartalmát a faggyúzsírok okozzák-e, bő 70 évvel ezelőtt, bár közvetve, de Butcher tette fel elsőként. Radioaktív sztearinsavat (SA) alkalmazva és kihasználva a LA kifejezett autofluoreszcenciáját bemutatta, hogy mind a két zsír képes volt átjutni az egér epidermiszén és felhalmozódni a bőrben elsősorban a FM körül, míg az olajsav (OA) képes volt mélyebbre, az erekhez is eljutni. Munkánk során Raman spektroszkópiás módszert alkalmazva kiegészítettük ezen vizsgálatokat és bemutattuk, hogy a jelentősen vastagabb epidermiszű emberi bőrbe is képesek a felszínről bejutni a vizsgált, faggyúban is megtalálható zsírok úgy, mint a SA, LA, OA, PA és SQ. Míg Butcher az eredményeiből azt a következtetést vonta le, hogy a faggyúzsírok elsősorban a szőrtüszőn keresztül jutnak be a bőrbe, addig eredményeink felvetik annak a lehetőségét is, hogy akár a folliculusok közötti bőrön keresztül is képesek a bőrbe bejutni. Így önmagában már az is az újdonság erejével hat, hogy ezen munkánk során jelentős különbségeket azonosítottunk a bőrben lévő zsír mennyiségében attól függően, hogy a minta FM-ben gazdag vagy szegény volt-e.

Számos zsírról ismert, hogy a citokinekhez és különböző mikrobákhoz hasonlóan hatással vannak az immunrendszer különböző sejtjeire, mely alapul szolgált ahhoz, hogy megvizsgáljuk a faggyúzsírok hatását a makrofágokra. Eredményeink, mely szerint a faggyút alkotó zsírok képesek fokozni a makrofágok alternatív aktivációját, felvetik annak a lehetőségét, hogy a FM potenciális forrása olyan „veszélytelen” jeleknek/zsíroknak, amik hozzájárulnak a bőr fiziológiás mikrokörnyezetéhez és ezzel aktív szereplői a FM-ben gazdag bőrben detektálható, általunk leírt fokozott immunaktivitásnak. A feltevést további vizsgálataink is megerősítették, amelyekben az SZ95 faggyúsejteket és azok tenyészetének – a faggyúsejtek által termelt zsírokat és fehérjéket egyaránt tartalmazó – felülszóját használtuk. Amikor az emberi vérből izolált monocitákat az SZ95 faggyúsejtek felülszójának jelenlétében differenciáltattuk, nem csak az alternatív aktivációra jellemző markerek kifejeződése vált erőteljesebbé a makrofágok esetében, de azon képességük is, hogy felvegyék az akne kialakulásában fontos szereppel bíró *C. acnes* baktériumokat. Ez a funkcionális változás túl azon, hogy zsír típusától függőnek bizonyult, jelezte azt is, hogy a FM és termelt zsírai patológiás körülmények között is fontos szerepet kaphatnak. Vizsgálatainkkal bemutattuk továbbá, hogy a faggyúsejtek által (is) termelt

zsírok eltérően ugyan, de befolyásolták a makrofágok és azok *C. acnes*-szel szembeni gyulladásos válaszát az IL1 β , IL6 és TNF α citokinek termelésének szintjén, aminek nem csak az aknéban, de egyéb gyulladásos bőrbetegségben is szerepe lehet.

Kiemelendő, hogy a faggyú jelentős részét alkotó PA és SA kifejezetten gyulladáskeltőnek bizonyult, olyan körülmények között is, amikor a makrofágok semmilyen baktériummal nem találkoztak. Ez a megfigyelés, valamint további eredményeink, miszerint a *C. acnes* önmagában gyenge stimulus a makrofágok számára, az IL1 β termelés jelentősebb indukciójához zsírok is szükségesek, az akne kialakulására vonatkozó számos ismeretet részben összekapcsol, részben új megvilágításba helyez. Egyrészt értelmezhető, hogy milyen következményei lehetnek a faggyú összetétel megváltozásának, melyben a pro- és anti-inflammatorikus zsírok arányának változása iniciálhatja és/vagy erősítheti a bőrben zajló gyulladásos folyamatot, másrészt részleges magyarázatot adhat arra, hogy a *C. acnes*, mint kommenzális baktérium jelenléte önmagában miért nem elegendő az akne kialakulásához, hisz ahhoz a faggyúzsírok jelenléte is szükséges. Természetesen ismét nem elfelejtve *in vitro* kísérleteink korlátjait, közelebb jutottunk annak értelmezéséhez is, hogy miért lehet fontos a faggyú lecsökkent LA szintje, és a megnövekedett OA/LA aránya az aknés betegek faggyújában, mely nem csak a komedók kialakulását, de az immunrendszer aktivitását is befolyásolhatja.

Eredményeinket összefoglalva, a FM a termelt zsírjai által sokkal komplexebb folyamatokban vehet aktívan részt, mint pusztán a bőr zsírosítása. Épp úgy hatással lehet az immunrendszer működésére, mint ahogy egyéb, részben további vizsgálatok tárgyát képező sejttípusra és folyamatra. Amellett, hogy az akne kialakulásának megértéséhez közelebb jutottunk kísérleteinkkel, az is egyre inkább körvonalazódik, hogy a terápiák fejlesztésében már nem pusztán a faggyúzsírok termelésének csökkentésére kell fókuszálni, de a faggyú összetételének megváltoztatására is, aminek sikeres megvalósítása túlmutat az akne kezelésén és fontos gyulladáscsökkentő hatással bírhat egyéb gyulladásos bőrgyógyászati betegségek, mint a rosacea vagy a pikkelysömör kezelésében is.

A faggyúsejtek által termelt zsírok hatása a keratinocitákra

Miután megvizsgáltuk a faggyúzsírok lehetséges szerepét a makrofágokra, arra a kérdésre is választ kerestünk, hogy a keratinociták is lehetnek-e célpontjai a faggyút alkotó zsíroknak.

Az a megállapítás, hogy a vizsgáltunkba bevont sebum lipidek bár eltérően, de képesek voltak megváltoztatni a barrierfunkciókat szabályozó gének expresszióját (pl. a PA kezelés markánsan csökkentette a kallikrein [KLK] 5 és KLK7 expressziós szintjét), azt támasztja alá, hogy a sebum szerepet kaphat a barrierfunkciók kialakításában, hipotetikusán pedig feltételezhető, hogy összetételének megváltozása akár az akne patogeneziséhez is hozzájárulhat. Bár eredményeink alapján a keratinocitákban a PA kedvezőtlen, míg a LA inkább kedvező hatást gyakorolt az epidermális barrier szabályozó gének expressziójára, túlságosan leegyszerűsítés lenne bármelyik lipidet „jónak” vagy „rossznak” minősíteni. Mégis, jogosan merül fel, hogy a sebum összetételének módosítása terápiás célpont lehet az akne esetében a barrierfunkciók helyreállítása szempontjából is.

A SGR és a SGP bőrregiók között feltárt különbségek további vizsgálatát és a háttérben álló lehetséges okok azonosítását célzó vizsgálataink eredményei alapján bemutattuk, hogy a különbségek kialakulásában a faggyúsejteknek és a faggyúzsíroknak potenciális szerepe lehet immunológiailag aktív mediátorok, mint a TSLP termelésének befolyásolásával is. Kimutattuk továbbá, hogy a LA, a sebum egyik fontos összetevője, hatással van a TSLP expressziójára. Ezen eredmények alapján feltételezzük, hogy a megváltozott sebum termelés és ennek következtében a tolerogén TSLP elvesztése lehet az egyik fő esemény pl. a PPR

kialakulása során és az így megváltozott TSLP-szint befolyásolhatja a DC és T-sejt aktivációt is.

A faggyúzsírok visszahatása a faggyúsejtekre

Azon megállapítások, hogy (i.) a FM-ben gazdag bőrnek a FM-ben szegény bőrhöz képest eltérő immunmiliője van, (ii.) a faggyúlipid frakciók mennyiségének és arányának dinamikus változása figyelhető meg az aknéban és (iii.) a faggyúlipidek áthatolhatnak az epidermiszen, vagy akár közvetlenül a dermiszbe is bejuthatnak ha a pilosebaceus egység súlyos akne esetén „szétrobban”, összességében arra utalnak, hogy a faggyúsejtek termékei érdemben alakítják a bőr mikrokörnyezetét különböző sejttípusokra gyakorolt komplex szabályozó funkciókkal. Érdekes módon, ugyanakkor talán pont maguk a faggyúsejtek azok, melyek leginkább ki vannak téve az önmaguk által megváltoztatott lipid környezet hatásának.

Az esszenciális, többszörösen telítetlen omega-6 zsírsavat, a LA-at a humán sejtek nem képesek szintetizálni. A szervezet számára fő LA forrás a diófélék, magvak és növényi olajok úgy, mint pl. a repce-, szója-, kukorica- és napraforgóolajok, a húsok, illetve a tojás, bár a szervezet számára optimális LA beviteli mennyiség kérdéses. Ami a bőr homeosztázisát illeti, a LA, mint az egyik leggyakoribb PUFA, központi szerepet játszik a stratum corneum permeabilitási barrier szerkezeti felépítésében és funkciójában. A LA jótékony, komedolitikus hatására utal az a megfigyelés, miszerint az aknés betegek sebumát a csökkent LA szint jellemzi, emellett fokozott a mikrokomedo képződés és megfigyelhető a follikuláris dugó megnagyobbodása is. A faggyúsejtek szintjén, azok nem csak fokozott lipidtermeléssel reagálnak a LA-ra, de a fatty acid desaturase 2 expresszáásával is, így képesek a LA-t arachidonsav (AA)-vá alakítani, ami arra utal, hogy a LA – AA – AA-ketometabolit (mint pl. 5-oxo-6E,8Z,11Z,14Z-eicosatetraenoic sav, 12-oxo-5Z,8Z,10E,14Z-eicosatetraenoic sav) tengely potenciális szerepet játszik a FM differenciálódásában és a lipidszintézis szabályozásában. Fontos kiemelni, hogy bár mind a LA, mind az AA képes lipogenezist indukálni az SZ95 faggyúsejtekben, a két zsír között jelentős különbségek azonosíthatók.

A PA-nak a gyulladásos környezet alakításában betöltött kulcsszerepét mi is megerősítettük annak kimutatásával, hogy *in vitro* differenciált monocita-eredetű makrofágokban a PA az IL1 β és a TNF α citokinek termelésének erősebb stimulátora, mint a *C. acnes*. Továbbá kimutatták azt is, hogy a PA-kezelés növelte az IL6 és IL8 szekrécióját az SZ95 faggyúsejtekben, ezáltal hozzájárulva a gyulladásához az aknés elváltozásokban.

Az epidermális növekedési faktor (EGF) a faggyúsejtek működésében betöltött központi szerepére utal, hogy a faggyúsejtek tenyésztésben való fenntartásához elengedhetetlen az EGF jelenléte, továbbá hogy receptora az EGFR, kifejezett a mirigyek perifériás rétegében, ahol a proliferáció dominál a differenciálódással és a lipidfelhalmozódással szemben. Későbbi vizsgálatokban kimutatták, hogy siRNS-t alkalmazva az EGFR kifejeződésének csökkentéséhez, az lipidfelhalmozódást okozott SZ95 sebocitákban. Fontos továbbá, hogy az EGF, valamint egyes EGFR aktivátorok, mint pl. transforming growth factor (TGF) α , epigen, epiregulin, amfiregulin, betacellulin és a heparin-binding EGF kimutatható mennyiségben található a szérumban, illetve különböző bőrsejtípusok, például a keratinociták, a fibroblasztok és a sebociták is képesek termelni EGFR-aktivátorokat. Így feltettük azt a kérdést is, hogy az EGF önmagában és a PA-val kombinálva hogyan képes a humán sebocitákban a génexpresszió, a fenotípus és a gyulladás folyamatának megváltoztatására.

A faggyúsejtek szintjén, bár a LA hatékony differenciálódási és lipidmetabolizmus-indukáló ágens *in vitro*, növeli a lipidcseppek méretét és a neutrális lipidek sejten belüli mennyiségét azáltal, hogy indukálja a zsírsav-anyagcserében részt vevő gének expresszióját, megválaszolatlan a kérdés, hogy ezek a változások specifikusan a LA hatásának következményei-e vagy a mikrokörnyezetben megnövekedett mennyiségben jelen lévő

lipidekre adott általános válasz a faggyúsejtek részéről. Eredményeink alapján, összehasonlítva a LA hatására megfigyelhető génszintű változásokat a PA által okozott génexpressziós változásokkal, a LA szelektíven volt képes hatást gyakorolni a faggyúsejtekre. Tovább vizsgálva a LA FM homeosztázisban betöltött potenciális szerepét megállapítottuk, hogy hozzájárulhat a zsírsavak intracelluláris metabolizmusához, a CH bioszintézishez, a szteroid metabolizmushoz, a lipid metabolizmus PPAR általi szabályozásához, valamint az androgén és magreceptor, illetve ERK1/2 jelátvitelhez. Mivel ismert, hogy ezek az útvonalak kulcsfontosságúak a faggyúsejtek lipid- és szteroid-anyagcseréjében, a sejtnövekedésben és a differenciálódásban, ezért feltételezhető, hogy a LA a homeosztatikus útvonalak specifikus szabályozójaként befolyásolhatja a faggyúsejtek differenciálódását, a lipidmetabolizmust, s ezáltal a sebum termelést.

A LA-ról és az AA-ról egyaránt ismert, hogy növelik az IL6 és IL8 gyulladásos citokinek szintjét a faggyúsejtekben, melyet kiegészítve jelen génexpresszió szintű vizsgálataink eredményeivel megállapítottuk azt is, hogy a LA és az AA által közösen szabályozott gének nagyrészt immunmoduláló tulajdonsággal bírnak, úgymint a TGF β -ra és TNF-ra adott sejtválasz, a citokinaktivitás, a MAPK kaskád és leukocita migráció/kemotaxis illetve differenciálódás szabályozása, az IFN γ és IL17 jelátvitel szabályozása, melyek nemcsak az aknéban, de más gyulladásos bőrbetegségekben is központi szignálok. Érdekes módon az IL4/IL13 jelátviteli útvonalat is mind a LA mind az AA befolyásolta a faggyúsejtekben. Mivel az IL4/IL13 útvonalnak központi szerepe van AD-ben, továbbá ismert, hogy szabályozza a szteroid hormonok szintézisét a humán faggyúsejtekben, valamint lipidrendellenességeket okoz a bőrben, így ez további bizonyítéka annak, hogy a faggyúsejtek aktív résztvevőként vannak jelen az AD patogenezisében.

Eredményeink ugyanakkor arra is rámutattak, hogy a faggyúsejtek homeosztázisában és lipidanyagcseréjében részt vevő gének nagy része csak LA által szabályozott, és AA által nem, mely a LA AA-független hatásának tekinthető. A lipidtermelés szintjén azonosított különbségek alapján feltételezhető, hogy a LA, de nem az AA kezelést követően létrejött jellegzetes lipidprofil következtében számos további bioaktív lipid mennyisége is megváltozhat a faggyúsejtekben.

A PA hatását vizsgálva a faggyúsejtekre, érdekes megfigyelésünk volt, hogy bár a PA is képes volt immunfolyamatokkal kapcsolatos gének és útvonalak kifejeződését befolyásolni, de csakis EGF jelenlétében, mely példát szolgáltat arra, hogy a (pato)fiziológiásan jelen lévő stimulusok együtthatása hogyan segítheti elő, hogy a FM-ek immunológiailag aktívvá váljanak. Ezen eredmények alapján méginkább megalapozott az a feltételezés, hogy a faggyúkomponensek megváltozott aránya és a faggyú megnövekedett mennyisége – és ezzel együtt a megnövekedett PA-szint – szabályozó és gyulladásos szerepet játszhat az akne manifesztációjában, azonban csak akkor, ha más, még részletesebben azonosítandó tényezők is jelen vannak.

Végezetül felhívtuk a figyelmet arra, hogy a szebocitákon végzett vizsgálatoknál a tenyésztőfolyadékban lévő EGF jelenlétére figyelemmel kell elvégezni az értékelést. Amint az eredményeinkből kiderült, a sejtek gyulladásos tulajdonságai és proliferációja már a génexpresszió szintjén is megváltozott, ha a faggyúsejteket EGF jelenlétében tenyésztettük, ahogyan a lipidprofil, valamint a retinoidok és szteroidok metabolizmusa is befolyásolható volt. Így fontos üzenetünk a rendszeralapú megközelítés fontossága is, rámutatva a releváns stimulusok kombinálódásának akár körlefolysat meghatározó következményeire.

Eredményeink translációja az akne patogenezisének és terápiás lehetőségeinek új megközelítésben való értelmezéséhez

A gyulladásos bőrbetegségek között a serdülőkori akne egyedülállónak tekinthető az SGR bőrregiókra való sajátos lokalizációja és a pubertással összefüggő szűk életkori tartományon belüli megnyilvánulása miatt. Az akne a különböző etnikumú tinédzserek 44–95%-ánál fordul elő, ellentétben az egyéb gyulladásos bőrbetegségek lényegesen alacsonyabb gyakoriságával (pl. pikkelysömör 2% és rosacea 2–10%). Ezenkívül, az akne spontán remissziója az érintett betegek akár 50%-ánál is előfordul, ellentétben pl. a pikkelysömörrel vagy rosaceával, amelyek krónikus, időszakos lefolyásúak. Mivel tudomásunk szerint az aknén kívül egyetlen más gyulladásos bőrbetegségre sem jellemző a régió és életkor specificitás, valamint a remisszió ilyen magas prevalenciája, ezért feltételezzük, hogy az akne egy egyedi csoportnak tekinthető a gyulladásos bőrbetegségeken belül. A friss és jelentős mértékben saját immunológiai és bőrgyógyászati adatok fényében új koncepciót javasoltunk az akne patogenezisének értelmezéséhez, amely elősegítheti e betegség jobb megértését és ezzel együtt megfelelő terápiás beavatkozásokhoz vezethet.

Hipotézisünk leegyszerűsítése érdekében kizárólag a tinédzserkori (13-19 év) aknét tárgyaljuk. Ahogy az korábban részletesen ismertetésre került, minden barrierfelületünket kommenzális mikrobák lakják. Az epiteliális barrier és a mikrobiom közötti kölcsönhatások változóak, a mutualizmustól egészen a patogenitásig terjedő spektrumon belül. Bőrünkön a mikrobák kolonizációja közvetlenül a születés után elkezdődik, és ezek a mikrobiális közösségek az élet első éveiben stabilizálódnak. Ebben az időszakban a bőr immunrendszere párhuzamosan fejlődik a mikrobiom változásával. Ez a koevolúció elengedhetetlen a bőr immunrendszerének fejlődése szempontjából, amely ez idő alatt elviseli/tolerálja a mikrobák populációjában bekövetkező változásokat. Áramlási citometriás méréssel mutatták ki, hogy az újszülött egerek bőrén ez a korai tolerogén időszak a T-reg sejtek által szabályozott. Ezután egyfajta homeosztatiszta párbeszéd alakul ki a mikrobiom és a bőr immunrendszere között, ami az emberi élet későbbi időszakára (gyermek- és felnőttkor) is jellemző. A komplementrendszer komponenseinek szabályozott termelését úgy, mint az AMP és az IL1 keratinocitákból és DC-kből történő felszabadulását, e szimbiotikus kapcsolat fontos és veleszületett közvetítőinek tekintik. Ezen párbeszédben a hajfollikulusoknak speciális szerep tulajdonítható ugyanis az egyensúlyi állapot megőrzését támogatják a LC-k, T-reg-sejtek és veleszületett limfoid sejtek toborzásán és kolonizálásán keresztül. A follikulusok a bőr „locus minoris resistentiae”-jának tekinthetők, vékony hámréteg borítja őket, amely magyarázhatja párbeszédbeli kulcsszerepüket a szervezet és mikrobiom között. Ez a párbeszéd azonban sérülhet, ha a párbeszédben résztvevő partnerek megváltoznak. A pubertás alatt az androgén hormonok megnövekedett koncentrációja fokozza a faggyúsejtek proliferációját és a sebum termelést. Mivel nagyobb számú és méretű FM-ek, valamint ennek következményeként több sebum termelés jellemzi az arc, a fejbőr és a hát felső részének területét (SGR bőr), ezért ezen a területen lipidben gazdag környezet és ennek következtében a bőr mikrobiomjának megváltozása figyelhető meg. A gyermekkorhoz hasonlítva az SGR bőr új mikrobiomját a lipofil *C. acnes* és *Corynebacterium* (pl. *C. simulans*) megnövekedett relatív abundanciája jellemzi.

Rágcsálókban megfigyelték, hogy a bőrben egy új kommenzális baktériummal való rövid távú találkozás is elindíthatja az IL17-et és IFN γ -t termelő effektor T-sejtek erőteljes felhalmozódását. Ezen adatok alapján azt feltételezzük, hogy serdülőkorban az SGR bőr mikrobiom összetételében bekövetkező hirtelen és tartós változások, amelyek a faggyúsztint növekedésével és sajátos gyulladásos potenciállal járnak együtt, olyan gyulladásos választ alakítanak ki, amely megkerüli a korábbi homeosztatiszta kapcsolatot, így az akne kialakulását eredményezi. Ez alatt az esemény alatt a homeosztatiszta mediátorok szekréciója

megnővekedhet a bőrben, a keratinociták és a DC-k által termelt pro-inflammatorikus citokinek termelése fokozódhat; s ez a keratinociták proliferációjához, a Th17 és Th1 sejtek aktiválódásához, valamint a neutrofilek és makrofágok beáramlásához vezethet. A homeosztatikus állapotból a gyulladásos állapot felé történő eltolódás a follikulusokban kezdődhet meg, ami follikuláris hiperkeratinizációt, a follikuláris infundibulum elzáródását és komedo-képződést eredményezhet; ezek az akne első látható jelei, később pedig megjelennek a papulák, pustulák és nodusok. Ezt a hipotézist mRNS adatok is alátámasztják, miszerint a homeosztatikus párbeszédre jellemző citokin-transzkriptumok (IL1 α -t és β -t, IL10-et, AMP-
ket és IL17-et kódoló) szintje megemelkedik az aknés léziókban, és az újonnan termelődött inflammatorikus mediátorokkal (IL6, IL12, IL23, TNF α , IFN γ) együtt részt vesznek a gyulladásos folyamatokban. Mindezek mellett a *C. acnes in vitro* homeosztatikus és gyulladásos állapotokat is képes előidézni. Humán keratinociták, faggyúsejtek és mononukleáris sejtek IL1 β -t, IL10-et, AMP-t, IL17-et, IL6-ot, IL12-t, TNF α -t és IFN γ -t termelnek a *C. acnes*-re adott válaszként. Humán bőrmintákon végzett vizsgálatokkal megerősítették, hogy az akne kialakulása összefüggésbe hozható a *C. acnes* jelenlétével és biofilm képződésével, továbbá aknés léziókban a betegség súlyossága korrelál a *C. acnes* lipáz aktivitásával. Ezenkívül a *C. acnes*-ra nagy fenotípusos variabilitás jellemző: amint azt az áramlási citometriás és ELISA adatok is bizonyítják az aknéval-asszociált *C. acnes* törzsek (pl. HL110PA1 és HL096PA1) képesek gyulladásos IL17/IFN γ -termelő CD4⁺ T-sejteket indukálni, míg az egészséges bőrrel-asszociált *C. acnes* törzsek (pl. HL042PA3 és HL110PA4) elősegítik a protektív IL17/IL10 termelő Th-sejt fenotípusok kialakulását. A fokozott sebum termelés elengedhetetlennek tűnik az egyébként kommenzális *C. acnes* közösség számára ahhoz, hogy gyulladást kiváltó képessége érvényre jusson. A sebum termelés serdülőkorban a legmagasabb, a serdülőkor végével és az azt követő időszakban pedig csökken. Ezen kívül a faggyú összetétele megváltozik akne esetén, és a faggyúkoncentráció korrelál a betegség súlyosságával. A sebum fokozhatja a *C. acnes* törzsek szaporodását, továbbá gyulladást és follikuláris hiperkeratinizációt válthat ki. Összességében tehát feltételezhető, hogy a sebum domináns szerepet játszik a homeosztatikus állapotból a gyulladásos állapot felé való elmozdulásban. Ezt támasztják alá azok a részletesen bemutatott ELISA adataink, melyek szerint *C. acnes* jelenlétében a különböző sebum komponensekkel (pl. PA-val és OA-val) *in vitro* kezelt humán makrofágok szignifikánsan nagyobb mennyiségben választanak ki IL1 β -t és TNF α -t, tehát a *C. acnes* és az SGR bőr közötti kölcsönhatás minőségét és mértékét a sebum valóban befolyásolhatja.

Feltételezésünk szerint az akne a szervezet és a mikrobiom közötti homeosztatikus párbeszéd természetesen előforduló, átmeneti leállása az SGR bőrben serdülőkorban, amit a bőr immunrendszere a serdülőkor után megpróbál helyreállítani azáltal, hogy ártalmatlannak tekinti (tolerálja) a megújult mikrobiális/faggyúban gazdag miliőt. Számos esemény befolyásolhatja az akne megszűnésének idejét úgy, mint a sebum mennyiségének csökkenése, a *C. acnes* törzsekben bekövetkező összetételbeli változások, a bőr immunrendszer szabályozásának és barrier integritásának javulása. Az egész genomra kiterjedő vizsgálatok, elsősorban serdülők és fiatal felnőttek esetében, akiknek súlyos aknéja van, azt mutatják, hogy a gyulladásos gének (pl. TNF α , IL1 α és IL6), valamint a tolerancia kialakulásában szerepet játszó gének (damage specific DNA binding protein 2 [DBB2], TGF β 2, ovo like transcriptional repressor 1 [OVOL1], selectin L [SELL], tumor protein P63 [TP63] és follistatin [FST]) polimorfizmusai összefüggésbe hozhatók a betegség manifesztációjával. Ezenkívül immunhisztokémiai festéssel megnövekedett számú nem gyulladásos Th17-sejtek, nem aktivált DC-k és T-reg-sejtek, TSLP expresszió és IL17/IL10-pozitív citokin-környezet mutatható ki felnőtt SGR-bőrben, összehasonlítva más bőrterületekkel (pl. SGP bőr). Az SGR-bőrterületek ezen egyedi jellemzői potenciálisan a korábbi gyulladás és az akne maradványainak perzisztálását, valamint a gyulladás későbbi megszűnését jelenthetik.

Összefoglalva tehát azt feltételezzük, hogy az akne kialakulását a serdülőkori SGR bőr és annak mikrobiális/kémiai környezete közötti kölcsönhatások változásai okozzák, mely átmeneti gyulladásos és nem homeosztázishoz vezet. Klinikai szempontból, bár az akne immunmediált gyulladását sokan fiziológiásnak tekintik, nagy a veszélye a maradandó heg- és pigmentképződésnek ezért a betegek speciális kezelést igényelnek. Ezen túlmenően az aknét kiváltó, felerősítő, feloldó vagy állandósító mechanizmusok más szervrendszerekkel is kapcsolatban lehetnek, és az ezen a területen megszerzett szélesebb körű ismeretek segíthetnek az akne kezelés hatékonyságának javításában is.

Fentebb részleteiben bemutatva az akne kialakulását, egyértelműen fő motívumoknak tekinthetők a megnövekedett faggyúzsír termelés, a keratinociták folliculusokat elzáró proliferációja, az ezzel együtt megváltozott lipofil és anaerob mikrobiom, továbbá a gyulladásos sejtek változatos jelenléte. Ennek megfelelően a klinikai gyakorlatban az akne kezelésére alkalmazott szerekek célunk a „keratin-dugók” feloldása (savas jellegű krémek), a faggyúsejtek zsírtermelésének csökkentése (pl. anti-androgén fogamzásgátlók nők esetén), a baktériumok elpusztítása (antibiotikumok) és súlyos esetekben akár a gyulladás szisztémás csökkentése (steroid kezelés). A felsorolásból is kiderül, hogy az akne komplex kezelést igényel, melynek mind a mai napig a legmegfelelőbb módja a szájon át szedett 13*cisz*RA. A 13*cisz*RA-t szedő aknésoknál egyszerre csökken a faggyúsejtek proliferációja és zsírtermelése, helyre áll a keratinociták differenciálódása, melyek együttesen a kedvezőtlen mikrobiom megszűnéséhez vezetnek, továbbá megváltozik az immunrendszer működése is. Ezen hatások hátterében álló sejtszintű mechanizmusok ugyanakkor a mai napig nem ismertek, mint ahogy az sem, hogy valóban a 13*cisz*RA-e a biológiai hatékony szer vagy valamelyik metabolitja. Munkánk során, így célul tűztük ki annak megértését is, hogy a 13*cisz*RA milyen módon szabályozhatja a faggyúsejtek működését.

A sejtkultúrán végzett kísérletek korlátaitól eltekintve, amelyek abból adódnak, hogy adott ideig tartó sejtvonal-kezelésből származó adatokból próbálunk következtetni *in vivo* mechanizmusokra, a 13*cisz*RA hatásainak vizsgálatával kapcsolatban a legnagyobb kihívást jelentő kérdés az, hogy valóban ez a molekula felelős-e az *in vivo* és *in vitro* megfigyelt jelenségekért. Amellett, hogy a 13*cisz*RA a receptoraihoz (RAR-okhoz és az RXR-ekhez) gyenge kötődési affinitással rendelkezik, és gyenge a közvetlen transzkripció aktiválási potenciálja is, gyorsan izomerizálódik all-trans-retinoic aciddá (ATRA-vá) és más retinsav-izomerekké. Általános feltételezés, hogy a 13*cisz*RA biológiai hatását úgy fejt ki, hogy az ATRA és/vagy a 9*cisz*RA izomerjeinek prekursoraként szolgál, amelyek már hatékonyan aktiválhatják a RAR-okat és az RXR-eket, vagy akár mindkettőt együttesen. Ezt támasztja alá az a megállapítás is, hogy a 13*cisz*RA kezelés alacsony intracelluláris 13*cisz*RA és magas intracelluláris ATRA szintet eredményez a faggyúsejtekben.

Annak tisztázása érdekében, hogy a 13*cisz*RA milyen közvetlen változásokat okozhat faggyúsejtekben, SZ95 sejteket kezeltünk 13*cisz*RA-val 6 és 24 órán keresztül, majd mintákat gyűjtöttünk RNS szekvenáláshoz, hogy feltárjuk a génexpresszió szintjén bekövetkező változásokat. A 6 órás tenyésztés után – amikor a 13*cisz*RA átalakulása metabolitjaivá még korlátozott – elvégzett vizsgálat lehetővé tette a közvetlen változások azonosítását, míg a 24 órás tenyésztés utáni vizsgálat, amikor a 13*cisz*RA már átalakult, a génexpresszió szintjén mutatta ki a hosszú távúakat. RNS-seq adataink megerősítették, hogy a 6 órás kezelés után szignifikánsan megváltozott expressziós szintet mutató 361 génből csak 45 gén expressziója maradt szignifikánsan emelkedett 24 óra elteltével a 13*cisz*RA-val kezelt mintákban. Továbbá, e 45 gén többségének expressziója a 6. és 24. óra közötti időtartamban csökkent a 6 órás mintában mért expressziós értékekhez képest. Ezek az eredmények megerősítik, hogy a 13*cisz*RA hatása a faggyúsejtek génexpressziójára inkább átmenetinek, mint tartósnak minősíthető.

Az észlelt génexpressziós változások lehetséges sejtfunkciókhoz való kapcsolása érdekében a 6 órán belül szignifikánsan expresszáldó géneket a PANTHER platform használatával funkcionális klaszterekbe rendeztük. A klaszterezés kimutatta, hogy a génexpressziós változások leginkább egy megváltozott növekedési faktorhoz és más differenciálódási útvonalakhoz, pl. a WNT-hez (a faggyúsejtek differenciálódásának kulcsfontosságú útvonala) kapcsolódtak, míg a lipidanyagcseréhez nem. A 6 órás kezelés után észlelt expressziós változások közül a 24 óra elteltével is szignifikáns eltérést mutató gének csoportosításakor nyert eredmények megerősítették a PIK3 catalytic subunit gamma gén ([PIK3CG], más néven PI3K-gamma) és a hozzá kapcsolódó útvonalak (p53, VEGF, Ras, hypoxia, IGF, EGF, fibroblast growth factor [FGF], platelet-derived growth factor [PDGF], apoptózis és angiogenezis útvonalak) központi szerepét, amelyekről kimutatták, hogy aktivitásuk ATRA-kezelés hatására az U937 mieloid sejtekben is fokozódik. Továbbá, a 13*cisz*RA nemcsak *in vitro* az SZ95 faggyúsejtekben aktiválta a PIK3CG/Akt/FOXO útvonalat, hanem a 13*cisz*RA-val kezelt aknés betegek FM-eiben is. Kiemelendő, hogy amikor összehasonlítottuk a 13*cisz*RA által szabályozott gének listáját az ATRA kezelésre már 3 órán belül reagáló célgének listájával SZ95 faggyúsejtekben, csak korlátozott átfedést találtunk. A 13*cisz*RA által kiváltott génexpressziós profilban és a kapcsolódó funkcionális klaszterekben az ATRA hatásaival való ilyen mérsékelt átfedés arra utal, hogy a 13*cisz*RA-kezelés terápiás hatásainak megértéséhez ismernünk kell az alternatív 13*cisz*RA-metabolitokat érintő mechanizmusokat is.

Összefoglalva, az RNS-seq adataink alátámasztják azt a hipotézist, hogy a 13*cisz*RA nem közvetlenül ható ágens, sokkal inkább az alternatív bioaktív retinoidok prekursora. A jobb hatékonyságú és kevesebb mellékhatással rendelkező új retinoidok kifejlesztéséhez elengedhetetlen a retinsav metabolizmusának, pl. a dehidrogenizációnak és az izomerizációnak, valamint a metabolikus folyamatok funkcionális következményeinek részletesebb megértése, amelyek eltérnek a 13*cisz*RA ATRA-vá történő átalakulása során lezajló változásoktól.

AZ ÉRTEKEZÉSBEN ISMERTETETT ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A faggyúsejtek fiziológiás szerepére vonatkozóan:

Igazoltuk, hogy a zsírs sejtekhez hasonlóan a faggyúsejtek is – bár eltérő módon, de – expresszálják és szekretálják az adipokineket; ezáltal befolyásolhatják a dermisz homeosztázisát és hozzájárulhatnak akár a bőr gyulladásos folyamataihoz is.

Kimutattuk, hogy az SZ95 faggyúsejtek képesek reagálni a leptin jelenlétére. Hatására megváltoztatják lipid profiljukat – előtérbe helyezve olyan zsírok termelését, melyek az aknés betegek sebumának is jellegzetes alkotói -, és számos gyulladásos molekulát is expresszálnak. Ezen eredmények nem csak a leptin potenciális szerepét igazolják a faggyúsejtek működésének szabályozásában, de a táplálkozás és a FM közötti lehetséges kapcsolatra is rámutatnak.

Bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy a faggyúsejtek adott zsírra – pl. LA, AA vagy PA – specifikusan képesek módosítani génexpressziójukat és ezzel együtt lipid profiljukat és/vagy gyulladásos fehérje termelésüket.

Bemutattuk, hogy a környezetben megjelenő különböző faktorok, mint pl. az EGF, jelentősen befolyásolhatják a különböző zsírok hatását a faggyúsejtekre mind fiziológiás, mind pedig patológias körülmények között.

Középpontba állítva az isotretinoin - mint a legismertebb faggyúsejt differenciációt és zsírtermelést befolyásoló ágens - terápiás hatásának megértését a faggyúsejtek szintjén, valószínűsítettük, hogy az isotretinoin nem közvetlenül fejt ki terápiás hatását, hanem mint az alternatív bioaktív retinoidok, melyek azonosítása komoly terápiás potenciállal bírhat, prekursora.

A faggyúsejtek gyulladásos folyamatokban játszott szerepére vonatkozóan:

Újabb adatokat szolgáltatunk arra vonatkozóan, hogy az immunkompetens tulajdonságokkal bíró faggyúsejtek eloszlása valószínűleg strukturálisan meghatározott a FM-eken belül.

Megerősítettük azt a feltételezést, hogy az elsődlegesen a lipidek metabolizálásában szerepet játszó humán faggyúsejtek veszélyjelzések, melyek a TLR2 és/vagy TLR4 útvonal aktiválódását váltják ki, hatására gyorsan immun-kompetens státuszba kerülnek a génexpresszió szintjén; így a faggyúsejtek nem csupán a gyulladás végpontjai lehetnek, de hozzájárulhatnak annak kialakulásához is.

Érdekes megfigyelésünk volt, hogy az SZ95 faggyúsejtek nem voltak képesek érdemben különbséget tenni a TLR2 és TLR4 aktivátorok között a génexpresszió szintjén, mely felveti, hogy a TLR2 útvonal korábban feltételezett központi szerepe az akne kialakulásában túlságosan leegyszerűsített koncepcionális megközelítés az *in vivo* folyamatok megértéséhez.

A faggyúsejtek által termelt zsírok hatására vonatkozóan:

Megerősítettük, hogy a FM termelt zsírai által sokkal komplexebb folyamatokban vehet aktívan részt, mint pusztán a bőr zsírosítása. Bejutva az epidermiszbe és átjutva azon, a sebumot alkotó zsírok hatással lehetnek a dermis homeosztázisára is.

Bemutattuk, hogy a keratinociták is lehetnek célpontjai a faggyúban lévő zsíroknak, s szelektíven szabályozhatják a barrierfunkcióval kapcsolatos gének és immunológiai aktív mediátorok expresszióját a keratinocitákban.

Megállapítottuk, hogy a faggyút alkotó zsírok képesek fokozni a makrofágok alternatív aktivációját, mellyel hozzájárulhatnak a bőr fiziológiás immun-környezetéhez. Ugyanakkor számos zsír esetében az azonosított makrofág aktivációt kiváltó hatás alapján felvethető, hogy a sebumnak nem csak a mennyiségi, de minőségi változása (akár önmagában) is lehet gyulladást kiváltó hatású, akár kórokozók jelenlététől függetlenül is.

A faggyúmirigyek szövetszintű szerepére vonatkozóan:

Eredményeink alapján valószínűsítjük, hogy a FM-ek jelenlétével vagy hiányával kapcsolatosan különbségek vannak az emberi bőr immun-sajátosságaiban is, ami a TSLP, a DC-k és a T-sejtek eloszlásában és funkciójában egyaránt kifejeződhet. Eredményeink alapul szolgálhatnak annak értelmezéséhez, hogy bizonyos immunmediált bőrbetegségek miért egy-egy adott testrészen jelennek meg típusosan. Ezen túlmenően adataink rávilágítanak a topográfiai azonos területről származó kontroll bőrminták használatának fontosságára a bőr patológiás elváltozásainak elemzését célzó tudományos vizsgálatokban.

Felvetettük, hogy az SGR bőrre egy nem gyulladásos, Th17/IL17 által vezérelt immun- és barrier-milió a jellemző, mely az egyensúlyi állapot felborulása esetén a SGR területeken gyulladásos Th17 típusú immunmediált bőrbetegségek kialakulásának kedvezhet.

Eredményeink arra utalnak, hogy a SGR bőrben jelenlevő Th17-domináns immunválasz mögött a faggyúsejtek és a T-sejtek közötti aktív kommunikáció állhat, s a *C. acnes* a faggyúsejteken és a DC-ken keresztül közvetett módon (is) hozzájárulhat az aknéval összefüggő gyulladásához.

A faggyúmirigyek betegségben betöltött lehetséges szerepére vonatkozóan:

Azonosítottuk a SAA1/2-t, mint az aktivált faggyúsejtek biomarkerét. A FM-ek SAA1/2-re nem csak az aknés mintákban, de rosaceában is erősen pozitívak voltak, ami alátámasztja, hogy a FM-ek az aknén kívül más gyulladásos bőrbetegségekben is aktiválódhatnak.

Újabb adatokat szolgáltatunk arra vonatkozóan, hogy megalapozott az aknéban megfigyelhető morfológiai és funkcionális változások, valamint a faggyútermelés jellegzetességei alapján az a feltételezés, hogy a faggyúsejtek proliferációja és lipidtermelése egyaránt serkentődik. Eredményeink rámutatnak arra a terápiás potenciálra is, amelyet a miR-146a és ezzel együtt a GNG7 szintjének modulációja biztosíthat az akne terápiájában, egyszerre célozva a faggyúsejtek hiperproliferációját és a faggyúszekréciót.

Felvetettük annak lehetőségét, hogy az akne kialakulásának hátterében a serdülőkori SGR bőr és annak mikrobiális/kémiai környezete közötti kölcsönhatások korfüggő változásai állnak, melyek a homeosztázis felborulásával átmeneti gyulladásához vezetnek.

A PhD fokozat megszerzése óta megjelent közlemények (a közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 236,71):

a) értekezést megalapozó eredeti közlemények:

1. **Törőcsik, D.**; Kovács, D.; Camera, E.; Lovászi, M.; Cseri, K.; Nagy, G. G.; Molinaro, R.; Rühl, R.; Tax, G.; Szabó, K.; Picardo, M.; Kemény, L.; Zouboulis, C. C.; Remenyik, É., Leptin promotes a proinflammatory lipid profile and induces inflammatory pathways in human SZ95 sebocytes. *Br J Dermatol* 2014, 171, 1326-35. doi: 10.1111/bjd.13229
2. Kovács, D.; Lovászi, M.; Póliska, S.; Oláh, A.; Biró, T.; Veres, I.; Zouboulis, C. C.; Stähle, M.; Rühl, R.; Remenyik, E.; **Törőcsik, D.**, Sebocytes differentially express and secrete adipokines. *Exp Dermatol* 2016, 25, 194-9. doi: 10.1111/exd.12879
3. Lovászi, M.; Mattii, M.; Eyerich, K.; Gácsi, A.; Csányi, E.; Kovács, D.; Rühl, R.; Szegedi, A.; Kemény, L.; Stähle, M.; Zouboulis, C. C.; Eyerich, S.; **Törőcsik, D.**, Sebum lipids influence macrophage polarization and activation. *Br J Dermatol* 2017, 177, 1671-1682. doi: 10.1111/bjd.15754
4. Dajnoki, Z.; Beke, G.; Kapitány, A.; Mocsai, G.; Gáspár, K.; Rühl, R.; Hendrik, Z.; Juhász, I.; Zouboulis, C. C.; Bácsi, A.; Biró, T.; **Törőcsik, D.**; Szegedi, A., Sebaceous Gland-Rich Skin Is Characterized by TSLP Expression and Distinct Immune Surveillance Which Is Disturbed in Rosacea. *J Invest Dermatol* 2017, 137, 1114-1125. doi: 10.1016/j.jid.2016.12.025
5. **Törőcsik, D.**; Kovács, D.; Póliska, S.; Szentkereszty-Kovács, Z.; Lovászi, M.; Hegyi, K.; Szegedi, A.; Zouboulis, C. C.; Stähle, M., Genome wide analysis of TLR1/2- and TLR4-activated SZ95 sebocytes reveals a complex immune-competence and identifies serum amyloid A as a marker for activated sebaceous glands. *PLoS One* 2018, 13, e0198323. doi: 10.1371/journal.pone.0198323
6. Mattii, M.; Lovászi, M.; Garzorz, N.; Atenhan, A.; Quaranta, M.; Lauffer, F.; Konstantinow, A.; Küpper, M.; Zouboulis, C. C.; Kemény, L.; Eyerich, K.; Schmidt-Weber, C. B.; **Törőcsik, D.**; Eyerich, S., Sebocytes contribute to skin inflammation by promoting the differentiation of T helper 17 cells. *Br J Dermatol* 2018, 178, 722-730. doi: 10.1111/bjd.15879
megosztott utolsó szerző
7. Beke, G.; Dajnoki, Z.; Kapitány, A.; Gáspár, K.; Medgyesi, B.; Póliska, S.; Hendrik, Z.; Péter, Z.; **Törőcsik, D.**; Biró, T.; Szegedi, A., Immunotopographical Differences of Human Skin. *Front Immunol* 2018, 9, 424. doi: 10.3389/fimmu.2018.00424
8. Kovács, D.; Hegyi, K.; Szegedi, A.; Deák, D.; Póliska, S.; Rühl, R.; Zouboulis, C. C.; **Törőcsik, D.**, Isotretinoin is indirectly effective in sebocytes. *Br J Dermatol* 2020, 182, 1052-1054. doi: 10.1111/bjd.18562
9. Medgyesi, B.; Dajnoki, Z.; Béke, G.; Gáspár, K.; Szabó, I. L.; Janka, E. A.; Póliska, S.; Hendrik, Z.; Méhes, G.; **Törőcsik, D.**; Biró, T.; Kapitány, A.; Szegedi, A., Rosacea Is Characterized by a Profoundly Diminished Skin Barrier. *J Invest Dermatol* 2020, 140, 1938-1950.e5. doi: 10.1016/j.jid.2020.02.025

10. **Törőcsik, D.**; Fazekas, F.; Póliska, S.; Gregus, A.; Janka, E. A.; Dull, K.; Szegedi, A.; Zouboulis, C. C.; Kovács, D., Epidermal Growth Factor Modulates Palmitic Acid-Induced Inflammatory and Lipid Signaling Pathways in SZ95 Sebocytes. *Front Immunol* 2021, 12, 600017. doi: 10.3389/fimmu.2021.600017
11. Dull, K.; Fazekas, F.; Deák, D.; Kovács, D.; Póliska, S.; Szegedi, A.; Zouboulis, C. C.; **Törőcsik, D.**, miR-146a modulates TLR1/2 and 4 induced inflammation and links it with proliferation and lipid production via the indirect regulation of GNG7 in human SZ95 sebocytes. *Sci Rep* 2021, 11, 21510. doi: 10.1038/s41598-021-00907-1
12. Dull, K.; Lénárt, K.; Dajnoki, Z.; Póliska, S.; Uchiyama, E.; Hendrik, Z.; Szegedi, A.; **Törőcsik, D.**, Barrier function-related genes and proteins have an altered expression in acne-involved skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2023, 37, 1415-1425. doi: 10.1111/jdv.19062
13. Kovács, D.; Camera, E.; Póliska, Sz.; Cavallo, A.; Maiellaro, M.; Dull, K.; Gruber, F.; Zouboulis, C.C.; Szegedi, A.; **Törőcsik, D.**, Linoleic Acid Induced Changes in SZ95 Sebocytes-Comparison with Palmitic Acid and Arachidonic Acid. *Nutrients* 2023, 15. doi: 10.3390/nu15153315

b) az értekezéshez kapcsolódó összefoglaló közlemények:

1. Zouboulis, C. C.; Picardo, M.; Ju, Q.; Kurokawa, I.; **Törőcsik, D.**; Biró, T.; Schneider, M. R., Beyond acne: Current aspects of sebaceous gland biology and function. *Rev Endocr Metab Disord* 2016, 17, 319-334. doi: 10.1007/s11154-016-9389-5
2. Lovászi, M.; Szegedi, A.; Zouboulis, C. C.; **Törőcsik, D.**, Sebaceous-immunobiology is orchestrated by sebum lipids. *Dermatoendocrinol* 2017, 9, e1375636. doi: 10.1080/19381980.2017.1375636
3. Szegedi, A.; Dajnoki, Z.; Biró, T.; Kemény, L.; **Törőcsik, D.**, Acne: Transient Arrest in the Homeostatic Host-Microbiota Dialog? *Trends Immunol* 2019, 40, 873-876. doi: 10.1016/j.it.2019.08.006
4. Kovács, D.; Fazekas, F.; Oláh, A.; **Törőcsik, D.**, Adipokines in the Skin and in Dermatological Diseases. *Int J Mol Sci* 2020, 23, 1-29. doi: 10.3390/ijms21239048
5. Zouboulis, C. C.; Coenye, T.; He, L.; Kabashima, K.; Kobayashi, T.; Niemann, C.; Nomura, T.; Oláh, A.; Picardo, M.; Quist, S. R.; Sasano, H.; Schneider, M. R.; **Törőcsik, D.**; Wong, S. Y., Sebaceous immunobiology - skin homeostasis, pathophysiology, coordination of innate immunity and inflammatory response and disease associations. *Front Immunol* 2022, 13, 1029818. doi: 10.3389/fimmu.2022.1029818

c) az értekezésben nem tárgyalt közlemények

1. **Törőcsik, D.**; Széles, L.; Paragh, G., Jr.; Rákossy, Z.; Bárdos, H.; Nagy, L.; Balázs, M.; Inbal, A.; Ádány, R., Factor XIII-A is involved in the regulation of gene expression in alternatively activated human macrophages. *Thromb Haemost* 2010, 104, 709-17. doi: 10.1160/th09-11-0805

2. Kitoh, Y.; Saio, M.; Gotoh, N.; Umemura, N.; Nonaka, K.; Bai, J.; Vizkeleti, L.; **Törőcsik, D.**; Balázs, M.; Ádány, R.; Takami, T., Combined GM-CSF treatment and M-CSF inhibition of tumor-associated macrophages induces dendritic cell-like signaling in vitro. *Int J Oncol* 2011, 38, 1409-19. doi: 10.3892/ijo.2011.960
3. 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* 2012, 92, 345-61. doi: 10.1038/labinvest.2011.168
4. **Törőcsik, D.**; Gergely, L.; Veres, I.; Remenyik, E.; Bégány, A., Cutaneous cryptococcosis mimicking basal cell carcinoma in a patient with Sézary syndrome. *Acta Derm Venereol* 2012, 92, 286-7. doi: 10.2340/00015555-1326
5. Mihály, J.; Gericke, J.; **Törőcsik, D.**; Gáspár, K.; Szegedi, A.; Rühl, R., Reduced lipoxygenase and cyclooxygenase mediated signaling in PBMC of atopic dermatitis patients. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2013, 107, 35-42. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2013.03.003
6. Gericke, J.; Ittensohn, J.; Mihály, J.; Alvarez, S.; Alvarez, R.; **Törőcsik, D.**; de Lera, A. R.; Rühl, R., Regulation of retinoid-mediated signaling involved in skin homeostasis by RAR and RXR agonists/antagonists in mouse skin. *PLoS One* 2013, 8, e62643. doi: 10.1371/journal.pone.0062643
7. Herédi, E.; Csordás, A.; Clemens, M.; Ádám, B.; Gáspár, K.; **Törőcsik, D.**; Nagy, G.; Ádány, R.; Gaál, J.; Remenyik, E.; Szegedi, A., The prevalence of obesity is increased in patients with late compared with early onset psoriasis. *Ann Epidemiol* 2013, 23, 688-92. doi: 10.1016/j.annepidem.2013.08.006
8. **Törőcsik, D.**; Bárdos, H.; Hatalyák, Z.; Dezső, B.; Losonczy, G.; Paragh, L.; Péter, Z.; Balázs, M.; Remenyik, E.; Ádány, R., Detection of factor XIII-A is a valuable tool for distinguishing dendritic cells and tissue macrophages in granuloma annulare and necrobiosis lipoidica. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014, 28, 1087-96. doi: 10.1111/jdv.12290
9. Nagy, G.; Doan-Xuan, Q. M.; Gáspár, K.; Mócsai, G.; Kapitány, A.; **Törőcsik, D.**; Bacsó, Z.; Gyimesi, E.; Remenyik, E.; Bíró, T.; Szegedi, A., The atopic skin-like microenvironment modulates the T-cell-polarising cytokine production of myeloid dendritic cells, as determined by laser scanning cytometry. *Exp Dermatol* 2014, 23, 276-8. doi: 10.1111/exd.12342
10. Mihály, J.; Marosvölgyi, T.; Szegedi, A.; Köröskényi, K.; Lucas, R.; **Törőcsik, D.**; Garcia, A. L.; Decsi, T.; Rühl, R., Increased FADS2-derived n-6 PUFAs and reduced n-3 PUFAs in plasma of atopic dermatitis patients. *Skin Pharmacol Physiol* 2014, 27, 242-8. doi: 10.1159/000358290
11. Mihály, J.; Sonntag, D.; Krebichl, G.; Szegedi, A.; **Törőcsik, D.**; Rühl, R., Steroid concentrations in patients with atopic dermatitis: reduced plasma dehydroepiandrosterone sulfate and increased cortisone levels. *Br J Dermatol* 2015, 172, 285-8. doi: 10.1111/bjd.13219

12. Mihály, J.; Gericke, J.; Lucas, R.; de Lera, A. R.; Alvarez, S.; **Törőcsik, D.**; Rühl, R., TSLP expression in the skin is mediated via RAR γ -RXR pathways. *Immunobiology* 2016, 221, 161-5. doi: 10.1016/j.imbio.2015.09.013
13. Paragh, L.; **Törőcsik, D.**, Factor XIII Subunit A in the Skin: Applications in Diagnosis and Treatment. *Biomed Res Int* 2017, 2017, 3571861. doi: 10.1155/2017/3571861
14. Lucas, R.; Mihály, J.; Lowe, G. M.; Graham, D. L.; Szklenar, M.; Szegedi, A.; **Törőcsik, D.**; Rühl, R., Reduced Carotenoid and Retinoid Concentrations and Altered Lycopene Isomer Ratio in Plasma of Atopic Dermatitis Patients. *Nutrients* 2018, 10. doi: 10.3390/nu10101390
15. Jenei, A.; Dajnoki, Z.; Medgyesi, B.; Gáspár, K.; Béke, G.; Kinyó, Á.; Méhes, G.; Hendrik, Z.; Dinya, T.; **Törőcsik, D.**; Zouboulis, C. C.; Prens, E. P.; Bíró, T.; Szegedi, A.; Kapitány, A., 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, 964-968. doi: 10.1016/j.jid.2018.10.020
16. **Törőcsik, D.**; Weise, C.; Gericke, J.; Szegedi, A.; Lucas, R.; Mihály, J.; Worm, M.; Rühl, R., Transcriptomic and lipidomic profiling of eicosanoid/docosanoid signalling in affected and non-affected skin of human atopic dermatitis patients. *Exp Dermatol* 2019, 28, 177-189. doi: 10.1111/exd.13867
17. Szentkereszty-Kovács, Z.; Fialat, S.; Szegedi, A.; Kovács, D.; Janka, E.; Herszényi, K.; Holló, P.; Nikamo, P.; Stähle, M.; Remenyik, É.; **Törőcsik, D.**, The prevalence of ADH1B and OPRM1 alleles predisposing for alcohol consumption are increased in the Hungarian psoriasis population. *Arch Dermatol Res.* 2019, 311, 435-442. doi: 10.1007/s00403-019-01915-y
18. Aydemir, G.; Domínguez, M.; de Lera, A. R.; Mihály, J.; **Törőcsik, D.**; Rühl, R., Apo-14'-Carotenoic Acid Is a Novel Endogenous and Bioactive Apo-Carotenoid. *Nutrients* 2019, 11. doi: 10.3390/nu11092084
19. Lucas, R.; Mihály, J.; Gericke, J.; **Törőcsik, D.**; Rühl, R., Vitamin D signaling in a mouse allergic sensitization model. *Int J Vitam Nutr Res* 2020, 90, 385-388. doi: 10.1024/0300-9831/a000633
20. Markovics, A.; Angyal, A.; Tóth, K. F.; Ádám, D.; Péntes, Z.; Magi, J.; Pór, A.; Kovács, I.; **Törőcsik, D.**; Zouboulis, C. C.; Bíró, T.; Oláh, A., GPR119 Is a Potent Regulator of Human Sebocyte Biology. *J Invest Dermatol* 2020, 140, 1909-1918.e8. doi: 10.1016/j.jid.2020.02.011
21. Lucas, R.; Mihály, J.; Gericke, J.; de Lera, A. R.; Alvarez, S.; Veleczki, Z.; **Törőcsik, D.**; Rühl, R., Topical Vitamin D Receptor Antagonist/Partial-Agonist Treatment Induces Epidermal Hyperproliferation via RAR γ Signaling Pathways. *Dermatology* 2021, 237, 197-203. doi: 10.1159/000508334
22. Dull, K.; Fazekas, F.; **Törőcsik, D.**, Factor XIII-A in Diseases: Role Beyond Blood Coagulation. *Int J Mol Sci* 2021, 22. doi: 10.3390/ijms22031459
23. Szentkereszty-Kovács, Z.; Gáspár, K.; Szegedi, A.; Kemény, L.; Kovács, D.; **Törőcsik, D.**, Alcohol in Psoriasis-From Bench to Bedside. *Int J Mol Sci.* 2021, 22, 4987. doi: 10.3390/ijms22094987

24. Szentkereszty-Kovács, Z.; Fiatal, S.; Janka, E. A.; Kovács, D.; Szegedi, A.; Remenyik, É.; **Törőcsik, D.**, Leptin Receptor (rs1137101) and Brain-Derived Neurotrophic Factor (rs925946) Gene Variants Are Associated with Obesity in the Early- but Not in the Late-Onset Population of Hungarian Psoriatic Patients. *Life (Basel)* 2021, 11. doi: 10.3390/life11101086
25. Dajnoki, Z.; Somogyi, O.; Medgyesi, B.; Jenei, A.; Szabó, L.; Gáspár, K.; Hendrik, Z.; Gergely, P.; Imre, D.; Póliska, S.; **Törőcsik, D.**; Zouboulis, C. C., Primary alterations during the development of hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2022, 36, 462-471. doi: 10.1111/jdv.17779
26. Sochorová, M.; Vávrová, K.; Fedorova, M.; Ni, Z.; Slenter, D.; Kutmon, M.; Willighagen, E. L.; Letsiou, S.; **Törőcsik, D.**; Marchetti-Deschmann, M.; Zoratto, S.; Kreamslehner, C.; Gruber, F., Research Techniques Made Simple: Lipidomic Analysis in Skin Research. *J Invest Dermatol* 2022, 142, 4-11.e1. doi: 10.1016/j.jid.2021.09.017
27. van Huizen, A. M.; Menting, S. P.; Gyulai, R.; Iversen, L.; van der Kraaij, G. E.; Middelkamp-Hup, M. A.; Warren, R. B.; Spuls, P. I.; Schejtman, A. A.; Egeberg, A.; Firooz, A.; Kumar, A. S.; Oakley, A.; Foulkes, A.; Ramos, A. M. C.; Fougerousse, A. C.; Carija, A.; Akman-Karakas, A.; Horváth, B.; Fábos, B.; Matlock, B. H.; Claréus, B. W.; Castro, C.; Ferrándiz, C.; Correa, C. C.; Marchesi, C.; Goujon, C.; Gonzalez, C.; Maldonado-García, C.; Hong, C. H.; Griffiths, C. E. M.; Vestergaard, C.; Echeverría, C. M.; de la Cruz, C.; Conrad, C.; **Törőcsik, D.**; Drvar, D. L.; Balak, D.; Jullien, D.; Appelen, D.; Kim, D. H.; de Jong, E.; El Gamal, E.; Laffitte, E.; Mahé, E.; Sonkoly, E.; Colombo, E. P.; Vilarrasa, E.; Willaert, F.; Novoa, F. D.; Handjani, F.; Valenzuela, F.; Vilchez-Márquez, F.; Gonzalez, G. O.; Krisztián, G.; Damiani, G.; Krnjevic-Pezic, G.; Pellerano, G.; Carretero, G.; Hunter, H. J. A.; Riad, H.; Oon, H. H.; Boonen, H. P. J.; Moussa, I. O.; García-Doval, I.; Csányi, I.; Brajac, I.; Turchin, I.; Grozdev, I.; Weinberg, J. M.; Nicolopoulos, J.; Wells, J.; Lambert, J. L. W.; Ingram, J. R.; Prinz, J. C.; de Souza Sittart, J. A.; Sanchez, J. L.; Hsiao, J. P.; Castro-Ayarza, J. R.; Maul, J. T.; van den Reek, J.; Trcko, K.; Barber, K.; Reich, K.; Gebauer, K. A.; Khobzei, K.; Maul, L. V.; Massari, L. P.; Fardet, L.; le Cleach, L.; Misery, L.; Chandrashekar, L.; Muresanu, L. I.; Lecluse, L.; Skov, L.; Frez, M. L.; Babic, L. T.; Puig, L.; Gomez, L. C.; Ramam, M.; Dutil, M.; El-Sayed, M. H.; Olszewska, M.; Schram, M. E.; Franco, M. D.; Llamas-Velasco, M.; Gonçalves, M.; Velásquez-Lopera, M. M.; Abad, M. E.; de Oliveira, M.; Seyger, M. M. B.; Kaštelan, M.; Rademaker, M.; Sikora, M.; Lebwohl, M.; Wiseman, M. C.; Ferran, M.; van Doorn, M.; Danespazhoo, M.; Bylaite-Bucinskiene, M.; Gooderham, M. J.; Polic, M. V.; de Rie, M. A.; Zheng, M.; Gómez-Flores, M.; Salleras, I. R. M.; Silverberg, N. B.; Doss, N.; Yawalkar, N.; Chosidow, O.; Zargari, O.; de la Cueva, P.; Fernandez-Peñas, P.; Cárdenas Rojas, P. J.; Gisondi, P.; Grewal, P.; Sator, P.; Luna, P. C.; Félix, P. A. O.; Varela, P.; Holló, P.; Cetkovska, P.; Calzavara-Pinton, P.; Ghislain, P. D.; Araujo, R. R.; Romiti, R.; Kui, R.; Ceovic, R.; Vender, R.; Lafuente-Urrez, R. F.; Del-Río, R.; Gulin, S. J.; Handa, S.; Mahil, S. K.; Kolalapudi, S. A.; Marrón, S. E.; Azimi, S. Z.; Janmohamed, S. R.; da Cruz Costa, S. A.; Choon, S. E.; Urbancek, S.; Ayanlowo, O.; Margasin, S. M.; Wong, T. W.; Mäлкönen, T.; Hurtová, T.; Reciné, T. R.; Huldt-Nyström, T.; Torres, T.; Liu, T. Y.; Leonidze, T.; Sharma, V. K.; Weightman, W.; Gulliver, W.; Veldkamp, W., International eDelphi Study to Reach Consensus on the Methotrexate Dosing Regimen in Patients With Psoriasis. *JAMA Dermatol* 2022, 158, 561-572. doi: 10.1001/jamadermatol.2022.0434

28. Lucas, R.; Szklenar, M.; Mihály, J.; Szegedi, A.; **Törőcsik, D.**; Rühl, R., Plasma Levels of Bioactive Vitamin D and A5 Ligands Positively Correlate with Clinical Atopic Dermatitis Markers. *Dermatology* 2022, 238, 1076-1083. doi: 10.1159/000524343
29. Halasi, A.; Szegedi, A.; **Törőcsik, D.**; Varga, J.; Farmasi, N.; Szűcs, G.; Tarr, T.; Gaál, J., Psoriatic arthritis and its special features predispose not only for osteoporosis but also for fractures and falls. *J Dermatol* 2023, 50, 608-614. doi: 10.1111/1346-8138.16710
30. Somogyi, O.; Dajnoki, Z.; Szabó, L.; Gáspár, K.; Hendrik, Z.; Zouboulis C, C.; Dócs, K.; Szűcs, P.; Dull, K.; **Törőcsik, D.**; Kapitány, A.; Szegedi, A., New Data on the Features of Skin Barrier in Hidradenitis Suppurativa. *Biomedicines* 2023, 11. doi: 10.3390/biomedicines11010127
31. Szabó, L.; Dajnoki, Z.; Somogyi, O.; Gáspár, K.; Hendrik, Z.; Szabó, I. L.; Szöllősi, A. G.; Dinya, T.; **Törőcsik, D.**; Kapitány, A.; Szegedi, A., Cytokine profile of the epidermis is region specific and may determine the characteristics of inflammation. *Exp Dermatol* 2023, 32, 1120-1131. doi: 10.1111/exd.14820
32. Szabó, L.; Kapitány, A.; Somogyi, O.; Alhafez, I.; Gáspár, K.; Palatka, R.; Soltész, L.; **Törőcsik, D.**; Hendrik, Z.; Dajnoki, Z.; Szegedi, A., Antimicrobial Peptide Loss, Except for LL-37, is not Characteristic of Atopic Dermatitis. *Acta Derm Venereol* 2023, 103, adv9413. doi: 10.2340/actadv.v103.9413

Törőcsik Dániel tudományos és oktatói munkásságának összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztálya (2024.01.17)

Tudományos közlemények	Szám		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Tudományos folyóiratcikk²	69			
szakcikk nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű		44	1114	1388
szakcikk hazai idegen nyelvű		0	0	0
szakcikk magyar nyelvű		13	0	0
szakcikk sokszerzős, érdemi szerzőként ³		0	0	0
összefoglaló közlemény		9	326	362
rövid közlemény		3	42	69
II. Könyvek	0			
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	0			
idegen nyelvű		0	0	0
magyar nyelvű		0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv		0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	0			
idegen nyelvű		0		
magyar nyelvű		0		
bb) Felsőoktatási tankönyv		0		
III. Könyvrészlet	0			
idegen nyelvű		0	0	0
magyar nyelvű		0	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet		0	0	0
IV. Konferenciaközlemény⁴	0		0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)		0	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV)		69	1482	1819
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	69		1482	1819
V. További tudományos művek	5			
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is		2	1	2
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok		3	9	19
Oltalmak (szabadalmak)		0	0	0
VI. Hivatkozott absztraktok⁵	0		0	0
Összes hivatkozás¹			1492	1840
Hirsch index⁶	25			
g index⁶	42			

Speciális tudánymetriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	15	394
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	17	313
A tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2010) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	54	886
Az utolsó 10 év (2014-) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	47	774
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	187	10,16%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben		64
Jelentés, guideline	0	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	0	0

TÁMOGATÓ PÁLYÁZATOK ÉS ÖSZTÖNDÍJAK

Pályázatok:

- Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal – Alkalmazott faggyú-immunbiológia, új szemlélet a gyulladásos bőrbetegségek hátterének tisztázásához és eredményes kezeléséhez (FK132296)
- Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal – A faggyúmirigy szerkezeti egységének vizsgálata az egészséges és kóros bőrben (ANN139589)
- Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok – A faggyúmirigy génexpressziójának szabályozása gyulladásos bőrbetegségekben (NN117020)
- Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok – A lipid környezet hatása a dermális makrofágok aktivációjára különböző bőrbetegségekben (PD101557)
- Marie Skłodowska-Curie Actions of the European Commission – Regulation of gene expression in sebaceous glands (627547 RNAseb gland FP7-PEOPLE-2013-IEF Research Fellowship Programme of the EU with the Department of Dermatology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden)
- IGEN Hungarian – Identification of Disease Related Genes in the Hungarian Population – (TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0031 – IGEN6 alprogram)
- A magyar gazdaság versenyképességének növelése a lakosság egészségi állapotát javító népegészségügyi intervenciók célcsoportjainak és tartalmának azonosítása révén – GINOP-2.3.2.-15-2016-00005 – WP3 alprogram)
- Mecenatura Pályázat (Debreceni Egyetem)

Ösztöndíjak:

- Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (Magyar Tudományos Akadémia)
- Marie Curie Kutatói Ösztöndíj (Európai Unió/Európai Bizottság)
- Magyary Zoltán Posztdoktori Ösztöndíj (Nemzeti Kiválóság Program)
- Új Nemzeti Kiválóság Program Ösztöndíj (Emberi Erőforrások Minisztériuma)
- Szodoray Lajos ösztöndíj (Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar)
- BMC ösztöndíj (Debreceni Egyetem)

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Munkámhoz kiemelkedő támogatást kaptam Dr. Szegedi Andrea professzor asszonytól, aki megmutatta, hogy kell egyszerre kiváló kutatónak és klinikusnak lenni, és megtanított arra, hogy lehet a két területet összekapcsolni. Köszönöm továbbá Dr. Nagy László professzor úrnak, hogy a PhD-n túl egy olyan kutatói szemléletet is szerezhettem mellette, mely minden nap itt van velem és jelenik meg a gondolataimban és a cikkeinkben.

A Munkacsoport tagjainak is szeretném megköszönni a közös munkát és sikereket. Dr. Kovács Dórának, hogy valamennyi kihívásban mellettem állt, Dr. Dull Katának a bizalmat és lankadatlan lelkesedést, Dr. Fedor-Lénárt Kingának, hogy minél nagyobb volt a feladat, ahhoz annál nagyobb mosollyal állt. Korábbi PhD hallgatóimnak, Dr. Szentkereszty-Kovács Zitának a példaértékű kitartást és precizitást, valamint Dr. Lovászi Mariannának, akitől mi is sokat tanultunk. Köszönöm továbbá Fazekas Fruzsínának, Lucas Renátának és Dr. Paragh Lillának, valamint a TDK hallgatóknak és diplomadolgozóknak, hogy a Munkacsoportot választották a kutatás megismeréséhez.

Szeretném köszönetemet kifejezni a Debreceni Egyetem Bőrklínikája valamennyi munkatársának, elsősorban Dr. Remenyik Éva professzor asszonynak, aki mellett elindulhatott a Munkacsoport tevékenysége, Dr. Kapitány Anikónak, Dr. Dajnoki Zsoltnak, Dr. Veres Imrének és Dr. Janka Eszternek, valamint Dr. Póliska Szilárdnak és Ralph Rühlnek, akikkel számos feladat megoldásában tudtunk együtt dolgozni.

Köszönöm a hazai bőrgyógyász közösség támogatását, külön kiemelve Dr. Kemény Lajos professzor úr kitüntető figyelmét és segítségét.

Szeretném megköszönni Dr. Mona Ståhle professzor asszonynak, hogy Stockholmban a Karolinska Intézetben dolgozhattam, továbbá a külföldi partnereim munkáját és barátságát, elsősorban Dr. Kilian Eyerich és Dr. Stefanie Eyerich professzorokét, valamint Dr. Florian Grübernek a közös pályázatot és Dr. Christos Zouboulis professzornak, hogy a faggyúmirigy kutatásban otthonosan tudtam mozogni.

Köszönöm a hazai és nemzetközi pályázati lehetőségeket (OTKA, TÁMOP, GINOP, ÚNKP, Bolyai ösztöndíj, Debreceni Egyetem tudományfinanszírozás, Marie Skłodowska-Curie Actions, COST Actions), melyek lehetővé tették a Munkacsoport működését.

A legnagyobb támogatásért pedig hálával tartozom Feleségemnek Klárinak, aki szintén megtanult „együtt élni a faggyúmiriggyel”, Gyermekeimnek Lénának és Benedeknek, akik szemében a csillogás minden nap motivációval tölt fel és Édesanyámnak, aki nem csak szeretetével vett mindig körbe, de példát mutatott a munkával szembeni alázatban és kitartásban.