

**A gyulladásos bőrbetegségek dinamikájának
feltárása: a TRPA1 szerepének vizsgálata allergiás
kontakt dermatitiszben és pszoriázisban**

Dr. Areej Jaber, M.D.

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécsi Tudományegyetem

Témavezető: Dr. Kemény Ágnes, PhD, egyetemi docens

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécsi Tudományegyetem



Pécsi Tudományegyetem
1367

Pécs, 2026

1. BEVEZETÉS

A bőr aktív, multifunkcionális immunszerv, amely a gazdaszervezet és a külső környezet közötti elsődleges határfelületet képezi. Fizikai barrier funkcióján túl integrált strukturális és immunológiai védekező mechanizmusai révén aktívan érzékeli a kémiai, mikrobiális és mechanikai ingereket, és válaszol azokra¹⁻³. Az epidermális sejtek többségét alkotó keratinocitákat ma már kulcsfontosságú, nem professzionális immunsejtekként tartjuk számon. Mintázatfelismerő receptorokat expresszálnak, és veszélyjelek hatására citokineket, kemokineket, valamint antimikrobiális peptideket termelnek, ezáltal központi szerepet játszanak a bőr immunológiai és gyulladásos folyamatainak szabályozásában^{4,5}.

Az epidermális barrier integritásának károsodása a gyulladásos bőrbetegségek egyik kritikus kiváltó eseménye. A környezeti irritánsok, allergének és mechanikai sérülések elősegítik exogén anyagok bejutását az epidermiszbe, amely a veleszületett immunválasz elindításához vezet. Ennek megfelelően a keratinociták a szöveti stressz korai érzékelőiként működnek, és gyulladáskeltő mediátorokat szabadítanak fel, amelyek meghatározzák a későbbi immunválasz jellegét^{6,7}.

Két jelentős gyulladásos bőrbetegség jól szemlélteti a cutan immundiszreguláció eltérő formáit: az allergiás kontakt dermatitis (ACD) és a pszoriázis. Az ACD klasszikus IV-es típusú, ún. késői típusú hyperszenzitivitási reakció, amelyet kis molekulatömegű elektrofil vegyületek váltanak ki, melyek a bőrbe jutást követően haptén-fehérje komplexeket képeznek^{8,9}. A betegség szenzitizációs fázisból valamint elicitációs fázisból áll. Az előbbi az első expozíciót követő antigénspecifikus T-sejtek kialakulását, míg az utóbbi az ismételt expozíció hatására meginduló memória T-sejtek gyors aktivációját és a klinikai gyulladás kialakulását foglalja magában. Fontos megjegyezni, hogy a korai epiteliális veszélyjelzés meghatározó szerepet játszik annak eldöntésében, hogy kialakul-e szenzitizáció, hangsúlyozva a keratinociták szerepének jelentőségét a betegség iniciációjában^{9,10}.

Ezzel szemben a pszoriázis krónikus, immunmediált gyulladásos bőrbetegség, amelyet perzisztáló immunaktiváció és keratinocita-hiperproliferáció jellemez.

Patogenezisét a keratinociták és immunsejtek közötti öfenntartó gyulladásos kör jellemzi, amelyet elsősorban az IL-23/IL-17 jelátviteli útvonal dominál ¹¹⁻¹³. Az IL-17 és IL-22 citokinek közvetlenül hatnak a keratinocitákra, sejt proliferációt, megváltozott differenciációt és olyan kemokinek termelését indukálva, amelyek további immunsejtek toborzását segítik elő, ezáltal fenntartva a krónikus gyulladást.

Az akut és krónikus gyulladás közötti alapvető különbség azokban a mediátorokban rejlik, amelyek az immunválaszt elindítják és fenntartják. Akut szövetkárosodás során gyorsan felszabadulnak a vezikulákban tárolt alarminok, amelyek közül az interleukin-1 α (IL-1 α) központi epiteliális veszélyjelnek tekinthető. A keratinociták konstitutívan expresszálják az IL-1 α -t, amely sejtkárosodást követően gyorsan felszabadulhat, és lokális gyulladást indíthat el ^{14,15}. Ezzel szemben a krónikus gyulladásos betegségeket, így a pszoriázist is, indukálható citokinhálózatok tartják fenn, különösen a TNF- α és az IL-23/IL-17 jelátviteli útvonal, melyek pozitív visszacsatolási körök révén állandósítják az immunaktivációt.

A cutan gyulladásban részt vevő molekuláris szenzorok közül a tranziens receptor potenciál ankyrin 1 (TRPA1) ioncsatorna fontos gyulladásos jelátviteli mediátorként került a figyelem előterébe. A TRPA1 leginkább nociceptív szenzoros neuronokon való expressziójáról ismert, ahol elektrofil vegyületeket, reaktív oxigénszármazékokat (ROS) és környezeti irritánsokat érzékel, hozzájárulva a fájdalomhoz, viszketéshez és neurogén gyulladásához ^{16,17}. Egyre több bizonyíték igazolja azonban, hogy a TRPA1 számos nem neuronális bőrsejtben, köztük keratinocitákban is expresszálódik, ahol részt vesz a gyulladásos válaszok szabályozásában ^{18,19}.

A legújabb vizsgálatok arra utalnak, hogy a TRPA1 kontextusfüggő funkciókat lát el a gyulladásos bőrbetegségeken. Allergiás kontakt dermatitiszben a TRPA1 aktivációja reaktív elektrofil allergének és oxidatív stressz érzékelésén keresztül elősegíti a gyulladásos válaszokat. Pszoriázisban ezzel szemben szerepe összetettebb és kontextusfüggőbb: bizonyítékok utalnak arra, hogy a TRPA1 krónikus gyulladásos körülmények között homeosztatis és gyulladáscsökkentő útvonalakat is szabályozhat ^{18,20}.

E megfigyelések alapján jelen disszertáció a TRPA1 szerepét vizsgálja mint a keratinocita-mediált gyulladásos válaszok kontextusfüggő szabályozóját akut és

krónikus gyulladásos bőrbetegségekben, különös tekintettel az oxazolonnal indukált allergiás kontakt dermatitiszre és a humán pszoriázisos bőrre.

2. HIPOTÉZIS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

2.1 Központi hipotézis

Az allergiás kontakt dermatitiszt (ACD) és a pszoriázist hagyományosan eltérő gyulladásos bőrbetegségeknek tekintjük: az ACD akut, antigénspecifikus, T-sejt-mediált hiperszenzitivitási reakció, míg a pszoriázis krónikus, immunmediált gyulladásos betegség, amelyet az IL-23/IL-17 jelátvitel vezérel. E különbségek ellenére mindkét betegség számos alapvető közös jellemzővel rendelkezik, beleértve a keratinocita-stresszt, a barrierkárosodást, a korai veszélyjelzést, valamint a gyulladás amplifikációját epiteliális sejtek, immunsejtek és szenzoros neuronok közötti kölcsönhatások révén ^{1,8,9,11,12}.

A TRPA1 egy polimodális kationcsatorna, amelyet elektrofil vegyületek, reaktív oxigén gyökök és gyulladásos mediátorok aktiválnak, és amely szenzoros neuronokban, valamint a bőr rezidens sejtjein, köztük keratinocitákban is expresszálódik ^{19,21,22}. Ez a TRPA1-et olyan potenciális integrátorrá teszi, amely összekapcsolhatja a kémiai anyagok okozta sérülést, a reaktív oxigénszármazékok hatását és az immunaktivációt az epidermiszben.

Jelen disszertáció központi hipotézise, hogy a keratinocitákban expresszálódó TRPA1 kontextusfüggő veszélyszenzorként működik, amely integrálja az elektrofil aktivációt és az oxidatív stresszt, ezáltal allergiás kontakt dermatitiszben citotoxicitást és IL-1 α -dominálta alarmin jelátvitelt indukál, míg pszoriázisos bőrben a gyulladásos és homeosztatisz utvonalakban részt vevő szélesebb transzkripciós változásokat szabályozza.

2.2 Specifikus célkitűzések

A hipotézis vizsgálatára a disszertációban bemutatott munka két komplementer kísérleti egységre épült.

2.2.1 Allergiás kontakt dermatitisz

Az ACD-vizsgálat célkitűzései a következők voltak:

- A TRPA1 szerepének meghatározása oxazolonnal indukált allergiás kontakt dermatitiszben genetikai delécio és farmakológiai gátlás alkalmazásával.
- Az erős kontakt szenzitizáló anyagok által indukált TRPA1-függő keratinocita-citotoxicitás jellemzése.
- A keratinocitákból allergén expozíciót követően felszabaduló TRPA1-függő gyulladásos mediátorok vizsgálata.
- A kontakt szenzitizáló anyagok TRPA1 receptoron való kötődési helyének meghatározása és a kialakuló kölcsönhatások elemzése *in silico* molekuláris modellezéssel.

2.2.2 Pszoriázis

A pszoriázis-vizsgálat célkitűzései a következők voltak:

- A kiindulási transzkriptomikai különbségek jellemzése egészséges valamint nem léziós és léziós pszoriázisos bőrmintákban.
- A TRPA1 farmakológiai aktivációjának és gátlásának globális génexpresszióra gyakorolt hatásainak vizsgálata *ex vivo* humán bőrben RNS-szekvenálással.
- A gyulladásban, epidermális differenciációban, cirkadián ritmusban és celluláris stresszben részt vevő TRPA1-szabályozott útvonalak azonosítása.
- Annak értékelése, hogy a TRPA1-függő transzkripciók változások miként kapcsolódnak a pszoriázis-asszociált jelátviteli útvonalakhoz.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Kísérleti megközelítések allergiás kontakt dermatitiszben (ACD)

3.1.1 *In vivo* modell

Az allergiás kontakt dermatitist vad típusú (WT) és Trpa1 knockout (KO) egerekben oxazolonnal indukált kontakt hiperszenzitivitási (CHS) modell alkalmazásával hoztuk

létre. A TRPA1 szerepét genetikai delécióval, valamint a szelektív TRPA1-antagonista HC-030031 alkalmazásával vizsgáltuk. A kísérleti csoportok WT, HC-030031-gyel kezelt WT, valamint *Trpa1* KO egerekből álltak ($n = 6$ /csoport; összesen $n = 18$).

A cutan gyulladás súlyosságát fülvastagság-méréssel, lézeres speckle kontraszt analízissel (LASCA) meghatározott szöveti perfúzióval, valamint hematoxin-eozinnal festett metszetek szövettani értékelésével vizsgáltuk.

3.1.2 *In vitro* keratinocita-kísérletek

A keratinociták kontakt allergénekre adott válaszait primer egér keratinocitákban és TRPA1-et expresszáló sejtszerekekben vizsgáltuk. A sejteket elektrofil kontakt szenzibilizátorokkal, köztük DNFB-vel, DNCB-vel, oxazolonnal és formaldehiddel stimuláltuk.

A TRPA1 aktivációját intracelluláris kalciumbeáramlás méréssel, Fura-2 mikrofluorimetriával határoztuk meg, míg a citotoxicitás értékelésére ATP-alapú lumineszcens assay-t alkalmaztunk. A citokin felszabadulást multiplex Luminex assay segítségével elemeztük a TRPA1-függő gyulladásos válaszok jellemzésére.

3.1.3 Molekuláris és képalkotó vizsgálatok

A TRPA1 expresszióját humán és egér bőrben RNAscope *in situ* hibridizációval vizsgáltuk, citokeratin-14 immunfluoreszcens jelöléssel kombinálva. A fluoreszcens jeleket konfokális mikroszkópiával tettük láthatóvá annak meghatározására, hogy a TRPA1 hol expresszálódik az epidermiszben.

3.1.4 *In silico* modellezés

Molekuláris dokkolási vizsgálatokat végeztünk modellezett humán és egér TRPA1-struktúrák felhasználásával annak vizsgálatára, hogy az elektrofil kontakt szenzibilizátorok hogyan lépnek kölcsönhatásba a TRPA1 kötőzsebével. Különös figyelmet fordítottunk az elektrofil-érzékeny cisztein aminosavakra és a szoftveresen előre jelzett kötődési módokra.

3.2 Kísérleti megközelítések pszoriázisos humán bőrben

3.2.1 Humán bőrminták és *ex vivo* kezelés

Teljes vastagságú, 6 mm-es bőrbopsziákat nyertünk négy egészséges önkéntestől és négy pszoriázisban szenvedő betegtől. Minden beteg esetében léziós és nem léziós bőrmintákat is gyűjtöttünk. A biopsziákat *ex vivo* tenyésztettük, majd vehikulummal, mustárolajjal (TRPA1-agonista) vagy HC-030031-gyel (TRPA1-antagonista) kezeltük az RNS-izolálást megelőzően.

3.2.2 RNS-szekvenálás és bioinformatikai elemzés

A globális génexpressziót RNS-szekvenálással elemeztük. A szekvenáló könyvtárakat QuantSeq 3' mRNA-Seq protokoll alkalmazásával készítettük, majd Illumina platformon szekvenáltuk. Differenciális génexpressziós elemzést, főkomponens-analízist (PCA) és útvonaldúsulási vizsgálatokat (pathway enrichment analysis) végeztünk a TRPA1-függő biológiai folyamatok feltárására, különös tekintettel a gyulladásra, epidermális differenciációra, cirkadián szabályozásra, celluláris stresszválaszokra és pszoriázis-asszociált jelátviteli útvonalakra.

3.3 Statisztikai elemzés

Az eredményeket átlag $\pm$ SEM formában tüntettük fel. A statisztikai elemzéseket GraphPad Prism 10.5 verzióval végeztük.

A kalciumbeáramlási és ATP-alapú sejtvitalitási assay-k adatait egyutas ANOVA-val elemeztük, szükség esetén Šídák-féle többszörös összehasonlító tesztel kiegészítve. A fülvastagság-mérések és a lézeres speckle kontraszt képalkotás adatait kétutas ANOVA-val, Šídák-féle többszörös összehasonlító tesztel elemeztük. A multiplex citokin analízis korlátozott számú biológiai ismételése és exploratív jellege miatt a Luminex-citokinadatokat formális statisztikai tesztelés nélkül, leíró jelleggel mutatjuk be. A statisztikai szignifikancia határát $P < 0,05$ értékben határoztuk meg.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Allergiás kontakt dermatitisz (ACD)

A vizsgálat első részében a TRPA1 szerepét tanulmányoztuk allergiás kontakt dermatitiszben, különös tekintettel a kontakt szenzibilizátorok által kiváltott keratinocita-aktivációra, citotoxicitásra és gyulladásos jelátvitelre.

4.1.1 A TRPA1 szükséges az oxazonon-indukált cutan gyulladás kialakulásához

Az oxazonnal indukált allergiás kontakt dermatitisz modellben a vad típusú egerekben kifejezett fülödéma és fokozott szöveti perfúzió alakult ki a provokációt követően, míg a *Trpa1* genetikai deléciónja, valamint a HC-030031-gyel végzett farmakológiai gátlás szignifikánsan mérsékelte ezeket a válaszokat. A szövettani elemzés csökkent epidermális és dermális megvastagodást, kisebb gyulladásos sejtes infiltrációt és kevesebb Munro-mikroabscessus képződést igazolt *Trpa1* knockout és antagonistával kezelt állatokban. Ezzel szemben a vehikulummal kezelt kiindulási állapotban nem mutatkozott szignifikáns strukturális különbség a genotípusok között, ami arra utal, hogy a TRPA1 gyulladásos provokáció hiányában nem befolyásolja az egészséges bőr morfológiáját.

4.1.2 Az erős kontakt szenzibilizátorok közvetlenül aktiválják a TRPA1-et

TRPA1-et expresszáló CHO-sejtekben végzett kalcium-képzalkotási kísérletek azt mutatták, hogy a DNCB, DNFB, formaldehid és oxazon koncentrációfüggő intracelluláris kalciumbeáramlást indukáltak. Ezek a válaszok naiv CHO-sejtekben nem voltak jelen, és TRPA1-antagonizmus hatására megszűntek, igazolva, hogy a kontakt allergének közvetlenül aktiválják a TRPA1-et.

4.1.3 A TRPA1 aktivációja citotoxicitással társul

TRPA1-et expresszáló CHO-sejtekben valamennyi vizsgált kontakt allergén koncentrációfüggő viabilitás csökkenést okozott, míg a naiv sejtek nagyrészt érintetlenek maradtak. A TRPA1 farmakológiai gátlása mérsékelte ezt a citotoxicitást, jelezve, hogy az allergénindukált sejthalál döntően TRPA1-függő.

4.1.4 A keratinociták TRPA1-et expresszálnak egér és humán bőrben

Az RNAscope *in situ* hibridizáció TRPA1 mRNS-expressziót igazolt mind egér, mind humán epidermiszben. Mindkét fajban a jel elsősorban a bazális keratinocitákban lokalizálódott, alátámasztva a TRPA1 jelenlétét az epidermális keratinocitákban fiziológiás körülmények között.

4.1.5 A keratinocita TRPA1 mediálja az allergén indukált citotoxicitást

Annak vizsgálatára, hogy ezek a hatások fiziológiás rendszerben is relevánsak-e, vad típusú és Trpa1 knockout egerekből izolált primer keratinocitákat is kezeltünk a vizsgált kontakt szenzibilizátorokkal. A vad típusú keratinociták kifejezett koncentrációfüggő citotoxicitást mutattak, míg a Trpa1-hiányos keratinociták védettek voltak a kezeléssel szemben. Hasonlóképpen, a TRPA1 farmakológiai blokádjá szignifikánsan csökkentette a citotoxicitást vad típusú sejtekben. Ezek az eredmények a keratinociták által expresszált TRPA1-et az allergén-indukált sejtkárosodás kulcsfontosságú mediátoraként azonosítják.

4.1.6 TRPA1-függő IL-1 α -felszabadulás keratinocitákból

A multiplex citokin analízis alapján elmondható, hogy a vizsgált gyulladásos mediátorok közül allergén expozíciót követően az IL-1 α koncentrációja mutatta a legegységértelműbb TRPA1-függő válaszmintázatot. A vad típusú keratinocitákból szignifikánsan magasabb IL-1 α koncentrációt mértünk mint a Trpa1-hiányos sejtekben, és ezt a választ a HC-030031 csökkentette. Ezzel szemben a többi vizsgált citokin alacsony koncentrációban volt jelen a mintákban, vagy nem mutatott következetes TRPA1-függő változást. Az MCP-1 koncentrációk hasonlóan változtak az egyes kísérleti csoportokban a kezelések hatására, ami TRPA1-független szabályozásra utal. Mivel ezeket a méréseket korlátozott számú biológiai ismétléssel végeztük, az eredményeket leíró jellegű, exploratív bizonyítékként értelmeztük, amelyek a TRPA1-aktiváció és az IL-1 α -domináns alarmin jelátvitel közötti szelektív kapcsolatot támasztják alá.

4.1.7 A kötődési mód részben magyarázza a szenzibilizáló potenciált

Az *in silico* dokkolási vizsgálatok strukturális adatokkal támasztották alá a kontakt szenzibilizátorok között megfigyelt funkcionális különbségeket. A modell számításai alapján a DNFB kovalens kölcsönhatást alakított ki a TRPA1 C621-es ciszteinjével, valamint stabilizáló kapcsolatokat hozott létre az agonista-kötő régióban, ami összhangban áll erős biológiai aktivitásával. A DNCB szintén kovalensen kötődött, de kevesebb stabilizáló interakciót mutatott, míg a formaldehid csak korlátozott kölcsönhatást alakított ki, ami gyengébb aktivitásával jól párhuzamba állítható. Az oxazonon nem kovalensen kötődött, ugyanakkor több stabilizáló kapcsolatot hozott létre a modell szerint, ami közepes allergizáló potenciáljával áll összhangban. Hasonló dokkolási pontszámok és kötődési módok voltak megfigyelhetők humán és egér TRPA1-modellekben, ami alátámasztja méréseink transzlációs relevanciáját.

4.2 Pszoriázisos humán bőr RNS-szekvenálása

A vizsgálat második részében a TRPA1 szerepét krónikus gyulladásos bőrbetegségben vizsgáltuk egészséges és pszoriázisos humán bőr génexpressziós változásainak elemzésével.

4.2.1 Kiindulási transzkriptomikai különbségek egészséges és pszoriázisos bőr között

A főkomponens-analízis egyértelmű elkülönülést mutatott a léziós pszoriázisos bőr, valamint az egészséges és nem léziós pszoriázisos bőr között, míg a nem léziós minták közelebb helyezkedtek el az egészséges kontrollokhoz. Ez megerősítette a gyulladt és nem gyulladt bőr összehasonlításával várt transzkriptomikai különbséget. Vizsgálatunk kiindulási differenciáló génexpressziós elemzése jól ismert pszoriázis-asszociált géneket is azonosított, valamint jelentős átfedést mutatott a korábban publikált nagy kohorszú adatbázisokkal, alátámasztva jelen adataink robusztusságát.

4.2.2 A TRPA1 aktivációjának hatásai az inflammatorikus kontextustól függenek

A TRPA1-aktiváció hatásainak értékelésére a mustárolajjal kezelt mintákat a vehikulummal kezelt kontrollokkal hasonlítottuk össze. Egészséges és nem léziós bőrben a mustárolaj kevert transzkripció választ indukált, amelyet interferonhoz

kapcsolódó, antimikrobiális és gyulladásos gének downregulációja, valamint differenciációhoz és barrierfunkcióhoz kapcsolódó transzkripciós faktorok és a bőr strukturális elemeinek upregulációja jellemzett.

Léziós pszoriázisos bőrben a mustárolaj-kezelés kifejezettebb transzkripciós eltolódást eredményezett, domináns gyulladás-asszociált génexpresszió-csökkenéssel. Több kulcsfontosságú pszoriázishoz kapcsolható mediátor, köztük az IL36G, NFKBIA és HIF1A expressziója csökkent a kezelés után, ami a léziós gyulladásos transzkriptom részleges normalizációjára utal. Ezek az eredmények azt jelzik, hogy a TRPA1-aktiváció hatásai kontextusfüggők, és jelentősen különböznek homeosztatis és gyulladt bőrben.

4.2.3 A biológiai útvonaldúsulási vizsgálat gyulladásgátló és homeosztatis hatásokat emel ki

Az útvonaldúsulási elemzés tovább erősítette ezeket a kontextusfüggő hatásokat. Egészséges bőrben a downregulált útvonalak közé tartozott az interferon-jelátvitel, az IL-10-hez kapcsolódó útvonalak, a neutrophil degranuláció és a keratinizáció. Nem léziós bőrben a kezelés a mátrix-remodelling útvonalak csökkenésével, valamint a kollagén metabolizmushoz és lipid homeosztázishoz kapcsolódó útvonalak fokozódásával társult.

Léziós pszoriázisos bőrben a downregulált útvonalak közé tartozott a TGF β - és MET-jelátvitel, a cirkadián óra szabályozása, valamint citokinhez kapcsolódó jelátviteli útvonalak. A legerősebben downregulált gének elemzése a senescence-associated secretory phenotype (SASP)-hez kapcsolódó utak csökkenését is kiemelte. Ezzel párhuzamosan a lipid- és koleszterinbioszintézishez kapcsolódó gének expressziója fokozódott, ami a homeosztázis állapota felé történő transzkripciós eltolódásra utal.

5. DISZKUSSZIÓ

5.1 A TRPA1 mint kontextusfüggő epiteliális veszélyszenzor

A TRPA1-et hagyományosan olyan neuronális irritáns receptorként ismerjük, amely a nocicepcióban, a viszketés kialakulásában és a neurogén gyulladásban játszik szerepet. Egyre több bizonyíték támasztja alá azonban, hogy a TRPA1 keratinocitákban és más, bőrben honos sejtekben is expresszálódik, ahol az elektrofil és oxidatív stresszjelek integrálásával hozzájárul a cutan immunválasz szabályozásához^{19,20,23}. Jelen disszertáció eredményei tovább bővítik ezt az elképzelést, igazolva, hogy a TRPA1 kontextusfüggő epiteliális veszélyszenzorként működik, amelynek biológiai hatásait a gyulladásos mikrokörnyezet határozza meg. Ahelyett, hogy egységesen gyulladáskeltő szerepet töltene be, a TRPA1 akut kémiai károsodás során elősegíti az epiteliális szignalizációt, míg krónikus gyulladásos bőrbetegségben szélesebb körű transzkripciós átrendeződést modulál.

5.2 A TRPA1 szerepe allergiás kontakt dermatitiszben

A disszertáció allergiás kontakt dermatitiszre vonatkozó eredményei igazolják, hogy mind a *Trpa1* genetikai deléciója, mind farmakológiai gátlása jelentősen csökkenti az oxazon-indukált bőrgyulladást, alátámasztva a TRPA1 meghatározó szerepét a kontakt hiperszenzitivitás kialakulásában és amplifikációjában. Eredményeink összhangban állnak az allergiás kontakt dermatitisz patomechanizmusával kapcsolatos jelenlegi ismeretekkel, amely szerint a keratinociták aktivációja megelőzi és meghatározza az adaptív immunválasz kialakulását⁷⁻⁹.

In vitro vizsgálataink továbbá igazolták, hogy az erős kontakt allergének közvetlenül aktiválják a TRPA1-et, valamint TRPA1-függő kalciumbeáramlást és citotoxicitást váltanak ki. Az, hogy primer keratinocitákban hasonló válaszokat figyeltünk meg, megerősíti, hogy a keratinocitákban expresszálódó TRPA1 fontos nem neuronális mediátora az allergénexpozíciót követő epiteliális károsodásnak. A vizsgált gyulladásos mediátorok közül az IL-1 α mutatta leginkább a TRPA1-függő felszabadulást, ami alátámasztja, hogy a TRPA1 hozzájárul az epiteliális alarminválasz kialakulásához és a korai gyulladás amplifikációjához^{10,24,25}.

5.3 A TRPA1 szerepe pszoriázisban

A transzkriptomikai vizsgálatok kimutatták, hogy a TRPA1 farmakológiai aktivációja jelentősen eltérő hatást gyakorol az egészséges, a nem léziós és a léziós pszoriázisos bőrre, ami arra utal, hogy a TRPA1 jelátvitel nagymértékben függ a gyulladásos környezettől. Míg egészséges bőrben csupán mérsékelt transzkripciós változások voltak megfigyelhetők, addig léziós pszoriázisban lényegesen kiterjedtebb génexpressziós változások következtek be.

A TRPA1 aktivációja több pszoriázis-asszociált gyulladásos mediátor expressziójának csökkenésével, valamint a gyulladásos jelátvitelben, a mátrix-remodellingben, a cirkadián szabályozásban és a senescence-associated secretory phenotype (SASP) kialakulásában részt vevő útvonalak mérséklődésével társult. Ezzel párhuzamosan fokozódott a lipidanyagcserével és az epidermális homeosztázissal összefüggő útvonalak aktivitása, ami arra utal, hogy a TRPA1 aktivációja a gyulladás egyszerű gátlása helyett inkább a szöveti homeosztázis részleges helyreállításához járulhat hozzá. Ezek az eredmények összhangban állnak azzal az egyre elfogadottabb szemlélettel, hogy a TRPA1 a gyulladásos környezettől függően egyaránt betölthet proinflammatorikus és homeosztatikus funkciókat ^{13,18,20,26}.

5.4 Általános következtetések és jövőbeli perspektívák

Jelen disszertáció a TRPA1-et a bőr gyulladásos aktivitásának meghatározó epiteliális szabályozójaként azonosítja. Az *in vivo*, *in vitro*, *in silico* és transzkriptomikai megközelítések kombinálásával igazoltuk, hogy a TRPA1 szerepe túlmutat a neuronális irritáns érzékelésen, és a keratinociták intrinsic stressz-integrátoraként működik, amelynek biológiai hatásai a betegség kontextusától függenek.

Két eltérő gyulladásos modell vizsgálata alapján megállapítható, hogy a TRPA1 a keratinociták gyulladás-szabályozójaként működik, amelynek biológiai hatását a betegség állapota és az aktiváció dinamikája határozza meg. Allergiás kontakt dermatitiszben a TRPA1 hozzájárul a korai epiteliális veszélyjelzéshez és az immunválasz iniciációjához, míg pszoriázisban elsősorban a transzkripciós folyamatok újraszabályozásával, nem pedig a gyulladás fokozásával hozható

összefüggésbe. Ezek az eredmények feloldják a TRPA1 szerepével kapcsolatos korábbi ellentmondásokat, és egy olyan átfogó modellt támasztanak alá, amely szerint a TRPA1 redox- és elektrofilérzékeny epiteliális stressz-szenzorként működik, kontextusfüggő downstream hatásokkal ^{19,20,23,26}.

A TRPA1 kontextusfüggő működésének jelentős transzlációs vonatkozásai is vannak. Allergiás kontakt dermatitiszben a TRPA1 aktivációja keratinocita-citotoxicitást, intracelluláris kalcium túlterhelést és IL-1 α -mediált alarmin felszabadulást vált ki, ezáltal az immunaktiváció korai szakaszában játszik szerepet. A TRPA1 farmakológiai gátlása - amint azt a szelektív HC-030031 antagonistá alkalmazásával igazoltuk - mérsékli ezeket a korai patogenetikai folyamatokat és így csökkenti a gyulladást, ami hangsúlyozza terápiás potenciálját akut, kémiai indukált dermatitiszben. Eredményeink alapján a TRPA1 kettős funkciójú terápiás célpontnak tekinthető: akut, allergén-indukált károsodásban gátlása lehet előnyös, míg krónikus immunmediált betegségekben finomhangolt modulációja válhat szükségessé. Ennek megfelelően a TRPA1-et célzó terápiás stratégiák kialakításakor figyelembe kell venni a gyulladás kiindulási állapotát, az aktiváció dinamikáját és a betegség stádiumát.

A betegségekben betöltött szerepének vizsgálatán túl a jelen munka hozzájárul a keratinociták aktív immunológiai szabályozó szerepének mélyebb megértéséhez, valamint rámutat arra, hogy a strukturális, celluláris és transzkriptomikai megközelítések integrálása kulcsfontosságú az epiteliális jelátviteli mechanizmusok feltárásában.

A jövőbeni vizsgálatoknak tisztázniuk kell azokat a downstream jelátviteli mechanizmusokat, amelyek összekapcsolják a TRPA1 aktivációját a nagyléptékű transzkripciós átprogramozódással, valamint azt, hogy a redoxérzékeny csatornamoduláció miként fejti ki hatását a citokin- és metabolikus hálózatokra *in vivo*. Ezek a vizsgálatok elengedhetetlenek lesznek a TRPA1-et célzó terápiás stratégiák klinikai alkalmazhatóságának megteremtéséhez.

6. AZ ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Igazoltuk, hogy a keratinocitákban expresszáldó TRPA1 kulcsfontosságú mediátora az allergiás kontakt dermatitisz kialakulásának. Genetikai delécio és farmakológiai gátlás alkalmazásával kimutattuk, hogy a TRPA1 jelentős mértékben hozzájárul az oxazon-indukált bőrgyulladás kialakulásához *in vivo*.
2. Kimutattuk, hogy az erős kontakt allergének közvetlenül aktiválják a keratinocita TRPA1-et, és TRPA1-függő citotoxicitást váltanak ki. Az elektrofil kontakt szenzibilizátorok intracelluláris kalciumbeáramlást és a sejtviabilitás csökkenését idézték elő TRPA1-függő módon, igazolva, hogy a keratinocita TRPA1 közvetlen szenzora a kémiai eredetű epiteliális stressznek.
3. Igazoltuk, hogy a TRPA1 aktivációja elősegíti az IL-1 α felszabadulását keratinocitákból. Eredményeink szerint a TRPA1-függő citotoxicitás együtt jár az epiteliális alarmként működő IL-1 α felszabadulásával, alátámasztva a TRPA1 szerepét az allergiás kontakt dermatitisz korai gyulladásos jelátvitelének kiváltásában.
4. A kontakt allergének és a TRPA1 közötti strukturális kölcsönhatások összefüggést mutatnak a szenzibilizáló potenciállal. A molekuláris dokkolási vizsgálatok igazolták, hogy az erősebb kontakt szenzibilizátorok kedvezőbb kölcsönhatásokat alakítanak ki a TRPA1 elektrofil-érzékeny kötőzsebével, strukturális magyarázatot adva a szenzibilizáló potenciál különbségeire.
5. Igazoltuk, hogy a TRPA1 kontextusfüggő módon szabályozza a génexpressziót humán pszoriázisos bőrben. Az RNS-szekvenálási vizsgálatok kimutatták, hogy a TRPA1 farmakológiai aktivációja eltérő génexpressziós mintázatokat vált ki egészséges, nem léziós és léziós pszoriázisos bőrben, ami igazolja, hogy a TRPA1 biológiai hatásai a szövet gyulladásos állapotától függenek.
6. Léziós pszoriázisos bőrben a TRPA1 aktivációja a gyulladásos útvonalak mérséklődésével és homeosztatisz folyamatok fokozódásával társult. A transzkriptomikai elemzések a pszoriázisra jellemző gyulladásos mediátorok expressziójának csökkenését, valamint az epidermális differenciációval,

lipidanyagcserével és szöveti homeosztázissal kapcsolatos útvonalak fokozott aktivitását mutatták.

7. Eredményeink a TRPA1 gyulladásos bőrbetegségekben betöltött szerepének egységes modelljét támasztják alá. Míg akut allergén-indukált gyulladás során a TRPA1 fokozza az epiteliális károsodást és az alarmin jelátvitelt, krónikus pszoriázisban a gyulladásos szabályozásban és a szöveti homeosztázis fenntartásában részt vevő transzkripciós folyamatokat modulálja, igazolva, hogy a TRPA1 a bőrgyulladás kontextusfüggő szabályozója.

A DISSZERTÁCIÓ ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

A disszertáció az alábbi közleményeken alapul:

1. Jaber A, Horváth S, Zsidó BZ, Kormos V, Konkoly J, Hetényi C, Pintér E, Kemény Á, Gyulai R. **Contact sensitisers activate keratinocytes and induce cytotoxicity via TRPA1 in allergic contact dermatitis.** *British Journal of Pharmacology*. 2025. doi:10.1111/bph.70479. IF: 7,7; Q1; D1 (online megjelent közlemény).
2. Kemény Á, Horváth S, Szebényi J, Oláh P, Németh V, Urbán P, Kun J, Gyenesei A, Jaber A, Pintér E, Gyulai R. **TRPA1 ion channel activation context-dependently regulates gene expression in normal and psoriatic human skin.** *British Journal of Pharmacology*. 2025. augusztus 6. doi:10.1111/bph.70153. IF: 7,7; Q1; D1 (online megjelent közlemény).

Összesített impakt faktor: 15,4

MTMT azonosító: 10090632

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretném őszinte és mély hálámat kifejezni témavezetőmnek, Dr. Kemény Ágnesnek, aki szakmai iránymutatásával, kiemelkedő tudásával és folyamatos támogatásával meghatározó szerepet játszott doktori tanulmányaim során. Értékes szakmai tanácsai, építő kritikája és a tudományos kiválóság iránti elkötelezettsége alapvetően hozzájárult mind e disszertáció elkészítéséhez, mind pedig klinikusi és kutatói fejlődésemhez. Hálás vagyok azért a lehetőségért, hogy témavezetése mellett dolgozhattam.

Köszönettel tartozom témavezetőimnek, Prof. Dr. Gyulai Rollandnak és Prof. Dr. Pintér Erikának is, akik bizalmukkal és támogatásukkal lehetővé tették doktori munkám megvalósítását. Meghatározó szerepük volt a kutatási projekt elindításában, tudományos irányvonalának kialakításában és sikeres megvalósításában. Külön köszönöm Prof. Dr. Gyulai Rollandnak klinikai szemléletét és vezetői támogatását, amelyek jelentős hatással voltak szakmai fejlődésemre, valamint Prof. Dr. Pintér Erikának tudományos iránymutatását, a kutatás koncepcionális kialakításában nyújtott segítségét, valamint a projekt megvalósításához szükséges erőforrások és finanszírozás biztosításában vállalt szerepét.

Ezúton szeretném megköszönni a Pécsi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézete, valamint a Bőr-, Nemikórtani és Onkodermatológiai Klinika valamennyi munkatársának a támogató, inspiráló és együttműködő munkakörnyezetet. Külön hálával tartozom mindazoknak, akik szakmai együttműködésükkel, tudásukkal és mindennapi biztatásukkal hozzájárultak munkám sikeréhez.

Köszönöm kollégáimnak, együttműködő partnereimnek és társszerzőimnek értékes szakmai hozzájárulásukat, a közös gondolkodást és segítségüket, amelyek nélkül e munka nem valósulhatott volna meg.

Hálás köszönettel tartozom a doktori bizottság tagjainak és az opponenseknek is, hogy idejüket és szakértelmüket disszertációm bírálatára fordították.

Végül szeretném legmélyebb hálámat kifejezni családomnak és barátaimnak szeretetükért, türelmükért és rendíthetetlen támogatásukért. Bizalmuk és bátorításuk mindvégig erőt adott számomra, és ez a munka ugyanúgy az ő érdemük is, mint az enyém.

Források

1. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(5):496-509. doi:10.1056/NEJMra0804595
2. Pasparakis M, Haase I, Nestle FO. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(5):289-301. doi:10.1038/nri3646
3. Belkaid Y, Segre JA. Dialogue between skin microbiota and immunity. *Science* (1979). 2014;346(6212):954-959. doi:10.1126/science.1260144
4. Chieosilapatham P, Kiatsurayanon C, Umehara Y, et al. Keratinocytes: innate immune cells in atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol*. 2021;204(3):296-309. doi:10.1111/cei.13575
5. Das P, Mounika P, Yellurkar ML, et al. Keratinocytes: An Enigmatic Factor in Atopic Dermatitis. *Cells*. 2022;11(10):1683. doi:10.3390/cells11101683
6. Ellis SR, Nguyen M, Vaughn AR, et al. The Skin and Gut Microbiome and Its Role in Common Dermatologic Conditions. *Microorganisms*. 2019;7(11):550. doi:10.3390/microorganisms7110550
7. Brys AK, Rodriguez-Homs LG, Suwanpradid J, Atwater AR, MacLeod AS. Shifting Paradigms in Allergic Contact Dermatitis: The Role of Innate Immunity. *Journal of Investigative Dermatology*. 2020;140(1):21-28. doi:10.1016/j.jid.2019.03.1133
8. Martin SF. Contact dermatitis: from pathomechanisms to immunotoxicology. *Exp Dermatol*. 2012;21(5):382-389. doi:10.1111/j.1600-0625.2012.01471.x
9. Peiser M, Tralau T, Heidler J, et al. Allergic contact dermatitis: epidemiology, molecular mechanisms, in vitro methods and regulatory aspects. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2012;69(5):763-781. doi:10.1007/s00018-011-0846-8
10. Yamaguchi HL, Yamaguchi Y, Peeva E. Role of Innate Immunity in Allergic Contact Dermatitis: An Update. *Int J Mol Sci*. 2023;24(16):12975. doi:10.3390/ijms241612975
11. Lowes MA, Suárez-Fariñas M, Krueger JG. Immunology of Psoriasis. *Annu Rev Immunol*. 2014;32(1):227-255. doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120225
12. Griffiths CEM, Armstrong AW, Gudjonsson JE, Barker JNWN. Psoriasis. *The Lancet*. 2021;397(10281):1301-1315. doi:10.1016/S0140-6736(20)32549-6
13. Kamata M, Tada Y. Crosstalk: keratinocytes and immune cells in psoriasis. *Front Immunol*. 2023;14. doi:10.3389/fimmu.2023.1286344
14. Dinarello CA. Overview of the <sc>IL</sc> -1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*. 2018;281(1):8-27. doi:10.1111/imr.12621
15. Cavalli G, Colafrancesco S, Emmi G, et al. Interleukin 1 α : a comprehensive review on the role of IL-1 α in the pathogenesis and treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. 2021;20(3):102763. doi:10.1016/j.autrev.2021.102763
16. Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, et al. TRPA1 Mediates the Inflammatory Actions of Environmental Irritants and Proalgesic Agents. *Cell*. 2006;124(6):1269-1282. doi:10.1016/j.cell.2006.02.023
17. Bandell M, Story GM, Hwang SW, et al. Noxious Cold Ion Channel TRPA1 Is Activated by Pungent Compounds and Bradykinin. *Neuron*. 2004;41(6):849-857. doi:10.1016/S0896-6273(04)00150-3
18. Kemény Á, Kodji X, Horváth S, et al. TRPA1 Acts in a Protective Manner in Imiquimod-Induced Psoriasiform Dermatitis in Mice. *Journal of Investigative Dermatology*. 2018;138(8):1774-1784. doi:10.1016/j.jid.2018.02.040
19. Atoyan R, Shander D, Botchkareva N V. Non-Neuronal Expression of Transient Receptor Potential Type A1 (TRPA1) in Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009;129(9):2312-2315. doi:10.1038/jid.2009.58
20. Naert R, López-Requena A, Talavera K. TRPA1 Expression and Pathophysiology in Immune Cells. *Int J Mol Sci*. 2021;22(21):11460. doi:10.3390/ijms222111460
21. Andersson DA, Gentry C, Moss S, Bevan S. Transient Receptor Potential A1 Is a Sensory Receptor for Multiple Products of Oxidative Stress. *The Journal of Neuroscience*. 2008;28(10):2485-2494. doi:10.1523/JNEUROSCI.5369-07.2008
22. Landini L, Souza Monteiro de Araujo D, Titiz M, Geppetti P, Nassini R, De Logu F. TRPA1 Role in Inflammatory Disorders: What Is Known So Far? *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):4529. doi:10.3390/ijms23094529
23. Szabó K, Kemény Á, Balázs N, et al. Presence of TRPA1 Modifies CD4⁺/CD8⁺ T Lymphocyte Ratio and Activation. *Pharmaceuticals*. 2022;15(1):57. doi:10.3390/ph15010057
24. Cohen I, Rider P, Carmi Y, et al. Differential release of chromatin-bound IL-1 α discriminates between necrotic and apoptotic cell death by the ability to induce sterile inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(6):2574-2579. doi:10.1073/pnas.0915018107
25. Di Paolo NC, Shayakhmetov DM. Interleukin 1 α and the inflammatory process. *Nat Immunol*. 2016;17(8):906-913. doi:10.1038/ni.3503

26. Maglie R, Souza Monteiro de Araujo D, Antiga E, Geppetti P, Nassini R, De Logu F. The Role of TRPA1 in Skin Physiology and Pathology. *Int J Mol Sci.* 2021;22(6):3065. doi:10.3390/ijms22063065