

**Univerzita Palackého v Olomouci**

**Bakalářská práce**

**Olomouc 2023**

**Terézia Hrušková**

**Univerzita Palackého v Olomouci**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Katedra buněčné biologie a genetiky**



**Role aryluhlovodíkového receptoru v zachování  
integrity kůže**

**Bakalářská práce**

**Terézia Hrušková**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie

Forma studia: Prezenční

**Olomouc 2023**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Radim Vrzal, Ph.D.**

# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta  
Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Terézia HRUŠKOVÁ  
Osobní číslo: R19831  
Studijní program: B1501 Biologie  
Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie  
Téma práce: Role aryluhlovodíkového receptoru v zachování integrity kůže  
Zadávací katedra: Katedra buněčné biologie a genetiky

### Zásady pro vypracování

1. Vypracování rešerše na téma bakalářské práce
2. Vypracování multimediální prezentace k obsahově bakalářské práce

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná  
Jazyk zpracování: Slovenština

### Seznam doporučené literatury:

- Ellen H. van den Bogaard et al: Coal tar induces AHR-dependent skin barrier repair in atopic dermatitis, *The Journal of Clinical Investigation*, 2013
- Takanori Hidaka et al: The aryl hydrocarbon receptor AhR links atopic dermatitis and air pollution via induction of the neurotrophic factor artemin, *Nature Immunology*, 2016
- Christian Voegelé et al: Role of the Aryl Hydrocarbon Receptor in Environmentally Induced Skin Aging and Skin Carcinogenesis, *International Journal of Molecular Sciences*, 2019
- Jinlei Yu et al: A tryptophan metabolite of the skin microbiota attenuates inflammation in patients with atopic dermatitis through the aryl hydrocarbon receptor, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2019
- Karen E. Burke: Mechanisms of aging and development – A new understanding of environmental damage to the skin and prevention with topical antioxidants, *Mechanisms of Ageing and Development*, 2018
- Články publikované v odborných periodících

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Radim Vrzal, Ph.D.  
Katedra buněčné biologie a genetiky

Datum zadání bakalářské práce: 10. února 2021  
Termín odevzdání bakalářské práce: 31. července 2022

LS.

---

doc. RNDr. Martin Kubala, Ph.D.  
děkan

---

prof. RNDr. Zdeněk Dvořák, DrSc.  
vedoucí katedry

V Olomouci dne 10. února 2021

## **Bibliografické údaje**

**Meno a priezvisko autora:** Terézia Hrušková

**Názov práce:** Role aryluhlovodíkového receptora v zachovaní integrity kůže

**Typ práce:** Bakalárska práca

**Pracovisko:** Katedra buněčné biologie a genetiky, PřF UP v Olomouci

**Vedúci práce:** doc. Ing. Radim Vrzal, Ph.D.

**Rok obhajoby práce:** 2023

### **Abstrakt:**

Aryl uhľovodíkový receptor je ligandom aktivovaný transkripčný faktor, ktorý je exprimovaný všetkými typmi kožných buniek. Signalizácia aryl uhľovodíkového receptora reguluje metabolizmus environmentálnych toxínov, oxidačného stresu, fotoindukovanej reakcie, diferenciácie keratinocytov a epidermálnej bariéry. Nežiadúca aktivácia jeho signálnej dráhy však môže narušiť integritu kože a viesť k rozvoju chronických zápalových ochorení alebo karcinogénnych stavov. Dochádza k tomu pôsobením ligandov, ktoré sú súčasťou environmentálnych faktorov, ktorým je koža vystavovaná. Medzi tieto faktory patrí aj UV žiarenie a znečistenie ovzdušia, ktorých škodlivé účinky prispievajú k predčasnemu starnutiu pokožky a vzniku rakoviny kože. V určitých prípadoch je však cielená aktivácia alebo inhibícia aryl uhľovodíkového receptora využívaná pri liečbe kožných ochorení, akým je napríklad atopická dermatitída. Týmto spôsobom dochádza k podpore funkcií epidermálnej bariéry a obnoveniu integrity kože. V závislosti od spôsobu aktivácie môže mať aryl uhľovodíkový receptor pozitívne alebo negatívne účinky na zachovanie integrity kože.

**Kľúčové slová:** aryl uhľovodíkový receptor, integrita kože, atopická dermatitída, rakovina kože, starnutie kože

**Počet strán:** 61

**Počet príloh:** 0

**Jazyk:** Slovenský

## **Bibliographical identification**

**Author's first name and surname:** Terézia Hrušková

**Title:** The role of arylhydrocarbon receptor in the maintenance of skin integrity

**Type of thesis:** Bachelor thesis

**Department:** Department of Cell Biology and Genetics, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc

**Supervisor:** doc. Ing. Radim Vrzal, Ph.D.

**The year of presentation:** 2023

### **Abstract:**

The aryl hydrocarbon receptor is a ligand-activated transcription factor that is expressed by all skin cell types. Aryl hydrocarbon receptor signaling regulates the metabolism of environmental toxins, oxidative stress, the photoinduced response, keratinocyte differentiation, and the epidermal barrier. However, unwanted activation of its signaling pathway can disrupt the integrity of the skin and lead to the development of chronic inflammatory diseases or carcinogenic conditions. This occurs due to the action of ligands, which are part of the environmental factors to which the skin is exposed. These factors also include UV radiation and air pollution, the harmful effects of which contribute to premature aging of the skin and the development of skin cancer. However, in certain cases, targeted activation or inhibition of the aryl hydrocarbon receptor is used in the treatment of skin diseases such as atopic dermatitis. In this way, the functions of the epidermal barrier are supported and the integrity of the skin is restored. Depending on the mode of activation, the aryl hydrocarbon receptor can have positive or negative effects on maintaining skin integrity.

**Keywords:** aryl hydrocarbon receptor, skin integrity, atopic dermatitis, skin cancer, skin aging

**Number of pages:** 61

**Number of appendices:** 0

**Language:** Slovak

Vyhlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne pod vedením doc. Ing. Radima Vrzala, Ph.D. s použitím uvedených literárnych zdrojov.

V Olomouci dňa .....

.....

Terézia Hrušková

Rada by som sa poďakovala doc. Ing. Radimovi Vrzalovi, Ph.D. za odbornú pomoc a usmernenie pri spracovaní bakalárskej práce. Takisto sa chcem poďakovať aj svojej rodine za podporu počas celého štúdia.



# OBSAH

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 1       | ÚVOD .....  | 1  |
| 2       | CIELE PRÁCE .....   | 2  |
| 3       | LITERÁRNY PREHLAD .....                                   | 3  |
| 3.1     | Aryl uhľovodíkový receptor .....                          | 3  |
| 3.1.1   | Signalizácia aryl uhľovodíkového receptora .....          | 3  |
| 3.2     | Vplyv AhR na atopickú dermatitídu .....                   | 7  |
| 3.2.1   | Koža a epidermálna bariéra .....                          | 7  |
| 3.2.2   | Atopická dermatitída .....                                | 8  |
| 3.2.3   | Vplyv aktivácie AhR na rozvoj atopickej dermatitídy ..... | 11 |
| 3.2.3.1 | Neurotrofický faktor artemín .....                        | 11 |
| 3.2.4   | Obnova kožnej bariéry závislá na AhR .....                | 14 |
| 3.2.4.1 | Lokálna aplikácia uhoľného dechtu .....                   | 14 |
| 3.2.4.2 | Tryptofánový metabolit kožného mikrobiómu .....           | 19 |
| 3.2.4.3 | Tapinarof .....   | 22 |
| 3.3     | Vplyv AhR na starnutie pokožky .....                      | 25 |
| 3.3.1   | Starnutie pokožky .....                                   | 25 |
| 3.3.1.1 | Tvorba vrások .....                                       | 28 |
| 3.3.1.2 | Pigmentácie kože .....                                    | 31 |
| 3.4     | Vplyv AhR na rakovinu kože .....                          | 34 |
| 3.4.1   | Skvamocelulárny karcinóm .....                            | 34 |
| 3.4.1.1 | Úloha AhR pri rozvoji skvamocelulárneho karcinómu .....   | 35 |
| 3.4.2   | Malígný melanóm .....                                     | 37 |
| 3.4.2.1 | Úloha AhR pri rozvoji malígneho melanómu .....            | 40 |
| 4       | ZÁVER .....   | 42 |
| 5       | LITERATÚRA .....  | 44 |

## ZOZNAM SKRATIEK A SYMBOLOV

|                          |   |
|--------------------------|---|
| AD                       | atopická dermatitída                                |
| AhR                      | aryl uhl'ovodíkový receptor                         |
| AhRR                     | represor aryl uhl'ovodíkového receptora             |
| AK                       | aktinická keratóza                                  |
| AMP                      | antimikrobiálne peptidy                             |
| ARNT                     | jadrový translokátor aryl uhl'ovodíkového receptora |
| <i>ARTN</i>              | gén kódujúci artemín                                |
| atRA                     | kyselina all-trans retinová                         |
| bHLH                     | helix-loop-helix štruktúrny motív                   |
| BRAF                     | v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1      |
| BRAF <sup>i</sup>        | inhibitory BRAF mutácií                             |
| CCL26                    | chemokine (C-C motív) ligand 26                     |
| CDK                      | cyklín-dependentná kináza                           |
| CD4 <sup>+</sup> T bunky | zrelé T pomocné lymfocyty                           |
| CHKI                     | checkpoint kinase I                                 |
| ChIP-seq                 | chromatín-imunoprecipitačné sekvencovanie           |
| COX2                     | cyklooxygenáza 2                                    |
| CYP1A1                   | cytochróm P450, rodina 1, podrodina A, polypeptid 1 |
| CYP1A2                   | cytochróm P450, rodina 1, podrodina A, polypeptid 2 |
| CYP1B1                   | cytochróm P450, rodina 1, podrodina B, polypeptid 1 |
| CPD                      | cyklobutánpyrimidínové diméry                       |
| DEP                      | dieselové výfukové plyny                            |
| DMBA                     | 7,12-dimetylbenz[ <i>a</i> ]antracén                |
| DMSO                     | dimethylsulfoxid                                    |

|                |  |
|----------------|--|
| DOPA           | 3,4-dihydroxyfenylalanín   |
| DRE            | dioxínové responzívne elementy   |
| EASI           | Eczema area and severity index   |
| ECM            | extracelulárny matrix  |
| EDC            | epidermálny diferenciačný komplex  |
| ERK1           | mitogénom aktivovaná proteín kináza 3  |
| ERK2           | mitogénom aktivovaná proteín kináza 1  |
| FICZ           | 6-formylindolo [3,2-b] karbazol  |
| FLG            | filagrín   |
| GGR            | globálna oprava genómu   |
| GDNF           | glial cell line-derived neurotrophic factor  |
| GFR $\alpha$ 3 | GDNF family receptor alpha-3   |
| GNF351         | antagonista AhR  |
| HaCaT          | spontánne transformovaná aneuploidná immortalizovaná keratinocytová bunková línia z kože dospelého človeka |
| HEKns          | neonátálne ľudské epidermálne keratinocyty   |
| HRNR           | hornerín   |
| HSP90          | 90 kDa heat-shock protein  |
| IAId           | indol-3-aldehyd  |
| IGA            | Investigator's global assessment scale   |
| IgE            | imunoglobulín E  |
| IL             | interleukín  |
| IVL            | involukrín   |
| LOR            | lorikrín   |
| MART1          | melanoma antigen recognized by T cells 1   |
| MC903          | calcipotriol   |

|              |  |
|--------------|--|
| MAP          | mitogénom aktivovaná proteín kináza                            |
| MMP          | matrixové metaloproteinázy                                     |
| NER          | nukleotidová excízna oprava                                    |
| NF-kB        | nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells |
| Nrf2         | nuclear factor erythroid 2-related factor 2                    |
| NQO1         | NAD(P)H quinone dehydrogenase 1                                |
| PAH          | polycyklické aromatické uhľovodíky                             |
| PAI          | plasminogen activator inhibitor                                |
| PAS          | Per-Arnt-Sim doména  |
| PCB          | planárne polychlórované bifenoly                               |
| PKC $\alpha$ | proteínkináza C  |
| PM           | pevné častice  |
| Pmel17       | promelanosome proteín  |
| PP-NRS       | Peak Pruritus Numerical Rating Scale                           |
| PTPN1        | proteín tyrozín fosfatáza 1B                                   |
| Q-PCR        | kvantitatívna polymerázová reťazová reakcia                    |
| RB1          | retinoblastomový proteín                                       |
| RAD23        | UV excision repair proteín RAD23 homolog A                     |
| ROS          | reaktívne formy kyslíka  |
| SC           | <i>stratum corneum</i>   |
| SCC          | skvamocelulárny karcinóm                                       |
| siRNA        | small interfering RNA  |
| STAT6        | prevodník signálu a aktivátor transkripcie 6                   |
| TAD          | transaktivačná doména  |
| TCDD         | 2,3,7,8-tetrachlórdibenzo-p-dioxín                             |
| TCR          | nukleotidová excízna oprava spojená s transkripciou            |

|        |  |
|--------|--|
| TEWL   | transepidermálna strata vody                                       |
| Th2    | pomocné T lymfocyty  |
| TRPA1  | transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1 |
| TRPV1  | transient receptor potential cation channel, subfamily V member 1  |
| TSLP   | thymic stromal lymphopoietin                                       |
| TYR    | tyrozináza   |
| TYRP   | tyrosine-related protein   |
| UV-DBB | DNA damage-binding protein   |
| uPA    | urokinase-type plasminogen activator                               |
| uPAR   | urokinase-type plasminogen activator receptor                      |
| WHO    | Svetová zdravotnícka organizácia                                   |
| XAP2   | HBV X-asociovaný proteín   |
| XRE    | xenobiotické responzívne elementy                                  |

## **ZOZNAM OBRÁZKOV**

Obr. č. 1: Genomická dráha AhR

Obr. č. 2: Negenomická dráha AhR

Obr. č. 3: Vplyv uhoľného dechtu na zrýchlenie epidermálnej diferencácie

Obr. č. 4: Molekulárny model mechanizmu terapie uhoľným dechtom

Obr. č. 5: AhR sprostredkúva inhibičné účinky IAI<sub>d</sub>

Obr. č. 6: Chemická štruktúra tapinarofu

Obr. č. 7: Škodlivé účinky slnečného ultrafialového žiarenia na kožu

Obr. č. 8: Metabolická aktivácia CYP1 PAH izoformami závislá od AhR

# 1 ÚVOD

Koža je komplexným orgánom, ktorý pokrýva celý vonkajší povrch tela a zabezpečuje množstvo funkcií, vrátane ochrany pred exogénnymi faktormi. Pre organizmus je mimoriadne dôležité zachovanie jej integrity, na ktorom sa podieľa epidermálna bariéra. Ide o súbor špecifických dynamických funkcií, ktoré zahŕňajú prevenciu a reakciu na mikrobiálne organizmy a antigény, zmiernenie účinkov vystavovania UV žiareniu a účinkov oxidačného stresu. V prípade, že sú tieto funkcie narušené vnútornými alebo vonkajšími faktormi a nie sú kompenzované, dochádza aj k zmene integrity kože. Tento stav zvyšuje náchylnosť organizmu na chorobné stavy, medzi ktoré patrí napríklad atopická dermatitída, predčasné starnutie kože a rakovina kože.

Vo všetkých typoch kožných buniek je exprimovaný ligandom aktivovaný transkripčný faktor aryl uhľovodíkový receptor. Tento receptor je aktivovaný prostredníctvom ligandov endogénneho aj exogénneho pôvodu, čím je ovplyvňovaná tkanivová homeostáza aj rozvoj patologických stavov. Aktivácia signálnej dráhy AhR v koži vhodnými ligandmi môže podporiť funkcie epidermálnej bariéry a viesť k zlepšeniu integrity kože. Naopak mnohé z environmentálnych faktorov, medzi ktoré patrí aj znečistenie ovzdušia a UV žiarenie, majú karcinogénne účinky alebo prispievajú k predčasnému starnutiu pokožky prostredníctvom aktivácie signalizácie AhR. Vhodná aktivácia alebo blokovanie signálnej dráhy AhR môžu byť prospešné pri liečbe kožných ochorení a ochrane kože pred škodlivými účinkami environmentálnych faktorov.

## **2 CIELE PRÁCE**

1. Vypracovanie rešerše na tému bakalárskej práce
2. Vypracovanie multimedialnej prezentácie k obhajobe bakalárskej práce



## 3 LITERÁRNY PREHĽAD

### 3.1 Aryl uhľovodíkový receptor

Aryl uhľovodíkový receptor je ligandom aktivovaný transkripčný faktor, ktorý patrí do rodiny proteínov Per-Arnt-Sim (PAS). Podieľa sa na kontrole expresie detoxikačných génov CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 a ďalších enzýmov metabolizujúcich fázu II biotransformácie xenobiótik (Vrzal *et al.*, 2004). AhR sa zúčastňuje biologických procesov, ktoré sú podstatné pre tkanivovú homeostázu a rovnako aj pre rozvoj patologických stavov (Rothhammer *et Quintana*, 2019).

K aktivácii AhR dochádza naviazaním ligandu, ktorý môže byť exogénneho alebo endogénneho pôvodu. Medzi najznámejšie exogénne ligandy AhR patria polycyklické aromatické uhľovodíky (PAH), dioxíny vrátane dibenzofuránov a planárnych polychlórovaných bifenolov (PCB). Jedným z najsilnejších ligandov je 2,3,7,8-tetrachlórdibenzo-p-dioxín (TCDD). Agonistami AhR môžu byť aj prirodzene sa vyskytujúce zlúčeniny, ako sú indoly a niektoré flavonoidy. Medzi AhR ligandy patria aj molekuly tvorené endogénnym metabolizmom, ako sú FICZ (6-formylindolo [3,2 b] karbazol), metabolity kyseliny arachidonovej alebo metabolity kynurenínovej dráhy (Larigot *et al.*, 2018).

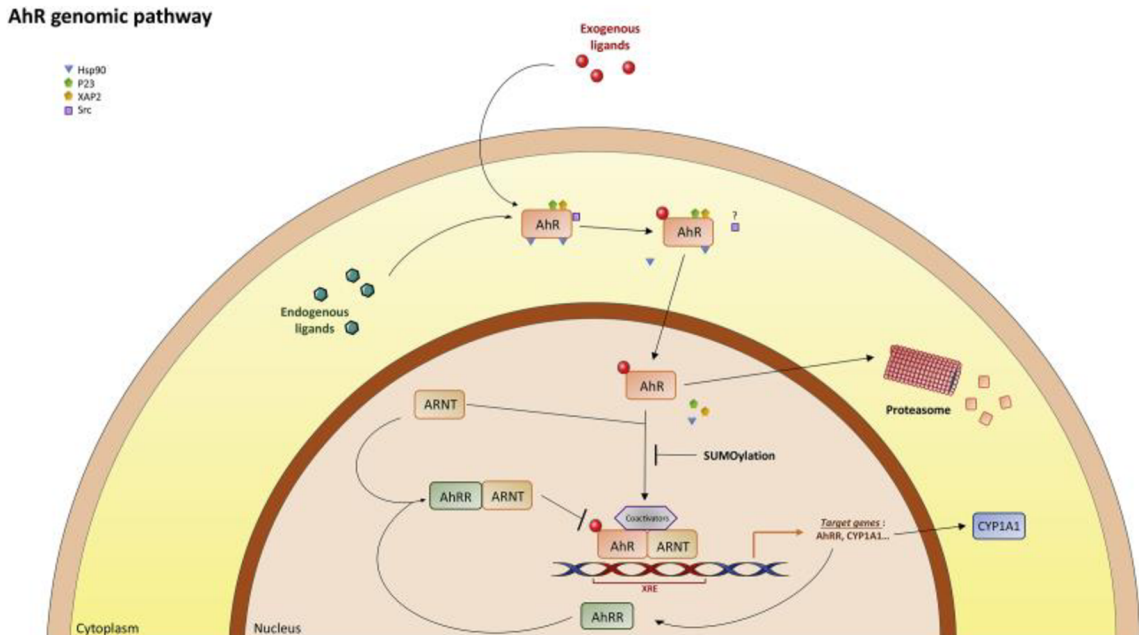
#### 3.1.1 Signalizácia aryl uhľovodíkového receptora

AhR obsahuje charakteristický štruktúrny motív helix-loop-helix (bHLH) nachádzajúci sa v N-koncovej doméne. Ďalej sa skladá z C-koncovej variabilnej domény a centrálnej PAS domény, ktorá má dve degenerované opakovania A a B. Práve centrálna PAS doména sprostredkúva heterodimerizáciu AhR s jadrovým translokátorom aryl uhľovodíkového receptora (ARNT). PAS doména sa podieľa aj na rozpoznávaní DNA, väzbe ligandu a interakcii chaperónov. bHLH doména je dôležitá pri väzbe DNA a dimerizácii. Transkripciu po väzbe DNA aktivuje transaktivačná doména (TAD), ktorá je súčasťou C-koncovej variabilnej domény (Stevens *et al.*, 2009).

Neaktívny AhR je súčasťou multiproteínového komplexu, ktorý je okrem AhR tvorený dvomi HSP90 chaperónmi (90 kDa heat-shock protein), malým proteínom p23 a proteínom XAP2. Tento chaperonový komplex AhR zabezpečuje stabilitu AhR v cytoplazme, zabraňuje jeho transkripčnej aktivácii, ale zároveň ho udržiava v konformácii s vysokou afinitou k jeho ligandom. Jedna molekula HSP90 je viazaná na oblasť PAS v AhR a druhá molekula HSP90 interaguje v základnej oblasti helix-loop-helix a oblasti PAS. Chaperonový komplex stabilizuje XAP2 priamou interakciou s HSP90 a AhR. Pred degradáciou sprostredkovanou ubikvitináciou ho chráni ko-chaperón p23, ktorý tiež zabezpečuje cytoplazmatickú lokalizáciu AhR. Cytoplazmatickú lokalizáciu AhR zvyšuje XAP2 inhibíciou interakcie komplexu AhR s importínom- $\beta$  (Rothhammer *et* Quintana, 2019). Súčasťou tohto multiproteínového komplexu AhR je aj proteín kináza SRC zúčastňujúca sa prvotných krokov aktivácie AhR po väzbe ligandu. Proteín kináza SRC sa následne podieľa na negenomických mechanizmoch signalizácie AhR (Enan *et* Matsumura, 1996).

Pomocou AhR môže byť aktivovaných viacero signálnych dráh. Jednou z nich je genomická signálna dráha, v ktorej sa AhR po naviazaní ligandu translokuje do jadra a dochádza k disociácii multiproteínového komplexu (vid' Obr. č. 1). Transport proteínu do jadra je sprostredkovaný interakciou AhR s transportínom a importínom- $\beta$  (Rothhammer *et* Quintana, 2019). Po translokácii do jadra sa AhR viaže na ARNT (AhR jadrový translokátor) za vzniku aktívneho heterodiméru, čo poskytuje kompletný transkripčný faktor v jadrovom kompartmente buniek. Tento heterodimér AhR-ARNT viaže špecifické sekvencie DNA, ktoré sú lokalizované v promotórových oblastiach cieľových génov. Heterodimér AhR-ARNT sa buď viaže na špecifické oblasti DNA označované DRE (dioxin-responsive elements) alebo XRE (xenobiotic-responsive elements), ktoré obsahujú 5'-TNGCGTG-3' motív. Následne je upregulovaná transkripcia cieľových génov. Po exparte z jadra dochádza k proteazomálnej degradácii AhR, ktorá zahŕňa jeho kovalentnú väzbu ubikvitínu. V genomickej dráhe AhR je jedným z cieľových aktivovaných génov AhR represor (AhRR). AhRR kvôli absencii PAS B domény nie je schopný viazať ligandy a jeho C-variabilná doména je transrepresorovou doménou. AhRR viaže korepresory zapojené do negatívnej regulačnej slučky pre AhR a svojou väzbou na ARNT a následne XRE potláča aktivitu AhR. Proteozomálna degradácia AhR a negatívna regulačná slučka tak zabezpečujú ochranu biologických

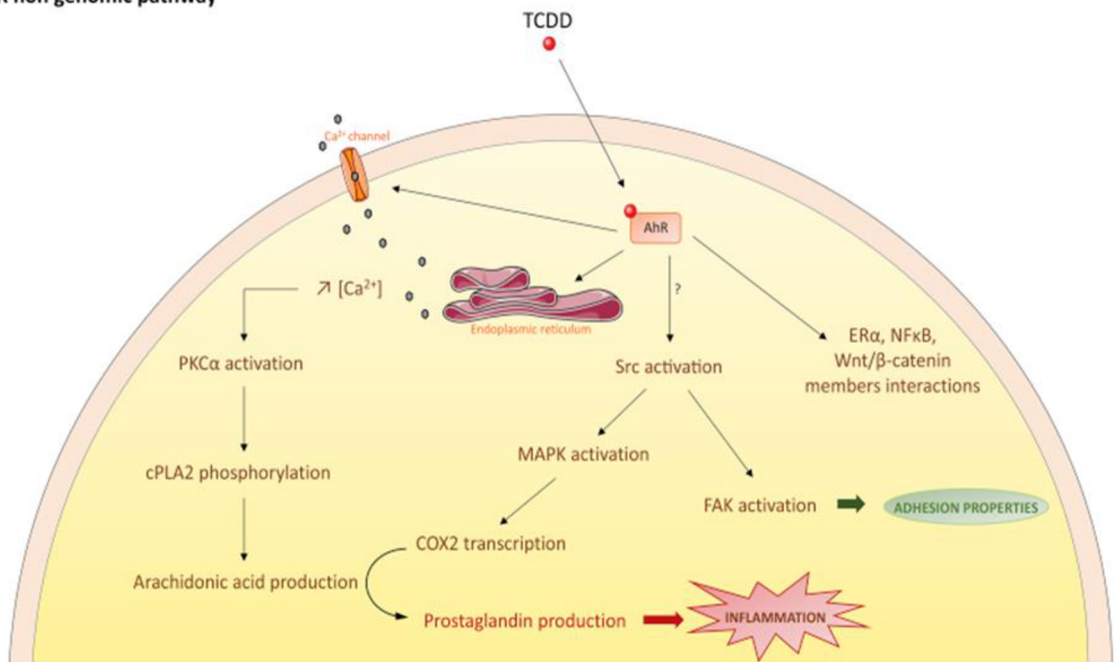
systemov pred nadmernou stimuláciou a zároveň dočasnú kontrolu signalizácie (Hahn *et al.*, 2008).



Obr. č. 1: Genomická dráha AhR (prevzaté z Larigot *et al.*, 2018).

Identifikovaných bolo aj niekoľko nengenomických dráh (viď Obr. č. 2). V prípade expozície TCDD dochádza prostredníctvom nengenomického pôsobenia ligandom aktivovaného AhR k rýchlemu zvýšeniu intracelulárnej koncentrácie vápnika. Tento prítok vápnika aktivuje proteínkinázu C (PKC $\alpha$ ), ktorá fosforyluje serínový zvyšok cytosolickej fosfolipázy A2, čo vedie k produkcii kyseliny arachidónovej. TCDD tiež spôsobuje uvoľnenie tyrozínkinázy SRC z komplexu AhR, čím dochádza k jej funkčnej aktivácii. Jej uvoľnenie z komplexu AhR môže byť sprevádzané aktiváciou fokálnej adhéznej kinázy a modifikáciou adhézných vlastností bunky narušením fokálnych adhézných bodov (Tomkiewicz *et al.*, 2013). Ďalej môže aktiváciou SRC dôjsť aj k aktivácii MAP kináz, ERK1 a ERK2. Tieto procesy sa zbiehajú, čo vedie k transkripcii cyklooxygenázy 2 (COX2), ktorá využíva kyselinu arachidonovú k produkcii prostaglandínov spôsobujúcich zápal. TCDD tak aktivuje nengenomické signálne dráhy, ktorých účinok pretrváva dlhú dobu a vedie k stimulácii zápalu (Matsumura, 2009).

AhR non genomic pathway



Obr. č. 2 : Negenomická dráha AhR (prevzaté z Larigot *et al.*, 2018).

## 3.2 Vplyv AhR na atopickú dermatitídu

Pri udržiavaní homeostázy kože zohráva dôležitú úlohu signalizácia AhR tým, že reguluje metabolizmus environmentálnych toxínov, oxidačného stresu, fotoindukovanej reakcie, diferenciácie keratinocytov a epidermálnej bariéry. Všetky typy kožných buniek exprimujú AhR a zároveň sa v koži vyskytujú jeho exogénne aj endogénne ligandy (Esser *et al.*, 2013). Podľa viacerých štúdií môže AhR po aktivácii niektorými exogénnymi ligandmi vyvolať terminálnu diferenciáciu, zvýšiť hladiny expresie antimikrobiálnych proteínov a proteínov, ktoré súvisia s epidermálnou bariérou, čím prispieva k jej funkcii (van den Bogaard *et al.*, 2021). Pri niektorých kožných ochoreniach je žiadúce blokovanie aktivácie AhR a naopak v niektorých prípadoch je prospešná práve stimulácia jeho aktivácie.

### 3.2.1 Koža a epidermálna bariéra

Koža je najväčším orgánom, ktorý pokrýva celý vonkajší povrch tela. Pre organizmus zabezpečuje ochranu pred exogénnymi faktormi, zúčastňuje sa na metabolických a imunologických procesoch, má resorpčnú a termoregulačnú funkciu a je prvou líniou obrany proti patogénom. Ide o komplexný orgán zložený z množstva typov buniek a mikroštruktúr, ktoré sa navzájom podieľajú na podpore homeostázy tela. Má tri hlavné vrstvy hypodermis, dermis a epidermis. Najhlbšou vrstvou kože je hypodermis pozostávajúca najmä z tukového tkaniva. Za ňou nasleduje hrubá vrstva spojivového tkaniva dermis. Je tvorená z elastínu a kolagénu, ktoré zabezpečujú pevnosť a pružnosť kože. V *dermis* sa nachádzajú nervové zakončenia, krvné a lymfatické cievy, vlasové folikuly, potné a mazové žľazy. Je rozdelená na papilárnu dermis, ktorá tvorí hornú vrstvu a retikulárnu dermis tvoriaca spodnú vrstvu. Vonkajšia vrstva kože epidermis priamo chráni telo pred vonkajším prostredím. Ide o vrstvený skvamózny epitel zložený zo štyroch vrstiev. Najhlbšou vrstvou epidermis je *stratum basale* obsahujúca melanocyty, keratinocyty a kmeňové bunky. Ďalej nasleduje vrstva *stratum spinosum* s dendritickými bunkami. *Stratum granulosum* obsahuje bunky s keratohyalínovými granulami a lamelárnymi granulami. V hrubšej koži na dlaniach a chodidlách sa nachádza *stratum lucidum* zložené z eleidínu, ktorý vzniká transformáciou keratohyalínu

(Yousef *et al.*, 2022). Najvrchnejšia vrstva *epidermis* je *stratum corneum* tvorená sploštenými, bezjadrovými korneocytmi, ktoré sú obklopené planárnymi lamelami obohatenými o ceramidy, cholesterol a voľné mastné kyseliny (Elias, 2008).

Epidermálna bariéra je súbor špecifických funkcií, medzi ktoré patrí udržiavanie obsahu vody a rovnováhy, prevencia a reakcia na mikrobiálne organizmy a antigény, zníženie účinkov vystavovania ultrafialovému žiareniu (UV) a zmiernenie účinkov oxidačných stresov. Všetky tieto funkcie sú dynamické a zabezpečujú udržiavanie zdravej pokožky. Týmto spôsobom je pomocou epidermálnej bariéry udržiavaná integrita kože. Pre bariérovú funkciu kože a udržanie hydratácie je dôležitá vrstva *stratum corneum* (SC). Základnými zložkami SC sú terminálne diferencované keratinocyty, tzv. korneocyty obklopené vysoko organizovanou lipidovou maticou. Vo vnútri korneocytov sú pomocou filagrínového proteínu agregované keratínové filamenty. Filagrín (FLG) je tiež spolu s ďalšími proteínmi zosieťovaný do zrohovateného bunkového obalu, ktorý slúži ako skelet pre extracelulárnu lipidovú maticu. Produkty degradácie FLG sa z časti podieľajú na schopnosti zadržiavať vodu a udržiavať kyslé pH SC reguláciou aktivity viacerých enzýmov. Mutácie straty funkcie vo FLG sú hlavným determinantom jeho expzie v koži (Thomsen, 2014). Ceramidy, cholesterol a mastné kyseliny sú základnými zložkami medzibunkovej lamelárnej lipidovej membrány. Vplyvom exogénnych faktorov môže dochádzať k zmenám integrity SC, čím dôjde k zvýšeniu transepidermálnej straty vody (TEWL) a zmene proteínov a lipidov v SC. Ak nie je zabezpečená kompenzácia týchto faktorov, tak dochádza k strate elasticity kože, jej zvýšenej rigidite, neúplnej deskvamácii a epidermálnej proliferácii. Jedinci trpiaci atopickou dermatitídou, psoriázou, ichtyózou a inými chorobnými stavmi, vykazujú inherentné poruchy SC a v prípade, že dochádza aj k pôsobeniu exogénnych a endogénnych faktorov, je narušená funkčná integrita SC a funkcia epidermálnej bariéry (Rosso *et al.*, 2016).

### **3.2.2 Atopická dermatitída**

Atopická dermatitída (AD) je chronické zápalové ochorenie kože, ktorého klinickými a histopatologickými znakmi sú erytém, strata epidermálnej bariérovej funkcie, medzibunkový epidermálny edém a apoptóza keratinocytov. Najčastejšie je

AD lokalizovaná na tvári, krku a ohyboch končatín. Podľa posledných odhadov je prevalencia tohto ochorenia 15-20 % u detí a 1-3 % u dospelých (Nutten, 2015). Medzi kritické faktory pre vznik atopickej dermatitídy patrí genetická predispozícia, narušenie epidermálnej bariéry a dysregulácia imunitného systému. Predovšetkým defekty v epidermálnej bariére patria medzi časté patologické nálezy v koži s AD. Pre správne fungovanie epidermálnej bariéry sú kľúčové medzibunkové proteíny, FLG, transglutaminázy a keratín. K iniciácii ochorenia prispieva aj abnormálne vystavenie vonkajším spúšťačom, ako sú napríklad alergény, ktorým uľahčujú prenikanie do pokožky práve defekty týchto proteínov (Kim *et al*, 2019).

Eozinofília v periférnej krvi a zvýšené sérové koncentrácie IgE sú typické pre väčšinu pacientov s AD. Koža tvorí rozhranie medzi vonkajším prostredím a systémovou imunitnou odpoveďou. To jej umožňuje priamo reagovať s alergénmi, ktoré sú aplikované epikutánne a tak ovplyvňovať systémovú alergickú reakciu. Až u 80 % detí s AD sa vyvinie alergická rinitída alebo astma, čo vedie k predpokladu, že alergénová sensibilizácia cez kožu predisponuje ľudí k ochoreniam dýchacích ciest (Beck *et* Leung, 2000). So sérovými koncentraciami IgE nepriamo koreluje interferón  $\gamma$ , pri ktorom práve mononukleárne bunky periférnej krvi pacientov s AD majú zníženú kapacitu na jeho produkciu. Toto môže byť spôsobené nedostatkom IL-18, ktorý je induktorom produkcie interferónu  $\gamma$  (Higashi *et al.*, 2001). U pacientov s AD je zvýšená frekvencia Th2 buniek, ktoré produkujú IL-4, IL-5 a IL-13, ale malé množstvo interferónu  $\gamma$  (van Reijssen *et al.*, 1992). Práve IL-4 a IL-13 sú jediné cytokíny podporujúce izotopovú zmenu na IgE. Indukujú aj expresiu molekúl vaskulárnej adhézie, ktoré sa podieľajú na infiltrácii eozinofilov a znižujú aktivitu cytokínov typu Th1. Interferón  $\gamma$  naopak inhibuje syntézu IgE a proliferáciu Th2 buniek (Leung *et* Bieber, 2003).

Strata funkčných mutácií FLG je ďalším znakom AD, ktorý je pozorovaný u mnohých jedincov trpiacich atopickou dermatitídou. Táto strata funkčných mutácií ovplyvňuje epidermálnu bariéru, čo následne vedie k penetrácii antigénu do spodných vrstiev epidermis, aktivácii imunitnej odpovede a narušeniu homeostázy vody (Drislane *et* Irvine, 2020). FLG je kódovaný génom v epidermálnom diferenciačnom komplexe (EDC), ktorý je lokalizovaný na chromozóme 1q21.3. Gén FLG kóduje prekursorový proteín pro-FLG zložený z hydrofóbných aminokyselín, ktorý je za normálnych okolností proteolyticky štiepený a defosforylovaný na FLG monoméry. Následne sú produktami degradácie FLG kyselina urokanová a kyselina pyrolidínkarboxylová, ktoré prispievajú

k hydratácii SC a udržiavaniu kyslého pH pokožky (Kim *et al.*, 2019). FLG nulové mutácie narušujú funkcie epidermálnej bariéry, čím zvyšujú riziko AD. K úplnej strate produktov FLG vedú mutácie R501X a 2282del4 FLG (Palmer *et al.*, 2006). Znížená expresia FLG znamená nízky keratohyalín typu F, čo vedie k nedostatku keratohyalínových granúl. Ich nedostatok spôsobuje narušenie vrstvy *stratum granulosum* a toto narušenie ovplyvňuje diferenciáciu a rast normálneho SC. Homozygotné mutácie FLG zvyšujú riziko skorého nástupu ťažšej AD, ktorá pretrváva dlhodobo a je sprevádzaná kožnými infekciami. Na znížených epidermálnych hladinách FLG sa podieľajú aj enviromentálne faktory (Drislane *et Irvine*, 2020).

Zvýšené riziko AD je spojené tiež s imunitnou dysreguláciou a zmenami v signálnej dráhe Th2. Signalizácia Th2 cytokínov IL-4/IL-13 spôsobuje downreguláciu FLG, lorikrínu (LOR) a involukrínu (IVL) prostredníctvom aktivácie STAT6 (signal transducer and activator of transcription 6). Downregulácia FLG, LOR a IVL vedie k zhoršeniu epidermálnej terminálnej diferenciácie, ktorej výsledkom je bariérová dysfunkcia (Furue *et al.*, 2019). Th2 cytokíny tiež inhibujú expresie antimikrobiálnych peptidov (AMP), ktoré sú produkované keratinocytmi. Imunomodulačné vlastnosti AMP zabezpečujú aktiváciu imunitných buniek pri obrane hostiteľa proti infekciám. Preto ich znížená expresia následne vedie k vyššej náchylnosti ku kolonizácii *Staphylococcus aureus*, ktorá potom môže viesť k zhoršeniu AD (Kim *et al.*, 2019). Rovnako produkcia cytokínu IL-17 znižuje expresiu FLG a IVL. S abnormálnymi epidermálnymi markermi, ktorými sú keratín 6 a keratín 16 je spájaný IL-22 (Nogralles *et al.*, 2009).

Lipidová membrána organizovaná v lamelárnych telieskach vyplňajúca priestor medzi korneocytmi je tvorená ceramidmi, masnými kyselinami a cholesterolom. Na udržanie integrity epidermálnej bariéry sú dôležité najmä hlavné triedy lipidov. Ceramidy E0 s dlhým reťazcom sú kovalentne viazané na proteíny zrohovateného obalu a tvoria povrch korneocytov. U pacientov s AD, u ktorých došlo ku kolonizácii *S. aureus* dochádza prostredníctvom cytokínov Th2 spôsobom závislým od STAT6 k zníženiu hladín ceramidov E0 a voľných masných kyselín s dlhým reťazcom (Kim *et al.*, 2019).

U koži AD počas vzplanutia dochádza k zníženiu bakteriálnej diverzity, ktorá je spojená so zvýšeným výskytom *Staphylococcus* a *Corynebacterium* (Bjerre *et al.*, 2017). Práve *Styphylococcus aureus* kolonizujúci kožu spôsobuje rozvoj AD upreguláciou prozápalových cytokínov TSLP, IL-4, IL-12 a IL-22. Je schopný vyvolať expanziu



B-buniek nezávislú od T-buniek a tieto procesy potom vedú k vychýleniu Th2 a zápalu kože (Nakatsuji *et al.*, 2016).

### 3.2.3 Vplyv aktivácie AhR na rozvoj atopickej dermatitídy

AhR je exprimovaný vo všetkých typoch kožných buniek, čím sa podieľa na patogenéze rôznych kožných ochorení. Pozitívne alebo negatívne dôsledky aktivácie AhR v koži závisia od prítomnosti alebo neprítomnosti patologického stavu, špecifického ligandu, ktorý spúšťa aktiváciu alebo inhibíciu AhR a ďalších faktorov (Furue *et al.*, 2019). V zdravej koži je AhR konštitutívne aktívny a jeho signalizačné procesy sú pevne vyvážené.

Atopická dermatitída je spôsobená komplexnou interakciou imunitnej dysregulácie, epidermálnych génových mutácií a faktorov prostredia, ktoré narúšajú epidermis a tým spôsobujú intenzívne svrbivé kožné lézie. Tento chronický zápal kože je často spájaný s hyperreaktivitou na enviromentálne spúšťače (Leung *et Bieber*, 2003). Podľa štúdií s prevalenciou AD pozitívne korelujú tuhé častice v znečistení ovzdušia. Medzi hlavnú organickú zložku tuhých častíc patria polycyklické aromatické uhľovodíky (PAH). Sú schopné, vďaka svojej lipofilnej povahe, ľahko prenikať do vrstvy *stratum corneum* a vyvolávať zápal (Hidaka *et al.*, 2017).

#### 3.2.3.1 Neurotrofický faktor artemín

Znečisťujúce látky v ovzduší obsahujú organické zložky schopné aktivovať AhR. Ide predovšetkým o polycyklické aromatické uhľovodíky, ktoré prenikajú do vrstvy *stratum corneum* a sú dlhodobo zadržované v koži. PAH sú ligandmi AhR a spôsobujú jeho aktiváciu, ktorá je nasledovaná expresiou génov kódujúcich detoxikačné enzýmy (Hidaka *et al.*, 2017).

V štúdií, ktorú vykonal Hidaka a kolektív bol pomocou transgéennej myši analyzovaný účinok chronickej expozície PAH na kožu. Jej keratinocyty boli schopné exprimovať konštitutívne aktívnu formu AhR (AhR-CA) pod kontrolou promotóra génu

kódujúceho keratín-14, ktorý je exprimovaný v keratinocytoch. V počiatočnej fáze výskumu bolo dôležité zistiť do akej miery sú myši AhR-CA schopné vyvíjať fenotypy podobné AD. Hodnotený bol alergický zápal kože, svrbenie a bariérová dysfunkcia. U myši AhR-CA bola zvýšená expresia génov kódujúcich prozápalové cytokíny a gény kódujúce produkty príbuzné Th2. Na rozdiel od pacientov s AD, u ktorých sú pozorované dysfunkcie a downregulácie FLG, u transgénnych myši bol FLG zvýšený. Rovnako došlo v epidermis myši aj k upregulácii génov kódujúcich molekuly, ktoré súvisia s epidermálnou bariérou. Záver tejto štúdie naznačuje, že AhR-CA myši vyvíjali fenotypy podobné AD vyvolané enviromentálnym faktorom (Hidaka *et al.*, 2017).

Týmto spôsobom boli vyvinuté fenotypy podobné AD, vďaka ktorým bolo následne zistené, že chronická aktivácia AhR špecifická pre keratinocyty vyvolala aloknézu expresiou neurotrofického faktora artemínu. Gén *ARTN*, ktorý kóduje artemín, bol identifikovaný ako cieľový gén AhR špecifický pre keratinocyty. *ARTN* bol identifikovaný pomocou analýzy keratinocytov exprimujúcich AhR-CA imunoprecipitáciou chromatínu a sekvencovaním (ChIP-seq). Expresia artemínu, aloknéza a alergický zápal v koži myši vyvolaný prostredníctvom AhR, boli zvýšené vplyvom látok znečisťujúcich ovzdušie (Hidaka *et al.*, 2017).

Rovnako pozitívne koreluje aktivácia AhR s expresiou *ARTN* v epidermis pacientov s AD. V porovnaní s epidermou zdravých jedincov bola v epiderme pacientov s AD zvýšená expresia *ARTN* a *CYP11A1*. Medzi expresiou *ARTN* a *CYP11A1* bola mierna korelácia naznačujúca, že os AhR-artemín prispela k patogenéze AD. U pacientov s AD bola pozorovaná aj epidermálna hyperinervácia nervami PGP9.5, ktorá je v súlade so zvýšenou expresiou artemínu. Silná aktivácia AhR zvyšujúca zápal u pacientov s AD je sprevádzaná vysokou expresiou TSLP (thymic stromal lymphopoietin). TSLP je kľúčovým mediátorom imunitných odpovedí typu 2 a promótorom ochorení sprostredkovaných Th2 bunkami, medzi ktoré patrí aj AD. Genetické varianty TSLP ovplyvňujú závažnosť a pretrvávanie AD. Pomocou HEKns a HaCaT buniek bolo skúmané či látky znečisťujúce ovzdušie zvyšujú upreguláciu *ARTN* v závislosti od AhR. Tieto bunky boli vystavené DEP (diesel exhaust particles), s predbežným ošetrením GNF351, čo je antagonist AhR, alebo bez tohto ošetrenia. Ošetrenie antagonistom zmiernilo DEP-indukovanú upreguláciu *ARTN* a *CYP11A1* v HEKns a HaCaT bunkách. V bunkách bez predbežnej úpravy bola po podaní DEP indukovaná expresia *ARTN*

a *CYP1A1*. Látky znečisťujúce ovzdušie v tomto prípade spôsobili v závislosti od AhR upreguláciu *ARTN* mRNA v ľudských keratinocytoch (Hidaka *et al.*, 2017).

Táto štúdia preukazuje, že látky znečisťujúce ovzdušie sú schopné aktivovať AhR v keratinocytoch, čo spôsobí indukciu rôznych fenotypov podobných AD. Táto špecifická aktivácia AhR v keratinocytoch indukuje cieľové gény AhR, ktorými sú *ARTN*, *TSLP* a *IL33*. Dôležitá bola identifikácia *ARTN* ako cieľového génu AhR, ktorého produkt artemín indukuje epidermálnu hyperinerváciu nervami TRPV1 a aloknézu u myši AhR-CA, ktoré boli v tomto výskume použité (Hidaka *et al.*, 2017). Artemín patrí spolu s neurturinom a persephinom do rodiny neurotrofických faktorov odvodených z línie neurotrofických faktorov odvodených od gliových buniek (GDNF). Viazne proteín GFR $\alpha$ 3 ukotvený v glykozylfosfatidylozitolu a receptorovú tyrozínkinázu Ret. K expresii receptora GFR $\alpha$ 3 dochádza primárne v perifernom nervovom systéme v subpopulácii nociceptívnych senzorických neurónov ganglií spinálneho ganglionu. Tie koexprimujú receptorové tyrozínkinázy Ret a TrkA a termosenzitívny kanál TRPV1 (Elitt *et al.*, 2006). Nadmernou expresiou artemínu v epidermis došlo k indukcii expresie TRPV1 a TRPA1 v primárnych aferentných nervoch. Tieto pozorovania podporujú návrh, že produkcia artemínu v epidermis je dostatočná na vyvolanie intraepidermálneho predĺženia nervov súvisiacich so svrbením (Hidaka *et al.*, 2017).

K AhR ligandom patria nedegradovateľné exogénne ligandy a degradovateľné prírodné ligandy, ktoré aktiváciou AhR môžu vyvolávať indukciu expresie rôznych súborov génov. V tomto prípade indukovala chronická lokálna aplikácia DMBA (7,12-dimetylbenz[a]antracén) fenotypy podobné AD. Tento exogénny ligand je nedegradovateľný a zostáva v koži, čím dochádza k predĺženej aktivácii AhR. Naopak pri lokálnej aplikácii endogénneho ligandu FICZ (6-formylindolo[3,2-b]karbazol) nedochádza k indukcii fenotypov podobných AD. Predpokladá sa, že lokálne aplikovaný FICZ je rýchlo metabolizovaný, čo vedie k jeho degradácii pred indukciou cieľových génov AhR, ktoré súvisia s AD. Podľa týchto zistení je na vyvolanie svrbivých symptómov AD potrebná dlhodobá aktivácia AhR látkami znečisťujúcimi ovzdušie. Napriek tomu, že AhR sprostredkúva indukciu fenotypov podobných AD u myši, stále nie jasné či os AhR-artemín je príčinou vývoja ľudskej AD (Hidaka *et al.*, 2017).

### 3.2.4 Obnova kožnej bariéry závislá na AhR

Patogenéza atopickej dermatitídy je riadená bunkami adaptívneho imunitného systému, predovšetkým Th2 lymfocytmi. Z nich odvodené cytokíny IL-4 a IL-13 spôsobom závislým od STAT6 prispievajú k rozvoju ochorenia a jeho symptómom. AD je zároveň iniciovaná nadmerným vystavením vonkajším spúšťačom, ako sú napríklad alergény. Taktiež môže byť spôsobená narušenou funkciou kožnej bariéry vplyvom mutácií súvisiacich so stratou funkcie v gène filagrín. S AD je spojená jeho haploinsuficiencia aj úplná strata, a riziko rozvoja ochorenia je určené množstvom jeho opakovaní (van den Bogaard *et al.*, 2013). Okrem FLG prispievajú k tvorbe epidermálnej bariéry a obnoveniu integrity kože aj proteíny involucrín (IVL) a lorikrín (LOR). Tieto proteíny sú taktiež downregulované prostredníctvom nadmernej expresie IL-4 a IL-13, ktorá je typická pre akútnu AD (Kim *et al.*, 2008). Expresia FLG a LOR je upregulovaná prostredníctvom signalizácie AhR/ARNT, ktorá aktivuje transkripčný faktor podobný OVO 1 (OVOL1). Expresia IVL je pomocou AhR upregulovaná nezávisle od OVOL1. Týmto spôsobom signalizácia AhR/ARNT urýchľuje epidermálnu terminálnu diferenciáciu a pomáha oprave poškodenej epidermálnej bariéry. Vhodnou aktiváciou AhR môže byť inhibovaný cytokínmi (IL-4/IL-13) aktivovaný transkripčný faktor STAT6, čím tiež pomáha zvýšeniu expresie FLG, LOR a IVL (Furue *et al.*, 2019).

#### 3.2.4.1 Lokálna aplikácia uhoľného dechtu

AhR je exprimovaný každým typom kožných buniek, vrátane keratinocytov, sebocytov, fibroblastov, melanocytov, endotelových buniek, lymfocytov a Langerhansových buniek. Prostredníctvom aktivácie AhR je regulovaná expresia proteínov epidermálnej bariéry a urýchľovaná diferenciácia terminálnych keratinocytov. Pri špecifickej aktivácii AhR môže byť modulovaná homeostáza kože a kožné patologické procesy, ku ktorým patrí aj AD (Fernández-Gallego *et al.*, 2021).

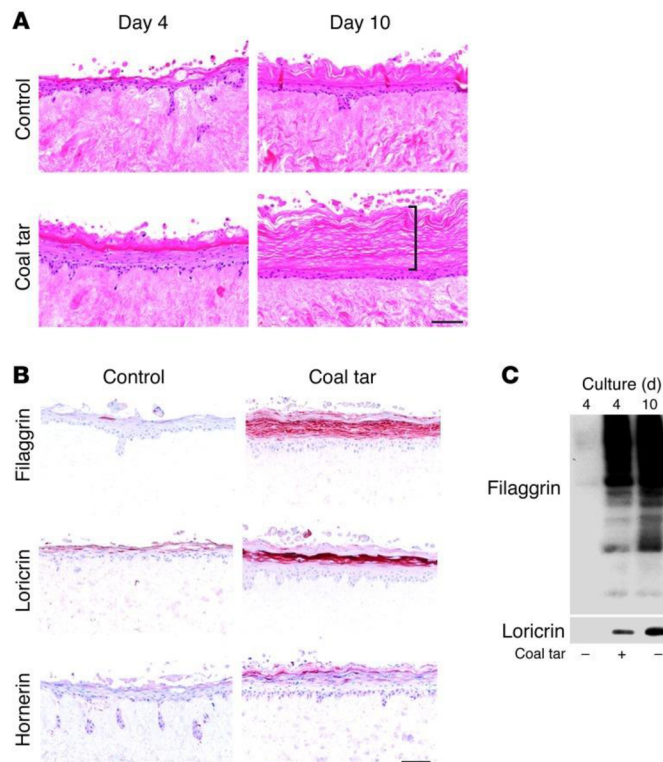
Jednou z najstarších terapií atopickej dermatitídy je lokálna aplikácia uhoľného dechtu. Uhoľný decht je vedľajším produktom deštruktívnej karbonizácie a destilácie

uhlia. Obsahuje viac ako 10 000 zlúčenín, ktoré sú zložené z približne 48 % uhl'ovodíkov, 42 % uhlíka a 10 % vody. Obsahuje aj veľké množstvo polycyklických aromatických uhl'ovodíkov (PAH). Tieto PAH sú metabolizované a detoxikované pomocou keratinocytov, v ktorých dochádza k aktivácii cytoplazmatického transkripčného faktora AhR. Následne AhR indukuje enzýmy CYP450. Uhoľný decht je teda schopný aktivovať signálnu dráhu AhR, čo podľa štúdie van des Bogaard a kolektívu vedie k zvýšeným hladinám FLG a inhibícii signálnej dráhy IL-4/STAT6. Aktivácia AhR vplyvom uhoľného dechtu teda vedie k zvýšenej epidermálnej diferenciacii, čím sa zvyšuje funkcia epidermálnej bariéry a tlmí reakcia keratinocytov na cytokíny, ktoré sa podieľajú na rozvoji AD. AhR zohráva dôležitú úlohu v molekulárnom mechanizme liečby AD pomocou lokálnej aplikácie uhoľného dechtu (van den Bogaard *et al.*, 2013).

Táto štúdia van des Bogaard a kolektívu skúmala molekulárne mechanizmy liečby atopickej dermatitídy pomocou aplikácie uhoľného dechtu. V prvej časti výskumu bolo zistené, že uhoľný decht je schopný aktivovať AhR v kultivovaných dospelých primárnych ľudských keratinocytoch a po naviazaní ligandu dochádza k jeho translokácii do jadra. Vplyvom aktivácie AhR dochádza v keratinocytoch k zvýšeniu expresie CYP1A1 a CYP1B1. Uhoľný decht spôsobuje aj na koncentrácii závislú indukciu epidermálnych diferenciačných génov *FLG*, hornerínu (*HRNR*) a *IVL*. Aby sa potvrdilo toto zistenie, bol skúmaný knock-down AhR, ktorý bol sprostredkovaný pomocou siRNA v keratinocytoch. Týmto spôsobom došlo k zníženiu expresie *AhR* o 79 % a zároveň aj k zníženiu cieľového génu *CYP1A1* o 82 %. Knock-down AhR spôsobil aj pokles expresie epidermálnych diferenciačných génov *FLG* a *HRNR*, ktorá bola indukovaná uhoľným dechtom. Na základe týchto údajov je možné tvrdiť, že uhoľný decht indukuje epidermálnu diferenciaciu regulovanú signálnou dráhou AhR, keďže je schopný vyvolať expresiu filagrínu v skorých štádiách diferenciacie keratinocytov (van den Bogaard *et al.*, 2013).

Pomocou organotypických modelov ľudskej kože boli hodnotené účinky uhoľného dechtu počas epidermálnej morfogénzy. Prvé 3 dni prebiehala submerzná kultivácia kožných ekvivalentov a na 4. deň došlo k ich zdvihnutiu na rozhranie vzduch-kvapalina, pričom bolo doplnené kultivačné médium uhoľným dechtom. Plne vyvinutá epidermis bola pozorovaná u ekvivalentov kože ošetrených uhoľným dechtom po 4 dňoch kultivácie na rozhraní vzduch-kvapalina. Tieto ošetrené kožné ekvivalenty produkovali od štvrtého dňa terminálne diferencovné bunky, čím došlo na 10. deň na

rozhraní vzduch-kvapalina k vzniku hrubej vrstvy *stratum corneum*. Rovnako došlo v kožných ekvivalentoch ošetrovaných uhoľným dechtom k vysokej hladine expresie FLG, LOR a HRNR už na 4. deň, pričom sú za normálnych okolností exprimované od 6. dňa kultivácie. Na rozdiel od toho u ekvivalentov neošetrenej kože bola plne vyvinutá epidermis až po 10 dňoch pôsobenia vzduchu (viď Obr. č. 3). To potvrdzuje, že ošetrovanie uhoľným dechtom *in vitro* vedie k zrýchlenej epidermálnej diferenciácii, ktorá je sprevádzaná indukovanou expresiou terminálnych diferenciačných proteínov (van den Bogaard *et al.*, 2013).



Obr. č. 3: Vplyv uhoľného dechtu na zrýchlenie epidermálnej diferenciácie (prevzaté z van den Bogaard *et al.*, 2013).

(A) Ekvivalenty ľudskej kože kultivované na rozhraní vzduch-kvapalina v prítomnosti uhoľného dechtu. Kontrolná vzorka kultivovaná v neprítomnosti uhoľného dechtu.

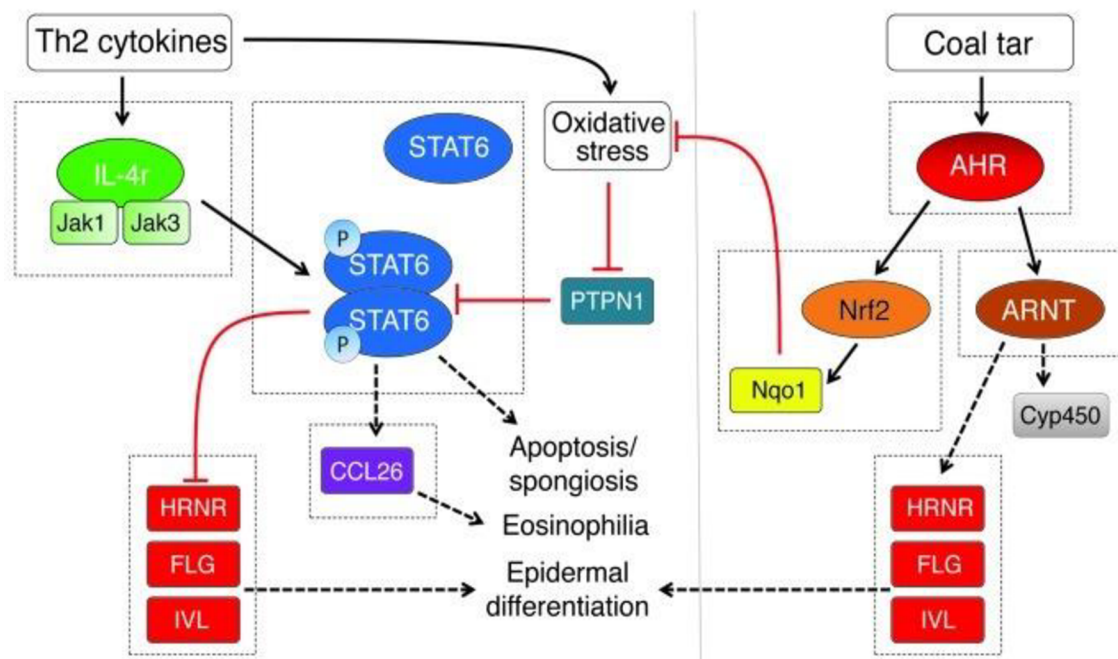
(B) Imunohistochemické farbenie filaggrínu, lorikrínu a hornerínu v kožných ekvivalentoch na 4. deň kultúry na rozhraní vzduch-kvapalina v prítomnosti alebo neprítomnosti uhoľného dechtu. (Výsledky sú reprezentatívne pre 3 darcov keratinocytov). Mierka: 100  $\mu$ m

(C) Pomocou Western blottingu stanovený filaggrín a lorikrín v kožných ekvivalentoch ošetrovaných uhoľným dechtom a bez jeho prítomnosti.

Na keratinocytoch od zdravých dobrovoľníkov a pacientov s AD, s genotypom divokého typu alebo heterozygotnou mutáciou vo *FLG*, bol skúmaný vplyv liečby uhoľným dechtom na zvýšenie expresie *FLG*. Po ošetrení uhoľným dechtom došlo k značnej expresii filagrínového proteínu vo vrstve *stratum granulosum* v kožných ekvivalentoch keratinocytov s heterozygotnou mutáciou. Prítomnosť 2 intaktných alel *FLG* v keratinocytoch divokého typu spôsobila silnejšiu reakciu na aplikáciu uhoľného dechtu. Rovnako bola po ošetrení uhoľným dechtom upregulovaná aj expresia proteínu HRNR. K silne indukovanej expresii *FLG* a HRNR došlo v koži lézií s AD už po 3 dňoch liečby uhoľným dechtom. Zatiaľ čo pred liečbou je ich expresia výrazne nižšia a diskontinuálna v porovnaní s normálnou kožou. Vplyvom uhoľného dechtu bola v koži lézií s AD tiež výrazne upregulovaná expresia lorikrínových a involukrínových proteínov *in vitro* aj *in vivo* (van den Bogaard *et al.*, 2013).

V ďalšej časti výskumu boli kožné ekvivalenty stimulované IL-4 a IL-13, aby došlo k indukcii fenotypu AD *in vitro*. IL-4 a IL-13 spôsobujú spongiózu, apoptózu a tiež znižujú expresiu IVL a LOR pomocou signálnej dráhy STAT6. Uhoľný decht v kožných ekvivalentoch stimulovaných IL-4 a IL-13 zabránil výskytu spongiózy a apoptózy (van den Bogaard *et al.*, 2013). S AD je spojená aj eozinofília, ktorej stupeň korešponduje s jej závažnosťou. V kožných léziách u pacientov s AD dochádza aj k vysokej upregulácii CCL26, ktorý je chemokínom pre eozinofily. Prostredníctvom neho aktivované eozinofily následne uvoľňujú cytotoxické granulované proteíny, ktoré spôsobujú poškodenie tkaniva. Vysoká expresia CCL26 v keratinocytoch je stimulovaná IL-4 prostredníctvom signálnej dráhy STAT6 (Bao *et al.*, 2012). V ekvivalentoch AD kože bol preto analyzovaný aj CCL26 po ošetrení uhoľným dechtom a zistilo sa, že hladiny jeho expresie po stimulácii Th2 cytokínom boli vplyvom uhoľného dechtu znížené na úroveň CCL26 v kontrolných vzorkách. Uhoľný decht teda interferuje s odpoveďou keratinocytov po stimulácii Th2 cytokínmi. Účinky Th2 cytokínov pôsobia prostredníctvom signálnej dráhy STAT6, ktorá bola rovnako testovaná na vplyv uhoľného dechtu. Pomocou Western blottingu bolo stanovené, že stimulácia IL-4 a IL-13 indukuje fosforyláciu STAT6 v keratinocytoch. Následne boli tieto keratinocyty stimulované Th2 doplnené uhoľným dechtom na 6 hodín. V týchto bunkových lyzátoch boli pozorované znížené hladiny pSTAT6, čo je substrát pre proteín tyrozín fosfatázu 1B (PTPN1). Oxidačný stres vyvolaný stimuláciou Th2 cytokínov v keratinocytoch spôsobuje oxidačnú inaktiváciu PTPN1 a tým dochádza k trvalej fosforylácii STAT6.

AhR je senzor redoxného systému proti oxidačnému stresu a reguluje NRF2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), čo je hlavný spínač redoxného mechanizmu. Vplyvom uhoľného dechtu dochádza k jadrovej translokácii NRF2 a indukcii jeho cieľového génu NQO1 (NAD(P)H quinone dehydrogenase 1) v keratinocytoch. Týmto spôsobom aktivuje uhoľný decht signalizáciu NRF2, ktorá môže inhibovať oxidačný stres indukovaný Th2 a vedie k defosforylácii STAT6. Je teda aktivovaná dráha antioxidačného stresu, čím dôjde k zrušeniu zápalovej signalizačnej kaskády STAT6, ktorá je sprostredkovaná IL-4 a IL-13 (van den Bogaard *et al.*, 2013).



Obr. č. 4: Molekulárny model mechanizmu terapie uhoľným dechtom (prevzaté z van den Bogaard *et al.*, 2013).

Lokálna aplikácia uhoľného dechtu aktivuje AhR, ktorý svojou signálnou dráhou reguluje indukciu epidermálnej diferenciácie. Zrýchlená epidermálna diferenciácia je sprevádzaná indukovanou expresiou terminálnych diferenciačných proteínov, predovšetkým filaggrínu, lorikrínu a hornerínu. Taktiež normalizuje histopatologické a molekulárne znaky atopickej dermatitídy. Uhoľný decht je schopný aktivovať signálnu dráhu AhR/NRF2, ktorá umožňuje detoxikáciu reaktívnych foriem kyslíka. To zabraňuje oxidačnej inaktivácii PTPN1 a vedie k zníženiu signalizácie STAT6 aktivovanej cytokínmi IL-4 a IL-13, normalizácii expresie proteínov kožnej bariéry a downregulácii expresie CCL26 (van den Bogaard *et al.*, 2013).



Na základe týchto údajov je možné považovať AhR za farmakologický cieľ pri atopických alebo alergologických ochoreniach. Stále však napriek dlhej tradícii používania terapie uhoľným dechtom pri AD pretrvávajú obavy ohľadom bezpečnosti tejto liečby a možnej karcinogenity. Medzi krátkodobé vedľajšie účinky terapie uhoľným dechtom patrí podráždenie, kontaktná alergia a folikulitída. Čo sa týka karcinogenity neexistuje jasný dôkaz o zvýšenom riziku kožných nádorov a iných malignít po dermatologickom použití uhoľného dechtu. Expozícia uhoľnému dechtu vedúca k zvýšenej karcinogenite bola preukázaná v štúdiách na zvieratách a štúdiách v priemyselnom prostredí (Roelofzen *et al.*, 2007). Pri lokálnom použití uhoľného dechtu u ľudí podľa viacerých štúdií nebolo zistené výrazné zvýšenie karcinogenity. V štúdiu zahŕňajúcej 13 200 pacientov so psoriázou a ekzémom bolo skúmané zvýšené riziko vzniku rakoviny po expozícii uhoľnému dechtu. Pacienti liečení pomocou uhoľného dechtu boli porovnávaní s referenčnou skupinou pacientov, ktorí boli liečení dermatokortikosteroidmi. Došlo k zisteniu, že uhoľný decht nezvyšuje riziko nekožných malignít alebo riziko rakoviny kože. Z týchto výsledkov vyplýva, že uhoľný decht nie je asociovaný so zvýšeným rizikom rakoviny kože a jeho používanie v dermatologickej liečbe je bezpečné (Roelofzen *et al.*, 2010).

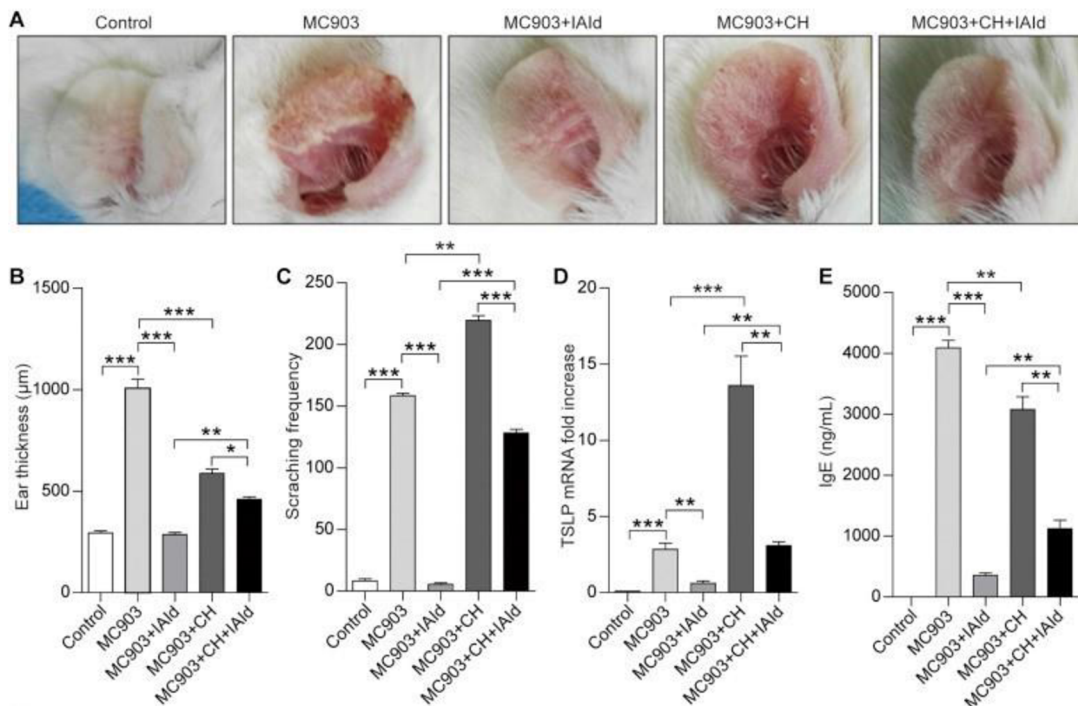
#### **3.2.4.2 Tryptofánový metabolit kožného mikrobiómu**

V patogenéze atopickej dermatitídy má dôležitú úlohu kožný mikrobióm. Kožná mikroflóra je tvorená z rôznych mikroorganizmov vrátane baktérií a húb. Kolonizáciou povrchu kože prispievajú tieto mikroorganizmy k správnej funkcii imunitného systému. Baktérie tvoria viac ako 60 % kožnej mikroflóry vo väčšine oblastí pokožky. Medzi bežné baktérie kolonizujúce pokožku patrí *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* a *Streptococcus*. 1-5 % kožnej mikroflóry je tvorenej hubami, ktorých najčastejším zástupcom je *Malassezia* (Hrestak *et al.*, 2022).

Koža pacientov s AD má zníženú mikrobiálnu diverzitu a nadmerné zastúpenie patogénneho *Staphylococcus aureus*, ktoré koreluje so závažnosťou AD. Tieto zmeny v mikrobiálnom zložení sú podporované narušenou funkciou kožnej bariéry, zvýšeným pH a zápalom kože. Pri AD dochádza vplyvom mutácií FLG k mešiemu množstvu produktov jeho rozkladu, akými sú kyselina urokánová a kyselina pyrolidónkarboxylová.

Ich znížené hladina prispieva k zvýšenému pH a tým proliferáciu *Staphylococcus aureus* (Li Fang Koh *et al.*, 2022). Metabolická funkcia kožného mikrobiómu u pacientov s AD je podstatne menej organizovaná ako u zdravých jedincov. Vrstva *stratum corneum* je bohatá na aminokyseliny odvodené z mŕtvych keratinocytov a porušeného keratínu, ktoré slúžia ako substráty pre metabolizmus tryptofánu kožným mikrobiómom (Jinlei Yu *et al.*, 2019). Tryptofán je esenciálna aminokyselina podieľajúca sa na imunitnej modulácii prostredníctvom rôznych metabolitov, medzi ktoré patrí indol a jeho deriváty. Dôležitým derivátom indolu je indol-3-aldehyd (IAId) podporujúci transkripciu IL-22 (Zelante *et al.*, 2013). U pacientov s AD dochádza v kožnom mikrobióme k oslabeniu tejto metabolickej dráhy tryptofánu. Hladina IAId je výrazne nižšia u pacientov s AD v porovnaní so zdravými jedincami (Jinlei Yu *et al.*, 2019).

V štúdiu Jinlei Yu a kolektívu bolo preukázané, že IAId z kožného mikrobiómu má regulačnú úlohu pri kontrole zápalu kože pri vzniku AD-podobnej dermatitídy. Účinky IAId sprostredkované AhR boli skúmané na myšom modeli MC903-indukovanej dermatitídy podobnej AD. Na uši myši bol aplikovaný CH223191, antagonistu AhR, 30 minút pred aplikáciou IAId. Aplikácia tohto antagonistu výrazne zrušila inhibičné účinky IAId na zápal indukovaný MC903 (calcipotriol). U myši kde došlo k aplikácii CH223191 sa prejavilo závažné začervenanie, opuch a škrabanie. V kožných léziách vykazovali zvýšenú hladinu celkového sérového IgE a zvýšenú expresiu TSLP (viď Obr. č. 5). Na potvrdenie závislosti účinku IAId na AhR bol skúmaný účinok IAId aj u myši s neprítomným AhR (AhR-null). Aplikácia MC903 u myši AhR-null indukovala zápal, zvýšené hladiny IgE, produkciu Th2 a škrabanie. V liečbe kožných lézií medzi myšami AhR-null liečenými MC903 a myšami liečenými MC903 aj IAId nebol žiadny rozdiel. Absencia AhR spôsobila zrušenie útlmu zápalu kože, ktorý bol sprostredkovaný IAId u myši s MC903-indukovanou dermatitídou. To je dôkazom, že IAId uplatňuje svoje účinky pri regulácii dermatitídy indukovanej MC903 prostredníctvom aktivácie AhR (Jinlei Yu *et al.*, 2019).



Obr. č. 5: AhR sprostredkúva inhibičné účinky IAId (upravené z Jinlei Yu *et al.*, 2019).

Hodnotený bol tiež vplyv IAId na reguláciu produkcie TSLP (thymic stromal lymphopoietin) v keratinocytoch. Z kože neonatálnych myši boli kultivované primárne keratinocyty, na ktorých boli testované toxické účinky IAId na keratinocyty v kultúre. K zvýšenej produkcii TSLP v primárnych keratinocytoch na úrovni mRNA aj proteínov došlo aplikáciou MC903. Následne po pridaní vhodnej koncentrácie IAId došlo k zrušeniu tejto zvýšenej produkcie TSLP. Umlčaním *AhR* expresie pomocou *AhR*-špecifickej siRNA v myšacej keratinocytovej bunkovej línii JB6, bola oslabená zvýšená produkcia TSLP pri liečbe MC903. Ošetrenie keratinocytov pomocou IAId taktiež indukuje expresiu *CYP1A1*, ktorý je cieľovým génom *AhR*. Všetky tieto údaje nasvedčujú, že IAId by mohol aktivovať signálnu dráhu *AhR*, prostredníctvom ktorej inhibuje produkciu TSLP (Jinlei Yu *et al.*, 2019).

Metabolity produkované kožnou mikrobiotou regulujú homeostázu kože a môžu tak poskytnúť nové stratégie liečby atopickej dermatitídy. Aktiváciou exogénnymi alebo endogénnymi ligandmi sa na homeostáze kože podieľa aj *AhR*. Po naviazaní ligandu dochádza k jeho translokácii do promotórovej oblasti cieľového génu a sú indukované rôzne účinky spôsobom závislým od dávky a typu bunky. Mikrobiálne metabolity na

povrchu kože sú tiež schopné aktivovať AhR v keratinocytoch, čím regulujú zápal kože (Jinlei Yu *et al.*, 2019).

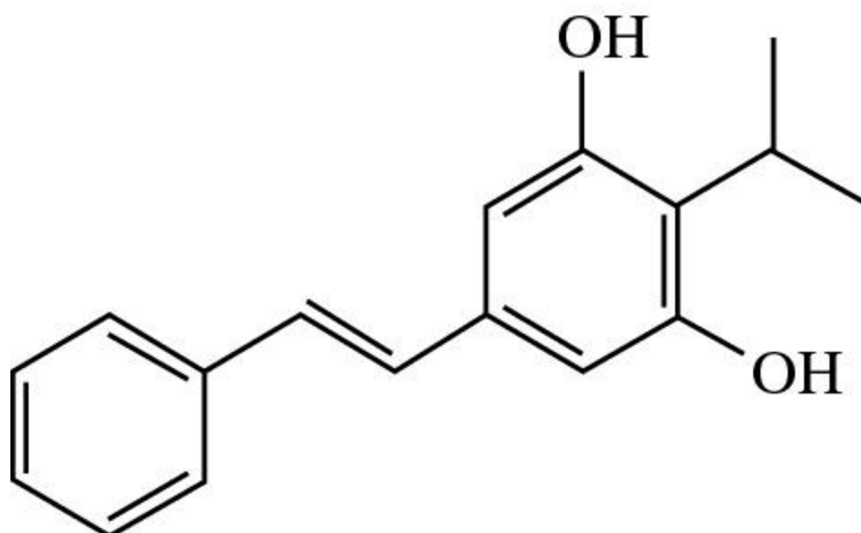
U zdravých jedincov môže IAId udržiavať homeostázu kože reguláciou expície TSLP. Avšak u pacientov s AD je narušená kožná mikrobiota a sú znížené hladiny IAId, ktoré môžu stratiť kontrolu nad expíciou TSLP, čo podporuje zápal. Dôležitým je preto zistenie, že topická aplikácia IAId, ako metabolitu Trp kožnej mikrobioty, dokáže aktivovať AhR a zmierniť dermatitídu podobnú AD, inhibíciou produkcie TSLP v keratinocytoch. Novým mechanizmom v patogenéze AD je tak schopnosť AhR viazať sa na promotórovú oblasť TSLP pri stimulácii IAId (Jinlei Yu *et al.*, 2019).

### 3.2.4.3 Tapinarof

S chronickou atopickou dermatitídou je spojené charakteristické narušenie epidermálnej bariérovej funkcie, zmeny v diferenciácii a proliferácii keratinocytov a imunitná dysregulácia. Väčšina pacientov s AD trpí vážnym svrbením a škrabaním, ktoré následne vedie k začervneniu a ďalšiemu poškodeniu kožnej bariéry. Na lokálnu liečbu miernej až stredne ťažkej atopickej dermatitídy sú najčastejšie používané kortikosteroidy a inhibítory kalcineurínu. Vysoká účinnosť týchto látok je však spojená s častým výskytom nežiadúcich účinkov. Dlhodobá aplikácia vedie k zvýšenému riziku vzniku atrofie kože, irreverzibilnej teleangiektázie a strií. Z tohto dôvodu sú v súčasnosti vyvíjané nové topické látky zamerané na kožné patologické procesy. Jednou z týchto nových možností liečby je tapinarof 1% krém, ktorý bol v roku 2022 schválený na liečbu plakovej psoriázy u dospelých v USA (Atherton, 2003; Keam, 2022).

Tapinarof (GSK2894512) je prirodzene odvodená malá molekula produkovaná bakteriálnymi symbiontmi entomopatogénnych nematód *Heterorhabditis* (viď Obr. č. 6). Pri farmaceutickom vývoji tapinarofu boli zistené jeho protizápalové účinky. Pôsobí na primárne keratinocyty prostredníctvom expície CYP1A1 a cytotoxicity (Bissonnette *et al.*, 2021, Keam, 2022). Aktivácia AhR pomocou tapinarofu indukuje génovú expíciu, ktorá vedie k zníženiu zápalu kože downreguláciou cytokínov IL-4, IL-5 a IL-13. Taktiež indukuje expíciu mRNA kožných bariérových proteínov FLG, LOR a IVL, čím podporuje epidermálnu diferenciáciu a obnovu kožnej bariéry. Prostredníctvom dráhy Nrf2 je zvýšená vplyvom tapinarofu antioxidačná reakcia a sú priamo vychytávané ROS,

čím znižuje oxidačný stres. Na základe štúdií bolo zistené, že tapinarof aktivuje AhR vo viacerých typoch buniek, vrátane CD4<sup>+</sup> T buniek, HaCaT buniek a explantov ľudskej kože. V ľudských keratinocytoch je schopný indukovať expresiu CYP1A1 bez výraznej bunkovej smrti a významne indukuje expresiu mRNA génov spojených s epidermálnou diferenciáciou (Keam, 2022).



Obr. č. 6: Chemická štruktúra tapinarofu (prevzaté z Keam, 2022).

### Štúdie ADORING

ADORING 1 a ADORING 2 sú dve identické, multicentrické, randomizované, vehikulom kontrolované, dvojito zaslepené štúdie s paralelnými skupinami. Druhá fáza tejto štúdie bola vykonaná u pacientov vo veku 12-65 rokov s AD a postihnutím plochy tela 5-15%, u ktorých bolo IGA skóre 3 alebo vyššie. Jej cieľom bolo určenie optimálnej koncentrácie tapinarofu a frekvenciu dávkovania v porovnaní s vehikulom. Štúdia bola rozdelená na 3 časti: skríning, dvojito zaslepená liečba po dobu 12 týždňov a sledovanie stavu po liečbe. Pacienti boli náhodne rozdelení v pomere 1:1:1:1 (tapinarof 1% dvakrát denne, tapinarof 1% jedenkrát denne, tapinarof 0,5% dvakrát denne, tapinarof 0,5% jedenkrát denne). Tapinarof bol aplikovaný v tenkej vrstve na všetky lézie AD raz alebo dvakrát denne po dobu 12 týždňov. Túto 12-týždňovú liečebnú fázu dokončilo 77 % pacientov. Úspešnosť liečby bola vyššia s oboma koncentraciami tapinarofu

v porovnaní s vehikulom po 2. týždni a výrazne vyššia bola v 12. týždni pre 1% tapinarof podávaný dvakrát denne až u 53 % jedincov. Vyššiu účinnosť aj rýchlejší nástup účinku bol pozorovaný pri 1% koncentrácii tapinarofu. Po dvoch týždňoch liečby tapinarofom pri oboch koncentráciách došlo taktiež k zníženiu svrbenia, ktoré je hlavným príznakom AD. Účinnosť liečby bola potvrdená aj pri meraní skóre IGA 0 alebo 1 a EASI 75, ktoré začali v 2. týždni a pokračovali až do 12. týždňa. Odhady účinnosti tejto odpovede a celkový profil bezpečnosti podporili posun 1% koncentrácie k ďalšej štúdiu (Peppers *et al.*, 2019).

Klinická fáza 3 zahŕňala 800 pacientov v dvoch skúšaní, aby sa vyhodnotila bezpečnosť a účinnosť krému tapinarof 1% podávaného raz denne počas 8 týždňov oproti krému s vehikulom podávaného raz denne u pacientov vo veku 2 rokov a starších s diagnostikovanou stredne ťažkou až ťažkou AD. Pediatrický aj dospelí pacienti boli náhodne rozdelení v pomere 2:1 na liečbu raz denne tapinarof 1% krémom (VTAMA) alebo krémom s vehikulom. V 8. týždni liečby dosiahlo 46,4% pacientov liečených krémom VTAMA primárny koncový ukazovateľ IGA-AD číry (0) alebo takmer čistý (2) s aspoň dvojstupňovým zlepšením oproti východiskovej hodnote. Skóre EASI (Eczema area and severity index) dosiahlo u 59,1% pacientov liečených krémom VTAMA  $\geq$  75% zlepšenie. U 52,8% pacientov starších ako 12 rokov bolo v 8. týždni liečby dosiahnuté  $\geq$ 4-bodové zníženie PP-NRS (Peak Pruritus Numerical Rating Scale) (URL 1).

Údaje z ADORING 2 fáze 3 nenaznačujú žiadne signály o bezpečnosti alebo znášateľnosti medzi pacientami vrátane detí do 2 rokov. Medzi nežiadúcimi účinkami osobitného záujmu sa vyskytla u 1,1% pacientov liečených tapinarof 1% krémom kontaktná dermatitída, zatiaľ čo u vehikula bola u 1,5% pacientov. Folikulitída bola ako nežiadúci účinok u 8,9% pacientov liečených pomocou tapinarof 1% krému, zatiaľ čo u liečby vehikulom predstavovala 1,5% (URL 2).

Pozitívne výsledky ADORING 2 naznačujú, že krém VTAMA by sa mohol stať potenciálne dôležitou nesteroidnou, lokálnou možnosťou liečby pacientov s atopickou dermatitídou, vrátane detí do 2 rokov. Ide o potenciálne dobre tolerovateľné liečivo, ktoré má priaznivý bezpečnostný profil. V súčasnosti je krém VTAMA (tapinarof 1%) schválený FDA na liečbu miernej, strednej a ťažkej plakovej psoriázy u dospelých (URL 1).

### 3.3 Vplyv AhR na starnutie pokožky

Všetky hlavné environmentálne faktory podieľajúce sa na vonkajšom starnutí pokožky, ako je UV žiarenie a látky znečisťujúce ovzdušie, sú schopné aktivovať AhR signalizáciu v koži. Táto zvýšená aktivácia signálnej dráhy AhR môže prispievať k vzniku charakteristických prejavov vonkajšieho starnutia, akými sú tvorba hrubých vrások a pigmentových škvŕn (Vogelely *et al.*, 2019). V zachovaní integrity kože, regulácii pigmentácie, reakcii na environmentálne faktory a imunitu kože je dôležitá správna signalizácia AhR, pretože môže kožu pred environmentálnymi hrozbami chrániť alebo sa podieľať na patogenéze kožných ochorení. V zdravej koži AhR signalizácia riadená endogénnymi ligandami prispieva k diferenciacii keratinocytov a pigmentácii kože. Avšak vystavovanie environmentálnym toxickým látkam môže trvalo aktivovať AhR a viesť k tvorbe reaktívnych metabolitov fázy I, tvorbe ROS a dysregulácii proteínov pri delení buniek, diferenciacii, migrácii a apoptóze (Haarmann-Stemmann *et al.*, 2015).

#### 3.3.1 Starnutie pokožky

Pokožka so zvyšujúcim vekom stráca svoje štrukturálne a morfológické vlastnosti, v dôsledku čoho sa zhoršujú jej funkcie. V procese starnutia pokožky dochádza k degeneratívnym zmenám epidermis, dermis a hypodermis. Expozóm starnutia pokožky pozostáva z vonkajších a vnútorných faktorov a ich interakcií, ktoré ovplyvňujú ľudského jedinca od počatia až po smrť, ako aj reakciu ľudského tela na tieto faktory, ktoré vedú k biologickým a klinickým príznakom starnutia pokožky. Medzi hlavné faktory a podmienky prostredia tvoriace tento expoizóm patrí slnečné žiarenie, znečistenie ovzdušia a tabakový dym (Krutmann *et al.*, 2017). Všetky tieto faktory podporujú degeneratívne procesy v tkanive, ktoré následne vedú k rozvoju starnutia kože.

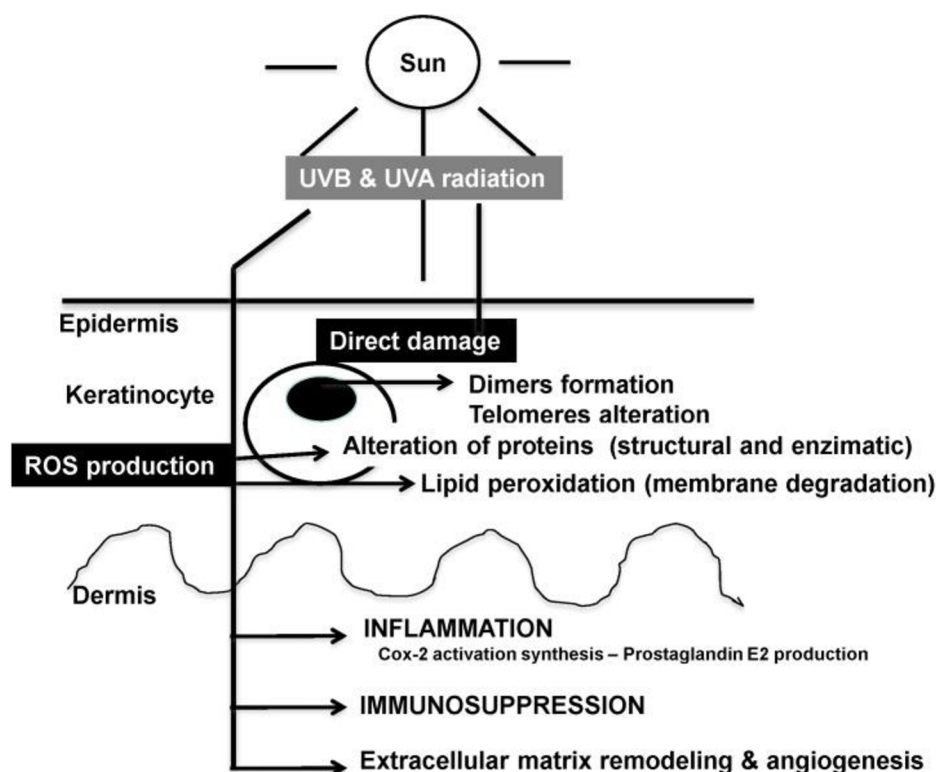
Starnutie kože je rozdelené na dva súčasne prebiehajúce procesy podľa faktorov, ktoré ich ovplyvňujú. Vnútorné starnutie, označované aj ako chronologické, je pripisované chronologickým a genetickým faktorom (Braverman *et Fonferko*, 1982). Pri chronologickom starnutí je pokožka tenká, suchá, vykazuje stratu elasticity a sú na

nej jemné vrásky. Chronologické starnutie je ale výrazne ovplyvnené a úzko súvisí s chronickým, vonkajším starnutím. Chronické starnutie je spôsobené predovšetkým pôsobením environmentálnych faktorov, medzi ktoré patrí UV žiarenie, znečistenie ovzdušia, infračervené žiarenie, ozón a tabakový dym. Tento typ starnutia sa prejavuje hlavne hrubými vráskami a nerovnomernou pigmentáciou (Rittié *et Fisher*, 2015).

### **Fotostarnutie**

Jedným z hlavných environmentálnych faktorov spôsobujúcim starnutie pokožky je UV žiarenie. Jeho vplyvom dochádza k fotostarnutiu, ktoré závisí predovšetkým od stupňa vystavenia slnečnému žiareniu a kožného pigmentu (Fisher *et al.*, 2002). UVB žiarenie s vlnovou dĺžkou 280-320 nm predstavuje 5% UV žiarenia a má schopnosť prenikať iba do vrstvy epidermis. UVA žiarenie s vlnovou dĺžkou 320-400 nm tvorí viac ako 80% dopadajúceho UV žiarenia a je schopné prenikať až do hlbších vrstiev hypodermis (Holick, 2016). Klinické zmeny spôsobené fotostarnutím sa medzi jedincami líšia podľa ich fototypu pokožky. U svetlých typoch pleti sú slabšie obranné reakcie na UV žiarenie, čím dochádza k atrofickým kožným zmenám s menším počtom vrások, ale tendenciou k fotokarcinogéze. Naopak u tmavších typoch pleti je častá hypertrofická reakcia s hlbokými vráskami, epidermálnym zhrubnutím a lentigom (Yaar *et Gilchrist*, 2007). Chronické vystavovanie UV žiareniu spôsobuje poškodenie DNA v kožných bunkách, ktoré je vyvolané buď priamou absorpciou UVB zložky, kedy dochádza najčastejšie k tvorbe cyklobutánpyrimidínových dimérov (CPD), alebo nepriamo vplyvom UVA žiarenia sensibilizačnými radikálmi a reaktívnymi formami kyslíka (ROS) (Griffiths *et al.*, 1998). Pri procese starnutia je nerovnováha medzi produkciou ROS a ich neutralizáciou prirodzenými antioxidantnými systémami. Táto nerovnováha následne generuje oxidačný stres, pričom jednou z hlavných príčin oxidačného stresu v koži je práve dopadajúce UV žiarenie. Škodlivé účinky ROS spôsobujú destabilizáciu iných molekúl a podporujú reťazové reakcie, ktoré poškodzujú biomolekuly skracovaním ich teloméru, poškodením mitochondrií, degradáciou membrán a oxidáciou proteínov (viď Obr. č. 7) (Bosch *et al.*, 2015).





Obr. č. 7: Škodlivé účinky slnečného ultrafialového žiarenia na kožu (prevzaté z Bosch *et al.*, 2015).

### Starnutie spôsobené znečistením ovzdušia

Medzi enviromentálne faktory podieľajúce sa na chronickom starnutí pokožky patria aj látky znečisťujúce ovzdušie. Sú to organické a anorganické látky dostávajúce sa do atmosféry, ktoré sú zdravotným rizikom pre ľudí a ekosystém. Medzi tieto látky patria aj PAH, dioxíny, dioxinom podobné polychlórované bifenoly, oxid uhoľnatý, oxidy dusíka, ozón a pevné častice (Mancebo *et Wang*, 2015). Podľa WHO, 99% populácie žije v prostredí s hladinami znečisťujúcich látok v ovzduší nad štandardnými limitmi stanovenými WHO (URL 3). Na pokožku majú nepriaznivý vplyv tiež pevné častice (PM) v ovzduší. Ich veľkosť sa pohybuje v rozmedzí od 100 nm do 10 µm. Napriek ich malej veľkosti, má každá z týchto častíc dostatočne veľký povrch, ktorý je schopný absorbovať organické a anorganické zlúčeniny, ako napríklad stopové množstvo kovov a PAH. V SC dochádza k hromadeniu týchto pevných častíc, ktoré postupne narúšajú epidermálnu bariéru (Soeur *et al.*, 2017). Väčšie častice sú schopné priamo poškodiť pokožku vplyvom oxidačného stresu a zápalom. Z kovov prítomných na ich povrchu

dochádza k produkcii ROS, ktoré spôsobujú oxidáciu lipidov buniek v SC (Burke, 2018). Oxidačný stres následne spúšťa prozápalové dráhy, tým že aktivuje transkripčný faktor NF- $\kappa$ B (Marchini *et al.*, 2014) . Ten je po aktivácii prenesený do jadra, kde aktivuje transkripciu predzápalových génov, ako sú IL-1 $\alpha$  a COX-1 a -2 (cyklooxygenáza-1 a -2) (Burke, 2018).

### **3.3.1.1 Tvorba vrások**

Pre zdravú kožu je dôležitá životaschopnosť a remodelácia extracelulárneho matrix (ECM), ktorý je vysoko dynamickou štruktúrou. ECM zabezpečuje mechanickú stabilitu pokožky a čiastočne jej tak umožňuje reakciu na prostredie (Přisterer *et al.*, 2021). ECM pozostáva z kolagénových vlákien tvoriacich 75 % suchej hmotnosti pokožky, ktoré poskytujú pevnosť v ťahu a elasticite. Tieto kolagénové vlákna sú tvorené prevažne kolagénom typu I a iba 8-12 % je tvorených kolagénom typu III . Druhou zložkou ECM sú elastické vlákna, ktoré zabezpečujú vrátenie pokožky do jej normálnej konfigurácie po natiahnutí alebo deformácii. Všetky vláknité zložky ECM sú ukladané a obklopené proteoglykánmi a glykozaminoglykánmi. Tvoria amorfnú zložku ECM a ich úlohou je tiež absorpcia a regulácia viazania vody. Syntézu týchto vláknitých a amorfných proteínov ECM zabezpečujú fibroblasty (Shin *et al.*, 2019).

### **Degradácia ECM**

Chronologické aj chronické starnutie pokožky je spojené s epidermálnou hyperláciou a dermálnou ECM atrofiou. Tieto stavy spôsobujú zmeny v expresii matrixových metaloproteináz (MMP), elastínu a transformujúceho rastového faktora- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (Philips *et al.*, 2009). MMP sú endopeptidázy podieľajúce sa na degradácii proteínov ECM. Sú vylučované keratinocytmi a dermálnymi fibroblastami ako reakcia na oxidačný stres, UV žiarenie a cytokíny. V koži je vylučovaná najmä MMP-1, ktorá degraduje fibrilárne kolagény typu I a III na fragmenty (Pittayapruek *et al.*, 2016).

K zvýšeniu expresie a aktivity MMP-1 prispieva aj indukcia AhR niekoľkými jeho ligandami. V štúdií Ono a kolektívu boli skúmané molekulárne mechanizmy zapojené do starnutia kože vyvolané tabakovým dymom. Medzi zložky tabakového dymu patria aj PAH, ktoré spúšťajú signalizáciu AhR. Primárne kultivované fibroblasty a keratinocyty boli preto vystavené extraktu z tabakového dymu rozpusteného v hexáne alebo vo vode. Vplyvom tabakového dymu spôsobom závislým od dávky došlo k výraznému zvýšeniu expresie MMP-1 vo fibroblastoch a keratinocytoch. Knockdown AhR zrušil schopnosť extraktu zvýšiť transkripciu génu CYP1A1/CYP1B1 a taktiež indukciu MMP-1. Rovnako pri použití flavonoidov ako inhibítorov AhR došlo k zníženiu indukcie MMP-1 extraktmi z tabakového dymu rozpusteného v hexáne alebo vo vode. Tabakový dym tak prostredníctvom aktivácie AhR signálnej dráhy indukuje expresiu MMP-1 v ľudských keratinocytoch a fibroblastoch (Ono *et al.*, 2013).

TCDD je ďalším z environmentálnych faktorov, ktorý vedie k patologickým léziám prostredníctvom aktivácie signálnej dráhy AhR. Expozičiou TCDD dochádza k remodelácii ECM zvýšením hladín MMP-1 mRNA. V štúdií na organotypických kultúrach keratinocytov bol pozorovaný vplyv TCDD na remodeláciu ECM a tiež bazálnej membrány. Sledované a merané pomocou Q-PCR boli hladiny transkriptov MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 a MMP-10. Na 18. deň po ošetrovaní organotypických kultúr keratinocytov došlo k degradácii ECM a MMP-10 vykazovala 9-násobné zvýšenie expresie mRNA. V prípade MMP-1 došlo k miernejšiemu zvýšeniu expresie a u MMP-2, MMP-3 a MMP-9 neboli pozorované žiadne zmeny. Vplyv TCDD na zvýšenie hladín MMP-10 a MMP-1 bol potvrdený aj pomocou kontrolných organotypických kultúr ošetrovaných DMSO, kde nedošlo k zvýšeniu hladín MMP konštitutívnej mRNA. TCDD zvyšuje hladiny MMP-1 spôsobom závislým od signalizácie AhR (De Abrew *et al.*, 2014). Vplyv TCDD na expresiu MMP-1 bol skúmaný aj pri súbežnej liečbe spoločne s kyselinou all-trans retinovou (atRA). Práve signálna dráha kyseliny retinovej má dôležitú úlohu pri modulácii expresie MMP, keďže je regulátorom bunkového rastu a diferenciácie. Expozičia normálnych ľudských keratinocytov samotnému TCDD v tomto prípade zvýšila hladina MMP-1 mRNA. Čiastočne je táto expresia mRNA sprostredkovaná zvýšenou aktivitou promotóra MMP-1 cez dve väzbové miesta AP-1. Pri samostatnom použití mala atRA na expresiu MMP-1 malý účinok, ale mierne inhibovala RNA expresiu PAI-2 (plasminogen activator inhibitor-2),

CYP1A1 a CYP1B1. Pri spoločnej liečbe TCDD a atRA ich signálne dráhy vzájomne interagujú, čím modulujú génovú expresiu. Výsledkom ich interakcie je inhibícia CYP1A1, ale zároveň aktivácia expresie MMP-1 a PAI-2. Toto zníženie expresie CYP1A1 v bunkách pri ošetrovaní atRA súčasne aj s TCDD je spôsobené zníženou väzbou AhR/ARNT na XRE (Murphy *et al.*, 2004).

Na degradácii ECM sa podieľajú aj serínové proteázy a cysteínové proteázy, ktoré sú cieľmi signalizácie AhR. ECM modulujú priamou degradáciou matricových proteínov, uvoľňovaním malých bioaktívnych peptidov a uvoľňovaním rastových faktorov v ECM (Kung *et al.*, 2009). Proteíny ECM sú štiepené plazmínom, ktorý je aktivovaný prostredníctvom uPA (urokinase-type plasminogen activator). uPA je aktívnym enzýmom po naviazaní na uPAR (urokinase-type plasminogen activator receptor) a pôsobením cysteínových proteáz (Qiu *et al.*, 2007). Po svojej aktivácii uPA štiepi plazminogén na plazmín, ktorý aktivuje pro-MMP a týmto spôsobom dochádza k degradácii ECM. Aktivita uPA je však riadená inhibítormi PAI-1 a PAI-2 (plasminogen activator inhibitor). Tieto inhibítory reagujú na TCDD, ktorý prostredníctvom signálnej dráhy AhR môže regulovať ich expresiu. Znížená regulácia PAI-2 môže spôsobiť zmenu PA/plazminového systému zvýšením hladiny uPA, čo prispieva k modulácii ECM (Yang *et al.*, 1999).

Znečistenie ovzdušia pozostáva z tuhých častíc (PM) a prchavých organických zlúčenín. Z fotochemických reakcií medzi primárnymi znečisťujúcimi látkami, teplom a UV žiarením, vznikajú sekundárne znečisťujúce látky (Krutmann *et al.*, 2017). Medzi tieto sekundárne znečisťujúce látky patrí aj ozón, ktorý je súčasťou fotochemického smogu. Troposférický ozón spôsobuje oxidáciu alebo peroxidáciu biomolekúl, čo má nepriaznivé účinky na ľudské zdravie aj ekosystém. Tento jeho biologický účinok môže byť priamy alebo k nemu dochádza prostredníctvom voľných radikálov (Mustafa, 1990). V štúdií na normálnych ľudských epidermálnych keratinocytoch došlo po ich expozícii ozónu k výraznému zvýšeniu expresie mRNA CYP1A1, CYP1A2 a CYP1B1. Taktiež bola pozorovaná zvýšená jadrová translokácia AhR. Pri knockdown AhR pomocou siRNA nenastalo zvýšenie mRNA CYP1A1, CYP1A2 a CYP1B1 po expozícii ozónu. To potvrdzuje, že po expozícii ozónu dochádza k indukcii expresie CYP prostredníctvom AhR (Afaq *et al.*, 2009). Vplyvom ozónu dochádza v koži k rýchlej peroxidácii lipidov a oxidácii proteínov. To spôsobuje narušenie normálnej fyziológie kožného tkaniva

a remodeláciu ECM. Na procese degradácie ECM sa podieľajú MMP a ich prirodzené inhibítory TIMP (tkanivové inhibítory MMP). Práve MMP-2 boli detekované u bezsrstých myší SKH-1 po vystavení ozónu, cigaretovému dymu a UV žiareniu (Fortino *et al.*, 2007). Na základe týchto štúdií sa predpokladá, že dlhodobá expozícia zvýšeným koncentraciám ozónu prispieva k starnutiu pokožky. V prípade ozónu sú asociácie predovšetkým s hrubými vráskami na tvári, ktoré sú charakteristické pre chronické starnutie pokožky (Fuks *et al.*, 2019).

### 3.3.1.2 Pigmentácie kože

Hyperpigmentácia patrí medzi prejavy starnutia kože, ktoré sú spájané s jej vystavením environmentálnym kontaminantom, akými sú PAH a dioxíny. Tento biologický proces je výsledkom syntézy, transportu a degradácie melanínu. Práve melanogéza, syntéza melanínu v melanocytoch, má dôležitú úlohu pri ochrane pokožky pre škodlivými účinkami UV žiarenia a oxidačného stresu (Luecke *et al.*, 2010).

Melanocyty pochádzajú z prekursorových buniek melanoblastov neurálnej lišty. Ide o nepigmentované bunky, ktoré po uzavretí neurálnej lišty migrujú na rôzne miesta, vrátane bazálnej vrstvy epidermis a vlasových folikulov, kde sa vyvíjajú na melanocyty (Videira *et al.*, 2013). Hlavnou funkciou melanocytov je produkcia melanínu, pri čom v koži prenášajú tento melanínový pigment aj na keratinocyty, ktorými sú obklopené. Počas procesu melanogézy je produkováný feomelanín a eumelanín, čo sú dva hlavné typy melanínu líšiace sa farbou a typom syntézy. Typ melanínu závisí od dostupnosti substrátov a funkcie enzýmov melanogézy (Cichorek *et al.*, 2013). Enzýmy a proteíny zapojené do tohto viacstupňového procesu sa nachádzajú v melanosómoch, ktoré sú súčasťou melanocytov. Dôležitými enzýmami sú predovšetkým TYR, TYRP1 a TYRP2 (tyrosine-related protein 1,2) ovplyvňujúce množstvo a kvalitu melanínu. Medzi štrukturálne proteíny zúčastňujúce sa produkcie melanínu patria Pmel17 (promelanosome protein) a MART1 (melanoma antigen recognized by T cells 1) (D'Mello *et al.*, 2016). Tyrozináza je dôležitým enzýmom melanogénnej dráhy, ktorý katalyzuje oxidáciu L-tyrozinu na 3,4-dihydroxyfenylalanín (L-DOPA), čo je prvý krok v biochemickej tvorbe melanínu (Luecke *et al.*, 2010). V ďalšom kroku sa DOPA oxiduje na DOPAchínón, ktorý sa spontánne mení na oranžovo sfarbený medziprodukt DOPAchróm

(Hearing, 2011). Následne je z DOPA chrómu syntetizovaný hnedočierny eumelanín a syntéza červenožltého feomelanínu je závislá od dostupnosti cysteínu a glutatiónu. Pri prevahe feomelanínu je tendencia mať svetlejšiu pokožku, u ktorej môže dôjsť k urýchleniu karcinogenézy. Feomelanín sa vyskytuje zvyčajne u jedincov s červenými vlasmi a kožnými fototypmi I a II. Naopak eumelanín prevažuje u jedincov s tmavšou pokožkou a je účinnejší pri fotoprotekcii (Videira *et al.*, 2013).

Poškodením DNA, ktoré je vyvolané UV žiarením alebo chemickými mutagénmi, dochádza k aktivácii produkcie melanínu. V štúdiu Luecke a kolektívu bola skúmaná aktivácia melanogénnej dráhy po expozícii ľudských melanocytov TCDD a UVB žiareníu. Skúmaná bola aj hladina expresie AhR a indukcia jeho cieľových génov v ľudských melanocytoch, keďže TCDD je jeho ligandom. Ošetrovaním ľudských melanocytov od piatich rôznych darcov TCDD došlo k aktivácii signálnej dráhy AhR a upregulácii mRNA pre CYP1A1, CYP1B, AhRR a AhR. Aktivita tyrozinázy bola hodnotená z dôvodu potvrdenia vplyvu signálnej dráhy AhR aktivovanej TCDD na melanogézu v melanocytoch. Stupeň jej aktivity je dôležitý pretože katalyzuje proces oxidácie L-tyrozinu na L-DOPA v prvom kroku melanogenézy. Expozícia TCDD indukovala vysokú tyrozinázovú aktivitu, ktorá spôsobila zvýšenie celkového intracelulárneho melanínu, čím sa potvrdila upreguláciu melanogénnej dráhy aktiváciou AhR v melanómových bunkách. Zvýšenie tyrozinázovej aktivity prostredníctvom AhR potvrdila aj súbežná liečba s AhR antagonistom MNF alebo  $\alpha$ -naftoflavónom, ktorá naopak zrušila jej aktivitu indukovanú TCDD. Pri kontinuálnom ošetrovaní melanocytov bola okrem tyrozinázovej aktivity, mnohonásobne zvýšená aj hladina melanínu. Všetky tieto výsledky potvrdzujú tvrdenie, že AhR signalizácia indukovaná jeho ligandom zvyšuje melanogézu v ľudských melanómových bunkách. Štúdia zároveň vylúčila možnosť, že by táto upregulácia melanogenézy aktiváciou AhR bola spôsobená zvýšenou proliferáciou buniek alebo prostredníctvom PKC (Luecke *et al.*, 2010).

Fyziologickým stimulom pre melanogézu je aj UVB žiarenie, ktoré aktivuje AhR a indukuje expresiu CYP1A1 v koži. Táto aktivácia AhR prostredníctvom UVB je sprostredkovaná tvorbou fotoproduktu FICZ, ktorý je odvodený od tryptofánu. Vplyvom FICZ došlo v melanocytoch tiež k indukcii expresie mRNA CYP1A1, CYP1B1 a zvýšená bola aj tyrozinázová aktivita. Ani v tomto prípade nemal FICZ vplyv na proliferáciu melanocytov, ktorá by mohla spôsobiť zvýšenie tyrozinázovej aktivity.

Na základe týchto výsledkov sa dá AhR považovať za regulátora melanogenézy v ľudských melanocytoch (Luecke *et al.*, 2010).

### 3.4 Vplyv AhR na rakovinu kože

Koža je neustále vystavovaná vonkajším vplyvom prostredia, ako je UV žiarenie a látky znečisťujúce ovzdušie. UV žiarenie aj látky znečisťujúce ovzdušie sa podieľajú na karcinogéne kože, ktorej výskyt v posledných rokoch narastá. Ich karcinogénne účinky sú aspoň čiastočne sprostredkované signálnou dráhou AhR, ktorá sa podieľa na regulácii zápalov a apoptózy vyvolaných UV žiarením, systéme opravy DNA a metabolickej aktivácii chemických karcinogénov. Práve preto má dôležitú úlohu pri karcinogéne a udržiavaní rôznych typov rakoviny (Hidaka *et al.*, 2019). Rizikovým faktorom rakoviny kože je tiež pokročilý vek v dôsledku akumulácie genómových zmien, ktoré sú vyvolané enviromentálnymi genotoxickými látkami (Vogelely *et al.*, 2019).

#### 3.4.1 Skvamocelulárny karcinóm

Skvamocelulárny karcinóm je druhým najčastejším typom rakoviny kože, ktorý sa prejavuje ako spektrum progresívne pokročilých malignít, od prekursorovej aktinickej keratózy (AK) po skvamocelulárny karcinóm (SCC) (Rastushny *et al.*, 2012). SCC sa vo väčšine prípadov vyvíja z aktinických keratóz. Ide o nezhubné, červené, šupinaté nádory keratinocytovej dysplázie, ktoré vznikajú kumulatívnym vystavovaním UV žiareniu (Green *et Olsen*, 2017). AK je proliferácie neoplastických keratinocytov v epiderme, pri ktorej sú v bazálnej vrstve atypické keratinocyty s rozdielnym tvarom a veľkosťou (Berman *et Cockerell*, 2013). Najčastejšie sa vyskytujú na tvári, pokožke hlavy, krku a končatinách. Sú častejšie u ľudí so svetlým fototypom a zníženou imunitou. Pokiaľ nedôjde k liečbe AK, tak môže nastať spontánna remisia, AK zostanú stabilne alebo nastane progresia do invazívneho SCC (Roewert-Huber *et al.*, 2007). Invazívny SCC je charakteristický abnormálnymi keratinocytmi s lokálne deštruktívnym rastom a je pri ňom zvýšené riziko metastáz. Dôležitý je stupeň diferenciácie buniek, ktorý je hodnotený pomocou Broderovho stagingu (Fania *et al.*, 2021).



### 3.4.1.1 Úloha AhR pri rozvoji skvamocelulárneho karcinómu

Medzi rizikové faktory rozvoja SCC patria environmentálne, imunologické a genetické faktory. V rámci environmentálnych faktorov ide najmä o chronické vystavenie kože UV žiareniu (Fania *et al.*, 2021). Ďalším z rizikových faktorov je chronická expozícia PAH vznikajúcich pri nedokonalom spaľovaní organického materiálu. Obidva z týchto rizikových faktorov uvoľňujú svoj karcinogénny potenciál prostredníctvom aktivácie AhR (Vogelely *et al.*, 2022).

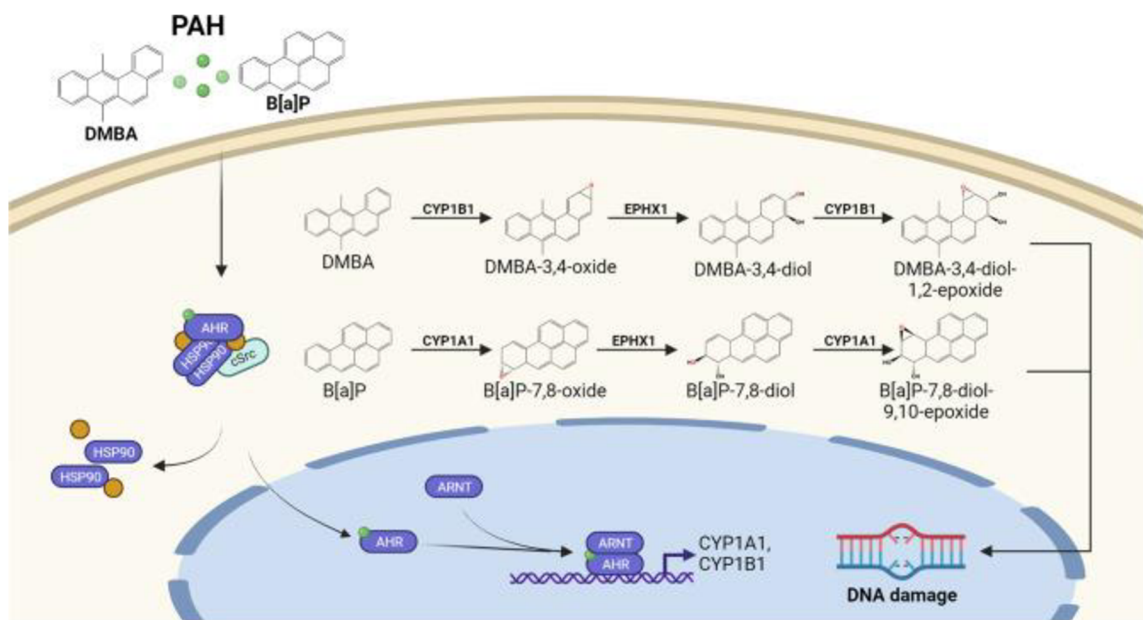
Fotokarcinogéza je viacstupňový proces zahŕňajúci iniciáciu, podporu a progresiu. Najskôr spôsobuje UV žiarenie poškodenie DNA, ktoré následne vedie k tvorbe mutácií v cieľových keratinocytoch (Elmets *et al.*, 2013). UV žiarenie preniká do kože v závislosti od vlnovej dĺžky. UVA žiarenie preniká hlbšie do dermis a je zodpovedné predovšetkým za fotostarnutie. UVB žiarenie je absorbované epidermou, ale je viac karcinogénne už aj pri nižších dávkach. Je priamo absorbované DNA, čím dochádza k tvorbe fotoproduktov medzi susednými pyrimidínovými bázami. Týmto fotoproduktmi sú cyklobutánpyrimidínové diméry (CPD) a 6-pyrimidín-4-pyrimidónové fotoprodukty, ktoré majú dôležitú úlohu vo fotokarcinogéze (Seebode *et al.*, 2016). Tieto fotoprodukty sú odstraňované pomocou nukleotidovej excíznej opravy (NER), ktorá má dve rôzne dráhy líšiac sa v rozpoznávaní lézií DNA. Heterodimérne komplexy UV-DBB (DNA damage-binding protein) a RAD23 (UV excision repair protein RAD23 homolog A) iniciujú globálnu opravu genómu (GGR). Nukleotidová excízia spojená s transkripciou (TCR) je iniciovaná zastavením RNA polymerázy II pri léziách, ktoré sú indukované UV žiarením. To spustí nábor TCR špecifických non-XP faktorov (Dijk *et al.*, 2014).

Vo všetkých kožných bunkách, vrátane keratinocytov, je exprimovaný AhR. Pri absorpcii UVB žiarenia tryptofánom v epidermálnych keratinocytoch dochádza k tvorbe FICZ. FICZ je vysokoaktívnym ligandom AhR, ktorý aktivuje jeho signálnu dráhu a indukuje expresiu CYP1A1 a COX-2. Týmto spôsobom UVB žiarenie prostredníctvom FICZ aktivuje signalizáciu AhR. V štúdií Pollet a kolektívu bol testovaný vplyv AhR na odstránenie CPD fotoproduktov indukovaných UVB žiarením u ľudských HaCaT keratinocytoch a SKH-1 bezsrstých myší. Hlavným zistením tejto štúdie bolo, že po expozícii UVB žiareniu ostal obsah CPD zvýšený v ľudských HaCaT

keratinocytoch. K zníženiu CPD došlo po ošetrení HaCaT keratinocytov MNF (3-metoxy-4-nitroflavón), ktorý je antagonistom AhR. Touto inhibíciou AhR bola dosiahnutá aj zvýšená GGR a epidermálna apoptóza. Zároveň bola pri inhibícii AhR sledovaná aj nárasť hladiny tumor supresorového proteínu p27 a s ním súvisiacej CHK1 (checkpoint kinase 1). Špecifická represia GGR je závislá od tumor supresorového proteínu p27, ktorého downregulácia je spájaná so sklonom k rakovine a vyskytuje sa aj pri SCC. Inhibícia CHK1 je potrebná na zastavenie bunkového cyklu a zvýšenie apoptózy keratinocytov indukovanej UVB žiarením. Týmito zisteniami je poskytnutý dôkaz, že AhR potláča GGR a apoptózu v keratinocytoch vystavených UVB žiareniu, čím tlmí odstraňovanie UVB-indukovaných CPD. Aktivácia signalizácie AhR teda prispieva k fotokarcinogéze. Potvrdzujú to aj pozitívne účinky inhibície jeho signalizácie na GGR a zvýšenie apoptózy indukovanej UVB žiarením. AhR aktivovaný UVB žiarením svojou negatívnou reguláciou NER a apoptózy vykazuje tumorigénne funkcie v koži vystavenej UVB žiareniu (Pollet *et al.*, 2018).

Ďalším typom enviromentálneho karcinogénu sú aj karcinogénne chemikálie, ktoré sú súčasťou znečistenia ovzdušia. Riziko rakoviny kože je vysoké z dôvodu neustáleho vystavovania pokožky tomuto znečisteniu a PM. Predovšetkým PAH a dioxíny obsiahnuté v PM sú zodpovedné za karcinogézu nimi vyvolanú. Tieto karcinogénne chemikálie majú lipofilný charakter, ktorý im zabezpečuje ľahké prenikanie cez kožu a dlhodobé zadržiavanie v nej (Hidaka *et al.*, 2019). Enzýmy metabolizujúce xenobiotiká, ako je cytochróm P450, uvoľňujú karcinogénny potenciál PAH. Premieňajú ich na polárnejšie a vo vode rozpustné metabolity, avšak počas tohto procesu môže dôjsť k tvorbe nestabilných a reaktívnych medziproduktov PAH. Tieto metabolity následne napadajú DNA a spôsobujú bunkovú toxicitu (Shimada, 2006). Jedným z bežných PAH karcinogénov spôsobujúcich rakovinu u ľudí je benzo[a]pyrén. Je jednou zo zložiek tabakového dymu a výfukových plynov automobilov. Benzo[a]pyrén indukuje prostredníctvom aktivácie AhR expresiu CYP1A1 v koži (Shimizu *et al.*, 2000). Pomocou CYP1A1 a mikrozomálnej epoxidovej hydrolázy je metabolizovaný na vysoko karcinogénny benzo[a]pyrén-7,8-dydroxydiol-9,10-epoxid (viz. Obr. č. 8) (Shi *et al.*, 2009). Veľké množstvo karcinogénnych zlúčenín obsahuje aj tabakový dym, čo zvyšuje riziko vzniku kožných SCC u fajčiarov. Zložkou tabakového dymu je aj 7,12-dimetylbenz[a]antracén (DMBA), ktorý je prostredníctvom CYP1B1

oxidovaný na DMBA-3,4-diol-1,2-epoxid karcinogénny metabolit (vid' Obr. č. 8). Ten je schopný sa viazať na DNA a podieľať sa na tvorbe mutácií. V prípade DMBA je pri jeho oxidácii na karcinogénny metabolit mnohonásobne aktívnejší CYP1B1 oproti CYP1A1 (Ide *et al.*, 2004). Karcinogénny potenciál DMBA závisí od toho, ktorá izoforma CYP1 je prevažne exprimovaná v exponovanej bunkovej populácii alebo tkanive. Metabolizmus DMBA sprostredkovaný CYP1A1 podporuje detoxikáciu a je v oveľa väčšej miere exprimovaný v keratinocytoch. Naopak metabolizmus DMBA sprostredkovaný CYP1B1 spôsobuje zvýšenú tvorbu vysoko mutagénneho DMBA-3,4-diol-1,2-epoxidu. CYP1B1 je vo vyššom množstve exprimovaný v Langerhansových bunkách (Modi *et al.*, 2012).



Obr. č. 8: Metabolická aktivácia CYP1 izoformami PAH závislá od AhR (prevzaté z Vogeley *et al.*, 2022).

### 3.4.2 Malígnny melanóm

Malígnny melanóm je kvôli svojej vysokej metastatickej schopnosti jednou z najagresívnejších rakovín pozorovaných u ľudí. Napriek tomu, že predstavuje 3% všetkých rakovín kože, je zodpovedný za 65% úmrtí na rakovinu kože (Orzan *et al.*, 2015). Ide o zhubný nádor melanocytov, ktoré sa nachádzajú v bazálnej vrstve epidermis

a produkujú pigment melanín zodpovedný za farbu kože. Melanóm má štyri hlavné formy, ktorými sú povrchovo šíriaci sa melanóm, nodulárny melanóm, lentigo maligna melanóm a akrolentiginózný melanóm. Najbežnejšou formou je povrchovo šíriaci sa melanóm, ktorý sa vyskytuje až v 70% prípadov. Menej ako 10% prípadov predstavujú formy lentigo maligna a akrolentiginózný melanóm (Liu *et* Sheikh, 2014).

Klinické a patologické rizikové faktory, vrátane hrúbky nádoru, mitotickej rýchlosti a prítomnosti ulcerácií a metastáz, sú hodnotené stagingovým systémom, na ktorom je založená liečba melanómu. Ide o proces, ktorý určuje do akej miery je rakovina rozšírená a kde v tele sa nachádza. Staging rakoviny sa delí na klinický a patologický. Klinický staging je založený predovšetkým na všetkých dostupných informáciách získaných pred chirurgickou excíziou nádoru. Zatiaľ čo patologický staging zohľadňuje mikrostaging primárneho tumoru a širokú excíziu, ale aj informácie o regionálnych lymfatických uzlinách po čiastočnej alebo kompletnej lymfadenektómii, pokiaľ je vykonaná. Najčastejšie je používaný TNM (Tumor, Node, Metastasis) systém stagingu. Klinické aj patologické štádium pozostáva z:

- **Štádium 0** - predstavuje ochorenie *in situ*.
- **Štádium IA** – ide o lokalizované ochorenie, kde nádor je > 0,8mm, ale < 1mm s možnou ulceráciou alebo bez nej. Hrúbka nádoru je 8mm alebo menej.
- **Štádium IB** – nádor bez ulcerácie je hrubý > 1mm, ale < 2mm.
- **Štádium IIA** – hrúbka nádoru v tomto štádiu je > 2mm, ale < 4mm s ulceráciou alebo bez jej prítomnosti; hrúbka nádoru je > 1mm, ale < 2mm.
- **Štádium IIB** – hrúbka nádoru s ulceráciou je > 2mm, ale < 4mm; bez prítomnosti ulcerácie je hrúbka nádoru > 4mm.
- **Štádium IIC** – nádor je bez ulcerácie s hrúbkou > 4mm.
- **Štádium III** – ide o regionálne ochorenie, dochádza k šíreniu rakoviny do jednej alebo viacerých lymfatických uzlín v blízkosti počiatočného miesta ochorenia.
- **Štádium IV** – vzdialené metastatické ochorenie s rozšírením do pľúc, centrálného nervového systému alebo pečene (Papageorgiou *et al.*, 2021; Naik, 2021).

## Rizikové faktory vzniku melanómu

Približne u 5-12% prípadov ide o dedičné melanómy, pri ktorých sa vyskytuje mutácia génu *CDKN2A*. Je to gén lokalizovaný na chromozóme 9, ktorého poškodenie spôsobuje defekty v proteínoch p14<sup>ARF</sup> a p16<sup>INK4A</sup>. Tie sú nádorovými supresormi kontrolujúcimi G1 kontrolný bod a stabilizujúcimi expresiu p53 (Davis *et al.*, 2019; Strashilov *et Yordanov*, 2021). Prostredníctvom p16 sú inhibované CDK4 a CDK6 (cyklín-dependentná kináza), čo zabraňuje fosforylácii RB1 (proteín retinoblastómu). RB1 následne bráni transkripčnému faktoru E2F1 spustiť prechod z G1 na S-fázu. p14 spôsobuje proteazomálnu degradáciu nádorového supresoru p53, ktorého deštrukcia narúša reakciu kontrolného bodu G2. To zabraňuje p53 vykonávať jeho funkciu, ktorou je za normálnych okolností schopný zastaviť progresiu rakoviny. Celkovo dochádza inaktiváciou *CDKN2A* k zníženiu apoptózy a naopak sa zvyšuje proliferácia (Soura *et al.*, 2017).

Do vývoja melanómu sú zapojené predovšetkým somatické mutácie, pričom najčastejšie ide o mutácie signálnej dráhy MAP kinázy. Za skoré onkogénne udalosti sú považované mutácie v *BRAF* a *MAPK*. Približne 70% melanómov obsahuje mutácie v signálnej dráhe MAPK a 50% melanómov obsahuje aktivujúce mutácie *BRAF*, z ktorých je najčastejšou mutácia V600E. Najčastejšie sa vyskytujú u melanómov vznikajúcich z prerušovaného vystavenia slnečnému žiareniu a s fenotypom povrchovo sa šíriaceho melanómu (Davis *et al.*, 2019). Za normálnych okolností sa BRAF zúčastňuje homo- alebo heterodimerizácie s inou RAF kinázou v reakcii na rastové signály. Avšak pri aktivácii mutácie dochádza k tomu, že BRAF pôsobí ako sebestačný a nepretržite aktivovaný monomér. Dochádza tak k nekontrolovateľnej bunkovej proliferácii, ktorá môže byť dôležitá pri vývoji a raste nádoru (Liu *et Sheikh*, 2015). MAPK signálna dráha je často ovplyvňovaná aj aktivačnou mutáciou *NRAS*. *NRAS* bol prvým identifikovaným melanómovým onkogénom a v súčasnosti sa vyskytuje v 15-20% melanómov. Táto mutácia je charakteristická pre hrubšie primárne melanómy, ktoré majú horšiu prognózu (Muñoz-Couselo *et al.*, 2017). Medzi ďalšie mutácie spôsobujúce melanóm patria *CKIT* mutácie a *GNAQ* mutácie. Dráha MAPK je dôležitou onkogénnou dráhou, ktorá je hlavným cieľom terapeutickú intervencie (Davis *et al.*, 2019).

Menej časté sú mutácie v dráhach opravy nukleotidovej excízie (NER), napriek tomu sú však podstatne virulentnejšie a zvyšujú riziko tvorby melanómu. Vplyvom UV žiarenia dochádza k poškodeniu DNA a tvorbe fotoproduktov, ktoré sú odstraňované pomocou NER. Pokiaľ však dôjde k zlyhaniu NER, vznikajú mutácie a zvyšuje sa riziko kožných malignít (Davis *et al.*, 2019).

### 3.4.2.1 Úloha AhR pri rozvoji malígneho melanómu

Pri regulácii bunkovej homeostázy má dôležitú úlohu extracelulárna matrica (ECM). ECM je dynamickou štruktúrou, ktorá sa neustále skladá, remodeluje a degraduje, čím udržiava homeostázu tkaniva. Jej dysregulácia tak môže prispieť k rozvoju viacerých patologických stavov (Walker *et al.*, 2018). ECM je degradovaná a remodelovaná prostredníctvom matricových metaloproteináz (MMP). Ich aktivita je regulovaná inhibítormi metaloproteináz (TIMP) tak, aby bola zabezpečená rovnováha medzi degradáciou a rekonštrukciou ECM. Avšak zvýšená expresia a aktivita MMP môže mať vplyv na tvorbu, vývoj a progresiu rakoviny, vrátane melanómu. Na vzniku rakoviny sa najviac podieľajú MMP-1, MMP-2 a MMP-9 (Napoli *et al.*, 2020). K zvýšenej expresii MMP dochádza aj prostredníctvom signalizácie AhR. Viaceré z jeho ligandov sú environmentálnymi karcinogénmi, ktorých expozícia prispieva k iniciácii a progresii melanómu. Jedným z týchto environmentálnych karcinogénov je aj TCDD, ktorý je schopný aktivovať signálnu dráhu AhR v ľudských melanocytoch aj v melanómových bunkách. V štúdií Villano a kolektívu bolo jedným zo zistení aj to, že expresia AhR v melanómových bunkách sa zvyšuje s ich invazívnosťou. Pri ošetrovaní invazívnych melanómových buniek A2058 TCDD bola pozorovaná expresia CYP1A1 a CYP1B1. Naopak pri ich ošetrovaní spolu s AhR antagonistom  $\alpha$ -naftoflavónom bola expresia týchto cytochrómov zrušená. Tieto údaje potvrdili, že TCDD indukuje expresiu CYP1A1 a CYP1B1 v melanómových bunkách prostredníctvom AhR. Dôležitým zistením tejto štúdie je, že AhR signalizácia sprostredkovala TCDD indukovanú expresiu a aktivitu MMP-1, MMP-2 a MMP-9 v invazívnej línii melanómu A2058. Na základe toho je možné tvrdiť, že TCDD prostredníctvom AhR prispieva k iniciácii a progresii nádoru aktiváciou MMP (Villano *et al.*, 2006).

Ako už bolo spomínané, približne 50% melanómov obsahuje mutáciu v *BRAF*, z ktorých najčastejšia je *BRAF V600E*. Táto mutácia spôsobuje konštitutívnu aktiváciu MAPK dráhy, čím dochádza k nekontrolovateľnej bunkovej proliferácii a inhibícii apoptózy. Z tohto dôvodu boli vyvinuté *BRAF* inhibítory (*BRAF*i), ktoré sa používajú na liečbu melanómu. Jedným inhibítorom *BRAF V600E* je Vemurafenib, ktorý je vysoko selektívny a aktívny u pacientov s metastatickým melanómom. Pri inhibícii *BRAF V600E* má v závislosti od dávky antiproliferatívne a apoptické účinky. V porovnaní so štandardnou chemoterapiou má liečba Vemurafenibom lepšiu odpoveď a je aj dobre tolerovaná. Napriek dobrým klinickým výsledkom tejto liečby, dochádza u väčšiny pacientov k vzniku rezistencie na tento *BRAF*i (Swaika *et al.*, 2014). Mechanizmus tejto terapeutickú rezistencie zahŕňa vnútornú dráhu rezistencie, pri ktorej je reaktivovaná signálna dráha MAPK. V prítomnosti *BRAF*i môže byť reaktivovaná signálna dráha MAPK mutačnou aktiváciou *NRAS*, *MEK1* alebo *MEK2*. Alebo sú mechanizmom rezistencie na *BRAF*i aj zvýšené hladiny proteínu CRAF. Pri vonkajšej dráhe rezistencie nastáva aktivácia alternatívnych signálnych dráh (Holderfield *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2016). V štúdiu Corre a kolektívu bola zistená úloha AhR v rezistencii voči *BRAF* inhibítorom. Najskôr bola v melanómových bunkách pozorovaná väzba *BRAF*i Vemurafenibu na AhR, ktorou došlo k jadrovej translokácii. Vemurafenib ale nestimuloval kanonickú dráhu AhR a ani jeho vplyvom nedošlo k indukcii expresie CYP1A1. *BRAF*i teda aktivoval AhR signalizáciu, ako jeho nekanonický ligand. V tomto prípade podporuje AhR transkripčnú dráhu, ktorá následne udržiava bunky v proliferatívnom a na liečivo senzitívnom stave. Pri *BRAF*i rezistencii ide väčšinou o dediferencované bunky, ktorých stav bol podporený aktiváciou AhR pomocou kanonických ligandov. Chronická aktivácia AhR kanonickými ligandmi je schopná meniť bunky citlivé na *BRAF*i na rezistentné bunky. Pri konštitutívnej a chronickej aktivácii AhR je tak podporované agresívne správanie nádoru a tumorigenéza *in vivo*. V skutočnosti môže mať AhR pro- alebo protinádorovú aktivitu v závislosti od stavu buniek. Pretože jeho aktivácia je spojená aj so zmenou procesov bunkovej diferenciácie a dormanciou melanómových buniek. Dôležitým faktom preto je, že k aktivácii AhR dochádza predovšetkým v reakcii na environmentálne faktory, akými sú UV žiarenie a znečisťujúce látky (Corre *et al.*, 2018).

## 4 ZÁVER

Cieľom tejto rešeršnej práce bolo objasniť úlohu aryl uhl'ovodíkového receptora v zachovaní integrity kože. V prvej časti práce boli uvedené základné informácie o aryl uhl'ovodíkovom receptore. Rovnako boli uvedené aj princípy jeho signalizácie a spôsob fungovania jeho dvoch základných signálnych dráh.

Druhá časť sa zaoberala atopickou dermatitídou a úlohou AhR v jej rozvoji a liečbe. Pre správne pochopenie vzniku atopickej dermatitídy bola najskôr popísaná úloha kože a funkcie epidermálnej bariéry. Následne boli opísané možné príčiny a rizikové faktory prispievajúce k rozvoju tohto ochorenia. Na konkrétnych štúdiách bol vysvetlený spôsob, akým môže AhR prispieť k vzniku atopickej dermatitídy. Zároveň boli uvedené aj spôsoby využitia jeho signalizácie v liečbe tohto chronického zápalového ochorenia.

V tretej časti bola objasnená úloha AhR v procese predčasného starnutia pokožky. Najskôr bol vysvetlený proces starnutia so zameraním najmä na chronické starnutie vplyvom vonkajších faktorov prostredia. Vysvetlené boli škodlivé účinky slnečného UV žiarenia, ktoré spôsobujú fotostarnutie pokožky. A tiež druhý dôležitý faktor podieľajúci sa na procese chronického starnutia, ktorým je znečistenie ovzdušia a konkrétne jeho zložky, medzi ktoré patria aj polycklické aromatické uhl'ovodíky, pevné častice a ozón. Následne bolo vysvetlené zapojenie AhR do procesu predčasného starnutia na konkrétnych príznakoch, akými sú tvorba vrások a pigmentácia.

Posledná časť bola venovaná rakovine kože a hlavne karcinogénnym účinkom UV žiarenia a znečistenia ovzdušia. Tieto karcinogénne účinky boli popísané na dvoch konkrétnych príkladoch rakoviny kože. Prvým bol skvamocelulárny karcinóm, ktorý je druhým najčastejším typom rakoviny kože. Dôležitá úloha AhR v jeho rozvoji bola vysvetlená spolu s rizikovými faktormi vzniku skvamocelulárneho karcinómu. Ako druhý príklad bol uvedený malígny melanóm. Tu bol popísaný spôsob akým môže byť prostredníctvom environmentálnych karcinogénov zapojený AhR do rozvoja tejto rakoviny kože. Tiež bol vysvetlený spôsob, ktorým sa AhR podieľa na vzniku rezistencie voči inhibítorm používaným pri liečbe malígneho melanómu.

Na základe uvedených informácií je možné tvrdiť, že aryl uhl'ovodíkový receptor má dôležitú úlohu v zachovaní integrity kože. Aktivácia jeho signalizácie môže viesť k narušeniu integrity prostredníctvom rozvoja chronických zápalových ochorení kože



alebo karcinogénnych stavov. K tejto nežiadúcej aktivácii môže dochádzať vplyvom ligandov, ktoré sú často súčasťou environmentálnych faktorov, ktorým je koža neustále vystavovaná. V určitých prípadoch, ale môže mať aktivácia alebo blokovanie signálnej dráhy aryl uhl'ovodíkového receptora vhodnými ligandmi pozitívne účinky pri potláčaní týchto patologických stavov. Pri správnom pochopení jeho fungovania, tak môže byť použitý pri liečbe viacerých kožných ochorení a prispieť k zlepšeniu integrity kože.

## 5 LITERATÚRA

Afaq, F., M. A. Zaid, E. Pelle, N. Khan, D. N. Syed, M. S. Matsui, D. Maes a H. Mukhtar. Aryl Hydrocarbon Receptor Is an Ozone Sensor in Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2009, 129(10), 2396-2403 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0022-202X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/jid.2009.85>

Agarwal, S. a K. Krishnamurthy. Histology, Skin. *StatPearls* [online]. 2022, [cit. 20223--03-15].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537325/>

Atherton, D. J. Topical corticosteroids in atopic dermatitis. *BMJ (Clinical research ed.)* [online]. 2003, 327(7421), 942–943 [cit. 2023-04-24]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7421.942>

Bao, L., V. Y. Shi a L. S. Chan. IL-4 regulates chemokine CCL26 in keratinocytes through the Jak1, 2/Stat6 signal transduction pathway: Implication for atopic dermatitis. *Molecular Immunology* [online]. 2012, 50(1-2), 91-97 [cit. 2023-04-27]. ISSN 0161-5890. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2011.12.008>

Batista L. F. Z., B. Kaina, R. Meneghini a C. F. M. Menck. How DNA lesions are turned into powerful killing structures: Insights from UV-induced apoptosis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* [online]. 2009, 681(2-3), 197-208 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1383-5742.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.09.001>

Beck, L.A a D. Y. M. Leung. Allergen sensitization through the skin induces systemic allergic responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2000, 106 (5), 258-263 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0091-6749. Dostupné z: <https://doi.org/10.1067/mai.2000.110159>

Bissonnette, R., L. Stein Gold, D. S. Rubenstein, A. M. Tallman a A. Armstrong. Tapinarof in the treatment of psoriasis: A review of the unique mechanism of action of a novel therapeutic aryl hydrocarbon receptor–modulating agent. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2021, 84(4), 1059-1067 [cit. 2023-05-02]. ISSN 0190-9622. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.10.085>

Berman, B. a C. J. Cockerell. Pathobiology of actinic keratosis: Ultraviolet-dependent keratinocyte proliferation. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2013, 68(1), 10-19 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0190-9622. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2012.09.053>

Bjerre, R. D., J. Bandier, L. Skov, L. Engstrand a J. D. Johansen. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis: a systematic review. *The British journal of dermatology* [online]. 2017, 177(5), 1272–1278 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1365-2133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/bjd.15390>

Bosch, R., N. Philips, J. A. Suárez-Pérez, A. Juarranz, A. Devmurari, J. Chalensouk-Khaosaa a S. González. Mechanisms of Photoaging and Cutaneous Photocarcinogenesis, and Photoprotective Strategies with Phytochemicals. *Antioxidants (Basel, Switzerland)* [online]. 2015, 4(2), 248–268 [cit. 2023-03-29]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox4020248>

Braverman, I. M. a E. Fonferko. Studies in Cutaneous Aging: I. The Elastic Fiber Network, *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 1982, 78(5), 434-443 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0022-202X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12507866>

Burke, K. E. Mechanisms of aging and development-A new understanding of environmental damage to the skin and prevention with topical antioxidants. *Mechanisms of Ageing and Development* [online]. 2018, 172, 123-130 [cit. 2023-03-30]. ISSN 0047-6374. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.12.003>

Cichorek, M., M. Wachulska, A. Stasiewicz a A. Tymińska. Skin melanocytes: biology and development. *Postepy dermatologii i alergologii* [online]. 2013, 30(1), 30–41 [cit. 2023-04-21]. ISSN 2299-0046. Dostupné z: <https://doi.org/10.5114/pdia.2013.33376>

Corre, S., N. Tardif, N. Mouchet, H. M. Leclair, L. Boussemart, A. Gautron, L. Bachelot, A. Perrot, A. Soshilov, A. Rogiers, F. Rambow, E. Dumontet, K. Tarte, A. Bessede, G. J. Guillemin, J. C. Marine, M. S. Denison, D. Gilot a M. D. Galibert. Sustained activation of the Aryl hydrocarbon Receptor transcription factor promotes resistance to BRAF-inhibitors in melanoma. *Nature communications* [online]. 2018, 9(1), 4775 [cit. 2023-04-12]. ISSN 2041-1723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06951-2>

Davis, L. E., S. C. Shalin a A. J. Tackett. Current state of melanoma diagnosis and treatment. *Cancer biology & therapy* [online]. 2019, 20(11), 1366–1379 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1555-8576. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1640032>

De Abrew, K. N., C. L. Thomas-Virnig, C. A. Rasmussen, E. A. Bolterstein, S. J. Schlosser a B. L. Allen-Hoffmann. TCDD induces dermal accumulation of keratinocyte-derived matrix metalloproteinase-10 in an organotypic model of human skin. *Toxicology and applied pharmacology* [online]. 2014, 276(3), 171–178 [cit. 2023-04-20]. ISSN 1096-0333. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.02.010>

Dietrich, C. a B. Kaina. The aryl hydrocarbon receptor (AhR) in the regulation of cell-cell contact and tumor growth. *Carcinogenesis* [online]. 2010, 31(8), 1319-1328 [cit. 2023-02-25]. ISSN 1460-2180. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq028>

Dijk M., D. Typas, L. Mullenders a A. Pines. Insight in the multilevel regulation of NER. *Experimental Cell Research* [online]. 2014, 329(1), 116-123 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0014-4827. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.08.010>

D'Mello, S. A., G. J. Finlay, B. C. Baguley a M. E. Askarian-Amiri. Signaling Pathways in Melanogenesis. *International journal of molecular sciences* [online]. 2016, 17(7), 1144 [cit. 2023-04-21]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms17071144>

Drislane, C. a A. D Irvine. The role of filaggrin in atopic dermatitis and allergic disease. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* [online]. 2020, 124(1), 36–43 [cit. 2023-03-19]. ISSN 1081-1206.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.10.008>

Ebina-Shibuya, R. a W. J. Leonard. Role of thymic stromal lymphopoietin in allergy and beyond. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2023, 23(1), 24–37 [cit. 2023-03-25]. ISSN 1474-1741. Dostupné z : <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00735-y>

Elias, P. M. Skin barrier function. *Current allergy and asthma reports* [online]. 2008, 8(4), 299-305 [cit. 2023-03-19]. ISSN 1534-6315.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11882-008-0048-0>

Elitt, C. M., S. L. McIlwrath, J. J. Lawson, S. A. Malin, D. C. Molliver, P. K. Cornuet, H. R. Koerber, B. M. Davis a K. M. Albers. Artemin overexpression in skin enhances

expression of TRPV1 and TRPA1 in cutaneous sensory neurons and leads to behavioral sensitivity to heat and cold. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* [online]. 2006, 26(33), 8578–8587 [cit. 2023-03-25]. ISSN 1529-2401. Dostupné z: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2185-06.2006>

Elmets, C. A. a M. Athar. Milestones in photocarcinogenesis. *The Journal of investigative dermatology* [online]. 2013, 133(1), 13–17 [cit. 2023-04-21]. ISSN 1523-1747. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/skinbio.2013.179>

Enan, E. a F. Matsumura. Identification of c-Src as the integral component of the cytosolic Ah receptor complex, transducing the signal of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) through the protein phosphorylation pathway. *Biochem Pharmacol* [online]. 1996, 52(10), 1599-612 [cit. 2023-03-08]. ISSN 006-2952. Dostupné z: doi: 10.1016/s0006-2952(96)00566-7

Esser, C., I. Bargen a H. Weighardt. Functions of the aryl hydrocarbon receptor in the skin. *Semin Immunopathol* [online]. 2013, 35(6), 677-691 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1863-2300. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00281-013-0394-4>

Fania, L., D. Didona, F. R. Di Pietro, S. Verkhovskaia, R. Morese, G. Paolino, M. Donati, F. Ricci, V. F. Ricci, E. Candi, D. Abeni a E. Dellambra. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Approaches. *Biomedicines* [online]. 2021, 9(2), 171 [cit. 2023-04-22]. ISSN 2227-9059. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020171>

Fernández-Gallego, N., F. Sánchez-Madrid a D. Cibrian. Role of AHR Ligands in Skin Homeostasis and Cutaneous Inflammation. *Cells* [online]. 2021, 10(11), 3176 [cit. 2023-03-21]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells10113176>

Fisher, G. J., S. Kang, J. Varani, Z. Bata-Csorgo, Y. Wan, S. Datta a J. J. Voorhees. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Archives of dermatology* [online]. 2002, 138(11), 1462–1470 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0003-987X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/archderm.138.11.1462>

Fortino, V., E. Maioli, C. Torricelli, P. Davis a G. Valacchi. Cutaneous MMPs are differently modulated by environmental stressors in old and young mice. *Toxicology Letters* [online]. 2007, 173(2), 73-79 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0378-4274. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.06.004>

- Frauenstein, K., U. Sydlik, J. Tigges, M. Majora, C. Wiek, H. Hanenberg, J. Abel, C. Esser, E. Fritsche, J. Krutmann a T. Haarmann-Stemmann. Evidence for a novel anti-apoptotic pathway in human keratinocytes involving the aryl hydrocarbon receptor, E2F1, and checkpoint kinase 1. *Cell death and differentiation* [online]. 2013, 20(10), 1425–1434 [cit. 2023-04-10]. ISSN 1476-5403. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/cdd.2013.102>
- Fuks, K. B., A. Hüls, D. Sugiri, H. Altug, A. Vierkötter, M. J. Abramson, J. Goebel, G. G. Wagner, I. Demuth, J. Krutmann a T. Schikowski. Tropospheric ozone and skin aging: Results from two German cohort studies. *Environment International* [online]. 2019, 124, 139-144 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0160-4120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.047>
- Furue, M., A. Hashimoto-Hachiya a G. Tsuji. Aryl Hydrocarbon Receptor in Atopic Dermatitis and Psoriasis. *International journal of molecular sciences* [online]. 2019, 20(21), 5424 [cit. 2023-03-19]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms20215424>
- Green, A. C. a C. M. Olsen, Cutaneous squamous cell carcinoma: an epidemiological review, *British Journal of Dermatology* [online]. 2017, 177(2), 373-381 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0007-0963. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/bjd.15324>
- Griffiths, H. R., P. Mistry, K. E. Herbert a J. Lunec. Molecular and Cellular Effects of Ultraviolet Light-Induced Genotoxicity, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* [online]. 1998, 35(3), 189-237 [cit. 2023-04-20]. ISSN 1040-8363. Dostupné z: doi: 10.1080/10408369891234192
- Hahn, M.E., L. L. Allan a D. H. Sherr. Regulation of constitutive and inducible AHR signaling: complex interactions involving the AHR repressor. *Biochem Pharmacol* [online]. 2008, 77(4), 485-497 [cit. 2023-03-08]. ISSN 006-2952. Dostupné z: doi: 10.1016/j.bcp.2008.09.016
- Haarmann-Stemmann, T., C. Esser a J. Krutmann. The Janus-Faced Role of Aryl Hydrocarbon Receptor Signaling in the Skin: Consequences for Prevention and Treatment of Skin Disorders. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2015, 135(11), 2572-2576 [cit. 2023-03-30]. ISSN 0022-202X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/jid.2015.285>

Hearing, V. J. Determination of melanin synthetic pathways. *The Journal of investigative dermatology* [online]. 2011, 131(1), 8–11 [cit. 2023-04-21]. ISSN 1523-1747. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/skinbio.2011.4>

Hidaka, T., E. Ogawa, E. Kobayashi, T. Suzuki, R. Funayama, T. Nagashima, T. Fujimura, S. Aiba, K. Nakayama, R. Okuyama a M. Yamamoto. The aryl hydrocarbon receptor AhR links atopic dermatitis and air pollution via induction of the neurotrophic factor artemin. *Nature Immunology* [online]. 2017, 18(1), 64–73 [cit. 2023-03-22]. ISSN 1529-2916. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ni.3614>

Hidaka, T., T. Fujimura a S. Aiba. Aryl Hydrocarbon Receptor Modulates Carcinogenesis and Maintenance of Skin Cancers. *Frontiers in medicine* [online]. 2019, 6, 194 [cit. 2023-04-06]. ISSN 2296-858X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00194>

Higashi, N., B. Gesser, S. Kawana a K. Thestrup-Pedersen. Expression of IL-18 mRNA and secretion of IL-18 are reduced in monocytes from patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2001, 108(4), 607-614 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0091-6749. Dostupné z: <https://doi.org/10.1067/mai.2001.118601>

Holderfield, M., M. M. Deuker, F. McCormick a M. McMahon. Targeting RAF kinases for cancer therapy: BRAF-mutated melanoma and beyond. *Nature reviews. Cancer* [online]. 2014, 14(7), 455–467 [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrc3760>

Holick, M. F. Biological Effects of Sunlight, Ultraviolet Radiation, Visible Light, Infrared Radiation and Vitamin D for Health. *Anticancer Research* [online]. 2016, 36(3), 1345-1356 [cit. 2023-04-20]. ISSN 1791-7530. Dostupné z: <http://ar.iiarjournals.org/content/36/3/1345.abstract>

Hrestak, D., M. Matijašić, H. Čipčić Paljetak, D. Ledić Drvar, S. Ljubojević Hadžavdić a M. Perić. Skin Microbiota in Atopic Dermatitis. *International journal of molecular sciences* [online]. 2022, 23(7), 3503 [cit. 2023-04-27]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms23073503>

Ide, F., N. Suka, M. Kitada, H. Sakashita, K. Kusama a T. Ishikawa. Skin and salivary gland carcinogenicity of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene is equivalent in the presence or absence of aryl hydrocarbon receptor. *Cancer Letters* [online]. 2004, 214(1), 35-41

[cit. 2023-04-22]. ISSN 0304-3853. Dostupné z:  
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.04.014>

Jinlei, Yu, Yang Luo, Zhenlai Zhu, Yufeng Zhou, Licheng Sun, Jixin Gao, Jinlv Sun, Gang Wang, Xu Yao a Wei Li. A tryptophan metabolite of the skin microbiota attenuates inflammation in patients with atopic dermatitis through the aryl hydrocarbon receptor. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2019, 143(6), 2180-2119.e12 [cit.2023-03-27]. ISSN 0091-6749. Dostupné z:  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.11.036>

Keam, S. J. Tapinarof Cream 1%: First Approval. *Drugs* [online]. 2022, 82(11), 1221–1228 [cit. 2023-04-02]. ISSN 1179-1950. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40265-022-01748-6>

Kim, A. a M. S. Cohen. The discovery of vemurafenib for the treatment of BRAF-mutated metastatic melanoma. *Expert opinion on drug discovery* [online]. 2016, 11(9), 907–916 [cit. 2023-04-23]. ISSN 1746-045X. Dostupné z:  
<https://doi.org/10.1080/17460441.2016.1201057>

Kim, B. E., Leung, D. Y., Boguniewicz, M. a M. D. Howell. Loricrin and involucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* [online]. 2008, 126(3), 332–337 [cit. 2023-04-27]. ISSN 1521-7035. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2007.11.006>

Kim, J., B. E. Kim a D. Y. M. Leung,. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical implications. *Allergy and asthma proceedings* [online]. 2019, 40(2), 84–92 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1539-6304. Dostupné z:  
<https://doi.org/10.2500/aap.2019.40.4202>

Krutmann J., A. Bouloc, G. Sore, B. A. Bernard a T. Passeron. The skin aging exposome. *Journal of Dermatological Science* [online]. 2017, 85(3), 152-161 [cit. 2023-03-28]. ISSN 0923-1811. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2016.09.015>

Kung, T., K. A. Murphy a L. A. White. The aryl hydrocarbon receptor (AhR) pathway as a regulatory pathway for cell adhesion and matrix metabolism. *Biochemical pharmacology* [online]. 2009, 77(4), 536–546 [cit. 2023-04-20]. ISSN 1873-2968. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.09.031>



- Larigot, L., L. Juricek, J. Dairou a X. Coumoul. AhR signaling pathways and regulatory functions. *Biochimie Open* [online]. 2018, 7, 1-9 [cit. 2023-03-01]. ISSN 2214-0085. Dostupné z: doi: 10.1016/j.biopen.2018.05.001
- Lee, H., Y. Hong a M. Kim. Structural and Functional Changes and Possible Molecular Mechanisms in Aged Skin. *International journal of molecular sciences* [online]. 2021, 22(22), 12489 [cit. 2023-04-20]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms222212489>
- Leung, D. Y. M. a T. Bieber. Atopic dermatitis. *The Lancet* [online]. 2003, 361(9352), 151-160 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12193-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12193-9)
- Li Fang Koh, Ruo Yan Ong a J. E. Common. Skin microbiome of atopic dermatitis. *Allergology International* [online]. 2022, 71(1), 31-39 [cit. 2023-04-27]. ISSN 1323-8930. Dostupné z : <https://doi.org/10.1016/j.alit.2021.11.001>
- Luecke, S., M. Backlund, B. Jux, C. Esser, J. Krutmann a A. Rannug. The aryl hydrocarbon receptor (AHR), a novel regulator of human melanogenesis. *Pigment Cell & Melanoma Research* [online]. 2010, 23(6), 828-833 [cit. 2023-04-03]. ISSN 1755-1471. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2010.00762.x>
- Liu, Y. a M. S. Sheikh. Melanoma: Molecular Pathogenesis and Therapeutic Management. *Molecular and cellular pharmacology* [online]. 2014, 6(3), 228 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1938-1247. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4346328/>
- Liu, Y., X. Liang, X. Yin, J. Lv, K. Tang, J. Ma, T. Ji, H. Zhang, W. Dong, X. Jin, D. Chen, Y. Li, S. Zhang, H. Q. Xie, B. Zhao, T. Zhao, J. Lu, Z. W. Hu, X. Cao, F. X. Qin a B. Huang. Blockade of IDO-kynurenine-AhR metabolic circuitry abrogates IFN- $\gamma$ -induced immunologic dormancy of tumor-repopulating cells. *Nature communications* [online]. 2017, 8, 15207 [cit. 2023-04-12]. ISSN 2041-1723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ncomms15207>
- Lopez-Ojeda, W., A. Pandey, M. Alhajj a A. M. Oakley. Anatomy, Skin (Integument). *StatPearls* [online]. 2022, [cit. 2023-03-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441980/>

Makrantonaki, E., V. Bekou a C. C. Zouboulis. Genetics and skin aging. *Dermato-endocrinology* [online]. 2012, 4(3), 280–284 [cit.2023-03-29]. ISSN 1938-1980. Dostupné z: <https://doi.org/10.4161/derm.22372>

Mancebo, S. E. a S. Q. Wang. Recognizing the impact of ambient air pollution on skin health. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 2015, 29(12), 2326-2332 [cit. 2023-04-21]. ISSN 1468-3083. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jdv.13250>

Marchini, T. N.D. Magnani, M.L. Paz, V. Vanasco, D. Tasat, D. H. González Maglio, S. Alvarez a P.A. Evelson. Time course of systemic oxidative stress and inflammatory response induced by an acute exposure to Residual Oil Fly Ash. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. 2014, 274(2), 274-282 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0041-008X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.11.013>

Massagué, J. a D. Wotton. Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system. *The EMBO journal* [online]. 2000, 19(8), 1745–1754 [cit. 2023-04-02]. ISSN 1460-2075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/emboj/19.8.1745>

Matsumura, F. The significance of the nongenomic pathway in mediating inflammatory signaling of the dioxin-activated Ah receptor to cause toxic effects. *Biochem Pharmacol* [online]. 2008, 77(4), 608-26 [cit. 2023-03-08]. ISSN 006-2952. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.10.013>

Modi, B. G., J. Neustadter, E. Binda, J. Lewis, R. B. Filler, S. J. Roberts, B. Y. Kwong, S. Reddy, J. D. Overton, A. Galan, R. Tigelaar, L. Cai, P. Fu, M. Shlomchik, D. H. Kaplan, A. Hayday a M. Girardi. Langerhans cells facilitate epithelial DNA damage and squamous cell carcinoma. *Science* [online]. 2012, 335(6064), 104–108 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1095-9203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.1211600>

Muñoz-Couselo, E., E. Z. Adelantado, C. Ortiz, J. S. García a J. Perez-Garcia. NRAS-mutant melanoma: current challenges and future prospect. *OncoTargets and therapy* [online]. 2017, 10, 3941–3947 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1178-6930. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/OTT.S117121>

Murphy, K. A., C. M. Villano, R. Dorn a L. A. White. Interaction between the Aryl Hydrocarbon Receptor and Retinoic Acid Pathways Increases Matrix Metalloproteinase-

1 Expression in Keratinocytes. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2004, 279(24), 25284-25293 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.M402168200>

Mustafa, M. G. Biochemical basis of ozone toxicity. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 1990, 9(3), 245-265 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0891-5849. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)90035-H](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90035-H)

Naik, P. P. Cutaneous Malignant Melanoma: A Review of Early Diagnosis and Management. *World journal of oncology* [online]. 2021, 12(1), 7–19 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1920-454X. Dostupné z: <https://doi.org/10.14740/wjon1349>

Nakatsuji, T. a R. L. Gallo. Antimicrobial peptides: old molecules with new ideas. *The Journal of investigative dermatology* [online]. 2012, 132(3 Pt 2), 887–895 [cit. 2023-03-20]. ISSN 002-202X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/jid.2011.387>

Nakatsuji, T., T. H. Chen, A. M. Two, K. A. Chun, S. Narala, R. S. Geha, T. R. Hata a R. L. Gallo. Staphylococcus aureus Exploits Epidermal Barrier Defects in Atopic Dermatitis to Trigger Cytokine Expression. *The Journal of investigative dermatology* [online]. 2016, 136(11), 2192-2200 [cit. 2023-03-20]. ISSN 022-202X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.05.127>

Napoli, S., C. Scuderi, G. Gattuso, V. D. Bella, S. Candido, M. S. Basile, M. Libra a L. Falzone. Functional Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Melanoma. *Cells* [online]. 2020, 9(5), 1151 [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells9051151>

Nguyen, L.P. a C. A. Bradfield. The search for endogenous activators of the aryl hydrocarbon receptor. *Chem Res Toxicol* [online]. 2008, 21(1), 102-116 [cit. 2023-02-25]. ISSN 1520-5010. Dostupné z: doi: 10.1021/tx7001965

Nogales, K. E., L. C. Zaba, A. Shemer, J. Fuentes-Duculan, I. Cardinale, T. Kikuchi, M. Ramon, R. Bergman, J. G. Krueger, a E. Guttman-Yassky. IL-22-producing "T22" T cells account for upregulated IL-22 in atopic dermatitis despite reduced IL-17-producing TH17 T cells. *The Journal of allergy and clinical immunology* [online]. 2009, 123(6), 1244-1252.e2 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0091-6749. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.03.041>

Nutten, S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. *Annals of nutrition & metabolism* [online]. 2015, 66(1), 8–16 [cit. 2023-03-17]. ISSN 1421-9697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000370220>

Ono, Y., K. Torii, E. Fritsche, Y. Shintani, E. Nishida, M. Nakamura, Y. Shirakata, T. Haarmann-Stemmann, J. Abel, J. Krutmann a A. Morita. Role of the aryl hydrocarbon receptor in tobacco smoke extract-induced matrix metalloproteinase-1 expression. *Experimental dermatology* [online]. 2013, 22(5), 349-353 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0906-6705. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/exd.12148>

Orzan, O. A., A. Şandru, A. a C. R. Jecan. Controversies in the diagnosis and treatment of early cutaneous melanoma. *Journal of medicine and life* [online]. 2015, 8(2), 132–141 [cit. 2023-04-23]. ISSN 1844-3117. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4392104/>

Palmer, C., A. Irvine, A. Terron-Kwiatkowski, Y. Zhao, H. Liao, S. P. Lee, D. R. Goudie, A. Sandilands, L. E. Campbell, F. J. D. Smith, G. M. O'Regan, R. M. Watson, J. E. Cecil, S. J. Bale, J. G. Compton, J. J. DiGiovanna, P. Fleckman, S. Lewis-Jones, G. Arseculeratne, A. Sergeant, C. S. Munro, B. El Houate, K. McElreavey, L. B. Halkjaer, H. Bisgaard, S. Mukhopadhyay a W. H. I. McLean. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nature Genetics* [online]. 2006, 38(4), 441–446 [cit. 2023-03-19]. ISSN 1546-1718. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ng1767>

Papageorgiou, C., Z. Apalla, S. M. Manoli, K. Lallas, E. Vakirlis a A. Lallas. Melanoma: Staging and Follow-Up. *Dermatology practical & conceptual* [online]. 2021, 11(Suppl 1), e2021162S [cit. 2023-04-08]. ISSN 2160-9381. Dostupné z: <https://doi.org/10.5826/dpc.11S1a162S>

Peppers J., A. S. Paller, T. Maeda-Chubachi, S. Wu, K. Robbins, K. Gallagher a J. E. Kraus. A phase 2, randomized dose-finding study of tapinarof (GSK2894512 cream) for the treatment of atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2019, 80(1), 89-98.e3 [cit. 2023-04-03]. ISSN 0190-9622. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.06.047>

Pfisterer, K., L. E. Shaw, D. Symmank a W. Weninger. The Extracellular Matrix in Skin Inflammation and Infection. *Frontiers in cell and developmental biology* [online]. 2021,

9, 682414 [cit. 2023-04-20]. ISSN 2296-634X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.682414>

Philips, N., M. Tuason, T. Chang, Y. Lin, M. Tahir a S. G. Rodriguez. Differential effects of ceramide on cell viability and extracellular matrix remodeling in keratinocytes and fibroblasts. *Skin pharmacology and physiology* [online]. 2009, 22(3), 151–157 [cit. 2023-03-31]. ISSN 1660-5535. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000208168>

Pittayapruek, P., J. Meephansan, O. Prapapan, M. Komine a M. Ohtsuki. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. *International journal of molecular sciences* [online]. 2016, 17(6), 868 [cit. 2023-04-02]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms17060868>

Pollet, M., S. Shaik, M. Mescher, K. Frauenstein, J. Tigges, S. A. Braun, K. Sondenheimer, M. Kaveh, A. Bruhs, S. Meller, B. Homey, A. Schwarz, C. Esser, T. Douki, C. F. A. Vogel, J. Krutmann a T. Haarmann-Stemann. The AHR represses nucleotide excision repair and apoptosis and contributes to UV-induced skin carcinogenesis. *Cell death and differentiation* [online]. 2018, 25(10), 1823–1836 [cit. 2023-04-08]. ISSN 1476-5403. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0160-1>

Proietti, I., N. Skroza, N. Bernardini, E. Tolino, V. Balduzzi, A. Marchesiello, S. Michelini, S. Volpe, A. Mambrin, G. Mangino, G. Romeo, P. Maddalena, C. Rees, C a C. Potenza. Mechanisms of Acquired BRAF Inhibitor Resistance in Melanoma: A Systematic Review. *Cancers* [online]. 2020, 12(10), 2801 [cit. 2023-04-23]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cancers12102801>

Qiu, D., K. Owen, K. Gray, R. Bass a V. Ellis. Roles and regulation of membrane-associated serine proteases. *Biochemical Society transactions* [online]. 2007, 35(3), 583-587 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0300-5127. Dostupné z: <https://doi.org/10.1042/BST0350583>

Ratushny, V., M. D. Gober, R. Hick, T. W. Ridky a J. T. Seykora. From keratinocyte to cancer: the pathogenesis and modeling of cutaneous squamous cell carcinoma. *The Journal of clinical investigation* [online]. 2012, 122(2), 464–472 [cit. 2023-04-06]. ISSN 1558-8238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1172/JCI57415>

- Rittié, L. a Fisher, G. J. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* [online]. 2015, 5(1), a015370 [cit. 2023-04-20]. ISSN 2157-1422. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015370>
- Roelofzen, J. H., K. K. Aben, P. G. van der Valk., J. L. van Houtum, P. C. van de Kerkhof a L. A. Kiemeney. Coal tar in dermatology. *The Journal of dermatological treatment* [online]. 2007, 18(6), 329-334 [cit. 2023-03-21]. ISSN 0954-6634. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09546630701496347>
- Roelofzen, J. H., K. H. Aben, U. T. H. Oldenhof, Pieter-Jan Coenraads, H. A. Alkemade, P. C. M. van de Kerkhof, P. G. M. van der Valk, L. A. L. M. Kiemeney. No Increased Risk of Cancer after Coal Tar Treatment in Patients with Psoriasis or Eczema. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2010, 130(4), 953-961 [cit. 2023-03-21]. ISSN 0022-202X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/jid.2009.389>
- Roewert-Huber, J., E. Stockfleth a H. Kerl. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis – an update. *British Journal of Dermatology* [online]. 2007, 157(s2), 18-20 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0007-0963. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2007.08267.x>
- Rosso, J.D., J. Zeichner, A. Alexis, D. Cohen a D. Berson. Understanding the Epidermal Barrier in Healthy and Compromised Skin: Clinically Relevant Information for the Dermatology Practitioner: Proceedings of an Expert Panel Roundtable Meeting. *J Clin Aesthet Dermatol* [online]. 2016, 9(4 Suppl 1), S2-S8 [cit. 2023-03-22]. ISSN 1941-2789. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5608132/>
- Rothhammer, V. a F. J. Quintana. The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease. *Nature reviews. immunology* [online]. 2019, 19(3), 184-197 [cit. 2023-02-25]. ISSN 1474-1741. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0125-8>
- Seebode, C., J. Lehmann a S. Emmert. Photocarcinogenesis and Skin Cancer Prevention Strategies. *Anticancer Research* [online]. 2016, 36(3), 1371-1378 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0250-7005. Dostupné z: <http://ar.iiarjournals.org/content/36/3/1371.abstract>
- Shi, Y., Z. Zeng, J. Liu, Z. Pi, P. Zou, Q. Deng, X. Ma, F. Qiao, W. Xiong, C. Zhou, Q. Zeng a R. Xiao. Particulate matter promotes hyperpigmentation via AhR/MAPK signaling activation and by increasing  $\alpha$ -MSH paracrine levels in keratinocytes.

*Environmental Pollution* [online]. 2021, 278, 116850 [cit. 2023-04-03]. ISSN 0269-7491. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116850>

Shi, S., D. Y. Yoon, K. C. Hodge-Bell, I. G. Bebenek, M. J. Whitekus, R. Zhang, A. J. Cochran, S. Huerta-Yepez, S. H. Yim, F. J. Gonzalez, A. K. Jaiswal a O. Hankinson. The aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (Arnt) is required for tumor initiation by benzo[a]pyrene. *Carcinogenesis* [online]. 2009, 30(11), 1957–1961 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1460-2180. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp201>

Shimada, T. Xenobiotic-Metabolizing Enzymes Involved in Activation and Detoxification of Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* [online]. 2006, 21(4), 257-276 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1880-0920. Dostupné z: <https://doi.org/10.2133/dmpk.2>

Shimizu, Y., Y. Nakatsuru, M. Ichinose, Y. Takahashi, H. Kume, J. Mimura, Y. Fujii-Kuriyama a T. Ishikawa. Benzo[a]pyrene carcinogenicity is lost in mice lacking the aryl hydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 2000, 97(2), 779–782 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1091-6490. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.97.2.779>

Shin, J. W., S. H. Kwon, J. Y. Choi, J. I. Na, C. H. Huh, H. R. Choi a K. C. Park. Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. *International journal of molecular sciences* [online]. 2019, 20(9), 2126 [cit. 2023-03-31]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms20092126>

Smith, S. H., C. Jayawickreme, D. J. Rickard, E. Nicodeme, T. Bui, C. Simmons, C. M. Coquery, J. Neil, W. M. Pryor, D. Mayhew, D. K. Rajpal, K. Creech, S. Furst, J. Lee, D. Wu, F. Rastinejad, T. M. Willson, F. Viviani, D. C. Morris, J.T. Moore a J. Cote-Sierra. Tapinarof Is a Natural AhR Agonist that Resolves Skin Inflammation in Mice and Humans. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2017, 137(10), 2110-2119 [cit. 2023-04-24]. ISSN 0022-202X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.05.004>

Soeur, J., J. P. Belaïdi, C. Chollet, L. Denat, A. Dimitrov, C. Jones, P. Perez, M. Zanini, O. Zobiri, S. Mezzache, D. Erdmann, G. Lereaux, J. Eilstein a L. Marrot. Photo-pollution stress in skin: Traces of pollutants (PAH and particulate matter) impair redox homeostasis in keratinocytes exposed to UVA1. *Journal of Dermatological Science* [online]. 2017,

86(2), 162-169 [cit. 2023-03-31]. ISSN 0923-1811. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2017.01.007>

Soura, E., P. J. Eliades, K. Shannon, A. J. Stratigos a H. Tsao. Hereditary melanoma: Update on syndromes and management: Genetics of familial atypical multiple mole melanoma syndrome. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2016, 74(3), 395–410 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1097-6768. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.038>

Stevens, E.A., J. D. Mezrich a C. A. Bradfield. The aryl hydrocarbon receptor: a perspective on potential roles in the immune system. *Immunology* [online]. 2009, 127(3), 299-311 [cit. 2023-02-25]. ISSN 1365-2567. Dostupné z: doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03054.x

Strashilov, S. a A. Yordanov. Aetiology and Pathogenesis of Cutaneous Melanoma: Current Concepts and Advances. *International journal of molecular sciences* [online]. 2021, 22(12), 6395 [cit. 2023-04-22]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms22126395>

Swaika, A., J. A. Crozier a R. W. Joseph. Vemurafenib: an evidence-based review of its clinical utility in the treatment of metastatic melanoma. *Drug design, development and therapy* [online]. 2014, 8, 775–787 [cit. 2023-04-23]. ISSN 1177-8881. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S31143>

Thami, G. P. a R. Sarkar. Coal tar: past, present and future, *Clinical and Experimental Dermatology* [online]. 2002, 27(2), 99–103 [cit. 2023-03-18]. ISSN 0307-6938. Dostupné z: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2230.2002.00995.x>

Thomsen, S.F. Atopic dermatitis: natural history, diagnosis, and treatment. *ISRN Allergy*. [online]. 2014, 354250 [cit. 2023-03-20]. ISSN 2090-535X. Dostupné z: doi: 10.1155/2014/354250

Tomkiewicz, C., L. Herry, L. C. Bui, C. Métayer, M. Bourdeloux, R. Barouki a X. Coumoul. The aryl hydrocarbon receptor regulates focal adhesion sites through a non-genomic FAK/Src pathway. *Oncogene* [online]. 2013, 32(14), 1811-1820 [cit. 2023-03-01]. ISSN 1476-5594. Dostupné z: doi: 10.1038/onc.2012.197

van den Bogaard, E. H., J. G. Bergboer, M. Vonk-Bergers, I. M. van Vlijmen-Willems, S. V. Hato, P. G. van der Valk, J. M. Schröder, I. Joosten, P. L. Zeeuwen a J. Schalkwijk.



Coal tar induces AHR-dependent skin barrier repair in atopic dermatitis. *The Journal of clinical investigation* [online]. 2013, 123(2), 917–927 [cit. 2023-03-22]. ISSN 1558-8238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1172/JCI65642>

van den Bogaard E. H. a G. H. Perdew. The Enigma of AHR Activation in the Skin: Interplay among Ligands, Metabolism, and Bioavailability. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2021, 141(6), 1358-1388 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1523-1747. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.12.013>

van Reijsen, F. C., C. A. F. M. Bruijnzeel-Koomen, F. S. Kalthoff, E. Maggi, S. Romagnani, J. K. T. Westland a G. C. Mudde. Skin-derived aeroallergen-specific T-cell clones of Th2 phenotype in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1992, 90(2), 184-193 [cit. 2023-03-21]. ISSN 0091-6749. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(92\)90070-I](https://doi.org/10.1016/0091-6749(92)90070-I)

Videira, I. F., D. F. Moura a S. Magina. Mechanisms regulating melanogenesis. *Anais brasileiros de dermatologia* [online]. 2013, 88(1), 76–83 [cit. 2023-04-21]. ISSN 1806-4841. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/s0365-05962013000100009>

Villano, C. M., K. A. Murphy, A. Akintobi a L. A. White. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces matrix metalloproteinase (MMP) expression and invasion in A2058 melanoma cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. 2006, 210(3), 212-224 [cit. 2023-04-23]. ISSN 0041-008X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.05.001>

Vogeley, C., C. Esser, T. Tüting, J. Krutmann a T. Haarmann-Stemmann. Role of the Aryl Hydrocarbon Receptor in Environmentally Induced Skin Aging and Skin Carcinogenesis. *International journal of molecular sciences* [online]. 2019, 20(23), 6005 [cit. 2023-03-30]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms20236005>

Vogeley, C., Rolfes, K. M., Krutmann, J. a Haarmann-Stemmann, T. The Aryl Hydrocarbon Receptor in the Pathogenesis of Environmentally-Induced Squamous Cell Carcinomas of the Skin. *Frontiers in oncology* [online]. 2022, 12, 841721 [cit. 2023-04-13]. ISSN 2234-943X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.841721>

Vrzal, R., J. Ulrichová, a Z. Dvořák. Aromatic hydrocarbon receptor status in the metabolism of xenobiotics under normal and pathophysiological conditions. *Biomedical*

*Papers*, 2004, 148(1), 3-10 [cit. 2023-02-25]. ISSN 1213-8118. Dostupné z: doi: 10.5507/bp.2004.001

Walker, C., E. Mojares a A. Del Río Hernández. Role of Extracellular Matrix in Development and Cancer Progression. *International journal of molecular sciences* [online]. 2018, 19(10), 3028 [cit. 2023-04-23]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms19103028>

Wong, Q. Y. A. a F. T. Chew. Defining skin aging and its risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports* [online]. 2021, 11(1), 22075 [cit. 2023-03-28]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01573-z>

Yaar, M. a B. A. Gilchrest. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *British Journal of Dermatology* [online]. 2007, 157(5), 874-887 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0007-0963. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2007.08108.x>

Yang, J. H., C. Vogel a J. Abel. A malignant transformation of human cells by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exhibits altered expressions of growth regulatory factors. *Carcinogenesis* [online]. 1999, 20(1), 13-18 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0143-3334. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/carcin/20.1.13>

Yousef, H., M. Alhadj a S. Sharma. Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. *StatPearls* [online]. 2022 [2023-03-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470464/>

Zelante, T., R. G. Iannitti, C. Cunha, A. De Luca, G. Giovannini, G. Pieraccini, R. Zecchi, C. D'Angelo, C. Massi-Benedetti, F. Fallarino, A. Carvalho, P. Puccetti, L. Romani. Tryptophan Catabolites from Microbiota Engage Aryl Hydrocarbon Receptor and Balance Mucosal Reactivity via Interleukin-22. *Immunity* [online]. 2013, 39(2), 372-385 [cit. 2023-04-27]. ISSN 1074-385. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.003>

## **Internetové zdroje**

URL 1: Dermavant Reports Positive Topline Results from ADORING 2 Atopic Dermatitis Phase 3 Trial of VTAMA® (tapinarof) Cream, 1% Once Daily in Adults and Children as Young as 2 Years Old. *Dermavant sciences* [online]. 2023 [cit. 2023-04-02]. Dostupné z: <https://www.dermavant.com/dermavant-reports-positive-topline-results->

from-adoring-2-atopic-dermatitis-phase-3-trial-of-vtama-tapinarof-cream-1-once-daily-in-adults-and-children-as-young-as-2-years-old/

URL 2: New positive topline results of tapinarof cream for AD down to 2 years. *Dermatology times* [online]. 2023 [cit. 2023-04-04]. Dostupné z: <https://www.dermatologytimes.com/view/new-positive-topline-results-of-tapinarof-cream-for-ad-down-to-2-years>

URL 3: Ambient (outdoor) air pollution. *World Health Organisation* [online]. 2022 [cit. 2023-04-02]. Dostupné z: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)