

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**A makrofágok efferocitózis folyamatának módosulása
elhízás során**

Sós László

Témavezető: Prof. Dr. Szondy Zsuzsanna



DEBRECENI EGYETEM

FOGORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2025

1. Tartalomjegyzék

1.	Tartalomjegyzék.....	1
2.	Rövidítések jegyzéke	3
3.	Bevezetés	8
4.	Irodalmi áttekintés	9
4.1.	Az elhízás.....	9
4.2.	A zsírséjtek típusai	10
4.3.	Hipertrófia kialakulása a zsírszövetben	11
4.4.	Efferocitózis	15
4.5.	Az apoptotikus zsírséjtek efferocitózisa	21
4.6.	Mer tirozin kináz.....	22
4.7.	A metabolikus szindróma kialakulásának lépései és következményei	23
4.8.	Az ER stressz és az autofágia kapcsolata	28
4.9.	A gyulladás és a csökkent efferocitózis kapcsolata	29
5.	Célkitűzések.....	32
6.	Anyagok és módszerek	33
6.1.	Reagensok, vegyszerek	33
6.2.	Kísérleti állatok.....	33
6.3.	Csontvelő-eredetű makrofágok (BMDM-ek) izolálása és kezelése	33
6.4.	Apoptotikus timociták létrehozása <i>in vitro</i>	34
6.5.	A sejtek életképességének vizsgálata.....	34
6.6.	Efferocitózis vizsgálatok.....	34
6.7.	Fluoreszcens mikroszkópia.....	35
6.8.	Western blot analízis	35
6.9.	Rac1, CDC42, RhoA aktivitás meghatározása	36
6.10.	A makrofágok megfestése konfokális lézer pásztázó mikroszkópiához.....	36
6.11.	Konfokális lézer pásztázó mikroszkópia	36
6.12.	Csontvelő-transzplantáció.....	37
6.13.	Szövetminták begyűjtése	37
6.14.	Adipociták és zsírszöveti makrofágok izolálása	37
6.15.	Triglicerid koncentráció meghatározása a májban	38
6.16.	Hisztológia.....	38
6.17.	RNS izolálás és valós idejű kvantitatív PCR (RT-qPCR).....	38

6.18.	Inzulinrezisztencia teszt és szérum inzulin meghatározása	38
6.19.	Statisztikai analízis	39
7.	Eredmények	40
7.1.	A palmitát BMDM-ek efferocitózisára gyakorolt gátló hatásának mechanizmusa	40
7.1.1.	A palmitát gátolja a BMDM-ekben az apoptotikus sejtek fagocitózist anélkül, hogy hatással lenne a fagocitózishoz köthető receptorok mRNS expressziójára	40
7.1.2.	A palmitát az energiaérzékelésen keresztül befolyásolhatja az efferocitózist a BMDM-ekben.....	42
7.1.3.	A palmitát fokozza az mTORC1 aktivitást a BMDM-ekben.....	44
7.1.4.	A palmitát a BMDM-ekben fokozza az mTORC1 függő Rho kináz aktivációt, ezáltal gátolva az efferocitózist.....	46
7.1.5.	A palmitát fokozza BMDM-ekben az autofágiát, de gátolja az autofágiás vakuólumok és a lizoszómák fúzióját.....	48
7.1.6.	A palmitát gátolja a felvett apoptotikus timociták lizoszómába jutását is..	51
7.2.	A Mer hiányának hatása magas zsírtartalmú diétával kiváltott patológiás elváltozásokra egerekben	53
7.2.1.	Mer-/- egerek esetében kisebb súlygyarapodás figyelhető meg magas zsírtartalmú diéta hatására	53
7.2.2.	A Mer hiánya védi az egereket a HFD étrend által kiváltott gyulladás, zsírmáj és inzulinrezisztencia kialakulásától.....	55
7.2.3.	A Mer hiánya a nem hematopoietikus sejteken véd a magas zsírtartalmú étrend által kiváltott elhízás ellen	58
8.	Megbeszélés.....	61
9.	Összefoglalás	70
10.	Summary.....	72
11.	Irodalomjegyzék	74
12.	Tárgyszavak	94
13.	Köszönetnyilvánítás.....	95
14.	Közlemények jegyzéke	96

2. Rövidítések jegyzéke

AICAR	5-aminoimidazol-4-karboxamid-1- β -D-ribofuranozid
AMP	adenozin-monofoszfát
AMPK	adenozin-monofoszfát aktivált protein kináz
ANOVA	varianciaanalízis
ATG	autofágiához kapcsolható fehérje
ATP	adenozin-trifoszfát
Axl	Axl receptor tirozin-kináz
BAI1	agy specifikus angiogenesis inhibitor 1
BAT	barna zsírszövet
BMDM	csontvelő-eredetű makrofág
BMI	testtömegindex
BSA	borjú szérum albumin
C1q	komplement komponens 1q
cAMP	ciklikus adenzin-monofoszfát
cDNS	komplementer dezoxiribonukleinsav
CFDA-SE	karboxilfluoreszcein-diacetát-szukcinimidil-észter
COPD	krónikus obstruktív tüdőbetegség
CT	ciklusküszöb
CX3CR	C-X3-C motívum kemokin receptor 1
DAMP	veszély asszociált molekuláris mintázat
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DOCK180	citokinézis protein 1 dedikátora

EDTA	etilén-dimaimin-tetraacetát
EEA1	korai endoszóma asszociált fehérje
Elmo1	bekebelezés és sejt motilitás 1
ELISA	enzimhez kapcsolt immunoszorbens esszé
ER	endoplazmatikus retikulum
FAK	fokális adhézíós kináz
FBS	fötális borjúsérum
FFA	szabad zsírsav
FGF21	fibroblaszt növekedési faktor 21
FSC	előre irányuló fényszórás
GAP	GTPáz aktiváló fehérje
GAPDH	gliceraldehid-3-poszfát dehidrogenáz
Gas6	növekedés specifikus gátló 6
GDF	növekedési és differenciációs faktorok
GDP	guanozin-difoszfát
G-LISA	kis G-fehérje aktivációs eszé
Grp65	G protein kapcsolt receptor 65
GTP	guanozin-trifoszfát
Gulp	PTB domént tartalmazó engulfment adapter fehérje 1
gWAT	gonadális fehér zsírszövet
HEPES	4-(2-hidroxi-etil)-1-piperazin-etánszulfonsav
HFD	magas zsírtartalmú diéta
HRP	tormaperoxidáz
ICAM3	intracelluláris adhézíós molekula 3

IGF-1	inzulin-szerű növekedési faktor-1
IgG	immunglobulin G
IL	interleukin
INF γ	interferon gamma
IRS-1	inzulin- receptor szubsztrát 1
JNKC	C-Jun N-terminális kináz
LC3	mikrotubulus-asszociált könnyű lánc 3 fehérje
LOX-1	lektin ípusú oxidált LDL receptor 1
LPC	lizofoszfátidilkolin
MACS	mágneses sejtszeparálás
MCP-1	monocita kemoattraktáns fehérje 1
M-CSF	makrofág kolónia stimuláló faktor
MEGF10	több epidermális növekedési faktor-szerű domén fehérje 10
Mer	Mer tirozin-kináz
MFG-E8	tej zsírcsomó-EGF faktor 8
MHCI	fő hisztokompatibilitási komplex I
mTORC	emlős rapamycin célpont komplex
MYPT1	miozin-foszfátáz regulátor alegység 1
NAFLD	nem alkoholos zsírmáj
ND	normál diéta
OxLDL	oxidált alacsony sűrűségű lipoproteinek
P2Y2	purinerg receptor P2Y2
Palm	palmitát
PCR	polimeráz láncreakció

PD-L1	programozott halál ligand 1
PI3P	foszfatidil-inozitol -3-foszfát
PPAR γ	peroxiszóma proliferátor aktivált receptor gamma
ProS	protein S
PS	foszfatidilszerin
RAC1	Ras-rokon C3-botolinum toxin szubsztrát 1
RAE	ribonukleinsav export
RAGE	előrehaladott glikációs végtermék receptor
Rapa	rapamycin
RILP	Rab7-inerakciós lizoszómális fehérje
ROCK1	Rho-asszociált protein kináz 1
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
RT-qPCR	Valós idejű polimeráz lánreakció
S1P	szfingozin 1-foszfát
S1P-R	szfingozin 1-foszfát receptor 1
SCARF1	scavenger receptor F osztály tag 1
SDS	nátrium-dodecil-szulfát
SLIT-2	részvezető ligand 2
SNAP29	szinaptoszóma asszociált fehérje 29
SNARE	szolubilis N-etil-maleimid-szenzitív faktor-kötő fehérje
SNP	egy pontos nukleotid-polimorfizmus
SR-B1	1-es típusú B osztályú scavenger receptor
SREBP	szterol szabályozó elemhez-kötődő fehérje
SSC	oldal irányú fényszórás

STAT	jelátalakító és transzkripció aktivátor
STX17	szintaxin 17
TAM	transzlokációs összeszerelő modul
TBST	tris-pufferolt sóoldat Tween 20-szal
TGF β	transzformáló növekedési faktor-béta fehérje
TIM	T-sejt immunoglobulin mucin
TNF α	tumor nekrozis faktor alfa
Treg	regulatórikus T-sejtek
TSP-1	thrombospondin-1
Tyro3	tirozin-protein kináz receptor TYRO3
UCP1	szétkapcsoló fehérje 1
ULK1	Unc-51 szerű autofáia aktiváló kináz 1
UTP	uridin-trifoszfát
VAMP8	vezikulum asszociált membrán fehérje 8
VLDL	nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein
Vps	vakouláris szortírozó fehérje
VPS34	vakouláris szortírozó fehérje 34
WASP	Wiskott-Aldrich szindróma protein
WAVE	Wiskott-Aldrich szindróma protein család verprolin homológ
WHO	Egészségügyi Világszervezet

3. Bevezetés

Testünkben naponta több milliárd elhalt sejt kerül eltakarításra (efferocitózis). Az efferocitózis része a normál szöveti homeosztázisnak, hiszen hozzájárul a szöveti integritás fenntartásához, a fagocitáló makrofágok által kibocsájtott molekulák révén az elhalt sejtek utánpótlásához, és a gyulladásos program folyamatos gátlásához is. Az elhízásra krónikus alacsony szintű gyulladás kialakulása jellemző a zsírszövetben, melynek kiváltó oka az, hogy az egyre növekvő, elsősorban hasi zsírsejtek a túlzott lipid terhelés hatására apoptózissal és nekrozissal elhalnak. Az elhaló zsírsejtek kemotaktikus és gyulladásos jelek kibocsájtásával csontvelői eredetű makrofágokat hívnak be a vérpályából gyulladást indítva. A zsírszöveti makrofágok az elhalt zsírsejtek eltakarítása során az extracelluláris vezikulumokba csomagolt lipideket is átveszik. Ha a makrofágok hosszútávon magas lipid mennyiségnek vannak kitéve, pro-inflammatorikus citokinek termelése által fokozzák és fenntartják a gyulladást, másrészt befolyásolják az adipociták adipokin termelését, mely együttesen csökkent inzulin érzékenységhöz vezet (2-es típusú diabétesz). A széteső zsírsejtekből a makrofágok zsírtelítettsége esetén a zsír a májszövetbe kerül (zsírmáj). Az elhízásban megemelkedik a vérben a szabad telített zsírsavak koncentrációja is, ami csökkenti a makrofágok efferocitózis képességét. Ez fokozza az egész szervezetben a gyulladásos hajlamot, ami miatt az elhízás gyakran társul egyéb krónikus gyulladásos megbetegedésekkel, mint például az ateroszklerózis, krónikus obstruktív tüdőbetegség, oszteoarthritisz, periodontitisz, vagy elhúzódó sebgyulladás. Disszertációm első részében a palmitát apoptotikus sejtek eltakarítására gyakorolt gátló hatását vizsgáltam.

A Mer tirozin-kináz egy a szöveti és az M2 makrofágok által expresszált efferocitózis receptor. Részt vehet a gyulladás gátlásában és a lipidet tartalmazó extracelluláris vezikulák felvételében is, ily módon csökkentve a zsírsejtek zsírtelítettségét. A feltételezésünk az volt, hogy a makrofág Mer védő szerepet tölt be a zsírszöveti homeosztázis megtartásában, így disszertációm második részében azt vizsgáltam, hogy a Mer hiánya befolyásolja-e a metabolikus szindróma kialakulását magas zsírtartalmú étrenden tartott egerekben.

4. Irodalmi áttekintés

4.1. Az elhízás




Az elhízás olyan kórállapot, amelyben a felesleges zsír felhalmozódása a szervezetben olyan mértékű, hogy egészségkárosító hatással bírhat (Lin és Li, 2021). A klinikai gyakorlatban az elhízás mértékének meghatározásához leggyakrabban a testtömegindexet (BMI-t) használják mérőszámként. A BMI az egyén testtömegének és magasságának arányát mutatja. Kiszámításához a kilogrammban megadott testtömeget osztjuk a méterben mért magasság négyzetével (Piché és mtsai, 2020). Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) besorolása szerint 25-29,9-ig terjedő BMI túlsúlyos, 30-39,9-ig elhízott, 40 fölött pedig súlyosan elhízott állapotot jelent (Nuttall, 2015). Az 1970-es évek óta meredek emelkedés figyelhető meg az elhízott emberek számában. Napjainkban jelenleg 650 millió felnőttet, valamint 340 millió gyermeket és serdülőt érint világszerte (Sørensen és mtsai, 2022). 2019-es adatok szerint a elhízás előfordulása globálisan az 50-65 év közötti nőknél a legnagyobb. Európát tekintve a lakosság 60%-a, a gyermekeket tekintve 3-ból 1 túlsúlyos vagy elhízott (Boutari és Mantzoros, 2022).

Bár az esetek többségében az elhízás kiváltó oka a túlzott energiabevitel és a mozgásszegény életmód, különböző mértékben genetikai, epigenetikai, családi tényezők és a mikrobiom megváltozása is hozzájárulhatnak kialakulásához (Lin és Li, 2021). A családi háttér kutatása során megfigyelték, hogy azoknál a személyeknél, akiknek a családjában előfordult korábban magas vérnyomás, elhízás, diabétesz vagy stroke nagyobb eséllyel alakul ki elhízás vagy hiperlipidémia (van der Sande és mtsai 2001). A genetikai háttér megértésében segítségünkre lehetnek a teljes genomra kiterjedő asszociációs vizsgálatok. Az elmúlt években több, mint 100 olyan gént fedeztek fel, melyek kapcsolatba hozhatók a megemelkedett BMI-vel. Ezen gének nagy része olyan központi idegrendszeri folyamatokat érint, amelyek az étvágy szabályozásával hozhatók összefüggésbe (Yeo, 2017). További vizsgálatokban több, mint 300 olyan egy nukleotid-polimorfizmust (SNP-t) fedeztek fel, amelyek szerepet játszhatnak az elhízásra való hajlam kialakulásában. Azonban ezeknek a fenotípusra gyakorolt hatásának és az elhízásban betöltött szerepének az értelmezéséhez további kutatásokra van szükség (Goodarzi, 2018). Az elhízással összefüggésbe hozható gének esetében nagyon fontos szerepe van a gén-környezet interakció tanulmányozásának is. Számos publikáció

elhízásra hajlamosító génekre hatással van a környezet, az életmód és a különböző gyógyszeres kezelések is (Reddon és mtsai, 2016). Mindez arra utal, hogy a testsúly szabályozása genetikailag komplex, és számos kérdés vár még megválaszolásra.

4.2. A zsírsejtek típusai

A zsírsejteknek 3 típusa van: fehér, bézs és barna adipociták (Cero és mtsai, 2023). A köztük lévő különbség zsír metabolizmusukban, termogenikus kapacitásukban, méretükben, morfológiájukban, elhelyezkedésükben, illetve különböző funkciójukban mutatkozik meg. Testünk zsírszövetének nagy részét a fehér zsírszövet alkotja. A fehér zsírszövet az energiát trigliceridek formájában tárolja. Alacsony kalóriabevitelnél a raktározott zsír oxidációja energiát biztosít a szervezet működéséhez. A fehér zsírszövet méretének és morfológiájának a változása széles skálán mozog, és megfigyelték, hogy szoros kapcsolat mutatható ki a fehér zsírszövet tömegének a növekedése és az inzulinrezisztencia, a kettes típusú diabétesz és a magas vérnyomás kialakulásának a valószínűsége között (Dufau és mtsai, 2021). A barna zsírszövet energetikailag aktívabb, több mitokondriumot tartalmaz és hő formájában képes energiát felszabadítani alacsony hőmérsékletű körülmények között (Ikeda és mtsai, 2018). Az adipociták harmadik típusa a bézs adipociták, amelyek a fehér adipocitákból jönnek létre termogenikus stimulálás hatására (Lizcarno, 2019). Ezt a folyamatot barnulásnak nevezzük. Ez a folyamat reverzibilis, és a mitokondriumok autofágiájának szabályozása kulcsszerepet játszik benne (Ikeda és mtsai, 2018). A bézs adipociták a barna adipocitákkal bizonyos tulajdonágokban megegyeznek, mint például a szétkapcsoló fehérje 1 (UCP1) kifejeződése, multilokuláris lipid cseppek kialakulása, vagy a magas mitokondrium szám (Altinova, 2022), azonban a lokációt, markereket, illetve a termogenikus mechanizmusokat tekintve is számos különbséget mutatnak (An és mtsai, 2023) (1. ábra).

	Fehér adipocita	Barna adipocita	Bézs adipocita
			
Mitokondrium mennyisége	Alacsony	Magas	Magas
Lipidcsepp	Nagy unilokuláris	Kicsi multilokuláris	Kicsi multilokuláris
UCP1	-	+	+ (Néhány-)
Elhelyezkedés egerekben	WAT	Interscapularis BAT (axilláris, cervikális, paravertebrális, perirenális)	Szubkután és inguinalis WAT-ban hideg és adrenerg stimulus hatására
Elhelyezkedés emberekben	WAT	Szuprakilavikuláris, axilláris, cervikális, paravertebrális zsírraktárak	A zsírraktárakban hideg és adrenerg stimulus hatására
Szekretált faktorkok	Leptin Adiponéktin Rezisztin (Adipokinek)	FGF21, IL-6 (Batokinek)	FGF21 IL-6 SLIT-2
Funkció	Energia tárolás/lipogenezis Lipolízis Glükóz felvétel Adipokin szekréció	Termogenezis Lipid clearance Glükóz felvétel/ katabolizmus Batokin szekréció	Termogenezis Glükóz felvétel/ katabolizmus

1. ábra A fehér, barna és bézs adipociták tulajdonságainak összehasonlítása (An és mtsai, 2023). UCP1–szétkapcsoló fehérje 1, WAT–fehér zsírszövet, BAT–barna zsírszövet, FGF21–fibroblaszt növekedési faktor 21, IL-6–interleukin 6, SLIT–résvezető ligand

4.3. Hipertrófia kialakulása a zsírszövetben

Az elhízást alapvetően a zsírszövet megnagyobbodása jellemzi. A zsírszövet tömege két mechanizmus által növekedhet: hiperplázia és hipertrófia. Hiperplázia során a zsírsejtek száma, míg hipertrófia során a zsírsejtek mérete növekszik (Jo és mtsai, 2009). Az előbbi egészséges zsírraktározást, míg az utóbbi, elsősorban a hasi zsírszövethez köthetően, metabolikus szindrómához vezető zsírlerakódást eredményez. A hipertrófiás típusú raktározásért részben a hasi zsírszövetben jobban kifejeződő 11β -hidroxiszteroid dehidrogenáz aktivitást teszik felelőssé (Lee és mtsai, 2014). A hipertrófia folyamatában számos jelátviteli útvonal vesz részt, ezért ebben a fejezetben szeretnék néhányat bemutatni a fontosabb fehérjék és azok funkcióinak áttekintésével.

Az egyik ilyen útvonal az inzulin jelátviteli útvonala. Az inzulin egy polipeptid hormon, amelyet a hasnyálmirigy Langerhans szigeteinek β -sejtjei termelnek (Rahman és mtsai, 2021). Az inzulin zsírszövet hipertrófiáját elősegítő hatása úgy érvényesül, hogy egyrészt gátolja a zsír lebontását (lipolízis), másrészt elősegíti a zsírsavszintézist és fokozza a zsír tárolását a zsírszövetben (Zhang és mtsai, 2022) (Chakrabarti és mtsai, 2013). A lipolízisben fontos szerepet játszik a hormonszenzitív-lipáz, amely szabályozza a szabad zsírsavak és glicerol keletkezéséhez vezető triglicerid hidrolízist adipocitákban (Althaher, 2022). A lipolízis aktiválása során megnő a ciklikus adenosin-monofoszfát (cAMP) másodlagos hírvivő molekula szintje, amely elősegíti a hormonszenzitív lipáz enzim foszforilációját, ezáltal az aktivációját. Az inzulin negatív szabályozó hatása úgy érvényesül, hogy aktiválja a foszfodiészteráz 3B enzimet, amely csökkenti cAMP szintet. Csökkent cAMP szint esetén nem lesz aktív a hormonszenzitív-lipáz, így a lipolízis is gátolt lesz (Jönsson és mtsai, 2019).

A hipertrófia kialakulásában fontosnak tartom kiemelni a perilipin 1 fehérjét is, amely nagy mértékben expresszálódik az adipocitákban és a lipidcseppek megkötésében, valamint szintén a lipolízisben van szerepe (Desgrouas és mtsai, 2024). A perilipin 1 fehérjét foszforilációval aktiválja a protein kináz A (Beylot és mtsai, 2012). Ez a foszforiláció az inzulin jelátviteli útvonal aktiválódásának hatására elmarad, így a lipolízis gátolva lesz, amely szintén a lipid felhalmozódását segíti a zsírsejtekben (Sohn és mtsai, 2018; Jönsson és mtsai, 2019).

A zsírszövet hipertrófiájának másik fontos szabályozója a peroxiszóma proliferátor aktivált receptor gamma (PPAR γ), amely egy sejtmagban található transzkripciós faktor, és nélkülözhetetlen az adipogenezisben, a lipid metabolizmusban, a gyulladáshoz kapcsolódó folyamatok szabályozásában és az adipociták metabolikus homeosztázisának fenntartásában. Mind a barna, mind a fehér zsírszövetben kifejeződik (Feng és mtsai, 2016; Aprile és mtsai, 2014). Szerepe olyannyira fontos, hogy aktivitásának csökkenésekor elhízás, inzulin rezisztencia és metabolikus szindróma alakul ki (Muller és mtsai., 2003). A PPAR γ heterodimert alkot a retinoid X receptorral és specifikus DNS szekvenciákhoz kapcsolódva képes számos gén kifejeződését szabályozni, és fokozni azoknak a géneknek az expresszióját, amelyek részt vesznek az adipociták differenciációjában és érési folyamatában (Siersbaek és mtsai, 2010). Egyes gének expressziójának a fokozásával (pl. lipoprotein lipáz, CD36) elősegíti az adipociták általi zsírsav felvételt és tárolást (Ahmadian és mtsai, 2013).

Az adipociták fejlődésének fontos szabályozói a jelátalakító és transzkripció aktivátor fehérjék (STAT-ok) is (Burrell, 2020). Az adipocitákban a STAT1, 3, 5A, 5B és 6 fehérje fejeződik ki. A 3T3-L1 egér preadipociták adipocitákká történő differenciálódása során magas STAT 1, 5A és 5B expresszió figyelhető meg (Zhao és Stephens, 2013). A STAT fehérjéket a Janus kinázok általi foszforiláció aktiválja különböző extracelluláris jelek (pl. citokinek, hormonok) hatására. A STAT5 fehérje főként a differenciáció korai szakaszában vesz részt (Richard és Stephens, 2014). A STAT5 olyan gének expresszióját fokozza, mint például az acil CoA oxidáz, zsírsavszintetáz, vagy az adiponektin, egy inzulinérzékenységet fokozó adipokin. A STAT1 fehérje a magas zsírtartalmú diéta esetében fontos, amikor az $INF\gamma$ szint megemelkedett. Az $INF\gamma$ szint emelkedését a viscerális zsírszövetbe migráló immunsejtek okozzák, melynek hatására a STAT1 jelátviteli útvonal aktiválódik és gátolja az adipociták differenciálódását. A megnövekedett STAT3 fehérje expresszió szintén az adipogenezis korai szakaszában figyelhető meg és az adipociták differenciálódásának a mértékét fokozza (White és Stephens, 2010). A STAT3 fontosságát bizonyítja az is, hogy adipocita specifikus hiánya egerekben fokozott testtömeeggel és fokozott adipocita mérettel hozható összefüggésbe (Wang és mtsai, 2009), ami azért alakul ki, mert az érett zsírsejtekben a lipolízis pozitív szabályozója.

A növekedési és differenciációs faktorok (GDF-ek) a transzformáló növekedési faktor-béta (TGF β) fehérjék családjába tartoznak és fontos szerepet töltenek be az adipociták funkcióiban és metabolizmusában (Eddy és Trask, 2020). Számos GDF létezik, de azokat szeretném kiemelni, amelyek szerepe elengedhetetlen az adipociták működéséhez. A GDF-15 részt vesz az energia homeosztázis fenntartásában, a testsúly szabályozásában, és hiányában 2-es típusú diabétesz alakul ki. Egy Díaz és munkatársai által elvégzett kutatás a testtömeg szabályozásában betöltött szerepére világít rá. Eredményeik alapján a GDF-15 szintje a sejteket érő stressz során nő meg, ellensúlyozva annak negatív hatásait. Hiányában a zsírszövet tömegének a növekedése figyelhető meg (Díaz és mtsai, 2020). A GDF-15 elősegíti a makrofágok M2 antiinflammatorikus polarizációját is a zsírszövetben, és fokozza az inzulin érzékenységet. GDF-15 hiányos egerekben fokozott vér glükóz koncentráció és inzulinrezisztencia figyelhető meg a zsírszövet tömegének növekedése mellett (L'homme és mtsai, 2024). A GDF-5 az elhízás elleni védelemben is résztvevő kritikus fehérje. Túlzott expressziója sovány fenotípus kialakulásához vezet, véd a táplálkozás által kiváltott elhízás kialakulásával szemben,

többek között a bézs adipociták kifejlődésének indukcióján keresztül (Hinoi és mtsai, 2014). A GDF-3 a GDF-5-höz hasonlóan a zsírszövet homeosztázisának fenntartásáért, illetve az adipociták energiaszabályozásáért felelős. Lipidterhelés hatására a zsírtömeg növekedését okozza a lipiddátolás fokozásán keresztül, ezért hiányában csökkent zsírtömeg növekedés figyelhető meg (Andersson és mtsai, 2008).

A zsírszövet hipertrófiájának szabályozója a növekedési hormon is (Horwitz és Birk, 2023). A növekedési hormon egy polipeptid, melyet az agyalapi mirigy termel (Brinkman és mtsai, 2023). Elősegíti az adipociták proliferációját és a preadipociták differenciálódását, viszont differenciált adipocitákban fokozza a lipolízist a hormonszenzitív lipáz aktiválásán keresztül (Carrel és Allen, 2000).

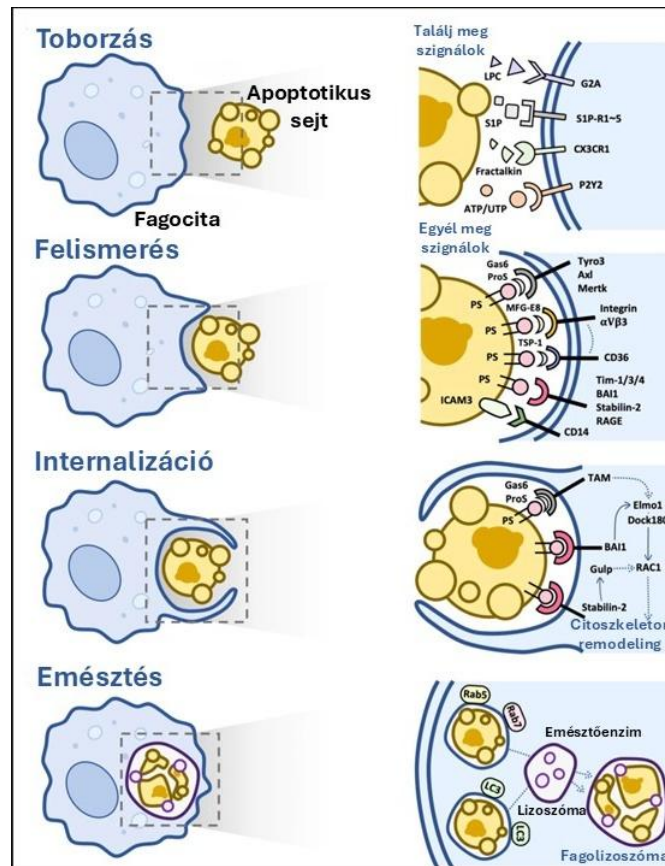
A zsírszövet növekedésére ható szignálok által indított jelpályák egy része az intracelluláris cAMP szint szabályozásában vesz részt, míg mások az mTOR (emlős rapamicin-célpont) működését befolyásolják. Az mTOR egy protein kináz, amely két nagy komplexből áll: mTORC1 és mTORC2 (Saxton és Sabatini, 2017). Az mTOR számos folyamatban vesz részt, mint például a sejtek metabolizmusának szabályozása, az immunválasz, az autofágia, a sejtek túlélése és proliferációja. Az mTORC1 komplex 5 fehérjéből, míg az mTORC2 komplex 6 fehérjéből áll (Lee és mtsai, 2017). Az adipociták esetében az mTOR részt vesz az adipogenezis, a lipid metabolizmus, a termogenezis szabályozásában, illetve az inzulinérzékenység fokozásában (Ye és mtsai, 2019). Az mTOR adipogenezisben betöltött esszenciális szerepét mutatja, hogy az mTOR hiányában csökken a zsírszövet mennyisége és a zsírsejtek mérete, továbbá képes fokozni a fehér zsírszövet barnulási folyamatát a PPAR γ expressziójának szabályozásán keresztül (Shan és mtsai, 2016). Az mTORC1 a szterol szabályozó elemhez kötődő fehérjéken (SREBP-ken) keresztül is képes kifejteni a hatását, amelyek a zsírsav és triglicerid szintézis szabályozásában résztvevő transzkripciós faktorok. Ezek a transzkripciós faktorok a lipogenezisben résztvevő gének expresszióját szabályozzák. Gátlásuk szintén csökkent adipocita méretet eredményez (Porstmann és mtsai, 2008). Ezen példák azt mutatják, hogy az mTOR elengedhetetlen az adipogenezisben és az adipociták lipid metabolizmusában.

4.4. Efferocitózis

Efferocitózis alatt az $0,5\mu\text{m}$ -nél nagyobb részecskék felismerését és bekebelezését értjük plazma membrán eredetű vezikulumokba, amelyet fagoszómának nevezünk. (Rosales és Uribe-Querol, 2017). A szöveten belüli sejtszintű homeosztázis és a szövet integritásának fenntartásában fontos szerepet töltenek be az apoptózis és az efferocitózis folyamatai. A sejtörmelékek eltávolítása elengedhetetlen annak érdekében, hogy elkerüljük a gyulladással való kialakulását, illetve, hogy megelőzzük az autoimmunitási folyamatokat. Éppen ezért az apoptotikus sejtek nem megfelelő efferocitózisa nemcsak gyulladás kialakulásához vezet, hanem egyéb betegségek megjelenését is elősegíti (Razi és mtsai, 2023). Testünkben a sejtek nagy részének a felszínén olyan molekulák találhatóak, amelyek normál állapotban megakadályozzák a sejtek makrofágok általi bekebelezését (Khalaji és mtsai, 2023). Ezeket a molekulákat „ne egyél meg” szignáloknak nevezzük. Ilyen molekulák például a CD24, CD31, CD47, fő hisztokompatibilitási komplex I (MHCI), programozott halál ligand 1 (PD-L1) és a szalicilsav. Ezen molekulákat képesek felismerni a makrofágok felszínén található olyan receptorok, amelyek válaszul gátolják az efferocitózis folyamatát (Cockram és mtsai, 2021). A sejtek elhalásának kezdetén ezek a molekulák eltűnnek a sejt felszínéről, vagy átrendeződnek, így elkezdődhet fagocitózisuk folyamata. Az apoptotikus sejtek felvételének folyamatát négy fő lépésben írhatjuk le: a makrofágok toborzása, migrációja bekebelezésre kerülő sejtekhez; a bekebelezendő sejt felismerése; internalizációs folyamatok aktiválódása; a fagoszóma kialakulása, a fagoszóma érése fagolizoszómává és a sejtek degradációja (Uribe-Querol és Rosales, 2020). Mindezek szabályozzák egyúttal a fagociták választását a sejt felvételre (2. ábra).

Az fagocitózis első lépése a makrofágok migrációja a bekebelezendő sejtekhez „találj meg” szignálok hatására (Rashidfarrokhi, 2017; Kourtzelis és mtsai, 2020). A „találj meg” szignálok alatt olyan molekulákat értünk, amelyek normál fiziológiai körülmények között intracellulárisan találhatóak meg. Ilyen molekulák például a nukleotidok, mint az adenzin-trifoszfát (ATP), uridin-trifoszfát (UTP) vagy egyéb molekulák, mint a lizofoszfátidilkolin, szfingozin 1-foszfát, fraktalkin, monocita kemoattraktáns protein-1 (MCP-1). Az apoptotikus sejtek esetében a sejt halál következtében ezen molekulák az apoptotikus program részeként felszabadulnak az apoptotikus sejtekből, és egy grádiens létrehozva elősegítik a makrofágok migrációját az

apoptotikus sejtekhez a makrofágok felszínén lévő ezen jeleket specifikusan felismerő receptorok segítségével (Ravichandran, 2010).



2. ábra Az efferocitózis folyamata (Moon és mtsai, 2023). Az efferocitózis első lépése a makrofágok toborzása, kemoattraktánsok („találj meg” szignálok) által, amelyek az apoptotikus sejtekből szabadulnak fel. A második lépés az apoptotikus sejtek felismerése a makrofágok által direkt vagy indirekt receptor interakciók által. A harmadik lépés a citoszkeleton átrendeződése és az apoptotikus sejt internalizációja. A negyedik lépés az apoptotikus sejt lebontása a lizoszómákban lizoszómális enzimek által. (PS–foszfatidilszerin, LPC–lizofoszfatidilkolin, S1P–szfingozin 1-foszfát, S1P-R–szfingozin 1-oszfát receptor 1, CX3CR1–C-X3-C motívum kemokin receptor 1, ATP–adenozin-monofoszfát, UTP–uridin-trifoszfát, P2Y2–purinerg receptor P2Y2, Gas6–növekedés specifikus gátló 6, ProS–ptorein S, Tyro3–tirozin-protein kináz receptor TYRO3, Axl–Axl receptor tirozin kináz, MerTK–Mer tirozin kináz, MFG-E8–tej zsírcsomó-EGF faktor 8, TSP-1–thrombospondin-1, Tim-1/3/4–T-sejt immunglobulin receptor 1/3/4 BAI1–agy specifikus angiogenezis inhibitor 1, RAGE–előrehaladott glikációs végtermék receptor, ICAM3–intracelluláris adhézios molekula 3, TAM–transzlokációs összeszerelő modul, Elmo1–bekebelezés és sejt motilitás 1, DOCK180–a citokinézis dedikátora 180, Gulp–PTB domént tartalmazó bekebelezés adapter fehérje 1, RAC1–Ras-rokon C3-botolinum toxin szubsztrát 1)

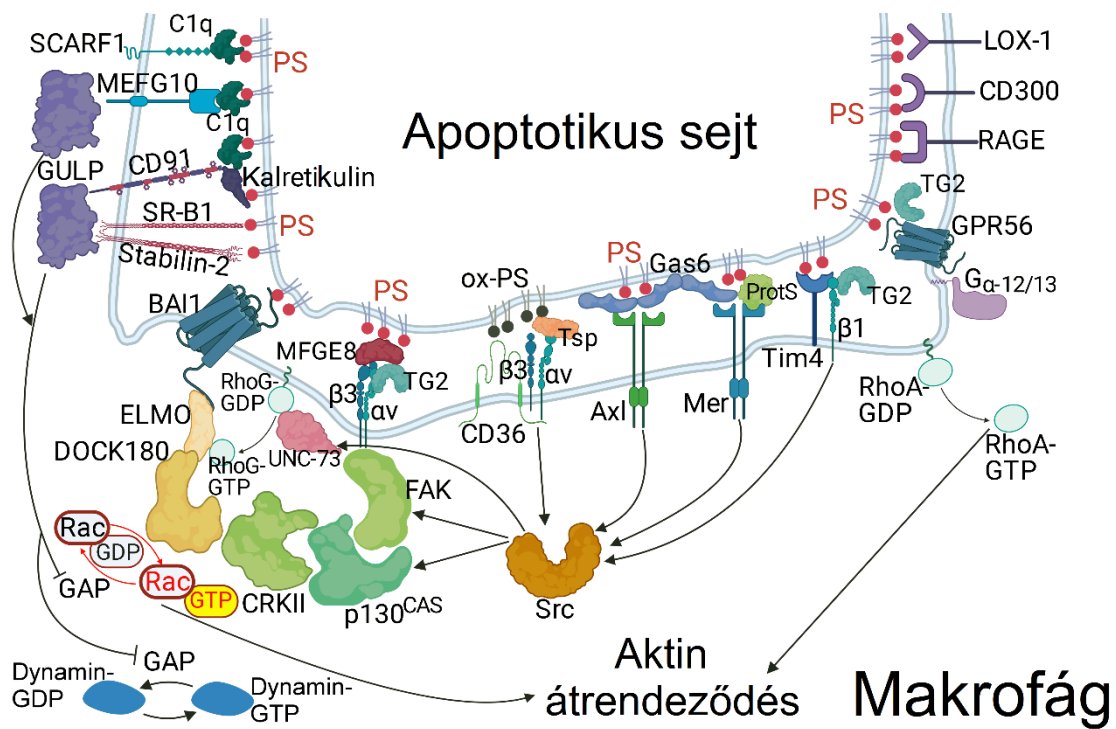
Miután a makrofágok toborzása megtörtént a „találj meg” szignálok segítségével a következő lépés az apoptotikus sejtek felismerése az „egyél meg” jelek segítségével. Az „egyél meg” szignálok elősegítik az eltakarítani kívánt sejtek elkülönítését az egészséges sejtektől. Az „egyél meg” és a „ne egyél meg” szignálok dinamikus változása határozza meg, hogy az efferocitózis jelátviteli folyamata elindul vagy sem a makrofágokban (Arandjelovic és Ravichandran, 2015).

A legtöbbet tanulmányozott „egyél meg” szignál a foszfatidilszerin (PS). A PS normál esetben a plazmamembrán belső felszínén helyezkedik el a flippáz enzimeknek köszönhetően. Az apoptózis során a sejt felszínén bekövetkező változások egyike a foszfolipid szimmetria elvesztése és a PS megjelenése a sejtfelszínen (Fadok és mtsai, 2001). Az apoptotikus program során szkrambláz enzimek aktiválódnak, amelyek hatására a PS a plazmamembrán külső felszínére transzlokálódik (Segawa és Nagata, 2015). A PS fagocitikus receptorok általi felismerése történhet direkt vagy indirekt módon hídképző molekulák segítségével. A PS-t direkt módon képes felismerni az agy specifikus angiogenezis inhibitor 1 (BAI1) (Lala és mtsai, 2022), a T-sejt immunoglobulin mucin fehérje 4 (TIM-4) (Wong és mtsai, 2010) és a stabilin 2 (Park és Kim, 2019). Indirekt módon ismeri fel a Mer tirozin-kináz (Mer) (Yang és mtsai, 2023) és az $\alpha(v)\beta(3)$ integrin receptor (Toda és mtsai, 2012). Hídképző molekulák a Gas6, a tej zsírcsomó globulin-EGF 8-as faktor (MFG-E8), a protein S és a komplement komponens 1q (C1q) (Cai és mtsai, 2015). Ezen molekulák két doménnel rendelkeznek, az egyik doménon keresztül a makrofágok felszínén lévő receptorokhoz, a Gla doménnel az apoptotikus sejtek felszínén lévő PS molekulához kapcsolódnak hidat képezve a két sejt között elősegítve az „egyél meg” jel felismerését (Li, 2012).

A programozott sejthalál során az apoptotikus sejtek felszínén megjelenő másik „egyél meg” szignál a kalretikulín (Gardai és mtsai, 2005), melyet a makrofágok felszínén lévő CD91 receptorok ismernek fel (Krysko és mtsai, 2018). Az annexin A1 molekula élő sejtek esetében a PS-hez hasonlóan a plazmamembrán belső részén helyezkedik el. Az apoptózis során kaspáz enzimek hatására a citoszolból a plazmamembrán külső felszínére transzlokálódik a PS-el együtt (Ouali és mtsai, 2013). Az intracelluláris adhéziós molekula 3 (ICAM3) gátlása az apoptotikus sejtek felszínén csökkenti az apoptotikus sejtek bekebelezését a makrofágok által, amely ezen molekula „egyél meg” szignálként betöltött fontos szerepét bizonyítja (Kristóf és mtsai, 2013). Az oxidált alacsony sűrűségű lipoproteinek (OxLDL), amelyek oxidált lipideket tartalmaznak

szintén jelen lehetnek az apoptotikus sejtek felszínén ligandként szolgálva a makrofágokon megtalálható CD36 receptoroknak (Bouiller és mtsai, 2001).

A foszfolipidek közül sokáig csak a PS-ről volt bizonyított az efferocitózisban betöltött szerepe, azonban az utóbbi évek kutatásai alátámasztották a foszfatidil inozitolok „egyél meg” szignálként betöltött funkcióját is, melyet a CD14 pozitív makrofágok képesek felismerni (Kim és mtsai, 2022). A bekebelezni kívánt sejtek felismerését követően olyan jelátviteli útvonalak aktiválódnak a makrofágokban, amelyek az aktin citoskeleton átrendeződéshez vezetnek elindítva a bekebelezés folyamatát és a fagocitikus kehely kialakulását (Ma és mtsai, 2024) (3. ábra).



3. ábra Az apoptotikus sejtek felvételében résztvevő fagocitózis receptorok közötti interakciók (Szondy és mtsai, 2022). Az apoptotikus sejtek felvételében központi szerepet játszik a GTP-kötött Rac1 mennyiségének megnövekedése. Ez kétféle módon valósulhat meg: a GDP/GTP kicserélése a Rac1 fehérjén a DOCK180/ELMO komplexek által alkotott GEF által, vagy a GULP fehérje által, amely gátolja a Rac1 GAP fehérjét. Az integrin receptorok három útvonalon keresztül is aktiválhatják a Rac1-et: FAK, Src, és foszfoinozítid-3 kinázokon keresztül, melyek elősegítik a DOCK180/ELMO komplex kialakulását. A FAK és az Src az UNC73/RhoG és a p130^{CAS}/CrkII útvonalakat aktiválják a jelátvitelben résztvevő fehérjék tirozin foszforilációja

által. A foszfoinozitidek felhalmozódása a plazmamembrán belső felszínén pedig, a DOCK180/ELMO komplex foszfoinozitid felimerő doménjein keresztül fagocitikus kehelyhez történő toborzást segíti elő. A CD36, TG2, TIM4 az integrin receptorok koreceptorai, míg a TAM kinázok és a Mer, Axl az integrin jelátviteli útvonal erősítését szolgálják. Ezen folyamatokkal egyidőben egy trimer BAI1, ELMO és DOCK180 komplex is létrejön, amely tovább fokozza a Rac1 aktivációt. A CD300F és a CD300b a foszfoinozitid-3 kináz aktiválásával tovább fokozzák a többi receptor hatását. Más receptorok a GTP-kötött Rac1 mennyiségét a GULP adapter fehérje útvonalon keresztül fokozzák, ilyenek a CD91, SCARF1, stabilin-2, MEGF10, SR-B1. Míg a C1q hídképző molekula a foszfatidilszerint csak olyan fagocitózis receptorokkal kapcsolja össze, amelyek GULP-hoz kötődnek, addig az MFG-E8, Protein S, Gas6 és a thrombospondin olyan receptorokat aktiválnak, amelyek a DOCK180/ELMO komplex kialakulását segítik elő. A GULP a dinamin aktivációt is elősegíti, míg a Grp65 a $G_{a12,13}$ /RhoA jelátviteli útvonallal hozható összefüggésbe. A LOX-1 és a RAGE fehérjék fagocitózisban betöltött szerepét még nem tanulmányozták. (DOCK180–citokinézis protein 1 dedikátora, ELMO–bekebelezés és sejt motilitás, GEF–guanin nukleotid kicserélő faktor, GULP–adapter PTB domént tartalmazó bekebelezés adapter fehérje 1, FAK–fokális adhézios kináz, TG2–transzglutamináz 2, TIM4–T-sejt immunglobulin receptor 4, BAI1–angiogenezis inhibitor 1, SCARF1–scavenger receptor F osztály tag 1, MEGF10–több epidermális növekedési faktor-szerű domén fehérje 10, SR-B1–1-es típusú B osztályú scavenger receptor, C1q–komplement komponens 1q, MFG-E8–tej zsírsomó-EGF faktor 8, Gas6–növekedés specifikus gátló 6, Grp65–G protein kapcsolt receptor 65, LOX-1–lektin típusú oxidált LDL receptor 1, RAGE–előrehaladott glikációs végtermék receptor)

A folyamat kis GTPázok által irányított. A Rho családba tartozó GTPázok molekuláris kapcsolóként működnek. Guanozin-trifoszfát (GTP) kötött állapotban aktívak, és guanozin-difoszfát (GDP) kötött állapotban inaktívak. A guanin kicserélő faktorok segítik az aktív állapot kialakulását, míg GTP-áz aktivitásuk kapcsolja ki őket. Ezutóbbiak aktivitását GTP-áz aktiváló proteinek szabályozzák (Rosales és Uribe-Querol, 2017). A RhoA fokozza az akto-miozin kontrakciót és az F-aktin stabilizációt a korai szakaszban, azonban később a folyamat negatív szabályozójaként funkcionál (Nakaya és mtsai, 2006). A Rac1 elősegíti a F-aktin elágazódását, amely elengedhetetlen a lamellopódium kialakulásához. Végül a CDC42 a rövid aktin filamentumok és a filopódium kialakulásához szükséges. Ezen GTP-ázok különböző effektor fehérjéket aktiválnak, amelyek nem kovalens módosításokat hajtanak végre átmenetileg az aktin szálakon (Mao és Finnemann, 2015). A Rac1 és CDC42 fő effektorai a Wiskott-Aldrich

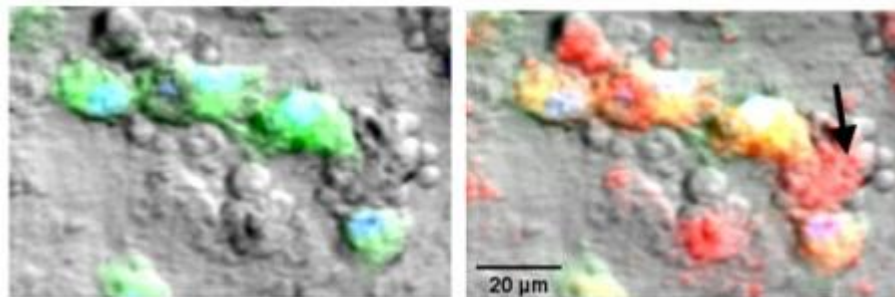
szindróma protein (WASP), Wiskott-Aldrich szindróma protein család verprolin homológ (WAVE) komplexek, amelyek az Arp2/3 komplexek aktiválását végzik. Az Arp2/3 elősegíti az aktin polimerizációt (Wu és mtsai, 2017). Miután az apoptotikus sejtet körülölelik a pszeudopódiumok, azok fúziójával létrejönnek a fagoszómák. A fagoszóma létrejöttét elősegítő aktin struktúrák leválnak a membránról és megkezdődik a fagoszóma érési folyamata. A fagoszóma érése során nemcsak a membrán összetétele, de a fagoszóma tartalma is megváltozik (Zhou és Yu, 2008).

A fagoszóma érési folyamatának fő szabályozói a Rab fehérjék. A Rab fehérjék is GTPázok. A Rab5 a korai, míg a Rab 7 a kései fagoszóma érési folyamatának irányításáért felelős (Kinchen és Ravichandran, 2008). A Rab5 funkciója elengedhetetlen a fagoszóma és korai endoszóma fúziójában (Gutierrez, 2013). A Rab fehérjéknek számos aktivátora és effektora van. Az egyik kulcs effektora a korai endoszóma asszociált fehérje (EEA1). Az EEA1 foszfatidilinozitol 3-foszfáttal és a Rab5 fehérjével komplexet képezve elősegíti még több EEA1 toborzását az endoszómákhoz. A vakouális szortírozó fehérje (Vps) fehérjékkel interakcióba lépve egyrészt részt vesz a transzport folyamatokban, másrészt segíti a SNARE (szolubilis N-etil-maleimid-szenzitív faktor-kötő fehérje) kapcsolódását az endoszómához, így elősegítve az endoszómák dokkolását. Ezen dokkolási folyamatoknak köszönhetően az endoszómák egymáshoz közel kerülve fuzionálnak, így multivezikuláris endoszómák jöhetnek létre (Gutierrez, 2013). A korai endoszóma pH-ja közel semleges, körülbelül 6,3 (Lee és mtsai, 2020). A foszfatidilinozitol 3-foszfát a Rab5-tel és az EEA1-gyel elősegíti a fagoszóma érésében résztvevő számos fehérje toborzását és ezt követő aktiválását, beleértve a hepatocita növekedési faktor által szabályozott tirozin kináz szubsztrátot és a transzportkomplexhez szükséges endoszómális válogató komplexek egyéb komponenseit, valamint a Rab7-et, amely a késői endoszómák markere. Ahogyan az érés folyamata halad előre, a Rab5 mennyisége csökken és a Rab7 fehérje fogja irányítani az endoszómák lizoszómákkal való fúzióját, ezáltal a fagolizoszómák kialakulásának a folyamatát (Canton, 2014). A Rab7 effektor fehérjéje a Rab7-erakciós lizoszómális fehérje (RILP), amely a dinein-dinaktin mikrotubulus-asszociált motor komplex-szel lép interakcióba. A komplex egyrészt a sejt belseje felé irányítja az endoszómákat, másrészt elősegíti a fagoszómális tubulusok endocitotikus kompartmentek felé nyúlását (Harrison, 2003). A folyamat előrehaladásával a kései fagoszóma pH-ja a V-ATPázok segítségével, melyek protonot pumpálnak a citoplazmából a fagoszóma lumenjébe, tovább csökken, körülbelül 4,5-5,5-

ig (Poirier és Av-Gay, 2015). A lizoszómák körülbelül 70 hidrolitikus enzimet tartalmaznak, amelyek a makromolekulák hidrolíziséért felelősek. Ilyen enzimek például a különféle savas proteázok lipázok, glikozidázok, nukleázok, foszfatázok és szulfatázok (Braluke és mtsai, 2024).

4.5. Az apoptotikus zsírsejtek efferocitózisa

A megfelelő makrofág általi efferocitózis feltétele, hogy az elhalt sejt mérete, olyan legyen, hogy az kezelhető legyen a makrofág számára. Kisméretű sejtek, mint a timociták, megfelelnek ennek a méretnek, és akár apoptózissal, akár nekrozissal halnak el, közvetlenül felvevődnek a környező makrofágok által (Budai és mtsai, 2019). A zsírsejtek mérete azonban olyan nagy, hogy az apoptózis biológiai folyamatában fel kell darabolódnuk apoptotikus testekre, hogy a lényegesen kisebb makrofágok fel tudják azokat venni. Laborunk korábbi vizsgálataiban *in vitro* vizualizálták a zsírsejtek apoptózisát (Sághy és mtsai, 2019), és érdekes módon azt találták, hogy az elhaló zsírsejtek zsírtartalmukat extracelluláris vezikulákba csomagolják, és a makrofágok először ezt veszik fel. Majd, amikor a zsírtartalom nagy része felvételre kerül, aktiválódik a klasszikus apoptotikus program, és a sejt többi része apoptotikus testekké darabolódik, és így vevődik fel.



4. ábra Az apoptotikus zsírsejtek efferocitózisa makrofágok segítségével (Sághy és mtsai, 2019). A zsírsejtek apoptózisuk során különválasztják zsírtartalmukat, és azt extracelluláris vezikulumokba csomagolják (a zsírt pirosra festve jól látszanak a zsírsejtek, illetve a belőlük felszabaduló zsírtartalmú extracelluláris vezikulák). A vezikulákat veszik fel először a makrofágok. A zöld színűre festett makrofágok így sárga színűek lesznek. A nyíl pedig egy olyan zsírsejtre mutat, aminek a sejttestje már apoptotikus testekre kezdett darabolódni. Ezek nem pirosak, tehát nem bennük van a lipid.

Jól ismert, hogy szöveti metszeteken a makrofágok az elhaló zsírsejteket koronaszerűen körbe veszik (Cinti és mtsai, 2005), azaz egy nagy zsírsejt feldolgozásában párhuzamosan több makrofág vesz részt. Más laborok azt feltételezik, hogy a zsír felvétele lizoszomális exocitózissal történik, amikor is a makrofág lizoszóma membránja fuzionál a makrofág sejtmembránjával, a lizoszóma tartalma a makrofág és az adipocita közé kerül, és a lizoszomális enzimek bontják le a zsírsejteket (Haka és mtsai, 2016). Vizuális adataink alapján mi inkább úgy gondoljuk, hogy a makrofágok ezeket a vezikulákat talán közvetlenül a lizoszómába veszik fel. Ennek bizonyítása laboratóriumunkban folyamatban van.

4.6. Mer tirozin kináz

A Tyro-3, Axl és a Mer a TAM receptor tirozin kináz családba tartozik (Linger és mtsai, 2008). Számos szövetben és szervben a homeosztázis szabályozásáért felelősek. Működésük elengedhetetlen az immun-, reprodukív, a hematopoietikus, a vaszkuláris és az idegrendszer működésében (Lemke, 2013). Mindhárman efferocitózis receptorok. A TAM receptorok ligandjaik (Protein S és Gas6) által csoportosíthatók. A Gas6 mindhárom TAM receptorhoz, míg a protein S csak a Tyro3 és Mer receptorokhoz képes kötődni. (Hafizi és mtsai, 2006). A TAM receptorokra jellemző, hogy rendelkeznek egy extracelluláris, egy transzmembrán és egy intracelluláris doménnel (Zhu és mtsai, 2019). Az extracelluláris domén két immunglobulin szerű doménből és két fibronektin III doménből áll, amelyek a ligandkötésben vesznek részt (Wium és mtsai, 2021). Az intracelluláris domén a tirozin kináz domén, amely az autofoszforylációhoz szükséges, és amely extracelluláris stimuláció hatására, vagy anélkül is aktiválható (Zhu és mtsai, 2019).

Az Axl testszerte expresszálódik (Axelrod és Pienta, 2014) és részt vesz többek között a sejtproliferációban, túlélésben, angiogenezisben és immunszuppresszióban (Yadav és mtsai, 2025). A Tyro3 a gasztrointesztinális, ideg- és reprodukív rendszer fejlődése során mutat magas expressziót és részt vesz szintén a sejtproliferációban, túlélésben, tumorgenezisben, migrációban (Hsu és mtsai, 2019).

A Mer a szöveti és az M2 fenotípusú makrofágokban fejeződik ki. Indirekt módon a Protein S, valamint a Gas6 hídképző molekulák által képes az apoptotikus sejtek felszínén található PS felismerésére (Dransfield, 2015). A Mer efferocitózisban betöltött

funkciója a korábbi fejezetekben tárgyalásra kerültek. A szöveti homeosztázisban betöltött funkcióját bizonyítja, hogy a Mer jeltávíteli útvonala antiinflammatorikus hatással rendelkezik. A makrofágok M1-M2 polarizációja során fokozott mértékben fejeződik ki. A fokozott Mer expresszió hatására nő a GAS6 termelés, mely az antiinflammatorikus IL-10 mennyiségét fokozza (Zizzo és mtsai, 2012). A Mer antiinflammatorikus hatása úgy is érvényesülhet, hogy gátolja a proinflammatorikus hatású tumor nekrozis faktor α (TNF α) termelését (Camenisch és mtsai, 1999), ezáltal hozzájárulva a gyulladás csökkentéséhez (Eken és mtsai, 2010).

A Mer számos tumor esetében magas expressziót mutat. Az antiinflammatorikus hatása miatt immunszuppresszív tumor mikrokoznyezetet kialakítására képes nemcsak az antiinflammatorikus citokinek termelésének fokozásán keresztül, hanem az immunsejtek szabályozása által is. A Mer emiatt napjainkban a tumorok kezelésének egyik célpontja (Huelse és mtsai, 2020). A Mer célzott gátlása a csökkent efferocitózis által egyrészt lassítja a tumor növekedését, másrészt fokozza a tumorelles immunsejtek szövetbe történő infiltrációját (Myers és mtsai, 2023). A Mer továbbá hozzájárul a sérülést követő szöveti regeneráció elősegítéséhez is (Al-Zaeed és mtsai, 2021).

4.7. A metabolikus szindróma kialakulásának lépései és következményei

A zsírszövet nemcsak a lipid tárolására alkalmas, hanem endokrin funkciót is ellát. Az általa termelt legfontosabb adipokinek például az adiponektin, leptin és rezisztin szabályozó funkciót látnak el nemcsak a májban, hanem az izomban és az agyban is (Ahima és Osei, 2008). Elhízásban ezen hormonok aránya felborul: az adiponektin termelése csökken, míg a leptin és a rezisztin termelődése fokozódik (Khan és Joseph, 2014). A zsírtömeg gyors növekedése miatt a hipertrófiás zsírszövet vaszkularizációja nem alakul ki megfelelően. Ennek hatására bizonyos zsírsejtek távolabb kerülnek az érhálózattól, aminek következtében hipoxiás körülmények alakulnak ki (Trayhurn, 2013). A hipoxia következményeként az adipociták programozott sejthalállal (apoptózis) vagy nekrozissal halnak el (Lindhorst és mtsai, 2021). Az adipociták sejthalála kaspáz függő és független útvonalon is bekövetkezhethet. Az extrinzik útvonal receptorai, mint a Fas, TNF-R1, TRAIL-R a halál ligandok által aktiválódnak. Ezek a receptorok olyan enzimkaspádokat aktiválnak, amelyek proteolitikus enzimeket, főként kaspázokat tartalmaznak. Az intrinzik útvonal aktiválását a sejtorganellumokat érő stressz, mint

például az endoplazmatikus retikulum stressz vagy DNS károsodás váltja ki. Olyan pro-apoptotikus fehérjék aktiválódnak, mint a Bid vagy a Bax, amelyek segítségével számos egyéb pro-apoptotikus fehérje szabadul ki a mitokondriumból, melyek többek között az apoptózist indító apoptoszóma kialakításában vesznek részt (Eguchi és Feldstein, 2014). Egy az Alkhouri és munkatársai által végzett tanulmány kimutatta, hogy a zsírsejtek apoptózisa meghatározó az elhízáshoz kapcsolódó patológiás állapotok kialakulásában. Így a Bid inaktiválása csökkentette a magas zsírtartalmú étrenden tartott egerek zsírsejtjeiben a kaszpáz aktivációt, az adipociták apoptózisát, továbbá megelőzte a makrofágok zsírszövetbe történő kivándorlását. Ezzel párhuzamosan az inzulinrezisztencia és a máj szteatózis mértéke is kisebb volt (Alkhouri és mtsai, 2010).

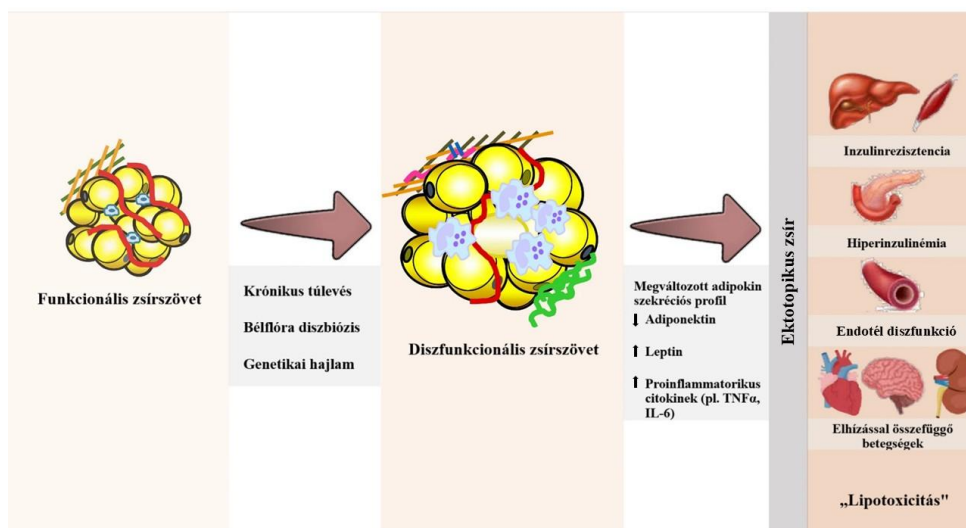
Mivel a zsírszövetben az apoptotikus adipociták makrofágok általi eltakarítása része a normál zsírszöveti homeosztázisnak, így ezek a folyamatok nem elhízott, normál zsírszövetben gátolják a gyulladás kialakulását. Normál körülmények között a zsírszövetben számos immunsejtet találhatunk: eozinofil és neutrofil granulociták, amelyek interleukin-4-et (IL-4-et), és IL-3-at szekretálnak, regulatórikus T limfocitákat (Treg), amelyek IL-10-et szekretálnak, természetes ölüsejteket, amelyek IL-13-at szekretálnak. Ezek a citokinek egy antiinflammatorikus környezetet biztosítanak a zsírszöveten belül a helper T sejtek és a makrofágok számára, melyeknél M2 (antiinflammatorikus) fenotípus figyelhető meg. Azonban a zsírtömeg és ezzel együtt az apoptózis és nekrozis mértékének a növekedésével ez a folyamat kontrollálatlanná válhat (Tajbakhsh és mtsai, 2022). Nekrotikus zsírsejtekből veszély asszociált molekuláris mintázatok (DAMP) szabadulnak ki, amelyek hatására a vérpályából kilépő makrofágok M1 (proinflammatorikus) irányban differenciálódnak a zsírszövetben. Emellett az adipociták által fokozott mennyiségben termelt leptin is elősegíti a makrofágok gyulladásos M1 fenotípus felé történő elmozdulását. Elhízott egyének zsírszövetében, mind a makrofágok, mind az adipociták által fokozódik a proinflammatorikus citokinek kibocsátása, amely hozzájárul a zsírszövetben a gyulladásos környezet kialakulásához (Purnama és mtsai, 2024).

Az adipociták nemcsak a lipázok által képesek a zsírsavak kibocsátására, hanem exoszóma méretű lipiddel teli vezikulák által is, melyeket a makrofágok képesek felvenni (Flaherty és mtsai, 2019). A zsírszöveti makrofágok a fokozott lipidfelvétel hatására lizoszóma-biogenesis programot indítanak el, amely részt vesz a lipid katabolizmusban. Ez a folyamat a makrofágok gyulladásos fenotípusától függetlenül zajlik (Xu és mtsai,

2013). Az elhízás következtében teljes mértékben átalakul a zsírszövet dinamikája, megváltozik a zsírszövet és lipid turnover, így a zsír tárolása a derék és csípő környékén kívül megjelenik a májban és az izmokban is (Palacios-Marin és mtsai, 2023). Ezen tényezők mind hozzájárulnak a metabolikus szindróma kialakulásához.

Egyre több kutatás támasztja alá azt a feltételezést, hogy az elhízáshoz kapcsolódó patológiás történések (metabolikus szindróma) kialakulásában a zsírszöveti makrofágoknak meghatározó szerepe van. Így, ha vagy depletálják a makrofágokat, vagy genetikusan kiütik a makrofágok kivándorlását meghatározóan szabályozó MCP-1 fehérjét, akkor mind a zsírmáj, mind az inzulin rezisztencia kialakulása megakadályozható (Kanda és mtsai, 2006).

A metabolikus szindróma a modern világ egyik krónikus, nem fertőző betegsége (Saklayen, 2018). Az elhízáshoz kapcsolódó metabolikus szindróma alatt olyan metabolikus zavarok összességét értjük, amely magába foglalja az inzulinrezisztenciát, a diszlipidémiát (kóros zsíryanycsere elváltozások, amely a vér megnövekedett lipidtartalmát eredményezi), a deréktáji elhízást és a magas vérnyomást. A metabolikus szindróma nagy mértékben összefüggésbe hozható a 2-es típusú diabétesz kialakulásával és a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásával is (Fahed és mtsai, 2022) (5. ábra).



5. ábra A zsírszövet diszfunkcionális megnagyobbodása és szövődményei (Perdomo és mtsai, 2023). A diszfunkcionális zsírszövet kialakulását számos tényező okozhatja, amely következménye a megváltozott adipokín szekréció és fokozott szabadzsírsav (FFA) felszabadulás. Az FFA elősegíti az ektopikus zsír felhalmozódását, amely számos szövődmény kialakulásához vezethet. FFA–szabad zsírsavak

Az elhízás során az energiabevitel fokozott, amely azt eredményezi, hogy olyan mechanizmusok aktiválódnak, amelyek megakadályozzák a sejtekben az energia felhalmozódását. Ennek egyik módja a sejtek inzulin érzékenységének a csökkenése, amely inzulinrezisztencia kialakulásához vezet (Gołacki és mtsai, 2022). Mivel a zsírszövet képes befolyásolni az egész test inzulin érzékenységét, elhízásban nagyon gyakori az inzulin rezisztencia kialakulása (Gustafson és mtsai, 2009). Ez egy részben a zsírszövetből felszabaduló gyulladáscsökkentő citokinek, mint például a TNF α és IL-6-nak köszönhető. Ezen citokinek többféle útvonalon gátolhatják az inzulin jelátviteli útvonalat. Az egyik az inzulin- receptor szubsztrát 1 (IRS-1) szerin/treonin foszforilációja, amely negatívan szabályozza az inzulin receptor jelátviteli útvonalát (Woo és mtsai, 2024). Másik lehetséges útvonal a PPAR γ funkciójának gátlása. Mivel a PPAR γ fokozza a lipogenezisben és a lipid tárolásában résztvevő gének expresszióját, gátlása hozzájárul az inzulinrezisztencia kialakulásához. A vérplazma megnövekedett FFA tartalma a lipolízis fokozódása és a triglicerid szintézis által szintén hozzájárul az inzulinrezisztencia kialakulásához (Ye, 2007; Ye, 2013).

Inzulinrezisztencia kialakulhat az adiponektin csökkent szintje következtében is. Az adiponektint főként az adipociták szekretálják és hozzájárul az inzulin-érzékenység fokozásához a sejtekben, a zsírsavak oxidációjához, illetve a gyulladás csökkentéséhez is (Achari és Jain, 2017). Az adiponektin szintek inverz korrelációt mutatnak az elhízás mértékével és a csökkent szintje hozzájárul az elhízás következtében létrejövő inzulinrezisztencia kialakulásához (Lou és Liu, 2022). Másik fontos inzulinérzékenységet szabályozó adipokin a rezisztin (Benomar, 2012). Bár először az adipocitákban került felfedezésre, mára már kimutatták, hogy a mononukleáris leukocitákban, makrofágokban, lép és csontvelői sejtekben is szignifikáns mértékben expresszálódik (Jamaluddin és mtsai, 2012). A magas rezisztin szintek hozzájárulnak mind az inzulinrezisztencia, mind a gyulladás kialakulásához a rezisztin proinflammatorikus hatásai miatt (Acquarone és mtsai, 2019).

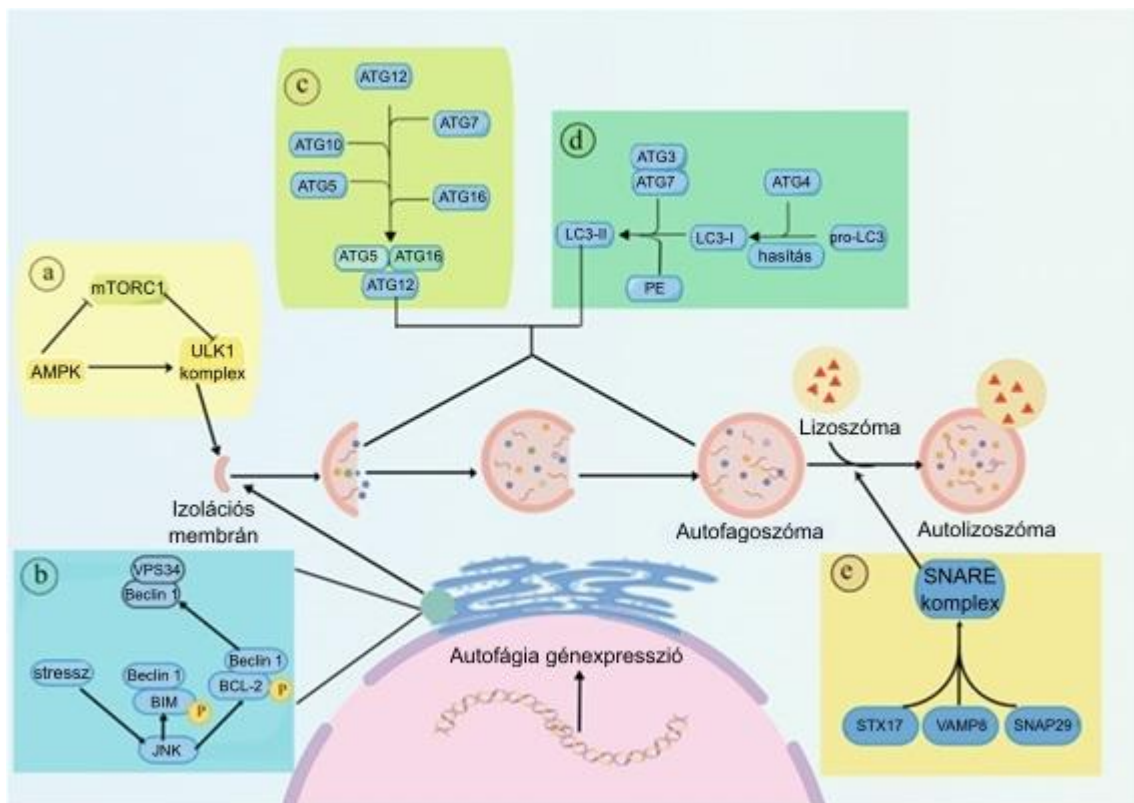
Az elhízás gyakori kísérője a nem alkoholos zsírmáj (NAFLD), melynek globális prevalenciája 25%. A NAFLD a cirrózis (májzsugor) és a hepatocelluláris karcinóma fő okozója (Powell és mtsai, 2021). Az NAFLD legfőképpen a metabolikus szindrómához köthető állapotok következtében alakul ki (Konyn és mtsai, 2023). Az NAFLD a májban a trigliceridek felhalmozódásával írható le. A fő metabolikus szubsztrátok, melyekből a

trigliceridek képződnek lehetnek az étrenddel bevitt nagy mennyiségű zsírok, illetve a fruktóz és a glükóz. Egyik oldalról a táplálékkal a szervezetbe juttatott felesleges zsír a zsírszövetben kerül tárolásra. Az adipocita zsírraktárak növekedése azt eredményezi, hogy az éhezési szakaszokban glükagon hatására több zsírsav szabadul fel a hormonszenzitív-lipáz hatására. Ugyanakkor a zsírszöveti makrofágok zsírsav égető kapacitása is telítődik, így az extracelluláris vezikulumokban kikerülő zsírt már nem képesek a zsírsejtektől átvenni. A felszabaduló zsírok ezért a hasi zsírsejtekből a keringési viszonyok miatt a májba szállítódnak és lerakódnak. A másik oldalt tekintve, amennyiben nagy mennyiségű glükóz és fruktóz kerül bevitelre, akkor több enzimatikus lépésen keresztül azok zsírsavakká alakulnak (*de novo* lipogenezis). Ezeknek a zsírsavaknak egy részét a máj oxidálhatja, vagy trigliceriddé alakítva nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (VLDL) formájában a vérbe juttatja hiperlipidémiát idézve elő. Azonban nagy szubsztrát terhelés hatására ezen útvonalak sem működnek megfelelően, amely lipotoxikus lipidek képződéséhez vezet, mint például a diacilglicerol, ceramid, amelyek hozzájárulnak a májszövetet károsító folyamatokhoz (Egin, 2017).

A magas vérnyomás egy egyre növekvő globális egészségügyi probléma, amely vezető oka a kardiovaszkuláris megbetegedéseknek (Hunter és mtsai, 2021). A magas vérnyomás kialakulásához számos tényező járulhat hozzá, ilyenek például a magas sóbevitel, alacsony kálium bevitel, elhízás, alkohol fogyasztás, fizikai aktivitás hiánya, egészségtelen étrend (Mills és mtsai, 2020). Az elhízás okozta magas vérnyomás kialakulása egy nagyon komplex folyamat, amely magában foglalja a szimpatikus idegrendszer túlzott aktivitását, a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer stimulációját, a zsírszövet által termelt citokinek mennyiségének változását, az inzulinrezisztenciát, végül a vesefunkció megváltozását. (Shariq és McKenzie, 2020). Az adipociták általi csökkent adiponektin termelés csökkent inzulinérzékenység kialakulásához, illetve a fokozott proinflammatorikus citokintermelés valamint a szabad zsírsavak gyulladáshoz vezetnek. Ezen folyamatok endoteliális diszfunkcióhoz vezetnek, amely által fokozódik az artériák merevsége. Az adipociták általi fokozott leptin termelés az idegrendszeren keresztül fokozza a nátrium visszaszívódását, továbbá az FFA-k által fokozódik a vese terhelése, amely szintén hozzájárul a magas vérnyomás kialakulásához (Kotsis és mtsai, 2010).

4.8. Az ER stressz és az autofágia kapcsolata

A szabad elsősorban telített zsírsavszint emelkedése a vérpályában sokban hozzájárul a szervek (elsősorban nem zsírsejtek) diszfunkciójához vagy károsodásához azáltal, hogy a zsírsejteken kívül is lipid felhalmozódást eredményez. A folyamatot lipotoxicitásnak nevezzük. A nem megfelelően feltekert fehérjék felhalmozódása endoplazmatikus stresszhez vezetve meghatározó szerepet játszik a lipotoxicitás során a sejtkárosító folyamatok aktiválódásában (Han és Kaufman, 2016). A sejt próbálja korrigálni a hibát, és a nem megfelelően tekeredett fehérjék visszatekerésén kívül, próbál megszabadulni a hibás fehérjéktől az autofágia folyamatának aktiválásán keresztül (Rashid és mtsai, 2015).



6. ábra Az autofágia mechanizmusa (Liu és mtsai, 2023). Az autofágia egy komplex degradációs folyamat, amely magába foglalja az alábbi lépéseket: a, Az adenzin-monofoszfát aktivált protein kináz (AMPK) gátolja az mTORC1 komplex képződését, így az mTORC1 gátló hatása nem érvényesül az ULK1 komplex kialakulásában ezáltal elősegítve az autofágiás vezikulumok képződését b, A Beclin-1/VPS34 komplex elősegíti az autofág vezikulumok növekedését. Az aktivált JNK kináz a BCL2 és a BIM foszforilációjával gátolja a Beclin1/BCL-2, illetve a Beclin1/BIM komplexek képződését. A szabad Beclin1 aktiválja a VPS34-et és hozzákötődve

komplexet képez vele, és a keletkező PIP3 elősegíti az autofágiás vezikulumok növekedését. c, Az ATG12–ATG5 komplex az ATG16-hoz kötődve elősegítik a vezikulumok összezáródását. Az ATG5, ATG12 és ATG16L hatásainak sorozataként létrejön az ATG5–ATG12–ATG16 polimer komplex, amely ezután fuzionál az autofágiás vezikulumokkal. d, Az LC3 különböző reakciók sorozatával beépül az autofagoszómákba. Az ATG4 cisztein-proteáz az LC3-at LC3–I-gyé hasítja, amelyet azután az ATG3, az ATG7 és a foszfatidil-etanolamin LC3–II-vé alakít. Ezt követően az LC3–II beépül az autofagoszómákba. e, Az autofagoszómák és a lizoszómák fuzionálnak, autolizoszómákat képezve. Az STX17 a SNAP29-hez és a VAMP8-hoz kötődve egy SNARE komplexet alkot, amely áthelyeződik az autofagoszómális membránra, lehetővé téve a lizoszómák számára, hogy fuzionáljanak az autofagoszómákkal és autolizoszómákat hozzanak létre. AMPK–adenozin-monofoszfát aktivált protein kináz, mTORC1– emlős rapamycin célpont komplex 1, ULK1–Unc-51 szerű autofáia aktiváló kináz 1, VPS34– vakoulláris szortírozó fehérje 34, JNK–C-Jun N-terminális kináz, PIP3– foszfatidil-inozitol -3-foszfát, ATG–autofágiához kapcsolható fehérje, LC3–mikrotubulus-asszociált könnyű lánc 3 fehérje, STX17–szintaxin 17, SNAP29–szinaptoszóma asszociált fehérje 29, VAMP8–vezikulum asszociált membrán fehérje 8

4.9. A gyulladás és a csökkent efferocitózis kapcsolata

Az elhízott egyénekben megfigyelhető magas telített zsírsav szint gátolja a szervezet bármely területén a makrofágok efferocitózis képességét (Li és mtsai, 2009). A csökkent efferocitózis számos mechanizmuson keresztül vezethet számos krónikus gyulladások kialakulásához (Szondy és mtsai, 2014). A magas zsírsavszint hatására általánosan romló efferocitózis program hajlamosít mindenféle gyulladásos betegség, mint ateroszklerózis, oszteoarthritisz, asztma, krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD), apikális periodontitisz kialakulására elhízott egyénekben. Hogy melyik szövetben jön létre gyulladás, azt egyéb genetikai vagy külső tényezők, pl. dohányzás vagy magas koleszterinszint határozza meg. Ebben a fejezetben ezen mechanizmusokat néhány példán keresztül szeretném szemléltetni.

Az ateroszklerózis a kardiovaszkuláris megbetegedések fő rizikófaktor. Az ateroszklerózist az endotél aktiváció indítja el, amelyet követ a lipidek felhalmozódása, kalcifikáció, amely nemcsak érszűkületet okoz, hanem a gyulladásos útvonalakat is aktiválja (Jebari és mtsai, 2022). A makrofágok efferocitózis képessége az ateroszklerotikus léziókban nagymértékben csökken, így az el nem takarított apoptotikus sejtek nekrozison mennek keresztül, amely egyrészt gyulladást okoz, másrészt egy

úgynevezett nekrotikus mag jön létre, amely a képződött plakk leválását okozhatja, ezáltal trombózist előidézve (Yurdagul és mtsai, 2018).

Az oszteoarthritisz egy gyakori, krónikus degeneratív ízületet érintő betegség, melynek kialakulásában az elhízás szignifikáns rizikófaktornak számít. Yao és munkatársai vizsgálták a makrofágok efferocitózisát elhízásban, és azt találták, hogy elhízott egerekben fokozott volt az ízületi porcok sérülése és a szinoviális apoptotikus sejtek száma. A szövetekbe infiltrálódó M1 makrofágok kevesebb Gas6-ot szekretáltak, ezért csökkent az efferocitózis is. Emellett a makrofágok fokozott mértékben termeltek gyulladásos citokineket. Az ízületekbe adott Gas6 injekció segítségével sikeresen vissza tudták állítani a makrofágok efferocitózisát, ezáltal sikerült megelőzni az elhízással társult oszteoarthritisz kialakulását (Yao és mtsai, 2023).

A légutakban található makrofágok efferocitózisa elhízott emberek esetében 40%-kal alacsonyabb a nem elhízottakhoz képest (Fernandez és mtsai, 2013). Az asztma olyan megbetegedés, amelyben a szervezet nem megfelelő immunválaszt ad a belélegzett allergénekre. Klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy a légúti makrofágok efferocitózisának csökkenése hajlamosít légúti gyulladások kialakulására, és az asztmás betegek jelentős részében kimutatható a légúti makrofágok csökkent efferocitózis képessége (Martinez és Cook, 2021).

A COPD a harmadik leggyakoribb halálozási ok a világon (Kahnert és mtsai, 2023). A COPD kialakulásának oka az ártalmas részecskék, főként dohány és pollenek belélegzése (Christenson és mtsai, 2022). A COPD következménye a krónikus bronchitis, illetve a tüdőátulat, melyek a légutak szűkületéhez és légszomjhoz vezetnek (Barnes és mtsai, 2015). A bazális hámsejtek fontos szerepet töltenek be a védelemben, és a sérülést követő remodellingben. A belélegzett részecskék által, a sejtek átprogramozásának következményeként, a légutak laphámsejtjeiben metaplázia, a kehelysejtben hiperplázia alakul ki, illetve ciliáris diszfunkció jön létre, továbbá fokozódik a nyálkatermelés, ezáltal egy lokális gyulladásra és fertőzésre hajlamos környezet alakul ki a tüdőben (Ferrera és mtsai, 2021).

Az apikális periodontitisz a foggyökér körül kialakuló gyulladás, melyet bakteriális fertőzés okoz (Tibúrcio-Machado és mtsai, 2021). Guan és munkatársai vizsgálták az efferocitózis és az apikális periodontitisz közötti kapcsolatot. Eredményeik azt mutatták, ARA290 (amely egy gyulladáscsökkentő peptid) kezelés egyrészt fokozta a

makrofágok efferocitózisát, másrészt az M2 makrofág polarizáció által csökkentette a gyulladást, ezáltal megszüntetve az apikális periodontitist (Guan és mtsai, 2024).

5. Célkitűzések

- I. A rendelkezésre álló szakirodalmi források alapján elhízásban a zsírsejtek fokozott elhalása és a belőlük felszabaduló zsír makrofágok általi nem elégséges eltakarítása meghatározó szerepet tölt be az elhízáshoz kapcsolódó krónikus alacsony fokú gyulladás, illetve a lipotoxicitással jellemezhető patológias folyamatok kialakulásában. Elhízás során emelkedik a vérben keringő telített zsírsavak koncentrációja is, amelyről kimutatták, hogy gátolja a perifériás makrofágok efferocitózis képességét. Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a palmitát milyen mechanizmusokon keresztül hat a makrofágok efferocitózis folyamatára.

- II. Ismert, hogy a Mer tirozin-kináz fontos eleme az efferocitózis folyamatának. Kísérleteinkben Mer^{-/-} egereket alkalmazva az elhalt sejtek eltakarításának zavarát modelleztük. Ezen modell segítségével azt vizsgáltuk, hogy az elhalt sejtek eltakarításának zavara a Mer hiányának következtében fokozhatja-e a metabolikus szindróma kialakulását magas zsírtartalmú diétán tartott egerekben.

6. Anyagok és módszerek

6.1. Reagensek, vegyszerek

A reagensek és vegyszerek többségét a Sigma-Aldrich (Budapest, Magyarország) cégtől szereztük be, amennyiben nem, azt külön jeleztem.

6.2. Kísérleti állatok

A kísérletek egy részéhez 4 hetes, illetve 2-4 hónapos C57BL/6 egereket használtunk. Az etetési kísérletek során a 8 hetes Mer^{-/-} és a vad típusú testvéreiket külön ketrecekben tartottuk. A Mer tirozin kináz hiányos egerekre teljes testes Mer hiány jellemző, amelyet Cre-loxP módszer alkalmazásával hoztak létre. Mind a Mer^{-/-}, mind a vad típusú egereket két részre osztottuk: a HFD csoportokat magas szukróz és magas zsírtartalmú étrenden (45% kcal% zsír, 17% kcal% szukróz; Research Diets Inc., D12451), míg az kontroll csoportokat (ND) normál diétán (13% kcal% zsír; 4.6% kcal% szukróz; Special Diets Services, VRF1 (P)) tartottuk. Az állatokat 12 órás periódusokban váltakozó sötét/világos helyen tartottuk, ad libidum etettük és itattuk őket. A bevitt táplálék mennyisége, illetve az egerek tömege hetente regisztrálásra került. A kísérleteket a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottsága (az engedélyek száma: 7/2016/DEMÁB, illetve 7/2021/DEMÁB) hagyta jóvá.

6.3. Csontvelő-eredetű makrofágok (BMDM-ek) izolálása és kezelése

2-4 hónapos C57BL/6 egerek izofluránnal történő túlaltatását követően a csontvelői progenitor sejteket fiziológias sóoldattal történő kimosásával nyertük ki a combcsontokból. A sejteket 5 napon keresztül differenciáltattuk DMEM tápfolyadékban (10% FBS, 20% L929 fibroblaszt sejtvonalról származó felülúszó [M-CSF forrásként], 2 mM L-glutamin, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml sztreptomycin), 37 °C-os termosztátban, 5%-os CO₂ jelenlétében. Az úszó sejteket a 3. napon lemostuk és az említett tápfolyadékot adtuk a letapadt differenciálódó sejtekhez. A 6. napon a sejteket 24 órán keresztül kezeltük különböző koncentrációjú BSA-val, 0,4mM BSA-val konjugált palmitáttal önmagában, illetve az AMP-aktivált protein kináz enzim aktivátorával 0,5mM 5-aminoimidazol-4-

karboxamid-1- β -D-ribofuranoziddal (AICAR), az mTORC1 komplex specifikus inhibitorával 100nM rapamycinnel, a ROCK inhibitor 30 μ M Y-27632, illetve a pan-kaspáz inhibitor 50 μ M Z-VAD-FMK-val együtt. A nátrium-palmitát készítéséhez 100mM törzsoldatot 150mM NaCl-ban hígítottunk, majd 10%-os zsírsavmentes, alacsony endotoxintartalmú BSA-hoz (pH 7,4-re állítva) adtuk 1:6 arányban, így 4mM palmitát-BSA törzsoldatot kaptunk, amelyet használat előtt 0,22 μ m-es, alacsony fehérjekötő kapacitással rendelkező szűrőn szűrtünk át.

6.4. Apoptotikus timociták létrehozása *in vitro*

Az apoptotikus timocitákat 4 hetes C57BL/6 egerek csecsemőmirigyéből kinyert timocitákból, széruméheztetéssel hoztuk létre. A tímusz eltávolítását követően steril fém szűrőn átpréseltük, a sejteket PBS-sel mostuk, majd RPMI 1640 tápfolyadékban (2mM L-glutamin, 100U/ml penicillin/100 μ g/ml sztreptomycin 24 órán keresztül inkubáltuk (37°C, 5% CO₂).

6.5. A sejtek életképességének vizsgálata

A hatodik naptól a BMDM-eket különböző koncentrációjú BSA konjugált palmitát jelenlétében tenyésztettük 24 órán keresztül. Ezt követően a sejteket 10 μ l Cell Counting Kit-8 reagenssel kezeltük 1 órán keresztül 37°C-on, sötétben. Az abszorbanciát 450nm-en mértük BioTek mikroplate olvasóval (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

6.6. Efferocitózis vizsgálatok

Az apoptotikus timocitákat 2,5 μ M Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) inkubáltuk 24 órán keresztül. Ezt követően az apoptotikus sejteket 2x10⁵ BMDM-hez adtuk 1:5 arányban és 40 percen keresztül inkubáltuk együtt a sejteket. Az inkubációt követően a nem fagocitált jelölt apoptotikus sejteket mosással eltávolítottuk, majd a BMDM-eket tripszines kezelést követően összegyűjtöttük. A sejtek fluoreszcenciáját Becton Dickinson FACSCalibur áramlási citométerrel analizáltuk. A BMDM populációt méretük és denzitometrálságuk alapján

választottuk ki (SSC/FSC) és ezen populáción belül az FL2 és FL4 csatornában detektálva határoztuk meg a fluoreszcens jel alapján azoknak a BMDM-eknek a százalékos arányát, amelyek elhalt sejteket fagocitáltak.

6.7. Fluoreszcens mikroszkópia

A BMDM-eket 5 μ M karboxilfluoreszcein-diacetát-szukcinimidil-észterrel (CFDA-SE), az apoptotikus timocitákat 2,5 μ M Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel inkubáltuk 24 órán keresztül. Ezt követően a BMDM-eket és az apoptotikus sejteket 1:5 arányban, 40 percen keresztül inkubáltuk együtt. Az elhalt sejteket mosással eltávolítottuk, majd a BMDM-eket 1%-os paraformaldehiddel fixáltuk. A sejtekről fluoreszcens mikroszkóppal (4471136, FLoid™ Cell Imaging station) (ThermoFisher, Waltham, MA, USA) felvételeket készítettünk.

6.8. Western blot analízis

Hogy hozzájussunk a sejtek teljes fehérjetartalmához, a sejteket hideg proteázgátló koktélt tartalmazó lízis pufferrel tártuk fel. A minták fehérjetartalmát Bio-Rad Protein Assay festékkel (Bio-Rad, Budapest, Magyarország) határoztuk meg. Ezt követően a mintákat SDS-mintapufferben forraltuk 10 percig 100°C-on. A mintákat 12%-os poliakrilamid gélen futtattuk, majd immobilion-P polivinilidén-fluorid membrára (Bio-Rad) transzferáltuk Bio-Rad félszáraz blottolóval. A membránt 1 órán keresztül blokkoltuk szobahőmérsékleten 5% BSA-t vagy 5% tejpport tartalmazó TBST pufferrel. A membránokat 4°C-on, egy éjszakán keresztül reagáltattuk egér p70 S6 kináz (Cell Signaling Technology, Inc.), P-p70 S6 kináz (T389) (Cell Signaling Technology, Inc.), Akt (pan) (Cell Signaling Technology, Inc.), P-Akt (Ser473) (Cell Signaling Technology, Inc.), miozin-foszfataz regulátor alegység 1 (MYPT1) (ThermoFisher), P-MYPT1 (ThermoFisher), Rock1 (MyBioSource, Inc., San Diego, CA, USA, AMPK α (Cell Signaling Technology, Inc.) vagy P-AMPK α (Thr172) (Cell Signaling Technology, Inc.) ellenes antitestekkel, valamint monoklonális β -aktin ellenes antitestekkel (A5441). Ezt követően a membránokat TBST pufferrel mostuk, majd szobahőmérsékleten 1 órán keresztül inkubáltuk HRP konjugált egér IgG vagy kecske nyúl IgG(H+L) ellenes másodlagos antitestekkel. A fehérjéket kemilumineszcencia segítségével detektáltuk

Immobilon Western Chemiluminescent HRP Substrate (Advansta Inc., San Jose, CA, USA) segítségével. A sávok pixelsűrűségét ImageJ szoftverrel határoztuk meg.

6.9. Rac1, CDC42, RhoA aktivitás meghatározása

A meghatározáshoz mintánként $2,8 \times 10^6$ BMDM-et használtunk. A BMDM-ek kezelését követően a gyártó utasításai alapján a sejteket összegyűjtöttük, és G-LISA Rac1, CDC42 és RhoA aktivációs assay kiten (Cytoskeleton Inc., Denver, CO, USA) használva határoztuk meg ezen G-fehérjék aktivitásának a mértékét.

6.10. A makrofágok megfestése konfokális lézer pásztázó mikroszkópiához

A BMDM-eket μ -Slide 8 Well ibiTreat lemezeken tenyésztettük és 50nM LysoTracker™ Green DND-26 (Invitrogen) fluoreszcens festékekkel 1 órán keresztül festettük meg. Az apoptotikus timocitákat $2,5 \mu\text{M}$ Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékekkel (Invitrogen) inkubáltuk 24 órán keresztül. Ezt követően az efferocitózis vizsgálatoknál ismertetett módon apoptotikus sejteket 6×10^4 BMDM-hez adtuk 1:5 arányban és 40 percen keresztül inkubáltuk a sejteket. Inkubációt követően a nem fagocitált jelölt apoptotikus sejteket mosással eltávolítottuk. A sejtek fixálása nélkül konfokális felvételeket készítettünk.

6.11. Konfokális lézer pásztázó mikroszkópia

A fluoreszcens képek Nikon A1 Eclipse Ti2 konfokális lézerszkennelvel készültek (Nikon, Tokió, Japán) Plan Apo 60 vízobjektív segítségével [NA = 1,27]. A LysoTracker™ Green DND-26 és a CellTracker™ Deep Red Dye gerjesztését 488nm-es és 647nm-es lézerrel végeztük. A fluoreszcens emissziót 500-550nm, illetve 660-740nm-es sávszűrők segítségével detektáltuk. Képek körülbelül $1 \mu\text{m}$ vastag optikai szakaszok, amelyek mindegyike 512×512 pixelt tartalmaz, 100 vagy 410nm pixelmérettel. A felvételeket $2,2 \mu\text{s}$ pixel tartózkodási idővel készítettük. A képek szekvenciális módban készültek, hogy elkerüljük a csatornák közötti zavaró átfedéseket.

6.12. Csontvelő-transzplantáció

A recipiens Mer^{-/-} és Mer^{+/+} egereket (7 hetes, hím) Theratron 780C kobaltágyú alkalmazásával 11 Gy sugárzásnak tettük ki. Az egereket kör alakú ketrecbe (mouse pie cage) helyeztük, amelyben 11 egér fér el. A besugárzást követően a recipiens egerekbe Mer^{+/+} és Mer^{-/-} típusú donor egerek combcsontjából, sípcsontjából és felkarcsontjából kimosott, izolált csontvelői sejteket retro-orbitális injekcióval juttattuk be (20×10^6 sejt/egér).

6.13. Szövetminták begyűjtése

Az etetési szakasz végén az egereket izofluránnal túlaltattuk, és megmértük a testtömegüket, testhosszukat, meghatároztuk a testtömeg indexüket, illetve máj, és gonadális fehér zsírszövet (gWAT) mintákat gyűjtöttünk további elemzések céljából. A zsírszövet- és májmintákat 4%-os paraformaldehidben fixáltuk szövettani vizsgálathoz, míg a génexpressziós vizsgálatokhoz és máj triglicerid meghatározáshoz szükséges mintákat folyékony nitrogénben lefagyasztottuk és felhasználásig -80°C -on tároltuk.

6.14. Adipociták és zsírszöveti makrofágok izolálása

A zsírszövetet mosást követően transzportpufferbe helyeztük (DMEM + 1% penicillin-sztreptomycin) oldattal és 1% BSA-val. A szövetet finomra aprítottuk, 30-60 percig 37°C -on emésztettük 20g/l BSA-t és 0,5g/l 1-es típusú kollagenázt, HEPES puffert (pH 7,4) tartalmazó emésztőoldatban, majd 100 μm -es nyílonszűrőn átszűrtük. Ezt követően a mintákat centrifugáltuk, az adipocitákat összegyűjtöttük és -80°C -on tároltuk az RNS izolálásáig. A zsírszöveti makrofágok izolálása során a vörösvértesteket hemolízissel távolítottuk el (ACK Lysing Buffer, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) és a strómális vaszkuláris sejtfrakciót újraszuszpendáltuk festőpufferben (PBS 0,5% BSA-val és 2mM EDTA-val). A zsírszöveti makrofágokat MACS (mágneses sejtszeparálás) segítségével izoláltuk a stróma vaszkuláris sejtfrakcióból F4/80 pozitív szelekcióval a gyártó utasítása alapján (Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Németország).

6.15. Triglicerid koncentráció meghatározása a májban

A triglicerid koncentrációjának meghatározását elszappanosított, neutralizált májkivonatban végeztük (a májmintákat egy éjszakán keresztül 55°C-on emésztettük kálium-hidroxidban) enzimátikus glicerol assay segítségével a gyártó utasítása alapján (Free Glycerol reagent. Glycerol Standard Solution, F6428, G7793).

6.16. Hisztológia

A máj és zsírszöveti mintákat 4%-os formaldehidben fixáltuk és paraffinba ágyasztuk. A paraffinmetszeteket hematoxin-eozin festéssel megfestettük. A metszeteket EVOSTM XL Core Imaging System alkalmazás segítségével analizáltuk (Thermo Fisher Scientific). A zsírszöveti képek kiértékeléséhez az ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, USA) alkalmazást használtuk.

6.17. RNS izolálás és valós idejű kvantitatív PCR (RT-qPCR)

A minták totál RNS izolálását TRI reagenssel (Thermo Fisher Scientific) végeztük a gyártó utasítása alapján. A totál RNS-t reverz transzkripció segítségével cDNS-sé írtuk át High Capacity cDNA reverse Transcription Kit (Life Technologies, Budapest, Magyarország) segítségével a gyártó utasítása alapján. A génexpresszió mértékének meghatározását qRT-PCR-ral végeztük triplikátumokban FAM-MGB-vel jelölt próbák (Life Technologies) segítségével Roche LightCycler LC480 valós idejű PCR műszerrel. A mRNS relatív szintjét összehasonlító CT ($\Delta\Delta C_t$) módszerrel számoltuk ki. Az expressziós értékek normalizálásához a GAPDH háztartási gént használtuk.

6.18. Inzulinrezisztencia teszt és szérum inzulin meghatározása

Az inzulinrezisztencia teszt kivitelezésére a 17. héten került sor. 6 órás éheztetést követően 0,75 IU/ttkg inzulint (ACTRAPID Penfill 100IU/ml) (Novo Nordisk, Koppenhága, Dánia) injektáltunk intraperitoneálisan. Az inzulin beadását követően a vér glükóz koncentrációját meghatározott időpontokban DCont Trend vércukormérő készülék (DCont, Budapest, Hungary) segítségével mértük meg. A plazma inzulinszintjét

egér inzulin ELISA 80-INSMS-E01 kit (ALPCO, Salem, NH, USA) segítségével határoztuk meg a gyártó utasítási alapján.

6.19. Statisztikai analízis

Az adatokat minden esetben \pm SD középértékként vagy egyéni értékként tüntettük fel. Minden statisztikai analízist GraphPad Prism 6.01 szoftverrel végeztünk. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. A BMDM-ekkel végzett kísérletek során két csoport közötti különbség megállapításához kétszélű, nem egyenlő varianciájú Student t-próbát, míg 2-nél több csoport összehasonlítása esetén egy utas ANOVA-t használtunk Tukey-féle többszörös analízissel. A Mer hiányát vizsgáló kísérletekben négy vagy hat csoport összehasonlítása esetén egy utas ANOVA-t (Sidak többszörös analízissel). Két független faktorra elkülönített adatsorok esetében két utas ANOVA elemzést használtunk (Tukey-féle többszörös analízissel).

7. Eredmények

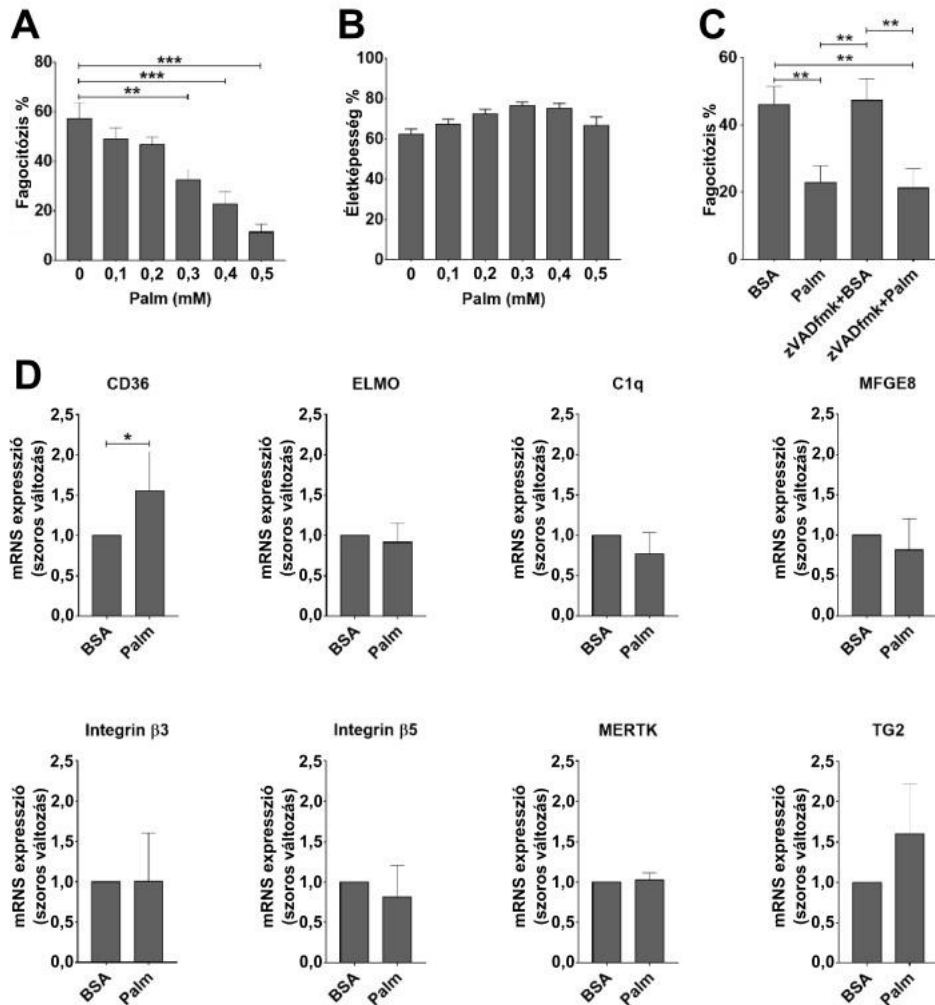
7.1. A palmitát BMDM-ek efferocitózisára gyakorolt gátló hatásának mechanizmusa

7.1.1. A palmitát gátolja a BMDM-ekben az apoptotikus sejtek fagocitózist anélkül, hogy hatással lenne a fagocitózishoz köthető receptorok mRNS expressziójára

Hogy teszteljük, a palmitát valóban gátolja a BMDM-ek efferocitózist a BMDM-eket különböző koncentrációjú palmitátnak tettük ki 24 órán keresztül. Ezt követően a BMDM-ekhez apoptotikus timocitákat adtunk 40 percen keresztül, majd meghatároztuk a makrofágok fagocitáló kapacitását. Azt találtuk, hogy a palmitát a BMDM-ek efferocitózist dózis függő módon gátolja (7A ábra). Korábban kimutatták, hogy a palmitát ER stresszt indukálva fokozza a makrofágok sejthalálát (Schilling és mtsai, 2013). Ahhoz, hogy eldöntsük, hogy esetünkben a csökkent efferocitózist a BMDM-ek palmitát kezelés hatására bekövetkező apoptózisa okozza-e, a BMDM-eket különböző koncentrációjú palmitáttal kezeltük, majd megvizsgáltuk a BMDM-ek életképességét. Azt tapasztaltuk, hogy az általunk használt palmitát koncentrációk nem befolyásolták a BMDM-ek életképességét (7B ábra). Hogy az előző kísérletünket megerősítsük a BMDM-eket pan-kaspáz apoptózist inhibitorral kezeltük. Az apoptózist gátlása a BMDM-ekben nem fokozta a palmitát által gátolt fagocitózist (7C ábra). Ezen eredmények azt bizonyítják, hogy a BMDM-ek fagocitikus kapacitásának a csökkenése nem a BMDM-ek palmitát indukálta sejthalálával van összefüggésben. A legmegfelelőbb palmitát koncentrációnak a 0,4mM-t találtuk, mivel ezen koncentráció szignifikánsan csökkentette a fagocitózist, azonban a BMDM-ek életképességét nem befolyásolta, így a további kísérleteinkben ezt a koncentrációt használtuk.

Mivel a fagocitózist kulcslépése az apoptotikus sejtek fagocita receptorok általi felismerése, a következő kísérletünkben azt szerettük volna megtudni, hogy a palmitát kifejezheti-e az efferocitózist csökkentő hatását oly módon, hogy befolyásolja a fagocitózistban résztvevő kulcsmolekulák mRNS expresszióját. A 7D ábrán látható módon, a palmitát nem befolyásolta szignifikánsan az apoptotikus sejtek felvételében

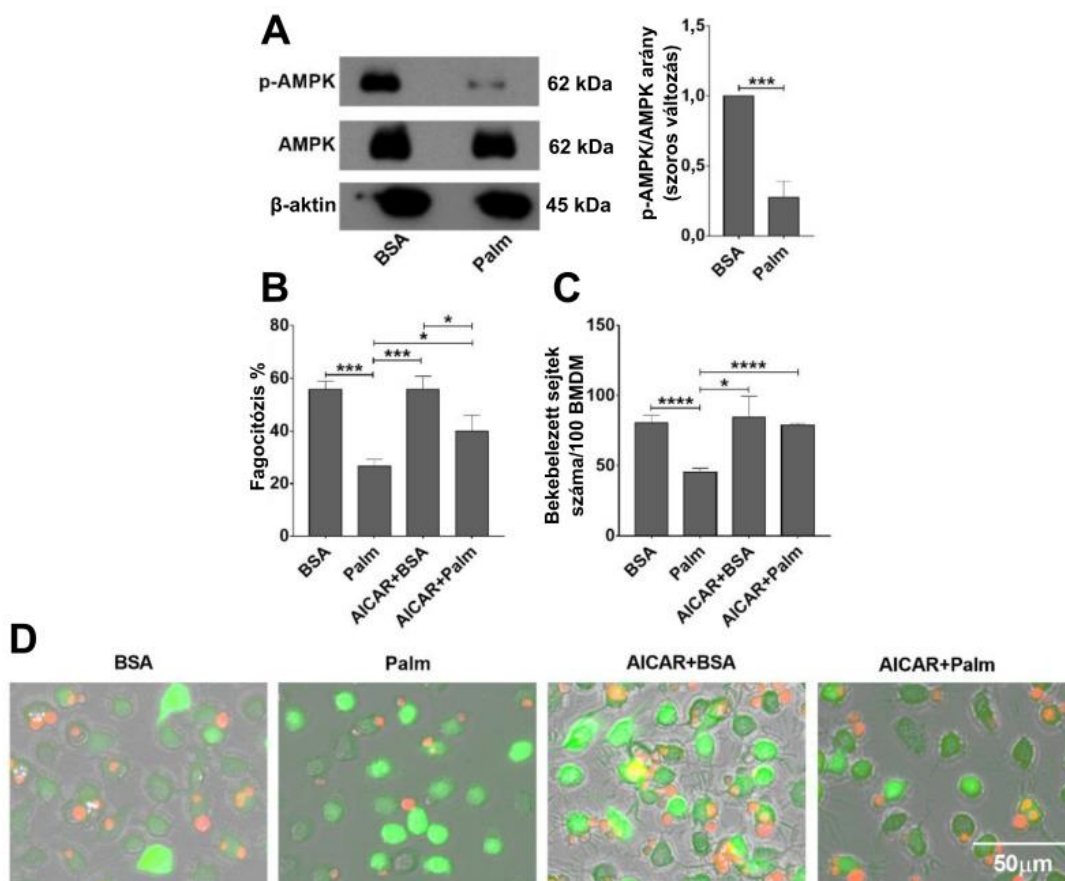
szerepet játszó receptorok mRNS expresszióját a zsírsavak felvételében is szerepet játszó CD36 kivételével, melynek kifejeződése szignifikánsan növekedett.



7. ábra A palmitát gátolja a BMDM-ek apoptotikus timocita bekebelezését anélkül, hogy befolyásolná a fagocitózisban résztvevő receptorok mRNS expresszióját. (A) A BMDM-ek fagocitikus kapacitása. A BMDM-eket 24 órán keresztül kezeltük különböző koncentrációjú palmitáttal (Palm), majd a BMDM-ekhez 5:1 arányban Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel jelölt apoptotikus timocitákat adtunk 40 percig. A sejteket FACSCalibur áramlási citométerrel analizáltuk. (B) A BMDM-ek életképessége Cell Counting Kit-el meghatározva (CCK8) különböző koncentrációjú 24 órás palmitát kezelést követően. (C) A BMDM-ek fagocitikus kapacitása 24 órás Z-VAD-FMK (50 μ M) és palmitát (0,4mM) kezelést követően. (D) A fagocitózisban szerepet játszó CD36, ELMO, C1q, MFGE8, Integrin β 3, Integrin β 5, Mer tirozin kináz, TG2 receptorok relatív mRNS expressziós szintjei a BMDM-ekben 24 órás palmitát kezelést követően qRT-PCR módszerrel meghatározva. Az eredményeket átlag \pm SD (n=3) értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * p <0,05, ** p <0,001, *** p <0,001.

7.1.2. A palmitát az energiaérzékelésen keresztül befolyásolhatja az efferocitózist a BMDM-ekben

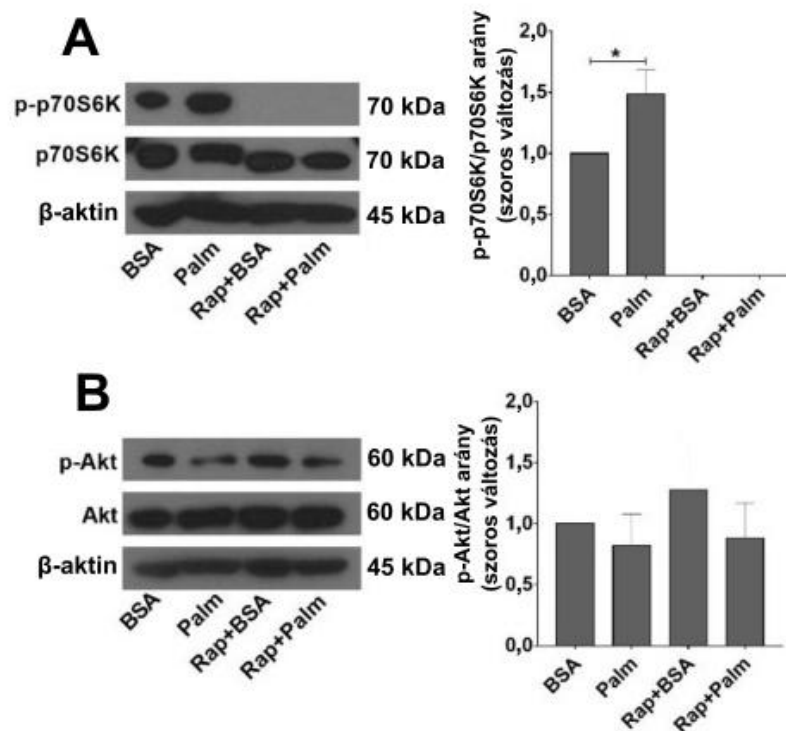
A nagy mennyiségű palmitát felvételével nagy mennyiségű energia jut a BMDM-ekbe. Az AMPK meghatározó szerepet tölt be a sejtek energiaérzékelésében, aktivitása a sejtek energiaállapotától függ. Amikor a sejtek számára elegendő tápanyag áll rendelkezésre, akkor aktivitása gátolva van, azonban, ha a sejteknek nem áll rendelkezésre elegendő tápanyag, akkor az AMPK aktivitása nő. Az AMPK maximális aktivitásához a kináz domén treonin 172 foszforilációja szükséges (Hawley és mtsai, 1996). Mivel a palmitát nem a fagocitózisban résztvevő receptorokon keresztül fejt ki gátló hatását ezért megvizsgáltuk, hogy a palmitát kezelés hogyan befolyásolja az energiaérzékelő útvonalak aktivitását. A Western blot kísérletek adatai azt mutatták, hogy palmitát kezelés hatására csökkent a BMDM-ekben az AMPK enzim aktivitása (8A ábra). Hogy vizsgáljuk, van-e a palmitát által bevitt energiatöbbletnek hatása az efferocitózisra, a BMDM-ekben az alacsony energiaszinthez hasonló körülményeket teremtettünk oly módon, hogy a palmitáttal kezelt BMDM-ekhez a kezelés utolsó 1,5 órájában AICAR-t (5-aminoimidazol-4-karboxamid-1- β -D-ribofuranozid), egy AMPK aktivátort adtunk. Eredményeink azt mutatták, hogy az AMPK AICAR általi aktiválása képes volt ellensúlyozni a palmitát fagocitózisra gyakorolt gátló hatását (8B-D ábra).



8. ábra A palmitát a BMDM-ekben csökkenti az AMPK aktivitást, amely az efferocitózis gátlásához vezet. (A) Foszforilált AMPK mennyisége Western blot analízissel detektálva a makrofágokban 24 órás 0,4mM palmitát kezelést követően, referencia fehérjeként β-aktint használva. (B) A BMDM-ek fagocitózisának mértéke áramlási citométerrel meghatározva. A BMDM-eket 24 órán keresztül kezeltük 0,4mM palmitáttal, illetve a kezelés utolsó 1,5 órájában 0,5mM AICAR-ral. Ezt követően a BMDM-ekhez 5:1 arányban Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel jelölt apoptotikus timocitákat adtunk 40 percig. A sejteket FACSCalibur áramlási citométerrel analizáltuk. (C) A BMDM-ek által bekebelezett apoptotikus sejtek száma mintánként 100 BMDM-et számolva. A makrofágokat 5μM CFDA-SE fluoreszcens festékkel inkubáltuk 24 órán keresztül. Az apoptotikus timocitákat 2,5μM Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel inkubáltuk 24 órán keresztül. Ezt követően a BMDM-eket és az apoptotikus sejteket 1:5 arányban, 40 percen keresztül inkubáltuk együtt. (D) Fluoreszcens mikroszkóppal készült reprezentatív felvételek a sejt számoláshoz, amelyeken a BMDM-ek zöld, míg az apoptotikus timociták piros színnel vannak jelölve. Az eredményeket átlag±SD (n=3) értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: *<0,05, **<0,001, ***p<0,0001.

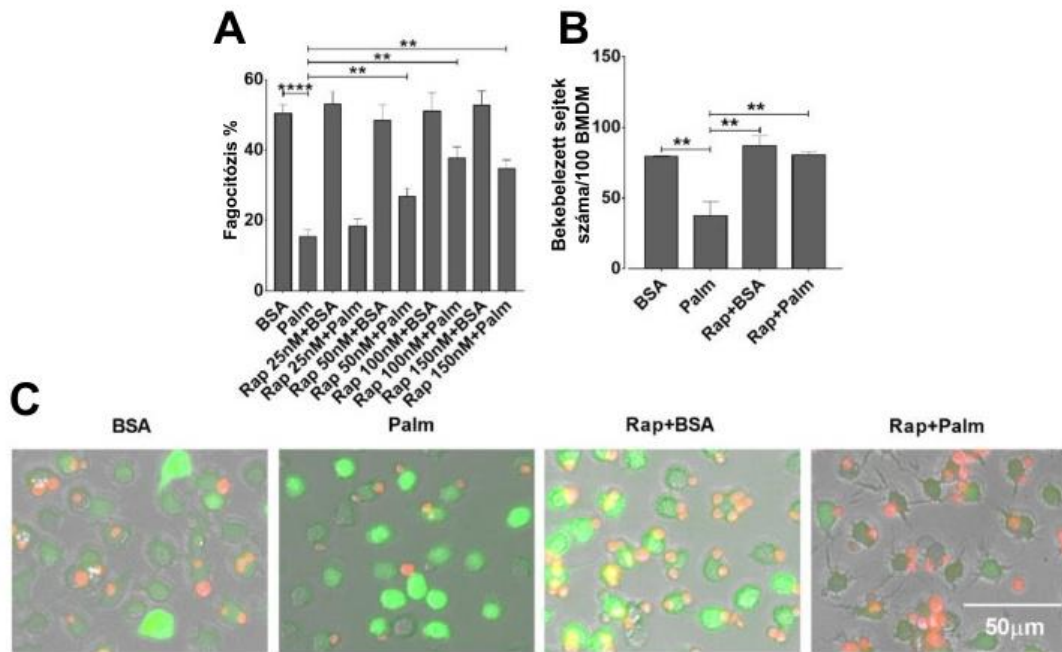
7.1.3. A palmitát fokozza az mTORC1 aktivitást a BMDM-ekben

Az AMPK-ról ismert, hogy képes gátolni az mTOR fehérje aktivitását (Dossou és Basu, 2019). Mivel a palmitát kezelés csökkentette az AMPK aktivitást, ezért szeretnénk volna meghatározni, hogy palmitát kezelés hatására változik-e a BMDM-ekben az mTOR aktivitása. Az mTOR fehérje két komplexben is jelen van. Western blot segítségével meghatároztuk a protein S6 kináz treonin 389 foszforiláltsági szintjét. A protein S6 kináz az mTORC1 útvonal szubsztrátja, így a fokozott foszforiláltsága fokozott mTORC1 aktivitást jelez. Az Akt fehérje szerin 473 foszforilációja ugyanakkor fokozott mTORC2 aktivitást jelez (Bozulic és mtsai, 2009). Kísérleteink azt mutatták, hogy a palmitát fokozza az mTORC1 aktivitását (9A ábra), de az mTORC2 aktivitására nincs szignifikáns hatással (9B ábra).



9. ábra A palmitát kezelés fokozza az mTORC1 aktivitását. (A) A foszforilált protein S6 kináz mennyisége Western blot analízissel detektálva a BMDM-ekben 24 órás 0,4mM palmitát és 100nM rapamycin (Rapa) kezelést követően, referencia fehérjeként β -aktint használva. (B) A foszforilált Akt mennyisége szintén Western blot analízissel detektálva a BMDM-ekben 24 órás 0,4mM palmitát és 100nM rapamycin kezelést követően, referencia fehérjeként β -aktint használva. Az eredményeket átlag \pm SD (n=3) értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * $<0,05$.

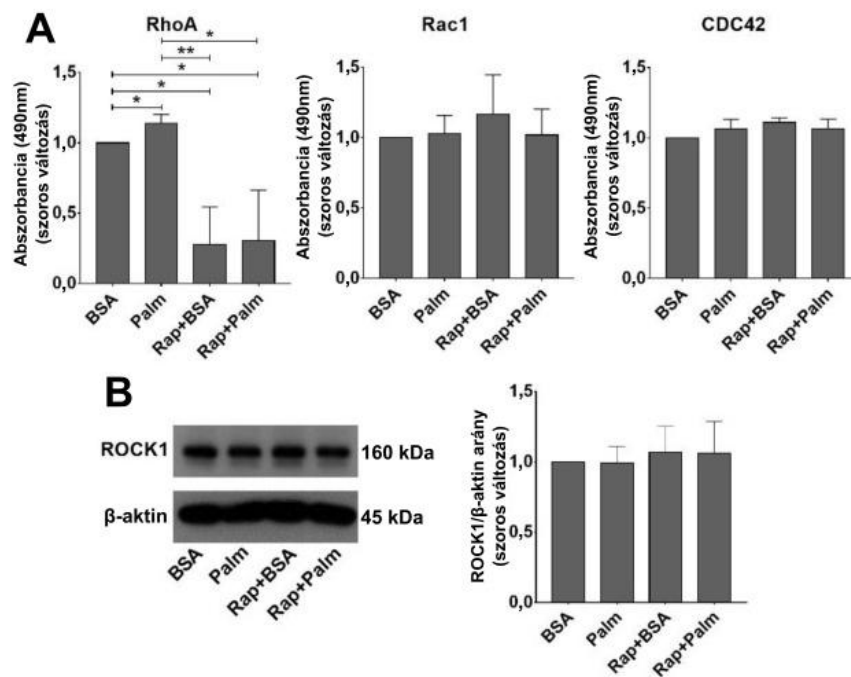
Hogy megtudjuk, az mTORC1 aktivációja részt vesz-e az palmitáthoz köthető efferocitózis gátlásában, a BMDM-eket rapamycinnel, egy szelektív mTORC1 inhibitorral kezeltük. A rapamycin teljes mértékben gátolta a protein S6 kináz foszforilációját, azonban az Akt foszforilációjára nem volt hatással igazolva szelektív mTORC1-re gyakorolt hatását. A rapamycin kezelés ugyanebben a koncentrációban szignifikánsan ellensúlyozta a palmitát gátló hatását (10A-C ábra). Összefoglalva az eredményeket elmondhatjuk, hogy a palmitát fokozza a BMDM-ekben az mTORC1 aktivitását, az mTORC1 rapamycinnel történő gátlása pedig felfüggeszti a palmitát efferocitózisra gyakorolt negatív hatását.



10. ábra A palmitát kezelés mTORC1 függő módon csökkenti a BMDM-ek fagocitózisát. (A) A BMDM-ek fagocitózisának a mértéke áramlási citométerrel meghatározva. A makrofágokat 24 órán keresztül kezeltük 0,4mM palmitáttal és 100nM rapamycinnel. Ezt követően a BMDM-ekhez 5:1 arányban Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel jelölt apoptotikus timocitákat adtunk 40 percig. A sejteket FACSCalibur áramlási citométerrel analizáltuk. (B) A makrofágok által bekebelezett apoptotikus sejtek száma mintánként 100 BMDM-et megszámolva. A BMDM-eket 5µM CFDA-SE fluoreszcens festékkel inkubáltuk 24 órán keresztül. Az apoptotikus timocitákat 2,5µ Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel inkubáltuk 24 órán keresztül. Ezt követően a BMDM-eket és az apoptotikus sejteket 1:5 arányban, 40 percen keresztül inkubáltuk. (C) Fluoreszcens mikroszkóppal készült reprezentatív felvételek a sejszámoláshoz, amelyeken a BMDM-ek zöld, míg az apoptotikus timociták piros színnel vannak jelölve. Az eredményeket átlag±SD (n=3) értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: **<0,001, ***p<0,0001.

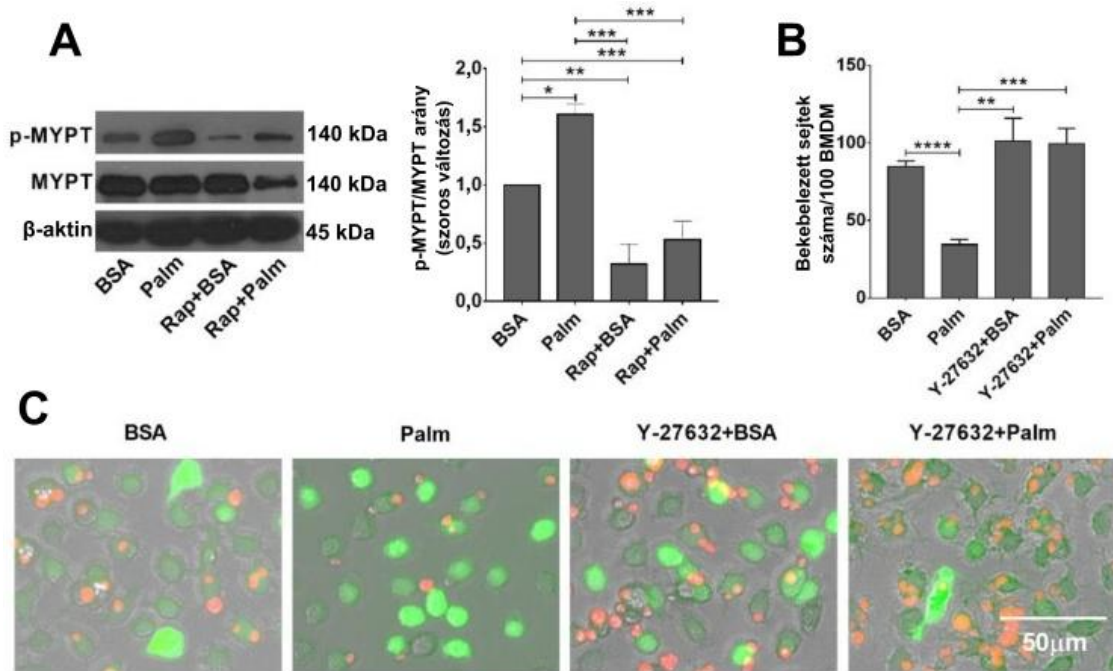
7.1.4. A palmitát a BMDM-ekben fokozza az mTORC1 függő Rho kináz aktivációt, ezáltal gátolva az efferocitózist

A G fehérjék fontos szerepet töltenek be a citoszkeleton átrendeződésében a fagocitózis folyamata során (Nakaya és mtsai, 2006). Mivel a palmitát nem befolyásolta a fagocitózisban résztvevő receptorok mRNS expresszióját úgy gondoltuk, hogy hatással lehet a G fehérjék aktivitására. 24 órás palmitát kezelést követően megvizsgáltuk a makrofágokban a Rac1, a CDC42 és a RhoA aktivitását. A Rac1 és a CDC42 esetében nem változott szignifikánsan az aktivitás, azonban RhoA esetében nőtt, és mTORC1 függő RhoA aktivitás szabályozást figyeltünk meg (11A ábra).



11. ábra A palmitát kezelés a BMDM-ekben fokozza a RhoA aktivitást. (A) RhoA, Rac1 és CDC42 fehérje aktivitások. A BMDM-eket 0,4mM palmitáttal kezeltük 24 órán keresztül és a G fehérjék aktivitását G-LISA aktivációs kittel határoztuk meg. (B) ROCK1 fehérje szintek a BMDM-ekben Western blot analízissel detektálva 24 órás 0,4mM palmitát és 100nM rapamycin kezelést követően, referencia fehérjeként β-aktint használva. Az eredményeket átlag±SD (n=3) értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: *<0,05, **<0,001, ***p<0,001, ****p<0,0001

Mivel ismert, hogy a RhoA a RhoA-asszociált protein kináz 1 (ROCK1) fehérje szabályozásán keresztül részt vesz az efferocitózis negatív szabályozásában (Tosello-Tramont és mtsai, 2003), megvizsgáltuk, hogy a palmitát, a rapamycin, vagy a palmitát és rapamycin kezelés befolyásolja-e a ROCK1 fehérje kifejeződését. Western blot technikát alkalmazva egyik kezelés esetében sem tapasztaltunk szignifikáns változást a fehérje expressziójában (11B ábra).



12. ábra A palmitát kezelés a BMDM-ekben *mTORC1* függő ROCK1 aktiváláshoz és csökkent efferocitózishoz vezet. (A) Foszforilált MYPT-1 szintek a BMDM-ekben Western blot analízissel detektálva 24 órás 0,4mM palmitát és 100nM rapamycin kezelést követően, referencia fehérjeként β -aktint használva. (B) A BMDM-ek által bekebelezett apoptotikus sejtek száma mintánként 100 BMDM-et számolva. A BMDM-eket 5 μ M CFDA-SE fluoreszcens festékkel inkubáltuk 24 órán keresztül. Az apoptotikus timocitákat 2,5 μ M Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel inkubáltuk 24 órán keresztül. Ezt követően a BMDM-eket és az apoptotikus sejteket 1:5 arányban, 40 percen keresztül inkubáltuk. (C) Fluoreszcens mikroszkóppal készült reprezentatív felvételek a sejtszámoláshoz, amelyeken a BMDM-ek zöld, míg az apoptotikus timociták piros színnel vannak jelölve. Az eredményeket átlag \pm SD (n=3) értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * $<0,05$, ** $<0,001$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$.

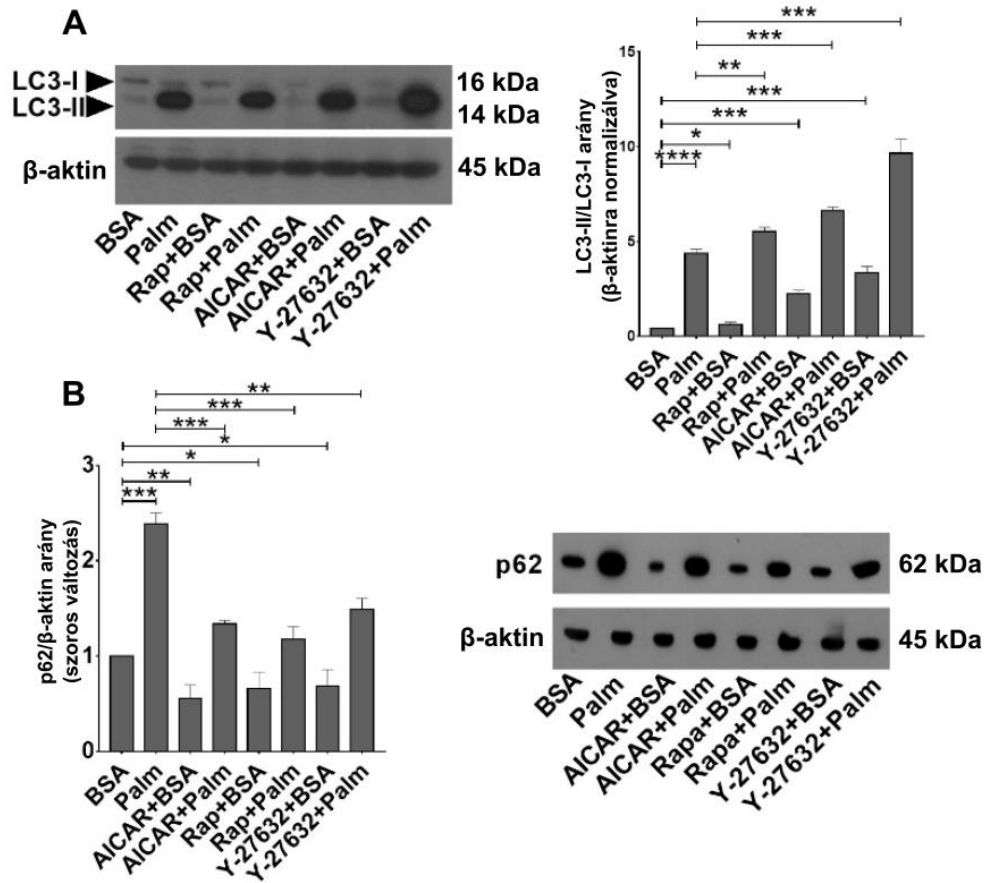
A citoszkeleton átrendeződése során a ROCK1 fehérje egyik szubsztrátja a MYPT-1 fehérje, amelyet a treonin 850 foszforilációján keresztül aktivál (Somlyó és mtsai, 2003). Western blot technika segítségével meghatároztuk a foszforilált MYPT1 fehérje szintjeit. Palmitát hatására a makrofágokban szignifikánsan nőtt a foszforilált MYPT1 fehérje mennyisége. Ugyanakkor rapamycin kezelés hatására még palmitát együttes jelenlétében is szignifikáns csökkenést figyeltünk meg (12A ábra). Ezen eredményekből arra következtethetünk, hogy az mTORC1 képes aktiválni a RhoA fehérjét, a RhoA fehérjén keresztül pedig a ROCK1 fehérjét.

Úgy véltük, hogyha a ROCK1 fehérje aktiválása részt vesz a palmitát efferocitózisra gyakorolt gátló hatásában, úgy a ROCK1 fehérje gátlásával képesek leszünk a palmitát negatív hatását visszafordítani, ezáltal fokozni a BMDM-ek efferocitózisát. Eredményeink valóban azt mutatták, hogy ha gátoltuk a ROCK1-et az Y-27632 inhibitorral, akkor a palmitát efferocitózisra gyakorolt gátló hatását meg tudtuk szüntetni (12B-C ábra).

7.1.5. A palmitát fokozza BMDM-ekben az autofágiát, de gátolja az autofágiás vakuólumok és a lizoszómák fúzióját

Ismert, hogy a palmitát képes a sejtekben ER stresszt indukálni és az ER stresszre adott egyik sejtválasz az autofágia számos más válasz mellett, mint például a kibontott fehérje válasz, vagy a mitokondriális működés megváltozása (Schilling és mtsai, 2013). Az autofágia aktiváció kimutatásának egyik lehetősége az LC3-II fehérje megnövekedett mennyisége, amely a fehérjének az autofágia során az ATG fehérjék általi poszttranszlációs módosításának következménye (Senft és mtsai, 2015). A p62 fehérje szintén fontos szerepet tölt be az autofágia során a lebomló molekulák megjelölésében. A p62 a hozzá kapcsolt fehérjékkel együtt lebomlik a lizoszómában, így mennyiségének csökkenése fontos indikátora az autofágia mértékének (Lamark és mtsai, 2017). Az mTORC1-ről ismert, hogy gátolja az autofágiát (Bortolami és mtsai, 2020), így palmitát általi gátlását követően azt várnánk, hogy az autofágiás folyamatok gátlódnak. Azonban az ER stressz az mTORC1-től független útvonalon képes fokozni az autofágiát (Tan és mtsai, 2012). Ezért kíváncsian vártuk, hogyan befolyásolja a palmitát a BMDM-ekben az autofágiás útvonalakat. Az mTORC1 utat gátló rapamycin, AICAR és Y-27632 kezelések önmagukban fokozták az LC3-II/LC3-I arányt, amely az autofágia fokozódását jelzi a

BMDM-ekben (13A ábra). A p62 fehérje mennyisége ezzel szinkronban csökkent ezen kezelések hatására (13B ábra).

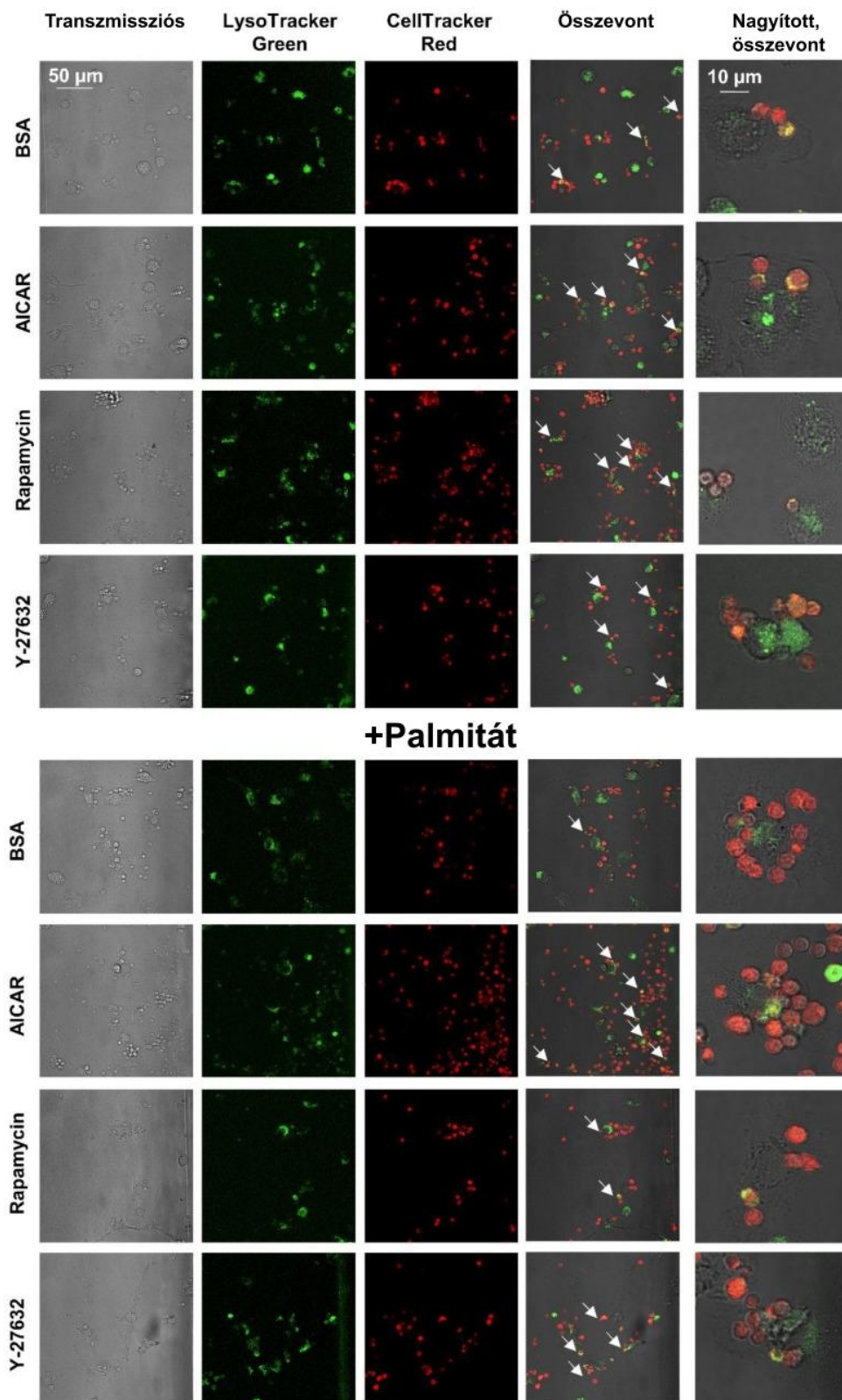


13. ábra A palmitát fokozza az autofágiát a BMDM-ekben, de gátolja az autofagoszóma lizoszóma fúziót. (A) LC3-I és LC3-II szintek a BMDM-ekben Western blot analízissel detektálva 24 órás 0,4mM palmitát 100nM rapamycin, 0,5mM AICAR és 30 μ M Y-27632 kezelést követően, referencia fehérjeként β -aktint használva. (B) p62 szintek a BMDM-ekben Western blot analízissel detektálva 24 órás 0,4mM palmitát és 100nM rapamycin, 0,5mM AICAR és 30 μ M Y-27632 kezelést követően, referencia fehérjeként β -aktint használva. Az eredményeket átlag \pm SD (n=3) értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * $<$ 0,05, ** $<$ 0,001, *** p $<$ 0,001, **** p $<$ 0,0001).

A palmitát adását követően azonban jelentősen megnövekedett p62 szintet detektáltunk, amely az autofagoszóma-lizoszóma késleltetett fúziójára vagy a fúzió gátlására utalt, következményes LC3 felhalmozódást eredményezve a lizoszómákkal

egyesülni nem tudó autofagoszómákban. A rapamycin, AICAR, Y-27632 kezelések palmitát jelenlétében szignifikánsan csökkentették a p62 szinteket. Ebből arra következtethetünk, hogy az mTORC1 útvonal gátlói képesek feloldani a palmitát által okozott autofagoszóma-lizoszóma fúzió blokkot, így engedik, hogy a palmitát általi ER stressz indukálta autofágiás folyamat akadály nélkül működhessen.

7.1.6. A palmitát gátolja a felvett apoptotikus timociták lizoszómába jutását is



14. ábra A 24 órás palmitát kezelés a BMDM-ekben késlelteti az apoptotikus sejtek megjelenését a fagolizoszómákban, melyet a rapamycin, AICAR és Y-27632 kezelés képes visszafordítani. A

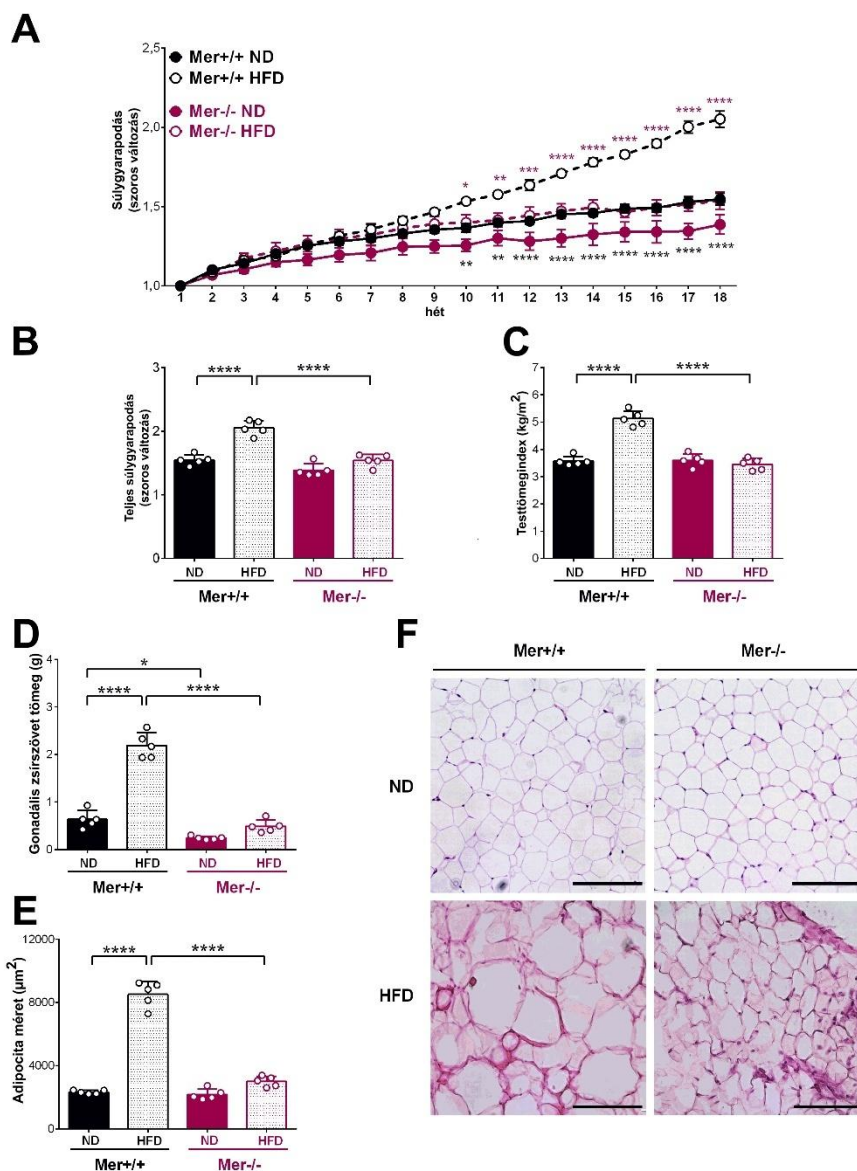
BMDM-eket 24 órán keresztül kezeltük 0,4mM palmitáttal vagy 100nM rapamycin, 0,5mM AICAR és 30 μ M Y-27632-vel. A kezelést követően a BMDM-eket 50nM LysoTrackerTM Green DND-26 fluoreszcens festékkel 1 órán keresztül inkubáltuk. Az apoptotikus timocitákat 2,5 μ M Cell Tracker DeepRed fluoreszcens festékkel jelöltük 24 órán keresztül. Ezt követően a BMDM-eket és az apoptotikus sejteket 1:5 arányban 40 percen keresztül inkubáltuk együtt. A sejtek fixálása nélkül konfokális felvételeket készítettünk. A sárga/narancssárga színek az fagocitált apoptotikus sejteket jelölik a fagolizoszómában a fagoszómák lizoszómákkal történő fúzióját követően.

Ha a palmitát kezelés hatására aktivált mTORC1 útvonal gátolja az autofágiás vakuólumok és a lizoszómák fúzióját, gátolhatja a fagoszómák és a lizoszómák fúzióját is, mert lényegében ugyanazon fehérjék vesznek részt ezen organelumok fúziójában (Nguyen és Yates, 2021). Hogy a feltételezéseinket mikroszkópos vizsgálattal is alátámasszuk, a BMDM-ek lizoszómáját LysoTracker, míg az apoptotikus sejteket DeepRed fluoreszcens festékkel jelöltük meg, majd követtük az apoptotikus sejtek megjelenését a lizoszómákban. Palmitát kezelés esetében nagyon alacsony számú apoptotikus sejtet tudtunk detektálni a lizoszómákban a többi kezeléshez képest (14. ábra). E megfigyeléseink arra utalnak, hogy az mTORC1-RhoA-ROCK jelátviteli útvonal aktivációja interferál a fagoszóma-lizoszóma fúziós útvonallal. Fontos megjegyezni azonban, hogy nem zárhatjuk ki annak lehetőségét sem, hogy csupán az apoptotikus sejtek késleltetett felvétele magyarázza a késői megjelenésüket a lizoszómákban.

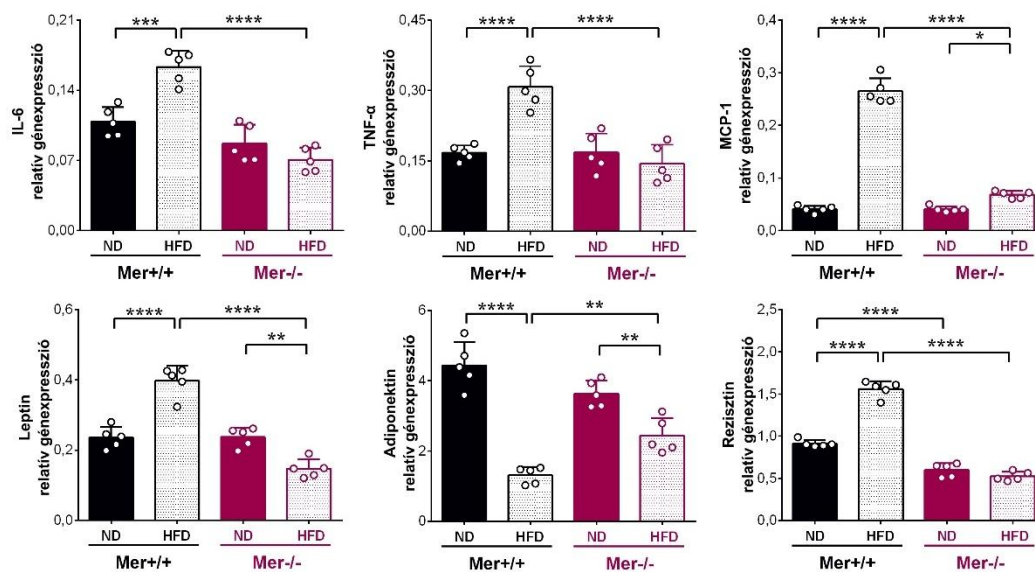
7.2. A Mer hiányának hatása magas zsírtartalmú diétával kiváltott patológiás elváltozásokra egerekben

7.2.1. Mer^{-/-} egerek esetében kisebb súlygyarapodás figyelhető meg magas zsírtartalmú diéta hatására

Normál diétán (ND) tartott egerekhez képest a vad típusú egerekben magas zsírtartalmú diéta (HFD) hatására markáns elhízás alakult ki. A HFD vagy ND étrenden tartott egerek testtömege $38,6 \pm 2$ vs. $29,6 \pm 1,5$ g volt. A Mer hiánya nem befolyásolta a testtömeget szignifikánsan az etetési szakasz kezdetén. A Mer^{+/+} és Mer^{-/-} egerek esetében a testtömeg $19,0 \pm 0,6$ vs. $18,1 \pm 2,4$ g volt. Hosszabb távon a normál diétán tartott vad típusú egerekhez képest a Mer^{-/-} egerek lassabb súlygyarapodást mutattak: $29,6 \pm 1,5$ vs. $27,0 \pm 0,9$ (15A ábra). A Mer null egerek csökkent testtömeg-gyarapodási képessége a vad típusú alomtársaikhoz képest sokkal kifejezettebb volt, ha HFD-n voltak tartva (15B ábra). Ez a különbség a BMI esetében is megmutatkozott (15C ábra). A gonadális zsírszövet (gWAT) tömege a Mer^{-/-} egerek esetében szignifikánsabban alacsonyabb volt a Mer^{+/+} egerekhez képest HFD étrenden tartva (15D ábra). A gWAT-ban bekövetkezett tömegnövekedés az adipociták átlagos méretének megnövekedésében is megmutatkozott, amit hisztológiai metszetek segítségével detektáltunk (15E és F ábra). Korábbi vizsgálatok alapján bizonyított, hogy az adipociták hipertrófiája fokozott gyulladási citokin és megváltozott adipokin termeléssel jár (Gregor és mtsai, 2007; Stern és mtsai 2016), ezért meghatároztuk néhány proinflammatorikus citokin mRNS expressziós szintjét a gWAT adipocitáiban. Az irodalmi adatoknak megfelelően az MCP-1, a TNF, az IL-6, a rezisztin és a leptin fokozott expressziót mutattak a vad típusú HFD-n tartott egerek esetében, míg az adiponektin szintje csökkent (16. ábra). A HFD-n tartott Mer^{-/-} egereknél azonban nem mutattunk ki megváltozott expressziót ezen molekulák esetében. Összegezve az eredményeket elmondhatjuk, hogy a Mer hiánya HFD étrenden tartott egerekben véd a súlygyarapodástól, illetve a gyulladás kialakulásától.



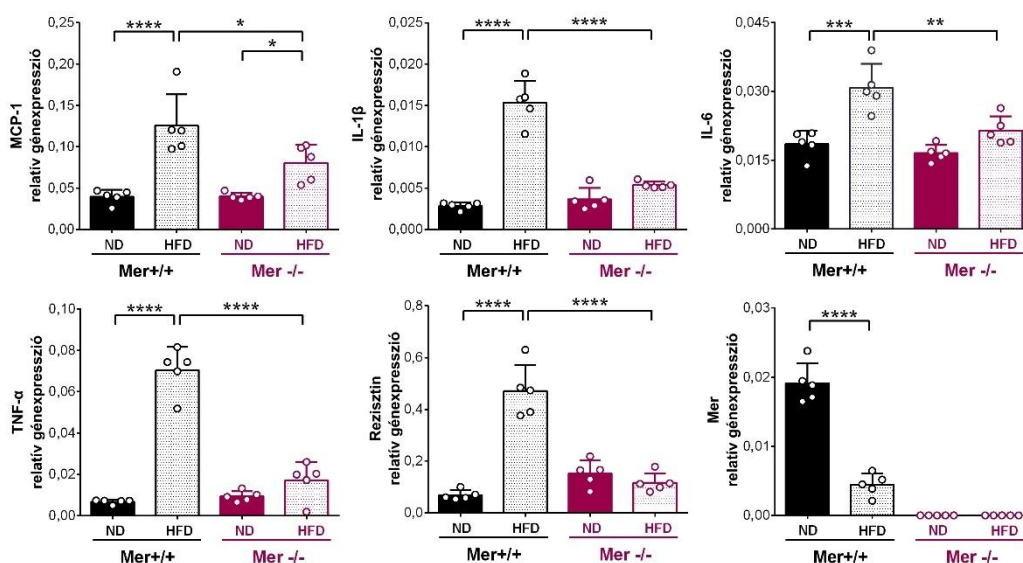
15. ábra A *Mer*^{-/-} egerek védettek a HFD étrend által kiváltott elhízással szemben. (A) ND-n és HFD-n tartott vad típusú és *Mer*^{-/-} egerek testtömege hetente mérve. (B) ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és *Mer*^{-/-} egerek testtömege a 18 hetes etetési időszak végén szoros növekedésben kifejezve az etetési időszak kezdetéhez képest. (C) ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és *Mer*^{-/-} egerek testtömegindexe az etetési időszak végén. (D) ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és *Mer*^{-/-} egerek gonadális zsírszövetének tömege az etetési időszak végén. (E, F) Paraffinba ágyazott gWAT-ot tartalmazó, hematoxilin-eozin festéssel megfestett szöveti metszetek ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és *Mer*^{-/-} egerek esetében a szöveti felépítés bemutatásához és az adipociták átlagos méretének meghatározásához. A kiértékelést ImageJ szoftverrel végeztük. Minden minta esetében 500 adipocitát vizsgáltunk meg. 5 szöveti mintából egy-egy reprezentatív képet mutatunk be. A lépték skála 200 μm.



16. ábra Mer hiánya HFD étrenden tartott egerekben véd a gyulladás kialakulásától. gWAT adipociták qRT-PCR módszerrel meghatározott adipokin és proinflammatorikus citokin géneexpressziós szintjei ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és Mer^{-/-} egerekben az etetési időszak végén. Az eredményeket átlag és egyéni értéként értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

7.2.2. A Mer hiánya védi az egereket a HFD étrend által kiváltott gyulladás, zsírmáj és inzulinrezisztencia kialakulásától

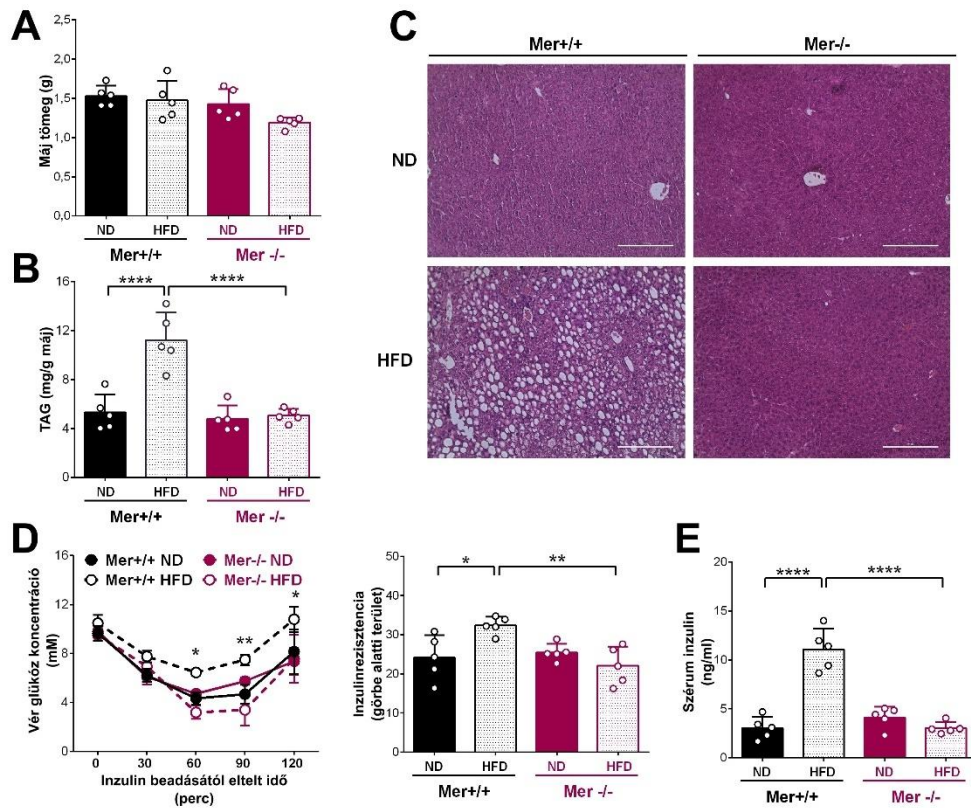
HFD étrend hatására számos proinflammatorikus citokin és a rezisztin esetében is magas mRNA expressziót detektáltunk a vad típusú egerek zsírszöveti makrofágjaiban szemben a Mer^{-/-} egerek makrofágjaival (17. ábra). Az ND étrenden tartott vad típusú egerek makrofágjaiban magas, míg a HFD étrenden tartott egerek proinflammatorikus makrofágjaiban alacsony Mer expressziót figyeltünk meg. Ezen eredményeink arra utalnak, hogy a HFD étrenden tartott Mer^{-/-} egerekben a Mer^{-/-} adipociták nem lesznek hipertrófiások, illetve gyulladás sem alakul ki a Mer^{-/-} zsírszövetekben.



17. ábra A Mer hiánya az egerekben megakadályozza a HFD étrend hatására kialakuló gyulladást. gWAT makrofágok qRT-PCR módszerrel meghatározott proinflammatorikus citokin, rezisztin és Mer génexpressziós szintjei ND-n vagy HFD-n tartott vad típusú és Mer^{-/-} egerekben az etetési időszak végén. Az eredményeket átlag és egyéni értéként értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

Ismert, hogy a HFD étrend hatására kialakult gyulladás és megváltozott adipokin termelés összefüggésbe hozható az inzulin rezisztencia és a zsírmáj kialakulásával (Rabe és mtsai, 2008), ezért megvizsgáltuk ezen folyamatokat is. Ahogy a 18A ábrán látható, az ND és HFD étrenden tartott egerek májtömege között nem volt különbség. A HFD étrenden tartott vad típusú egerek májában azonban szignifikánsan magasabb triacilglicerol koncentrációt detektáltunk az ND étrenden tartott egerekhez képest. Ezen eredményekkel ellentétben a Mer^{-/-} egerek májában mért triacilglicerol koncentráció az ND étrenden tartott egerekhez hasonlóan nem növekedett a HFD étrend hatására sem (18B ábra). Az eredményeink a hematoxilin-eozinnal megfestett májmetszetek képeivel összhangban állnak (18C ábra). Ezt követően meghatároztuk az inzulinrezisztenciát. A HFD étrenden tartott vad típusú egerek fokozott mértékű inzulinrezisztenciát mutattak a Mer^{-/-} egerekkel szemben (18D ábra). Ezeket az eredményeket alátámasztották a HFD étrenden tartott Mer^{+/+} egerekben mért fokozott kompenzatorikus szérumszintek is. A Mer^{-/-} egerek szérumszintjeiben ugyanakkor nem következett be

szignifikáns változás (18E ábra). Eredményeink alapján a Mer hiánya az egerekben véd a gyulladás, a zsírmáj és az inzulinrezisztencia kialakulása ellen.



18. ábra A Mer hiánya az egerekben megakadályozza a HFD étrend hatására kialakuló zsírmáját és inzulinrezisztenciát. (A) ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és Mer^{-/-} egerek májának tömege az etetési időszak végén. (B) ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és Mer^{-/-} egerek májának triacilglicerol tartalma az etetési időszak végén. (C) Paraffinba ágyazott májszövetekből készült metszetek, melyeket hematoxilin-eozin festéssel festettük meg a szöveti struktúra láthatóvá tételéhez. A három-három mintából egyet-egyet mutatunk be. A lépték skála 200 μ m. (D) ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és Mer^{-/-} egerek inzulinrezisztencia értékei az etetési időszak 17. hetén. (E) ND vagy HFD étrenden tartott vad típusú és Mer^{-/-} egerek egér-inzulin ELISA kittel meghatározott plazma inzulin szintjei az etetési időszak végén. Az eredményeket átlag és egyéni értéként értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

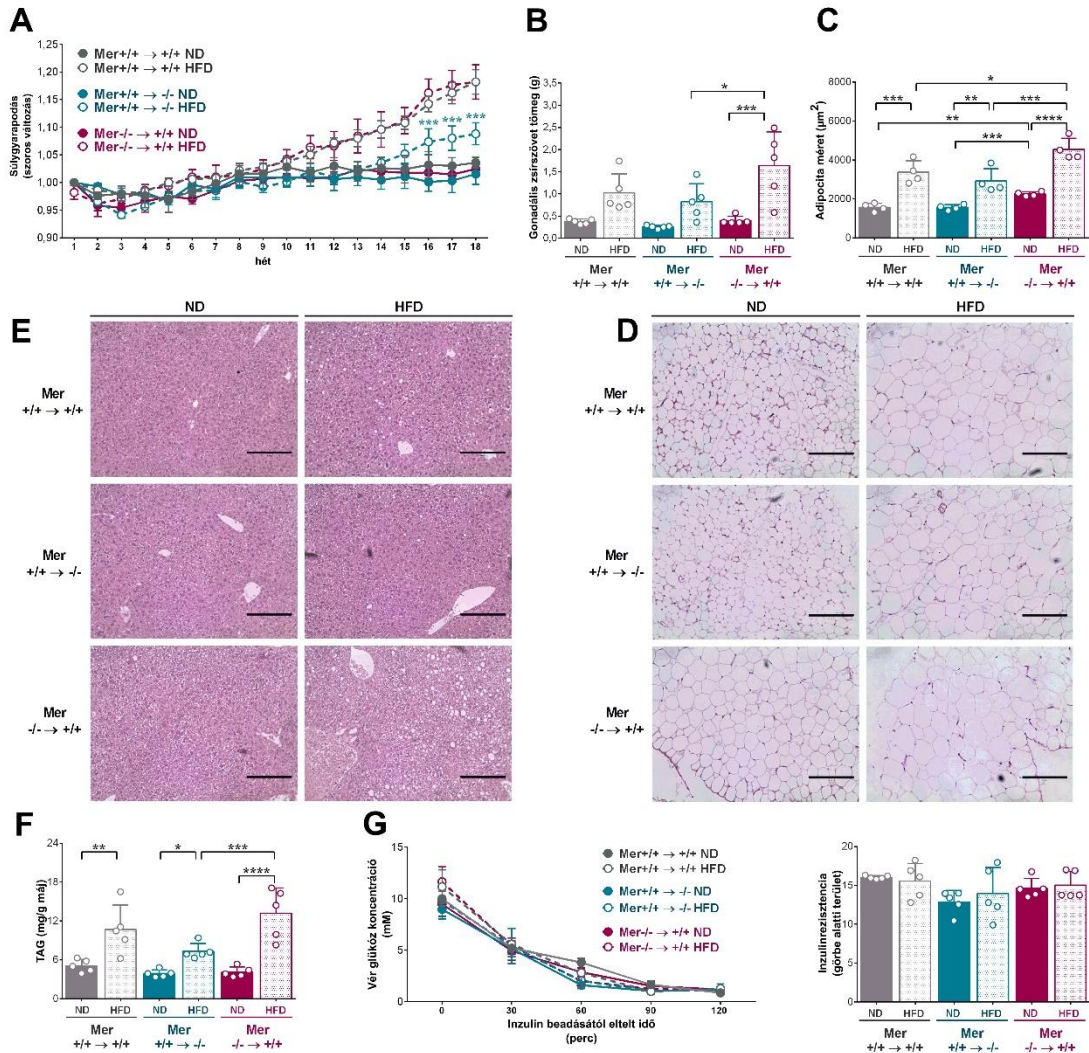
7.2.3. A Mer hiánya a nem hematopoietikus sejteken véd a magas zsírtartalmú étrend által kiváltott elhízás ellen

A Mer^{-/-} egerekkel kapott eredmények alátámasztották, hogy Mer hiánya véd a HFD által kiváltott elhízás, metabolikus szindróma és zsírmáj kialakulása ellen, így kíváncsiak voltunk, hogy magas zsírdiétával szemben kialakuló védettség a csontvelő-eredetű sejtek, vagy egyéb sejtek Mer hiányának a következménye-e. A kérdés megválaszolásához vad típusú és Mer^{-/-} egereket kobaltágyúval sugároztunk be, hogy elpusztítsuk a csontvelőt, majd csontvelő transzplantációt hajtottunk végre. Kontrollként vad típusú egérbe vad típusú csontvelőt ültettünk, illetve a kérdés megválaszolásához Mer^{-/-} csontvelőt vad egerekbe, illetve vad egerekből származó csontvelőt Mer^{-/-} egerekbe transzplantáltunk. A korábbiakban elvégzett kísérletsorozatot a transzplantált egerek esetében is elvégeztük. A 19A ábrán látható módon az irodalmi adatoknak megfelelően a besugárzott egerek esetében lényegesen kisebb súlygyarapodást figyeltünk meg az etetési időszak végén a korábban bemutatott nem besugárzott társaikhoz képest (Maeda és mtsai, 2005). Ennek ellenére a kialakult testtömeg változások egyértelműen demonstrálták, hogy míg a Mer hiánya a hematopoietikus sejtekben nem volt kedvező hatással a HFD étrend által kiváltott súlygyarapodásra, a Mer hiánya a nem hematopoietikus sejteken védő hatásának bizonyult a zsírdiéta elhízást kiváltó hatásával szemben, legalábbis az etetési időszak korai szakaszában.

Ahogy eredetileg vártuk, a HFD étrenden tartott egerek esetében a Mer hiánya a hematopoietikus sejtekben nagyobb gWAT tömeget eredményezett a vad típusú egerekhez hasonlítva. Ez a különbség még kifejezettebb volt, ha azokhoz az egerekhez hasonlítottuk, melyekben a Mer a nem hematopoietikus sejtekből hiányzott (19B ábra). A hematoxilin-eozinnal megfestett szöveti metszetek arra is rámutattak, hogy azokban az egerekben, amelyekben a Mer a hematopoietikus sejtekből hiányzott már ND étrend esetében is nagyobb adipocita méret volt megfigyelhető a többi csoporthoz képest (19C-D ábra).

A testtömeg adatoknak megfelelően valamennyi triacilglicerol tartalom növekedés mindhárom fajta egér májában kimutatható volt zsírdiétán, és ez is azokban az egerekben volt a legkifejezettebb, amelyekben a Mer a hematopoietikus sejtekből hiányzott. (19E-F ábra). Az inzulinérzékenységet tekintve a mérés időpontjáig még nem alakult ki szignifikáns különbség a csoportok között ilyen alacsony súlygyarapodás mellett (15G

ábra). Az eredményeket összefoglalva azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a Mer hiánya a nem hematopoietikus sejtekben játszik szerepet a HFD étrend hatására kialakuló elhízás elleni védelemben az egerekben, és ez eltakarja a mieloid Mer^{-/-} fenotípust.



19. ábra A Mer hiánya a nem hematopoietikus sejtekben véd a HFD étrend hatására kialakuló elhízás ellen. (A) ND-n és HFD-n tartott csontvelő-transzplantált egerek testtömege hetente mérve. (B) ND vagy HFD étrenden tartott csontvelő-transzplantált egerek gonadális zsírszövetének tömege az etetési időszak végén. (C, D) Paraffinba ágyazott gWAT-ot tartalmazó, hematoxilin-eozin festéssel megfestett szöveti metszetek ND vagy HFD étrenden tartott csontvelő-transzplantált egerek esetében a szöveti felépítés bemutatásához és az adipociták átlagos méretének meghatározásához. A kiértékelést ImageJ szoftverrel végeztük. Minden minta esetében 500 adipocitát vizsgáltunk meg. 4 mintából egy reprezentatív mintát mutatunk be. A lépték skála 200 μm . (E) Paraffinba ágyazott májszövetekről készült metszetek, melyeket hematoxilin-eosin festéssel festettük meg a szöveti struktúra láthatóvá tételéhez A három-három

mintából egyet-egyet tüntettünk fel. A lépték skála 200 μ m. (F) ND vagy HFD étrenden tartott csontvelőtranszplantált egerek májának triacilglicerol tartalma az etetési időszak végén. (G) ND vagy HFD étrenden tartott csontvelő-transzplantált egerek egér-inzulin ELISA kittel meghatározott plazma inzulin szintjei az etetési időszak végén egér-inzulin ELISA kittel meghatározva. Az eredményeket átlag és egyéni értéként értéként tüntettük fel. A statisztikai szignifikáns különbséget csillagok jelölik: * $<0,05$, ** $<0,001$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$).

8. Megbeszélés

Az elhízás napjainkban több, mint 650 millió felnőttet és 340 millió gyermeket érintő probléma. Az elhízás jellemzője a zsírszövet kóros felhalmozódása a testben, amely komoly egészségügyi kockázatot jelent (Sørensen és mtsai, 2022), és gyakran társul krónikus alacsony szintű gyulladással (Ellulu, 2016).

A krónikus alacsony szintű gyulladás kialakulása, illetve a makrofágok efferocitózisa szoros kapcsolatot mutatnak. Az apoptotikus sejtek eltávolítása a makrofágok által része a normál szöveti homeosztázisnak, hiszen egyrészt elősegíti a szöveti integritás megtartását, másrészt fontos szerepe van a szövetkárosító gyulladás megelőzésében. A nagymennyiségű lipiddel teli apoptotikus adipociták makrofágok általi bekebelezése önmagában is egy gyulladást kialakulását elősegítő folyamat lehet (Röszer, 2021). Munkacsoportunk korábban kimutatta, hogy a makrofágok az apoptotikus adipociták lipidtartalmát képesek lipid tartalmú extracelluláris vezikulák formájában felvenni és eloxidálni, ezáltal csökkentve a perifériás szövetek ektopikus zsírterhelését. TG2 hiányában, ez a folyamat sokkal hatékonyabb (Sághy és mtsai, 2019), valószínűleg az adipociták kompenzatorikusan magasabb integrin $\beta 3$ kifejeződése miatt, amelyről ismert, hogy részt vehet a PS-t kifejező extracelluláris vezikulák felvételében (Mulcahy és mtsai, 2014). Feltételezzük, hogy a Mer tirozin-kináz is hasonló szereppel bírhat, mivel a Mer szerepét is bizonyították már PS-pozitív extracelluláris vezikulák felvételében (Mulcahy és mtsai, 2014). Ha az apoptotikus sejtek eltávolítása zavart szenved, akkor az el nem takarított sejtek másodlagos nekrozison mennek keresztül. A nekrozis során olyan intracelluláris molekulák szabadulnak fel a sejtekből, amelyek gyulladás kialakulásához vezetnek (Szondy és mtsai, 2014). Folyamatos képződésük, és az eltakarítás zavara miatt kialakuló makrofág polarizáció zavar együttesen krónikus gyulladás kialakulásához vezethet. Ez elhízásban kialakul a zsírszövetben, de a telített zsírsavak keringésben történő felszaporodása miatt a más szövetekben működő makrofágok efferocitózis képessége is csökkent lehet (Li és mtsai, 2009). A krónikus gyulladás kialakulása képezi az alapot számos az elhízáshoz társult betegség kialakulásához, mint például az ateroszklerózis (Henning, 2021), krónikus obstruktív tüdőbetegség (Park és mtsai, 2017), reumás megbetegedések (Gremese és mtsai, 2014), vagy a szájüreget érintő gyulladások (Pischon és mtsai, 2007).

A krónikus alacsony szintű gyulladás fokozza a makrofágok akkumulációját a zsírszövetben, amely a zsírszövet diszfunkcióját okozza. Fokozódik a lipogenezis, de idővel csökken a zsírszövet további lipiddtároló kapacitása, megváltozik az adipokin termelés, illetve fokozódik a zsírsejtek nekrozisa a zsírszövetben. Mindez részben a makrofágok és az adipociták között létrejövő patológiás interakció eredménye (Zhang és mtsai, 2024). A zsírszöveti makrofágok a kutatások alapján jó célpontnak bizonyulnak az elhízás kezelésében. Ilyen célpont lehet például a makrofág polarizáció, a makrofág gyulladásos útvonalak, a makrofág metabolikus útvonalak, inzulin jelátviteli útvonal, az energia érzékelő útvonalak. Ezen jelátviteli útvonalak befolyásolásával hatással lehetünk az adipociták működésére, oly módon, hogy akár megakadályozhatjuk az elhízást és a hozzá kapcsolódó metabolikus megbetegedések kialakulását is (Li és mtsai, 2023).

Disszertációm első részében azt vizsgáltam, hogy a palmitát hogyan befolyásolja az apoptotikus sejtek BMDM-ek általi felvételét annak érdekében, hogy új gyógyszer-célpontot azonosítsunk. A disszertációm második felében a szöveti makrofágok által magasan expresszált és az apoptotikus sejtek eltakarításában résztvevő Mer tirozinkináz szerepét teszteltem a zsírszövet homeosztázisának fenntartásában.

A palmitát efferocitózisra gyakorolt hatásának vizsgálata során arra kerestük a választ, hogy a palmitát valóban csökkenti-e a BMDM-ek apoptotikus sejt felvételét, és ha igen, akkor ez milyen mechanizmuson keresztül valósulhat meg. Az első vizsgálataink megerősítették, hogy a palmitát dózis függő módon csökkenti a BMDM-ek apoptotikus sejt felvételét. Ezt követően azt szeretnénk tudni, hogy a palmitát milyen mechanizmuson keresztül fejti ki az efferocitózist csökkentő hatását. A palmitátról korábban kimutatták, hogy képes ER stresszt indukálni és ezáltal apoptózist elindítani a makrofágokban (Schilling és mtsai, 2013). Úgy gondoltuk, hogy a csökkent fagocitózis hátterében a BMDM-ek fokozott sejthalála is állhat, ezért megvizsgáltuk, hogy a palmitát kezelés hogyan befolyásolja a BMDM-ek életképességét. Eredményeink azt mutatták, hogy az általunk használt palmitát koncentrációk nem csökkentették szignifikánsan a BMDM-ek életképességét.

Mivel az efferocitózis első lépése *in vitro* körülmények között az „egyél meg” szignálok általi felismerés (Park, 2017), úgy gondoltuk, hogy a palmitát befolyásolhatja az apoptotikus sejtek felismerésében résztvevő receptorok kifejeződését BMDM-ekben. Ennek bizonyítására a BMDM-eket palmitáttal kezeltük, és megvizsgáltuk néhány

fagocitózisban résztvevő gén expresszióját. Eredményeink azt mutatták, hogy a palmitát nem befolyásolta ezen gének kifejeződését. Egy gén, a zsírsavak felvételében is résztvevő CD36 esetében találtunk szignifikáns növekedést.

A nagy mennyiségű zsírsav felvétele által a BMDM-ek energiaterhelése is fokozódik, ezért megvizsgáltuk, hogy a palmitát hogyan hat az energiaérzékelő útvonalakra, illetve, hogy az energiaérzékelő útvonalak befolyásolhatják-e az elhalt sejtek fagocitózisának kapacitását. A palmitát kezelés csökkentette az AMPK aktivitását a BMDM-ekben, amely a sejtek fő energiaérzékelő fehérjéje, és energiatöbblet esetén csökkent aktivitást mutat (Steinberg és Kemp, 2009). Eredményeink egyezést mutattak a Sun és munkatársai által végzett tanulmánnyal, melyben kimutatták, hogy a palmitát gátolhatja az AMPK aktivitást (Sun és mtsai, 2008). Az AICAR az AMPK ismert aktivátora (Kim és mtsai, 2016), ezért megvizsgáltuk, hogy az AMPK aktiválásával alacsony energiaszintet indukálva lehetséges-e fokozni a fagocitózist. Az AMPK aktiválásával valóban képesek voltunk a palmitát efferocitózisra gyakorolt negatív hatását ellensúlyozni, és fokozni a BMDM-ek apoptotikus sejtfevételét.

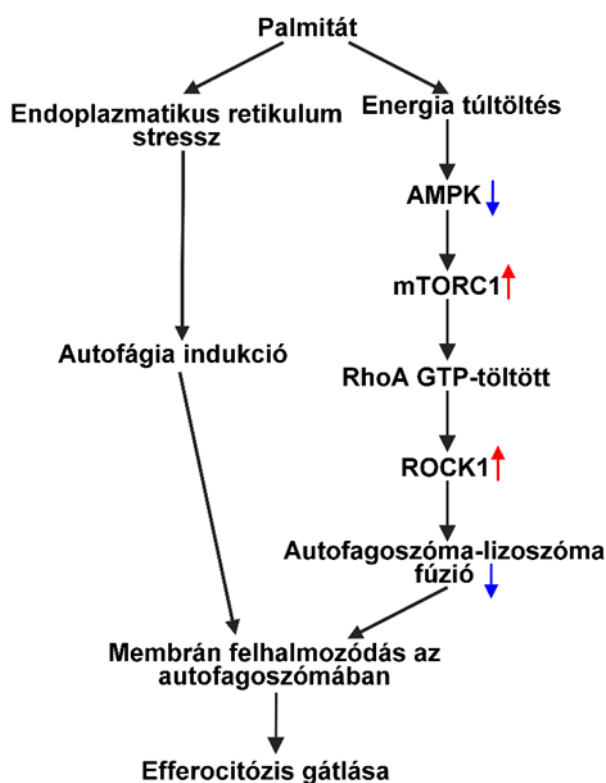
Az AMPK-ról ismert, hogy hatásainak egy részét az mTOR aktivitásának szabályozásán keresztül fejteti ki (Inoki és mtsai, 2012), ezért megvizsgáltuk, hogy hogyan befolyásolja a palmitát az mTOR aktivitását a BMDM-ekben. A palmitát kezelés szignifikánsan fokozta az mTORC1 aktivitást, azonban az mTORC2 aktivitást nem befolyásolta. Az eredményeinket alátámasztja azon tanulmány, amelyben a palmitát szintén fokozta az mTORC1 aktivitást mioblasztokban (Kwon és Querfurth, 2015). Az AMPK-hoz hasonlóan szeretnénk volna megtudni, hogy az mTORC1 gátlása rapamycinnel, az mTORC1 szelektív inhibitorával (Ballou és Lin, 2008), fokozza-e az efferocitózist. Az mTORC1 gátlásával a palmitát-kezelt BMDM-ekben képesek voltunk szignifikánsan fokozni az efferocitózist.

Mivel a palmitát nem a fagocitózisban résztvevő gének expressziós szintjeinek befolyásolásán keresztül fejtette ki hatását, megvizsgáltuk az efferocitózis jelátviteli útvonalakra gyakorolt hatását. A palmitát szignifikánsan fokozta a BMDM-ekben a RhoA aktivitást, amely az efferocitózis negatív szabályozója (Kim és munkatársai, 2017). Egyúttal az mTORC1 inhibitor rapamycin viszont gátolta a RhoA aktivitást. A palmitát által kiváltott efferocitózis gátlásban a RhoA útvonal szerepét bizonyítja, hogy palmitát kezelés hatására fokozott ROCK1 aktivitást detektáltunk, amely rapamycin kezelés

hatására csökkent. Ezt követően megvizsgáltuk, hogy lehetséges-e az efferocitózis fokozása a RhoA gátlásán keresztül. A makrofágok Y27632, egy specifikus RhoA inhibitor, kezelésével sikeresen visszafordítottuk a palmitát efferocitózisra gyakorolt gátló hatását. Ezen eredmények alapján arra következtethetünk, hogy az mTORC1 részt vesz a RhoA/ROCK1 jelátviteli útvonal szabályozásában.

Az AMPK és az mTOR jelátviteli útvonal fontos szabályozója az autofágiának és számos ponton átfednek az efferocitózis jelátviteli útvonalával, azonban az mTORC1 útvonal nem mutat átfedést az LC3 mediált fagocitózissal (Teplova és mtsai, 2013; Heckmann és mtsai, 2017), ezért megvizsgáltuk a palmitát autofágiára gyakorolt hatását. A palmitát az AMPK/mTORC1 útvonal aktiválásával képes gátolni az autofágiát több ponton is (Woodworth-Hobbs és mtsai, 2017), egyik ilyen az autofagoszóma lizoszóma fúzió gátlása, amely az AMPK-n (Jang és mtsai, 2017) és az mTOR-on keresztül is megvalósulhat (Huang és mtsai, 2021). A palmitát azonban ER stresszt (Schilling és mtsai, 2013), és az ER stresszen keresztül egy az mTORC1 által nem szabályozott autofágiás folyamat aktiválódását is eredményezi (Woodworth-Hobbs és mtsai, 2017). Az ER által aktivált autofágia, és az mTORC1 útvonal által gátolt autofagoszóma/lizoszóma fúzió az autofagoszómák felhalmozódásához vezet palmitátnak kitett makrofágokban, amelyet az LC3-II és a p62 mennyiségének felhalmozódásán keresztül érzekeltünk (Kabeya és mtsai, 2000). Az mTORC1 útvonal gátlása AICAR, rapamycin, Y-27632 segítségével a BMDM-ekben képes volt feloldani a palmitát hatására bekövetkező autofagoszóma/lizoszóma fúzió gátlást, elindult a lizoszomális lebontás, amit a p62 szintek csökkenésén keresztül detektáltunk.

Mivel a fagocitózis folyamata során a bekebelezett sejtet körülvevő membránt pótolni kell, azok az endoszómákból és a lizoszómákból kerülnek újrahasznosításra (Hackam és mtsai, 1998; Czibener és mtsai, 2006). Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy a palmitát efferocitózis gátló hatása annak köszönhető, hogy a palmitát kezelés hatására bekövetkező defektív autofágia miatt nem áll rendelkezésre elegendő membrán a fagocitózis zavartalan folyamatához. De elképzelhető az is, hogy az aktivált mTORC1 útvonal a fagoszómák és a lizoszómák fúzióját is gátolja, mert a két folyamatban sok azonos fehérje vesz részt (20. ábra).



20. ábra A palmitát BMDM efferocitózisra gyakorolt gátló hatásának mechanizmusa. A palmitát egyrészt ER stressz kiváltásán keresztül mTORC1 által nem szabályozott autofágiát indukál, másrészt energiataralma révén aktiválja az AMP kináz által szabályozott mTORC1 jelátviteli útvonalat, amely a ROCK fehérje aktiválásán keresztül gátolja az autofagoszóma/lizoszóma fúziót (és talán a fagoszóma /lizoszóma fúziót is). A membránok autofagoszómaiban történő felhalmozódása miatt nem lesz elég sejtmembrán, ami a fagocitózishoz szükséges lamellopódiákat kialakíthatná. AMPK–adenozin-monofoszfát aktivált protein kináz, mTORC1–emlős rapamycin célpont komplex 1, GTP –guanozin-trifoszfát, ROCK1–Rho-asszociált protein kináz 1

Az AMPK aktivátorokat jelenleg is alkalmazzák az elhízás kezelésében elsősorban az anyagcserére gyakorolt számos kedvező hatásuk miatt (Zhou és mtsai, 2018). Eredményeink azt mutatják, hogy az AMPK aktiválása emellett elhízott emberekben képes lehet a csökkent efferocitózist kompenzálni, ezáltal hozzájárulni az AMPK aktiválásával kiváltott jól ismert kedvező metabolikus hatásokhoz (Mohseni és mtsai, 2023). Eredményeink továbbá azt is mutatják, hogy a ROCK inhibitorok alkalmazása is elősegítheti az elhízáshoz kapcsolt csökkent efferocitózis javítását. A vizsgálatokat makrofágokon végeztük, azonban az általunk talált palmitát hatások más

sejttípusokra is érvényesek lehetnek. Hepatocitákban például a palmitát szintén az mTORC1 (Mordier és Iynedjian, 2007) és a ROCK1 (Huang és mtsai, 2018) aktiválásához vezet. Disszertációm első részének eredményeit összefoglalva elmondható, hogy AMPK aktivátorok vagy a ROCK inhibitorok kedvező hatásúak lehetnek a lipotoxicitás kezelésében a defektív autofágia javításán keresztül, amelynek oka a szabad telített zsírsavak felhalmozódása a sejtekben.

Disszertációm második részében a Mer tirozin-kináz zsírszöveti homeosztázisban betöltött szerepét vizsgáltam. A Mer a szöveti, valamint az M2 fenotípusú makrofágokban fejeződik ki nagy mértékben. E sejtekben mind az efferocitózis, mind a gyulladásgátlás indításának meghatározó molekulája (Felton és mtsai, 2018). Zsírszöveti makrofágokban az adipocitákból felszabaduló PS-pozitív, lipid tartalmú extracelluláris vezikulák átvételében is szerepet játszhat (Mulcahy és mtsai, 2014). Munkánk kezdetén azt feltételeztük, hogy a Mer részt vesz a magas zsírtartalmú étrend által kiváltott elhízás és gyulladás elleni védelemben, így a hiánya következtében fokozott elhízás, gyulladás, illetve inzulinrezisztencia alakulhat ki. Már az első kísérletünkben, amelyben ND és HFD étrenden tartott vad típusú és Mer^{-/-} egereket hasonlítottunk össze meglepő módon, a hipotézisünkkel ellentétesen, azt találtuk, hogy a Mer^{-/-} egerek HFD étrend esetében kisebb mértékű elhízást mutatnak a vad típusú társaikhoz képest. Ez megmutatkozott a gWAT tömegében, illetve a fehér zsírsejtek méretében, valamint a BMI-ben is. Mer^{-/-} egereknél sem a gWAT tömege, sem a zsírsejtek mérete nem növekedett szignifikánsan HFD étrend hatására. Ezen eredményekkel összhangban a HFD étrenden tartott Mer^{-/-} egerek gonadális zsírszövetében nem figyeltünk meg sem fokozott proinflammatorikus citokin expressziót, sem pedig megváltozott adipokin termelést. Ezzel ellentétben, a vad típusú egereknél az irodalmi adatoknak megfelelően, szignifikánsan nőtt az MCP-1, TNF- α , IL-6 expresszió, amely az elhízás következményeként kialakult fokozott gyulladásra utal (Ellulu és mtsai, 2016), továbbá a rezisztin és leptin mRNS mennyisége is növekedett, míg az adiponektin szintek szignifikánsan csökkentek. Mindezek a változások az adipokin termelés egyensúly felborulásának következményei (Kirichenko és mtsai, 2022). Ezen eredmények azt mutatják, hogy Mer hiányában sem fehér zsírszöveti hipertrófia, sem az ezzel összefüggésbe hozható gyulladás és adipokin termelődési zavar nem alakul ki a zsírszövetben.

Az elhízás gyakran társul nem alkoholos zsírmájjal, metabolikus szindrómával és inzulinrezisztenciával (Nogueira és mtsai, 2024), ezért megvizsgáltuk, hogy hogyan hat

a Mer hiánya ezen szövődmények kialakulására. HFD étrend hatására a vad típusú egerekben megfigyelhető volt a máj elzsírosodása, melyet a májtömeg növekedése, a máj fokozott trigliceridtartalma mutatott, illetve ezt a szövettani vizsgálat is megerősítette. Az inzulinrezisztencia vizsgálatok azt mutatták, hogy a HFD étrenden tartott vad típusú egerekben inzulin rezisztencia alakult ki, amelyhez kompenzatorikus szérumszint növekedés társult. Ezzel ellentétben, a Mer^{-/-} egerekben sem zsírmáj, sem inzulinrezisztencia nem alakult ki, amely azt bizonyítja, hogy a Mer hiánya véd az elhízás következményeként megjelenő zsírmáj és inzulinrezisztencia kialakulásával szemben is.

Mivel a kapott eredmények a várt eredményekkel ellentétesek voltak, megvizsgáltuk, hogy az általunk tapasztalt Mer hiányában kialakuló elhízással szembeni védőhatást vajon a csontvelő-eredetű sejtek, vagy más sejtek Mer hiánya okozza-e. Ennek vizsgálatához vad típusú és Mer^{-/-} egerekben sugárzással elpusztítottuk a csontvelőt és csontvelő átültetést végeztünk vad típusú vagy Mer^{-/-} egerekből. Habár a besugárzott egerek a nem besugárzott egerekhez képest kisebb súlygyarapodást mutattak a besugárzás következményeként, így is látható volt, hogy a Mer hiánya a hematopoietikus sejtekben nem védett a HFD étrend által kiváltott súlygyarapodással szemben. Sőt, ha a Mer a hematopoietikus sejtekből hiányzott, mind ND-n, mind HFD-n a vad típusú egereknél nagyobb gWAT-ot és zsírsejteket detektáltunk. Ezek az eredmények eredeti hipotézisünket támasztották alá, hogy a Mer a makrofágokban kifejeződve pozitívan hat a zsírszöveti homeosztázis fenntartására.

Abban az esetben azonban, ha a Mer a nem hematopoietikus sejtekből hiányzott, az egerek védettek voltak a HFD étrend által kiváltott súlygyarapodástól, legalábbis az etetési időszak elején. Ezt megerősítette a gWAT tömege, a zsírsejtek mérete és a máj triacilglicerol tartalma is. Azok az egerek, amelyekben a Mer a nem hematopoietikus sejtekből hiányzott, szignifikánsabban kisebb gWAT tömeget mutattak, a zsírsejtek nagysága is kisebb volt, valamint a máj triacilglicerol tartalma is alacsonyabb volt, mint azoknál az egereknél, ahol a Mer a hematopoietikus sejtekből hiányzott. Az inzulinrezisztencia azonban ilyen mértékű súlygyarapodásnál még nem alakult ki egyik egércsoportban sem. Ezen eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a Mer hiánya a nem hematopoietikus sejtekben ND és HFD étrenden is megváltozott zsírszöveti hipertrófiához vezet.

A már nem általán végzett további kísérletekben munkatársaim kimutatták, hogy a Mer az adipocitákon is kifejeződik, hogy a fehér zsírsejtekben fokozza a hipertrófiát, míg a barna zsírsejtekben hőtermelést gátló hatása van (Köröskényi és mtsai, 2024). Ezen hatások elmaradása Mer^{-/-} egerekben olyannyira meghatározza a felvett energia sorsát az elégetés irányába tolva azt, hogy még HFD-n sem alakul ki a fehér zsírsejtekben hipertrófia. Ezért az adipocita Mer^{-/-} fenotípus eltakarja a makrofág Mer^{-/-} fenotípus jellemzőit olyan egerekben, ahol a Mer a teljes szervezetben hiányzik.

A Mer tirozin kináz mellett csoportunk detektálta a másik két TAM kináz kifejeződését is adipocitákban (Köröskényi és mtsai, 2024). A Tyro3 szerepét még nem vizsgálták adipocitákon, de az Axl szerepét igen (Efthymiou és mtsai, 2023). Érdekes módon ezek a vizsgálatok a barna zsírsejtek (Perdikari és mtsai, 2017) differenciációját szabályozó kinázok kereséséből indultak el, és azt találták, hogy az Axl a Mer tirozin kinázhoz hasonlóan gátolja a barna zsírszövet hőtermelését, és eredményeinkhez hasonlóan az Axl hiánya is védett a HFD indukálta elhízással szemben (Efthymiou és mtsai, 2023). Ezek a vizsgálatok nem tesztelték az Axl lehetséges szerepét egér gonadális zsírsejteken. Az Axl esetében azonban kimutatták az Axl kifejeződését humán fehér zsírsejteken, sőt a szubkután zsírsejtek fokozott Axl kifejeződését találták elhízott egyéneknél (Skopková és mtsai, 2007).

Ezek a vizsgálatok nem tesztelték a Mer zsírszövetbeli kifejeződését, de genetikai vizsgálatok arra utalnak, hogy a Mer tirozin kináz loss-of-function rs4374383 G > A variánsa esetén kifejezettebb zsír oxidáció és fokozott inzulin érzékenység mutatható ki. Emellett az eredetileg egészséges, nem túlsúlyos, nem diabeteses, inzulin érzékeny egyéneknél a MERTK G > A variáns védelmet biztosított a nem alkoholos zsírmáj kialakulásával és súlyosságával, és a 2-es típusú diabetes kialakulásával szemben 9 éven keresztül követve (Musso és mtsai, 2017). Ezek az adatok arra utalnak, hogy az egérben találtakhoz hasonlóan a Mer funkció csökkenése az emberi szervezetben is véd az elhízással, illetve az elhízáshoz kapcsolódó patológiás történések kialakulásával szemben.

Eredményeim azt mutatják, hogy ugyanazon receptor két sejt típusban kifejeződve is szabályozza a zsírhómeosztázist. A zsírszöveti makrofágokban hatva, amely vizsgálataimnak elsődleges fókusz volt, hozzájárul a zsírhómeosztázis fenntartásához, és védelmet nyújt az elhízással szemben. Ebben mindegyik makrofágokon már ismert

hatása részt vehet. Azaz segíti a normális szöveti turnover kapcsán elhaló adipociták eltakarítását, aktivációja gyulladásgátlást eredményez, és átveheti a felesleges zsírt az adipocitáktól, csökkentve azok felhalmozódó zsírtartalmát. A Mer aktivációját nemcsak az apoptotikus sejtekkel történő interakció, hanem ligandjainak - Protein S és Gas6 - kötődése is elősegítheti (Lemke 2013). Érdekes módon, mind a makrofágok, mind a zsírsejtek képesek ezen ligandok termelésére. Így izgalmas lehet, hogy nyugalmi körülmények között mely sejt által termelt ligand az, amely a Mer aktivitását szabályozza. Jelen vannak-e ezek a ligandok már a zsírsejtek által kibocsájtott vezikulákon is előkészítve azokat a Mer általi felvételre? Vagy a makrofág Mer-en helyezkednek el? HFD esetén azonban a szöveti makrofágok helyét a beáramló gyulladássalos makrofágok foglalják el. Ezek nem a Mer, hanem az ugyancsak a TAM kináz családba tartozó Axl tirozin-kinázt fejezik ki (Zagórska és mtsai, 2014). Így a HFD által kiváltott zsírszöveti gyulladás regulációjában a makrofág Mer valószínűleg nem vesz részt. Az a tény azonban, hogy teljes hiánya véd a elhízás kialakulásával szemben, a Mer tirozin-kinázt egy lehetséges elhízást befolyásolható támadáspontként jelöli ki.

Összefoglalóan disszertációmban két az elhízáshoz kapcsolódó makrofág efferocitózis viselkedést vizsgáltam, és mindkét vizsgálat jelölt ki olyan potenciális molekulákat, melyek működésének szabályozásával az elhízás, illetve az elhízáshoz kapcsolódó szövődmények befolyásolhatóak lehetnek.

9. Összefoglalás

Az elhízás gyakran társul krónikus alacsony szintű gyulladással. Ennek oka a zsírsejtek folyamatos növekedése (hipertrófiája) és következményes fokozott sejthalála, amely csontvelői eredetű makrofágokat vonz be. A kilépő makrofágok e lipid gazdag sejteket felvéve gyulladással irányba alakulnak. Kutatások azt mutatják, hogy elhízásban csökkent a makrofágok apoptotikus sejt eltakarítási képessége, amelynek oka a vérben keringő szabad zsírsavak megnövekedett szintje. A szabad zsírsavak, mint például a palmitát képes befolyásolni a makrofágok efferocitózist. Disszertációmban azt vizsgáltam, hogy a palmitát milyen mechanizmusokon keresztül fejt ki gátló hatását a makrofágok efferocitózisára, továbbá vizsgáltam azt is, hogy egy a makrofágok által kifejezett, fagocitózisban résztvevő receptor a Mer tirozin kináz hiánya milyen metabolikus következményekkel jár az elhízásban.

Eredményeim azt mutatják, hogy a palmitát dózisfüggő módon gátolja a csontvelő-eredetű makrofágok (BMDM-ek) efferocitózist. A palmitát egyrészt fokozza az autofágiát, másrészt aktiválja az AMPK/mTORC1/ROCK1 energiaérzékelő jelátviteli útvonalat, amely gátolja az autofagoszóma-lizoszóma fúziót. Az autofagoszóma-lizoszóma fúzió gátlásának következtében a sejtmembránok felhalmozódnak az autofagoszómomákban. Feltételezésünk szerint a palmitátnak kitett BMDM-ekben az efferocitózis gátlását az okozza, hogy nem áll rendelkezésre elegendő plazmamembrán az efferocitózis folyamatának zavartalan működéséhez. Vizsgálataink alapján az AMPK aktivátorok mTORC1 gátláshoz vezettek és ezáltal a palmitát által kiváltott efferocitózis gátlás feloldásra került. Eredményeim arra utalnak, hogy az AMPK aktivátorok hasznosnak bizonyulhatnak az elhízás kezelésében nem csak a metabolizmusra gyakorolt kedvező hatásuk miatt.

A Mer tirozin kináz esetében feltételeztük, hogy makrofágokon efferocitózis receptorként működve részt vesz az elhízás elleni védelemben. Meglepetésünkre a Mer^{-/-} egerek védettek voltak a magas zsírtartalmú diéta (HFD) által kiváltott elhízás, és az ehhez kapcsolódó gyulladás kialakulásával szemben. Mer hiányában HFD étrend hatására nem alakult ki sem zsírmáj, sem inzulinrezisztencia. A csontvelőtranszplantációs kísérletek viszont azt mutatták, hogy ezért a fenotípusért a nem hematopoietikus sejtek (zsírsejtek) által expresszált Mer felelős. A hematopoietikus sejtekben hiányzó Mer

azonban valóban fokozott zsírraktározást eredményezett mind normál diéta (ND), mind HFD étrenden tartott egerekben. Ezt azonban az adipocita Mer hiány elfedte. Az eredmények összessége arra utal, hogy a Mer aktivitásának szabályozása is gyógyszerként lehet a testsúly szabályozásában.

10. Summary

Obesity is frequently associated with chronic low-grade inflammation. This is due to the continuous expansion of adipose tissue, and the consequently increased cell death of hypertrophic adipocytes. This induces transmigration of bone marrow-derived macrophages into the adipose tissue, which develop into inflammatory direction in the lipid rich environment. Previous reports have shown that the clearance of apoptotic cells is decreased in obesity due to elevated levels of circulating free fatty acids, such as palmitate, in the blood. In my dissertation, the inhibitory effect of palmitate on macrophage efferocytosis, and the metabolic consequences of the absence of Mer tyrosine kinase (an efferocytosis receptor expressed by macrophages) in obesity, were investigated.

My results demonstrate that palmitate inhibits the efferocytosis of bone marrow-derived macrophages (BMDMs) in a dose-dependent manner. Palmitate, on one hand, enhances autophagy, on the other hand, activates an mTORC1/ROCK1 signaling pathway which inhibits autophagosome-lysosome fusion. As a result, in palmitate-exposed macrophages cell membranes accumulate in the autophagosomes. We hypothesize that the inhibition of efferocytosis in BMDMs exposed to palmitate is related to the lack of sufficient plasma membrane availability for the undisturbed functioning of the efferocytosis process. Our studies suggest that AMP-activated protein kinase activators leading to mTORC1 inhibition or ROCK1 inhibitors are able to reverse the palmitate-induced inhibition of efferocytosis. From our results, we conclude that AMP-activated protein kinase activators may be useful in the treatment of obesity, not only due to their known beneficial effects on metabolism.

In the case of Mer tyrosine kinase, we hypothesized that it provides protection against obesity. In striking contrast we found that Mer-deficient mice are protected against high fat diet (HFD)-induced obesity and the associated inflammation. In the absence of Mer, HFD feeding did not lead to the development of fatty liver or insulin resistance either. Bone marrow transplantation experiments revealed that Mer expressed by non-hematopoietic cells (adipocytes) is responsible for this phenotype. If Mer was missing only from the hematopoietic cells, however, indeed resulted in increased fat storage in the mice kept on both normal diet (ND) and HFD. This phenotype, however, was suppressed

by the loss of Mer in adipocytes. Our data altogether indicate that targeting Mer could be an effective strategy for treating obesity.

11. Irodalomjegyzék

Achari AE, Jain SK. 2017.

Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction.
Int J Mol Sci. 18(6), 1321.

Acquarone E, Monacelli F, Borghi R, Nencioni A, Odetti P. 2019.

Resistin: A reappraisal.
Mech Ageing Dev. 178, 46-63.

Ahima RS, Osei SY. 2008.

Adipokines in obesity.
Front Horm Res. 36, 182-197.

Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M, Evans RM. 2013.

PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future.
Nat Med. 19(5), 557-566.

Alkhoury N, Gornicka A, Berk MP, Thapaliya S, Dixon LJ, Kashyap S, Schauer PR,
Feldstein AE. 2010.

Adipocyte apoptosis, a link between obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis.
J Biol Chem. 285(5), 3428-3438.

Althafer AR. 2022.

An Overview of Hormone-Sensitive Lipase (HSL).
ScientificWorld Journal. 1964684.

Altinova AE. 2022.

Beige Adipocyte as the Flame of White Adipose Tissue: Regulation of Browning and
Impact of Obesity.
J Clin Endocrinol Metab. 107(5), e1778-e1788.

Al-Zaeed N, Budai Z, Szondy Z, Sarang Z. 2021.

TAM kinase signaling is indispensable for proper skeletal muscle regeneration in mice.
Cell Death Dis. 12(6), 611.

An SM, Cho SH, Yoon JC. 2023.

Adipose Tissue and Metabolic Health.
Diabetes Metab J. 47(5), 595-611.

Andersson O, Korach-Andre M, Reissmann E, Ibáñez CF, Bertolino P. 2008.

Growth/differentiation factor 3 signals through ALK7 and regulates accumulation of
adipose tissue and diet-induced obesity.
Proc Natl Acad Sci U S A. 105(20), 7252-7256.

- Aprile M, Ambrosio MR, D'Esposito V, Beguinot F, Formisano P, Costa V, Ciccodicola A. 2014.
PPARG in Human Adipogenesis: Differential Contribution of Canonical Transcripts and Dominant Negative Isoforms.
PPAR Res. 537865.
- Arandjelovic S, Ravichandran KS. 2015.
Phagocytosis of apoptotic cells in homeostasis.
Nat Immunol. 16(9), 907-17.
- Axelrod H, Pienta KJ. 2014.
Axl as a mediator of cellular growth and survival.
Oncotarget. 5(19), 8818-8852.
- Ballou LM, Lin RZ. 2008.
Rapamycin and mTOR kinase inhibitors.
J Chem Biol. 1(1-4), 27-36.
- Barnes, P., Burney, P., Silverman, E. et al. 2015.
Chronic obstructive pulmonary disease.
Nat Rev Dis Primers. 1, 15076.
- Benomar Y, Gertler A, De Lacy P, Crépin D, Ould Hamouda H, Riffault L, Taouis M. 2012.
Central resistin overexposure induces insulin resistance through Toll-like receptor 4.
Diabetes. 62(1), 102-114.
- Beylot M, Neggazi S, Hamlat N, Langlois D, Forcheron F. 2012.
Perilipin 1 ablation in mice enhances lipid oxidation during exercise and does not impair exercise performance.
Metabolism. 61(3), 415-423.
- Boullier A, Bird DA, Chang MK, Dennis EA, Friedman P, Gillotre-Taylor K, Hökkö S, Palinski W, Quehenberger O, Shaw P, Steinberg D, Terpstra V, Witztum JL. 2001.
Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis.
Ann N Y Acad Sci. 947, 214-223.
- Bortolami M, Comparato A, Benna C, Errico A, Maretto I, Pucciarelli S, Cillo U, Farinati F. 2020.
Gene and protein expression of mTOR and LC3 in hepatocellular carcinoma, colorectal liver metastasis and "normal" liver tissues.
PLoS One. 15(12), e0244356.
- Boutari C, Mantzoros CS. 2022.
A 2022 update on the epidemiology of obesity and a call to action: as its twin COVID-19 pandemic appears to be receding, the obesity and dysmetabolism pandemic continues to rage on.
Metabolism. 133, 155217.

- Bozulic, L.; Hemmings, B.A. 2009.
PIKKing on PKB: Regulation of PKB activity by phosphorylation.
Curr. Opin. Cell Biol. 21, 256–261.
- Braulke T, Carette JE, Palm W. 2024.
Lysosomal enzyme trafficking: from molecular mechanisms to human diseases.
Trends Cell Biol. 34(3), 198-210.
- Brinkman JE, Tariq MA, Leavitt L, et al. *Physiology, Growth Hormone.* 2023.
StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;
- Budai Z, Ujlaky-Nagy L, Kis GN, Antal M, Bankó C, Bacsó Z, Szondy Z, Sarang Z.
2019.
Macrophages engulf apoptotic and primary necrotic thymocytes through similar
phosphatidylserine-dependent mechanisms.
FEBS Open Bio. 9(3), 446-456.
- Burrell JA, Boudreau A, Stephens JM. 2020.
Latest advances in STAT signaling and function in adipocytes.
Clin Sci (Lond). 134(6), 629-639.
- Cai Y, Teo BH, Yeo JG, Lu J. 2015.
C1q protein binds to the apoptotic nucleolus and causes C1 protease degradation of
nucleolar proteins.
J Biol Chem. 290(37), 22570-22580.
- Camenisch TD, Koller BH, Earp HS, Matsushima GK. 1999.
A novel receptor tyrosine kinase, Mer, inhibits TNF-alpha production and
lipopolysaccharide-induced endotoxic shock.
J Immunol. 162(6), 3498-3503.
- Canton J. 2014.
Phagosome maturation in polarized macrophages.
J Leukoc Biol. 96(5), 729-738.
- Carrel AL, Allen DB. 2000.
Effects of growth hormone on adipose tissue.
J Pediatr Endocrinol Metab. 13 Suppl 2, 1003-1009.
- Cero C, Shu W, Reese AL, Douglas D, Maddox M, Singh AP, Ali SL, Zhu AR, Katz JM,
Pierce AE, Long KT, Nilubol N, Cypess RH, Jacobs JL, Tian F, Cypess AM. 2023.
Standardized In Vitro Models of Human Adipose Tissue Reveal Metabolic Flexibility in
Brown Adipocyte Thermogenesis.
Endocrinology. 164(12), bqad161.
- Chakrabarti P, Kim JY, Singh M, Shin YK, Kim J, Kumbrink J, Wu Y, Lee MJ, Kirsch
KH, Fried SK, Kandror KV. 2013.
Insulin inhibits lipolysis in adipocytes via the evolutionarily conserved mTORC1-Egr1-

- ATGL-mediated pathway.
Mol Cell Biol. 33(18), 3659-3666.
- Christenson SA, Smith BM, Bafadhel M, Putcha N. 2022.
Chronic obstructive pulmonary disease.
Lancet. 399(10342), 2227-2242.
- Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, Wang S, Fortier M, Greenberg AS, Obin MS. 2005
Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans.
J Lipid Res. 46(11), 2347-2355.
- Cockram TOJ, Dundee JM, Popescu AS, Brown GC. 2021.
The Phagocytic Code Regulating Phagocytosis of Mammalian Cells.
Front Immunol. 12, 629979.
- Czibener C, Sherer NM, Becker SM, Pypaert M, Hui E, Chapman ER, Mothes W, Andrews NW. 2006.
Ca²⁺ and synaptotagmin VII-dependent delivery of lysosomal membrane to nascent phagosomes.
J Cell Biol. 174(7), 997-1007.
- Desgrouas C, Thalheim T, Cerino M, Badens C, Bonello-Palot N. 2024.
Perilipin 1: a systematic review on its functions on lipid metabolism and atherosclerosis in mice and humans.
Cardiovasc Res. 120(3), 237-248.
- Díaz M, Campderrós L, Guimaraes MP, López-Bermejo A, de Zegher F, Villarroya F, Ibáñez L. 2020.
Circulating growth-and-differentiation factor-15 in early life: relation to prenatal and postnatal growth and adiposity measurements.
Pediatr Res. 87(5), 897-902.
- Dossou AS, Basu A. 2019.
The Emerging Roles of mTORC1 in Macromanaging Autophagy.
Cancers (Basel). 11(10), 1422.
- Dransfield I, Zagórska A, Lew ED, Michail K, Lemke G. 2015.
Mer receptor tyrosine kinase mediates both tethering and phagocytosis of apoptotic cells.
Cell Death Dis. 6(2), e1646.
- Dufau J, Shen JX, Couchet M, De Castro Barbosa T, Mejhert N, Massier L, Grisetti E, Mouisel E, Amri EZ, Lauschke VM, Rydén M, Langin D. 2021.
In vitro and ex vivo models of adipocytes.
Am J Physiol Cell Physiol. 320(5), C822-C841.

- Eddy AC, Trask AJ. 2020.
Growth differentiation factor-15 and its role in diabetes and cardiovascular disease.
Cytokine Growth Factor Rev. 57, 11-18.
- Efthymiou V, Ding L, Balaz M, Sun W, Balazova L, Straub LG, Dong H, Simon E, Ghosh A, Perdikari A, Keller S, Ghoshdastider U, Horvath C, Moser C, Hamilton B, Neubauer H, Wolfrum C. 2023.
Inhibition of AXL receptor tyrosine kinase enhances brown adipose tissue functionality in mice.
Nat Commun 14, 4162.
- Eguchi A, Feldstein AE. 2014.
Adipocyte cell death, fatty liver disease and associated metabolic disorders.
Dig Dis. 32(5), 579-585.
- Eken C, Martin PJ, Sadallah S, Treves S, Schaller M, Schifferli JA. 2010.
Ectosomes released by polymorphonuclear neutrophils induce a MerTK-dependent anti-inflammatory pathway in macrophages.
J Biol Chem. 285(51), 39914-39921.
- Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. 2017.
Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications.
Arch Med Sci. 13(4),851-863.
- Engin A. 2017.
Non-Alcoholic Fatty Liver Disease.
Adv Exp Med Biol. 960, 443-467.
- Fadok VA, Bratton DL, Henson PM. 2001.
Phagocyte receptors for apoptotic cells: recognition, uptake, and consequences.
J Clin Invest. 108(7), 957-962.
- Fahed G, Aoun L, Bou Zerdan M, Allam S, Bou Zerdan M, Bouferraa Y, Assi HI. 2022.
Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021.
Int J Mol Sci. 23(2), 786.
- Felton JM, Lucas CD, Dorward DA, Duffin R, Kipari T, Vermeren S, Robb CT, MacLeod KG, Serrels B, Schwarze J, Haslett C, Dransfield I, Rossi AG. 2018.
Mer-mediated eosinophil efferocytosis regulates resolution of allergic airway inflammation.
J Allergy Clin Immunol. (6), 1884-1893.
- Feng S, Reuss L, Wang Y. 2016.
Potential of Natural Products in the Inhibition of Adipogenesis through Regulation of PPAR γ Expression and/or Its Transcriptional Activity.
Molecules. 21(10), 1278.
- Fernandez-Boyanapalli R, Goleva E, Kolakowski C, Min E, Day B, Leung DY, Riches DW, Bratton DL, Sutherland ER. 2013.

- Obesity impairs apoptotic cell clearance in asthma.
J Allergy Clin Immunol. 131(4),1041-1047.
- Ferrera MC, Labaki WW, Han MK. 2021.
Advances in Chronic Obstructive Pulmonary Disease.
Annu Rev Med. 72, 119-134.
- Flaherty SE 3rd, Grijalva A, Xu X, Ables E, Nomani A, Ferrante AW Jr. 2019.
A lipase-independent pathway of lipid release and immune modulation by adipocytes.
Science. 363(6430), 989-993.
- Gardai SJ, McPhillips KA, Frasch SC, Janssen WJ, Starefeldt A, Murphy-Ullrich JE, Bratton DL, Oldenborg PA, Michalak M, Henson PM. 2005.
Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte.
Cell. 123(2), 321-334.
- Gołacki J, Matuszek M, Matyjaszek-Matuszek B. 2022.
Link between Insulin Resistance and Obesity-From Diagnosis to Treatment.
Diagnostics (Basel). 12(7), 1681.
- Goodarzi MO. 2018.
Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications.
Lancet Diabetes & Endocrinology, 6(3), 223-236.
- Gregor MF & Hotamisligil GS. 2007.
Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease.
J Lipid Res 48(9), 1905-1914.
- Gremese E, Tolusso B, Gigante MR, Ferraccioli G. 2014.
Obesity as a risk and severity factor in rheumatic diseases (autoimmune chronic inflammatory diseases).
Front Immunol. 5, 576.
- Guan X, Wang Y, Li W, Mu W, Tang Y, Wang M, Seyam A, Yang Y, Pan L, Hou T. 2024.
The Role of Macrophage Efferocytosis in the Pathogenesis of Apical Periodontitis.
Int J Mol Sci. 25(7), 3854.
- Gustafson B, Gogg S, Hedjazifar S, Jenndahl L, Hammarstedt A, Smith U. 2009.
Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man.
Am J Physiol Endocrinol Metab. 297, E999–E1003.
- Gutierrez MG. 2013.
Functional role(s) of phagosomal Rab GTPases.
Small GTPases. 4(3), 148-158.

- Hackam DJ, Rotstein OD, Sjolín C, Schreiber AD, Trimble WS, Grinstein S. 1998.
v-SNARE-dependent secretion is required for phagocytosis.
Proc Natl Acad Sci U S A. 95(20), 11691-11696.
- Hafizi S, Dahlbäck B. 2006.
Gas6 and protein S. Vitamin K-dependent ligands for the Axl receptor tyrosine kinase subfamily.
FEBS J. 273(23), 5231-5244.
- Haka AS, Barbosa-Lorenzi VC, Lee HJ, Falcone DJ, Hudis CA, Dannenberg AJ, Maxfield FR. 2016.
Exocytosis of macrophage lysosomes leads to digestion of apoptotic adipocytes and foam cell formation.
J Lipid Res. 57(6), 980-992.
- Han J, Kaufman RJ. 2016.
The role of ER stress in lipid metabolism and lipotoxicity.
J Lipid Res. 57(8), 1329-1338.
- Harrison RE, Bucci C, Vieira OV, Schroer TA, Grinstein S. 2003.
Phagosomes fuse with late endosomes and/or lysosomes by extension of membrane protrusions along microtubules: role of Rab7 and RILP.
Mol Cell Biol. 23(18),6494-6506.
- Hawley SA, Davison M, Woods A, Davies SP, Beri RK, Carling D, Hardie DG. 1996.
Characterization of the AMP-activated protein kinase from rat liver and identification of threonine 172 as the major site at which it phosphorylates AMP-activated protein kinase.
J Biol Chem. 271(44), 27879-27887.
- Heckmann BL, Boada-Romero E, Cunha LD, Magne J, Green DR. 2017.
LC3-Associated Phagocytosis and Inflammation.
J Mol Biol. 429(23), 3561-3576.
- Henning RJ. 2021.
Obesity and obesity-induced inflammatory disease contribute to atherosclerosis: a review of the pathophysiology and treatment of obesity.
Am J Cardiovasc Dis. 11(4), 504-529.
- Hinoi E, Nakamura Y, Takada S, Fujita H, Iezaki T, Hashizume S, Takahashi S, Odaka Y, Watanabe T, Yoneda Y. 2014.
Growth differentiation factor-5 promotes brown adipogenesis in systemic energy expenditure.
Diabetes. 63(1), 162-175.
- Horwitz A, Birk R. 2023.
Adipose Tissue Hyperplasia and Hypertrophy in Common and Syndromic Obesity-The Case of BBS Obesity.
Nutrients. 15(15), 3445.

- Hsu PL, Jou J, Tsai SJ. 2019.
TYRO3: A potential therapeutic target in cancer.
Exp Biol Med (Maywood). 244(2), 83-99.
- Huang H, Lee SH, Sousa-Lima I, Kim SS, Hwang WM, Dagon Y, Yang WM, Cho S, Kang MC, Seo JA, Shibata M, Cho H, Belew GD, Bhin J, Desai BN, Ryu MJ, Shong M, Li P, Meng H, Chung BH, Hwang D, Kim MS, Park KS, Macedo MP, White M, Jones J, Kim YB. 2018
Rho-kinase/AMPK axis regulates hepatic lipogenesis during overnutrition.
J Clin Invest. 128(12), 5335-5350.
- Huang H, Ouyang Q, Zhu M, Yu H, Mei K, Liu R. 2021
mTOR-mediated phosphorylation of VAMP8 and SCFD1 regulates autophagosome maturation.
Nat Commun. 12(1), 6622.
- Huelse JM, Fridlyand DM, Earp S, DeRyckere D, Graham DK. 2020.
MERTK in cancer therapy: Targeting the receptor tyrosine kinase in tumor cells and the immune system.
Pharmacol Ther. 213, 107577.
- Hunter PG, Chapman FA, Dhaun N. 2021.
Hypertension: Current trends and future perspectives.
Br J Clin Pharmacol. 87(10), 3721-3736.
- Ikeda K, Maretich P, Kajimura S. 2018.
The Common and Distinct Features of Brown and Beige Adipocytes.
Trends Endocrinol Metab. 29(3), 191-200.
- Inoki K, Kim J, Guan KL. 2012.
AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets.
Annu Rev Pharmacol Toxicol. 52, 381-400.
- Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. 2012.
Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease.
Br J Pharmacol. 165(3), 622-632.
- Jang M, Park R, Kim H, Namkoong S, Jo D, Huh YH, Jang IS, Lee JI, Park J. 2018.
AMPK contributes to autophagosome maturation and lysosomal fusion.
Sci Rep. 8(1), 12637.
- Jebari-Benslaiman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, Olaetxea JR, Alloza I, Vandenbroeck K, Benito-Vicente A, Martín C. 2022.
Pathophysiology of Atherosclerosis.
Int J Mol Sci. 23(6), 3346.
- Jo J, Gavrilova O, Pack S, Jou W, Mullen S, Sumner AE, Samuel W, Cushman SW, Periwai V. 2009.

Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth. *PLoS Comput Biol.* 5(3), e1000324.

Jönsson C, Castor Batista AP, Kjølhede P, Strålfors P. 2019.

Insulin and β -adrenergic receptors mediate lipolytic and anti-lipolytic signalling that is not altered by type 2 diabetes in human adipocytes.

Biochem J. 476(19), 2883-2908.

Kabeaya Y, Mizushima N, Ueno T, Yamamoto A, Kirisako T, Noda T, Kominami E, Ohsumi Y, Yoshimori T. 2000.

LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing.

EMBO J. 19(21),5720-5728.

Kahnert K, Jörres RA, Behr J, Welte T. 2023.

The Diagnosis and Treatment of COPD and Its Comorbidities.

Dtsch Arztebl Int. 120(25), 434-444.

Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, Kitazawa S, Miyachi H, Maeda S, Egashira K, Kasuga M. 2006.

MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity.

J Clin Invest. 116(6), 1494-1505.

Khalaji A, Yancheshmeh FB, Farham F, Khorram A, Sheshbolouki S, Zokaei M, Vatankhah F, Soleymani-Goloujeh M. 2023.

Don't eat me/eat me signals as a novel strategy in cancer immunotherapy.

Heliyon. 9(10), e20507.

Khan M, Joseph F. 2014.

Adipose tissue and adipokines: the association with and application of adipokines in obesity.

Scientifica (Cairo). 2014:328592.

Kim J, Yang G, Kim Y, Kim J, Ha J. 2016.

AMPK activators: mechanisms of action and physiological activities.

Exp Mol Med. 48(4), e224.

Kim OH, Kang GH, Hur J, Lee J, Jung Y, Hong IS, Lee H, Seo SY, Lee DH, Lee CS, Lee IK, Bonner-Weir S, Lee J, Park YJ, Kim H, Shoelson SE, Oh BC. 2022.

Externalized phosphatidylinositides on apoptotic cells are eat-me signals recognized by CD14.

Cell Death Differ. 29(7), 1423-1432.

Kim SY, Kim S, Bae DJ, Park SY, Lee GY, Park GM, Kim IS. 2017.

Coordinated balance of Rac1 and RhoA plays key roles in determining phagocytic appetite.

PLoS One. 12(4), e0174603.

- Kinchen JM, Ravichandran KS. 2008.
Phagosome maturation: going through the acid test.
Nat Rev Mol Cell Biol. 9(10), 781-795.
- Kirichenko TV, Markina YV, Bogatyreva AI, Tolstik TV, Varaeva YR, Starodubova AV. 2022.
The Role of Adipokines in Inflammatory Mechanisms of Obesity.
Int J Mol Sci. 23(23), 14982.
- Konyn P, Ahmed A, Kim D. 2023.
Causes and risk profiles of mortality among individuals with nonalcoholic fatty liver disease.
Clin Mol Hepatol. 29, S43-S57.
- Kotsis, V., Stabouli, S., Papakatsika, S. et al. 2010.
Mechanisms of obesity-induced hypertension.
Hypertens Res 33, 386–393.
- Kourtzelis I, Hajishengallis G, Chavakis T. 2020.
Phagocytosis of Apoptotic Cells in Resolution of Inflammation.
Front Immunol. 11, 553.
- Köröskényi K, Sós L, Rostás M, Papp AB, Kókai E, Garabuczi É, Deák D, Beke L, Méhes G, Szondy Z. 2024.
Loss of MER Tyrosine Kinase Attenuates Adipocyte Hypertrophy and Leads to Enhanced Thermogenesis in Mice Exposed to High-Fat Diet.
Cells. 13(22), 1902.
- Kristóf E, Zahuczky G, Katona K, Doró Z, Nagy É, Fésüs L. 2013.
Novel role of ICAM3 and LFA-1 in the clearance of apoptotic neutrophils by human macrophages.
Apoptosis. 18(10), 1235-1251.
- Krysko DV, Ravichandran KS, Vandenabeele P. 2018.
Macrophages regulate the clearance of living cells by calreticulin.
Nat Commun 9, 4644.
- Kwon B, Querfurth HW. 2015.
Palmitate activates mTOR/p70S6K through AMPK inhibition and hypophosphorylation of raptor in skeletal muscle cells: Reversal by oleate is similar to metformin.
Biochimie. 118, 141-150.
- Lala T, Doan JK, Takatsu H, Hartzell HC, Shin HW, Hall RA. 2022.
Phosphatidylserine exposure modulates adhesion GPCR BAI1 (ADGRB1) signaling activity.
J Biol Chem. 298(12), 102685.

- Lamark T, Svenning S, Johansen T. 2017.
Regulation of selective autophagy: the p62/SQSTM1 paradigm.
Essays Biochem. 61(6), 609-624.
- Lee HJ, Woo Y, Hahn TW, Jung YM, Jung YJ. 2020.
Formation and Maturation of the Phagosome: A Key Mechanism in Innate Immunity
against Intracellular Bacterial Infection.
Microorganisms. 8(9), 1298.
- Lee MJ, Pramyothin P, Karastergiou K, Fried SK. 2014.
Deconstructing the roles of glucocorticoids in adipose tissue biology and the
development of central obesity.
Biochim Biophys Acta. 1842(3), 473-481.
- Lee PL, Jung SM, Guertin DA. 2017.
The Complex Roles of Mechanistic Target of Rapamycin in Adipocytes and Beyond.
Trends Endocrinol Metab. 28(5), 319-339.
- Lemke G. 2013.
Biology of the TAM receptors.
Cold Spring Harb Perspect Biol. 5, a009076.
- L'homme L, Sermikli BP, Haas JT, Fleury S, Quemener S, Guinot V, Barreby E, Esser
N, Caiazzo R, Verkindt H, Legendre B, Raverdy V, Cheval L, Paquot N, Piette J,
Legrand-Poels S, Aouadi M, Pattou F, Staels B, Dombrowicz D. 2024.
Adipose tissue macrophage infiltration and hepatocyte stress increase GDF-15
throughout development of obesity to MASH.
Nat Commun. 15(1), 7173.
- Li S, Sun Y, Liang CP, Thorp EB, Han S, Jehle AW, Saraswathi V, Pridgen B, Kanter JE,
Li R, Welch CL, Hasty AH, Bornfeldt KE, Breslow JL, Tabas I, Tall AR. 2009.
Defective phagocytosis of apoptotic cells by macrophages in atherosclerotic lesions of
ob/ob mice and reversal by a fish oil diet.
Circ Res. 105(11), 1072-1082.
- Li W. 2012.
Eat-me signals: keys to molecular phagocyte biology and "appetite" control.
J Cell Physiol. 227(4), 1291-1297.
- Li X, Ren Y, Chang K, Wu W, Griffiths HR, Lu S, Gao D. 2021.
Adipose tissue macrophages as potential targets for obesity and metabolic diseases.
Front Immunol. 14, 1153915.
- Lin X, Li H. 2021.
Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics.
Front Endocrinol (Lausanne). 12, 706978.
- Lindhorst A, Raulien N, Wieghofer P, Eilers J, Rossi FMV, Bechmann I, Gericke M.
2021.

Adipocyte death triggers a pro-inflammatory response and induces metabolic activation of resident macrophages.

Cell Death Dis. 12(6), 579.

Linger RM, Keating AK, Earp HS, Graham DK. 2008.

TAM receptor tyrosine kinases: biologic functions, signaling, and potential therapeutic targeting in human cancer.

Adv Cancer Res. 100, 35-83.

Liu S, Yao S, Yang H, Liu S, Wang Y. 2023.

Autophagy: Regulator of cell death.

Cell Death Dis. 14(10), 648.

Lizcano F. 2019.

The Beige Adipocyte as a Therapy for Metabolic Diseases.

Int J Mol Sci. 20(20), 5058.

Luo L, Liu M. 2022.

Adiponectin: friend or foe in obesity and inflammation.

Med Rev. 2(4), 349-362.

Ma Y, Jiang T, Zhu X, Xu Y, Wan K, Zhang T, Xie M. 2024.

Efferocytosis in dendritic cells: an overlooked immunoregulatory process.

Front Immunol. 15, 1415573.

Maeda K, Cao H, Kono K, Gorgun CZ, Furuhashi M, Uysal KT, Cao Q, Atsumi G, Malone H, Krishnan B, Minokoshi Y, Kahn BB, Parker RA, Hotamisligil GS. 2005.

Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes.

Cell Metab. 1(2), 107-119.

Mao Y, Finnemann SC. 2015.

Regulation of phagocytosis by Rho GTPases.

Small GTPases. 6(2):89-99.

Martinez J, Cook DN. 2021.

What's the deal with efferocytosis and asthma?

Trends Immunol. 42(10), 904-919.

Mills KT, Stefanescu A, He J. 2020.

The global epidemiology of hypertension.

Nat Rev Nephrol. 16(4), 223-237.

Mohseni R, Teimouri M, Safaei M, Arab Sadeghabadi Z. 2023.

AMP-activated protein kinase is a key regulator of obesity-associated factors.

Cell Biochem Funct. 41(1), 20-32.

- Moon B, Yang S, Moon H, Lee J, Park D. 2023.
After cell death: the molecular machinery of efferocytosis.
Exp Mol Med. 55(8),1644-1651.
- Mordier S, Iynedjian PB. 2007.
Activation of mammalian target of rapamycin complex 1 and insulin resistance induced by palmitate in hepatocytes.
Biochem Biophys Res Commun. 362(1), 206-211.
- Mulcahy LA, Pink RC, Carter DR. 2014.
Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake.
J Extracell Vesicles. 4, 3.
- Muller YL, Bogardus C, Beamer BA, Shuldiner AR, Baier LJ. 2003.
A functional variant in the peroxisome proliferator—activated receptor γ 2 promoter is associated with predictors of obesity and type 2 diabetes in Pima Indians.
Diabetes. 52(7), 1864–1871.
- Musso G, Cassader M, De Michieli F, Paschetta E, Pinach S, Saba F, Bongiovanni D, Framarin L, Berrutti M, Leone N, Corvisieri S, Parente R, Molinaro F, Sircana A, Bo S, Gambino R. 2017.
MERTK rs4374383 variant predicts incident nonalcoholic fatty liver disease and diabetes: role of mononuclear cell activation and adipokine response to dietary fat.
Hum Mol Genet. 26(9), 1747-1758.
- Myers Chen KV, de Groot AE, Mendez SA, Mallin MM, Amend SR, Pienta KJ. 2023.
Targeting MerTK decreases efferocytosis and increases anti-tumor immune infiltrate in prostate cancer.
Med Oncol. 40(10), 284.
- Nakaya M, Tanaka M, Okabe Y, Hanayama R, Nagata S. 2006.
Opposite effects of rho family GTPases on engulfment of apoptotic cells by macrophages.
J Biol Chem. 281(13), 8836-8842.
- Nguyen JA, Yates RM. 2021.
Better Together: Current Insights Into Phagosome-Lysosome Fusion.
Front Immunol. 12, 636078.
- Nogueira JP, Cusi K. 2024.
Role of Insulin Resistance in the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in People With Type 2 Diabetes: From Bench to Patient Care.
Diabetes Spectr. 37(1):20-28.
- Nuttall FQ. 2015.
Body Mass Index Obesity, BMI, and Health A Critical Review.
Nutrition Today. 50(3), 117-128

- Ouali A, Gagaoua M, Boudida Y, Becila S, Boudjellal A, Herrera-Mendez CH, Sentandreu MA. 2013.
Biomarkers of meat tenderness: present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved.
Meat Sci. 95(4), 854-870.
- Palacios-Marin I, Serra D, Jimenez-Chillarón J, Herrero L, Todorčević M. 2023.
Adipose Tissue Dynamics: Cellular and Lipid Turnover in Health and Disease.
Nutrients. 15(18), 3968.
- Park JH, Lee JK, Heo EY, Kim DK, Chung HS. 2017
The effect of obesity on patients with mild chronic obstructive pulmonary disease: results from KNHANES 2010 to 2012.
Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 12, 757-763.
- Park SY, Kim IS. 2019.
Stabilin Receptors: Role as Phosphatidylserine Receptors.
Biomolecules. 9(8), 387.
- Perdikari A, Kulenkampff E, Rudigier C, Neubauer H, Luippold G, Redemann N, Wolfrum C. 2017.
A high-throughput, image-based screen to identify kinases involved in brown adipocyte development.
Sci Signal. 10(466), eaaf5357.
- Perdomo, C.M., Avilés-Olmos, I., Dicker, D. et al. 2023.
Towards an adiposity-related disease framework for the diagnosis and management of obesities.
Rev Endocr Metab Disord 24, 795–807.
- Piché ME, Tchernof A, Després JP. 2020.
Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases.
Circulation Research. 126, 1477–1500.
- Pischon N, Heng N, Bernimoulin JP, Kleber BM, Willich SN, Pischon T. 2007.
Obesity, inflammation, and periodontal disease.
J Dent Res. 86(5), 400-409.
- Poirier V, Av-Gay Y. 2015.
Intracellular Growth of Bacterial Pathogens: The Role of Secreted Effector Proteins in the Control of Phagocytosed Microorganisms.
Microbiol Spectr. 3(6).
- T. Porstmann, C.R. Santos, B. Griffiths, M. Cully, M. Wu, S. Leever, J.R. Griffiths, Y.L. Chung, A. Schulze. 2008.
SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth
Cell Metab., 8, 224-236.

- Powell EE, Wong VW, Rinella M. 2021.
Non-alcoholic fatty liver disease.
Lancet. 397(10290), 2212-2224.
- Purnama CA, Meiliana A, Barliana MI, Lestari K, Wijaya A. 2024.
The Important Role of Phosphatidylserine, ADAM17, TNF-Alpha, and Soluble MER on Efferocytosis Activity in Central Obesity.
J Obes. 20, 1424404.
- Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA, Hannan MA, Uddin MJ, Pang MG. 2021.
Role of Insulin in Health and Disease: An Update.
Int J Mol Sci. 22(12), 6403.
- Rashid HO, Yadav RK, Kim HR, Chae HJ.
ER stress: Autophagy induction, inhibition and selection.
Autophagy. 11(11), 1956-1977.
- Rashidfarrokhi A, Richina V, Tafesse FG. 2017.
Visualizing the Early Stages of Phagocytosis.
J Vis Exp. (120), 54646.
- Ravichandran KS. 2010.
Find-me and eat-me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums.
J Exp Med. 207(9), 1807-1817.
- Razi S, Yaghmoorian Khojini J, Kargarijam F, Panahi S, Tahershamsi Z, Tajbakhsh A, Gheibihayat SM. 2023.
Macrophage efferocytosis in health and disease.
Cell Biochem Funct. 41(2), 152-165.
- Reddon H, Guéant JL, Meyre D. 2016.
The importance of gene–environment interactions in human obesity.
Clin Neurosci Res. 130(18), 1571–1597.
- Richard AJ, Stephens JM. 2013.
The role of JAK-STAT signaling in adipose tissue function.
Biochim Biophys Acta. 1842(3), 431-439.
- Rosales C, Uribe-Querol E. 2017.
Phagocytosis: A Fundamental Process in Immunity.
Biomed Res Int. 2017, 9042851.
- Röszer T. 2021.
Adipose Tissue Immunometabolism and Apoptotic Cell Clearance.
Cells. 10(9), 2288.

- Saklayen MG. 2018.
The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome.
Curr Hypertens Rep. 20(2), 12.
- Saxton RA, Sabatini DM. 2017.
mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease.
Cell. 168(6), 960-976.
- Sághy T, Köröskényi K, Hegedűs K, Antal M, Bankó C, Bacsó Z, Papp A, Stienstra R, Szondy Z. 2019.
Loss of transglutaminase 2 sensitizes for diet-induced obesity-related inflammation and insulin resistance due to enhanced macrophage c-Src signaling.
Cell Death Dis. 10(6), 439.
- Schilling JD, Machkovech HM, He L, Diwan A, Schaffer JE. 2013.
TLR4 activation under lipotoxic conditions leads to synergistic macrophage cell death through a TRIF-dependent pathway.
J Immunol. 190(3), 1285-1296.
- Segawa K, Nagata S. 2015.
An Apoptotic 'Eat Me' Signal: Phosphatidylserine Exposure.
Trends Cell Biol. 25(11), 639-650.
- Senft D, Ronai ZA. 2015.
UPR, autophagy, and mitochondria crosstalk underlies the ER stress response.
Trends Biochem Sci. 40(3), 141-148.
- Shan T, Zhang P, Jiang Q, Xiong Y, Wang Y, Kuang S. 2016.
Adipocyte-specific deletion of mTOR inhibits adipose tissue development and causes insulin resistance in mice.
Diabetologia. 59(9), 1995-2004.
- Shariq OA, McKenzie TJ. 2020.
Obesity-related hypertension: a review of pathophysiology, management, and the role of metabolic surgery.
Gland Surg. 9(1), 80-93.
- Siersbaek R, Nielsen R, Mandrup S. 2010.
PPARgamma in adipocyte differentiation and metabolism--novel insights from genome-wide studies.
FEBS Lett. 584(15), 3242-3249.
- Skopková M, Penesová A, Sell H, Rádiková Z, Vlcek M, Imrich R, Koska J, Ukropec J, Eckel J, Klimes I, Gasperíková D. 2007.
Protein array reveals differentially expressed proteins in subcutaneous adipose tissue in obesity. *Obesity (Silver Spring).* 15(10), 2396-2406.
- Sohn JH, Lee YK, Han JS, Jeon YG, Kim JI, Choe SS, Kim SJ, Yoo HJ, Kim JB. 2018.
Perilipin 1 (Plin1) deficiency promotes inflammatory responses in lean adipose tissue

- through lipid dysregulation.
J Biol Chem. 293(36), 13974-13988.
- Somlyo, A.P.; Somlyo, A.V. 2003.
Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: Modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase.
Physiol. Rev. 83, 1325–1358.
- Sørensen TIA, Martinez AR, Jørgensen TSH. 2022.
Epidemiology of Obesity.
Handb Exp Pharmacol. 274, 3-27.
- Steinberg GR, Kemp BE. 2009.
AMPK in Health and Disease.
Physiol Rev. 89(3), 1025-1078.
- Stern JH, Rutkowski JM & Scherer PE. 2016.
Adiponectin, Leptin, and Fatty Acids in the 501 Maintenance of Metabolic Homeostasis through Adipose Tissue Crosstalk.
Cell Metab. 23 (502) 770-784.
- Sun Y, Ren M, Gao GQ, Gong B, Xin W, Guo H, Zhang XJ, Gao L, Zhao JJ. 2008.
Chronic palmitate exposure inhibits AMPK α and decreases glucose-stimulated insulin secretion from beta-cells: modulation by fenofibrate.
Acta Pharmacol Sin. 29(4), 443-450
- Szondy Z, Al-Zaeed N, Tarban N, Fige É, Garabuczi É, Sarang Z. 2022.
Involvement of phosphatidylserine receptors in the skeletal muscle regeneration: therapeutic implications.
J Cachexia Sarcopenia Muscle. 13(4), 1961-1973.
- Szondy Z, Garabuczi E, Joós G, Tsay GJ, Sarang Z. 2014.
Impaired clearance of apoptotic cells in chronic inflammatory diseases: therapeutic implications.
Front Immunol. 5, 354.
- Tajbakhsh A, Gheibihayat SM, Karami N, Savardashtaki A, Butler AE, Rizzo M, Sahebkar A. 2022.
The regulation of efferocytosis signaling pathways and adipose tissue homeostasis in physiological conditions and obesity: Current understanding and treatment options.
Obes Rev. 23(10), 13487.
- Tan SH, Shui G, Zhou J, Li JJ, Bay BH, Wenk MR, Shen HM. 2012.
Induction of autophagy by palmitic acid via protein kinase C-mediated signaling pathway independent of mTOR (mammalian target of rapamycin).
J Biol Chem. 287(18), 14364-14376.
- Teplova I, Lozy F, Price S, Singh S, Barnard N, Cardiff RD, Birge RB, Karantza V. 2013.

- ATG proteins mediate efferocytosis and suppress inflammation in mammary involution. *Autophagy*. 9(4), 459-475.
- Tibúrcio-Machado CS, Michelon C, Zanatta FB, Gomes MS, Marin JA, Bier CA. 2021. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*. 54(5), 712-735.
- Toda S, Hanayama R, Nagata S. 2012. Two-step engulfment of apoptotic cells. *Mol Cell Biol*. 32(1), 118-125.
- Tosello-Tramont, A.C., Nakada-Tsukui, K., Ravichandran, K.S. 2003. Engulfment of apoptotic cells is negatively regulated by Rhomediated signaling. *J. Biol. Chem*. 278, 49911–49919.
- Trayhurn P. 2013. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. *Physiol Rev*. 93(1), 1-21.
- Uribe-Querol E, Rosales C. 2020. Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. *Front Immunol*. 11, 1066.
- van der Sande MA, Walraven GE, Milligan PJ, Banya WA, Ceesay SM, Nyan OA, McAdam KP. 2001. Family history: an opportunity for early interventions and improved control of hypertension, obesity and diabetes. *Bull World Health Organ*. 79(4), 321-328.
- Wang D, Zhou Y, Lei W, Zhang K, Shi J, Hu Y, Shu G, Song J. 2009. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) regulates adipocyte differentiation via peroxisome-proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma). *Biol Cell*. 102(1), 1-12.
- White UA, Stephens JM. 2010. Transcriptional factors that promote formation of white adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol*. 318(1-2), 10-14.
- Wium M, Ajayi-Smith AF, Pacciez JD, Zerbini LF. 2021. The Role of the Receptor Tyrosine Kinase Axl in Carcinogenesis and Development of Therapeutic Resistance: An Overview of Molecular Mechanisms and Future Applications. *Cancers (Basel)*. 13(7), 1521.
- J.R. Woo, S. Bae, T.E. Wales, J.R. Engen, J. Lee, H. Jang, & S. Park. 2024. The serine phosphorylations in the IRS-1 PIR domain abrogate IRS-1 and IR interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 121(17), e2401716121.

- Woodworth-Hobbs ME, Perry BD, Rahnert JA, Hudson MB, Zheng B, Russ Price S. 2017.
Docosahexaenoic acid counteracts palmitate-induced endoplasmic reticulum stress in C2C12 myotubes: Impact on muscle atrophy.
Physiol Rep. 5(23), e13530.
- K. Wong, P.A. Valdez, C. Tan, S. Yeh, J. Hongo, & W. Ouyang, 2010.
Phosphatidylserine receptor Tim-4 is essential for the maintenance of the homeostatic state of resident peritoneal macrophages,
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107 (19), 8712-8717.
- Wu D, Chai Y, Zhu Z, Li W, Ou G, Li W. 2017.
CED-10-WASP-Arp2/3 signaling axis regulates apoptotic cell corpse engulfment in *C. elegans*.
Dev Biol. 428(1), 215-223.
- Xu X, Grijalva A, Skowronski A, van Eijk M, Serlie MJ, Ferrante AW Jr. 2013.
Obesity activates a program of lysosomal-dependent lipid metabolism in adipose tissue macrophages independently of classic activation.
Cell Metab. 18(6), 816-830.
- Yadav M, Sharma A, Patne K, Tabasum S, Suryavanshi J, Rawat L, Machaalani M, Eid M, Singh RP, Choueiri TK, Pal S, Sabarwal A. 2025.
AXL signaling in cancer: from molecular insights to targeted therapies.
Signal Transduct Target Ther. 10(1), 37.
- Yang, S., Min, C., Moon, H. et al. 2023.
Internalization of apoptotic cells during efferocytosis requires Mertk-mediated calcium influx.
Cell Death Dis. 14, 391.
- Yao Z, Qi W, Zhang H, Zhang Z, Liu L, Shao Y, Zeng H, Yin J, Pan H, Guo X, Liu A, Cai D, Bai X, Zhang H. 2023.
Down-regulated GAS6 impairs synovial macrophage efferocytosis and promotes obesity-associated osteoarthritis.
Elife. 12, e83069.
- Ye J. 2007.
Role of insulin in the pathogenesis of free fatty acid-induced insulin resistance in skeletal muscle.
Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 7(1), 65-74.
- Ye J. 2013.
Mechanisms of insulin resistance in obesity.
Front Med. 7(1), 14-24.
- Ye Y, Liu H, Zhang F, Hu F. 2019.
mTOR signaling in Brown and Beige adipocytes: implications for thermogenesis and

- obesity.
Nutr Metab (Lond). 16, 74.
- Yeo GSH. 2017.
Genetics of obesity: can an old dog teach us new tricks?
Diabetologia. 60, 778–783.
- Yurdagul A Jr, Doran AC, Cai B, Fredman G, Tabas IA. 2018.
Mechanisms and Consequences of Defective Efferocytosis in Atherosclerosis.
Front Cardiovasc Med. 4, 86.
- Zagórska A, Través PG, Lew ED, Dransfield I, Lemke G. 2014.
Diversification of TAM receptor tyrosine kinase function.
Nat Immunol. 15(10), 920-928.
- Zhang D, Wei Y, Huang Q, Chen Y, Zeng K, Yang W, Chen J, Chen J. 2022.
Important Hormones Regulating Lipid Metabolism.
Molecules. 27(20), 7052.
- Zhang Y, Zhang B, Sun X. 2024.
The molecular mechanism of macrophage-adipocyte crosstalk in maintaining energy homeostasis.
Front Immunol. 15, 1378202.
- Zhao P, Stephens JM. 2013.
Identification of STAT target genes in adipocytes.
JAKSTAT. 2(2), e23092.
- Zhou J, Massey S, Story D, Li L. 2018.
Metformin: An Old Drug with New Applications.
Int J Mol Sci. 19(10), 2863.
- Zhou Z, Yu X. 2008.
Phagosome maturation during the removal of apoptotic cells: receptors lead the way.
Trends Cell Biol. 18(10), 474-485.
- Zhu C, Wei Y, Wei X. 2019.
AXL receptor tyrosine kinase as a promising anti-cancer approach: functions, molecular mechanisms and clinical applications.
Mol Cancer. 18(1), 153.
- Zizzo G, Hilliard BA, Monestier M, Cohen PL 2012.
Efficient clearance of early apoptotic cells by human macrophages requires M2c polarization and MerTK induction.
J Immunol. 189(7), 3508-3520.

12. Tárgyszavak

palmitát

makrofág

efferoitózis

AMPK

mTORC1

ROCK1

autofágia

krónikus gyulladás

elhízás

Mer tirozin kináz

adipocita

termogenezis

13. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek **Prof. Dr. Szondy Zsuzsannának** a bizalmáért és hogy magasfokú szakmai tudásával, ötleteivel segítette a munkámat.

Köszönöm **Dr. Péntek-Garabuczi Évának** a szakmai segítséget és a sok átadott tudást, melynek köszönhetően elkezdtem a PhD képzést.

Hálás vagyok **Dr. Köröskényi Krisztinának**, aki a közös munkánk során támogatott és szakmai tudásával segítette munkámat. Köszönettel tartozom, hogy a segítségével által ezt a disszertáció megszülethetett.

Szeretnék köszönetet mondani **Rostás Melindának** és **Papp Albertnek** a kísérletek kivitelezésében nyújtott segítségükért.

Köszönöm a munkacsoportunk minden tagjának a mindennapi munkám során nyújtott segítséget.

Köszönettel tartozom a publikációkban résztvevő társszerzőknek, akik magasfokú elméleti és gyakorlati tudásukkal segítettek a kísérletek megvalósításában.

Köszönöm **Deák Dávidnak** és a **Kísérleti Állatház munkatásainak** a támogató munkát.

Hálával tartozom a **Debreceni Egyetem Klinikai Központ Pathológia Intézet munkatársainak** a vizsgálatokban nyújtott segítségért.

Köszönöm **Prof. Dr. Tózsér Józsefnek**, hogy a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetben végezhettem a disszertációm elkészítéséhez szükséges kísérleteket.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani a családomnak és barátaimnak, akik a tanulmányaim során mindig mellettem álltak és biztattak.

A szakmai munka anyagi háttérét a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési Innovációs Hivatal és a GINOP-2.3.2-15-2016-00006 pályázati forrás biztosította. PhD ösztöndíjamat a Debreceni Egyetem Fogorvosi Doktori Iskolájának PhD programja biztosította.

14. Közlemények jegyzéke



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

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

Nyilvántartási szám: DEENK/371/2025.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Sós László
Doktori Iskola: Fogorvostudományi Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10076380

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Köröskényi, K., **Sós, L.**, Rostás, M., Papp, A. B., Kókai, E., Garabuczi, É., Deák, D., Beke, L., Méhes, G., Szondy, Z.: Loss of MER Tyrosine Kinase Attenuates Adipocyte Hypertrophy and Leads to Enhanced Thermogenesis in Mice Exposed to High-Fat Diet.
Cells. 13 (22), 1-20, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells13221902>
IF: 5.1 (2023)
2. **Sós, L.**, Garabuczi, É., Sággy, T., Mocsár, G., Szondy, Z.: Palmitate Inhibits Mouse Macrophage Efferocytosis by Activating an mTORC1-Regulated Rho Kinase 1 Pathway: Therapeutic Implications for the Treatment of Obesity.
Cells. 11 (21), 1-18, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells11213502>
IF: 6





További közlemények

3. Vincze-Fige, É., Sarang, Z., **Sós, L.**, Szondy, Z.: Retinoids Promote Mouse Bone Marrow-Derived Macrophage Differentiation and Efferocytosis via Upregulating Bone Morphogenetic Protein-2 and Smad3.
Cells. 11 (18), 1-22, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells11182928>
IF: 6
4. Vincze-Fige, É., Szendrei, J., **Sós, L.**, Kraszewska, I., Potor, L., Balla, J., Szondy, Z.: Heme Oxygenase-1 Contributes to Both the Engulfment and the Anti-Inflammatory Program of Macrophages during Efferocytosis.
Cells. 10 (3), 652-669, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells10030652>
IF: 7.666

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 24,766

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
11,1**

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2025.06.05.

