

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Kovács Dóra

**Az adipokinek szerepe a faggyúmirigy
működésében**

DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2016

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Az adipokinek szerepe a faggyúmirigy
működésében**

Kovács Dóra

Témavezető: Dr. Törőcsik Dániel



DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2016

TARTALOMJEGYZÉK

1.	Rövidítések.....	3
2.	BEVEZETÉS.....	6
3.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	8
3.1	A bőr funkciója.....	8
3.2	A bőr szövettani felépítése.....	8
3.3	A faggyúmirigy fiziológias működése.....	12
	A faggyúmirigy zsírtermelése.....	13
	Irányok melyek túlmutatnak a pusztán csak a zsírosításért felelős faggyútermelésen.....	16
3.4	A faggyúmirigy patofiziológiája.....	16
	Kísérleti korlátok és lehetőségek.....	16
	Rendelkezésre álló állatmodellek a patológias faggyúműködés tanulmányozáshoz.....	19
	A faggyúsejtek osztódásának kóros szabályozása.....	21
	A faggyúmirigy gyulladási válasza.....	21
	A faggyúmirigy betegségekhez társuló kóros működése.....	23
	Akné.....	23
	Seborrheás dermatitis.....	26
	Rosacea.....	27
	Sebaceous hiperplázia.....	27
	Sebaceoma és sebaceous karcinóma.....	27
3.5	A zsírszövet és a faggyúmirigy közötti hasonlóság.....	28
3.6	Adipokinek.....	31
	A pro-inflammatórikus adipokinek celluláris és szisztémás hatása.....	32
	IL-6.....	32
	Leptin.....	33
	Resistin.....	34
	Plazminogén aktivátor inhibitor-1.....	35
	Visfatin.....	35
	Apelin.....	36
	Chemerin.....	37
	Retinol-binding protein 4.....	37
	Monocyte chemoattractant protein-1.....	38
	Az anti-inflammatórikus adipokinek celluláris és szisztémás hatása.....	38
	Adiponektin.....	38
	Adipokinek szerepe a bőrben.....	39
4.	CÉLKITŰZÉS.....	42
5.	ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	43
5.1	Szövettani minták.....	43
5.2	SZ95 faggyúsejtek tenyésztése és kezelése.....	43
5.3	Proliferáció mérés.....	45
5.4	Immunhisztokémia.....	46
5.5	Immuncitokémia.....	48
5.6	Lipid analízis.....	48
5.7	Lipid cseppek detektálása és kvantifikálása.....	50
5.8	Western blot.....	52
5.9	mRNS szintek meghatározása.....	53
5.10	RNS-Seq adatok elemzése.....	54
5.11	ELISA.....	54
5.12	Statisztikai analízis.....	55
6.	EREDMÉNYEK.....	56
6.1	Az adipokinek jellegzetes expressziója figyelhető meg <i>in vivo</i> humán faggyúmirigyben.....	56
6.2	Az adipokinek expressziós profilja <i>in vitro</i> humán SZ95 faggyúsejtekben.....	60
6.3	Az SZ95 faggyúsejtek eltérően szekretálják a különböző adipokineket.....	61
6.4	Az adipokinek expressziója és szekréciója eltérő módon változik különböző stimulusok hatására.....	63
6.5	A funkcionálisan aktív leptin receptor (Ob-Rb) expressziója megfigyelhető <i>in vivo</i> humán faggyúmirigyben.....	67
6.6	Az SZ95 faggyúsejtek zsírtermelése megváltozik leptin kezelés hatására.....	69
6.7	A lipidtestek mérete megnövekedett a leptin kezelt SZ95 faggyúsejtekben.....	74
6.8	Leptin hatására fokozódik a COX-2 és az 5-LOX enzimek valamint a gyulladási citokinek expressziója SZ95 faggyúsejtekben.....	76

6.9	A leptin aktiválja a STAT3 és az NF- κ B útvonalakat SZ95 faggyúsejtekben	78
7.	MEGBESZÉLÉS	79
8.	ÖSSZEFOGLALÁS	91
9.	SUMMARY	93
10.	IRODALOMJEGYZÉK	95
11.	KULCSSZAVAK	108
12.	KEYWORDS	108
13.	KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	109
14.	PUBLIKÁCIÓS LISTA	111

1. RÖVIDÍTÉSEK

13CRA	13- <i>cis</i> retinsav
ADIPOR	adiponektin receptor
AFU	abszolút fluoreszcens egység
AMP	adenozin-monofoszfát
AMPK	AMP aktivált protein kináz
ANOVA	egytényezős varianciaanalízis
ArcM	nucleus arcuatus medialis
APJ	apelin receptor
BMI	testtömeg index
BODIPY	4,4-difluor-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacén
BSA	borjú szérum albumin
BSTFA	bisz(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid
c/EBP	CCAAT/enhancer binding protein
CCL	CC-kemokin ligand
CH	koleszterin
Cidea	cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A
c-Myc	Myc proto-onkogén protein
COX	cikloxigenáz
CRH	kortikotropin-felszabadító hormon
CRH-BP	CRH-kötő fehérje
CRH-R1	CRH receptor 1
CTRF	C1q/TNF-related fehérje család
DAPI	40,6-diamidino-2-phenilindol
DGAT	diglicerid-acetiltranszferáz
DHEAS	dehidroepiandroszteron szulfát
DMSO	dimetil-szulfoxid
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
EGF	epidermális növekedési faktor
ERK	extracelluláris szignál-regulált kináz
ESI	elektrospray ionforrás
EU	European Unit
FATP4	zsírsav transzport protein 4
FFA	szabad zsírsav
GC	gázkromatográfia
GSK3	glikogén szintáz kináz 3
HaCaT	humán immortalizált keratinocita
HDL	nagy denzitású lipoprotein
HPLC	nagy teljesítményű folyadékkromatográfia
HPTLC	nagy teljesítményű vékonyréteg kromatográfia
HRP	tormaperoxidáz

ICAM1	intercelluláris sejt adhéziós molekula 1
IFN-γ	interferon- γ
IGF	inzulin-szerű növekedési faktor
IL	interleukin
JAK2	Janus tirozin kináz 2
JNK	c-Jun N-terminális kináz
JunB	Jun B proto-onkogén
KdPT	α -MSH-ból származó tripeptid
LDL	alacsony denzitású lipoprotein
Lef1	lymphoid enhancer-binding factor 1
LGL diéta	alacsony glikémiás diéta
LOX	lipoxigenáz
LPS	lipopoliszacharid
LT	leukotrién
LXR	liver X receptor
MAPK	mitogén aktivált protein kináz
MCP-1	monocita kemoattraktáns protein-1
Mcl-1	mieloid sejt leukémia 1
MC-R	melanokortin receptor
MFI	átlag fluoreszcencia intenzitás
MS	tömegspektometria
mTOR	mammalian target of rapamycin
MUFA	egyszeresen telítetlen zsírsav
MUH	4-metilumbelliferil heptonát
NAD	nikotinamid-adenin-dinukleotid
NF-$\kappa\beta$	nukleáris faktor kappa-könnyű-lánc-ehanszer aktivált B-sejtek
NGS	új generációs szekvenálás
NK sejt	természetes ölő sejt
NHEK	primer humán keratinocita
NLRP3	NLR Family, pyrin domain containing 3
Ob-Rb	leptin receptor hosszú izoforma
PAI-1	plazminogén aktivátor inhibitor-1
PAM3CSK4	Pam3CysSerLys4
PBEF	pre-B-sejt kolónia-stimuláló faktor
PBS	foszfát puffer
PFA	paraformaldehid
PG	prostaglandin
PLIN	perilipin
POMC	propiomelanokortin
PPAR	peroxisome proliferator activated receptor
PPIA	peptidilprolil izomeráz A
PUFA	többszörösen telítetlen zsírsav

RAR	retinsav receptor
RBP4	retinol-kötő fehérje 4
RELM	resistin-szerű molekula
RIPA	radioimmunoprecipitációs assay puffer
ROS	reaktív oxigén gyök
RP-HPLC	reverz fázisú HPLC
RXR	retinoid X receptor
SCD	sztearil-CoA deszaturáz
SFA	telített zsírsav
SNP	single nukleotid polimorfizmus
SQ	szkvalén
SREBP-1c	sterol regulatory element-binding protein-1c
STAT	signal transducer and activator of transcription
SV-40	Simian vírus-40
TCF	transzkripció faktor
TG	triglicerid
TLR	toll-like receptor
TNF-α	tumor nekrosis faktor- α
VCAM1	vaszkuláris sejt adhézións molekula 1
α-MSH	α -melanocita stimuláló hormon

2. BEVEZETÉS

A bőr dermiszében elhelyezkedő faggyúmirigy a haj/szőrszállal együtt az ún. pilosebaceus egység alkotója, legfontosabb feladata a haját/szőrt, valamint a bőrt borító faggyú termelése. A faggyúmirigyet még a XX. század végén is csak egy atavisztikus maradványnak tartották és pusztán, mint „problémaforrást” emlegették, mely a pattanásos bőr okozójaként megnehezíti a fiatalok életét, minden egyéb más funkció nélkül. Az elmúlt évtized kutatásai azonban teljes egészében megváltoztatták ismereteinket a faggyúmirigy-biológiával kapcsolatban, rávilágítva számos, eddig ismeretlen vagy figyelmen kívül hagyott funkcióra. Kiderült ugyanis, hogy a faggyúmirigy az intenzív zsírtermelés mellett az általa termelt számos pro- és anti-inflammatórikus lipideken és fehérjéken keresztül fontos szerepet tölthet be különböző gyulladásos folyamatok szabályozásában is. Ezen eredmények alapján nem pusztán egy érdekes sejttípus került a figyelmünkbe, ami sejtszinten képes összekapcsolni a zsíryanycserét a gyulladással, hanem felvetődött annak a lehetősége is, hogy számos fiziológias és patofiziológias folyamatban egyaránt szerepe lehet.

Az adipokinek olyan, a zsírszövet gyulladást szabályozó hatásában kulcsfontosságú szerepet betöltő fehérjék, melyek mind a lokális szöveti környezetben, mind pedig a véráram közvetítésével a zsírszövettől távolabbi célsejteken is képesek kifejteni hatásukat. Az adipokinek családjának legismertebb tagjai az interleukin (IL)-6, a tumor necrosis factor- α (TNF- α), továbbá a leptin és az adiponektin, de az utóbbi évek kutatásainak köszönhetően olyan fehérjék is azonosításra kerültek, mint például a resistin, visfatin, serpin E1, chemerin, apelin, retinol-kötő fehérje 4 (RBP4) és a monocita kemoattraktáns protein-1 (MCP-1).

Bár a zsírszövet és a faggyúmirigy között számos hasonlóság ismert elsősorban olyan, a zsíryanycsere szabályozásában érintett fehérjék szintjén, mint a Peroxisome Proliferator Activated Receptor (PPAR) γ vagy a Liver X receptor (LXR) fokozott jelenléte a

faggyúsejtekben, ugyanakkor a két sejttípus közötti párhuzamot a gyulladás szempontjából ezidáig nem vizsgálták.

Kutatócsoportunk annak a kérdésnek a megválaszolását tűzte ki célul, hogy a zsírszövethez hasonlóan a faggyúmirigy is képes-e a fent említett adipokinek termelésére és ezáltal részt vehet-e a gyulladásos folyamatok szabályozásában, továbbá hogy az adipokineknek lehet-e hatása magukra a faggyúsejtekre is, felvetve önszabályozási mechanizmusok lehetőségét, integrálva a faggyúsejteket is az adipokinek által szabályozott sejtek közé.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A bőr funkciója

A bőr a teljes emberi test tömegének 15-20%-át alkotja, felülete 1,6-2,3 m². A bél illetve más nyálkahártya felületekhez hasonlóan az emberi szervezet első védelmi vonalát képezi, melynek fő szerepe a különböző patogénekkal, valamint környezeti stimulusokkal szembeni mechanikai védelem [1]. A bőr ugyanakkor nemcsak barrier funkciót lát el, de olyan patofiziológias folyamatoknak is teret biztosít, mint a fertőzésekkel szembeni immunválasz, tumor kialakulás és progresszió, illetve számos autoimmun és allergiás megbetegedés is egyaránt érintheti akár önmagában akár pedig szisztémás kórkép formájában. Ezen összetett folyamatok megfelelő kialakításához és irányításához elengedhetetlen, hogy a bőrben lévő valamennyi sejttípus, mint pl. strómális sejtek (endotélsejtek, fibroblasztok, keratinociták, különböző mirigyeket felépítő sejttípusok, dermális adipociták) valamint más, csontvelő és limfoid eredetű sejtek (makrofágok, dendritikus sejtek, illetve természetes ölő [NK] sejtek, valamint T és B sejtek) egymással szoros kapcsolatban és kommunikációban legyenek, akár direkt sejt-sejt interakcióval, akár pedig indirekt kapcsolatok révén, melyben a különböző zsírok és fehérjék játszanak szerepet [2, 3].

3.2. A bőr szövettani felépítése

A bőr szövettanilag három, jól elkülönülő, azonban funkcióját tekintve egymással szorosan összefüggő rétegre osztható: az epidermiszre, dermiszre és a szubkután zsírszövetre [4].

Az epidermisz legfontosabb sejtalkotói a keratinociták, melyek szoros összekapcsolódása megakadályozza a külső környezetből érkező patogének bejutását a bőrbe. A keratinociták

életének alapjelensége az úgynevezett apoptózis (programozott sejthalál), mely révén elszarusodó sejtekké differenciálódnak. Ennek a folyamatnak a különböző stádiumában lévő sejtek az epidermiszen belül négy réteget hoznak létre. A bazális rétegben (stratum basale) lévő sejtek jellegzetesen henger alakúak, egy sejsort alkotnak és jelentős proliferációra képesek. A laphámsejtes réteg kialakításában (stratum spinosum) szabálytalan alakú, több rétegben elhelyezkedő keratinociták vesznek részt, melyek alakja egyre lapítottabbá válik, ahogy a bőr felsőbb rétegéhez közelednek. Az epidermisz 3-5 sejtrétegből álló granuláris rétegét (stratum granulosum) a lapított sejtek képezik, melyekben fehérjében gazdag ún. keratohyalin granulomok figyelhetők meg. Végül a legfelső részben lévő, elszarusodó hámréteget (stratum corneum) már a teljes mértékben keratinizálódott, sejtmag nélküli, lapos, elhalt sejtek építik fel [4-6].

Habár az epidermisz legfőbb sejtalkotói a keratinociták, a bőr ezen rétegében számos más sejtípus is megtalálható. A melanociták legfőbb feladata a pigment anyag (melanin) előállítás az epidermisz számára, mely megvédi a keratinociták DNS-ét az ultraibolya sugárzás káros hatásaitól [1]. A Langerhans sejtek, az antigén prezentációt végző dendritikus sejtek egyik alcsoportját képezik, legfőbb feladatuk jelen ismereteink szerint a tolerancia kialakítása olyan patogénekkal és zsírokkal szemben, melyek semmiféle veszélyt nem jelentenek a bőrre és ezáltal a szervezetre. A Merkel sejtek pedig olyan idegi eredetű speciális sejtek, melyek a kután neuronok közötti kommunikációért felelősek [1, 3, 6]. Az epidermisz külön érdekessége a nagy számban megtalálható őssejtek, melyek azonosítása, fiziológiai szerepének karakterizálása és terápiás hasznosítása egyaránt túlmutat azon, hogy az epidermiszt pusztán barriernek tekintsük.

Az epidermiszt és a dermiszt egy vékony, kompakt réteg, a bazális membrán választja el egymástól, mely bár egy jól definiált és mikroszkóppal is könnyen azonosítható éles határnak

tűnik, ugyanakkor számos sejt (pl. Langerhans sejtek), valamint zsírok és fehérjék számára szabadon átjárható [6].

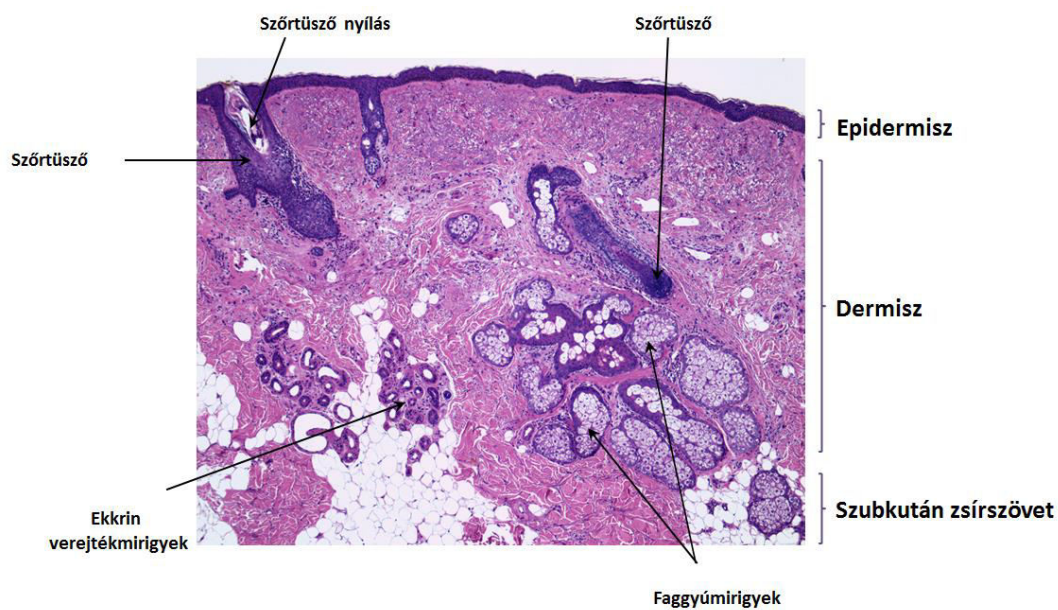
A dermisz legnagyobb számban megtalálható sejtalkotói a fibroblasztok, melyek az extracelluláris mátrixot alkotó fehérjék (kollagén, elasztin és fibronektin) legfontosabb termelői, ezáltal fontos szerepet kapnak a bőr megfelelő szerkezeti struktúrájának és rugalmasságának kialakításában. A dermisz másik kulcsfontosságú sejtípusa az endotélsejtek, melyek alapfeladata a bőrt ellátó erek felépítése, ugyanakkor az általuk termelt adhéziós molekulákon, citokineken és kemokineken keresztül az immunsejtek keringésből való kilépéséhez és a bőrbe történő eljutásához is elengedhetetlenek. Ezek az immunsejtek egyaránt szereplői mind a veleszületett mind pedig a szerzett immunitásnak [2, 3]. A bőr érdekessége ugyanakkor, hogy benne stimulus nélkül is jelen lehetnek immunsejtek, mint az egészséges dermiszben elszórtan megfigyelhető úgynevezett dermális makrofágok, illetve nem ritkán számos limfocita is [1], melyek eredete és szerepe az intenzív kutatások ellenére sem egyértelmű; vélhetően „fenttartó”, illetve memória szereppel bírnak.

A dermiszben, a testtájéki lokalizációval szoros összefüggésben számos ún. járulékos képlet is megtalálható úgy, mint a verejték- az izzadság- a faggyúmirigyek, illetve a hajszáll [4]. A verejtékmirigy széles tekercsek formájában a dermisz alsóbb rétegében található és elsősorban apokrin szekréció jellemzi, mely során nem szabályos exocitózis játszódik le a sejtben, hanem a megtermelt anyag a sejtmembrán egy részével és egy kis apikális citoplazma darabbal kerül ki a sejtből. Kivezető csöve becsatlakozik a faggyúmirigy kivezető nyílásához. Az ún. ekkrin verejtékmirigyek szintén a dermiszben találhatóak, melyek azonban az apokrin mirigyekkel ellentétben nem állnak kapcsolatban a pilosebaceus egységgel, a termelt váladék ürítése pedig diffúzióval történik. A hajszállakat epitélsejtek és kötőszöveti sejtek alkotják. A kötőszövet biztosítja a hajszáll számára az erekkel és az idegekkel való megfelelő összeköttetést, valamint a dermális papilla és a külső gyökérhüvely felépítésében vesz részt. A

szőrtüsző legfontosabb epiteliális része a haj mátrix, mely a dermális papilla mellett helyezkedik el és keratinizációjával kialakítja a hajszál három fő részét: medulla, cortex és kutikula. Mindezek mellett melanocitákat is tartalmaz, mely meghatározza a haj színét [1, 2, 4].

A bőr harmadik, legalsó rétege a szubkután zsírszövet, mely a zsírsejteken kívül szintén tartalmaz idegeket, vér- és nyirokereket [4]. Bár sokáig úgy gondoltuk, hogy ennek a rétegnek szerepe kizárólag a mechanikai- és a hővédelemben van [7], a legfrissebb kutatások messze túlmutatnak ezen és felvetik szerepét a kórokozókkal szembeni védelemben és a bőr gyulladásának szabályozásában egyaránt [8].

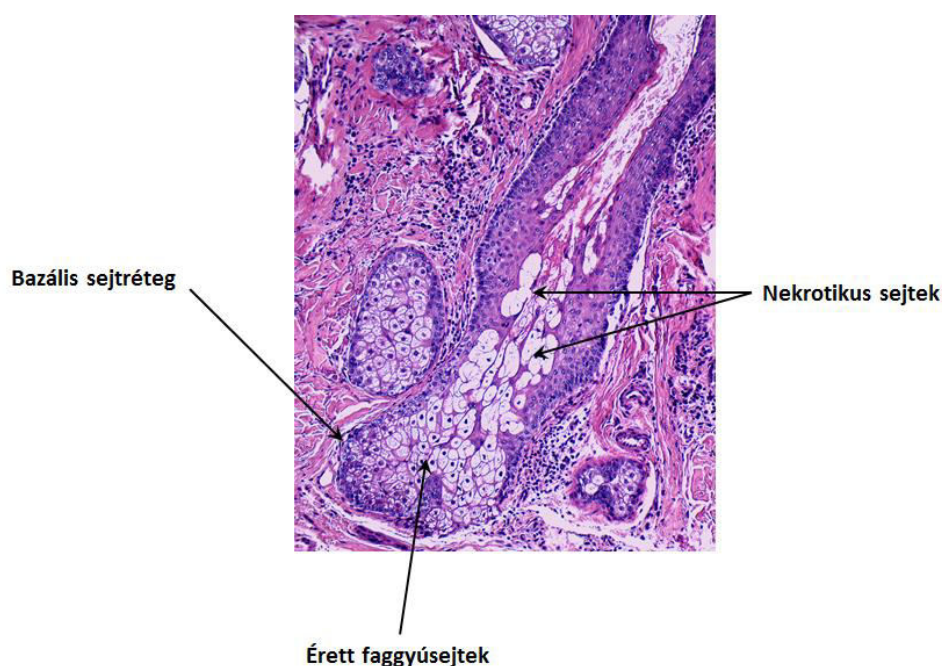
A normál humán bőr szövettani felépítését az 1. ábra szemlélteti.



1. ábra: A normál humán bőr szövettani felépítése. Az általunk elvégzett hematoxilin-eozin festett átnézeti szövettani ábrával a normál humán bőr felépítését kívánjuk szemléltetni, ahol megfigyelhető az epidermisz, dermisz és a szubkután zsírszövet továbbá a szőrtüszők (a szőrtüszőnyílással), a faggyúmirigyek valamint az ekktrin verejtékmirigyek is. Nagyítás: 50X.

3.3. A faggyúmirigy fiziológias működése

A faggyúmirigy, a hajfollikulusokkal együtt a pilosebaceus egységet alkotja [9]. Míg hajsza a test egyetlen területén sincs faggyúmirigy nélkül, addig a faggyúmirigy, ha csak kevés helyen is, de jelen lehet szőrzet nélkül. Ilyen helyek az emberben az ajkak illetve a glans penis széli részei. Mirigy szerkezete három részből áll: a bazális rétegben található proliferáló sejteket az érett faggyúsejtek követik, majd a nekrotikus zónában a teljesen degradálódott, sejtmagjukat elvesztett sejtek találhatók, melyeket leginkább már csak „sejttörmelék”-ként jellemezhetünk (2. ábra) [4].



2. ábra: A faggyúmirigy szerkezete. A faggyúmirigy jellegetesen a bazális rétegben lévő proliferáló sejtekből, érett faggyúsejtekből valamint a nekrotikus zóna elhalt sejtjeiből épül fel. Hematoxilin-eozin festés, nagyítás: 100X.

Ez a szerkezeti tagolódás részben emlékeztet a keratinocitáknál bemutatottakra, melyben az eltérő rétegek jellegzetes morfológiájú és funkciójú sejtekből épülnek fel, ugyanakkor mégis lényegi a különbség: a faggyúmirigy esetében, bár részleteiben kevésbé ismert, de a fiziológias sejthalálnak egy sajátos formája figyelhető meg, mely során a sejtek halála egyben a faggyú kiválasztását is jelenti, értelmet adva a „holokrin szekréció” terminológiának [10], élesen elkülönítve a fentebb bemutatott (izzadság és verejték) mirigyektől.

A faggyúmirigy zsírtermelése

A faggyúsejtek az általuk termelt lipideket a sejten belül ún. lipid cseppek formájában halmozzák fel [11, 12], mely a sejtekből kikerülve létrehozza az ún. faggyút, más néven szébumot. A faggyúmirigy a CD36, a zsírsav transzport protein 4 (FATP4) és a Low-Density Lipoprotein (LDL) receptor segítségével képes felvenni a lipideket a véráramból, majd *de novo* szintetizálni a faggyút alkotó zsírokat [13, 14]. A sejten belüli és szekretált lipidbe acetátot épít be a sejt; a szénlánc hosszabbodásával számos poláris lipidet, végül telített triglicerideket hoz létre. A diglicerid-aciltranszferáz (DGAT) a faggyúmirigy trigliceridjeinek szintézisében szerepet játszó enzim, melynek két izoformáját különítjük el: DGAT1 és DGAT2 [15, 16].

A humán szébum a már bemutatott holokrin szekréció eredménye, mely folyamat során az egész sejt átalakul, a faggyúsejtek teljes mértékben „szétesnek” és a pilosebaceus egység folliculáris csatornájába kerülnek. A szébum fő feladata, hogy bevonja a bőrt illetve a szőrszálakat, ezáltal hozzájárulva a bőr hidrofób védelméhez. Alkotóit tekintve, az emberi szébumra elsősorban a zsírsavak, di-és trigliceridek, viasz-észterek valamint a koleszterin és származékai, mint pl. a szkvalén jellemzőek [17, 18].

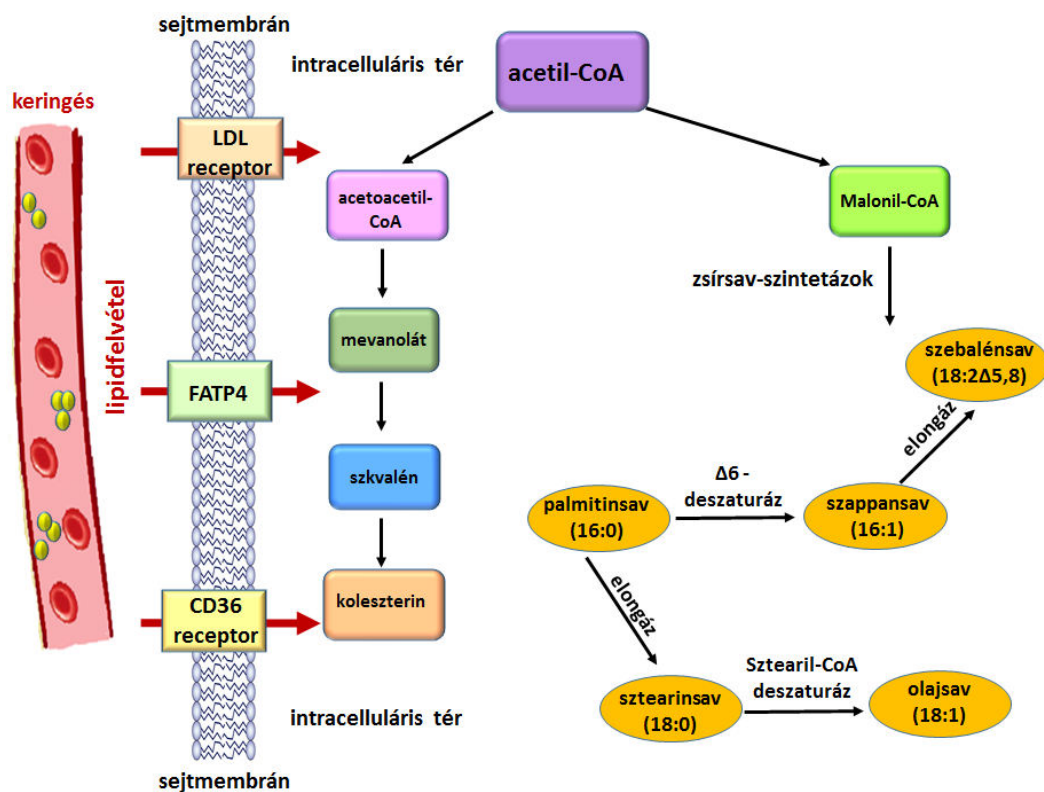
A faggyú által termelt lipidek 2%-át a koleszterin alkotja, ami azonban nem egyedülállóan a faggyúmirigyre jellemző, a test más részein is megtalálható. Minden szénatom, ami a

koleszterin bioszintézisében felhasználásra kerül, acetátból származik [18, 19]. A szkvalén 12%-os arányban fordul elő a humán szébumban. A szkvalén a koleszterin bioszintézis közti terméke, mely a faggyúmirigyekkel ellentétben más szövetek esetében gyorsan átalakul lanoszterollá végül koleszterinné, azonban a faggyú esetében egyfajta szkvalén felhalmozódás figyelhető meg. Ez a faggyúmirigyre jellemző érdekesség kétféle módon magyarázható: egyrészt lehetséges, hogy a szkvalén termelődéséért felelős enzim, a szkvalén szintáz aktivitása magas a sejten belül, másrészt viszont az is elképzelhető, hogy a szkvalén koleszterinné történő átalakításában szerepet játszó enzim szintje vagy aktivitása csökkent [18, 19].

A viasz észterek szintén egyedülállóan a szébumban fordulnak elő, a test más területein termelődésük nem figyelhető meg, mennyiségük ~25%-a a szébum összes zsír mennyiségének [18, 19].

Az imént említett zsírok mellett a telítetlen zsírsavak szintén fontos alkotói a faggyúnak. A sztearil-CoA deszaturáz (SCD) az egyszerűen telítetlen zsírsavak bioszintézisében központi szerepet betöltő enzim, mely elsősorban a sztearil-CoA és a palmitoil-CoA oxidációját végzi, mely zsírsavak szubsztrátként szolgálnak a foszfolipidek, trigliceridek, koleszterin észterek és viasz észterek szintéziséhez [18]. Citoplazmatikus lokalizációja alátámasztja, hogy ez az enzim központi szerepet játszik a lipogenezis folyamatának szabályozásában a faggyúsejtekben is [20]. Az SCD működése során egy kettős kötés épül be a 9. és 10. szénatom közé, létrehozva így a sztearinsavból (18:0) az olajsavat (18:1 Δ 9). A zárójelben a zsírsavak olyan jelölési formája szerepel, ahol a kettősponttal elválasztott két szám közül az első a molekula szén atom számát, a kettőspont utáni pedig a szénláncban lévő telítetlen kötések számát adja meg. A telítetlen kötés helyzetét úgy pontosíthatjuk, hogy Δ jelöléssel megadjuk hanyadik szén atom után helyezkedik el a karboxil vég felől számítva. Míg az SCD a sztearinsav (18:0) olajsavvá (18:1) történő átalakításáért felelős, addig a szintén

deszaturációs aktivitással rendelkező enzim, a $\Delta 6$ -deszaturáz, a palmitinsavból (16:0) szappansavat (16:1) hoz létre [19, 21]. A szappansav szintén kizárólag a faggyúmirigyre jellemző zsírsav, mely nem található meg más állat szőbumában. A szénlánc két szénatommal történő hosszabbításával és egy kettős kötés behelyezésével az 5. és 6. szénatom közé kialakul a szebalénsav (18:2 Δ 5,8), mely megint csak egyedülállóan a humán szőbumra jellemző [19, 21]. Az itt felsorolt folyamatokat, melyek a faggyúmirigyre jellemző zsírok szintéziséért felelősek, a 3. ábra segítségével kívánjuk részletesen bemutatni.



3. ábra: A faggyúmirigyre jellemző lipid profil kialakulásának sematikus folyamata

A lipid profil részletes bemutatásával a faggyúmirigynek egy, az emberre jellegzetes működésére és így az emberi faggyú egyedülállóan sajátos összetételére kívántuk felhívni a figyelmet, mely háttérében álló szabályozó mechanizmusok azonosítása éppúgy érdekes,

mint az, hogy megismerjük szerepét a különböző bőrbetegségekben, ezáltal eddig elképzelhetetlenek hitt távlatokat megnyitva.

Irányok melyek túlmutatnak a pusztán csak a zsírosításért felelős faggyútermelésen

Az elmúlt évek intenzív kutatásai alátámasztották, hogy a szébum a védőfunkció mellett a különböző zsírban oldódó anyagok, mint például lipid szerkezetű, hormonsajátsággal rendelkező molekulák átjutásáért is felelős a bőrben, továbbá jelentős mennyiségben tartalmaz antioxidánsokat is [22]. A legfőbb antioxidáns mely megtalálható a szébumban az α -tokoferol vagy más néven az E vitamin, ami segít a megfelelő, egészséges bőr barrier kialakításában. Alátámasztva a faggyúmirigyek szerepét az E vitamin termelésében, az E vitamin megnövekedett szintje figyelhető meg pl. az arc bőrén, ahol a faggyúmirigyek nagyobb mennyiségben fordulnak elő a test más területeihez képest [23].

A faggyúmirigy központi szerepét erősíti továbbá, hogy nemcsak antimikrobiális tulajdonságú β -defenzineket képes termelni, de *in vitro* adatok alapján hozzájárulhat a természetes fényvédelemhez és a melanociták éréséhez is [18]. Ezeket az eredményeket azonban *in vivo* rendszerekben is szükséges megerősíteni.

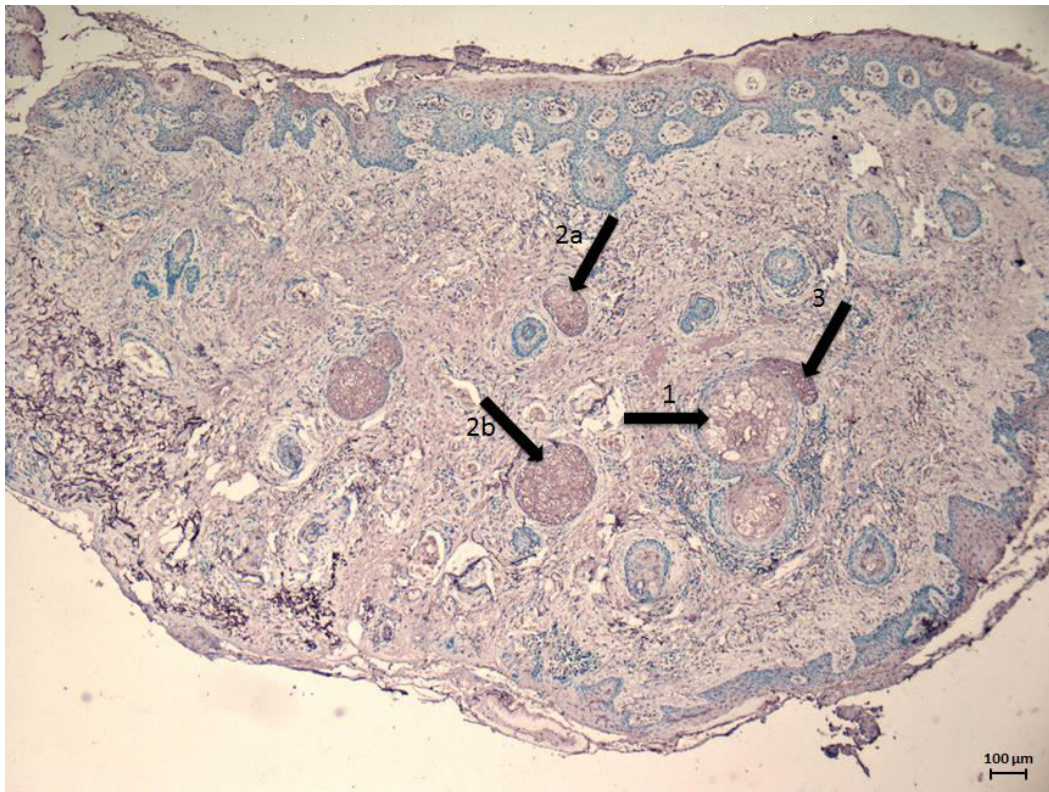
3.4. A faggyúmirigy patofiziológiája

Kísérleti korlátok és lehetőségek

A faggyúmirigy patofiziológiás szerepét mind a megjelenésük, mind pedig a működésük szempontjából számos klinikai megfigyelés és kísérletes eredmény támasztja alá. Ugyanakkor kiemelendő, hogy a bőr egyéb sejttípusától eltérően a faggyúmirigy betegségekben betöltött

szerepének vizsgálatához ezidáig nem sikerült megfelelő állatmodellt találni. Ennek egyik oka, hogy az állatvilágban, az emberhez képest eltérő lipid összetételű faggyú alakult ki. Az állatvilágban a szébumban jellemzően alacsonyabb a szkvalén és magasabb a koleszterin mennyisége, több hosszú, elágazó láncú zsírsavat tartalmaz, illetve ahogy azt már bemutattuk a szappansav és a szebalénsav kizárólag a humán szébumra jellemzőek [18].

A faggyúmirigy tanulmányozása *in vivo* a különböző szövettani metszetek segítségével szintén korlátokba ütközik. Az immunhisztokémiai festések során kapott eredményeket nem csak a minta előkészítése során használt különböző oldószerek befolyásolhatják, de annak is komoly szerepe lehet, hogy a faggyúmirigy mely metszési síkjai kerülnek a látótérben vizsgálatra. Ezt a problémát, mely a különböző fehérjék mennyiségének meghatározását nehezíti meg elsősorban, jól szemlélteti a 4. ábra, ahol egy normál bőrmintán a leptin fehérjét jelöltük meg. Jól látszik, hogy ugyanazon metszeten belül lévő, nagy valószínűséggel hasonló mikrokörnyezettel körülvett faggyúmirigyekben, a jelölés erőssége jelentősen eltér a metszési síktól függően. Az ábrán nyilakkal jelöltük (1, 2. a, 2. b és 3) azt a három faggyúmirigyet, ahol három eltérő festődési intenzitás figyelhető meg.



4. ábra A leptin immunhisztokémiai festése normál humán bőrben. Ugyanazon szövettani minta három különböző faggyúmirigyében három eltérő festődési mintázat figyelhető meg, melyeket az ábrán nyilakkal jelöltünk (1, 2. a, 2. b és 3).

Részben az imént említett problémák miatt (is) a faggyúmirigy működésének tanulmányozására a kutatók különböző faggyúsejtvonalakat hoztak létre, melyek segítségével a sejtek *in vitro* tenyésztethetők, működésük tanulmányozható, így a különböző faggyúmirigyhez köthető betegségek kialakulásának hátterében álló mechanizmusok is jobban megérthetőek. Ilyen faggyúsejtvonal pl. a SEB-1, a Seb-E6E7 vagy a - saját kísérleti rendszerünkben is használt - SZ95 sejtvonal.

Az immortalizált humán SZ95 faggyúsejtvonal létrehozásához a kutatók az arcról származó faggyúsejteket olyan plazmiddal transzfektálták, amely a Simian virus-40 (SV-40) nagy T antigénjének kódoló régióját tartalmazta [24]. A sejten belül az SV-40 nagy T antigén a proliferációt gátló molekulákkal (p53, DNS polimerázok és transzkripció faktorok)

komplexet alkot ezáltal a sejtek megőrzik osztódási képességüket [25, 26]. A transzfektálás után az SZ95 faggyúsejtek karakterizálása is megtörtént, mely során megállapították, hogy a sejtvonalban minden, a lipid szintézishez fontos sejtalkotó, az intracelluláris androgén metabolizmushoz szükséges enzimrendszer (úgy, mint az androgén receptor illetve a 3β -hidroxiszteroid dehidrogenáz/ Δ^{5-4} izomeráz enzim), továbbá a legfőbb lipidek (szkvalén, viasz észterek, trigliceridek és szabad zsírsavak) egyaránt kifejeződnek [24, 27].

Az immortalizált sejtvonalakon kívül lehetséges primer faggyúsejtek használata is, azonban ezek a sejtek jellemzően maximum 3-6 passzálást képesek túlélni és a passzálások előrehaladtával egyre nő a már differenciálódott sejtek száma, miközben az osztódni képes sejtek mennyisége fokozatosan lecsökken, jelentős heterogenitást eredményezve a használt kultúrákban [28].

Rendelkezésre álló állatmodellek a patológiás faggyúműködés tanulmányozáshoz

Régi alapkérdése a faggyúmirigy biológiának, hogy a faggyúsejtek milyen szerepet tölthetnek be a haj kialakulásában, illetve növekedésében. A feltevés arra az alapmegfigyelésre épül, hogy a faggyúmirigy mérete a haj ciklusával szinkronban változik, legnagyobb méretűvé a haj ún. telogén fázisában válik, illetve a már korábban említett jelenségre, hogy szőrszál nincs faggyúmirigy nélkül.

Az ún. meztelen (nude) egér modellel próbálták a faggyúmirigy szőrzetnövekedésben betöltött szerepéhez közelebb jutni és ebből kifolyólag került számos kutató intézet „eszköztárába”. A háttérben álló megváltozott gén egy, a forkhead fehérjék családjába tartozó transzkripciós faktort kódol; a *Foxn1* (forkheadbox N1, korábbi nevén *Whn* vagy *Hfh11*) gén elhelyezkedése egerekben a 11-es kromoszómára, emberben a 17-es kromoszómára lokalizálódik [29, 30]. Egerekben öt allél mutációja lett azonosítva, melyek fenotípusukban megegyeznek: (*Foxn1^{nu}*, *Foxn1^{nu-Bc}*, *Foxn1^{nu-str}*, *Foxn1^{nu-Y}*, and *Foxn1^{nu-StL}*) [31, 32]. Érdekes

módon, a „nude” egér szőrzetének hiánya nem jár együtt a hajhagymák számának csökkenésével/hiányával, továbbá a dermális/follikuláris fibroblasztok valamint a szőrtüsző keratinocitái is lényegében épek. Eltérés az epidermális keratinociták abnormális alakjában figyelhető meg csupán, mely azt eredményezi, hogy a stratum corneum lamellái egyenetlenek és könnyen elválhatnak egymástól [33]. Ami a faggyúmirigyeket illeti, morfológiájukat tekintve változatlanok, elhelyezkedésüket tekintve azonban azt a látszatot keltik, hogy laterális irányban némileg eltolódtak, ami a kitágult infundibulumokkal (szőrtüszőnyílásokkal) hozható összefüggésbe [31]. Így az adott mutációt hordozó egérmódellet sokkal inkább a kecsgetető lehetőségek, mintsem a valós relevancia állította a figyelem középpontjába.

Bár a faggyúmirigy működésének megértéséhez a rágcsálók (patkány illetve egér) preputiális mirigyeiből származó faggyúsejtek használata ugyancsak elterjedt, azonban több szempontból szintén limitált. Ezek a mirigyek ugyanis nem kapcsolódnak hajszálakhoz, az általuk termelt szébum lipidösszetétele pedig nagyban különbözik az emberekben megfigyeltektől [34].

A hörcsög lágyéki területein és fülében lévő faggyúmirigyek már nagyobb hasonlóságot mutatnak a humán faggyúmiriggyel: felépítésükben megtalálható az infundibulum, a faggyúmirigy kivezető csöve és az összetett lebenyek is [35], androgénekre szintén képesek reagálni, illetve a kutatásban való felhasználhatóságuk mellett szól az is, hogy az állat testéről a szőrt leborotválva különböző gyógyszerek topikális alkalmazása is lehetséges [36]. Ezen tulajdonságok az alapkutatás szempontjából kétségtelenül rejtnek lehetőségeket, de emberre vonatkozó következtetéseket könnyelmű lenne pusztán ezekre az eredményekre alapozni.

A faggyúsejtek osztódásának kóros szabályozása

A fentebb bemutatott egérmodellekkel szembeni csalódottságot részben megmagyarázták, de ami még lényegesebb, hogy új irányt is kijelöltek azok a vizsgálatok melyek a Wnt útvonal szerepét azonosították a faggyúsejtek osztódásában és differenciálódásában [37].

Az ún. kanonikus Wnt útvonal talán az egyik legfontosabb jelátviteli folyamat, mely a faggyúmirigy kialakulásában vesz részt. A Wnt szignalingban ligand hiányában a glikogén szintáz kináz 3 (GSK3) foszforilálja a β -katenint, mely a proteoszóma rendszerben lebomlik. Ligand jelenlétében azonban a kináz kikapcsol, a citoplazmában pedig fészaporodik a β -katenin és egy küszöbértéket elérve a sejtmagba transzlokálódik ahol transzkripciós faktorokhoz (transcription factor [TCF]/ lymphoid enhancer-binding factor 1 [Lef1]) kötődik [38]. Ezek a transzkripciós faktorok a c-myc, cyclin-D1 és az E-cadherin, sejtciklust szabályozó génekre hatnak [39]. Ha a Lef1 funkcionálisan blokkolt, a haj folliculus őssejtek faggyúmiriggyé történő differenciálódása következik be [40]. Ami a Wnt/ β -katenin útvonal faggyúsejtek differenciálódásában betöltött szerepét illeti, egymással ellentétes hatásúak. Transzgénikus egérkísérletekben a c-myc és a β -katenin egyszerre történő aktiválásakor kölcsönös antagonizmust figyeltek meg: a c-myc gátolta a β -katenin által szabályozott haj folliculus kialakulását, a β -katenin pedig csökkentette a c-myc révén szabályozott sebocita differenciációt [41]. A károsodott Wnt útvonalnak a faggyúmirigy differenciálódásban és a daganatok kialakulásában betöltött szerepét emberben is megerősítették [42-44].

A faggyúmirigy gyulladásoos válasza

A faggyúmirigy számos ún. mintázat felismerő receptorral rendelkezik (Toll-like receptor [TLR] 2, 4 és 6) melyek aktiválódásával a pro-inflammatórikus citokinek (IL-1 β , IL-6, vagy a TNF- α), kemokinek (IL-8), antimikrobiális lipidek, peptidek valamint a periglanduláris

peptidek és neuropeptidek (további) fokozott termelése figyelhető meg [45]. Ezen fehérjék közül mind az *in vivo* vizsgált faggyúmirigyekben, mind pedig az SZ95 faggyúsejtekben általánosan jellemző az IL-6 és az IL-8 jelenléte, melyek termelődése lipoxigenázok (LOX) vagy arachidon sav jelenlétében tovább fokozódik [46].

A faggyúmirigyek az intenzív lipidmetabolizmusukat is képesek a gyulladáshoz válaszul kialakítására használni, olyan mediátorok termelésével, mint különböző leukotriének (LT), prosztaglandinok (PG) vagy a 15-hidroxi-eikozá-tetraenolsav. A Δ 6-deszaturáz és a Δ 5-deszaturáz kulcsfontosságú enzimek a többszörösen telítetlen zsírsavak, mint pl. az arachidon sav szintézisében is, mely a pro-inflammatórikus eikozanoidok (pl. leukotrién A₄ [LTA₄], B₄ [LTB₄] és prosztaglandin E₂ [PGE₂]) prekursorául szolgál [46, 47]. Ezek a gyulladáshoz mediátorok arachidon savból vagy linolsavból a cikloxigenáz (COX) és a LOX enzimek segítségével szintetizálódnak. A COX enzimnek két izoformáját különböztetjük meg (COX-1 és COX-2), melyek szintén megtalálhatóak a faggyúsejtekben, sőt az aknés betegek faggyúmirigyében a COX-2 expressziója jelentősen megemelkedik *in vivo* is [48]. A leukotriének nem csak pro-inflammatórikus szabályozó molekulák, de kemoattraktáns hatásuk is ismert számos immunsejtre. SZ95 faggyúsejtekben mRNS és fehérje szinten egyaránt megfigyelhető a LOX és az LTA₄ hidroláz expressziója, mely enzimek az LTB₄ szintézisében töltenek be fontos szerepet [46].

A fent említett gyulladáshoz mediátorok, enzimek és fehérjék termelésén túl a faggyúmirigy különböző neuroendokrin/neuromediátor folyamatba is integrálható a neuropeptideken és periglanduláris peptideken keresztül, melyek különböző idegrendszeri folyamatok révén fejtik ki (pato)fiziológiás hatásukat a bőrben [49]. A kortikotropin-felszabadító hormon (CRH)/propiomelanokortin (POMC) rendszer a bőrben lejátszódó stressz folyamatok egyik legfőbb szabályozója [50]. Normál és aknés bőr faggyúmirigyében továbbá SZ95 faggyúsejtekben egyaránt megfigyelhető a CRH, a CRH-kötő fehérje (CRH-BP) valamint a CRH receptor 1

(CRH-R1) jelenléte, melyek androgénekkal, ösztrogénekkal és növekedési hormonnal együttesen a lipidtermelés fokozásáért felelősek [51]. A faggyúsejtekre nézve a CRH hatása inkább pro-inflammatórikusnak tekinthető (mivel indukálja a gyulladáshoz szükséges citokinek termelődését), szemben az α -melanocita stimuláló hormonnal (α -MSH) illetve az α -MSH-ből származó tripeptiddel (KdPT), amelyek csökkentik azt [52]. A faggyúsejt *in vitro* és *in vivo* egyaránt képes melanokortin peptidok előállítására, melyek a melanokortin receptorokon (MC-R) keresztül fejtik ki (elsősorban) immunmoduláló hatásukat [53]. További érdekesség, a substance P neuropeptid megjelenése gyulladt faggyúmirigy körül lévő idegrostokban felvetve ezzel, hogy az idegi eredetű gyulladáshoz kapcsolódó folyamatok és a faggyúmirigy működése is összekapcsolódhat [54].

A faggyúmirigy betegségekhez társuló kóros működése

Akné

Az akné, a pilosebaceus egység gyulladása, az egyik leggyakoribb bőrbetegség, mely egyes tanulmányok szerint a serdülők 90%-át érinti, de a tünetek közel 20%-ban felnőttkorban is megmaradnak [55]. Legfontosabb klinikai jellemzői a gyulladáshoz kapcsolódó comedók, papulák, pustulák és ciszták kialakulása a faggyúmirigyben gazdag bőrterületeken, azaz jellemzően az arcon, mellkason és a háton. A faggyúmirigy mellett a keratinocitáknak csakúgy, mint az immunsejteknek, elsősorban makrofágoknak és Th17 limfocitáknak, egyaránt fontos szerep jut a gyulladáshoz [56]. Szövettanilag a faggyúmirigy „szétrobbanása” jellemző, mely során jelentős gyulladáshoz kapcsolódó sejtinfiltrátum alakul ki és megemelkedik az IL-1 β és az IL-17A citokinek szintje. Az IL-17 olyan, elsősorban a Th17 sejtek által termelt kulcsfontosságú citokin, mely az IL-6 és a signal transducer and activator of transcription-3 (STAT3) útvonalon keresztül egyrészt fokozza a keratinociták proliferációját, másrészt a

follikuláris keratinociták homeosztázisának felborulását eredményezi [57]. Ezenkívül számos hipotézis a *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) -t is kulcsfontosságúnak tekinti az akné kialakulásában [58, 59]. A legelfogadottabb elmélet szerint a pilosebaceus egység nyílásának elzáródása a keratinociták által és így a szébum kiürülésének megakadályozása, melyben a *P. acnes* mint a keratinociták osztódását és gyulladását befolyásoló stimulus lehet fontos az akné iniciációjában [60, 61]. Az, hogy a *P. acnes* képes-e ténylegesen kapcsolatba kerülni a faggyúsejtekkel továbbra is vitatott, ugyanakkor különböző termékei (pl. az általa termelt lipázok) kétséget kizáróan hatással lehetnek a faggyúmirigyre is. Kísérletes adatok alapján a *P. acnes* nemcsak az NLR Family, pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammaszóma aktivitását és így az IL-1 β termelődését fokozza, de a TLR2 útvonalon keresztül növeli az IL-8, IL-12 és TNF- α szinteket is éppúgy a faggyúsejtekben, mint a makrofágokban [62]. A betegség kialakulásában a megváltozott hormonális hatások szerepe szintén megkérdőjelezhetetlen, magyarázatot adva arra, hogy az akné miért jellegzetesen a serdülőkor megbetegedése. Ezen tényezők ugyanakkor mégsem elegendők a folyamat teljes megértéséhez, hiszen a *P. acnes* az egészséges bőrmikrobiom része, a hormonális hatások pedig a későbbi életkorban is jelen vannak akkor, amikor az aknés tünetek már elmúltak [63, 64]. Az intenzív kutatómunka ellenére, a háttérben álló ok(ok) és azok kapcsolata jelenleg éppúgy nem tisztázottak, mint ahogyan az sem, hogy mi vezet a faggyúmirigy megnövekedett szébum termeléséhez, illetve az aknés bőr szébum összetételének megváltozásának lehet-e kóroki szerepe. Utóbbira az alábbiakban kívánunk részletesebben kitérni.

Az aknéval kapcsolatos vizsgálatok csökkent linolsav mennyiséget mutattak ki az érintett betegek bőrében, mely alapján jogos a feltételezés, hogy a linolsav közvetlenül részt vesz a faggyúmirigy lipid szintézisében, továbbá ez a csökkent linolsav mennyiség befolyásolhatja a szfingolipidek összetételét a follikulusokban [17]. Aknés betegek esetében az acil-ceramidokat tartalmazó linolsav mennyisége alacsonyabb százalékban figyelhető meg.

Továbbá, a szfingolipidekben bekövetkező linolsav depléciónak lehet felelős a follikuláris hiperkeratinizáció folyamatáért, amely központi szerepet tölt be az akné kezdeti fázisára jellemző comedok kialakulásában [65].

Számos tanulmány szignifikáns eltérést mutatott ki a telített és telítetlen zsírsavak arányában is. Az aknés betegek bőrfelszínén elsősorban a C16:0/C16:1 trigliceridek és viasz-észterek aránya magasabb. A szebogenezisben és az akné kialakulásában a tünetek súlyosbodása és a megnövekedett szébum termelés mellett kiemelt szerepe van a zsírsavak deszaturációjának, melynek következtében megváltozik az egyszeresen telítetlen zsírsavak mennyisége és aránya [17]. A különböző zsírsavak arányában bekövetkező változás bizonyos specifikus deszaturáz enzimek (pl. zsírsav-deszaturáz [FADS2]) aktivitásának és/vagy a faggyúmirigy túlzott szébum szekréciójának eredménye, melyek együttesen indukálhatják az akné kialakulását [66].

A gyulladáshoz vezető folyamatok és a comedok kialakulásában a lipid peroxidoknak is jelentős szerepet tulajdonítanak, mivel a gyulladáshoz vezető léziókban a lipidek peroxidációjának mértéke emelkedett a nem gyulladáshoz vezető léziókkal összehasonlítva [67]. *In vitro* kísérletek kimutatták, hogy a szkvalén peroxidációja illetve a keratinociták proliferációjának fokozódása hozzájárul olyan gyulladáshoz vezető mediátorok emelkedéséhez, mint az IL-6. A peroxidálódott szkvalén miatt kialakult oxidatív „teher” hatására megnő a citotoxikusság és nagyobb eséllyel jelennek meg a comedok [68]. A bőr a peroxidált szkvalén káros hatásainak kivédésére egy belső védelmi rendszert épített ki. A szébum által termelt E vitamin fontos antioxidáns szerepet tölt be a bőrben. Az aknés betegek szébumában a szkvalén peroxidok megnövekedett mennyisége valamint az E vitamin szint csökkenése figyelhető meg [69].

Klinikai és kísérletes megfigyelések egyaránt rávilágítottak arra, hogy az androgének is központi szerepet töltenek be az akné patofiziológiájában. Az androgének lokálisan termelődnek a faggyúmirigyben egy, a mellékveséből származó prekursor hormonon, a

dehidroepiandroszteron szulfáton (DHEAS) keresztül. A tesztoszteron és a dihidrotesztoszteron a legfontosabb androgének, melyek kapcsolatba lépnek az androgén receptorral a faggyúmirigyben [70]. Az akné kialakulásában betöltött fontos szerepüket az alábbi klinikai megfigyelések támasztják alá: 1) az ún. korai akné a prepubertás időszakban alakul ki, amikor is a szérumban a DHEAS szintje emelkedett; 2) a tesztoszteron és a DHEAS szisztémás alkalmazása növeli a faggyúmirigyek méretét és az általuk termelt szébum mennyiségét; 3) a súlyos aknéban szenvedő betegek szérumban gyakran emelkedett DHEAS szint figyelhető meg [71].

Habár ismert, hogy az androgénnel szemben az ösztrogének csökkentik a szébum termelését, a folyamat háttérében álló pontos mechanizmusról keveset tudunk. Egyes feltételezések szerint az ösztrogén közvetlenül antagonizálhatja az androgének hatását, egy negatív visszacsatolás segítségével gátolhatja az ivarmirigyekben történő termelődését esetleg közvetlenül szerepe lehet a zsírtermelésben szerepet játszó gének szabályozásában [45, 72].

A fent említett zsírokon kívül az akné kialakulásával összefüggésbe hozható az inzulin-szerű növekedési faktor (IGF) és a növekedési hormon is, mivel ezek szérumban emelkedett szintűek a serdülőkorban, amikor az akné kialakulásának esélye a legnagyobb [49]. Továbbá a neuropeptidek közül a substance P expressziója is fokozódik az aknéban érintett faggyúmirigy körül, mely hatására kísérletes körülmények között megnőtt a faggyúmirigy mérete és az összmennyisége is a dermiszben [54].

Seborrheás dermatitis

A *seborrheás dermatitis* a faggyúmirigy gyulladással járó betegsége, elsősorban a test azon részeit érinti, ahol nagy számban fordul elő faggyúmirigy, pl. szemöldök, fejbőr vagy a törzs felső része. Jellemző tünetei a bőr gyulladása, pirossága, viszketése illetve korpás lerakódás. Kialakulásának pontos oka eddig ismeretlen, számos tényező befolyásolhatja, mint pl. a

Malasseiza élesztőgomba jelenléte a fejbőrön továbbá a stressz, fáradtság, táplálkozás vagy neurológiai állapotok is felmerültek kóroki tényezőként [73, 74].

Rosacea

A *rosacea* a bőr krónikus gyulladós megbetegedése, mely során az orron, arcon, állon illetve a szemek körül a bőr kivörösödik, majd az arcon illetve a nyakon értágulatok jelennek meg, nem ritkán gyulladt gennyet tartalmazó csomókkal. Mivel a tünetek a faggyúmirigyekben gazdag területeken jelennek meg, ezért óhatatlanul is felvetődik a kérdés hogy a *rosacea* is a faggyúmirigy megbetegedéseihez sorolható-e [75, 76]. A feltevést ugyanakkor nagyban megcáfolják a szövettani vizsgálatok eredményei, mely a gyulladós szöveti infiltrátumot csaknem valamennyi esetben nem a faggyúmirigyek körül találják, hanem subepidermálisan, sőt a faggyúmirigyek körül nem ritkán látványosan hiányzik is a gyulladás.

Sebaceous hiperplázia

A *sebaceous hiperplázia* esetében az arcon sárgás, fényes duzzanatok jelennek meg és elsősorban újszülötteknél, illetve közép vagy időskorú embereknél figyelhető meg. Kialakulásának hátterében elsősorban genetikai faktorok feltételezhetőek, de érdekes megfigyelés, hogy az érintettek gyakran cyclosporin kezelés alatt állnak [77, 78].

Sebaceoma és sebaceous karcinóma

A *sebaceoma* a faggyúmirigy jóindulatú daganata, míg a *sebaceous karcinóma* már a malignusan transzformált faggyúsejtekből kiinduló tumor, ahol a sejtek agresszív differenciálódási folyamatokon mennek keresztül. Mindkét daganat előfordulása rendkívül

ritka az emberben. Humán sebaceous adenomában és sebaceomában egyaránt kettős nukleotid mutáció került leírásra a *lefl* gén β -katenint kötő doménjában, melyek faggyúsejtosztódásban betöltött szerepét korábban már részleteztük [78, 79].

3.5. A zsírszövet és a faggyúmirigy közötti hasonlóság

A faggyúmirigy működésének egyik központi és talán egyben legérdekesebb kérdése, hogy mennyire állítható párhuzamba a szintén elsődlegesen zsíryanycserét folytató zsírsejtekkel, melyek hasonlóan képesek sejtszinten összekapcsolni a gyulladást a zsíryanycserével.

A párhuzam olyan, már a zsírsejtek differenciálódásában kulcsfontosságú transzkripciós faktorok szintjén is megjelenik, mint a CCAAT/enhancer binding proteinek (c/EBP) és a PPAR-ok [80, 81]. A zsírsejtek terminális differenciációjának irányításáért e két transzkripciós faktor egymással való szoros együttműködése elengedhetetlen, ahol a kezdeti szakaszban a c/EBP- β és a c/EBP- δ magas szintje figyelhető meg, mely egyúttal a PPAR γ fokozott expresszióját is eredményezi, míg a c/EBP- α „fenntartó” szereppel bír a késői fázisban [82, 83]. Humán bőrben, a szőrtüsző dermális és epitéliális sejtjeiben szintén azonosították a c/EBP- α , - β , - δ -t, melyek közül különösen magas mennyiségben a c/EBP- β volt megfigyelhető a haj folliculusokban és a faggyúmirigyben. *In vivo* és *in vitro* vizsgálatok egyaránt alátámasztották, hogy a c/EBP- α és - β a faggyúmirigy bazális sejtrétegében található meg, ami arra enged következtetni, hogy a differenciáció kezdeti szakaszában tölt be fontos szerepet [84]. Ez az expressziós profil részben eltérő a zsírsejtek esetében megfigyeltektől, amit magyarázhat az, hogy a sejtek által termelt lipidek sorsa más; míg a zsírsejtek a sejten belül felhalmozzák az előállított zsírokat, addig a faggyúsejtek ürítik azt.

A PPAR-ok a retinoid X receptorral (RXR) heterodimert alkotva a DNS meghatározott válaszadó elemeihez kötődnek és képesek közvetlenül szabályozni célgénjeik átíródását.

Három különböző izotípusát különböztetjük meg a PPAR-oknak (α , β/δ , γ), melyek mindegyike megtalálható a bőrben és a faggyúmirigyben egyaránt [85]. A PPAR γ megjelenése a zsírszövet differenciálódásában kulcsfontosságú, de a bőrspecifikus knock out egereken végzett kísérletek azt is igazolták, hogy a funkcionális PPAR γ receptor szükséges a faggyúmirigy megfelelő fejlődéséhez is [86].

Miután beigazolódott a c/EBP és PPAR transzkripciós faktorok központi szerepe a faggyúsejtek differenciálódási és lipid termelési folyamataiban, további vizsgálatok számos más zsírsejt specifikus transzkripciós faktort azonosítottak. Szintén az RXR receptorral képez heterodimert és a PPAR-okhoz hasonló mechanizmussal képes szabályozni a génkifejeződést (bár részben eltérő célgéneken keresztül) az LXR is, mely szintén jelen van a faggyúmirigyben [87]. Ahogy a PPAR úgy az LXR is kulcsszabályozója a sejtszintű zsírsavcsereének a különböző, általuk szabályozott ABC transzporterekén, zsírmatabolizáló enzimeken és egyéb transzkripciós faktorokon keresztül, mint például a sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c). Az SREBP1c nemcsak szabályozza a teljes triglicerid mennyiséget a szébumban, de a Δ^6 -deszaturáz és a sztearil-CoA deszaturáz enzimeket kódoló gének kifejeződésének szabályozásán keresztül növeli az egyszeresen telítetlen zsírsavak mennyiségét is [88], melynek jelentőségét korábban már részleteztük.

A pre-adipocita sejtekben azonosított galectin-12, melynek fokozott expressziója a sejtciklus G1 fázisban történő megállításaért felel, továbbá a c/EBP- α , - β , a PPAR- γ , valamint a SREBP-1c transzkripciós faktorok szabályozója is szintén megtalálható a faggyúmirigy bazális rétegét alkotó sejtek magjában és citoplazmájában [20, 84, 85].

A resistin a zsírsejtek érésének további markere, nemcsak a zsírsejtek differenciálódási és proliferációs folyamatainak szabályozásáért felelős [89], de a zsírsavak felvételét és metabolizmusát is kontrollálja [90]; expressziós szabályozását a c/EBP- α valamint a SREBP-1c transzkripciós faktorok befolyásolják [91]. A faggyúmirigy bazális sejtrétegeiben való

lokalizációja arra enged következtetni, hogy a faggyúsejtek esetében is (csak úgy, mint a zsírsejtekénél), szintén differenciálódási és proliferációs folyamatok szabályozásáért tehető felelőssé [20].

A faggyúsejtek a zsírsejtekhez hasonlóan a differenciálódási folyamatok során (ahogy erről már korábban írtunk) az előállított nagy mennyiségű zsírokat citoplazmatikus vezikulumokban, ún. lipid cseppekben tárolják, melyek széli részein különféle fehérjék vannak jelen [11, 12]. A perilipinek (PLIN) csoportjába számos fehérje tartozik, melyek mind olyan foszfoproteinek, amelyeket a zsírsejtek esetében azonosítottak, lipid metabolizmust, lipogenezist és lipolízist szabályozó faktorként [92]. Vizsgálatok *in vivo* kimutatták a perilipin jelenlétét hörcsög faggyúmirigyében valamint *in vitro* differenciálódott faggyúsejtekben is a lipid cseppek felszínén [93, 94]. A perilipin A expressziója nem a bazális sejtsorban lévő sejtekre, sokkal inkább a suprabazális réteg sejtjeire jellemző, ahol a lipid cseppek a legnagyobb mennyiségben figyelhetőek meg összhangban azzal, hogy ezek a sejtek már készen állnak a szébum leadására. További kutatások a perilipin család számos tagját azonosították humán faggyúmirigyben is, melyek expressziója eltérő volt attól függően, hogy a sejtek a differenciálódási folyamat mely fázisában tartottak [12]. A legmagasabb szinten kifejeződő a PLIN2 volt melyet, ha kísérleti körülmények között lecsökkentettek az SZ95 faggyúsejtekben, akkor csökkent a lipogenezis. Hasonló eredmények voltak a PLIN2 knock out egérben (*Plin2^{-/-}*) is, ahol kevesebb sejt volt megfigyelhető a faggyúmirigyben, mely összességében kisebb faggyúmirigyet és szignifikánsabban kevesebb proliferáló sejtet jelentett [12].

3.6 Adipokinek

A fehér zsírszövet elsődleges feladata a felesleges tápanyag trigliceridek formájában történő raktározása [7]. Felépítésében az adipocitákon kívül számos más sejttípust is tartalmaz úgy, mint a preadipocitákat, limfocitákat, makrofágokat, endotélsejteket és fibroblasztokat [95]. Működését tekintve egy rendkívül dinamikus szerv, mely az általa termelt és a keringésbe eljuttatott fehérjéken, az ún. adipokineken keresztül számos (pato)fiziológiai és metabolikus folyamat szabályozásában vesz részt mind a környező szövet, mind pedig a szervezet egésze szintjén. Az adipokinek családjába tartozó fehérjék közül ezidáig csupán az IL-6, az IL-8 [46] (melyeket már érintettünk a faggyúmirigy gyulladást szabályozó szerepének bemutatásakor) és a resistin lett azonosítva a faggyúsejtben [20].

Az adipokinek családjának tagjait leggyakrabban az alábbi szempontok szerint kategorizáljuk:

- 1) klasszikus citokinek (pl. IL-6);
- 2) a vérnyomás és a lipid metabolizmus szabályozásában szerepet játszó fehérjék (pl. apelin és RBP4);
- 3) az erek valamint a glükóz homeosztázisban fontos fehérjék (plazminogén aktivátor inhibitor-1 [PAI-1], leptin, adiponektin, resistin, visfatin);
- 4) kemoattraktáns tulajdonsággal bíró adipokinek (chemerin és MCP-1)

Mivel a legtöbb adipokin hatása nem kizárólag egy sejtre vagy egy folyamatra irányul, ezért csoportosításuk talán relevánsabb, ha a gyulladásra kifejtett hatásuk alapján történik, megkülönböztetve ezzel így pro- és anti- inflammatórikus hatású adipokineket. A pro- és anti-inflammatórikus adipokinek arányának felborulása számos metabolikus rendellenesség kialakulásához vezet, mely közül az adipokinek obezításban és az ahhoz kapcsolódó

szisztémás gyulladásban betöltött szerepe az egyik legintenzívebben kutatott terület napjainkban.

A következő részben egy-egy példán keresztül kívánjuk bemutatni a legismertebb adipokinek gyulladásban betöltött szerepét a teljesség igénye nélkül, hisz csaknem lehetetlen kitérni valamennyi, többféle sejttípus, patológiai környezet és betegség modell szemszögéből történt vizsgálatok eredményeire. Ugyanakkor pont ez a komplexitás az, ami rámutat az adipokinek kulcsszerepére és izgalmassá teszi a bőrgyógyászati kutatás számára is.

A pro-inflammatorikus adipokinek celluláris és szisztémás hatása

IL-6

Az IL-6 az első olyan inflammatorikus mediátor volt, melyet a monociták, makrofágok, endotélsejtek, keratinociták és fibroblasztok mellett a faggyúsejtekben is azonosítottak gyulladással stimulálva a bőrben [46, 96]. Endokrin, parakrin és autokrin módon egyaránt képes aktiválni a Janus tirozin kináz 2 (JAK2), STAT-1, STAT3 illetve a mitogén aktivált protein kináz (MAPK) útvonalakat [97]. Célsejtjeire kifejtett hatásainak széles a palettája; a B sejtek differenciálódásának és plazmasejteké váló érésének indukciója [98], a naiv CD4⁺ T sejtek effektor T sejtekké történő differenciálódása [99], vagy a keratinociták proliferációjának és a dermális fibroblasztokban a kollagén szintézisének fokozása [96] mind hozzájárul az IL-6 kulcsszerepéhez számos bőrgyógyászati gyulladással járó kórképben. Szérumban mérhető szintje nem csak a testtömeg növekedésével, de a plazma szabad zsírsav arányának megemelkedésével is párhuzamosan növekszik [100].

Leptin

Az *obez (ob)* gén által termelt leptin mint az ún. „jóllakottság érzet hormonja” lett azonosítva és csaknem azonnal mind a tudományos, mind pedig az általános érdeklődés középpontjába került. A fehér zsírszövet a fokozott zsírfelvételének hatására jelentős mennyiségben szabadít fel leptint, ami a keringés útján eljut a hipotalamuszhoz is, melyen keresztül az étvágyat képes szabályozni, jóllakottság érzetet kiváltva ezzel [101]. Ugyanakkor más útvonalakon keresztül is szerepet játszik az anyagcsere és így a testtömeg szabályozásában azáltal, hogy képes az energia felhasználást is stimulálni.

A leptin receptornak hat különböző „splice” variánsát különböztetjük meg (Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re és Ob-Rf), melyek közül egyedül a hosszú izoformának (Ob-Rb) van biológiai hatása [102]. Leptin jelenlétében az Ob-Rb JAK2 és a STAT3 szignáltranszdukciós útvonalat aktiválja. Ugyanakkor a JAK2 és STAT3 útvonalakon kívül ez a receptor képes a MAPK család tagjainak (p38 MAPK) valamint a stressz-aktivált protein kináz c-Jun N-terminális kináz (JNK) szabályozására is [103, 104]. A fent említett jelátviteli útvonalak közös végpontja a nukleáris faktor kappa-könnyű-lánc-enhanszer aktivált B-sejtek (NF- κ B) transzkripciós faktor, mely a gyulladós citokinek transzkripciójának legfőbb szabályozója. Ez a jelátviteli kaszkád felelős például a leptin pro-inflammatórikus citokinek (TNF- α , IL-6 valamint IL-12), CC-kemokin ligandok (CCL3, CCL4 és CCL5) és a reaktív oxigén gyökök (ROS) termelődésének fokozására a monocita/makrofágokban, fokozva ezzel nem csak a sejtek immunválaszát, de elősegítve a sejt proliferációt és migrációt is [105, 106]. A T sejtek esetében az anti-inflammatórikus Th2 citokinek pl. az IL-4 termelődését képes gátolni, miközben indukálja a pro-inflammatórikus citokinek, mint az IL-2 és IFN- γ felszabadulását [107]. Újabb eredmények a Th17 irányú T sejt polarizációban is központi szerepét találták [108], mely sejtcsoport jelenléte számos bőrgyógyászati megbetegedésben úgy, mint az aknéban is ismert.

Ahogy már utaltunk rá, a vérben lévő leptin kulcsszerepet tölt be a zsírsanyagcsere és a gyulladás összekapcsolásában, mennyisége pozitív korrelációt mutat a testtömeg indexszel (BMI) és az adipociták méretével egyaránt [109]. A leptin közvetlen befolyással lehet az inzulin érzékenységre is, ugyanis leptin (*ob/ob*) deficiens egerekbe leptint juttatva szignifikánsan csökkentette a szérumban a glükóz mennyiségét és elősegítette a glükóz mediált inzulin szekréciót [110].

A leptin (*ob/ob*) és a leptin receptor deficiens (*db/db*) egereket nem csak az extrém obezitás jellemzi, de számos más rendellenesség is megfigyelhető csakúgy, mint az ismert leptin hiányos betegek esetében, akik nem csak (a vártak megfelelően) jelentősen obezok, de kórházi ellátásukra gyakran szepszis miatt kerül sor. Ez ugyanakkor csak első hallásra tűnik meglepőnek, hisz a funkcionális leptin receptor (Ob-Rb), ahogy azt bemutattuk, az immunrendszer sejtjein is megtalálható, ezáltal az egyik legizgalmasabb kapcsolatot teremti meg a zsírsanyagcsere és a gyulladás/immunválasz között.

Resistin

A resistin az ún. ciszteinben gazdag resistin-szerű molekulák (RELM) csoport tagja [111]. Bár kezdetben úgy tartották, hogy elsősorban az adipociták expresszálják, de jelen tudásunk szerint úgy tűnik, hogy sokkal jelentősebb resistin forrásnak számítanak a monociták és a makrofágok, mely sejtekben számos gyulladásos citokin (IL-6, IL-1 β és TNF- α) képes indukálni az expresszióját [112-114]. Komplex hatását jelzi, hogy épp úgy képes a zsírsejtekben az inzulin-mediált szignál útvonalat gátolni (a suppressor of cytokine signaling 3 [SOCS3] aktiválásával), mint a hipotalamuszon keresztül TLR4 útvonalon függő módon inzulin rezisztenciát indukálni [115]. Továbbá az NF- κ B útvonalon keresztül stimulálja a humán mononukleáris sejtek IL-6 és TNF- α termelését, aktiválja a JNK és a p38 MAPK útvonalatokat, valamint ér endotélsejtekben fokozza a pro-inflammatórikus (vaszkuláris sejt adhéziós

molekula 1 [VCAM1]) és az intercelluláris adhéziós molekulák (intercelluláris sejt adhéziós molekula 1 [ICAM1]) kifejeződését [116, 117]. A resistin deficiens *ob/ob* egér az extrém mértékű obezitás mellett károsodott glükóz toleranciával és inzulin érzékenységgel is jellemezhető. Az emberi szervezetben azonban a resistin funkciója nem tisztázott, ugyanis a fent említett adipokinekkal ellentétben, szérumban lévő mennyisége nem arányos az obezitással vagy az inzulin rezisztenciával [118, 119].

Plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1; serpin E1)

A serpin E1 termelődése a zsírszövet mellett az endotélsejtekben is jelentős mennyiségben megfigyelhető, ahol fontos szerepet játszik a vaszkuláris homeosztázis fenntartásában azáltal, hogy gátolja a plazminogén aktivitását, befolyásolva a véralvadási kaszkádot [120]. Az érlelmeszesedésben, az obezitásban és az ezekhez a betegségekhez szorosan kapcsolódó inzulin rezisztencia kialakulásában a serpin E1 megnövekedett szérum szintjét figyelték meg. Továbbá egyes feltételezések szerint az obezitásban szenvedő betegek fokozott trombózis hajlama is az emelkedett serpin E1 szint miatt lehetséges, mely jelenleg is a serpin E1-re irányuló kutatások legjelentősebb irányvonala [121, 122]. Ezenkívül a serpin E1 megemelkedett szintje figyelhető meg gyulladásokban vagy például a sebgyógyulásban csakúgy, mint a különböző tumorok (pl. melanoma) esetében is [123, 124].

Visfatin

A visfatinnak szintén egyértelmű szerepe van a zsírszövet működése és a gyulladásos folyamatok összekapcsolásában. Pro-inflammatórikus hatása mellett részt vesz az inzulin rezisztencia kialakításában is, egyfajta inzulint „utánzó” hatással, mely képes az inzulin receptor aktiválására [125]. Az irodalomban a visfatin pre-B-sejt kolónia-stimuláló faktor (PBEF) néven is megtalálható, ugyanis eredetileg, mint a B sejtek differenciálódásának

szabályozója került leírásra, amelyet a limfocita, csontvelő-, izom- és májsejtek is expresszálnak és csak később lett azonosítva hogy a zsírszövetben is termelődik igen nagy mennyiségben [126]. A visfatin a legtöbb adipokinhez hasonlóan egyaránt részt vesz metabolikus folyamatok szabályozásában, mint pl. a nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD) bioszintézis, vagy a hasnyálmirigy β -sejtjeinek inzulin szekréciója. Továbbá képes szabályozni a gyulladási útvonalakat is, mint a p38 MAPK és az extracelluláris szignál-regulált kináz (ERK) útvonalak, melyek az IL-6, IL-1 β és TNF- α citokinek jelentős felszabadulásához vezetnek [125, 127]. A visfatin az atherosclerotikus léziók ún. „habos” sejtjeiben, az egyik legnagyobb mennyiségben előforduló gyulladási mediátor [128], ugyanakkor hatása egyelőre nem teljesen tisztázott, ahogyan az obezitásban vagy a 2-es típusú cukorbetegségben betöltött szerepe sem.

Apelin

Az apelin az orphan G protein kapcsolt receptor (APJ) ligandja, mely fontos szerepet tölt be a vérnyomás, az angiogenezis és a folyadék homeosztázis szabályozásában [129, 130]. Ugyanakkor jelentős mértékben kifejeződik a zsírszövet, az emlőmirigyek, a here, a tüdő és a máj sejtjeiben is rámutatva számos, ez idáig nem, vagy nem teljes részletekben karakterizált hatására. Magának az apelinnek a termelődése is szoros kapcsolatban áll a gyulladással, legfőbb stimulusa a TNF- α , aminek hatására jelentősen fokozódik az apelin expressziója a zsírszövetben [131]. Apelin deficiens egerekben inzulin rezisztencia kialakulás figyelhető meg, mivel az apelin az AMP aktivált protein kináz (AMPK) útvonalon keresztül serkenti a glükóz felvételt és gátolja a lipolízist [132].

Chemerin (tazaratone-induced gene 2; retinoic acid receptor responder 2 [RARRES2])

A chemerin aktív szerepe az adipogenezis folyamatában és a zsírsejtek metabolizmusának szabályozásában szintén jól ismert [133]. A szérumban lévő chemerin szintje pozitív korrelációt mutat a BMI-vel, az éhgyomri vércukorral, a triacilglicerolok és a gyulladásoos citokinek mennyiségével [134]. Receptora a G protein kapcsolt receptorok családjába tartozó ChemR23, mely expressziója a többi adipokinekhez hasonlóan nemcsak adipocitákban, de makrofágokban, dendritikus sejtekben és endotélsejtekben is megfigyelhető [135]. Szintjét mind az IL-6, az IL-1 β és a TNF- α gyulladásoos citokinek képesek megemelni. A chemerin kemoattraktáns tulajdonságának köszönhetően a gyulladásoos folyamatokat szabályozza azáltal, hogy elősegíti az immunsejteknek a gyulladás helyszínére történő vándorlását [136, 137]. Komplex hatását jól szemlélteti, hogy olyan sejtekre is képes hatást kifejteni, mint a porcsejtek, melyekben fokozza különböző mátrix metalloproteázok termelődését, ezáltal elősegítve az extracelluláris mátrix degradációját [138].

Retinol-kötő fehérje 4 (RBP4)

A májsejtek által termelt RBP4-et, mely a retinol (A vitamin) keringésben való szállításáért felelős, legújabb kutatások alátámasztották, hogy a hepatocitákon kívül az adipociták és a makrofágok is képesek termelni [139, 140]. Hatását tekintve kulcsfontosságú szerepet tölt be a glükóz homeosztázis szabályozásában, valamint jelentős pro-inflammatórikus hatással is bír, melyet jól példáz a humán primer endotélsejtek fokozott citokin (IL-6, CCL2 és VCAM1) termelése RBP4 hatására, melynek a kardiovaszkuláris betegségekben lehet kulcsszerepe [141]. Az emelkedett RBP4 szintje a szérumban olyan betegségekkel hozható összefüggésbe, mint a metabolikus szindróma, a magas vérnyomás, a nagy denzitású lipoprotein (HDL) alacsony szintje, a koleszterin és a triglicridek emelkedett mennyisége és a megnövekedett BMI [142].

Monocita kemoattraktáns protein-1 (MCP-1)

Az MCP-1, mely CC-kemokin ligand 2 néven is ismert, talán az egyik legfontosabb adipokin a zsírszövet gyulladásos környezetének kialakításában, ugyanis az immunsejtek zsírszövetbe történő infiltrációjáért, és ezáltal a zsírszövet gyulladásos folyamatainak elindításáért felel [143]. Ahogy a legtöbb adipokinről, úgy az MCP-1 ről is kiderült, hogy nem csak a zsírszövet, de számos immun-, kötőszöveti vagy éppen malignusan transzformált sejt is képes termelni nem ritkán akár alapállapotban is, kulcsszereplővé téve az MCP-1-et a normális szöveti környezet fenntartásának és immunválaszának szabályozásában [103, 131].

Az anti-inflammatórikus adipokinek celluláris és szisztémás hatása

A zsírszövetre elsősorban a pro-inflammatórikus fehérjék termelése jellemző, azonban anti-inflammatórikus tulajdonsággal bíró adipokinek szekréciója is megfigyelhető, mint például az ún. C1q/TNF-related fehérje család (CTRF) tagjai vagy az omentin-1 [144]. Anti-inflammatórikus hatását az omentin-1 a metabolikus szindrómához társuló obezításban valamint a szív- és érrendszeri betegségekben tölti be, míg a CTFR fehérjék a vér glükóz szintjének csökkentésén keresztül képesek kifejezni azt [145, 146]. Mindezek mellett azonban talán az egyik legjobban tanulmányozott anti-inflammatórikus adipokin az adiponektin, melynek bemutatására az alábbiakban kívánunk kitérni.

Adiponektin

Az érett adipociták által szintetizált és szekretált adiponektinnek, két receptora ismert: az adiponektin receptor (ADIPOR) 1 és 2, mely receptorok egyaránt megtalálhatóak immunsejteken csakúgy, mint a bőr számos más sejttypusán, például a keratinocitákon [147,

148]. ADIPOR1^{-/-} illetve ADIPOR2^{-/-} knock out egereken végzett kísérletek bebizonyították, hogy mindkét receptornak az energia háztartás szabályozásában van szerepe, azonban hatásuk egymással ellentétes. Míg az ADIPOR1 deficiencia elhízást, csökkent glükóz toleranciát és energia felhasználást eredményezett, addig az ADIPOR2 deficiens egereknek glükóz toleranciájuk jobb volt és nem alakult ki náluk magas zsírtartalmú diéta által kiváltott obezitás [149]. Az adiponektin a receptorához kötődve a PPAR- α , a p38 MAPK valamint az AMPK útvonalak aktiválódását eredményezi, ezáltal központi szerepet tölt be a zsírsavak oxidációjában és a sejtek inzulinnal szembeni érzékenyítésben [150]. Metabolikus szerepének fontosságára utal a PPAR γ -val való kapcsolata mely, mint a zsírsavcsere egyik kulcs irányítója, képes az adiponektin termelődést fokozni a zsírsejtekben [151, 152]. Az adiponektin anti-inflammatorikus hatását is számos adat támasztja alá, egyfajta „védelmi faktor” pozícióba helyezve, melynek szintjét a pro-inflammatorikus fehérjék illetve a hipoxia egyaránt képes csökkenteni [103]. Jelenlétében ugyanakkor az NF- κ B útvonal valamint a TNF- α indukált változások gátlódnak, makrofágokban pedig csökkenti az LPS indukció hatására történő IFN- γ szekréciót is, miközben fokozza az anti-inflammatorikus citokinek (IL-10 és IL-1 receptor antagonisták) termelődését [153, 154].

Adipokinek szerepe a bőrben

Habár az adipokinek elsődleges mediátorai a különböző, zsírszövet által indukált és szabályozott gyulladási betegségeknek, az elmúlt évek kutatási eredményei rávilágítottak arra, hogy a bőr gyulladási folyamatainak is aktív reguláló elemei lehetnek, mely megalapozta az adipokinek forrás- és célsejtjeinek azonosítását a bőrben is. Számos bőrgyógyászati megbetegedés esetében találtak összefüggést mind a betegség megjelenése mind pedig súlyossága és a keringésben lévő adipokinek szintje között. Természetesen annak a megválaszolása, hogy ez tényleges okozati szereppel bír-e, vagy pedig például egy

komorbiditásnak a részjelensége ezen adatokból nem lehetséges, ugyanakkor mindenképpen fontos alappillére további kutatásoknak.

A pikkelysömörben szenvedő betegek szérumában mérhető adipokinek változó szintje az egyik legfontosabb példa, melyet karakterisztikusan emelkedett TNF- α , IL-6, leptin és resistin szintek mellett az adiponektin csökkent szintje jellemez, korrelációt mutatva a tünetek súlyosságával [155-157]. Szöveti immunhisztokémiai vizsgálatok súlyos pikkelysömörös betegek bőrén ugyanakkor nem csak a leptin, de a leptin receptor emelkedett kifejeződését is találták, felvetve, hogy a leptin markere lehet a betegség súlyosságának és előrehaladásának [156]. Mindemellett, az IL-6 emelkedett szintje is megfigyelhető volt a betegséggel érintett bőrterületeken, mely gyulladásos folyamatokban közismert szerepe lévén a pikkelysömör iniciálója lehet [157]. A visfatin és az RBP4 pikkelysömörrel való kapcsolata teljes részleteiben nem tisztázott, a kutatások eredményei, melyek a pikkelysömörös betegek véréből izolált mononukleáris sejtekben emelkedett visfatin génexpressziót írtak le, biológiai értelmet ezidáig nem nyertek [158, 159].

A fokozott bőrszárazsággal járó atópiás dermatitisben szenvedő betegek esetében az emelkedett leptin szérum szint mellett a resistin és apelin magasabb szintje volt megfigyelhető, míg a visfatin szérum szintje csökkent volt az egészségesekéhez képest [160].

Az adipokinek vizsgálata aknés betegekben is az érdeklődés középpontjába került, bár az eddigi eredmények a vizsgálatok alacsony betegszáma és esetenként a nem megfelelően megtervezett vizsgálatok miatt is csak korlátozottan értékelhetőek. A leptin esetében bizonyos kutatások emelkedett szintet találtak, míg mások csökkent leptin szintet mértek, megint más kutatások pedig nem találtak változást [161-163]. Ugyanakkor a resistin esetében jelentős kapcsoltságot találtak a resistint kódoló génben levő single nukleotid polimorfizmusok (SNP) megléte és az akné kialakulása között [164].

A sebgyógyulás és hajnövekedés szempontjából is kiemelt figyelmet élveznek az adipokinek, mely során az immunhisztokémiai vizsgálatok a leptin és a leptin receptor fokozott expresszióját mutatták ki károsodott szövetben [165].

Az itt felsorolt adatok ellenére, mely bár egyértelműen jelzi, hogy az adipokinek bekerültek a bőrgyógyászati gondolkodásba, igen kevés eredmény és információ áll rendelkezésünkre a szerepükről a bőrben, különösen a faggyúmirigy-biológia szemszögéből. Munkacsoportunk ezért célul tűzte ki, hogy azonosítja a faggyúmirigy adipokin profilját, feltéve azt a kérdést, hogy a faggyúmirigy részt vehet-e a bőr gyulladáshoz vezető folyamatainak kialakításában és szabályozásában az adipokineken keresztül.

4. CÉLKITŰZÉS

A faggyúmirigy, az intenzív zsíryanycsere mellett, különböző gyulladási folyamatok szabályozásában is részt vesz, mely kettős funkció nagyban hasonlít a zsírsejtek esetében megismertekhez, ahol a sejtek a zsírmétabolizmuson kívül, a környezeti stimulusokra adott válaszként számos, gyulladási mediátort (adipokineket) is képesek termelni.

A faggyúmirigy és a zsírszövet közötti hasonlóságokból kiindulva, munkánk során célul tűztük ki:

1. a faggyúmirigy adipokin profiljának meghatározását normál bőrben, rosaceában, aknéban, melanomában és psoriasisban;
2. az *in vivo* azonosított adipokinek meghatározását *in vitro* immortalizált SZ95 faggyúsejtvonalban;
3. az adipokinek expressziós és szekréciós profiljának meghatározását TLR2 és TLR4 aktivátorok (PAM3CSK4 és LPS) valamint 13CRA hatására;
4. a biológiailag aktív, hosszú izoformájú leptin receptor (Ob-Rb) detektálását SZ95 faggyúsejtekben;
5. valamint a leptinnek a faggyúsejtek zsírtermelésére és gyulladási folyamatra gyakorolt hatását.

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1. Szöveti minták

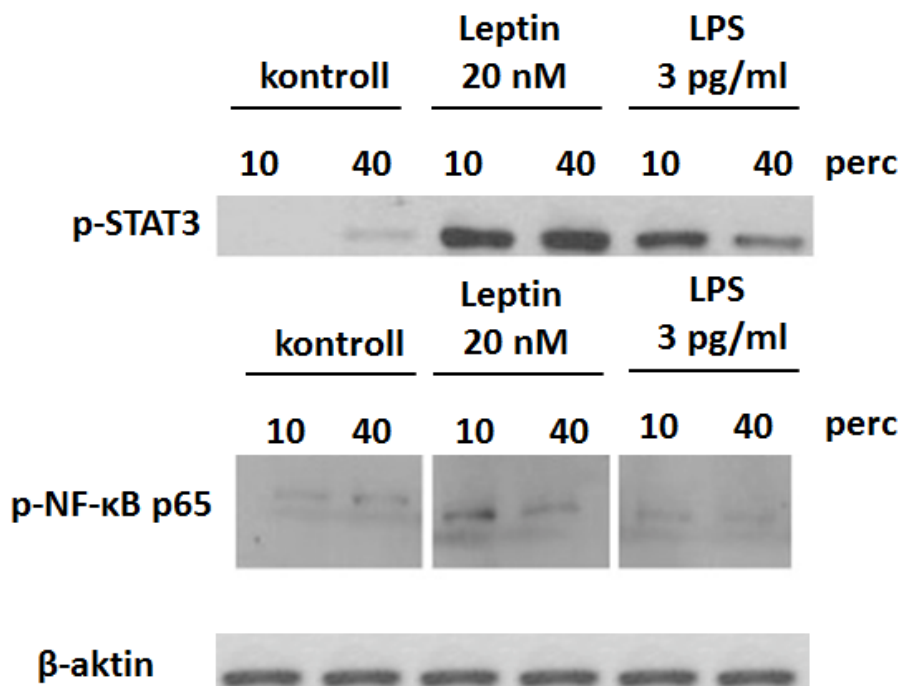
Az immunhisztokémiai festéshez a Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottság jóváhagyásával (Engedély száma: 4103-2014), a Debreceni Egyetem Klinikai Központ (DE KK) Bőrgyógyászati Klinika Szöveti Laboratóriumából származó anonim, fagyasztott illetve formalin fixált és paraffinba ágyazott mintáit használtuk. Minden betegcsoport esetében (normál bőr, akné, rosacea, psoriasis, melanoma) legalább három különböző betegből származó mintával dolgoztunk. A pozitív kontrollként használt placentát, májat és emlő daganatot (7. C ábra) Beke Livia a DE KK Patológiai Intézetéből, míg a patkány hipotalamuszát (11. C és D) Dr. Gaál Botond a DE KK Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetéből (Engedély száma: 11/2011/DEMÁB) bocsátotta rendelkezésünkre.

5.2. SZ95 faggyúsejtek tenyésztése és kezelése

A humán immortalizált SZ95 faggyúsejteket 37°C-os termosztátban, 5% (v/v) CO₂ és nedves páratartalom mellett, Sebomed Basal Médiumban[®] (Biochrom, Cambridge, UK) 80%-os konfluenciáig tenyésztettük [24]. A médiumot 10% fetal bovin szérummal (FBS, Biowest, Nuaille, Franciaország), 1mM CaCl₂-dal, 1% penicillin/streptomycinnel (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) és 5 ng/ml epidermális növekedési faktorról ([EGF], Sigma-Aldrich) egészítettük ki. Kezelések előtt a tápfolyadékot 24 órára EGF mentes, 0,5% FBS-t, 1 mM CaCl₂-ot és 1% penicillin/streptomycint tartalmazó Sebomed Basal Médiumra cseréltük.

A kezelésekhez 1 µg/ml lipopoliszacharidot ([LPS], *Escherichia coli* baktériumból származó; steril vízben oldott; TLR4 útvonal aktivátor; L4391, Sigma-Aldrich), 1 µg/ml PAM3CSK4-et (steril vízben oldott; TLR1/2 aktivátor; TLRL PMS, InVivoGen, San Diego,

CA, USA), 1 μ M 13-*cis* retinsavat ([13CRA]; dimetil-szulfoxidban [DMSO] oldott; németországi kollaborációs partnerünk biztosította (BASF AG, Ludwigshafen, Németország) és 20 nM humán rekombináns leptint (steril vízben oldott; 398-LP, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) használtunk. A beoldott humán rekombináns leptin endotoxin kontaminációjának szintjét a Limulus Endosafe[®] KTA2[™] assay (Charles River Endosafe, Charleston, SC, USA) segítségével határoztattuk meg, melynek mennyisége <0,02 EU per 1 μ g volt, azaz maximálisan 3pg/ml LPS-nek megfelelő volt az esetleges kontaminációja. A kísérleteink során ezzel az LPS (3 pg/ml) mennyiséggel is elvégeztük a kezeléseket, mely során nem tapasztaltunk változást a lipid cseppek méretének növekedésében illetve a COX-2 és 5-LOX fehérjék expressziójában sem. A leptinnek a receptorához való kötődése a STAT3 útvonal aktiválódását, majd ezt követően az NF- κ B downstream jelátviteli útvonal bekapcsolódását eredményezi. Megvizsgálva ezen szignáltranszdukciós útvonalakat is, azt tapasztaltuk, hogy a maximálisan megtalálható LPS kontamináció sem eredményezett jelentősebb indukciót, ahhoz képest, ahogy azt a leptin hatására láttuk. Így a STAT3 és az NF- κ B útvonalak aktiválódásáért nem a rekombináns leptinben esetlegesen előforduló endotoxin a felelős (5. ábra).



5. ábra: A STAT3 és az NF-κB útvonalak aktiválódása leptin valamint LPS kezelés hatására. Az SZ95 faggyúsejteket 20 nM leptinnel illetve a humán rekombináns leptin, a gyártó cég által megadott lehetséges maximális endotoxin kontaminációjának megfelelő mennyiségű (3 pg/ml) LPS-sel kezeltük. A STAT3 és az NF-κB útvonalakban bekövetkező változásokat Western blot technikával azonosítottuk.

5.3. Proliferáció mérés

Az SZ95 sejteket 96-lyukú tenyésztőedényben tenyésztettük és 1 μM 13CRA-val valamint az ennek megfelelő mennyiségű DMSO oldószerrel kezeltük. A kezelést követő 6. napon a sejtek proliferációjának meghatározására a 4-metilumbelliferil heptonát (MUH) módszert használtuk [166]. Mérés előtt a sejteket foszfát pufferrel (PBS) mostuk és 100 μl 100 μg/ml koncentrációjú MUH reagenst (M2514, Sigma Aldrich) adtunk minden mintához. A sejteket ezután 37°C-on inkubáltuk 30 percig, a fluoreszcenciát 355 nm excitációs és 480 nm emissziós filtereket használva határoztuk meg (Synergy H1 microplate reader, BioTek,

Winooski, VT, USA). Az eredményeket abszolút fluoreszcens egységekben (AFU) határoztuk meg. Minden kísérletet legalább háromszor ismételtünk meg és minden minta esetében öt párhuzamost használtunk.

5.4. Immunhisztokémia

A fagyasztott metszeteket 10 percig fixáltuk jéghideg acetonban, majd egy óráig szárítottuk szobahőmérsékleten. A paraffinba ágyazott metszeteket deparaffináltuk majd rehidratáltuk és az endogén peroxidázok gátlására 3% H₂O₂ oldatot használtunk. Az antigén feltárást minden immunhisztokémiai festés esetében Tris-EDTA pufferben (10 mM Tris Base, 1 mM EDTA, 0,05% Tween 20, pH 9.0) végeztük, 120°C-on 25 percig és a nem specifikus kötőhelyek blokkolása PBS-ben oldott 5% borjú szérum albumin (BSA) oldatban történt 30 percig. Az immunhisztokémiai módszer során felhasznált mono-és poliklonális antitesteket (anti-leptin receptor, anti-adiponektin, anti-IL-6, anti-resistin, anti-leptin, anti-serpin E1, anti-visfatin, anti-apelin, anti-chemerin, anti-RBP4 és anti-MCP-1) valamint a megfelelő hígítási arányokat az 1. táblázatban tüntettük fel. Negatív kontrollként az elsődleges antitestek helyett a megfelelő nem-immun kontroll szérumokkal (nyúl IgG, [I-1000, Vector Labs.], egér IgG1 és egér IgG2b [557273 és 555740, BD Pharmingen]) inkubáltuk a mintákat. A HRP-konjugált szekunder antitestek után (anti-nyúl és anti-egér [SuperSensitive One-step Polymer-HRP Detection Systems, DF400-50KE, BioGenex Laboratories, Fremont, CA, USA]) az immunreakciót Vector VIP Kit (SK-4600, Vector Labs.) segítségével tettük láthatóvá. A sejtmagokat metil zölddel festettük meg, a minták analízisére pedig Leica DM2000 LED mikroszkópot használtunk (Leica Microsystems, Wetzlar, Németország).

Antitest	Gyártó	Kat.szám	Klonalitás	Izotípus	Hígítási arány
5-LOX	Cell Signaling, Beverly, MA, USA	3289S	Monoklonális	Nyúl, IgG	1:1000
Adiponektin	Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA	sc-17044-R	Poliklonális	Nyúl, IgG	1:100
Apelin	Abcam, Cambridge, UK	ab59469	Poliklonális	Nyúl, IgG	1:100
Chemerin	Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA	sc-373797	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:100
COX-2	Cell Signaling, Beverly, MA, USA	4842S	Poliklonális	Nyúl, IgG	1:1000
foszfo-NF-κB p65 (Ser536)	Cell Signaling, Beverly, MA, USA	3033P	Monoklonális	Nyúl, IgG	1:1000
foszfo-STAT3 (Tyr705)	R&D Systems, Minneapolis, MN, USA	AF4607	Poliklonális	Nyúl, IgG	1:1000
IL-6	LifeSpan Biosciences, Seattle, WA, USA	LS-B1582	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:100
Leptin	LifeSpan Biosciences, Seattle, WA, USA	LS-B8192	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:100
Leptin receptor	Abbiotec, San Diego, CA, USA	250739	Poliklonális	Nyúl, IgG	1:100
MCP-1	Abcam, Cambridge, UK	ab9858	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:100
RBP4	Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA	MA5-15838	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:100
Resistin	Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA	sc-376336	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:100
Serpine1	Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA	MA5-17171	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:100
Visfatin	Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA	sc-67020	Poliklonális	Nyúl, IgG	1:100
β-aktin	Cell Signaling, Beverly, MA, USA	3700S	Monoklonális	Egér, IgG ₁	1:2000

1. táblázat: A kísérleteink során felhasznált mono-és poliklonális antitestek valamint az alkalmazott hígítási arányok áttekintése.

5.5. Immuncitokémia

Az SZ95 sejteket Superfrost Ultra Plus tárgylemezeken (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 70%-os konfluenciáig tenyésztettük, majd a lemezeket PBS-sel mostuk és 15 percig 1% ecetsav 96% etanol oldatban fixáltuk. A nem specifikus kötőhelyek blokkolására PBS-ben oldott 5% normál humán szérumot használtunk. A festés során felhasznált mono-és poliklonális antitesteket (anti-leptin receptor, anti-adiponektin, anti-IL-6, anti-resistin, anti-leptin, anti-serpin E1 és anti-visfatin) valamint az alkalmazott hígítási arányokat az 1. táblázatban tüntettük fel. Negatív kontrollként az elsődleges antitestek helyett a megfelelő nem-immun kontroll szérumokkal (nyúl IgG, [I-1000, Vector Labs.], egér IgG1 és egér IgG2b [557273 és 555740, BD Pharmingen]) inkubáltuk a mintákat. Kecske anti-nyúl IgG Alexa Fluor 555 (A-21428, Molecular Probes, Eugene, OR, USA), kecske anti-nyúl IgG Dylight 549 és ló anti-egér IgG Dylight 549 (DI-1549 és DI-2549, Vector Labs.) szekunder antitestekkel történő inkubáció után a lemezeket Vectashield DAPI fedő médiummal (H-1200, Vector Labs.) fedtük le. A lemezeket Plan-apochromat 63X/1.40 objektívvel felszerelt, konfokális lézer pásztázó mikroszkóphoz (Zeiss, Oberkochen, Németország) kapcsolt CCD IMAC kamerával (Sony, Tokyo, Japán) analizáltuk. A kiértékeléshez ISIS fluoreszcens képalkotó rendszert (MetaSystems, Altlussheim, Németország) használtunk.

5.6. Lipid analízis

Az SZ95 sejteket 10% FBS, 1 mM CaCl₂, 1% penicillin/streptomycin tartalmú, EGF mentes Sebomed Basal Medium-ban tenyésztettük. A sejteket 12 és 36 órás leptin kezelést követően begyűjtöttük, majd a további vizsgálatokig -80°C-on tároltuk. A lipid analízist a római San Gallicano Institute of Dermatology laboratóriumában, Emanuela Camera és Mauro Picardo segítségével végeztük .

A mérésekhez használt ammónium-formiát és hangyasav (Fluka Analytical/Sigma-Aldrich) továbbá minden felhasznált oldószer High Performance Liquid Chromatography (HPLC) – Mass Spectrometry (MS) minőségű volt (Merck, Kenilworth, NJ, USA). A piridin és a bisz(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid (BSTFA) Gas Chromatography (GC) - MS minőségű volt (Merck). Az izolálás és a vizes fázisú oldatok készítése MilliQ víz felhasználásával történt. A kalibrálási görbe kiszámítása hitelesített lipid standardok segítségével történt (Sigma-Aldrich [CDN isotopes INC, Pointe-Claire, Quebec, Canada], [Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA]). Az álló fázis High-performance thin-layer chromatographic (HPTLC) szilika gél 60, 10x10 cm-es lemez (Merck) volt, melyre minden mintából 20 µl-nyi koncentrált lipid extraktum került. Az elválasztás eléréséhez a HPTLC lemezeket két egymást követő eluálási módszer lett alkalmazva. A benzol/hexán 70/30 (v/v) eluálást és a lemezek szárítását egy hexán/dietil-éter/ecetsav 50/50/2 (v/v/v) eluálási lépés követte. A festés réz-szulfát víz/metanol 80:20 (v/v) oldott elegyével történt. A lemezek inkubálása 120° C-on, 60 percig tartott a szürke-fekete foltok megjelenéséig. A foltok intenzitásának meghatározása denzitometriás mérésekkel történt.

Az E vitamin, koleszterin (CH) és szkvalén (SQ) szintek GC-MS módszer segítségével lettek meghatározva (5975C VL MSD, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Az E vitaminból, CH-ből és SQ-ből származékokat képeztünk BSTFA felhasználásával, így illékony trimetil-szilil származékok jöttek létre. Ezt követően a vegyületek a gázfázisban egy RTX-5MS Crossbond® 5% difenil/95% dimetil-polisziloxán (Restek Corporation, Bellefonte, PA, USA) oszlopon elválasztásra kerültek. Az adott célmolekula detektálása egyedi bázis és minősítő tömegcsúcsai alapján történt. A vizsgált anyagok mennyiségi meghatározása a referencia standardokból és a d6-CH belső standardból számított kalibrációs görbe alapján volt lehetséges.

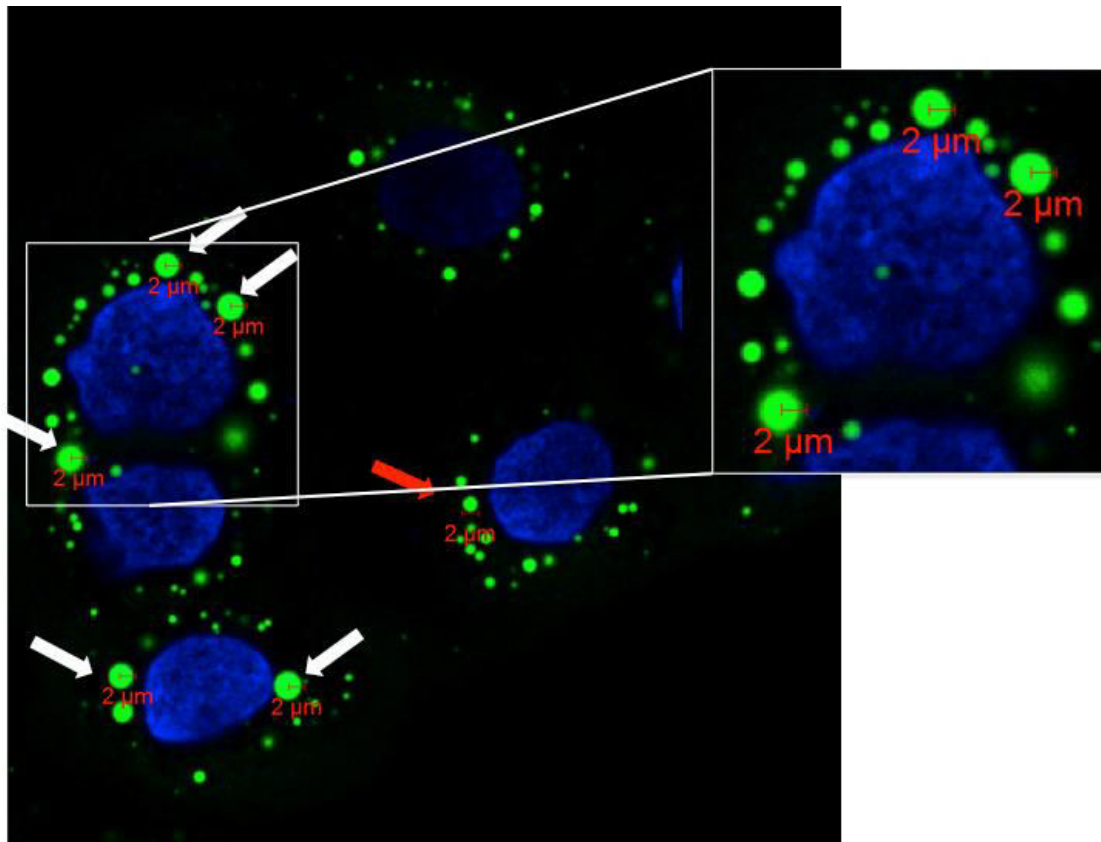
A szabad zsírsavak mennyiségi analízise HPLC-ToF/MS módszerrel (ToF 62220A MSD, Agilent Technologies) történt, melyet egy reverz fázisú HPLC (RP-HPLC) kromatográfiás elválasztás követett 5 μm , 150x2,1 mm, Aquasil C18 HPLC oszlopok (77505-152130, Thermo Electron Corporation, San Jose, CA, USA) felhasználásával. Az elúció bináris rendszer segítségével zajlott: A, víz-0,1% hangyasav-3% acetonitril illetve B: acetonitril-3% izopropil-alkohol felhasználásával. A vegyületek elektropray ionforrás (ESI) felhasználásával ionizálódtak és az azonosításuk a 80 - 400 tömegtartományban történt. Az extrahált ion kromatogramok az [M-H]⁻ ionok pontos tömegének a célvegyületekből és a belső standardból (d4-LA) történő kivonásával kerültek kiszámításra. A vizsgált anyagok mennyisége a referencia standardokból számolt kalibrációs görbe alapján lett meghatározva 0,625-20 μM tartományban, d4-LA belső standardot alkalmazva.

A glicerín lipidek belső standardhoz viszonyított mérése HPLC-ToF/MS módszerrel történt. A mérés pozitív ion detektálási módszer segítségével zajlott, melyet egy gyors felbontású, reverz fázisú HPLC (RP-HPLC) kromatográfia és végül ESI-vel történő ionizációs lépés követett. A kromatográfiás és tömegspektrométeres beállításokat a római San Gallicano Institute of Dermatology munkatársai egy, a korábbiakban már leírt munkájuk alapján határozták meg [167, 168]. A triglicerid jelölések a zsírsav oldalláncokból eredően a szénatom számok és kettőskötések összesített számát képviselik (ahogyan azt munkánk 16. oldalán már ismertettük).

5.7. Lipid cseppek detektálása és kvantifikálása

A lipid cseppek azonosítását 4,4-difluor-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacén 493/503 fluoreszcens lipid festékkel ([BODIPY]; D-3922, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) végeztük [169]. Az SZ95 sejteket LabTek tárgylemezeken (Thermo Fisher Scientific) tenyésztettük, majd 12 és 24 órán keresztül humán rekombináns leptinnel

kezeltük. A sejteket 0,5% BSA-PBS oldattal mostuk és 4%-os paraformaldehiddel (PFA) fixáltuk. Egy 0,5% BSA-PBS-0,1% nátriumazidos mosást követően 7 percig, 37°C-on inkubáltuk 10 µg/ml PBS-ben oldott BODIPY festékkel. Ismételt 0,5% BSA-PBS mosás után a kamra falait eltávolítottuk és a lemezeket Vectashield DAPI fedőmédiummal (Vector Labs.) fedtük le. A lemezeket Plan-apochromat 63X/1,40 objektívvel felszerelt, konfokális lézer pásztázó mikroszkóphoz (Zeiss) kapcsolt CCD IMAC kamerával (Sony) analizáltuk, a kiértékeléshez ISIS fluoreszcens képalkotó rendszert (MetaSystems) használtunk és lemezenként 100 egymást követő sejtben meghatároztuk a 3 µm átmérőt meghaladó lipid cseppek számát (6. ábra).



6. ábra: A 3 μm -nél nagyobb lipid cseppek meghatározása SZ95 faggyúsejtekben. A rekombináns leptinnel történő kezelést követően a lipid cseppek detektálására az SZ95 faggyúsejteket BODIPY fluoreszcens festékkel jelöltük meg. A sejtek magjait DAPI-val tettük láthatóvá. A mintákat konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével vizsgáltuk. Az elemzés során az ISIS fluoreszcens képalkotó rendszert használtuk, mellyel 2 μm -es méretarányokat használtunk (piros nyilak) és 100 egymást követő sejten belül meghatároztuk a 3 μm méretet meghaladó lipid cseppek számát (fehér nyilak).

5.8. Western blot

A leptin kezelést követően a sejteket begyűjtöttük, PBS-sel mostuk és proteáz/foszfataz inhibitorral kiegészített RIPA pufferben (R 0278, Sigma Aldrich) lizáltuk. A fehérje minták koncentrációjának meghatározására a Pierce BCA Protein Assay Kitet (23227, Thermo Fischer Scientific) használtuk és minden mintából a megfelelő poliakrilamid gélt kiválasztva, egységesen 20 μg -nyi mennyiséget futtattunk meg. A nitrocellulóz membránra (Bio-Rad,

Hercules, CA, USA) történő blottolás után a membrán blokkolása történt. A Western blot során felhasznált mono-és poliklonális antitesteket (anti-leptin receptor, anti-COX-2, anti-5-LOX, anti-foszfo-STAT3 (Tyr705), anti-foszfo-NF- κ B p65 (Ser536) és anti- β -aktin) valamint a megfelelő hígítási arányokat az 1. táblázatban tüntettük fel. A megfelelő HRP-konjugált szekunder antitestekkel (kecske anti-nyúl IgG: 1706515 és kecske anti-egér IgG: 1706516, Bio-Rad) történő inkubációt követően a létrejött antigén-antitest reakciót az Immobilon Western HRP Substrate Kit (WBKLS0500, Millipore, Bedford, MA, USA) segítségével tettük láthatóvá.

5.9. mRNS szintek meghatározása

A SZ95 faggyúsejteket humán rekombináns leptin, TLR1/2 és 4 ligandok (PAM3CSK4, LPS), 13CRA vagy DMSO oldószer kontroll jelenlétében tenyésztettük a korábban leírtak szerint. TRI reagens (MRC, Cincinnati, OH, USA) felhasználásával totál RNS-t izoláltunk, a mennyiségi és minőségi meghatározást pedig NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific) segítségével végeztünk.

A *kvantitatív valós idejű PCR-hoz (qRT-PCR)* a totál RNS-ből cDNS átírást végeztünk 42°C-on, 120 percig és 72°C-on 5 percig Superscript II reverz transzkriptáz és random primerek (Life Technologies) felhasználásával. A qPCR-t valós idejű PCR (F) alkalmazásával, a Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Központban végeztük, 40 ciklus 95°C-on, 10 másodpercig és 60°C-on 1 percig, melyhez specifikus primereket és TaqMan próbákat (Applied Biosystems) használtunk. A reakciókat triplikátumokban végeztük, a transzkriptumok kvantifikálását az úgynevezett „összehasonlító Ct módszer” alapján készítettük el (Applied BioSystems User Bulletin No. 2) , a kapott adatokat Peptidilprolil Izomeráz A (Cyclophilin A [PPIA]) normalizáltuk. A PPIA expressziós szintek nem mutattak varianciát a kezelések között.

Az *RNS szekvenálást* a Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Központban Dr. Póliska Szilárd közreműködésével végeztük. A könyvtárkészítéshez 1 µg totál RNS-ből cDNS-t generáltunk a TruSeq RNA Sample Preparation Kit (Illumina, San Diego, CA, USA) segítségével a gyártó protokollját követve. A poli-A végű RNS-eket oligodT -konjugált mágneses gyöngyökkel kitisztítottuk és 94°C-on, 8 percig fragmentáltuk, majd egyszálú cDNS-t képeztünk random primerek és SuperScript II reverz transzkriptáz használatával. Ezt követően kétszálú cDNS-t szintetizáltunk, a dupla szálú cDNS véget javítottuk, a 3' végeket pedig adeniláltuk. Illumina index adaptereket ligáltunk a mintákhoz. Ezek után az adapter ligált cDNS fragmenteket PCR segítségével sokszorosítottuk. A fragment méret eloszlásokat és a molaritást Agilent BioAnalyzer DNA1000 chip (Agilent Technologies) készülékkel ellenőriztük. Az RNS-Seq könyvtárakat 10 nM-ra hígítottuk és 5-5 könyvtárból ekvimolárisan könyvtár mixet készítettünk. A szekvenálást Illumina HiScan SQ készüléken (Illumina) végeztük, egyirányú 50bp-os leolvasást alkalmaztunk. Minden egyes könyvtár az ún. szekvenálási flow cell-en külön külön csatornában került szekvenálásra 16-18 millió szekvencia olvasat keletkezett egyedi mintánként.

5.10. *RNS-Seq adatok elemzése*

A minőségellenőrzési és demultiplexelési folyamatokhoz CASAVA szoftvert (Illumina) használtunk. A megszekvenált adatokat a humán genom 19-es verziójára illesztettük TopHat algoritmus segítségével és bam fájlokat generáltunk. További statisztikai elemzéseket a GeneSpring 12.6 szoftver (Agilent Technologies) NGS moduljának használatával végeztünk. A relatív mRNS expressziós szinteket DESeq algoritmus alkalmazásával számoltuk ki [170].

5.11. *ELISA (Enzim-kapcsolt immunoszorbens assay)*

Az SZ95 sejteket valamint a felülúszókat 12 és 24 órával a leptin, PAM3CSK4, LPS, 13CRA illetve DMSO kezelést követően gyűjtöttük be és felhasználásig -20°C-on tároltuk. A

sejtek lizálását desztillált vízben 0,1% Triton-X jelenlétében végeztük. Az adiponektin felülúszóban való mennyiségének meghatározására ELISA Development Kitet és Quantikine ELISA Kitet (DY1065 és DRP300, R&D Systems) használtunk. Az IL-6 (DY206), IL-8 (DY208), leptin (DY398), serpin E1 (DY1786) és resistin (DY1359) mennyiségét ELISA Development Kit (R&D Systems), míg a visfatin szintjét ELISA Assay Kit (201-12-0026, Sunred Biological Technology, Sanghaj, Kína) segítségével a gyártó utasításainak megfelelően határoztuk meg. Minden kísérletet négyszer ismételtünk meg és minden mérésnél három párhuzamost használtunk. Az eredményeket a kontrollokhoz viszonyított arány számokban adtuk meg.

5.12. *Statisztikai analízis*

A vizsgált változókra vonatkozó deskriptív analízist átlag \pm szórás segítségével reprezentáltuk. Annak érdekében, hogy az RT-Q-PCR kísérletek esetében kiküszöböljük a véletlenszerű mérési hibákat, az átlagot \pm szórást a normalizált értékekből számítottuk. A kísérletek során legalább három biológiai párhuzamos vizsgálat történt. Az ELISA mérések során kapott eredményeket független t-próba, illetve egytényezős varianciaanalízis (ANOVA) és Tukey post-hoc teszt segítségével elemeztük. A qRT-PCR és proliferációs assay vizsgálatok esetében párosított t-próbát alkalmaztunk, míg az RNA-seq esetében független t-próbát használtunk az értékek analizálása során. A szignifikancia szint $p < 0,05$ volt.

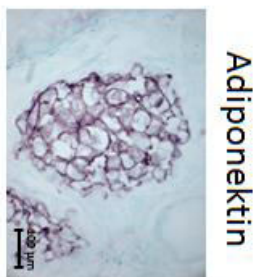
6. EREDMÉNYEK

6.1. Az adipokinek jellegzetes expressziója figyelhető meg in vivo humán faggyúmirigyben.

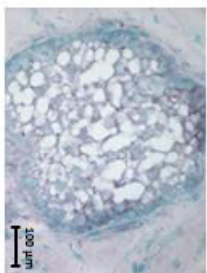
Munkánk első lépéseként arra kerestük a választ, hogy mely adipokinek fejeződnek ki fiziológias körülmények között a faggyúmirigyekben. Vizsgálatainkhoz immunhisztokémiai jelölést végeztünk fagyasztott, normál humán bőr mintákon. A pro-inflammatórikus IL-6, resistin, leptin, serpin E1 és visfatin mellett az anti-inflammatórikus adiponektin pozitív festődést mutatott, míg az apelin, chemerin, RBP4 és MCP-1 esetében nem figyeltünk meg pozitivitást a faggyúmirigyekben (7. A ábra).

Annak érdekében, hogy megállapítsuk, az azonosított expressziós mintázat változik-e különböző patológiás körülmények között, olyan betegségeket választottunk, melyeknek kialakulásában a faggyúmirigy is szerepet kaphat (pl. akné és rosacea), ugyanakor olyan patológiás körülményeket is megvizsgálatunk, melyekben a faggyúmirigynek (ezidáig) nem tulajdonítottak szerepet (pl. melanoma és psoriasis). A kiterjesztett vizsgálataink igazolták, hogy a normál humán bőrhöz hasonlóan a faggyúmirigyek nem csak fiziológias, de patológiás környezetben is pozitívan festődtek az adiponektin, IL-6, resistin, leptin, serpin E1 és visfatin esetében, míg az apelin, chemerin, RBP4 és MCP-1 nem volt detektálható (7. B és C ábra). A fals negatív eredmény kizárásához minden esetben párhuzamosan elvégeztük a megfelelő pozitív kontrollok festését is (7. C ábra).

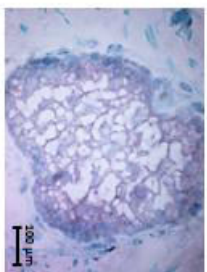
Ezen eredmények igazolták a faggyúmirigy karakterisztikus adipokin profilját, melyet függetlennek találtunk a vizsgált patológiai kondícióktól.



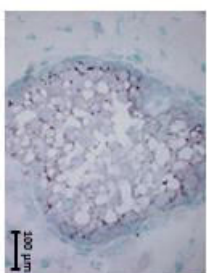
Adiponectin



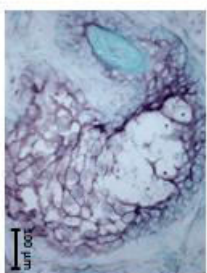
IL-6



Resistin



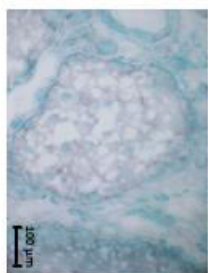
Leptin



Serpin E1



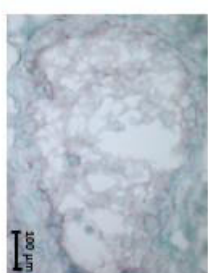
Visfatin



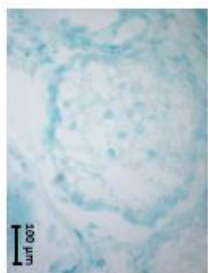
Apelin



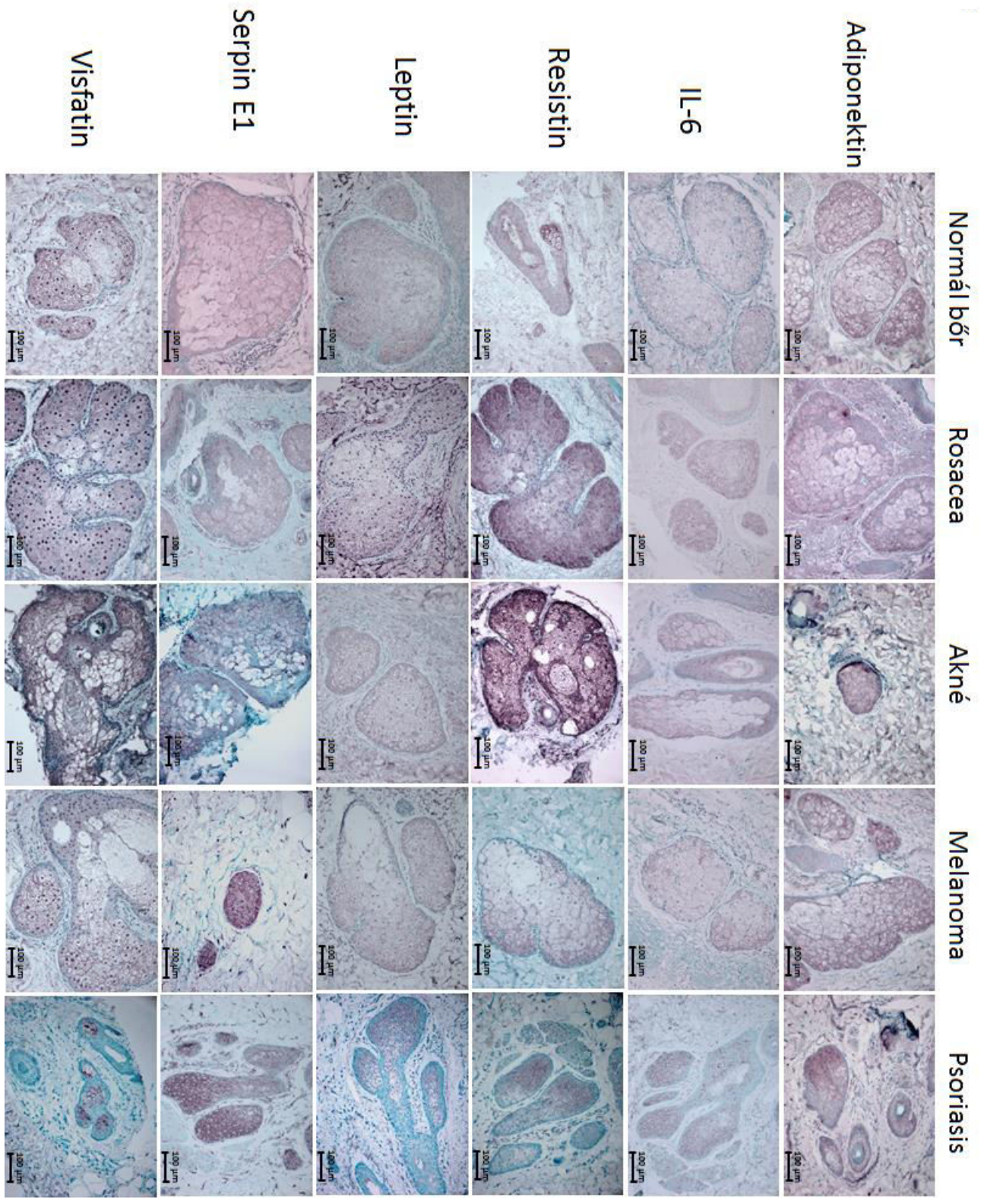
Chemerin

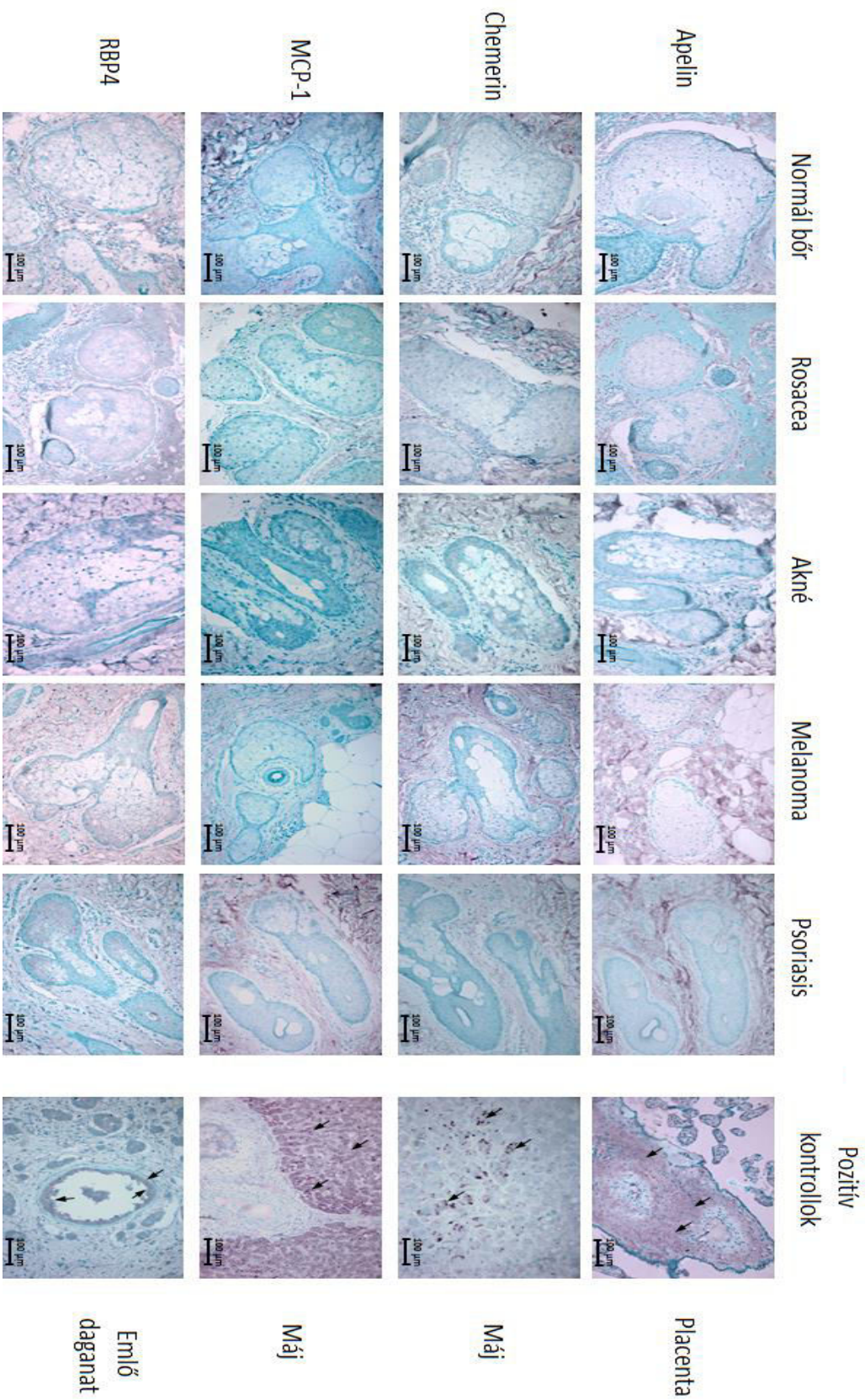


RBP4



MCP-1





7. ábra: Az adipokinek immunhisztokémiai karakterizálása humán faggyúmirigyben. (A) Az adipokinek immunfestése fagyasztott, normál, faggyúmirigyet is tartalmazó humán bőrmintákban. Az immunhisztokémiai festést követően a sejtmagokat metilzölddel festettük meg. Skála: 100 µm. **(B)** Az adipokinek expressziós mintázata a faggyúmirigyben különböző patológias körülmények között. Az immunhisztokémiai festést követően a sejtmagokat metilzölddel festettük meg és minden betegségcsoport esetében legalább három különböző betegből származó mintát vizsgáltunk. Skála: 100 µm. **(C)** A faggyúmirigyekben negatív festődést mutató adipokinek. Az immunhisztokémiai festést követően a sejtmagokat metilzölddel festettük meg és minden betegségcsoport esetében legalább három különböző betegből származó mintát vizsgáltunk. Pozitív kontrollként placentát (apelin), májszövetet (chemerin és RBP4) és emlő daganatot (MCP-1) használtunk. Skála: 100 µm.

6.2. Az adipokinek expressziós profilja in vitro humán SZ95 faggyúsejtekben.

További *in vitro* munkákhoz az egyik legelfogadottabb és leggyakrabban használt immortalizált sejtvonalat, az SZ95 faggyúsejtvonalat választottuk [24]. Az SZ95 faggyúsejtekben is sikerült a szövettani vizsgálatok során detektált adipokinek (adiponektin, IL-6, resistin, leptin, serpin E1 és visfatin) kifejeződését azonosítanunk immunfluoreszcens festéssel (8. A ábra) valamint a faggyúsejtek lizátumát használva ELISA módszerrel (8. B ábra).

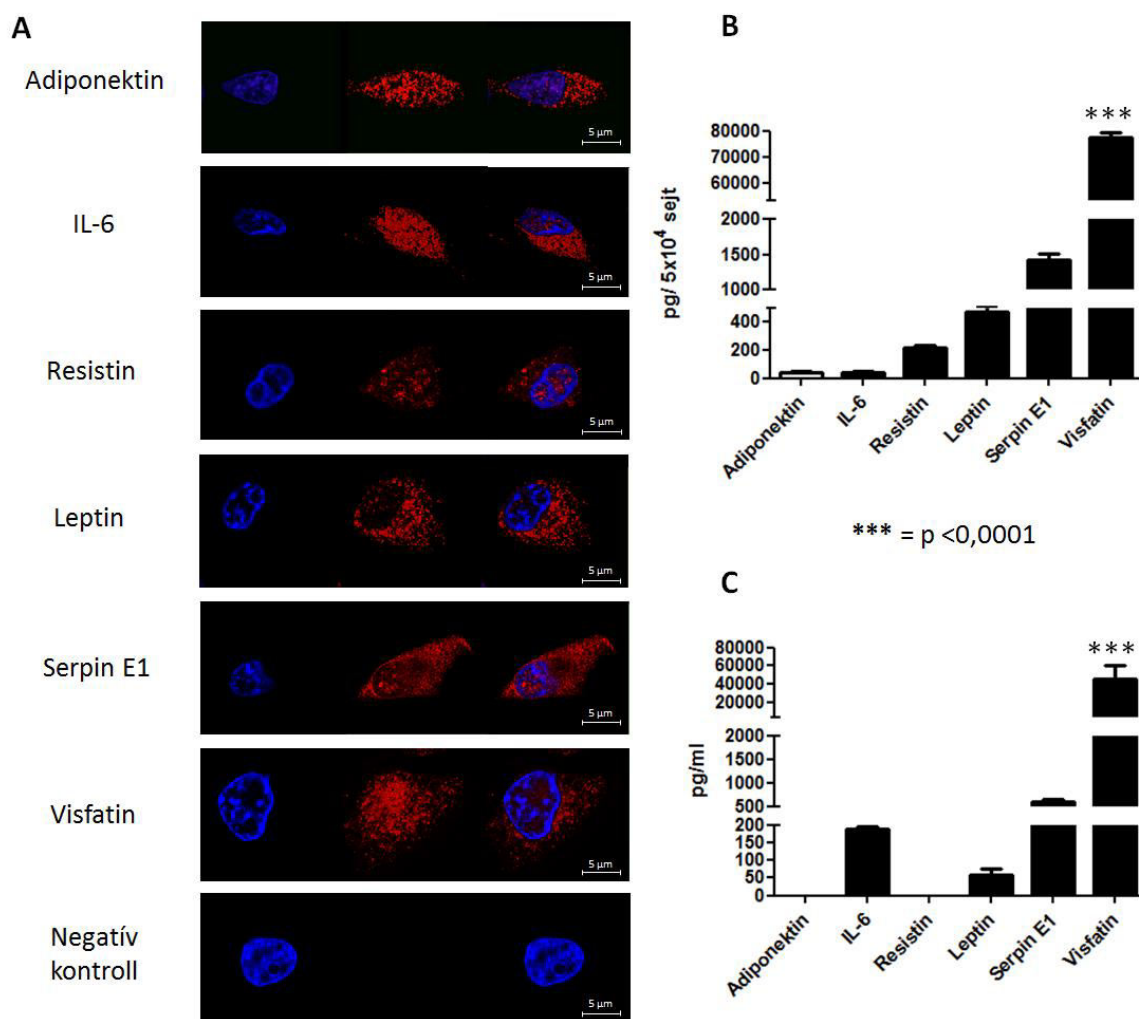
Az immunfluoreszcens festéssel nemcsak az adipokinek jelenlétét tudtuk detektálni, de a sejten belüli lokalizációjukat is. Érdekes megfigyelés volt, hogy míg az IL-6, resistin, serpin E1 és visfatin a citoplazmában és a sejtmagban is detektálható, addig a leptin elsősorban a citoplazmában volt jelen.

Az ELISA módszer mennyiségi analízist is lehetővé tett, meghatározva hogy a visfatin szignifikánsan magasabb (***) mennyiségben volt jelen a sejtekben minden más adipokinhez képest, ugyanakkor az adiponektint (a pozitív immunfluoreszcens festés ellenére) nem tudtuk detektálni ezzel a módszerrel.

6.3. Az SZ95 faggyúsejtek eltérően szekretálják a különböző adipokineket.

Miután igazoltuk, hogy az SZ95 faggyúsejtvonal alkalmas *in vitro* kísérletekhez, arra a kulcskérdésre kerestük a választ, hogy a faggyúsejtek képesek lehetnek-e nem csak az adipokinek termelésére, de azok felszabadítására is. ELISA módszerrel azt találtuk, hogy a kezeletlen SZ95 faggyúsejtek felülűszójában az IL-6, leptin, serpin E1 és visfatin egyaránt megtalálható volt, viszont sem a resistin, sem pedig az adiponektin nem volt detektálható.

Összhangban az előző mérésekkel, a sejtek felülűszójában mért adipokinek mennyisége összehasonlítható volt a sejtlizátumban mért arányokkal, mely alól egyedül a leptin volt kivétel: míg relatív magas fehérje mennyiségben volt jelen a sejtlizátumokban, addig a felülűszóban csupán a detektálhatósági határt érte el a vizsgált módszerrel. A sejtek lizátumában mért adatokhoz hasonlóan, a visfatin szignifikánsan magasabb (***) $p < 0,0001$) mennyiségben volt jelen a sejtek felülűszójában is minden más adipokinhez képest (8. C ábra).



8. ábra: Az adipokinek expressziós és szekréción profilja SZ95 faggyúsejtekben. (A) Adiponektin, IL-6, resistin, leptin, serpin E1 és visfatin immunfluoreszcens festése SZ95 faggyúsejtekben. Míg az adiponektin, IL-6, resistin, serpin E1 és visfatin festődése egyaránt jellemző a sejtmagban és a citoplazmában is, addig a leptin expressziója csaknem kizárólag a citoplazmára korlátozódik. Az immunfluoreszcens festés során a sejtmagokat DAPI festékkel tettük láthatóvá és a sejteket konfokális fluoreszcens mikroszkóp segítségével vizsgáltuk. Kísérleteink során minden adipokin esetében három, egymástól független párhuzamos festést végeztünk. Skála: 5 μ m. (B) SZ95 faggyúsejtek lizátumában ELISA módszerrel mért adipokinek szintje. Mivel a sejtek felülúszójában az adiponektin nem volt detektálható, az immuncitokémiai festés során kapott eredmények alapján az oszlopdiaagrammon fehér színnel ábrázoltuk azt. Az ELISA mérések során három, egymástól független kísérletet végeztünk, minden esetben négy párhuzamos mintával dolgoztunk, a kapott eredményeket egytényezős varianciaanalízissel (ANOVA) és Tukey post-hoc teszt segítségével elemeztük (** $p < 0,0001$).

*(C) Kezeletlen SZ95 faggyúsejtek felülűszójában mért adipokinek szintje. Az ELISA mérések során három, egymástól független kísérletet végeztünk, minden esetben négy párhuzamos mintával dolgoztunk, a kapott eredményeket egytényezős varianciaanalízissel (ANOVA) és Tukey post-hoc teszt segítségével elemeztük (***) $p < 0,0001$).*

6.4. Az adipokinek expressziója és szekréciója eltérő módon változik különböző stimulusok hatására.

A különböző betegségek mintáiban végzett immunhisztokémiai vizsgálataink alapján, ahol a faggyúsejtekben nem változott az adipokinek jelenléte, felvetődött annak a lehetősége, hogy a faggyúsejtek adipokin termelése és felszabadítása az, ami központi szereppel bírhat a különböző patológiai folyamatokban. Ezen hipotézis igazolásához arra kerestük a választ, hogy az adipokinek expressziója és szekréciója indukálható és/vagy szabályozható-e különböző gyulladásos stimulusokkal. Az akné kialakulásában központi szerepet betöltő TLR1/2 (PAM3CSK4) és a TLR4 (LPS) útvonalak aktiválása mellett, 13CRA kezelést is végeztünk a sejteken, mely a retinsav receptor (RAR) aktiválódását eredményezi és jelenleg a bőrgyógyászatban az egyik legismertebb és leggyakrabban használt anti-akné ágens. A 13CRA hatásának igazolásához meghatároztuk a *CYP26A1* mRNS expresszióját, mely kezelésre való megemelkedése, továbbá az SZ95 sejtek proliferációjának gátlása pozitív kontrollként szolgált a kísérleti rendszerünkben (9. A és B ábra).

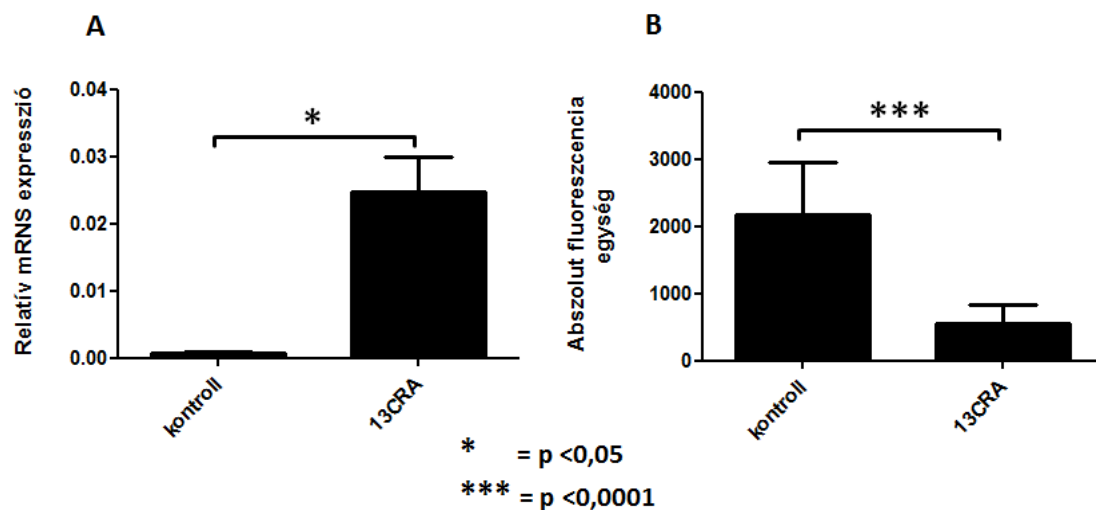
A vizsgált adipokinek mRNS szintjében bekövetkező változásokat RNS szekvenálás és RT-Q-PCR technikával, míg a fehérje szinten történő változásokat a sejtek felülűszójából ELISA módszerrel végeztük.

A TLR aktivátorok hatására a pro-inflammatórikus adipokinek közül mRNS szinten indukálódott a leptin, serpin E1 és a visfatin, valamint az IL-6, mely utóbbi TLR1/2 és 4 ligandok hatására bekövetkező, már ismert emelkedett mRNS expressziója a vizsgálat során belső kontrollként is szolgált. A gyulladásos citokinek emelkedése mellett ugyanakkor az

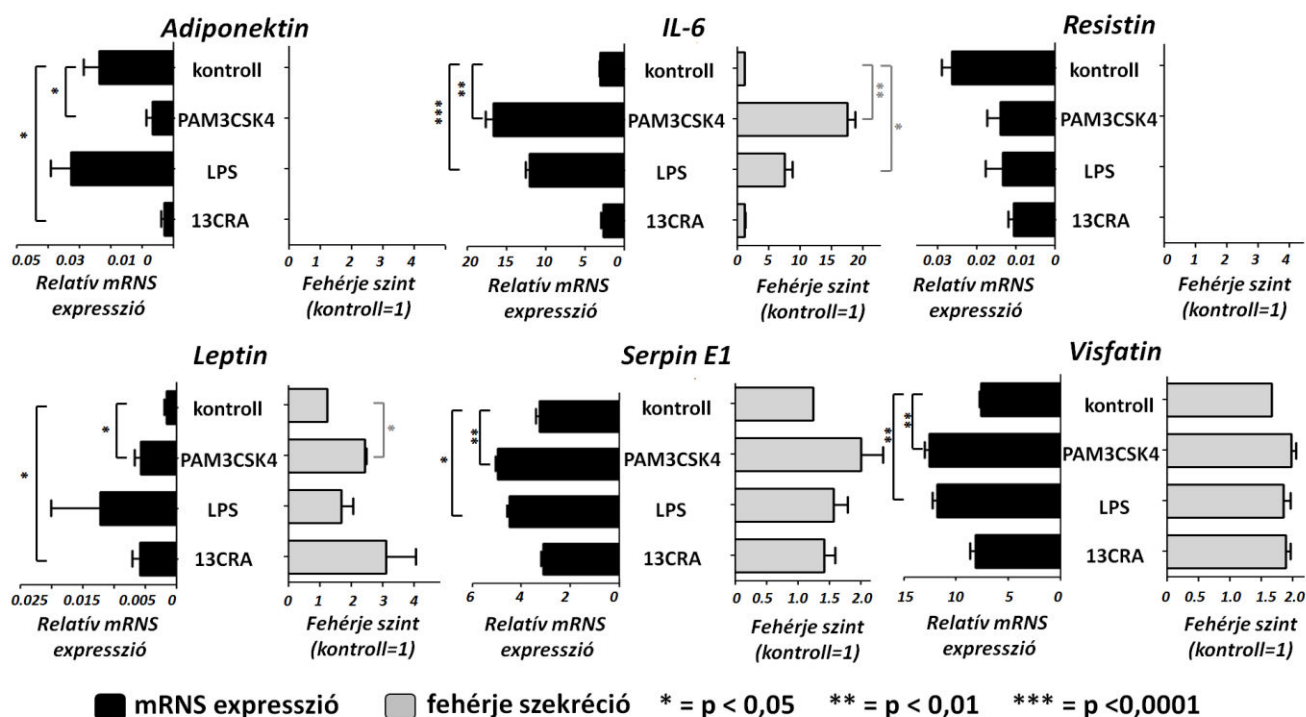
anti-inflammatórikus adiponektin mRNA szintje nemcsak a TLR1/2 aktivátor hatására, de 13CRA kezelésre is csökkenést mutatott.

Az alkalmazott stimulusok mellett a vizsgált adipokinek lehetséges felszabadulásának meghatározását ELISA mérésekkel végeztük, mely során a leptin, serpin E1, visfatin és az IL-6 felülúszóban mért mennyisége (hasonlóan a génexpressziós vizsgálatok során kapott eredményekhez) emelkedést mutatott a TLR aktivátorok hatására. A resistinnek ugyanakkor nem csak az mRNA mennyisége, de szekréciója sem volt indukálható egyik alkalmazott stimulus hatására sem. Érdekesség továbbá, hogy a potenciális anti-akné ágens, 13CRA kezelés hatására egyedül a leptin felülúszóban mért szintje emelkedett meg (10. ábra).

Ezen eredmények megerősítik azt a feltevést, hogy a faggyúsejtek a különböző stimulusok hatására eltérő módon képesek az egyes adipokinek expressziójára és felszabadítására.



9. ábra: A 13-cis retinsav hatása SZ95 faggyúsejtekre. (A) A CYP26A1 mRNS expressziója fokozódik 13CRA hatására. 24 órás, 1 μ M 13CRA kezelést követően a CYP26A1 mRNS indukcióját RT-Q-PCR technikával határoztuk meg. A méréseket három független mintasorozaton, három párhuzamost használva végeztük, az eredményeket pedig párosított t-próba segítségével elemeztük. Annak érdekében, hogy az RT-Q-PCR kísérletek során kiküszöböljük a véletlenszerű mérési hibákat, az átlagot \pm szórást a normalizált értékekből számítottuk (* $p \leq 0,05$). (B) A 13CRA kezelés hatására csökken az SZ95 sejtek proliferációja. 1 μ M 13CRA kezelést követően a sejt proliferációt 4-metilumbelliferil heptonát (MUH) fluoreszcens assay segítségével határoztuk meg a kezelést követő 6. napon. A méréseket három független mintasorozaton is elvégeztük, minden esetben öt párhuzamost használva, a kapott eredményeket párosított t-próbával elemeztük és abszolút fluoreszcencia egységekben ábráztuk (** $p \leq 0,0001$).



10. ábra: Az adipokinek mRNS expressziójának és protein szekréciójának változása TLR1/2 (PAM3CSK4) és TLR4 aktivátorok (LPS), valamint 13CRA kezelés hatására. Az adiponektin, IL-6, resistin, leptin, serpin E1 és visfatin mRNS-ek expresszióját RNS szekvenálás és RT-Q-PCR technikával határoztuk meg (szürke oszlopok), míg a protein szekréciót (fekete oszlopok) ELISA módszerrel mértük az SZ95 faggyúsejtek felülűszójában. Mind a gén mind pedig a fehérje szinten történő változások detektálása a TLR1/2 és 4 aktivátorok (1µg/ml PAM3CSK4 és LPS), valamint a 13CRA (1 µM) kezelést követően 24 órával történtek. A méréseket három független mintasorozaton, mindig három párhuzamost használva végeztük, az eredményeket pedig párosított t-próba és független t-próba segítségével elemeztük (*p≤0,05 **p≤0,01 ***p≤0,0001).

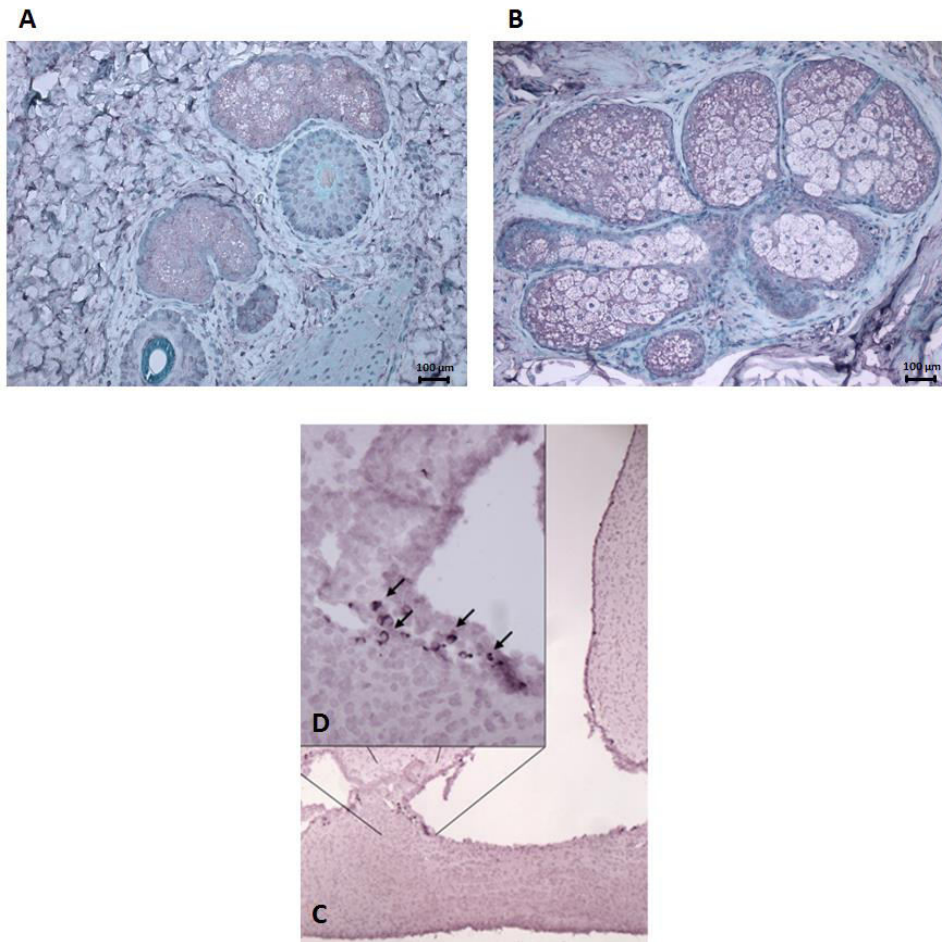
6.5. A funkcionálisan aktív leptin receptor (*Ob-Rb*) expressziója megfigyelhető *in vivo* humán faggyúmirigyben.

Mivel a kísérletek során alkalmazott TLR1/2 és 4 aktivátorok, valamint a 13CRA kezelés hatására a fent említett adipokinek közül mind gén mind pedig fehérje szinten a leptin esetében tapasztaltunk egyértelmű indukciót, ezért felvetődött a leptin kulcsszerepe a faggyúbiológiában (is). Ezen gondolatmenet alapján további kutatásunk céljául tűztük ki annak a kérdésnek a megválaszolását, hogy lehet-e hatással a leptin a faggyúsejtekre is.

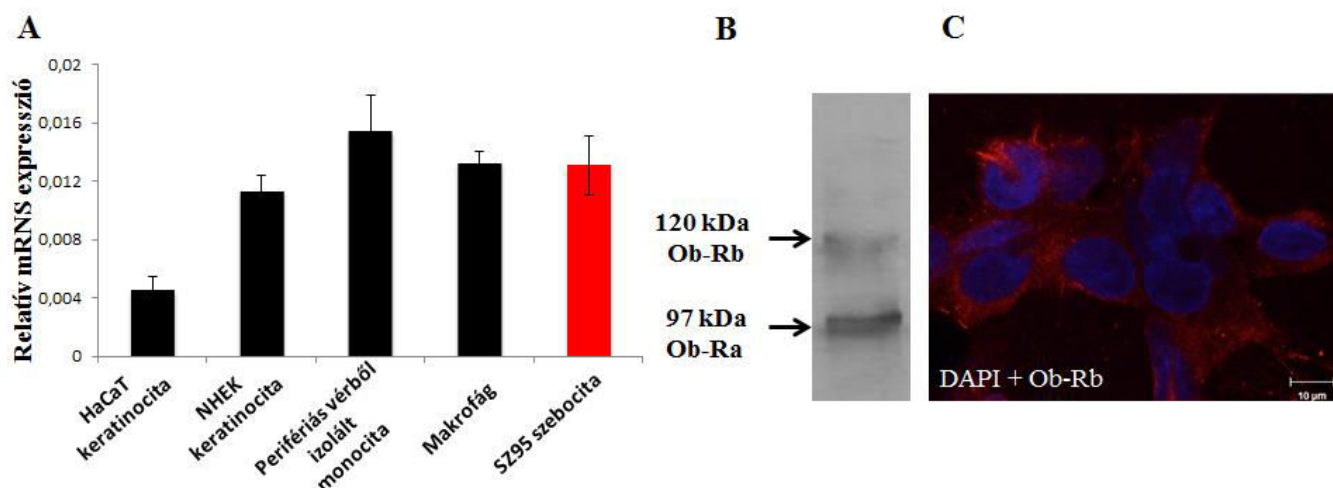
A leptin, biológiai hatását a funkcionálisan aktív, hosszú izoformájú receptorán (*Ob-Rb*) keresztül fejt ki. Vizsgálataink kiindulási pontjaként az *Ob-Rb* jelenlétét igazoltuk immunhisztokémiai festéssel normál humán és aknés bőr mintákat felhasználva. Megállapítottuk, hogy az *Ob-Rb* expresszálódik normál és aknéval érintett bőrmintákon egyaránt (11. A és B ábra). Mivel a leptin biológiai hatását a hipotalamuszban található hosszú izormájú receptorán keresztül fejt ki, pozitív kontrollként a patkány hipotalamuszát használtuk, ahol ismert az *Ob-Rb* kifejeződése (11. C és D ábra).

Ahogy azt az adipokinek meghatározásakor is tettük, *in vitro* rendszerbe helyeztük vizsgálatainkat, melyhez ismét az SZ95 faggyúsejtvonalat választottuk. RT-Q-PCR méréseinkkel megerősítettük, hogy az SZ95 faggyúsejtek is expresszálják az *Ob-Rb*-t mRNS szinten. Az expresszió szintje összevethető volt a humán immortalizált keratinocita (HaCaT), primer humán kartinocita (NHEK) és humán vérből izolált monocita/makrofág sejtekben mértékkel, melyekben már korábban leírásra került a receptor kifejeződése.

Az SZ95 faggyúsejtekben az *Ob-Rb* fehérje szintű kifejeződését további vizsgálatokkal támasztottuk alá. Western blot technikát használva nemcsak az *Ob-Rb*, de az inaktív *Ob-Ra* izoforma expresszióját is detektáltuk, majd immuncitokémiai festéssel is megerősítettük az *Ob-Rb* jelenlétét. (12. A, B és C ábra).



11. ábra: A biológiailag aktív, hosszú izoformájú leptin receptor (*Ob-Rb*) expressziója *in vivo* normál humán és aknés bőrmintában valamint patkány hipotalamuszában. Az *Ob-Rb* immunhisztokémiai festése humán faggyúmirigyben normál (A) és aknéval (B) érintett bőrben. Az immunhisztokémiai festést követően a sejtmagokat metilzölddel festettük meg és legalább három különböző betegből származó mintát vizsgáltunk. Skála: 100 μ m. (C). Az *Ob-Rb* immunhisztokémiai festése, melyen jól azonosítható a patkány agyának harmadik kamrája. Nagyítás: 5X. (D) A kinagyított kép elsősorban a *nucleus arcuatus medialis* (ArcM) területének felel meg. A sötét barna színnel festődő sejtmagok expresszálják a leptin receptor hosszú izoformáját [171], így pozitív kontrollként szolgáltak az immunhisztokémiai festés során. Nagyítás: 20X.



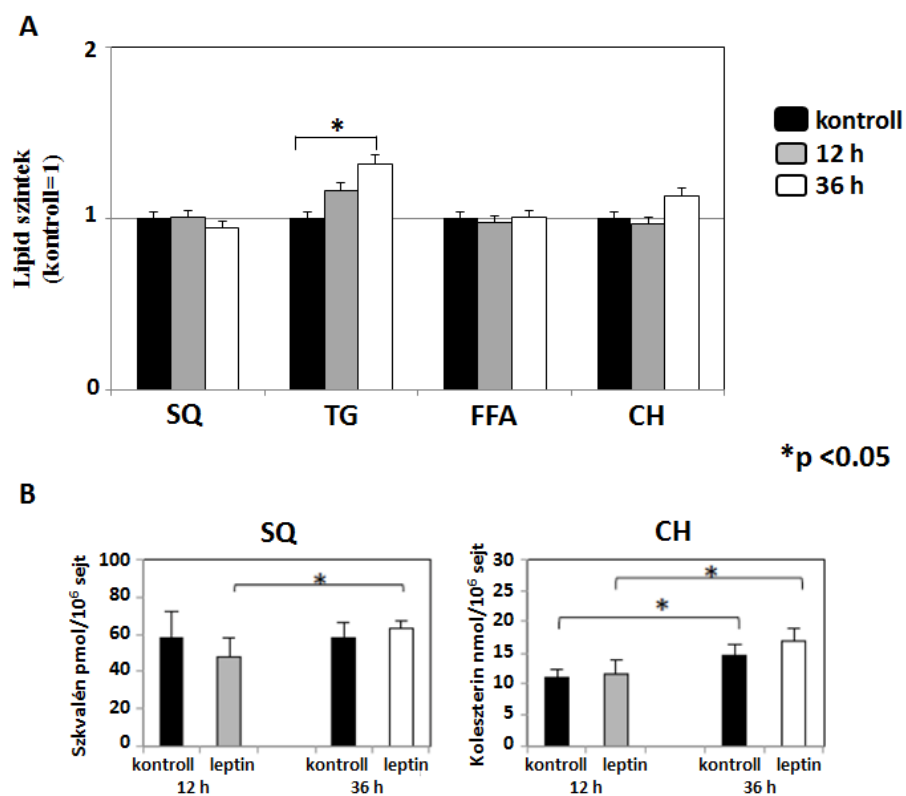
12. ábra: A biológiailag aktív, hosszú izoformájú leptin receptor (Ob-Rb) expressziója SZ95 faggyúsejtekben. (A) Az Ob-Rb mRNA expressziója HaCaT és NHEK keratinocitákban, humán vérből származó monocita/makrofág valamint SZ95 sejtekben. A génexpressziós vizsgálatok meghatározására RT-Q-PCR technikát használtunk. A méréseket három független mintasorozaton, mindig három párhuzamost használva végeztük, az eredményeket párosított *t*-próba segítségével elemeztük. Annak érdekében, hogy a kísérletek során kiküszöböljük a véletlenszerű mérési hibákat, az átlagot \pm szórást a normalizált értékekből számítottuk. (B) Az SZ95 faggyúsejtekben jelenlévő Ob receptor izoformák detektálása fehérje szinten Western blot technikával. A kísérlet során három független mintasorozattal dolgoztunk, a használt antitest pedig mindkét izoforma azonosítására alkalmas volt. (C) Az Ob-Rb specifikus immunfluoreszcens festése SZ95 faggyúsejtekben. Az immunfluoreszcens festés során a sejtmagokat DAPI festékkel tettük láthatóvá és a sejteket konfokális fluoreszcens mikroszkóp segítségével vizsgáltuk. Kísérleteink során három egymástól független festést végeztünk. Skála: 10 μ m.

6.6. Az SZ95 faggyúsejtek zsírtermelése megváltozik leptin kezelés hatására.

Mivel a faggyúsejtek legfőbb feladata a zsírtermelés, melyet a leptin számos sejt típusban képes szabályozni, a továbbiakban a leptinnek a faggyúsejtek lipid termelésére gyakorolt korai illetve késői hatását kívántuk vizsgálni 12 és 36 órás időpontokban.

A faggyúsejtek által termelt legfőbb lipidek, mint a SQ, CH, TG, FFA valamint E vitamin szintjének meghatározását a római San Gallicano Institute of Dermatology munkatársaival együttműködve végeztük nagy teljesítményű vékonyréteg kromatográfia (HPTLC), gáz-kromatográfia-tömeg-spektroszkópia (GC-MS) valamint tömegspektroszkóphoz kapcsolt, nagy teljesítményű folyadék kromatográfia (HPLC-ToF/MS) módszereket használva. A denzitometriás analízis illetve a HPTLC módszerrel kapott eredmények a TG szint szignifikáns emelkedését igazolták a 36 órás leptin kezelést követően (13. A ábra).

A nagyobb szenzitivitás és specificitás érdekében a SQ és a CH esetében további GC-MS vizsgálatokat történtek, mely mérésekben a SQ szintje nem változott a kezelési idő előrehaladtával a kontroll faggyúsejtekben, viszont a leptin kezelés hatására mennyisége szignifikánsan növekedett (* $p \leq 0,05$), továbbá a CH szintjének szignifikáns (* $p \leq 0,05$) növekedése időfüggést mutatott mind a kontroll mind pedig a leptin kezelt sejtekben (13. B ábra).



13. ábra. A triglicerid (TG), a szkvalén (SQ) és koleszterin (CH) mennyiségének változása SZ95 faggyúsejtekben leptin kezelés hatására. (A) A szkvalén (SQ), trigliceridek (TG), szabad zsírsavak (FFA) és a koleszterin (CH) mennyiségében bekövetkező változás 12 és 36 órás leptin kezelés hatására. A lipidek vizsgálata HPTLC módszerrel történt, ahol a TG esetében szignifikáns növekedést tapasztaltunk 36 órás leptin kezelést követően (* $p < 0,05$). (B) A CH szintjének szignifikáns növekedése időfüggést mutat a kezeletlen és a leptin kezelt faggyúsejtekben egyaránt, míg a SQ esetében ez a szignifikáns növekedés csak a leptin kezelt sejtekben volt megfigyelhető (* $p < 0,05$).

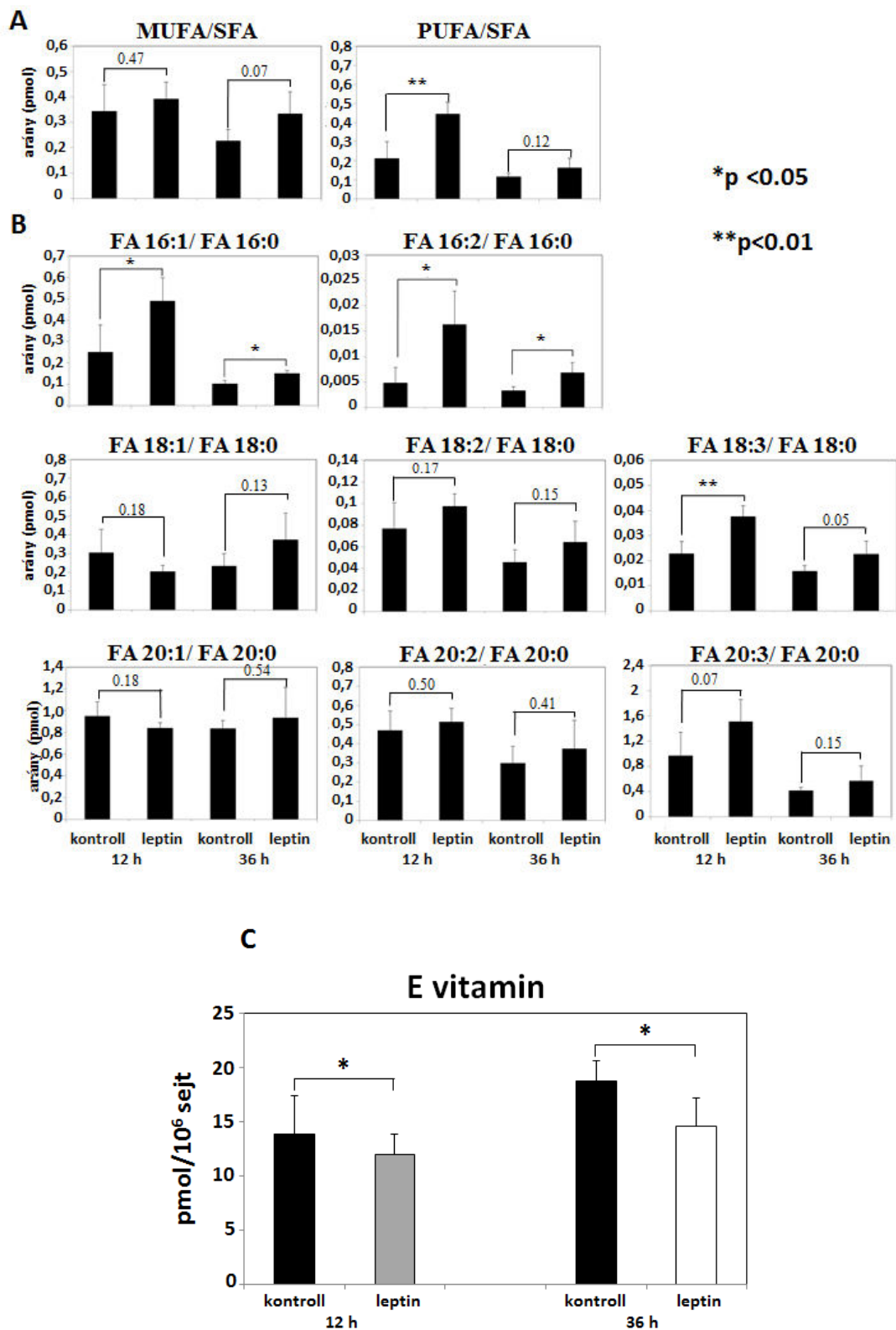
A szabad zsírsavak és a trigliceridek csoportjához tartozó további lipid alosztályok vizsgálatához, a minták HPLC-ToF/MS és GC-MS analízise történt. Az egyszeresen telítetlen zsírsavak/telített zsírsavak (MUFA/SFA) arányában a 36 órás kontroll és leptin kezelt sejteknél jelentős eltérés volt mérhető (szignifikancia értéke $p = 0,07$), míg a többszörösen

telítetlen zsírsavak/telített zsírsavak (PUFA/SFA) esetében szignifikáns növekedést találtunk a 12 órás leptin kezelést követően (14. A ábra).

A 16:1/16:0, 16:2/16:0, 18:1/18:0, 18:2/18:0, 18:3/18:0, 20:1/20:0, 20:2/20:0 és 20:3/20:0 szabad zsírsavak arányainak vizsgálata során megállapítottuk, hogy a 16:1/16:0 és a 16:2/16:0 zsírok esetében szignifikáns a növekedés mind a 12, mind pedig a 36 órás leptin kezelés hatására (14. B ábra).

Annak ellenére, hogy a faggyúban jelentős mennyiségben vannak jelen antioxidánsok (pl. az E vitamin, ami az egyik legfőbb, a szabad gyökök befogadását végző lipid), a faggyúsejtek redox állapotában bekövetkező változások kevésbé vizsgált területnek számítanak. Zsíranalízisünk során az E vitamin szintjének szignifikáns ($*p \leq 0,05$) csökkenését találtuk leptin kezelés hatására a vizsgált 36 órás időpontban (14. C ábra).

A széleskörű lipidanalízis eredménye arra utal, hogy a leptin egyrészt egy korai hatással bír a faggyúsejtekre, amikor is a zsírsavak deszaturációját okozza, míg késői hatása a trigliceridek szintézisének fokozódását eredményezi. A leptin hatása továbbá összekapcsolható a lipofil antioxidánsok, így az E vitamin szint csökkenésével is a faggyúban.



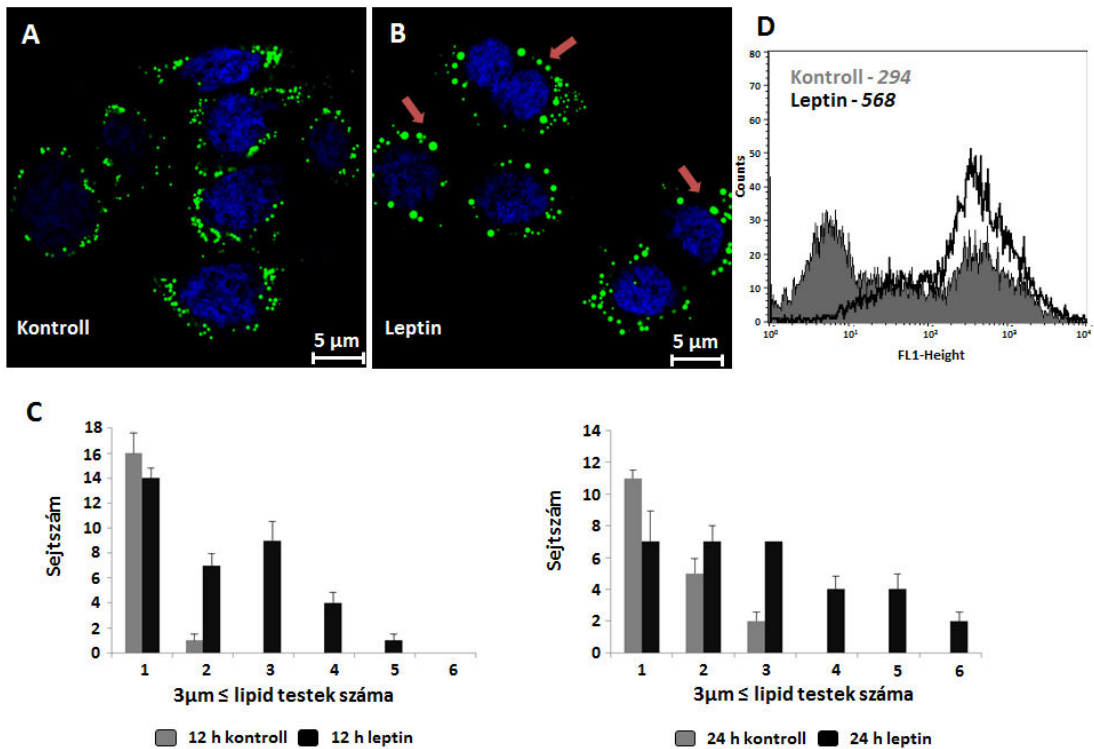
14. ábra. A telítetlen/telített zsírsavak arányának és az E vitamin szintjének változása SZ95 faggyúsejtekben leptin kezelés hatására. (A) A szabad zsírsavak (FFA) mennyiségi

meghatározása HPLC és ToF/MS módszerrel történt 12 és 36 órás leptin kezelést követően. Az egyszeresen telítetlen/telített zsírsavak (MUFA/SFA) esetében nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést leptin hatására, ezzel szemben a többszörösen telített/telítetlen zsírsavak (PUFA/SFA) mennyiségének szignifikáns emelkedése volt megfigyelhető a 36 órás leptin kezelt mintákban (** $p \leq 0,005$). **(B)** A 16:1/16:0, 16:2/16:0, 18:1/18:0, 18:2/18:0, 18:3/18:0, 20:1/20:0, 20:2/20:0 és 20:3/20:0 szabad zsírsavakban bekövetkező változások során a 16:1/16:0 és a 16:2/16:0 FFA arányának szignifikáns emelkedését tapasztaltuk 12 és 36 órás leptin kezelés hatására egyaránt (* $p \leq 0,05$ és ** $p \leq 0,005$). **(C)** Az E vitamin (α -tocopherol) mennyiségének meghatározása GC-MS technikával történt. Az E vitamin mennyisége szignifikánsan csökkent SZ95 szebocita sejtekben 36 órás leptin kezelést követően (* $p \leq 0,05$).

6.7. A lipidtestek mérete megnövekedett a leptin kezelt SZ95 faggyúsejtekben.

A faggyúsejtek, az általuk szintetizált és metabolizált intracelluláris lipideket hidrofób organellekben, ún. lipid testekben tárolják [11, 12]. A leptin hatására a lipid testek képződésében bekövetkező változások detektálásához egy fluoreszcens zsírfestéket, a BODIPY festéket alkalmaztuk [169], majd a sejteket konfokális fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk. Mivel a faggyúsejtekben lévő lipidtestek száma és mérete is igen változó lehet, ezért méréseink során kizárólag a 3 μm -nél nagyobb lipid cseppekre fektettük a hangsúlyt, mely a kezeletlen faggyúsejtekben elvétve volt csak megfigyelhető. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a 12 és 24 órás leptin kezelést követően megnövekedett ezeknek a lipid cseppeknek a száma a kezeletlen sejtekhez képest. (15. ábra A, B és C).

A BODIPY festék fluoreszcens tulajdonsága a minták áramlási citometriával való analizését is lehetővé teszi, mely szintén megerősítette a leptin lipid test indukáló hatását, ahol a nagyobb fluoreszcencia intenzitást a leptin kezelt sejtek esetében figyeltük meg (15. ábra D).

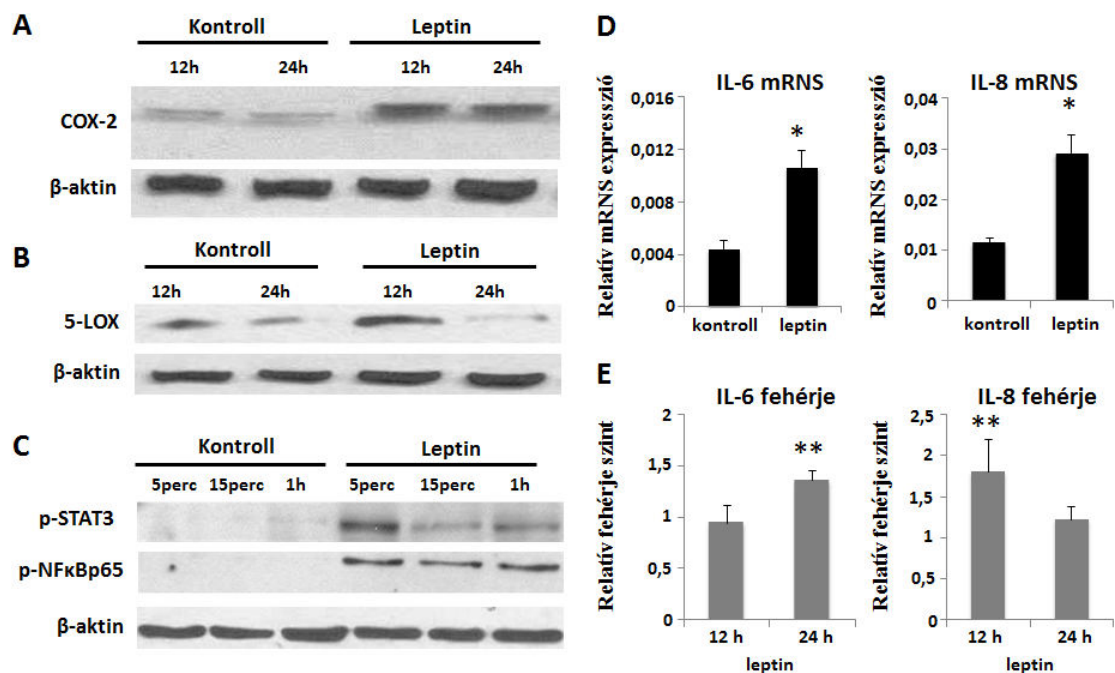


15. ábra: A lipid testek méretének változása SZ95 faggyúsejtekben leptin kezelés hatására. A lipid testek jelölésére alkalmas fluoreszcens BODIPY zsírfestékekkel megnövekedett méretű lipid cseppeket azonosítottunk a kezeletlen, kontroll sejtekhez (A) viszonyítva leptin kezelést (B) követően SZ95 faggyúsejtekben. A BODIPY festés mellett a sejtmagokat DAPI festékekkel tettük láthatóvá, a sejteket konfokális fluoreszcens mikroszkóp segítségével elemeztük és három párhuzamos mintát vizsgáltunk. Skála: 5 μm . (C) A 3 μm -nél nagyobb lipid testek meghatározása 12 és 24 órás leptin kezelést követően SZ95 faggyúsejtekben. A lipid cseppek mérete megnövekszik a kezeletlen sejtekhez (szürke oszlopok) képest a leptin kezelés hatására (fekete oszlopok). A mérések során lemezenként 100 egymást követő sejtben meghatároztuk a 3 μm átmérőt meghaladó lipid cseppek számát és a kísérletek során három párhuzamos mintát vizsgáltunk. (D) A lipid cseppek méretének változása leptin kezelés hatására. A BODIPY festés intenzitásának detektálására áramlási citometriás vizsgálatot végeztünk. A átlagos fluoreszcens jelerősség (mean fluorescence intensity - MFI) érték a kontroll sejtek esetében MFI=294, a leptin kezelt sejtekben pedig MFI=568 volt. Az MFI értékben bekövetkező emelkedés alátámasztja a lipid cseppek méretének növekedését, mely leptin kezelés hatására következett be. A kísérlet során három, egymástól független párhuzamos mintát festettünk meg.

6.8. Leptin hatására fokozódik a COX-2 és az 5-LOX enzimek valamint a gyulladási citokinek expressziója SZ95 faggyúsejtekben.

A leptin, gyulladási folyamatokban betöltött szerepének tanulmányozása érdekében elsőként olyan kulcsfontosságú fehérjék expressziójának változását vizsgáltuk, mint a COX-2 és az 5-LOX, melyek a faggyúsejtek esetében is központi szerepet töltenek be a gyulladási mediátorok termelésében. Western blot technikával azonosítottuk a leptin kezelés hatására bekövetkező COX-2 és 5-LOX enzimek fokozott expresszióját SZ95 faggyúsejtekben (16. A és B ábra).

A gyulladási mediátorokat termelő enzimek vizsgálata után, olyan citokinek expresszióját vizsgáltuk, mint az IL-6 és az IL-8, melyek a faggyúsejtek gyulladási folyamatainak szabályozásában kulcsfontosságúak. RT-Q-PCR technikával és ELISA módszerrel kimutattuk, hogy leptin kezelés hatására az IL-6 és az IL-8 citokinek expressziója fokozódik mRNS és fehérje szinten egyaránt (16. D és E ábra).



16. ábra: *Leptin hatása a COX-2 és az 5-LOX enzimek expressziójára, a STAT3 és az NF-κB útvonalak aktiválódására, valamint a gyulladós citokinek szekréciójára SZ95 faggyúsejtekben. A COX-2 (A) és az 5-LOX (B) fokozott expresszióját, valamint a STAT3 (Tyr705) és az NF-κB p65 (Ser536) (C) útvonalak aktiválódását Western blot technikával mutattuk ki SZ95 faggyúsejtekben leptin kezelést követően. (D) Az IL-6 és az IL-8 gyulladós citokinek mRNA szinten történő meghatározására RT-Q-PCR technikát használtunk. A méréseket három független mintasorozaton, mindig három párhuzamost használva végeztük, az eredményeket pedig párosított t-próba segítségével elemeztük. Annak érdekében, hogy a kísérletek során kiküszöböljük a véletlenszerű mérési hibákat, az átlagot ± szórást a normalizált értékekből számítottuk (* $p \leq 0,05$). (E) 12 és 24 órás leptin kezelés hatására, az IL-6 és az IL-8 gyulladós citokinek esetében fehérje szinten bekövetkező változásokat ELISA módszerrel határoztuk meg. A méréseket három független mintasorozaton, mindig három párhuzamost használva végeztük, az eredményeket pedig párosított t-próba segítségével elemeztük (** $p < 0,01$).*

6.9. A leptin aktiválja a STAT3 és az NF- κ B útvonalakat SZ95 faggyúsejtekben.

A leptin, receptorához kötődve a STAT3 és az NF- κ B útvonalak foszforilálódását, ezáltal aktiválódását eredményezi számos sejttypusban. Ezen gyulladáshoz vezető jelátvitel faggyúsejtben való meglétének igazolására Western blot technikával vizsgáltuk a STAT3 és az NF- κ B útvonalakat. A leptin kezelést követően mindkét útvonalat aktív állapotban találtuk SZ95 faggyúsejtekben (16. C ábra).

Összegezve a leptin kezelt SZ95 faggyúsejtekben végzett vizsgálatainkat, a leptin a faggyúsejtekben a STAT3 és az NF- κ B útvonalak aktiválódásán keresztül, hozzájárul a gyulladáshoz vezető környezet kialakításához, továbbá fokozza a COX-2, 5-LOX gyulladáshoz vezető enzimek valamint az IL-6 és az IL-8 pro-inflammatórikus citokinek expresszióját. Sejtszinten összekapcsolva a gyulladást a zsírsavanyagcserével, a leptin megváltoztatja a lipidmetabolizmust is, növelve MUFA/SFA és PUFA/SFA zsírsavak arányát, illetve csökkentve az E vitamin szintjét.

7. MEGBESZÉLÉS

A faggyúmirigyet sokáig pusztán csak a bőr egyfajta „ártatlan” képletének tartották, melynek (leginkább az állatvilágban) a bőr zsírosítása az egyetlen feladata. Az elmúlt évek kutatásai azonban rávilágítottak arra, hogy a faggyúsejtek az intenzív lipid metabolizmuson kívül az általuk termelt pro-inflammatorikus citokineken (IL-6) és kemokineken (IL-8) keresztül képesek a bőrben zajló gyulladásos folyamatokat is befolyásolni [172-174].

A felismerés, hogy a faggyúsejtek a lipid metabolizmust és a gyulladást sejtszinten kapcsolják össze, számos érdekes hipotézisnek adott teret, felvetve, hogy a faggyúmirigy különböző (pato)fiziológiás folyamatokban is szerepet tölthet be. Ez a kettős funkció nagyban hasonlít a zsírsejtek esetében megfigyeltekhez, ahol a sejtek az intenzív zsírtermelésen kívül képesek a környezetből érkező stimulusok hatására számos inflammatorikus mediátor (másnéven adipokin) termelésére. Ilyen adipokinek például az adiponektin, IL-6, resistin, leptin, serpin E1, visfatin, apelin, chemerin, RBP4 vagy az MCP-1, [175] melyek a krónikus gyulladásos folyamatok kialakításában vesznek részt, és központi kutatások tárgyát képezik például a kórosan elhízott betegek esetében, ahol emelkedett szérumszintjük arányos a test zsírtömegével [150, 176]. Érdekesség, hogy hasonló pozitív korrelációt bizonyos bőrbetegségek esetében is megfigyeltek, amelyből feltételezhető, hogy egyrészt van egyfajta kommunikáció a bőr és a zsírszövet között továbbá, hogy a zsírsejtek mellett a bőrben is lehetnek olyan sejtek, melyek az adipokinek potenciális forrásaként szolgálhatnak. Ugyanakkor ezidáig csak a keratinocitákat és a fibroblasztokat azonosították olyan sejtípusokként, melyek korlátozottan, de képesek adipokinet termelni a bőrben [177-179].

Mivel a faggyúsejtek több szempontból is (intenzív lipid metabolizmus, gyulladásos aktivitás, különböző lipogénikus faktorok jelenléte) nagy hasonlóságot mutatnak a zsírsejtekkel, munkánk során célul tűztük ki az adipokinek expressziós profiljának

meghatározását a faggyúmirigyben, felvetve annak a lehetőségét, hogy a faggyúsejtek az adipokinek potenciális forrásaként lehetnek jelen a bőrben. Eddigi ismereteink alapján a fent említett adipokinek közül ezidáig csak az IL-6, IL-8 és a resistin jelenlétét mutatták ki humán faggyúsejtekben [20, 46], éppen ezért kíváncsiak voltunk arra, hogy más adipokinek expresszálódnak-e a faggyúsejtekben, szekrúciójuk megfigyelhető-e illetve milyen lehetséges mechanizmusok állhatnak a termelődésük mögött.

Első lépésként azonosítani kívántuk a faggyúsejtek adipokin „eszköztárát”, azaz, az *in vivo* faggyúmirigyekben expresszáló adipokinek nem csak a normál humán bőrben, de különböző bőrgyógyászati betegségekben is. Így a jól ismert faggyú-asszociált bőrbetegségen kívül, mint az akné, olyan betegségeket is megvizsgáltunk, melyek kialakításában a faggyúmirigynek (eddig) nem tulajdonítottak fontos szerepet (pl. melanoma és psoriasis), vagy pedig megkérdőjelezett a szerepe (pl. rosaceában). Az immunhisztokémiai festés során, melyet a Klinikánkon kórszövettanász által verifikált, paraffinba ágyazott szövettani mintákon végeztünk, megállapítottuk, hogy az adiponektin, IL-6, resistin, leptin, serpin E1 és visfatin a patológiás környezettől függetlenül jelen volt a faggyúmirigyekben, míg az apelin, chemerin, RBP4 és MCP-1 expressziója nem volt megfigyelhető egyik esetben sem. Az immunhisztokémiai festés során keletkező esetleges fals negatív eredmény kizárásához, ami a formalin fixált és paraffinba ágyazott minták előkészítése vagy feldolgozása miatt bekövetkezhetett, minden adipokint megfestettünk fagyasztott, normál humán bőrön is, hasonló mintázatot kapva.

Tekintve, hogy az adipokinek megjelenése független volt a vizsgált bőrgyógyászati betegségektől, feltételezhető, hogy (pato)fiziológiás szerepük a termelődésüket, szekrúciójukat befolyásoló különböző mechanizmusokhoz köthető. Annak érdekében, hogy ezeket a folyamatokat vizsgálni tudjuk, kutatásainkat az SZ95 immortalizált humán faggyúsejtvonalon folytattuk tovább, mely a faggyúsejt kutatásban az egyik legjobban

tanulmányozott és leggyakrabban használt sejtvonal [24]. Az *in vitro* végzett vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy az SZ95 faggyúsejtek eltérő mennyiségben expresszálják és szekretálják az adipokineket, mely különböző stimulusok hatására eltérően, de indukálható. A citoplazmában és a sejtmagban történő felhalmozódásuk pedig arra enged következtetni, hogy a sejten belül további funkciókkal is bírhatnak, mely további kutatások érdekes kiindulási pontjai lehetnek.

A faggyúsejtek legelfogadottabb gyulladásoz stimulusai a TLR2 és 4 aktivátorok, melyek központi szerepet töltenek be az akné patogenezisében és ismertén a pro-inflammatórikus citokinek termelődését fokozzák, mint az IL-6 vagy az IL-8 [45, 58]. Kísérleteink során ezeket a gyulladásoz aktivátorokat használva nemcsak az IL-6, de a leptin, a serpin E1 és a visfatin esetében is indukciót figyeltünk meg mind génexpressziós, mind pedig fehérje szinten, felvetve, hogy ezen adipokinek további figyelmet és vizsgálatokat igényelnek az akné patogenezisének megértéséhez.

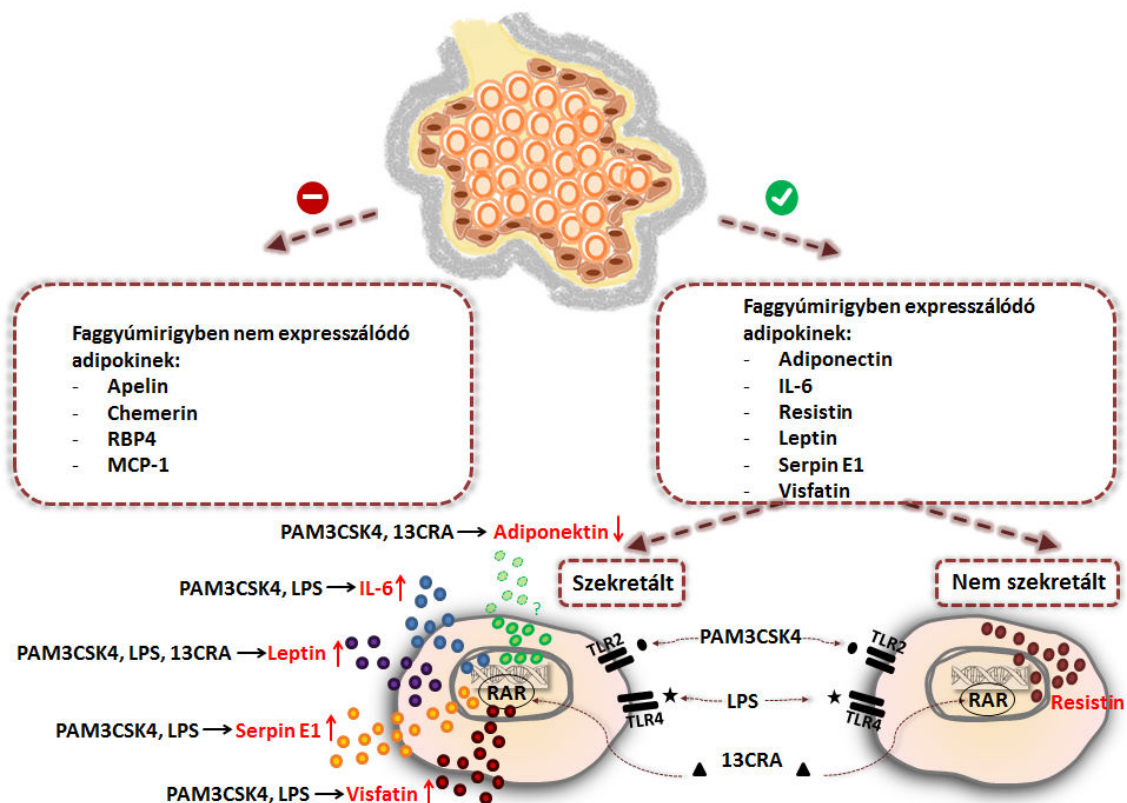
Feltételezve, hogy a faggyúsejtek az adipokineken keresztül képesek befolyásolni a környezetüket mindenképp fontos, hogy szerepüket esetleges terápiás szempontból is megvizsgáljuk. Ezért a TLR2 és 4 aktivátorokon kívül, kihasználva kísérleti tesztrendszerünket, a 13CRA hatását is vizsgáltuk, mely a bőrgyógyászatban az egyik legelterjedtebben használt anti-akné szer. Mivel fehérje szinten a leptin termelődésének, gén szinten pedig az adiponektin mRNS expressziójának indukcióján kívül egyik adipokin esetében sem figyeltünk meg változást 13CRA hatására, így feltételezhetően a 13CRA elsősorban a differenciáció/metabolizmus folyamatok szabályozásában vesz részt a humán faggyúsejtekben csakúgy, mint ahogy azt a patkány zsírszövetében megfigyelték [180], háttérbe szorítva esetleges - az immunsejtek esetén ismert - gyulladásoz szabályozó hatását.

Vizsgálataink másik érdekes eredménye, hogy a visfatin nemcsak rendkívül magas mennyiségben expresszálódott és szekretálódott a faggyúsejtek esetében, de mennyisége

további indukciót mutatott az alkalmazott TLR aktivátorok hatására. A visfatinnak feltételezhetően nemcsak a cukorbetegségben és a metabolikus szindrómában van gyulladáso szerepe [181], de igen jelentős mértékben fejeződik ki a meszes érre jellemző ún. zsírmakrofágokban is, ahol valószínűleg a mátrix degradációjában és a gyulladás kialakításában vesz részt [128]. Ami a visfatin bőrben betöltött szerepét illeti, elősegítheti a psoriasis kialakulását azáltal, hogy fokozza az antimikrobiális peptidek termelését a humán keratinocitákban [182]. Ugyanakkor a visfatin rendkívül nagy mennyiségben történő termelése a faggyúsejtek által, önmagában nem elegendő ahhoz, hogy messzemenő következtetéseket vonjunk le arra vonatkozóan, hogy a faggyúmirigy, a visfatinon keresztül bármilyen módon részt venne a psoriasis kialakulásában vagy a betegség progressziójában, azonban jól példázza a faggyúmirigy pro-inflammatórikus tulajdonságát, így vizsgálata mindenképpen érdekes kutatások tárgyát képezheti a jövőben.

A serpin E1 a zsírszövet, valamint az endotélium által nagy mennyiségben termelt adipokin, mely egyfajta összekötő „kapocs” lehet az obezitás és a betegséghez társuló megnövekedett trombózusra való hajlam között [183]. A bőrben betöltött szerepét illetően részt vesz a sebgyógyulási folyamatok szabályozásában és a bőrfibrózis patogenezisében [184, 185]. Továbbá a melanoma esetében, mint rossz prognosztikai markerként azonosították, ugyanis a szöveti mátrix átépülésén keresztül részt vehet a malignusan transzformált sejtek inváziójában és a metasztázis képződés szabályozásában [123]. Mivel a serpin E1 a faggyúmirigyben is expresszálódik feltételezhetjük, hogy a faggyúmirigy is ezen adipokin segítségével potenciálisan hozzájárulhat az extracelluláris mátrix „remodelling” folyamat szabályozásához. További kutatások rávilágíthatnak a jövőben arra, hogy milyen mechanizmusok állnak a serpin E1-nek a sebgyógyulásban valamint a melanoma progressziójában és a metasztázis képződésében betöltött szerepének háttérében, melyhez a faggyúmirigy is hozzájárulhat.

Az adiponektin jelen ismereteink szerint a legelfogadottabb anti-inflammatórikus adipokin, gátolja az IL-6 szekrécióját, továbbá olyan anti-inflammatórikus citokinek termelődését segíti elő, mint az IL-10 és az IL-1 receptor antagonisták [186]. Az adiponektin a keratinocitákban is csökkenti a pro-inflammatórikus citokinek (TNF- α , IL-17, IL-22 és IFN- γ) termelődését [187], hozzájárul a sebgyógyulás folyamatának szabályozásához [188], továbbá humán szőrtüszőből származó sejtekben kimutatták, hogy befolyásolja a szőrnövekedést is [189]. Vizsgálataink, mely az adiponektint a humán faggyúmirigyben is azonosította, kulcsfontosságúak, tekintve hogy a humán dermiszben lejátszódó gyulladásos folyamatok szabályozásában a faggyúmirigy ezáltal nem csak pro-, de akár anti-inflammatórikus módon is részt tud venni (17. ábra).



17. ábra: A faggyúsejtek által expresszált és szekretált adipokinek áttekintése. A pro-inflammatórikus IL-6, resistin, leptin, serpin E1 és visfatin, továbbá az anti-inflammatórikus adiponektin *in vivo* egyaránt kifejeződik normál humán bőrben, rosaceában, aknéban, melanómában és psoriasisban csakúgy, mint *in vitro* SZ95 faggyúsejtekben. A kísérlet során alkalmazott stimulusk hatására (PAM3CSK4, LPS és 13CRA) a resistin kivételével minden

adipokin expressziója szabályozódik (adiponektin, IL-6, leptin, visfatin és serpin E1) mRNS szinten. Az IL-6, leptin, serpin E1 és visfatin esetében fehérje szinten tapasztalt változások korrelálnak az mRNS szinten megfigyelhető eredményekkel. Az adiponektin, faggyúsejtekből történő feltételezett szekréciónak szaggatott vonalakkal, zöld színű jelekkel ábrázoltuk Akazawa és munkatársai munkája alapján [190].

A zsírszövetben a megnövekedett lipid felvétel válaszaként fokozott leptin szekréció figyelhető meg [191]. A leptin étvágyat befolyásoló hatását a hipotalamuszban található leptin receptoron keresztül fejt ki, szérumban megfigyelhető szintje pedig pozitív korrelációt mutat a BMI-vel. A leptin hatása azonban nem csak a szervezet energia háztartásának szabályozására korlátozódik, hisz a metabolikus hatásokon túl, a leptin olyan sejtek immunválaszát is szabályozza, mint a zsírsejtek, makrofágok [192], dendritikus sejtek [193], T- és B-sejtek [194, 195], NK sejtek [196], porcsejtek [197], fibroblasztok [198] és keratinociták [199]. Ami a bőr fiziológiás folyamatait illeti, a leptin központi szabályozója a regenerációs és bőröregedési folyamatoknak továbbá a haj növekedését is befolyásolja [165, 198, 200]. Mivel a leptin sejtszinten igen komplex szerepet tölt be a zsírsanyagcsere és a gyulladás folyamatának szabályozásában, feltételezhető, hogy a leptin által indukált szignál folyamatok beilleszthetőek a faggyúsejtben lejátszódó biológiai folyamatokba is. Ezt a hipotézist támasztja alá az a vizsgálat, melyben leptin deficiens (*ob/ob*) egerekben a faggyúmirigyeket nagyobbaknak [201], valamint a vízvisszatartás szabályozásáért felelős viasz diészterek termelődését abnormálisnak találták [10]. A rendelkezésünkre álló egérkísérletekből származó adatok alapján azonban igen nehéz a humán faggyúsejtekre is feltétel nélkül érvényes következtetéseket levonni, nem csak azért, mert az egér szőrumának összetétele igen eltérő a humán szőruméhoz képest, de az említett cikkben használt módszer, mely a hematoxilín-eozin festett szövettani metszeteken próbálta meghatározni a faggyúmirigyek méretét, szintén nem alkalmas a faggyúmirigyek méretbeli változásának detektálására [202]. Ugyanakkor ezek az eredmények kétségtelenül rámutatnak arra, hogy a

leptinnek fontos szerepe lehet a humán faggyúsejt-biológiában, relevánsá téve a zsírtermelésre, valamint a gyulladásos hatásra irányuló vizsgálatokat.

Munkánk során megállapítottuk, hogy a humán epidermiszhez [198], a humán folliculáris papilla sejtekhez [203] és a patkány preputiális mirigyében található faggyúsejtekhez [14] hasonlóan a humán faggyúmirigyben is megtalálható a leptin receptor. Érdekesség, hogy a leptin receptor hosszú, funkcionálisan aktív izoformája (Ob-Rb) az általunk vizsgált normál és aknés bőrben egyaránt kifejeződik, jelezve hogy kondíciótól függetlenül képes lehet a faggyúsejt válaszolni a leptinre. Annak érdekében, hogy meghatározzuk hogyan képes a faggyúsejtekben a leptin a gyulladást és a zsírtermelést befolyásolni, elsőként megerősítettük az Ob-Rb jelenlétét SZ95 faggyúsejtekben is, majd átfogó analízist végeztünk, mely során a pro-inflammatórikus szignálútvonalakat, a lipid test képződést, továbbá a lipid profil változását vizsgáltuk.

A faggyúsejtek szerepe nemcsak kizárólagosan a zsírtermelés, hanem különböző gyulladásos folyamatokat is képesek szabályozni. Vizsgálatok kimutatták, hogy az aknés betegek faggyúmirigyei (akárcsak az SZ95 faggyúsejtek) gyulladásos mediátorok termelésében fontos szerepet betöltő enzimeket (COX-2 és 5-LOX) valamint pro-inflammatórikus citokineket (pl. IL-6) és kemokineket (pl. IL-8) is expresszálnak [46]. Ezeknek a gyulladásos fehérjéknek az alapszinten történő kifejeződése tovább fokozható különböző stimulusok hatására, mint pl. arachidonsav, linolsav vagy *P. acnes* [14, 58]. Kísérleteink során az SZ95 faggyúsejtekben a fent említett fehérjék expressziójának fokozódását figyeltük meg leptin hatására, mely eredmények alátámasztják, hogy a leptin központi szabályozója lehet a gyulladásos folyamatoknak.

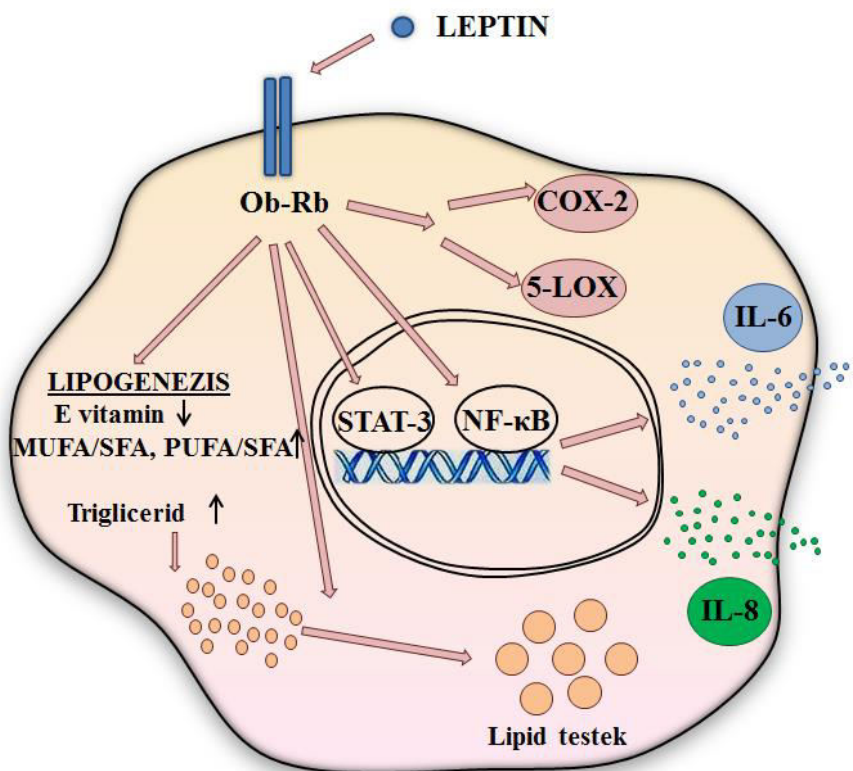
A STAT3 C-terminális végéhez közeli tirozin (Y705) és a transzaktivációs doménban lévő szerin (S727) foszforilációja a STAT3 aktiválódásához, dimerizációjához valamint a sejtmagba történő transzlokációjához vezet. A DNS-hez történő bekötődés során olyan gének

szabályozása történik meg, mint a c-Myc, JunB és Mcl-1 [204]. Továbbá az NF- κ B aktivációja, sejtmagi transzlokációja, a DNS megfelelő régiójához történő bekötődése eredményeként a p65 alegysége foszforilálódik, melynek eredményeként az NF- κ B transzkripciós szinten képes szabályozni a folyamatokat. Munkánkkal, mely során leptin hatására a STAT3 valamint az NF- κ B p65 alegységének foszforilációját figyeltük meg SZ95 faggyúsejtekben, nemcsak a gyulladáshoz vezető válasz háttérében álló lehetséges útvonalat azonosítottuk, de elsőként mutattuk ki, hogy az SZ95 faggyúsejtekben aktiválható a STAT3 útvonal is, rávilágítva ezzel a humán faggyúsejtek komplexitására.

A lipid test képződés az intenzív zsírsavanyagcserét folytató sejtekre jellemző, mely során a sejt az általa termelt lipideket hidrofób organellekbe „zárja” [11, 12]. A lipid testek jelenléte illetve dinamikus változása azonban kevésbé tanulmányozott terület. A vizsgálatainkhoz használt BODIPY fluoreszcens festéssel kimutattuk, hogy leptin kezelés hatására megnő a lipid testek mérete SZ95 faggyúsejtekben. Ehhez hasonló jelenség tapasztalható leptin hatására a makrofágok esetében is [205] igazolva, hogy a leptin számos sejttípusban képes befolyásolni a zsírsavmetabolizmust és az intracelluláris lipid raktárak kialakulását. Mivel a sejten belül felhalmozott lipidek mennyisége dinamikusan változik, a lipid testek kialakulásának folyamata, valamint az, hogy mi lesz a sejten belül felhalmozott zsírok sorsa nagyban függ az adott szövetől/sejttől. A különböző sejtekben ugyanis nem feltétlenül a lipolízis lesz a sorsa a zsíroknak, hanem az előállított zsírokat akár raktározhatja is egy adott sejt (pl. a zsírszövet esetében) vagy kiürítheti azt (pl. a faggyúmirigy esetében) [167]. A lipid testek méretének növekedése és a szébum termelés közötti összefüggést vizsgálták a Cidea (cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A)-deficiens egerekkel végzett kísérletekben is. A Cidea elsősorban a fehér- és barna zsírban kifejeződő, lipid testekhez kapcsolódó fehérje, amely a lipid cseppek megnövekedéséért felelős [206]. A Cidea-hiányos egerek esetében megfigyelték, hogy a bőrfelszíni lipidek

menyisége, illetve a faggyúsejtek lipid termelése jelentősen lecsökkent, mellyel egyidőben nagy számú, de kis méretű lipid testek jöttek létre. Ugyanakkor a Cidea emelkedett szintje pozitív korrelációt mutatott a szébum termeléssel. Ezzel összhangban, ha az SZ95 faggyúsejtekben túltermeltették a Cidea fehérjét, akkor a fokozott zsírtermelésen kívül nagy méretű lipid testek jelentek meg, felvetve annak a lehetőségét, hogy a zsírcseppek méretbeli növekedése valójában nem is annyira a tároláshoz mintsem inkább a szekrécióhoz társuló jelenség a faggyúsejtek esetében [207]. Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy a leptin kezelés hatására kialakult nagy méretű lipid testek is a fokozott szekréció markereként szolgálhatnak. Annak érdekében, hogy megértsük mi is pontosan ezeknek a lipid testeknek a funkciója és kialakulásuk hátterében milyen mechanizmusok állnak, kétségtelenül további kutatások szükségesek.

A faggyúsejtek által termelt szébum nem csak az állatvilágban tér el fajonként, de jellegzetes összetételt mutat az emberben is, melyben alapállapotban a telített zsírsavak vannak túlsúlyban [168]. Ugyanakkor számos tanulmány beszámolt arról, hogy ez az összetétel megváltozhat bizonyos bőrbetegségekben, ahogyan azt bevezetőnkben részletesen bemutattuk az akné kontextusában. Azonban a kérdés továbbra is megválaszolatlan: vajon a faggyú összetételének megváltozása az, ami a gyulladáshoz vezet vagy pedig „csak” természetes velejárója a bőrgyulladásnak? Választ keresve a leptin esetleges szerepére a faggyú összetételének befolyásolásában, további lipid analízist [167] végeztünk, meghatározva azoknak a zsíroknak a szintjét, melyek leginkább jellemzőek a humán faggyúra. Az eredményeink egyértelműen a leptin hatását igazolták: a kezelés következtében az SZ95 faggyúsejtekben különböző egyszeresen és többszörösen telítetlen zsírsavak halmozódtak fel, mely magyarázattal szolgálhat a megemelkedett triglicerid szintekre, valamint a nagyobb méretű lipid testek kialakulására egyaránt, ahogy azt humán és egér májsejtekben korábban már kimutatták [208].



18. ábra: A leptin hatása SZ95 faggyúsejtekre. Leptin kezelés hatására aktiválódnak a STAT3 és az NF-κB útvonalak, megemelkedik a COX-2 és 5-LOX gyulladásoz enzimek expressziója, továbbá fokozódik az IL-6 és az IL-8 pro-inflammatorikus citokinek termelése. Megváltozik a gyulladásoz fenotípusnak a zsírsavcsereje is, mely során megnövekszik az egyszeresen telített/telítetlen zsírsavak (MUFA/SFA) és a többszörösen telített/telítetlen zsírsavak (PUFA/SFA) aránya, lecsökken az E vitamin szintje, továbbá jelentősen megnövekszik a lipid testek mérete.

Eredményeink biológiai relevanciájának interpretálásában Smith és munkatársainak vizsgálata ad rendkívül érdekes támpontot, akik megállapították, hogy az aknés betegek tünetes bőrének faggyújában a telítetlen zsírok felhalmozódása jellemző, ahogy azt a leptin kezelt faggyúsejteknel is tapasztaltuk, míg a betegség klinikai javulása összefüggést mutatott a telítetlen/telített zsírsavak arányaiban (elsősorban a FFA 16:1/16:0) bekövetkező csökkenéssel [209]. A tanulmány külön kitért arra, hogy további javulás volt megfigyelhető a tünetekben, ha a vizsgálatban résztvevő betegek alacsony glikémiás (LGL) étrendet követtek, aminek következtében csökkent a testtömeg és a faggyúban lévő telítetlen zsírsavak

mennyisége is a kontroll csoporthoz képest [209]. Ezen eredmények felvetik az LGL diéta szerepét a szébum összetételének megváltozásában és ezzel együtt az aknés tünetek súlyosságában, azonban a háttérben álló mechanizmust nem azonosította. Eredményeink tükrében ebbe a folyamatba illeszkedhet be a leptin azáltal, hogy megnöveli a telítetlen zsírsavak (legfőképp a FFA 16:1/16:0) arányát a faggyúsejtek által termelt zsírokban, hasonlóan az aknés betegek faggyújában ismertekhez. A szébumban megtalálható legfőbb antioxidáns, az E vitamin szint lecsökkenése leptin kezelés hatására pedig méginkább felveti a lehetőségét annak, hogy ha nem is teljes mértékben felelős a leptin, de komoly szereppel bírhat a gyulladásos aknés bőrtünetek esetében tapasztalt megváltozott faggyú kialakításában [198]. A rendelkezésünkre álló klinikai kutatások is kapcsolatot találtak a szérum leptin szintek és az akné között, bár csak az obez betegek szérumában volt a leptin szintje szignifikánsan magasabb azokhoz a betegekhez képest, akik obezek voltak ugyan, de nem volt aknéjuk [163]. Hasonló méréseket végezve nem obez betegek esetében ugyanakkor már nem volt tapasztalható szignifikáns különbség a szérum leptin szintjében attól függetlenül, hogy volt-e a betegeknek aknés tünete vagy sem, ami arra enged következtetni, hogy a számos metabolikus folyamat közül nem elég pusztán a leptinnel számolnunk ahhoz, hogy megértsük komplex szerepüket az akné kialakulásában [161].

Az adipokinek karakterizálásával munkánk még komplexebb megvilágításba helyezi a leptint, hisz felveti annak lehetőségét is, hogy nem csak a keringésben lévő leptin vezethet a faggyúmirigy gyulladásához és megváltozott zsírtermeléséhez, de maga a faggyúsejt is képes lehet használni autoregulatorikus formában. A faggyúsejtek és a leptin kapcsolatának további kiterjesztése olyan szignál útvonalak irányába, mint a mammalian target of rapamycin (mTOR) útvonal (melyet szintén képes a leptin indukálni), további érdekes kapcsolatokat teremthet az akné megléte/súlyossága és az érintett betegek egy részében megfigyelhető metabolikus eltérések között [210-212].

Munkánkat összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a zsírsejtekhez hasonlóan a faggyúsejtek is képesek expresszálni és szekretálni az adipokineket, így ezeken a fehérjéken keresztül a faggyúmirigy akár befolyásolhatja a dermiszben lejátszódó, dinamikusan változó folyamatokat is. Ha figyelembe vesszük a faggyúmirigyek igen nagy számát a bőrben, felvetődik az egyik legfontosabb és talán legprovokatívabb kérdés is: képesek-e a faggyúmirigyek (a zsírszövethez hasonlóan) az általuk termelt adipokineken keresztül nemcsak lokálisan, de szisztémásan is kifejteni a hatásukat. Így a munkánkra épülő további kutatások egyrészt új megvilágításba állíthatják a szébum termelődését és a gyulladási folyamatok kialakulását az adipokinek tükrében, másrészt új lehetőségek előtt is megnyithatják az utat a különböző gyulladási bőrbetegségek kezelésére vonatkozóan.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A faggyúmirigy, a haj folliculusokkal együtt, a pilosebaceus egység alkotója, melynek elsődleges feladata a szébum termelés. Az intenzív szébum termelés valamint a szébum lipid összetételének változása kulcsfontosságú szerepet játszik olyan gyulladásos bőrbetegségek kialakulásában, mint az akné vagy az atópiás dermatitis. Különböző receptorokon (TLR2, TLR4 és TLR6) keresztül, a faggyúmirigy számos pro-és anti-inflammatórikus citokin (IL- 6 és 10), kemokin (IL-8), antimikrobiális lipid és peptid termelődését szabályozza.

A zsírszövet gyulladásos hatásának közvetítésében központi szerepet betöltő adipokinek, mint pl. az IL-6, MCP-1, TNF- α , leptin vagy az adiponektin, olyan kisméretű bioaktív molekulák, melyek immunrendszerre kifejtett hatása számos sejttípusban került leírásra. Ezek közül az IL-6-ról, illetve a TNF- α -ról már bebizonyosodott, hogy a zsírszövethez hasonlóan a faggyúsejtek is képesek termelni, felvetve, hogy e fehérjéken keresztül a zsírszövethez hasonlóan a faggyúsejtek is képesek gyulladást iniciálni illetve modulálni.

Munkacsoportunk az adipokinek szisztémás analízise során azt a megfigyelést tette, hogy a faggyúsejtek számos egyéb adipokint is képesek termelni. Kísérleteink során megvizsgáltuk, milyen stimulusok képesek szabályozni illetve felszabadítani a faggyúsejtekből az IL-6-ot, adiponektint, leptint, resistint, serpin E1-et és visfatint. Munkánkat szöveti preparátumokon, illetve SZ95 sejtkultúrán végeztük, olyan sejtkézeléseket használva, melyek dermalis jelenléte ismert: gyulladásos stimulusok (TLR1/2 [PAM3CSK4] és 4 [LPS] aktivátorok) valamint terápiásan használt zsír (13CRA). Ezen stimulusok hatására a gén expresszió szintjén figyeltünk meg változásokat az IL-6, adiponektin, leptin, serpin E1 és visfatin esetében, mely eredményt ELISA módszerrel fehérje szinten is megerősítettünk. Ezek után figyelmünket a

leptinre fordítottuk, ugyanis ez volt az az adipokin, melynek termelődése indukálható volt a fent említett stimulusok hatására.

A leptin, biológiailag aktív receptorán keresztül a szervezet energia háztartásának modulálásán kívül, számos sejtípusban (makrofágok, dendritikus sejtek, T- és B limfociták, keratinociták) szabályoz immunválaszt. Normál és aknés bőrmintában, valamint SZ95 sejtvonalon egyaránt azonosítottuk, hogy a biológiailag aktív, hosszú izoformájú leptin receptor kifejeződik a faggyúsejtekben, relevánssá téve a leptin faggyúsejtekre gyakorolt hatásának vizsgálatát. Munkacsoportunk kimutatta, hogy SZ95 faggyúsejtekben leptin kezelés hatására egyrészt megnő a lipid cseppek mérete és megváltozik a lipid összetétel, másrészt különböző gyulladáshoz vezető mediátorok termelődésében szerepet játszó enzimek (COX2 és 5-LOX) expressziója indukálódik. A leptin fokozza továbbá a pro-inflammatórikus IL-6 és IL-8 citokinek mRNS és fehérje szintű expresszióját, valamint a STAT3 és az NF- κ B útvonalak aktiválódását eredményezi, mellyel sejtszinten kapcsolja össze a zsírsavanyagcserét a gyulladással.

Eredményeink arra utalnak, hogy a faggyúmirigy az általa termelt adipokineken keresztül nem csak célpontja lehet a bőrben a különböző gyulladáshoz vezető folyamatoknak, hanem annak iniciálója és modulálója is.

9. SUMMARY

Sebaceous glands and hair follicles form together the pilosebaceous units, whose primary function is the production of sebum. While an altered lipid composition associated with an increased excretion of sebum is one of the most important factors in the development of acne, on the other hand, its impaired production has been proposed as a key feature in atopic dermatitis. Sebaceous glands also play a central role in skin inflammation. Pattern recognition receptors such as TLR2 and TLR4 are expressed in sebocytes, and their activation increases the secretion of both pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-6 and IL-10 respectively), chemokines (IL-8), antimicrobial lipids, peptides, periglandular peptides and neuropeptides. Sebocytes besides being important players in the regulation of skin homeostasis, also represent an interesting cell type that links lipid metabolism with inflammation at a cellular level, a key feature that is also a hallmark of adipocytes.

Adipokines, i.e. proteins that are synthesized and secreted primarily by adipocytes in response to various stimuli, include IL-6 and other small molecular weight bioactive proteins such as adiponectin, resistin, leptin, serpin E1, visfatin, apelin, chemerin, RBP4, and MCP-1. Due to their different biological properties and diverse cellular targets adipokines are involved in a wide array of (patho)physiological processes and are responsible for mediating the inflammatory effects of the adipose tissue in the local tissue environment as well as to different organs via circulation. Based on the already characterized similarities between adipocytes and sebocytes, it was reasonable to suppose that adipokines might also be produced and secreted by sebocytes and to design studies to elucidate if these proteins, as important inflammatory mediators of adipocyte biology, could be integrated into SG biology.

Therefore, in this work we aimed to identify sebocytes as possible sources of adipokines within the human skin by showing the presence of different inflammatory adipokines in SGs

of various histological specimens. Sebaceous glands in all examined samples expressed adiponectin, IL-6, resistin, leptin, serpin E1 and visfatin, but not apelin, chemerin, RBP4 and MCP-1. Confirming the presence of the detected adipokines in the human SZ95 sebaceous gland cell line we further characterized their expression and secretion patterns under different stimuli by using TLR2 and 4 activators, or by 13-cis retinoic acid, a key anti-acne agent. With the exception of resistin, the expression of all of the detected adipokines (adiponectin, IL-6, leptin, serpin E1 and visfatin) could be further regulated at the level of gene expression, showing a close correlation with the secreted protein levels.

In this study, we provide further evidence that the active, full-length form of leptin receptor is expressed in human sebaceous glands and in cultured human SZ95 sebocytes. The treatment of SZ95 sebocytes with leptin led to an enlargement of intracellular lipid bodies, increased the ratios of unsaturated/saturated fatty acids and decreased vitamin E levels. Further supporting a pro-inflammatory role, leptin induced COX-2 and 5-LOX expression in SZ95 sebocytes and augmented the production of IL-6 and IL-8 cytokines. Upon leptin treatment, STAT3 and NF- κ B pathways were activated indicating that these known leptin signalling pathways are active in human sebocytes.

Our findings suggest that leptin signalling may be involved in the pro-inflammatory regulation of sebaceous lipid metabolism and in the induction of inflammatory enzymes and cytokines. Furthermore, our results suggest that sebocytes are not simply targets of inflammation but may exhibit initiatory and modulatory roles in the inflammatory processes of the skin through the expression and secretion of adipokines.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Kárpáti S.; Kemény L.; Remenyik É., *Bőrgyógyászat és venerológia*. 2012: Budapest Medicina Könyvkiadó Zrt.
2. O. Braun-Falco; G. Plewig; H. H. Wolff; R. K. Winkelmann, *Dermatology*. 3rd, revised edition ed. 1991: Springer-Verlag.
3. Falus A.; Buzás E.; Rajnavölgyi É., *Az immunológiai alapjai*. 2007: Budapest Semmelweis Kiadó.
4. R. Elenitsas; B. L. Johnson Jr.; G. F. Murphy, *Lever's Histopathology of the skin*. 9th edition ed, ed. D.E. Elder. 2005: Lippincott Williams&Wilkins.
5. E. Proksch, J. M. Brandner and J. M. Jensen, *The skin: an indispensable barrier*. *Exp Dermatol*, 2008. **17**(12): p. 1063-72.
6. J. M. Richmond and J. E. Harris, *Immunology and skin in health and disease*. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014. **4**(12): p. a015339.
7. P. Trayhurn and J. H. Beattie, *Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ*. *Proc Nutr Soc*, 2001. **60**(3): p. 329-39.
8. L. J. Zhang, C. F. Guerrero-Juarez, T. Hata, S. P. Bapat, R. Ramos, M. V. Plikus, and R. L. Gallo, *Innate immunity. Dermal adipocytes protect against invasive Staphylococcus aureus skin infection*. *Science*, 2015. **347**(6217): p. 67-71.
9. C. C. Zouboulis, J. M. Baron, M. Bohm, S. Kippenberger, H. Kurzen, J. Reichrath, and A. Thielitz, *Frontiers in sebaceous gland biology and pathology*. *Exp Dermatol*, 2008. **17**(6): p. 542-51.
10. A. J. Thody and S. Shuster, *Control and function of sebaceous glands*. *Physiol Rev*, 1989. **69**(2): p. 383-416.
11. T. I. Doran, R. Baff, P. Jacobs, and E. Pacia, *Characterization of human sebaceous cells in vitro*. *J Invest Dermatol*, 1991. **96**(3): p. 341-8.
12. M. Dahlhoff, E. Camera, M. Picardo, C. C. Zouboulis, L. Chan, B. H. Chang, and M. R. Schneider, *PLIN2, the major perilipin regulated during sebocyte differentiation, controls sebaceous lipid accumulation in vitro and sebaceous gland size in vivo*. *Biochim Biophys Acta*, 2013. **1830**(10): p. 4642-9.
13. C. D. Smythe, M. Greenall and T. Kealey, *The activity of HMG-CoA reductase and acetyl-CoA carboxylase in human apocrine sweat glands, sebaceous glands, and hair follicles is regulated by phosphorylation and by exogenous cholesterol*. *J Invest Dermatol*, 1998. **111**(1): p. 139-48.
14. D. Deplewski, K. Qin, N. Ciletti, and R. L. Rosenfield, *Unique mode of lipogenic activation in rat preputial sebocytes*. *J Nutr Metab*, 2011. **2011**: p. 163631.
15. S. Cases, S. J. Smith, Y. W. Zheng, H. M. Myers, S. R. Lear, E. Sande, S. Novak, C. Collins, C. B. Welch, A. J. Lusis, S. K. Erickson, and R. V. Farese, Jr., *Identification of a gene encoding an acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. **95**(22): p. 13018-23.
16. C. L. Yen, M. Monetti, B. J. Burri, and R. V. Farese, Jr., *The triacylglycerol synthesis enzyme DGAT1 also catalyzes the synthesis of diacylglycerols, waxes, and retinyl esters*. *J Lipid Res*, 2005. **46**(7): p. 1502-11.
17. M. Ottaviani, E. Camera and M. Picardo, *Lipid mediators in acne*. *Mediators Inflamm*, 2010. **2010**.
18. K. R. Smith and D. M. Thiboutot, *Thematic review series: skin lipids. Sebaceous gland lipids: friend or foe?* *J Lipid Res*, 2008. **49**(2): p. 271-81.
19. D. Thiboutot, *Regulation of human sebaceous glands*. *J Invest Dermatol*, 2004. **123**(1): p. 1-12.

20. W. J. Harrison, J. J. Bull, H. Seltmann, C. C. Zouboulis, and M. P. Philpott, *Expression of lipogenic factors galectin-12, resistin, SREBP-1, and SCD in human sebaceous glands and cultured sebocytes*. *J Invest Dermatol*, 2007. **127**(6): p. 1309-17.
21. L. Ge, J. S. Gordon, C. Hsuan, K. Stenn, and S. M. Prouty, *Identification of the delta-6 desaturase of human sebaceous glands: expression and enzyme activity*. *J Invest Dermatol*, 2003. **120**(5): p. 707-14.
22. J. J. Thiele, S. U. Weber and L. Packer, *Sebaceous gland secretion is a major physiologic route of vitamin E delivery to skin*. *J Invest Dermatol*, 1999. **113**(6): p. 1006-10.
23. J. J. Thiele, C. Schroeter, S. N. Hsieh, M. Podda, and L. Packer, *The antioxidant network of the stratum corneum*. *Curr Probl Dermatol*, 2001. **29**: p. 26-42.
24. C. C. Zouboulis, H. Seltmann, H. Neitzel, and C. E. Orfanos, *Establishment and characterization of an immortalized human sebaceous gland cell line (SZ95)*. *J Invest Dermatol*, 1999. **113**(6): p. 1011-20.
25. M. Dobbstein, A. K. Arthur, S. Dehde, K. Van Zee, A. Dickmanns, and E. Fanning, *Intracisronic complementation reveals a new function of SV40 T antigen that co-operates with Rb and p53 binding to stimulate DNA synthesis in quiescent cells*. *Oncogene*, 1992. **7**(5): p. 837-47.
26. P. J. Mitchell, C. Wang and R. Tjian, *Positive and negative regulation of transcription in vitro: enhancer-binding protein AP-2 is inhibited by SV40 T antigen*. *Cell*, 1987. **50**(6): p. 847-61.
27. C. C. Zouboulis, L. Q. Xia, M. Detmar, B. Bogdanoff, G. Giannakopoulos, H. Gollnick, and C. E. Orfanos, *Culture of human sebocytes and markers of sebocytic differentiation in vitro*. *Skin Pharmacol*, 1991. **4**(2): p. 74-83.
28. L. Q. Xia, C. Zouboulis, M. Detmar, A. Mayer-Da-Silva, R. Stadler, and C. E. Orfanos, *Isolation of human sebaceous glands and cultivation of sebaceous gland-derived cells as an in vitro model*. *J Invest Dermatol*, 1989. **93**(3): p. 315-21.
29. Y. Takahashi, A. Shimizu, T. Sakai, Y. Endo, N. Osawa, H. Shisa, and T. Honjo, *Mapping of the nu gene using congenic nude strains and in situ hybridization*. *J Exp Med*, 1992. **175**(3): p. 873-6.
30. N. A. Lisitsyn, J. A. Segre, K. Kusumi, N. M. Lisitsyn, J. H. Nadeau, W. N. Frankel, M. H. Wigler, and E. S. Lander, *Direct isolation of polymorphic markers linked to a trait by genetically directed representational difference analysis*. *Nat Genet*, 1994. **6**(1): p. 57-63.
31. L. Mecklenburg, M. Nakamura, J. P. Sundberg, and R. Paus, *The nude mouse skin phenotype: the role of Foxn1 in hair follicle development and cycling*. *Exp Mol Pathol*, 2001. **71**(2): p. 171-8.
32. K. H. Kaestner, W. Knochel and D. E. Martinez, *Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors*. *Genes Dev*, 2000. **14**(2): p. 142-6.
33. P. Kopf-Maier and V. F. Mboneko, *Anomalies in the hormonal status of athymic nude mice*. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1990. **116**(3): p. 229-31.
34. J. E. Potter, L. Prutkin and V. R. Wheatley, *Sebaceous gland differentiation. I. Separation, morphology and lipogenesis of isolated cells from the mouse preputial gland tumor*. *J Invest Dermatol*, 1979. **72**(3): p. 120-7.
35. G. Plewig and C. Luderschmidt, *Hamster ear model for sebaceous glands*. *J Invest Dermatol*, 1977. **68**(4): p. 171-6.
36. C. Chen, L. A. Puy, J. Simard, X. Li, S. M. Singh, and F. Labrie, *Local and systemic reduction by topical finasteride or flutamide of hamster flank organ size and enzyme activity*. *J Invest Dermatol*, 1995. **105**(5): p. 678-82.

37. W. Goessling, T. E. North, S. Loewer, A. M. Lord, S. Lee, C. L. Stoick-Cooper, G. Weidinger, M. Puder, G. Q. Daley, R. T. Moon, and L. I. Zon, *Genetic interaction of PGE2 and Wnt signaling regulates developmental specification of stem cells and regeneration*. Cell, 2009. **136**(6): p. 1136-47.
38. D. Wu and W. Pan, *GSK3: a multifaceted kinase in Wnt signaling*. Trends Biochem Sci, 2010. **35**(3): p. 161-8.
39. S. Angers and R. T. Moon, *Proximal events in Wnt signal transduction*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009. **10**(7): p. 468-77.
40. C. Niemann, D. M. Owens, J. Hulsken, W. Birchmeier, and F. M. Watt, *Expression of DeltaN Lef1 in mouse epidermis results in differentiation of hair follicles into squamous epidermal cysts and formation of skin tumours*. Development, 2002. **129**(1): p. 95-109.
41. C. Lo Celso, M. A. Berta, K. M. Braun, M. Frye, S. Lyle, C. C. Zouboulis, and F. M. Watt, *Characterization of bipotential epidermal progenitors derived from human sebaceous gland: contrasting roles of c-Myc and beta-catenin*. Stem Cells, 2008. **26**(5): p. 1241-52.
42. B. M. Erovic, A. Al Habeeb, L. Harris, D. P. Goldstein, D. Kim, D. Ghazarian, and J. C. Irish, *Identification of novel target proteins in sebaceous gland carcinoma*. Head Neck, 2013. **35**(5): p. 642-8.
43. W. Qiu, M. Lei, J. Li, N. Wang, and X. Lian, *Activated hair follicle stem cells and Wnt/beta-catenin signaling involve in pathogenesis of sebaceous neoplasms*. Int J Med Sci, 2014. **11**(10): p. 1022-8.
44. N. Kim, J. E. Kim, H. K. Choung, M. J. Lee, and S. I. Khwarg, *Expression of Shh and Wnt signaling pathway proteins in eyelid sebaceous gland carcinoma: clinicopathologic study*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013. **54**(1): p. 370-7.
45. I. Kurokawa, F. W. Danby, Q. Ju, X. Wang, L. F. Xiang, L. Xia, W. Chen, I. Nagy, M. Picardo, D. H. Suh, R. Ganceviciene, S. Schagen, F. Tsatsou, and C. C. Zouboulis, *New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment*. Exp Dermatol, 2009. **18**(10): p. 821-32.
46. T. Alestas, R. Ganceviciene, S. Fimmel, K. Muller-Decker, and C. C. Zouboulis, *Enzymes involved in the biosynthesis of leukotriene B4 and prostaglandin E2 are active in sebaceous glands*. J Mol Med (Berl), 2006. **84**(1): p. 75-87.
47. Q. Zhang, H. Seltmann, C. C. Zouboulis, and J. B. Travers, *Activation of platelet-activating factor receptor in SZ95 sebocytes results in inflammatory cytokine and prostaglandin E2 production*. Exp Dermatol, 2006. **15**(10): p. 769-74.
48. Q. Zhang, H. Seltmann, C. C. Zouboulis, and R. L. Konger, *Involvement of PPARgamma in oxidative stress-mediated prostaglandin E(2) production in SZ95 human sebaceous gland cells*. J Invest Dermatol, 2006. **126**(1): p. 42-8.
49. C. C. Zouboulis, H. Seltmann, N. Hiroi, W. Chen, M. Young, M. Oeff, W. A. Scherbaum, C. E. Orfanos, S. M. McCann, and S. R. Bornstein, *Corticotropin-releasing hormone: an autocrine hormone that promotes lipogenesis in human sebocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(10): p. 7148-53.
50. A. T. Slominski, M. A. Zmijewski, B. Zbytek, D. J. Tobin, T. C. Theoharides, and J. Rivier, *Key role of CRF in the skin stress response system*. Endocr Rev, 2013. **34**(6): p. 827-84.
51. R. Ganceviciene, M. Bohm, S. Fimmel, and C. C. Zouboulis, *The role of neuropeptides in the multifactorial pathogenesis of acne vulgaris*. Dermatoendocrinol, 2009. **1**(3): p. 170-6.
52. A. Mastrofrancesco, A. Kokot, A. Eberle, N. C. Gibbons, K. U. Schallreuter, E. Strozyk, M. Picardo, C. C. Zouboulis, T. A. Luger, and M. Bohm, *KdPT, a tripeptide*

- derivative of alpha-melanocyte-stimulating hormone, suppresses IL-1 beta-mediated cytokine expression and signaling in human sebocytes.* J Immunol, 2010. **185**(3): p. 1903-11.
53. M. Bohm, M. Schiller, S. Stander, H. Seltmann, Z. Li, T. Brzoska, D. Metze, H. B. Schioth, A. Skottner, K. Seiffert, C. C. Zouboulis, and T. A. Luger, *Evidence for expression of melanocortin-1 receptor in human sebocytes in vitro and in situ.* J Invest Dermatol, 2002. **118**(3): p. 533-9.
 54. M. Toyoda, M. Nakamura, T. Makino, M. Kagoura, and M. Morohashi, *Sebaceous glands in acne patients express high levels of neutral endopeptidase.* Exp Dermatol, 2002. **11**(3): p. 241-7.
 55. S. Z. Ghodsi, H. Orawa and C. C. Zouboulis, *Prevalence, severity, and severity risk factors of acne in high school pupils: a community-based study.* J Invest Dermatol, 2009. **129**(9): p. 2136-41.
 56. H. L. Kelhala, R. Palatsi, N. Fyhrquist, S. Lehtimaki, J. P. Vayrynen, M. Kallioinen, M. E. Kubin, D. Greco, K. Tasanen, H. Alenius, B. Bertino, I. Carlván, B. Mehul, S. Deret, P. Reiniche, P. Martel, C. Marty, U. Blume-Peytavi, J. J. Voegel, and A. Lauerma, *IL-17/Th17 pathway is activated in acne lesions.* PLoS One, 2014. **9**(8): p. e105238.
 57. M. S. Maddur, P. Miossec, S. V. Kaveri, and J. Bayry, *Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies.* Am J Pathol, 2012. **181**(1): p. 8-18.
 58. I. Nagy, A. Pivarcsi, K. Kis, A. Koreck, L. Bodai, A. Mcdowell, H. Seltmann, S. Patrick, C. C. Zouboulis, and L. Kemeny, *Propionibacterium acnes and lipopolysaccharide induce the expression of antimicrobial peptides and proinflammatory cytokines/chemokines in human sebocytes.* Microbes Infect, 2006. **8**(8): p. 2195-205.
 59. S. M. Lwin, I. Kimber and J. P. Mcfadden, *Acne, quorum sensing and danger.* Clin Exp Dermatol, 2014. **39**(2): p. 162-7.
 60. G. Tilles, *Acne pathogenesis: history of concepts.* Dermatology, 2014. **229**(1): p. 1-46.
 61. A. Harvey and T. T. Huynh, *Inflammation and acne: putting the pieces together.* J Drugs Dermatol, 2014. **13**(4): p. 459-63.
 62. M. Qin, A. Pirouz, M. H. Kim, S. R. Krutzik, H. J. Garban, and J. Kim, *Propionibacterium acnes Induces IL-1beta secretion via the NLRP3 inflammasome in human monocytes.* J Invest Dermatol, 2014. **134**(2): p. 381-8.
 63. M. Rosenthal, D. Goldberg, A. Aiello, E. Larson, and B. Foxman, *Skin microbiota: microbial community structure and its potential association with health and disease.* Infect Genet Evol, 2011. **11**(5): p. 839-48.
 64. N. Murillo and D. Raoult, *Skin microbiota: overview and role in the skin diseases acne vulgaris and rosacea.* Future Microbiol, 2013. **8**(2): p. 209-22.
 65. B. C. Melnik, *Linking diet to acne metabolomics, inflammation, and comedogenesis: an update.* Clin Cosmet Investig Dermatol, 2015. **8**: p. 371-88.
 66. C. C. Zouboulis, E. Jourdan and M. Picardo, *Acne is an inflammatory disease and alterations of sebum composition initiate acne lesions.* J Eur Acad Dermatol Venereol, 2014. **28**(5): p. 527-32.
 67. H. Ikeno, T. Tochio, H. Tanaka, and S. Nakata, *Decrease in glutathione may be involved in pathogenesis of acne vulgaris.* J Cosmet Dermatol, 2011. **10**(3): p. 240-4.
 68. M. Ottaviani, T. Alestas, E. Flori, A. Mastrofrancesco, C. C. Zouboulis, and M. Picardo, *Peroxidated squalene induces the production of inflammatory mediators in HaCaT keratinocytes: a possible role in acne vulgaris.* J Invest Dermatol, 2006. **126**(11): p. 2430-7.

69. M. Picardo, M. Ottaviani, E. Camera, and A. Mastrofrancesco, *Sebaceous gland lipids*. *Dermatoendocrinol*, 2009. **1**(2): p. 68-71.
70. T. Inoue, Y. Miki, S. Kakuo, A. Hachiya, T. Kitahara, S. Aiba, C. C. Zouboulis, and H. Sasano, *Expression of steroidogenic enzymes in human sebaceous glands*. *J Endocrinol*, 2014. **222**(3): p. 301-12.
71. C. C. Zouboulis, W. C. Chen, M. J. Thornton, K. Qin, and R. Rosenfield, *Sexual hormones in human skin*. *Horm Metab Res*, 2007. **39**(2): p. 85-95.
72. E. Makrantonaki, R. Ganceviciene and C. Zouboulis, *An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne*. *Dermatoendocrinol*, 2011. **3**(1): p. 41-9.
73. E. T. Ooi and M. J. Tidman, *Improving the management of seborrhoeic dermatitis*. *Practitioner*, 2014. **258**(1768): p. 23-6, 3.
74. A. B. Thayikkannu, A. J. Kindo and M. Veeraraghavan, *Malassezia-Can it be Ignored?* *Indian J Dermatol*, 2015. **60**(4): p. 332-9.
75. M. Picardo and M. Ottaviani, *Skin microbiome and skin disease: the example of rosacea*. *J Clin Gastroenterol*, 2014. **48 Suppl 1**: p. S85-6.
76. V. Y. Shi, M. Leo, L. Hassoun, D. S. Chahal, H. I. Maibach, and R. K. Sivamani, *Role of sebaceous glands in inflammatory dermatoses*. *J Am Acad Dermatol*, 2015. **73**(5): p. 856-63.
77. C. D. Dent, W. E. Hunter and J. A. Svirsky, *Sebaceous gland hyperplasia: case report and literature review*. *J Oral Maxillofac Surg*, 1995. **53**(8): p. 936-8.
78. P. G. Prioleau and D. J. Santa Cruz, *Sebaceous gland neoplasia*. *J Cutan Pathol*, 1984. **11**(5): p. 396-414.
79. C. Niemann, D. M. Owens, P. Schettina, and F. M. Watt, *Dual role of inactivating Lef1 mutations in epidermis: tumor promotion and specification of tumor type*. *Cancer Res*, 2007. **67**(7): p. 2916-21.
80. O. A. Macdougald and M. D. Lane, *Adipocyte differentiation. When precursors are also regulators*. *Curr Biol*, 1995. **5**(6): p. 618-21.
81. M. D. Lane, Q. Q. Tang and M. S. Jiang, *Role of the CCAAT enhancer binding proteins (C/EBPs) in adipocyte differentiation*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999. **266**(3): p. 677-83.
82. O. A. Macdougald and M. D. Lane, *Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation*. *Annu Rev Biochem*, 1995. **64**: p. 345-73.
83. S. Mandrup and M. D. Lane, *Regulating adipogenesis*. *J Biol Chem*, 1997. **272**(9): p. 5367-70.
84. J. J. Bull, S. Muller-Rover, C. M. Chronnell, R. Paus, M. P. Philpott, and I. A. McKay, *Contrasting expression patterns of CCAAT/enhancer-binding protein transcription factors in the hair follicle and at different stages of the hair growth cycle*. *J Invest Dermatol*, 2002. **118**(1): p. 17-24.
85. W. Chen, C. C. Yang, H. M. Sheu, H. Seltmann, and C. C. Zouboulis, *Expression of peroxisome proliferator-activated receptor and CCAAT/enhancer binding protein transcription factors in cultured human sebocytes*. *J Invest Dermatol*, 2003. **121**(3): p. 441-7.
86. R. L. Rosenfield, D. Deplewski and M. E. Greene, *Peroxisome proliferator-activated receptors and skin development*. *Horm Res*, 2000. **54**(5-6): p. 269-74.
87. L. E. Russell, W. J. Harrison, A. W. Bahta, C. C. Zouboulis, J. M. Burren, and M. P. Philpott, *Characterization of liver X receptor expression and function in human skin and the pilosebaceous unit*. *Exp Dermatol*, 2007. **16**(10): p. 844-52.
88. M. S. Brown and J. L. Goldstein, *The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor*. *Cell*, 1997. **89**(3): p. 331-40.

89. K. H. Kim, K. Lee, Y. S. Moon, and H. S. Sul, *A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation*. J Biol Chem, 2001. **276**(14): p. 11252-6.
90. R. Palanivel and G. Sweeney, *Regulation of fatty acid uptake and metabolism in L6 skeletal muscle cells by resistin*. FEBS Lett, 2005. **579**(22): p. 5049-54.
91. H. B. Hartman, X. Hu, K. X. Tyler, C. K. Dalal, and M. A. Lazar, *Mechanisms regulating adipocyte expression of resistin*. J Biol Chem, 2002. **277**(22): p. 19754-61.
92. A. S. Greenberg, J. J. Egan, S. A. Wek, N. B. Garty, E. J. Blanchette-Mackie, and C. Londos, *Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte-specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets*. J Biol Chem, 1991. **266**(17): p. 11341-6.
93. N. Akimoto, T. Sato, C. Iwata, M. Koshizuka, F. Shibata, A. Nagai, M. Sumida, and A. Ito, *Expression of perilipin A on the surface of lipid droplets increases along with the differentiation of hamster sebocytes in vivo and in vitro*. J Invest Dermatol, 2005. **124**(6): p. 1127-33.
94. K. Kaneta, M. Honma, M. Kishibe, and H. Iizuka, *Perilipin and adipophilin expression regulated by Rho-kinase during differentiation of hamster sebocyte*. J Dermatol, 2012. **39**(7): p. 641-4.
95. R. Maclaren, W. Cui and K. Cianflone, *Adipokines and the immune system: an adipocentric view*. Adv Exp Med Biol, 2008. **632**: p. 1-21.
96. T. Tanaka and T. Kishimoto, *The biology and medical implications of interleukin-6*. Cancer Immunol Res, 2014. **2**(4): p. 288-94.
97. F. Horn, C. Henze and K. Heidrich, *Interleukin-6 signal transduction and lymphocyte function*. Immunobiology, 2000. **202**(2): p. 151-67.
98. A. Muraguchi, T. Hirano, B. Tang, T. Matsuda, Y. Horii, K. Nakajima, and T. Kishimoto, *The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells*. J Exp Med, 1988. **167**(2): p. 332-44.
99. C. Uyttenhove, P. G. Coulie and J. Van Snick, *T cell growth and differentiation induced by interleukin-HP1/IL-6, the murine hybridoma/plasmacytoma growth factor*. J Exp Med, 1988. **167**(4): p. 1417-27.
100. S. K. Fried, D. A. Bunkin and A. S. Greenberg, *Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**(3): p. 847-50.
101. C. Bjorbaek and B. B. Kahn, *Leptin signaling in the central nervous system and the periphery*. Recent Prog Horm Res, 2004. **59**: p. 305-31.
102. E. Gorska, K. Popko, A. Stelmaszczyk-Emmel, O. Ciepiela, A. Kucharska, and M. Wasik, *Leptin receptors*. Eur J Med Res, 2010. **15 Suppl 2**: p. 50-4.
103. N. Ouchi, J. L. Parker, J. J. Lugus, and K. Walsh, *Adipokines in inflammation and metabolic disease*. Nat Rev Immunol, 2011. **11**(2): p. 85-97.
104. K. M. Tong, D. C. Shieh, C. P. Chen, C. Y. Tzeng, S. P. Wang, K. C. Huang, Y. C. Chiu, Y. C. Fong, and C. H. Tang, *Leptin induces IL-8 expression via leptin receptor, IRS-1, PI3K, Akt cascade and promotion of NF-kappaB/p300 binding in human synovial fibroblasts*. Cell Signal, 2008. **20**(8): p. 1478-88.
105. J. Santos-Alvarez, R. Goberna and V. Sanchez-Margalet, *Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes*. Cell Immunol, 1999. **194**(1): p. 6-11.
106. N. Kiguchi, T. Maeda, Y. Kobayashi, Y. Fukazawa, and S. Kishioka, *Leptin enhances CC-chemokine ligand expression in cultured murine macrophage*. Biochem Biophys Res Commun, 2009. **384**(3): p. 311-5.

107. G. M. Lord, G. Matarese, J. K. Howard, R. J. Baker, S. R. Bloom, and R. I. Lechler, *Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression*. Nature, 1998. **394**(6696): p. 897-901.
108. B. S. Reis, K. Lee, M. H. Fanok, C. Mascaraque, M. Amoury, L. B. Cohn, A. Rogoz, O. S. Dallner, P. M. Moraes-Vieira, A. I. Domingos, and D. Mucida, *Leptin receptor signaling in T cells is required for Th17 differentiation*. 2015. **194**(11): p. 5253-60.
109. J. M. Friedman and J. L. Halaas, *Leptin and the regulation of body weight in mammals*. Nature, 1998. **395**(6704): p. 763-70.
110. A. Khan, S. Narangoda, B. Ahren, C. Holm, F. Sundler, and S. Efendic, *Long-term leptin treatment of ob/ob mice improves glucose-induced insulin secretion*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2001. **25**(6): p. 816-21.
111. I. N. Holcomb, R. C. Kabakoff, B. Chan, T. W. Baker, A. Gurney, W. Henzel, C. Nelson, H. B. Lowman, B. D. Wright, N. J. Skelton, G. D. Frantz, D. B. Tumas, F. V. Peale, Jr., D. L. Shelton, and C. C. Hebert, *FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family*. Embo j, 2000. **19**(15): p. 4046-55.
112. D. B. Savage, C. P. Sewter, E. S. Klenk, D. G. Segal, A. Vidal-Puig, R. V. Considine, and S. O'rahilly, *Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans*. Diabetes, 2001. **50**(10): p. 2199-202.
113. S. Kaser, A. Kaser, A. Sandhofer, C. F. Ebenbichler, H. Tilg, and J. R. Patsch, *Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro*. Biochem Biophys Res Commun, 2003. **309**(2): p. 286-90.
114. M. Bokarewa, I. Nagaev, L. Dahlberg, U. Smith, and A. Tarkowski, *Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties*. J Immunol, 2005. **174**(9): p. 5789-95.
115. C. M. Steppan, J. Wang, E. L. Whiteman, M. J. Birnbaum, and M. A. Lazar, *Activation of SOCS-3 by resistin*. Mol Cell Biol, 2005. **25**(4): p. 1569-75.
116. S. Verma, S. H. Li, C. H. Wang, P. W. Fedak, R. K. Li, R. D. Weisel, and D. A. Mickle, *Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction*. Circulation, 2003. **108**(6): p. 736-40.
117. D. Kawanami, K. Maemura, N. Takeda, T. Harada, T. Nojiri, Y. Imai, I. Manabe, K. Utsunomiya, and R. Nagai, *Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions*. Biochem Biophys Res Commun, 2004. **314**(2): p. 415-9.
118. L. K. Heilbronn, J. Rood, L. Janderoova, J. B. Albu, D. E. Kelley, E. Ravussin, and S. R. Smith, *Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(4): p. 1844-8.
119. J. H. Lee, J. L. Chan, N. Yiannakouris, M. Kontogianni, E. Estrada, R. Seip, C. Orlova, and C. S. Mantzoros, *Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(10): p. 4848-56.
120. N. J. Mutch, H. M. Wilson and N. A. Booth, *Plasminogen activator inhibitor-1 and haemostasis in obesity*. Proc Nutr Soc, 2001. **60**(3): p. 341-7.
121. C. H. Lundgren, S. L. Brown, T. K. Nordt, B. E. Sobel, and S. Fujii, *Elaboration of type-1 plasminogen activator inhibitor from adipocytes. A potential pathogenetic link between obesity and cardiovascular disease*. Circulation, 1996. **93**(1): p. 106-10.

122. M. C. Alessi, D. Bastelica, P. Morange, B. Berthet, I. Leduc, M. Verdier, O. Geel, and I. Juhan-Vague, *Plasminogen activator inhibitor 1, transforming growth factor-beta1, and BMI are closely associated in human adipose tissue during morbid obesity*. *Diabetes*, 2000. **49**(8): p. 1374-80.
123. R. M. Klein, D. Bernstein, S. P. Higgins, C. E. Higgins, and P. J. Higgins, *SERPINE1 expression discriminates site-specific metastasis in human melanoma*. *Exp Dermatol*, 2012. **21**(7): p. 551-4.
124. C. Gabay and I. Kushner, *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation*. *N Engl J Med*, 1999. **340**(6): p. 448-54.
125. J. R. Revollo, A. Korner, K. F. Mills, A. Satoh, T. Wang, A. Garten, B. Dasgupta, Y. Sasaki, C. Wolberger, R. R. Townsend, J. Milbrandt, W. Kiess, and S. Imai, *Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme*. *Cell Metab*, 2007. **6**(5): p. 363-75.
126. B. Samal, Y. Sun, G. Stearns, C. Xie, S. Suggs, and I. Mcniece, *Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor*. *Mol Cell Biol*, 1994. **14**(2): p. 1431-7.
127. A. R. Moschen, A. Kaser, B. Enrich, B. Mosheimer, M. Theurl, H. Niederegger, and H. Tilg, *Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties*. *J Immunol*, 2007. **178**(3): p. 1748-58.
128. T. B. Dahl, A. Yndestad, M. Skjelland, E. Oie, A. Dahl, A. Michelsen, J. K. Damas, S. H. Tunheim, T. Ueland, C. Smith, B. Bendz, S. Tonstad, L. Gullestad, S. S. Froland, K. Krohg-Sorensen, D. Russell, P. Aukrust, and B. Halvorsen, *Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization*. *Circulation*, 2007. **115**(8): p. 972-80.
129. K. Tatemoto, M. Hosoya, Y. Habata, R. Fujii, T. Kakegawa, M. X. Zou, Y. Kawamata, S. Fukusumi, S. Hinuma, C. Kitada, T. Kurokawa, H. Onda, and M. Fujino, *Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998. **251**(2): p. 471-6.
130. C. Carpenne, C. Dray, C. Attane, P. Valet, M. P. Portillo, I. Churrua, F. I. Milagro, and I. Castan-Laurell, *Expanding role for the apelin/APJ system in physiopathology*. *J Physiol Biochem*, 2007. **63**(4): p. 359-73.
131. H. Kwon and J. E. Pessin, *Adipokines mediate inflammation and insulin resistance*. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2013. **4**: p. 71.
132. P. Yue, H. Jin, M. Aillaud, A. C. Deng, J. Azuma, T. Asagami, R. K. Kundu, G. M. Reaven, T. Quertermous, and P. S. Tsao, *Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010. **298**(1): p. E59-67.
133. K. B. Goralski, T. C. Mccarthy, E. A. Hanniman, B. A. Zabel, E. C. Butcher, S. D. Parlee, S. Muruganandan, and C. J. Sinal, *Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism*. *J Biol Chem*, 2007. **282**(38): p. 28175-88.
134. M. C. Ernst, M. Issa, K. B. Goralski, and C. J. Sinal, *Chemerin exacerbates glucose intolerance in mouse models of obesity and diabetes*. *Endocrinology*, 2010. **151**(5): p. 1998-2007.
135. S. Luangsay, V. Wittamer, B. Bondue, O. De Henau, L. Rouger, M. Brait, J. D. Franssen, P. De Nadai, F. Huaux, and M. Parmentier, *Mouse ChemR23 is expressed in dendritic cell subsets and macrophages, and mediates an anti-inflammatory activity of chemerin in a lung disease model*. *J Immunol*, 2009. **183**(10): p. 6489-99.
136. V. Wittamer, J. D. Franssen, M. Vulcano, J. F. Mirjolet, E. Le Poul, I. Migeotte, S. Brezillon, R. Tyldesley, C. Blanpain, M. Detheux, A. Mantovani, S. Sozzani, G. Vassart, M. Parmentier, and D. Communi, *Specific recruitment of antigen-presenting*

- cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *J Exp Med*, 2003. **198**(7): p. 977-85.
137. C. Albanesi, C. Scarponi, S. Pallotta, R. Daniele, D. Bosisio, S. Madonna, P. Fortugno, S. Gonzalvo-Feo, J. D. Franssen, M. Parmentier, O. De Pita, G. Girolomoni, and S. Sozzani, *Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment*. *J Exp Med*, 2009. **206**(1): p. 249-58.
 138. V. Berg, B. Sveinbjornsson, S. Bendiksen, J. Brox, K. Meknas, and Y. Figenschau, *Human articular chondrocytes express ChemR23 and chemerin; ChemR23 promotes inflammatory signalling upon binding the ligand chemerin(21-157)*. *Arthritis Res Ther*, 2010. **12**(6): p. R228.
 139. L. Quadro, W. S. Blaner, D. J. Salchow, S. Vogel, R. Piantedosi, P. Gouras, S. Freeman, M. P. Cosma, V. Colantuoni, and M. E. Gottesman, *Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding protein*. *Embo j*, 1999. **18**(17): p. 4633-44.
 140. M. Broch, R. Ramirez, M. T. Auguet, M. J. Alcaide, C. Aguilar, A. Garcia-Espana, and C. Richart, *Macrophages are novel sites of expression and regulation of retinol binding protein-4 (RBP4)*. *Physiol Res*, 2010. **59**(2): p. 299-303.
 141. K. M. Farjo, R. A. Farjo, S. Halsey, G. Moiseyev, and J. X. Ma, *Retinol-binding protein 4 induces inflammation in human endothelial cells by an NADPH oxidase- and nuclear factor kappa B-dependent and retinol-independent mechanism*. *Mol Cell Biol*, 2012. **32**(24): p. 5103-15.
 142. T. E. Graham, Q. Yang, M. Bluher, A. Hammarstedt, T. P. Ciaraldi, R. R. Henry, C. J. Wason, A. Oberbach, P. A. Jansson, U. Smith, and B. B. Kahn, *Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects*. *N Engl J Med*, 2006. **354**(24): p. 2552-63.
 143. H. Kanda, S. Tateya, Y. Tamori, K. Kotani, K. Hiasa, R. Kitazawa, S. Kitazawa, H. Miyachi, S. Maeda, K. Egashira, and M. Kasuga, *MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity*. *J Clin Invest*, 2006. **116**(6): p. 1494-505.
 144. K. Ohashi, R. Shibata, T. Murohara, and N. Ouchi, *Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases*. *Trends Endocrinol Metab*, 2014. **25**(7): p. 348-55.
 145. R. Shibata, N. Ouchi, R. Takahashi, Y. Terakura, K. Ohashi, N. Ikeda, A. Higuchi, H. Terasaki, S. Kihara, and T. Murohara, *Omentin as a novel biomarker of metabolic risk factors*. *Diabetol Metab Syndr*, 2012. **4**(1): p. 37.
 146. G. W. Wong, S. A. Krawczyk, C. Kitidis-Mitrokostas, T. Revett, R. Gimeno, and H. F. Lodish, *Molecular, biochemical and functional characterizations of C1q/TNF family members: adipose-tissue-selective expression patterns, regulation by PPAR-gamma agonist, cysteine-mediated oligomerizations, combinatorial associations and metabolic functions*. *Biochem J*, 2008. **416**(2): p. 161-77.
 147. T. T. Pang and P. Narendran, *The distribution of adiponectin receptors on human peripheral blood mononuclear cells*. *Ann N Y Acad Sci*, 2008. **1150**: p. 143-5.
 148. T. Kadowaki and T. Yamauchi, *Adiponectin and adiponectin receptors*. *Endocr Rev*, 2005. **26**(3): p. 439-51.
 149. M. Bjursell, A. Ahnmark, Y. M. Bohlooly, L. William-Olsson, M. Rhedin, X. R. Peng, K. Ploj, A. K. Gerdin, G. Arnerup, A. Elmgren, A. L. Berg, J. Oscarsson, and D. Linden, *Opposing effects of adiponectin receptors 1 and 2 on energy metabolism*. *Diabetes*, 2007. **56**(3): p. 583-93.

150. C. Procaccini, V. De Rosa, M. Galgani, F. Carbone, C. La Rocca, L. Formisano, and G. Matarese, *Role of adipokines signaling in the modulation of T cells function*. Front Immunol, 2013. **4**: p. 332.
151. A. H. Berg and P. E. Scherer, *Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease*. Circ Res, 2005. **96**(9): p. 939-49.
152. N. Ouchi, S. Kihara, T. Funahashi, Y. Matsuzawa, and K. Walsh, *Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease*. Curr Opin Lipidol, 2003. **14**(6): p. 561-6.
153. T. Yokota, K. Oritani, I. Takahashi, J. Ishikawa, A. Matsuyama, N. Ouchi, S. Kihara, T. Funahashi, A. J. Tenner, Y. Tomiyama, and Y. Matsuzawa, *Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages*. Blood, 2000. **96**(5): p. 1723-32.
154. N. Ouchi, S. Kihara, Y. Arita, K. Maeda, H. Kuriyama, Y. Okamoto, K. Hotta, M. Nishida, M. Takahashi, T. Nakamura, S. Yamashita, T. Funahashi, and Y. Matsuzawa, *Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin*. Circulation, 1999. **100**(25): p. 2473-6.
155. S. Gerdes, M. Rostami-Yazdi and U. Mrowietz, *Adipokines and psoriasis*. Exp Dermatol, 2011. **20**(2): p. 81-7.
156. A. A. Cerman, S. Bozkurt, A. Sav, A. Tulunay, M. O. Elbasi, and T. Ergun, *Serum leptin levels, skin leptin and leptin receptor expression in psoriasis*. Br J Dermatol, 2008. **159**(4): p. 820-6.
157. A. Zalewska, E. Glowacka, J. Wyczolkowska, H. Tchorzewski, J. Narbutt, and A. Sysa-Jedrzejowska, *Interleukin 6 and 8 levels in plasma and fibroblast cultures in psoriasis*. Mediators Inflamm, 2006. **2006**(1): p. 81767.
158. D. Koczan, R. Guthke, H. J. Thiesen, S. M. Ibrahim, G. Kundt, H. Krentz, G. Gross, and M. Kunz, *Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear leukocytes from psoriasis patients identifies new immune regulatory molecules*. Eur J Dermatol, 2005. **15**(4): p. 251-7.
159. O. Rollman and A. Vahlquist, *Psoriasis and vitamin A. Plasma transport and skin content of retinol, dehydroretinol and carotenoids in adult patients versus healthy controls*. Arch Dermatol Res, 1985. **278**(1): p. 17-24.
160. N. Balato, M. Nino, C. Patrino, G. Matarese, and F. Ayala, *"Eczemas" and leptin*. Dermatitis, 2011. **22**(6): p. 320-3.
161. Y. Kaymak, E. Adisen, N. Ilter, A. Bideci, D. Gurler, and B. Celik, *Dietary glycemic index and glucose, insulin, insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein 3, and leptin levels in patients with acne*. J Am Acad Dermatol, 2007. **57**(5): p. 819-23.
162. A. S. Karadag, D. T. Ertugrul, Z. Takci, S. G. Bilgili, M. Namuslu, N. Ata, and R. Sekeroglu, *The effect of isotretinoin on retinol-binding protein 4, leptin, adiponectin and insulin resistance in acne vulgaris patients*. Dermatology, 2015. **230**(1): p. 70-4.
163. K. O. Abulnaja, *Changes in the hormone and lipid profile of obese adolescent Saudi females with acne vulgaris*. Braz J Med Biol Res, 2009. **42**(6): p. 501-5.
164. S. Hussain, A. Faraz and T. Iqbal, *The RETN gene rs1862513 polymorphism as a novel predisposing marker for familial Acne vulgaris in a Pakistani population*. Iran J Basic Med Sci, 2015. **18**(5): p. 526-8.
165. S. Frank, B. Stallmeyer, H. Kampfer, N. Kolb, and J. Pfeilschifter, *Leptin enhances wound re-epithelialization and constitutes a direct function of leptin in skin repair*. J Clin Invest, 2000. **106**(4): p. 501-9.

166. C. C. Zouboulis, C. Garbe, K. Krasagakis, S. Kruger, and C. E. Orfanos, *A fluorometric rapid microassay to identify anti-proliferative compounds for human melanoma cells in vitro*. *Melanoma Res*, 1991. **1**(2): p. 91-5.
167. E. Camera, M. Ludovici, M. Galante, J. L. Sinagra, and M. Picardo, *Comprehensive analysis of the major lipid classes in sebum by rapid resolution high-performance liquid chromatography and electrospray mass spectrometry*. *J Lipid Res*, 2010. **51**(11): p. 3377-88.
168. E. Camera; A. Mastrofrancesco; M. Ludovici, *Comprehensive analysis of intact sebaceous lipids to investigate the fate of free fatty acids in human sebocytes.*, in *40th Annual ESDR Meeting*. 2010, *J Invest Dermatol*.
169. R. C. Melo, H. D'avila, P. T. Bozza, and P. F. Weller, *Imaging lipid bodies within leukocytes with different light microscopy techniques*. *Methods Mol Biol*, 2011. **689**: p. 149-61.
170. S. Anders and W. Huber, *Differential expression analysis for sequence count data*. *Genome Biol*, 2010. **11**(10): p. R106.
171. M. L. Hakansson, H. Brown, N. Ghilardi, R. C. Skoda, and B. Meister, *Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus*. *J Neurosci*, 1998. **18**(1): p. 559-72.
172. E. Makrantonaki and C. C. Zouboulis, *Testosterone metabolism to 5alpha-dihydrotestosterone and synthesis of sebaceous lipids is regulated by the peroxisome proliferator-activated receptor ligand linoleic acid in human sebocytes*. *Br J Dermatol*, 2007. **156**(3): p. 428-32.
173. M. Schuster, C. C. Zouboulis, F. Ochsendorf, J. Muller, D. Thaci, A. Bernd, R. Kaufmann, and S. Kippenberger, *Peroxisome proliferator-activated receptor activators protect sebocytes from apoptosis: a new treatment modality for acne?* *Br J Dermatol*, 2011. **164**(1): p. 182-6.
174. W. Chen, S. J. Tsai, C. A. Wang, J. C. Tsai, and C. C. Zouboulis, *Human sebocytes express prostaglandin E2 receptors EP2 and EP4 but treatment with prostaglandin E2 does not affect testosterone production*. *Br J Dermatol*, 2009. **161**(3): p. 674-7.
175. P. Trayhurn and I. S. Wood, *Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue*. *Br J Nutr*, 2004. **92**(3): p. 347-55.
176. E. Maury and S. M. Brichard, *Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome*. *Mol Cell Endocrinol*, 2010. **314**(1): p. 1-16.
177. A. Murad, A. K. Nath, S. T. Cha, E. Demir, J. Flores-Riveros, and M. R. Sierra-Honigmann, *Leptin is an autocrine/paracrine regulator of wound healing*. *Faseb j*, 2003. **17**(13): p. 1895-7.
178. M. Banas, K. Zabieglo, G. Kasetty, M. Kapinska-Mrowiecka, J. Borowczyk, J. Drukala, K. Murzyn, B. A. Zabel, E. C. Butcher, J. M. Schroeder, A. Schmidtchen, and J. Cichy, *Chemerin is an antimicrobial agent in human epidermis*. *PLoS One*, 2013. **8**(3): p. e58709.
179. B. Lyons-Giordano and G. S. Lazarus, *Calcium modulates the expression of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 2 by human keratinocytes*. *Exp Dermatol*, 1994. **3**(2): p. 85-8.
180. K. Krskova-Tybitanclova, D. Macejova, J. Brtko, M. Baculikova, O. Krizanova, and S. Zorad, *Short term 13-cis-retinoic acid treatment at therapeutic doses elevates expression of leptin, GLUT4, PPARgamma and aP2 in rat adipose tissue*. *J Physiol Pharmacol*, 2008. **59**(4): p. 731-43.
181. Y. H. Chang, D. M. Chang, K. C. Lin, S. J. Shin, and Y. J. Lee, *Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome*

- and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review.* Diabetes Metab Res Rev, 2011. **27**(6): p. 515-27.
182. C. S. Hau, N. Kanda, S. Noda, A. Tatsuta, M. Kamata, S. Shibata, Y. Asano, S. Sato, S. Watanabe, and Y. Tada, *Visfatin enhances the production of cathelicidin antimicrobial peptide, human beta-defensin-2, human beta-defensin-3, and S100A7 in human keratinocytes and their orthologs in murine imiquimod-induced psoriatic skin.* Am J Pathol, 2013. **182**(5): p. 1705-17.
183. F. Samad and W. Ruf, *Inflammation, obesity, and thrombosis.* Blood, 2013. **122**(20): p. 3415-22.
184. J. Cheret, N. Lebonvallet, L. Misery, and C. Le Gall-Ianotto, *Expression of neuroserpin, a selective inhibitor of tissue-type plasminogen activator in the human skin.* Exp Dermatol, 2012. **21**(9): p. 710-1.
185. A. K. Ghosh and D. E. Vaughan, *PAI-1 in tissue fibrosis.* J Cell Physiol, 2012. **227**(2): p. 493-507.
186. A. M. Wolf, D. Wolf, H. Rumpold, B. Enrich, and H. Tilg, *Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes.* Biochem Biophys Res Commun, 2004. **323**(2): p. 630-5.
187. H. Takahashi, M. Honma, A. Ishida-Yamamoto, and H. Iizuka, *Adiponectin and leptin modulate cell proliferation and cytokine secretion of normal human keratinocytes and T lymphocytes.* J Dermatol Sci, 2010. **59**(2): p. 143-5.
188. S. Shibata, Y. Tada, Y. Asano, C. S. Hau, T. Kato, H. Saeki, T. Yamauchi, N. Kubota, T. Kadowaki, and S. Sato, *Adiponectin regulates cutaneous wound healing by promoting keratinocyte proliferation and migration via the ERK signaling pathway.* J Immunol, 2012. **189**(6): p. 3231-41.
189. C. H. Won, H. G. Yoo, K. Y. Park, S. H. Shin, W. S. Park, P. J. Park, J. H. Chung, O. S. Kwon, and K. H. Kim, *Hair growth-promoting effects of adiponectin in vitro.* J Invest Dermatol, 2012. **132**(12): p. 2849-51.
190. Y. Akazawa, T. Sayo, Y. Sugiyama, T. Sato, N. Akimoto, A. Ito, and S. Inoue, *Adiponectin resides in mouse skin and upregulates hyaluronan synthesis in dermal fibroblasts.* Connect Tissue Res, 2011. **52**(4): p. 322-8.
191. J. N. Fain, C. W. Leffler, G. S. Cowan, Jr., C. Buffington, L. Pouncey, and S. W. Bahouth, *Stimulation of leptin release by arachidonic acid and prostaglandin E(2) in adipose tissue from obese humans.* Metabolism, 2001. **50**(8): p. 921-8.
192. A. Batra, B. Okur, R. Glaubien, U. Erben, J. Ihbe, T. Stroh, I. Fedke, H. D. Chang, M. Zeitz, and B. Siegmund, *Leptin: a critical regulator of CD4+ T-cell polarization in vitro and in vivo.* Endocrinology, 2010. **151**(1): p. 56-62.
193. B. Mattioli, E. Straface, P. Matarrese, M. G. Quaranta, L. Giordani, W. Malorni, and M. Viora, *Leptin as an immunological adjuvant: enhanced migratory and CD8+ T cell stimulatory capacity of human dendritic cells exposed to leptin.* Faseb j, 2008. **22**(6): p. 2012-22.
194. S. Y. Kim, J. H. Lim, S. W. Choi, M. Kim, S. T. Kim, M. S. Kim, Y. S. Cho, E. Chun, and K. Y. Lee, *Preferential effects of leptin on CD4 T cells in central and peripheral immune system are critically linked to the expression of leptin receptor.* Biochem Biophys Res Commun, 2010. **394**(3): p. 562-8.
195. S. Agrawal, S. Gollapudi, H. Su, and S. Gupta, *Leptin activates human B cells to secrete TNF-alpha, IL-6, and IL-10 via JAK2/STAT3 and p38MAPK/ERK1/2 signaling pathway.* J Clin Immunol, 2011. **31**(3): p. 472-8.
196. Z. Tian, R. Sun, H. Wei, and B. Gao, *Impaired natural killer (NK) cell activity in leptin receptor deficient mice: leptin as a critical regulator in NK cell development and activation.* Biochem Biophys Res Commun, 2002. **298**(3): p. 297-302.

197. Y. Figenschau, G. Knutsen, S. Shahazeydi, O. Johansen, and B. Sveinbjornsson, *Human articular chondrocytes express functional leptin receptors*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001. **287**(1): p. 190-7.
198. B. Poeggeler, C. Schulz, M. A. Pappolla, E. Bodo, S. Tiede, H. Lehnert, and R. Paus, *Leptin and the skin: a new frontier*. *Exp Dermatol*, 2010. **19**(1): p. 12-8.
199. N. Kanda and S. Watanabe, *Leptin enhances human beta-defensin-2 production in human keratinocytes*. *Endocrinology*, 2008. **149**(10): p. 5189-98.
200. Y. Sumikawa, S. Inui, T. Nakajima, and S. Itami, *Hair cycle control by leptin as a new anagen inducer*. *Exp Dermatol*, 2014. **23**(1): p. 27-32.
201. H. C. Chen, S. J. Smith, B. Tow, P. M. Elias, and R. V. Farese, Jr., *Leptin modulates the effects of acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase deficiency on murine fur and sebaceous glands*. *J Clin Invest*, 2002. **109**(2): p. 175-81.
202. T. Nikkari, *Comparative chemistry of sebum*. *J Invest Dermatol*, 1974. **62**(3): p. 257-67.
203. M. Iguchi, S. Aiba, Y. Yoshino, and H. Tagami, *Human follicular papilla cells carry out nonadipose tissue production of leptin*. *J Invest Dermatol*, 2001. **117**(6): p. 1349-56.
204. B. B. Ding, J. J. Yu, R. Y. Yu, L. M. Mendez, R. Shaknovich, Y. Zhang, G. Cattoretti, and B. H. Ye, *Constitutively activated STAT3 promotes cell proliferation and survival in the activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphomas*. *Blood*, 2008. **111**(3): p. 1515-23.
205. C. M. Maya-Monteiro, P. E. Almeida, H. D'avila, A. S. Martins, A. P. Rezende, H. Castro-Faria-Neto, and P. T. Bozza, *Leptin induces macrophage lipid body formation by a phosphatidylinositol 3-kinase- and mammalian target of rapamycin-dependent mechanism*. *J Biol Chem*, 2008. **283**(4): p. 2203-10.
206. V. Puri, S. Ranjit, S. Konda, S. M. Nicoloso, J. Straubhaar, A. Chawla, M. Chouinard, C. Lin, A. Burkart, S. Corvera, R. A. Perugini, and M. P. Czech, *Cidea is associated with lipid droplets and insulin sensitivity in humans*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(22): p. 7833-8.
207. S. Zhang, G. Shui, G. Wang, C. Wang, S. Sun, C. C. Zouboulis, R. Xiao, J. Ye, W. Li, and P. Li, *Cidea control of lipid storage and secretion in mouse and human sebaceous glands*. *Mol Cell Biol*, 2014. **34**(10): p. 1827-38.
208. S. Mei, H. M. Ni, S. Manley, A. Bockus, K. M. Kassel, J. P. Luyendyk, B. L. Copple, and W. X. Ding, *Differential roles of unsaturated and saturated fatty acids on autophagy and apoptosis in hepatocytes*. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011. **339**(2): p. 487-98.
209. R. N. Smith, A. Braue, G. A. Varigos, and N. J. Mann, *The effect of a low glycemic load diet on acne vulgaris and the fatty acid composition of skin surface triglycerides*. *J Dermatol Sci*, 2008. **50**(1): p. 41-52.
210. A. Di Landro, S. Cazzaniga, F. Parazzini, V. Ingordo, F. Cusano, L. Atzori, F. T. Cutri, M. L. Musumeci, C. Zinetti, E. Pezzarossa, V. Bettoli, M. Caproni, G. Lo Scocco, A. Bonci, P. Bencini, and L. Naldi, *Family history, body mass index, selected dietary factors, menstrual history, and risk of moderate to severe acne in adolescents and young adults*. *J Am Acad Dermatol*, 2012. **67**(6): p. 1129-35.
211. B. C. Melnik, S. M. John and G. Plewig, *Acne: risk indicator for increased body mass index and insulin resistance*. *Acta Derm Venereol*, 2013. **93**(6): p. 644-9.
212. B. C. Melnik and C. C. Zouboulis, *Potential role of FoxO1 and mTORC1 in the pathogenesis of Western diet-induced acne*. *Exp Dermatol*, 2013. **22**(5): p. 311-5.

11. KULCSSZAVAK

faggyúmirigy

gyulladás

zsíryanycsere

akné

leptin

leptin receptor

SZ95

adipokinek

12. KEYWORDS

sebaceous gland

inflammation

lipid metabolism

acne

leptin

leptin receptor

SZ95

adipokines

13. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Törőcsik Dánielnek a laboratóriumi és tudományos munkám során nyújtott rengeteg támogatását és a motiváció fenntartását. A PhD éveim alatt szakmai útmutatásával, mindenre kiterjedő figyelmével mindig segítségemre volt a kutatási eredmények megvitatása és a további kísérletek megtervezése során.

Köszönettel tartozok Dr. Remenyik Éva Professzornőnek, aki lehetővé tette, hogy tudományos munkámat a DE KK Bőrgyógyászati Tanszékén végezhessem.

Szeretném megköszönni a segítséget munkatársaimnak, Lovászi Mariannának és Toka-Farkas Tündének. Odaadó segítőkészségük nélkül ez a munka nem valósulhatott volna meg.

Köszönettel tartozok Dr. Póliska Szilárdnak, akinek szakmai tudására bármikor számíthattam az RNA-seq vizsgálat megtervezésekor és az eredmények elemzésekor.

Hálával tartozok Dr. Veres Imrének, a Bőrgyógyászati Tanszék patológusának, akihez bármikor bizalommal fordulhattam és idejét nem sajnálva mindig segítségemre volt az immunhisztokémiai eredmények megvitatásakor.

Köszönet illeti a római San Gallicano Institute of Dermatology munkatársait, Mauro Picardo-t és Emanuela Camera-t, akik nélkül nem lett volna lehetőségünk a lipid analízis elvégzésére.

Köszönöm Kertészné Erzsikének és Csapóné Sandra Ildikónak a nélkülözhetetlen technikai segítséget továbbá Janka Eszternek, aki az adatok statisztikai elemzésében volt segítségemre.

Szeretném kifejezni hálámat Dr. Demény Máténak, támogatásáért, türelméért és hogy mindig átsegített a nehéz időkön.

Nagyon köszönöm minden kollégámnak, akikkel a Bőrgyógyászati Tanszéken együtt dolgoztam ezek alatt az évek alatt.

Végül szeretném megköszönni családomnak és barátaimnak a lelki támogatást, a türelmet, a kitartó szurkolást és hogy mindig mellettem álltak.

14. PUBLIKÁCIÓS LISTA



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/230/2015.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kovács Dóra
Neptun kód: TVRI4N
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kovács, D.**, Lovászi, M., Pólsika, S., Oláh, A., Bíró, T., Veres, I., Zouboulis, C.C., Stähle, M., Rühl, R., Remenyik, É., Törőcsik, D.: Sebocytes differentially express and secrete adipokines.
Exp. Dermatol. Epub ahead of print (2015)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/exd.12879>.
IF:3.762 (2014)
2. Törőcsik, D., **Kovács, D.**, Camera, E., Lovászi, M., Cseri, K., Nagy, G.G., Molinaro, R., Rühl, R., Tax, G., Szabó, K., Picardo, M., Kemény, L., Zouboulis, C.C., Remenyik, É.: Leptin promotes proinflammatory lipid profile and induces inflammatory pathways in human SZ95 sebocytes.
Br. J. Dermatol. 171(6)/2014, 1326-35, 2014.
IF:4.275

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 8,037

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 8,037

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

Debrecen, 2015.10.30.

