

Az elhízással összefüggő elváltozások sejtszintű és molekuláris mechanizmusainak, valamint a HSPB1 szabályozó szerepének vizsgálata diéta-indukált és transzgenikus egérmodellekben

PhD értekezés

Ruppert Zsófia

Témavezetők:

Dr. Tóth E. Melinda

Dr. Török Zsolt

Biokémiai Intézet

HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont



Biológia Doktori Iskola

Természettudományi és Informatikai Kar
Szegedi Tudományegyetem



2025
Szeged

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	1
1 BEVEZETÉS	3
1.1 ELHÍZÁS	3
1.2 EGÉRMODELLEK AZ ELHÍZÁSBAN	4
1.2.1 Diéta-indukálta elhízásmodellek (DIO – Diet-induced obesity)	5
1.2.2 Genetikailag módosított egerek.....	7
1.3 HŐSOKKFEHÉRJÉK, MINT POTENCIÁLIS TERÁPIÁS CÉLPONTOK	8
1.3.1 Stresszválasz	8
1.3.2 Hősokkfehérjék szerepe a MetS tünetegyüttesében	9
1.3.3 Kismolsúlyú hősokkfehérjék.....	10
2 CÉLKITŰZÉSEK	12
3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	14
3.1 ÁLLATOK ÉS KEZELÉSÜK	14
3.1.1 I. kísérletsorozat.....	14
3.1.2 II. kísérletsorozat	15
3.2 DNS TISZTÍTÁS TRANZSGENIKUS EGEREK FAROKMINTÁIBÓL	17
3.3 A HUMÁN APOB-100 ÉS A HUMÁN HSPB1 TRANZSGÉN JELENLÉTÉNEK KIMUTATÁSA PCR ANALÍZISSEL	18
3.4 A HUMÁN HSPB1 FEHÉRJE KIMUTATÁSA WESTERN-BLOT ANALÍZISSEL.....	18
3.5 ORÁLIS GLÜKÓZ TOLERANCIA TESZT	19
3.6 SZÉRUM TG, LDL- ÉS HDL-KOLESZTERIN MÉRÉS	19
3.7 HEMATOXILIN-EOZIN FESTETT METSZETEK HISZTOLÓGIAI ELEMZÉSE	20
3.7.1 A máj lipid akkumulációjának meghatározása	20
3.7.2 A nem-alkoholos zsírmájbetegség aktivitási pontrendszer (NAFLD Activity Score - NAS)	20
3.7.3 A szívizomsejtek morfológiájának alakulása a bal kamrában	20
3.8 RNS-IZOLÁLÁS ÉS REVERZ TRANZSKRIPCIÓ	20
3.9 KVANTITATÍV VALÓS IDEJŰ POLIMERÁZ LÁNCREAKCIÓ (RT-PCR)	21
3.10 SZÍVULTRAHANG (TRANSTHORACALIS ECHOKARDIOGRÁFIA).....	22
3.11 CD44 IMMUNFESTÉS	22
3.12 TÖMEGCITOMETRIAI (CYTOF) ANALÍZIS.....	23
3.12.1 Sejtizolálás tömegcitometriai (CyTOF) méréshez.....	23
3.12.2 Sejtelőkészítés tömegcitometriai (CyTOF) vizsgálatához	23
3.12.3 Egysejt-tömegcitometria (CyTOF) mérések.....	24
3.13 PLAZMAFEHÉRJE MÉRÉS.....	25
3.13.1 Luminex MAGPIX®.....	25
3.13.2 LEGENDplex™.....	25
3.14 STATISZTIKAI ELEMZÉS.....	26
4 EREDMÉNYEK	27
4.1 A MAGAS ZSÍRTARTALMÚ ÉS A NYUGATI TÍPUSÚ ÉTREND ÖSSZEHASONLÍTÁSA	27
4.1.1 A HFD testtömeg-növelő hatását a fruktóz fogyasztása jelentősen felerősíti	27
4.1.2 A HFD + fruktóz diéta jelentős vércukorszint-emelkedést váltott ki.....	27
4.1.3 A HFD által kiváltott metabolikus diszfunkcióval társult zsírmájbetegség tüneteit a fruktóz fogyasztása tovább súlyosbítja	29
4.1.4 A lipidakkumulációért felelős gének expressziójának növekedését a fruktóz fogyasztás tovább fokozza a májban.....	30
4.1.5 A barnazsír szövet morfológiai elváltozásai csak a HFD + fruktóz diéta hatására alakultak ki.	31
4.1.6 Az elhízással összefüggő magas citokinexpresszió tovább fokozódik fruktóz fogyasztás hatására a fehérzsírszövetben	32
4.1.7 A szérum TNFα szintje csak a HFD + fruktóz diéta hatására emelkedett meg szignifikánsan ...	34

4.1.8	<i>A fruktóz fogyasztás nem befolyásolta a CD44 és CD69 sejtfelszíni expresszióját a vizsgált immunsejteken</i>	34
4.2	A HSPB1 ELHÍZÁS TÜNETEIRE KIFEJTETT HATÁSAINAK VIZSGÁLATA ZSÍRDÚS DIÉTÁN TARTOTT APOB-100 EGEREKBEN	35
4.2.1	<i>A HSPB1 túltermelés fokozza a HFD-indukált testtömeg-növekedést az APOB nőstény egerekben</i>	36
4.2.2	<i>A HSPB1 nem-függő módon befolyásolja a zsírdús diétán tartott APOB transzgenikus egerek szérum LDL-szintjét</i>	36
4.2.3	<i>A HSPB1 túltermelés az Fgf21 génexpressziójának növekedéséhez vezet a zsírdús diétán tartott APOB nőstények fehérzsírszövetében</i>	37
4.2.4	<i>A zsírdús diétán tartott APOB him állatokban megfigyelhetők a metabolikus diszfunkcióval társult zsírmájbetegség tünetei, melyet a HSPB1 nem befolyásolt</i>	39
4.2.5	<i>HSPB1 túltermelés hatására csökkent a gyulladásos folyamatokban és lipid metabolizmusban szerepet játszó gének expressziója az APOB nőstény egerek májszövetében</i>	41
4.2.6	<i>A HSPB1 túltermelés nem befolyásolta az elhízással összefüggő morfológiai elváltozásokat a szívben, ugyanakkor bal kamrai hipertrófiát idézett elő az egészséges állatokban</i>	42
5	DISZKUSSZIÓ	47
6	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	55
7	IRODALOMJEGYZÉK	57
8	ÖSSZEFOGLALÁS	74
9	SUMMARY	77
10	PUBLIKÁCIÓS LISTA	80

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

<i>Adipor1</i>	adiponektin receptor 1
<i>Ahsg</i>	α -2-HS-glikoprotein
A-hullám sebessége	pitvari áramlás sebessége
<i>Apoa5</i>	apolipoprotein A-V
APOB-100	apolipoproteinB-100
AUC	görbe alatti terület
AWTd	anterior falvastagság diasztolében
AWTs	anterior falvastagság szisztolében
BAT	barna zsírszövet
<i>Cd36</i>	zsírsav transzlokáz
CD44/ <i>Cd44</i>	hialuronát-receptor
CO	perctérfogat
CVD	szív- és érrendszeri betegségek
CyTOF	tömegcitometria
DAB-3	3'-diaminobenzidin
DAG	diacilglicerol
DIO	diéta-indukálta elhízás
EF	ejekciós frakció
e'-hullám sebessége	korai diasztolés mitrális anulus mozgási sebessége
E-hullám sebessége	korai diasztolés áramlás sebessége
<i>Fgf21</i>	fibroblaszt növekedési faktor 21
<i>Fndc5</i>	irizin
FR	fruktóz
FS	frakcionális rövidülés
GLUT4	glükóz transzporter 4
HCD	szénhidrátdús diéta
HDL	nagy sűrűségű lipoprotein
HE	hematoxin-eozin
HFD	magas zsírtartalmú diéta
HRP	tormaperoxidáz
HSE	hősokk elem
HSF1	hősokkfaktor-1
HSP	hősokk fehérje
Hspa1	Hősokkfehérje 70
HSPA1A	Hősokkfehérje 72
HSPB1/ <i>Hspb1</i>	hősokkfehérje 25/27
HSPB5/ <i>Cryab</i>	α B-krisztallin
HSPC	Hősokkfehérje 90
HSPD1	Hősokkfehérje 60
<i>Il10</i>	interleukin-10
IL-1 β / <i>Il1b</i>	interleukin-1 β
IL-6/ <i>Il6</i>	interleukin-6
IR	inzulinrezisztencia

IRS-1	inzulin receptor szubsztrát 1
IRS-2	inzulin receptor szubsztrát 2
IVRT	izovolumetrikus relaxációs idő
IWTd	inferior falvastagság diasztolében
JNK	c-Jun N-terminal kináz
LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein
<i>Leap-2</i>	antimikrobiális peptid 2
Lep	leptin
<i>Lepr</i>	leptin receptor
Lpl	lipoprotein lipáz
LVEDD	bal kamrai végdiasztolés átmérő
LVEDV	bal kamrai végdiasztolés térfogat
LVESD	bal kamrai végszisztolés átmérő
LVESV	bal kamrai végszisztolés térfogat
MASLD	metabolikus diszfunkcióval társult zsírmájbetegség
MetS	metabolikus szindróma
NAFLD	nem-alkoholos zsírmájbetegség
NAS	NAFLD-aktivitási pontszám (Activity Score)
NASH	szteatohepatitisz
ND	normál diéta
NF- κ B	nukleáris faktor-kappa B
OGTT	orális glükóz tolerancia teszt
<i>Rarres2</i>	chemerin
SV	verőtérfogat
T2DM	kettes-típusú cukorbetegség
TG	triglicerid
<i>Tgfb</i>	transzformáló növekedési faktor β 1
$\text{TNF}\alpha/\text{Tnf}$	tumor nekrozis faktor- α
UHPLC-MS/MS	ultranagy-hatékonyságú folyadékkromatográfia-tandem tömegspektrometria
VLDL	nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein
vWAT	viscerális fehér zsírszövet

1 BEVEZETÉS

1.1 ELHÍZÁS

Az elhízás egyre súlyosabb problémát jelent, mind globálisan, mind hazánkban, jelentős társadalmi és gazdasági terhet róva az egészségügyi ellátórendszerre. Az elmúlt 5 évtized során a folyamatosan romló tendenciának köszönhetően az elhízás járványszerű méreteket öltött, így a dohányzás után a második leggyakoribb megelőzhető halálóráká lépett elő (Panuganti és mtsai. 2024). Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) adatai szerint a felnőttkori elhízás gyakorisága világszerte csaknem megkétszereződött, míg 2000-ben 8,7% (343,1 millió fő) volt, 2016-ra ez 13,1%-ra (675,7 millió főre) emelkedett (The State of Food Security and Nutrition in the World 2022).

A „modern-társadalom” betegségeként is nevezhető kórkép a mozgásszegény életmód és a jóléti, urbanizálódott társadalom egyik negatív velejárója. Multifaktoriális jellege miatt kialakulását egyaránt befolyásolhatják genetikai (pl: funkcióvesztéses mutációk a leptin-melanokortin útvonalban), környezeti, társadalmi és gazdasági tényezők (Khera és mtsai., 2019; Rohde és mtsai., 2019; Thaker, 2017; Zhou és Rui, 2013). Az elhízás kezelésének egyik fő nehézségét az okozza, hogy elsődleges kockázati tényezőként szerepel számos krónikus betegség, többek között a metabolikus diszfunkcióval társult zsírmájbetegség (MASLD, korábbi nevén nem-alkoholos zsírmáj; NAFLD), inzulinrezisztencia (IR), kettes-típusú cukorbetegség (T2DM), szív- és érrendszeri megbetegedések (CVD), krónikus veseelégtelenség, kialakulásában (Jin és mtsai. 2023; Kupai és mtsai. 2022; Pi-Sunyer 2009), melyek együttes megjelenése okozza a kezelésének egyik fő nehézségét.

E krónikus betegségek előfordulását tovább növeli a metabolikus szindróma (MetS), amely több kardiometabolikus tényező, például diszlipidémia, emelkedett vércukorszint és hasi elhízás együttese (Cornier és mtsai. 2008; Eckel és mtsai. 2005). A kórképet először X-szindrómaként írták le, mely magába foglalta az IR-t, a glükóz intoleranciát, a hiperinzulinémiát, az emelkedett alacsony sűrűségű- (LDL), ám csökkent magas sűrűségű lipoprotein koncentrációt (HDL) és a magas vérnyomást (Reaven 1988). Érdekes módon ekkor az elhízást még nem sorolták a betegség kórképébe, amit manapság a tünetek egyik kiindulópontjának tartanak. Az elhízáson belül kiemelendő a belső szervek közötti zsírfelhalmozódás, azaz a viscerális, vagy hasi elhízás, amely erős korrelációt mutat a MetS kialakulásával és annak súlyosságával (Shah és mtsai. 2014). A zsírsejtek számának és méretének növekedése hipoxiát, mitokondriális diszfunkciót és a zsírsav-háztartás felborulását is előidézhethet (Goossens és Blaak, 2015; Lee és mtsai., 2019; Mann és mtsai., 2024; Ye, 2009). Ezek a tényezők gyulladást indukálnak a zsírszövetben, mely fokozott adipokin- és citokin-kiválasztást (TNF α , IL-6) eredményezve egy szisztémás, alacsony fokú gyulladáshoz vezethet. Az elhalt vagy stresszelt zsírsejtek köré immunsejtek, főként makrofágok gyűlnek, melyek pro-inflammatorikus M1 típusúvá alakulnak, ezáltal tovább fokozva a gyulladós folyamatokat (Lumeng és mtsai. 2007; Weisberg és mtsai. 2003). Az így kialakuló krónikus gyulladás és az immunrendszer működésének megváltozása az elhízással összefüggő különféle betegségek okai és súlyosbító tényezői lehetnek, fontos szerepet játszva az elhízással összefüggő működési zavarok, így a MetS patogenezisében is (Tylutka és mtsai. 2023).

Egyre több bizonyíték utal arra, hogy elhízott betegeknél a zsírszövet által kiválasztott gyulladós citokinek kulcsszerepet játszanak az IR és a T2DM kialakulásában. Ahogy a

fokozott immunválaszból származó M1 típusú makrofágok száma is szoros összefüggést mutat az IR megjelenésével (Lumeng és mtsai. 2007), úgy számos citokin, például az interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β) és a tumor nekrozis faktor- α (TNF α), is befolyásolja az inzulinjelátvitelt, csökkentve a zsírszövet, a máj és a vázizom inzulinérzékenységét, ami végül szisztémás IR-hez vezethet (Zatterale és mtsai. 2020). Az inzulinrezisztens szövetekben csökken az inzulinreceptor autofoszforilációja, az inzulinreceptor-szubsztrátok foszforilációja, a tirozin-kináz aktivitása, illetve visszaszorul a glükóz transzporter 4 (GLUT4) expressziója (Petersen és Shulman 2018). Ezen felül az IR a lipidek és lipoproteinek anyagcseréjének megváltozásával is összefügg, ami hipertrigliceridémiához és a HDL-koleszterinszint csökkenéséhez vezet.

A tartósan magas kalória bevitel ektópikus zsírfelhalmozódást és lipotoxicitást idézhet elő. A zsírszövet méretének növekedése mellett a májban, vesében, szívben és az izomszövetben is lipidfelhalmozódást eredményezhet. A májban felhalmozódó lipidek cseppekbe rendeződve MASLD-t váltanak ki. Ez a betegség a tünetek széles skáláját öleli fel az enyhe szteatózistól a súlyosabb nem-alkoholos szteatohepatitiszig (NASH), amely végül visszafordíthatatlan állapotokhoz, fibrózishoz és cirrózishoz vezethet (Pouwels és mtsai. 2022). A kórkép patogenezisének magyarázatában korábban elfogadott „*two-hit*” hipotézist, amely a szteatózis kialakulását és az ezt követő oxidatív stresszt, valamint gyulladás meghatározó szerepét hangsúlyozta (Day és James 1998), a multifaktoriális „*multiple-hit*” modell váltotta fel. Ez az elmélet azt feltételezi, hogy a betegség előrehaladását több, egymással párhuzamosan zajló és kölcsönhatásban álló folyamat határozza meg, így többek között az IR, zsírsavanyagcsere-zavar, genetikai és epigenetikai hajlamok, adipokinek és hormonális tényezők, de az életmódbeli faktorok is közrejátszanak (Buzzetti és mtsai. 2016; Tilg és Moschen 2010).

Az elhízás és a MetS napjainkra globális egészségügyi krízissé vált, mely jelentős mértékben hozzájárul a T2DM, a CVD, a MASLD, és számos egyéb anyagcsere- és gyulladásos szövődmény kialakulásához, valamint, fokozza a szívinfarktusz és a stroke kockázatát is (Lusis és mtsai. 2008; Tune és mtsai. 2017). A korábban említett diszlipidémia, T2DM, magas vérnyomás, illetve a különféle alvászavarok mind hozzájárulhatnak az elhízás által kiváltott CVD kialakulásához. Ezért kulcsfontosságú, hogy a betegség hátterében álló patofiziológiai folyamatokat a lehető legmélyebben megértsük. Az anyagcsere, az immunrendszer és a hormonális szabályozás komplex kölcsönhatásai számos, még feltáratlan szabályozási pontot rejtenek, amelyek új terápiás célpontként szolgálhatnak. Ennek feltérképezéséhez azonban megbízható, reprodukálható és a humán állapothoz relevánsan közelítő kutatási modellekre van szükség. A jól megválasztott és validált modellek hozzájárulnak ahhoz, hogy az alapkutatásból származó ismeretek hatékonyan és célzottan legyenek átültethetők a klinikai gyakorlatba, végső soron elősegítve az elhízás és a MetS korszerűbb és eredményesebb kezelését.

1.2 EGÉRMODELLEK AZ ELHÍZÁSBAN

A különböző egérmodellek régóta az alapkutatás méltán elismert kísérleti állataiként vannak számontartva, főként a biológiai és orvosi tudományok területén. Mivel gyors szaporodású, rövid élettartamú állatokról beszélünk, az egyedek fenntartása relatíve költséghatékony és könnyű. Más modell organizmusok, mint az élesztők, fonalférgek és legyek is kiváló modellek számtalan biológiai funkció tanulmányozására, az egerek az

emberi kórfolyamatok vizsgálatában különösen előnyösek lehetnek. Ennek egyik magyarázata, hogy a humán és az egér genom megközelítőleg 90%-os hasonlóságot mutat, vagyis a gének sorrendje és az általuk kódolt információk megfeleltethetők egymásnak (Mouse Genome Sequencing Consortium 2002). Másfelől az egerek olyan szervrendszerekkel rendelkeznek, amelyek számos tekintetben hasonlóságot mutatnak az emberi szervekkel és élettani folyamatokkal, beleértve az immun-, ideg- és keringési rendszert, valamint az anyagcsere-folyamatokat. Ezáltal az egérmodellek alkalmasak komplex emberi betegségek, például a cukorbetegség és CVD vagy akár a rák tanulmányozására. Ezen kívül genetikai manipulációval előállíthatók humanizált egértörzsek, melyek segítségével még pontosabban leképezhetők az emberekre jellemző betegségek (Mukherjee és mtsai. 2022). Az elhízással összefüggő betegségek kutatásában is számos egérmodellt megkülönböztethetünk, attól függően, hogy kísérleteink mely tünetegyüttesre fókuszálnak. E modellek segítségével tanulmányozhatóvá válik az elhízás, a MetS, valamint az ezekhez kapcsolódó T2DM és CVD is. A tünetek kiváltásához használhatunk különböző diétákat, vagy hormonális úton/genetikailag módosított egereket. Az elkövetkező néhány bekezdésben a teljesség igénye nélkül mutatunk be néhány ismert elhízásmodellt.

1.2.1 Diéta-indukálta elhízásmodellek (DIO – Diet-induced obesity)

A diéta-indukálta elhízás modellezését javarészt a C57BL/6J egértörzsszel végzik, mivel ez az egértörzs a magas szénhidrát-, zsírtartalmú diéták hatására hajlamosabb az elhízásra (Hariri és Thibault 2010). Így ezek a modellek főként a diéta által indukált elhízás és az ebből következő anyagcserezavarok vizsgálatára alkalmasak.

1.2.1.1 Zsírdús diéta (HFD)

A magas zsírtartalmú diéta (HFD) esetén az állatok a normál diéta (ND; 10–15% zsírtartalom) helyett magas zsírtartalmú tápot (általában 45–60% zsírtartalom) kapnak, jellemzően 8–20 héten keresztül, néha hosszabb ideig. Az esetek többségében ilyenkor *ad libitum* kapják az élelmet, mely az idő függvényében testsúlynövekedést, IR-t, hiperglikémiát, hiperinzulinémiát, hiperkoleszterinémiát, hepatikus szteatózist, alacsony szintű krónikus gyulladást, illetve szív- és érrendszeri rendellenességeket képes kiváltani.

A testtömeggyarapodás, illetve az emelkedett glükóz koncentráció a vérben akár már a diéta egy hetes alkalmazása után jelenkezik (Sörhede Winzell és Ahrén 2004). Hosszabb ideig tartó diéta esetén (16 hónap) az elhízás mellett már hiperglikémia, IR és hiperinzulinémia is kialakul. Mindemellett a szív szövettani vizsgálatával kimutathatók a diabéteszes kardiomiopátia korai jelei, a hipertrófia és a fibrózis, valamint a csökkent szívfunkció (Calligaris és mtsai. 2013).

1.2.1.2 Szénhidrátdús diéta (HCD)

A magas szénhidrát tartalmú diéta önmagában ritkábban alkalmazott az elhízás modellezésére, azonban jól tükrözi az emberi táplálkozásra egyre jellemzőbb fruktóz-, glükóz, illetve keményítőalapú terhelést. A szénhidráttartalma a diétának ilyenkor a normál ~45-55%-hoz képest (komplex szénhidrátok – főleg keményítő) általában 65%-nál magasabb (fruktóz, glükóz, keményítő), extrém esetben akár 80%-os (finomított cukrok) is lehet (Vercalsteren és mtsai. 2021). Alkalmazása a HFD-hez hasonlóan lehet akut (2-4 hét) vagy hosszabb ideig tartó, azonban itt is elmondható, hogy a kezelés időtartama nagyban befolyásolja a megjelenő anyagcserezavarokat. Korán megjelenő

tünetek a hiperinzulinémia és az IR, míg krónikus szénhidrát fogyasztás esetén idővel kialakulhatnak a hepatikus és a kardiovaszkuláris rendszer elváltozásai (Softic és mtsai. 2017, 2020; Szűcs és mtsai. 2019), így a MetS is (Aoun és mtsai. 2022).

A megfelelő modell megalkotásához fontos figyelembe venni a fruktóz és a glükóz metabolizmusának alapvető különbségeit. Míg a glükóz aktív transzporttal, részben inzulin függő módon, a GLUT4 transzporterrel keresztül főként az izom- és zsírsejtekbe kerül, addig a fruktóz felvétele passzív és inzulinfüggetlen módon a GLUT2 és a GLUT5 transzporterekkel keresztül és főként a májsejtekbe történik. A glükóz metabolizmusa a glikolízisen keresztül zajlik, mely a sejt tényleges energiaigénye alapján szigorú szabályozás alatt álló folyamat. Mivel a glükózt számos sejt képes metabolizálni, így a lipogenezis szabályozottabb módon tud megvalósulni. A fruktóz anyagcsere főként a májban történik, ahol a glükóz lebontásának fő szabályozó pontjait megkerülve fokozza a *de novo lipogenezist*, ami TG és diacilglicerol (DAG) felhalmozódáshoz vezet. A májban felhalmozódó DAG aktiválja a protein kináz C-t, ami részlegesen gátolja az inzulin jelátvitelt, mivel csökkenti az inzulinreceptor tirozin foszforiláz funkcióját, mely aktiválná a kulcsfontosságú szubsztrátokat (inzulin receptor szubsztrát 1, 2; IRS-1, IRS-2). Ez végső soron rontja az inzulin által közvetített májglikogén-szintézist, melyhez hasonló folyamat megfigyelhető a T2DM-ben szenvedő betegeknél is (Bjornstad és Eckel 2018; Petersen és Shulman 2018; Samuel 2011; Softic és mtsai. 2017, 2019, 2020). A glükózzal ellentétben a fruktóz nincs jelentős hatással az inzulin, illetve a leptin válaszára, ezért nem vált ki jóllakottságérzetet, ami tovább növeli a bevitt tápanyagmennyiséget, ezáltal elősegítve az elhízást. Paradox módon a fokozott fruktóz bevitel nem minden esetben vezet a testtömeg gyarapodásához. Ennek oka azonban főként az izom/zsír arány eltolódásával magyarázható. A hosszútávú fruktóz fogyasztás fokozza a metilglioxál képződést, amely oxidatív stresszt indukál az izomszövetben, ezért mind a fehérjeszintézis, mind a meglévő izomtömeg csökken. Ezzel szemben a májtömeg a szteatózis, míg a viscerális zsír tömege a fokozott zsírsavsintézis miatt nő. A csökkent izomtömeg és a máj inzulinfüggő jelátviteli folyamatainak meghibásodása hozzájárul a fruktóz által kiváltott IR-hez (Dhar és mtsai. 2013; Gatineau és mtsai. 2015; Samuel 2011; Szűcs és mtsai. 2019).

1.2.1.3 Nyugati-típusú diéta - „Western-type diet”

A nyugati típusú diéta egyre szélesebb körben használt az elhízás és a MetS modellezésére. Ennek oka, hogy ez a modell követi a legpontosabban a fejlett országok táplálkozási szokásait, így az emberi anyagcsere- és immunrendszer zavarok ebben a modellben jellemezhetőek a legpontosabban. A diéta, kombinálva a HCD-t valamint a HFD-t, jól tükrözi a feldogozott élelmiszerek magas szénhidrát- és zsírtartalmát, ugyanakkor rostokban és mikrotápanyagokban szegény, így alkalmazásával már rövid időtartam alatt kiváltható a MetS-re jellemző tünetegyüttes (Demigné és mtsai. 2006). A nyugati-típusú diétával etetett egerekben minden korábban ismertetett fenotípusos és patológiás elváltozás megfigyelhető, azonban ezen tünetek a csak HFD-vel vagy csak HCD-vel történő kezeléssel szemben sokkal korábban jelentkeznek. Ezek az állatok rövidebb idő alatt elhíznak, hamarabb jelentkeznek náluk az IR, a hiperglikémia, és a zsírmáj (Luo és mtsai. 2016). A bőr alatti, illetve a szervek közötti zsírtömeg gyarapodásával a krónikus alacsony szintű gyulladás is hamarabb detektálhatóvá válik. A kardiovaszkuláris rendszer szintjén érgyulladás és atheroszklerotikus elváltozások

jelenhetnek meg, melyhez kezdetben kamrai hipertrófia, idővel pedig csökkent, majd elégtelen szívteljesítmény is társul (Liu és mtsai. 2023).

1.2.2 Genetikailag módosított egerek

A genetikailag módosított egerek kulcsszerepet játszanak az elhízás, az IR és a kapcsolódó anyagcserezavarok mechanizmusainak megértésében. Az egérmodellek korábban ismertett pozitív tulajdonságai mellett a genetikai manipulációval célzottan állíthatók elő betegségmodellek, illetve könnyen vizsgálhatók a humán betegségekre jellemző genetikai változatok.

1.2.2.1 *Ob/Ob – leptin deficiens egér*

A leptint kódoló gén alléljai homozigóta formában hordozzák a mutációt (Ingalls és mtsai. 1950; Zhang és mtsai. 1994). A leptin hormon funkcióvesztése miatt az állatokra fokozott étvágy, hiperglikémia, IR, csökkent anyacsere, alacsonyabb testhőmérséklet és csökkent termékenység jellemző (Coleman és Hummel 1973). Az így kapott mutáns egereket az elhízás, az IR, illetve főként a T2DM modellezésére alkalmazzák.

1.2.2.2 *Db/Db – leptin receptor deficiens egér*

Az Ob/Ob egérhez hasonlóan az elhízás, az IR és a T2DM modellállata, azonban esetében a leptin receptort kódoló génben található mutáció. Az állatoknál kóros elhízás, hiperglikémia, a hasnyálmirigy β -sejtjeinek atrófiája mutatkozik. Idővel kardiovaszkuláris megbetegedések és elnyúló sebgyógyulás jellemzi (Chen és mtsai. 1996).

1.2.2.3 *ApoE^{-/-} – deficiens egér*

A vad típusú egerek alapvetően kevésbé alkalmasak a hiperlipidémia modellezésére, mivel egerekben, a HDL a fő koleszterin szállító komponens. A HDL fő funkciója a vízben oldhatatlan lipidmolekulák szállítása a perifériáról a máj felé elimináció céljából, ezáltal kompenzálva a perifériás szervek felé irányuló VLDL- és LDL-mediált lipidtranszport hatásait. Az emberben az LDL/HDL arány ezzel szemben jóval magasabb, ezért szükséges a hiperlipidémia és az atheroszklerózis egérmodelljeiben a LDL/HDL arányt humanizálni (Glass és Witztum 2001; Gordon és mtsai. 2015).

Az apolipoprotein E fehérje deficiens egér széles körben alkalmazott modell az elhízásból következő kardiovaszkuláris megbetegedések tanulmányozására. Az *ApoE* gén inaktivitása miatt ezek az egerek nem képesek megfelelően előállítani a HDL partikulumokat, ami a reverz transzport hiányában fokozott koleszterin és TG felhalmozódáshoz, ezáltal atheroszklerotikus plakkok kialakulásához vezet (Piedrahita és mtsai. 1992; Plump és mtsai. 1992). A mutáció párosítása a Western-típusú diétával nagyban felgyorsítja az érlemezés folyamatát (Meyrelles és mtsai. 2011).

1.2.2.4 *Humán APOB-100 – túltermelés*

Egy másik lehetőség az egerek szérum LDL-koleszterin szintjének növelésére az apolipoprotein B-100 (APOB-100) fehérje túltermeltetése. Az APOB-100 a nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (VLDL) és az alacsony sűrűségű lipoprotein (LDL) fő apolipoproteinje. Ezek a lipoproteinek főként a szervezet által szintetizált zsírokat és TG-eket szállítják a májból a perifériás szövetekhez. A tartósan magas szérum VLDL és LDL szint összefüggést mutat a szervek elzsírosodásával, mivel megnő a sejtek által felvett TG

és zsírmolekulák mennyisége. Az emelkedett LDL koncentrációnak köszönhetően az egértörzs az elhízás mellett alkalmas többek között a lipidanyagcsere, az IR és a CVD modellezésére is.

Az első transzgenikus APOB-100 egereket az 1990-es évek elején hozták létre. Ehhez egy 79,5 kilobázis hosszúságú humán genomikus DNS-fragmentumot izoláltak egy P1 fágkönyvtárból, amely a teljes *APOB* gént tartalmazta, majd ezt a szekvenciát mikroinjektálták megtermékenyített egér petesejtekbe (Purcell-Huynh és mtsai. 1995). Kutatócsoportunk 2005-ben hozta létre a kísérleteinkben alkalmazott transzgenikus egértörzset Rubin laboratóriuma által 1993-ban kifejlesztett P1 fagemid transzgén felhasználásával. Ez a konstrukció tartalmazza a teljes, 42 kilobázis hosszúságú humán *APOB* gént, valamint egy 19 kilobázis hosszú 5' szabályozó régiót és egy 14 kilobázis hosszúságú nem transzlálódó 3' szekvenciát is (Bjelik és mtsai. 2006). A szóban forgó APOB-100 túltermelő egértörzs egyedei normál diétán tartva hipertrigliceridémiát mutatnak, míg HFD-vel kiváltható a megemelkedett szérumszintű TG, totál- és LDL-koleszterin koncentráció, így kialakítva az elhízott emberekre jellemző hiperkoleszterinémiát (Csont és mtsai. 2007). Ezáltal, ezek a HFD-n nevelt APOB-100 túltermelő egerek az elhízás, a CVD-k, a hiperlipidémia, a MASLD és az IR tünetek együttes megjelenésével kiválóan alkalmasak a MetS tanulmányozására (Tóth és mtsai. 2021), de kísérleti modellként használhatóak például a központi idegrendszerre irányuló vizsgálatokban is (Bereczki és mtsai. 2008; Hoyk és mtsai. 2018; Lénárt és mtsai. 2012, 2015). Emellett kutatócsoportunk a MetS és a testmozgás vonatkozásában is vizsgálta a HFD-n nevelt APOB-100 túltermelő állatokat nagy hangsúlyt fektetve a nemi dimorfizmusra. Vizsgálataink során megfigyeltük, hogy az egyes elhízással összefüggő patológiai elváltozások (MASLD, gyulladás, szív morfológiai változásai) súlyosabb tüneteket mutatnak hím állatokban, mint nőstényekben (Tóth és mtsai. 2021, 2022).

A fenti példák jól mutatják, hogy számos különböző elhízás- és MetS-modell áll rendelkezésre, amelyek változatos étrendi, genetikai vagy kombinált megközelítéseken alapulnak. Ezek sokfélesége ugyan lehetőséget kínál a különböző patomechanizmusok tanulmányozására, ugyanakkor jelentős kihívást is jelent a kutatások standardizálása szempontjából. Egyetlen modell sem képes maradéktalanul visszaadni az emberi betegségkomplexitás minden aspektusát, például nem mindegyik alkalmas az IR, májzsírosodás vagy a krónikus gyulladás megfelelő vizsgálatára. Továbbá a vizsgálati eredményeket olyan tényezők is jelentősen befolyásolhatják, mint az állatok neme, életkora, genetikai háttere, vagy a vizsgálat időtartama (de Moura e Dias és mtsai. 2021). Emiatt alapvető fontosságú, hogy a kutatási célkitűzésekhez leginkább illeszkedő modellt válasszuk ki, figyelembe véve annak sajátosságait és korlátait. A modellek tudatos és kritikus megválasztása elengedhetetlen a megbízható és transzlálható eredmények eléréséhez.

1.3 HŐSOKKFEHÉRJÉK, MINT POTENCIÁLIS TERÁPIÁS CÉLPONTOK

1.3.1 Stresszválasz

A hősokkfehérjék (HSP-k), olyan evolúciósan konzervált *chaperonok*, melyek fő funkciója a sejtek fehérjehomeosztázisának fenntartása. Expressziójuk különféle stresszorok hatására (hőmérséklet, oxidatív stressz, hipoxia, gyulladás) indukálódhat (Lindquist 1986; Morimoto 1993).

A hősokkválaszt elsődlegesen stresszorok hatására károsodott fehérjék indítják el. A sejtek nyugalmi állapotában a hősokkfehérjék transzkripcióját szabályozó hősokkfaktor-1 (HSF1) a citoplazmában legnagyobb mennyiségben a HSPA1-hez és a HSPC-hez kötődve inaktív formában található meg. Stressz hatására azonban megnő a hibás szerkezetű, denaturálódott fehérjék mennyisége, melyekhez a HSPA1 és HSPC nagy affinitással kötődik. Ennek következtében a HSF1 felszabadul, trimerizálódik és a sejtmagba transzlokálódik, ahol a DNS hősokk elem régiójához (HSE) kötődve indukálja HSP-gének transzkripciójának aktiválását (Anckar és Sistonen 2007; Morimoto 1998; Morimoto és mtsai. 1996; Zou és mtsai. 1998). Azonban nemcsak a denaturálódott fehérjék képesek elindítani a sejtek stresszválaszt. A membrán szenzor hipotézis értelmében a membrán fluiditásának vagy fázisállapotának módosulása önmagában is kiválthat olyan szignalizációs eseményeket, melyek a HSP-k expressziójának fokozódásához vezetnek (Vigh és mtsai. 1998). A biológiai membránok tehát nem csupán passzív fizikai határok, hanem aktív környezetérzékelő struktúrák is, amelyek képesek közvetlenül detektálni különféle fizikai és kémiai változásokat, például a hőmérséklet-emelkedést, vagy a különböző betegségek, akár az elhízás során jelentkező lipidösszetétel megváltozását. Ebből a megközelítésből fejlődött ki a membrán lipid terápia koncepciója, melynek lényege a sejtszintű stresszválasz és a HSP expresszió aktiválása a membrán lipidösszetételének célzott módosítása révén. Az elmúlt évek során csoportunk részletesen vizsgálta az elmélet klinikai hasznosíthatóságának lehetőségeit (Horváth és mtsai. 2008; Török és mtsai. 2014; Vigh és mtsai. 1997, 2005, 2007).

A HSP-knek fontos szerepük van az újonnan szintetizálódó fehérjék helyes konformációjának kialakításában, a hibás szerkezetű, esetlegesen aggregálódott fehérjék javításában, illetve az irreverzibilisen károsodott fehérjék proteozómális degradációjának elősegítésében (Bellanger és Weidmann 2023; Csoboz és mtsai. 2022; Schleisinger 1990; Tedesco és mtsai. 2022; Tóth és mtsai. 2015; Török és mtsai. 2014; Vigh és mtsai. 2007). E tulajdonságaiknak köszönhetően a HSP-ket potenciális terápiás célpontként tartják számon számos fehérjehomeosztázis felborulásával járó, krónikus megbetegedésben, mint a neurodegeneratív kórképek vagy a T2DM. Ezen kívül a HSP-k szintjének növelése prekondicionálás vagy gyógyszeres kezelés által bizonyítottan védelmet nyújt akut károsodásokkal szemben, például a szív iszkémiás anomáliái esetén is (Arrigo 2013; Jeanne és mtsai. 2024; Kasza és mtsai. 2016; Latchman 2001; Penke és mtsai. 2018; Vigh és mtsai. 1997). *Chaperon* funkciójukon kívül azonban számos egyéb feladatuk is van, stressz körülmények között védik a sejtorganellumokat, stabilizálják a membránt, szabályozzák az apoptózis folyamatát (Beere 2004; Török és mtsai. 2014; Tsvetkova és mtsai. 2022). Jelenlétük ráadásul nem csak sejt szinten nélkülözhetetlen, számos tanulmányban kimutatták, hogy immunrendszer moduláló hatásuk révén képesek befolyásolni a különböző gyulladásos citokinek és kemokinek expressziós szintjét is (Calderwood és mtsai. 2016; Dukay és mtsai. 2019).

1.3.2 Hősokkfehérjék szerepe a MetS tünetegyüttesében

A HSP-k expressziójának szintje különböző krónikus betegségek, köztük anyagcserezavarok esetén is megváltozik, így a hiperlipidémia, IR és T2DM kórképeiben is (Csont és mtsai. 2002; Hooper és mtsai. 2014; Hooper és Hooper 2009; Tóth és mtsai. 2015; Vigh és mtsai. 1997). Mind az emelkedett, mind a csökkent koncentrációjuk diagnosztikai értékkel bírhat, mivel számos olyan anyagcserezavar ismert, amely során

egyes HSP-k kóros expresszió változása hozzájárulhat a betegség fenntartásához, progressziójához és a szövödmények kialakulásához. A megváltozott HSP-expresszió korrelálhat a betegség súlyosságával is. Ugyan a HSPA1 és HSPD1 fehérjék kimutathatóak egészséges egyének szérumban, az emelkedett extracelluláris/szérumban HSPA1 szint jellemző a perifériás és renális érbetegségben szenvedő embereknél, hozzájárulva a gyulladásos folyamatok és az IR kialakulásához. MASLD-ben, különösen elhízott egyének esetén, a szérumban HSPA1 expressziója fokozódik, míg az emelkedett szérumban HSPD1 koncentráció összefüggést mutat a korai kardiovaszkuláris anomáliákkal, így az atheroszklerózissal és a magas vérnyomással is, mely arra utal, hogy a HSP-k részt vehetnek az anyagcsere-zavarok kialakításában is (Calderwood és mtsai. 2016; Nie és mtsai. 2024; Pockley és mtsai. 2000; Xu és mtsai. 2000). Ezzel szemben a vázizomszövetben IR és T2DM állapotában csökken a HSPA1A expressziója, ami fokozott c-Jun N-terminál kináz (JNK) aktivitást idéz elő, gátolva az inzulinjelátvitelt. A csökkent HSPA1A szint korrelál a gyulladásos válasz fokozódásával, az inzulinérzékenység és az inzulin-mediálta glükózfelvétel romlásával, valamint a MASLD kialakulásával (Kurucz és mtsai. 2002; Nie és mtsai. 2024).

Számos tanulmányban bizonyítást nyert, hogy a sejtszintű stresszválasz indukálható fizikai aktivitással és meleg fürdő alkalmazásával is, ezáltal csökkenthető a kezelt páciensek testsúlya, mérsékelhető az IR, illetve a gyulladásos citokinek szekréciója is (Hooper 1999; Hooper és mtsai. 2014; Hooper és Hooper 2009; Sebők és mtsai. 2021). A hőkezelés hatással lehet a szérumban lipid profilra is. LDL-receptor *knockout* egerekben hőkezelés hatására csökkent a TG és LDL-koleszterin szint, miközben emelkedett a HDL-koleszterin koncentráció (Bruxel és mtsai. 2019). Mindezek alapján megállapítható, hogy a hőszokk válasz felderítésében és a pontos szereplők meghatározásában rejlő kihívást az okozza, hogy mind a testmozgás, mind a hőterápia a teljes stresszválasz hálózatot aktiválja, melyben az egyes HSP-k egymással együttműködve komplex hálózatot alkotnak. Éppen ezért az egyes résztvevők tényleges szerepének mértékét meghatározni igen nehéz. A legtöbb tanulmány a HSPA1 szerepére és klinikai jelentőségére koncentrál, amelynek expressziós szintje szövetenként eltérően változik diabétesz esetén (de Oliveira és mtsai. 2022). Számos tanulmány vizsgálja a HSPA1 expressziós szintjének transzgenikus túltermeltetéssel, hipertermiával vagy farmakológiai úton (például BGP15-tel) történő növelését, mivel emelkedett koncentrációja kivédheti a hiperglikémiát, a hiperinzulinémiát és az IR-t különböző diabétesz- és elhízás-modellekben (Chung és mtsai. 2008; Henstridge és mtsai. 2014; Tóth és mtsai. 2015). Ezen eredmények arra utalhatnak, hogy a hőszokk válasz és a HSPA1 szintjének módosítása hatékony terápiás stratégia lehet anyagcsere-betegségek esetén is. Ezzel szemben a kis molekulatömegű HSPB család szerepe az anyagcserezavarokban részleteiben még nem ismert (Esmailzadeh és mtsai. 2023).

1.3.3 Kismolsúlyú hőszokkfehérjék

A kismolsúlyú HSP család tagjai a sejtek citoplazmájában jellemzően oligomer komplexek formájában vannak jelen, és reverzibilis módon képesek megkötni a hibás, aggregációra hajlamos fehérjéket. Ilyen kismolsúlyú hőszokkfehérje például a HSPB1 és HSPB5, melyek elsődleges funkciója a hibás fehérjék stabilizálása ATP-független módon mindaddig, amíg más nagyobb, ATP-függő dajkafehérjék vagy a proteoszómális lebontó rendszerek nem aktiválódnak (Fu 2014; Janowska és mtsai. 2019). Intracelluláris

chaperon szerepük mellett egyre több bizonyíték utal arra, hogy a kismolsúlyú HSP-k is rendelkezhetnek extracelluláris funkciókkal. A család egyik tagja, a HSPB5, *chaperon* funkciója mellett adipokinként is funkcionál, mivel az adipociták nagyobb mértékben szekretálják, így az elhízott egyének vérében nagyobb koncentrációban volt kimutatható (Lehr és mtsai. 2012). Egy másik kísérletben a HSPB5 mellett a HSPB2-t is összefüggésbe hozták a diéta-indukálta elhízással kapcsolatos tünetek kialakulásával, mivel a tünetek nem jelentkeztek HSPB5/HSPB2 *knockout* egerekben (Toft és mtsai. 2016). Ezen felül a kismolsúlyú HSP-k közül a HSPB1 is összefüggésbe hozható a MetS számos tünetével. Szerepet játszik többek között az érfalak rugalmasságának fenntartásában, támogatja az endotélsejtek integritását, regulálja az autofágiát és az apoptózist, ami igen fontos tényező lehet az atheroszklerózis kezelésekor (Bruxel és mtsai. 2019; Chen és mtsai. 2022). A nukleáris faktor-kappa B útvonal gátlása révén csökkentheti a gyulladásos citokinek expresszióját, ezáltal részt vehet a gyulladás szabályozásában *chaperokin* szerepben (Dukay és mtsai. 2021, 2019; Park és mtsai. 2003). Fenti tulajdonságai révén szerepet játszhat az elhízással összefüggő gyulladásos folyamatok és anyagcserezavarok szabályozásában is.

Mindez azt mutatja, hogy a HSP-k funkciói összetettek, és szövetspecifikusan eltérő hatásokat válthatnak ki. Ezért különösen fontos ezeknek a molekuláknak a részletes vizsgálata az elhízás és a MetS különböző aspektusaiban, mivel potenciális biomarkerként és terápiás célpontként is szolgálhatnak a jövőben.

2 CÉLKITŰZÉSEK

Mivel az elhízás számos krónikus betegség rizikófaktor, világszerte egyre nagyobb problémát jelent járványszerű terjedése. A patológias folyamatok háttérében álló sejtszintű és molekuláris mechanizmusok azonban még nem teljesen tisztázottak, holott ezek ismerete elengedhetetlen a megfelelő terápiás módszerek kifejlesztéséhez. Ehhez olyan kísérleti modellekre van szükség, amelyek a lehető legpontosabban reprezentálják az emberi szervezetben végbemenő folyamatokat.

Munkacsoportunk hosszútávú célja az elhízáshoz kapcsolódó tünetek és társbetegségek kialakulásában szerepet játszó folyamatok megértése, illetve a sejtszintű stresszválasz komponenseinek felderítésével lehetséges terápiás célpontok felkutatása a különböző egérmodellek segítségével. Ennek érdekében a dolgozat alapjául szolgáló munkák során a következő célokat tűzzük ki:

I. kísérletsorozat: A tanulmány célja, hogy a két DIO modellben részletesen jellemezze az elhízással kapcsolatos betegségek, anyagcsere-zavarok és immunválasz változásait.

a) Testtömeg és anyagcsere-paraméterek vizsgálata

- Különböző diéták (HFD vs. HFD + FR vs. ND) a testtömegre és szérum lipid profiljára kifejtett hatásának elemzése.
- Glükóz-intolerancia vizsgálata orális glükóz tolerancia teszttel (OGTT).

b) Máj- és viscerális fehérzsírszövet jellemzése

- A hepatikus zsírfelhalmozódás és a NAS mértékének meghatározása hisztológiai metszeteken.
- A májszövet génexpressziójának elemzése RT-PCR módszerrel.

c) Szisztémás gyulladás és immunválasz elemzése

- A szérum gyulladásos citokin- és adipokin-koncentrációinak összehasonlítása a kísérleti csoportokban Multiplex Immunoassay segítségével.
- A viscerális fehérzsírszövet gyulladásos, és stresszválaszban szerepet játszó génjeinek expresszióváltozásainak feltárása RT-PCR-rel.
- Vérből, csontvelőből és lépéből izolált sejtek immunfenotipizálása egysejt tömegcitometria használatával.

II. kísérletsorozat: A kutatás fő célja, hogy meghatározza a humán HSPB1 túltermelésének hatását az elhízás során kialakuló anyagcsere-zavarokra, a szövődmények megjelenésére, illetve a nemek közötti eltérésekre egy humán APOB-100 transzgenikus egérmodellben.

a) Testtömeg és lipid-profil vizsgálata

- A HSPB1 túltermelés testtömeg gyarapodás befolyásoló hatásának vizsgálata a magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 egerekben.
- A HSPB1 diszlipidémiára kifejtett hatásának vizsgálata a szérum triglicerid-, LDL- és HDL-koleszterin szintek meghatározásával.

b) Viscerális fehérzsírszövet génexpressziós változásainak elemzése

- Kulcsfontosságú gyulladásos citokinek, valamint anyagcsere-szabályozó gének expressziós szintjének elemzése a viscerális fehérzsírszövetben.
- A HSPB1 túltermelés hatásának meghatározása a gyulladásos válasz szabályozásában.

c) Májkárosodás és lipidakkumuláció vizsgálata

- A HSPB1 túltermelés lipidakkumulációra és génexpresszióra kifejtett hatásának elemzése az APOB-100 egerek májában.

d) Szív morfológiai és funkcionális változásainak elemzése

- A HSPB1 túltermelés szív működésre kifejtett hatásának vizsgálata APOB-100 egerekben szívultrahang segítségével.
- Meghatározni, hogy egészséges állatokban önmagában milyen hatást gyakorol a HSPB1 túltermelés a szívre.

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 ÁLLATOK ÉS KEZELÉSÜK

A kísérletet a 2010/63/EU irányelv előírásainak megfelelően végeztük el. Munkánk során minden intézményi és nemzeti irányelvet betartottunk a laborállatok tartása és kezelése során. Mind a transzgenikus mind a vad típusú C57BL/6J egereket egységesen, kísérlettől függetlenül két-három egyedből álló csoportokban rendeztük el, kontrollált környezetben (24 °C, 12 órás világos-sötét ciklus), biztosítva számukra az igény szerinti táplálék- és folyadékellátást. Az ND és a HFD pontos összetételét a 1. táblázat tartalmazza.

	Normál diéta (ND)	Zsírdús táp (HFD)
Nedvességtartalom (%)	10	10
Nyerszsír (%)	4,75	21,65
Nyersfehérje (%)	19,11	19,31
Nyersrost (%)	3,85	3,65
Hamu (%)	6,97	4,97
Nitrogénmentes kivonatanyagok (NFE %)	55,32	39,34

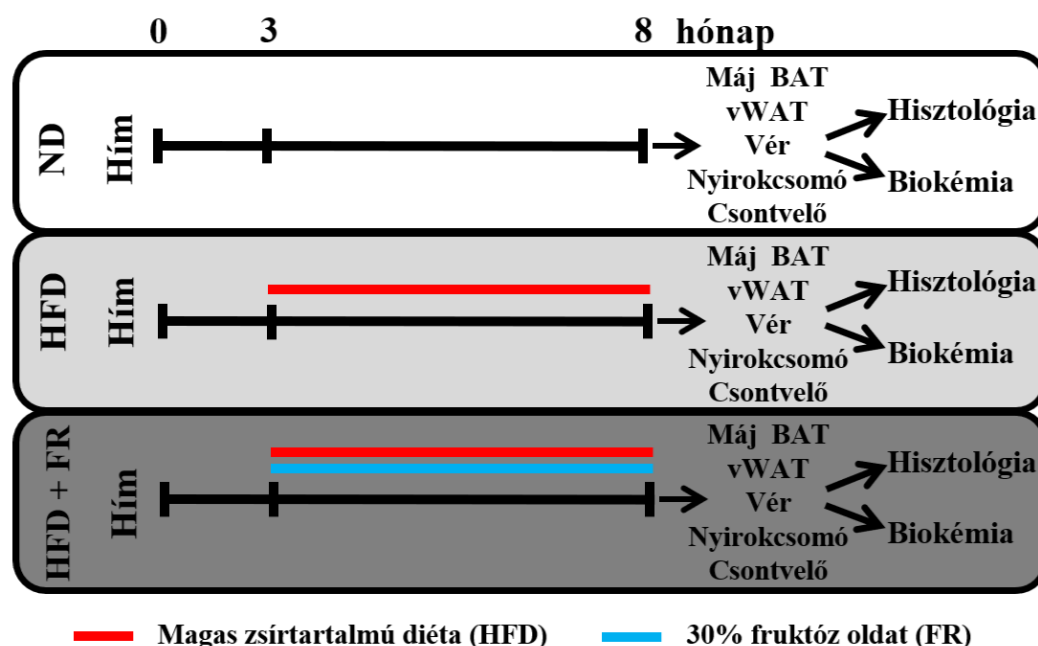
1.táblázat A normál (ND) és a zsírdús táp (HFD) összetételét részletező táblázat. A HFD 0,15% hozzáadott koleszterint tartalmaz, amely összesen 2% koleszterint eredményez az étrendben.

3.1.1 I. kísérletsorozat

A zsírdús diéta és a nyugati-típusú étrend (HFD + FR) hatásainak monitorozására 45 vad típus C57BL/6J hímeket vontunk be a kísérletbe. A szükséges mintanagyságot a PS Power and Sample Size Calculation szoftver segítségével határoztuk meg. Az állatokat életkor és testsúly szerint blokkokba osztottuk annak érdekében, hogy ezek a változók is kiegyensúlyozottak legyenek, majd minden blokkból véletlenszerűen osztottuk be őket a következő csoportokba: ND (n = 15), HFD (n = 15), illetve HFD + FR (magas zsírtartalmú diéta + fruktóz, n = 15). Az ND csoport egészséges kontrollként szolgált. A második csoport magas zsírtartalmú diétán nevelt (HFD csoport). A harmadik csoportban a HFD-vel táplált állatok ivóvizét 30%-os fruktózzal helyettesítettük (HFD + FR csoport). Az egerek diétáját 3 hónapos koruktól kezdtük el. A beavatkozás során az ND csoportból egy állat elpusztult, míg a HFD + FR csoportból egy másik egeret el kellett altatni a testtömegének jelentős csökkenése miatt. A kísérletet a Csongrád-Csanád vármegyei Élelmiszerbiztonsági és Állategészségügyi Főosztály engedélyezte (projektengedély: XVI./847/2022.). A diéta HFD vagy HFD + FR (HFD; High-Fat Diet, Special Diet Services, UK). Az ND és a HFD pontos összetételét a 1. táblázat tartalmazza.

Az állatok testtömegét a kísérlet kiindulásakor, majd azt követően havonta mértük. Az IR kialakulásának monitorozására minden egyedén orális glükóztolerancia tesztet végeztünk (OGTT). Az 5 hónapos diéta leteltével, 8 hónapos korban, az állatokat szén-dioxiddal termináltuk. Az állatoktól, a mellkas a felnyitását követően, a szíven keresztül éhomi vérmintát vettünk tömegcitometriai (CyTOF)- és plazmafehérje méréshez, illetve a standard laborparaméterek meghatározásához (szérum glükóz; Accu-Chek®, Roche, Mannheim, Németország; TG, LDL-koleszterin és HDL-koleszterin). Ezt követően a lágyéki nyirokcsomókat, a lépét, a májat, a viscerális fehér- (vWAT), és a barna zsírszövetet (BAT) is eltávolítottuk. A szervek tömegének feljegyzését követően a mintákat a későbbi vizsgálatoknak megfelelően tároltuk. A mintákat a CyTOF

mérésekhez RPMI-ba helyeztük, az RNS izoláláshoz folyékony nitrogénben fagyasztottuk, míg a hisztológiai vizsgálatokhoz 4%-os paraformaldehid oldatban (0,1 M PBS-ben, pH = 7,4) fixáltuk (1. ábra).



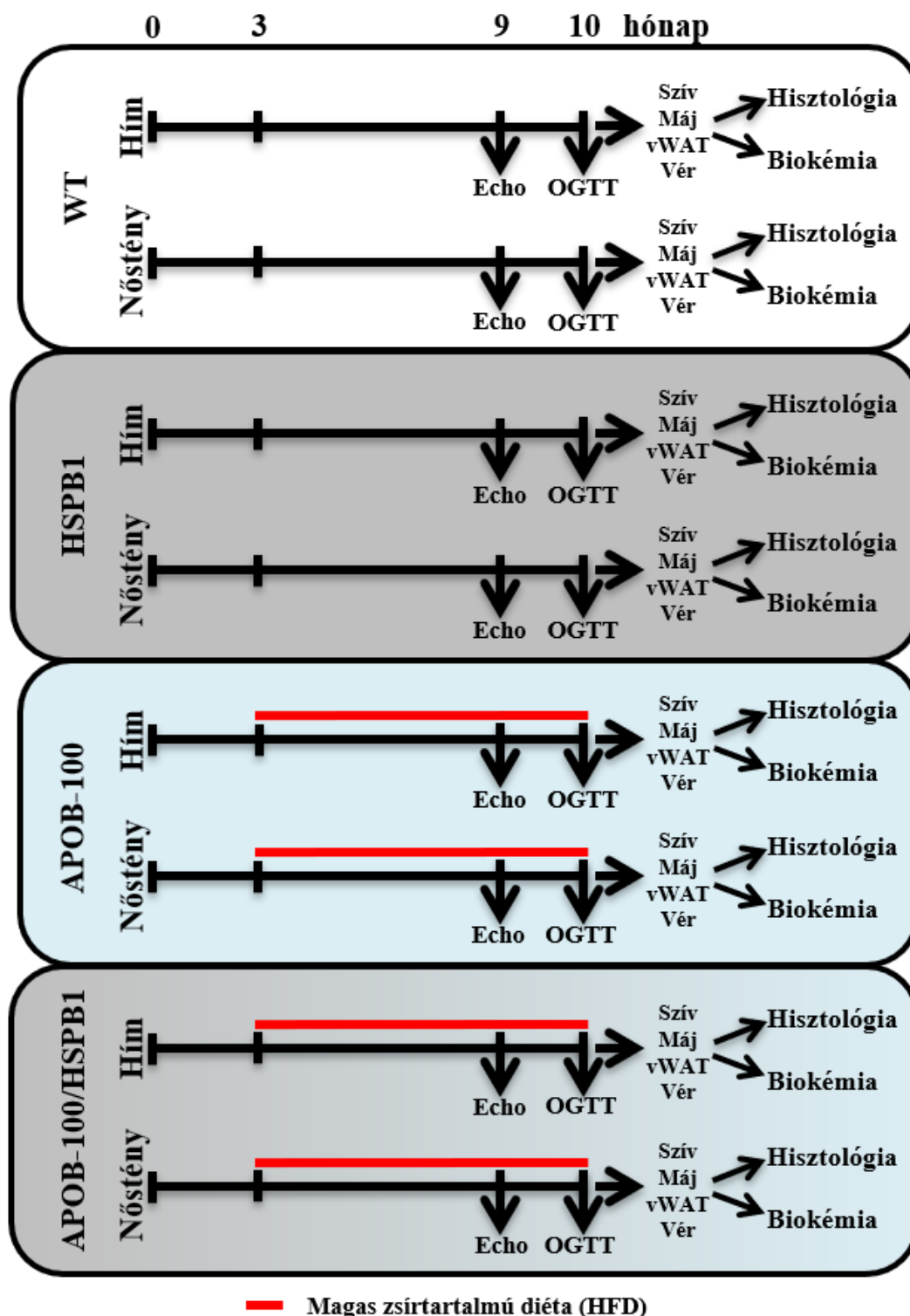
1.ábra A kísérleti elrendezése a HFD, HFD + FR kísérletnek.

3.1.2 II. kísérletsorozat

A kísérletbe a csoportunkban korábban létrehozott humán APOB-100 és humán HSPB1 túltermelő egértörzseket vontuk be (Bjelik és mtsai. 2006; Tóth és mtsai. 2010). Mindkét törzset C57BL/6J genetikai háttéren hemizigóta formában tenyésztettük és tartjuk fenn. A transzgenikus egértörzsek tenyésztését a Csongrád-Csanád vármegyei Élelmiszerbiztonsági és Állategészségügyi Főosztály engedélyezte (projekt engedély száma: XVI./2724/2017). A kettős transzgenikus egerek létrehozásához hemizigóta APOB-100-at túltermelő és hemizigóta HSPB1-et túltermelő állatokat párosítottunk. Az utód egerek genotípusának meghatározásához a 10 napos kölykök farkából vett biopsziákból DNS-t izoláltunk, és a transzgenének jelenlétét PCR-rel detektáltuk (Bjelik és mtsai. 2006; Tóth és mtsai. 2010).

Az APOB-100 (APOB), illetve a kettős transzgenikus egereket (APOB/HSP) 3 hónapos koruktól kezdtük el HFD-vel etetni (High-Fat Diet, Special Diet Services, UK) az elhízás és a kardiovaszkuláris diszfunkció indukálása érdekében (1. ábra; (Tóth és mtsai. 2020, 2021). A diéta pontos összetételét az 1. táblázat tartalmazza. A vad típusú (WT) egereket, melyek egészséges kontrollként szolgáltak, illetve a HSPB1 (HSP) transzgenikus egereket, melyeken a HSPB1 túltermelés egészséges állatokra gyakorolt hatásait vizsgáltuk normál táppal etettük. A kísérletbe összesen 96 azonos korú hím (n = 12 C57BL/6J vad típusú, 26-35 g; n = 12 APOB-100, 26-33 g; n = 12 HSPB1, 23-35 g; és n = 12 APOB-100/HSPB1, 25-32 g) és nőstény (n = 12 C57BL/6J vad típusú, 21-25 g; n = 12 APOB-100, 20-24 g; n = 12 HSPB1, 20-28 g; és n = 12 APOB-100/HSPB1, 20-28 g) egeret vontunk be. A diéta 7 hónapon át tartott, mely során a testtömeget a kísérlet kiindulásakor, majd havonta mértük. A szív működését transthoracalis echokardiográfiával vizsgáltuk a 9 hónapos állatokon. A 7 hónapos diéta leteltével, 10

hónapos korban, az állatokat nátrium-pentobarbitál (ip., 150 µg/g) alkalmazásával termináltuk. Az állatoktól szívpunkcióval éhomi vérmintát vettünk, amelyből standard laborparamétereket határoztunk meg, beleértve a szérum glükóz (Accu-Chek®, Roche, Mannheim, Németország), TG, LDL-koleszterin és HDL-koleszterin szinteket. A transzkardális perfúziót (0,9%-os nátrium-klorid oldat 0,01 M foszfátpufferes sóoldatban [PBS], pH = 7,4) követően a szívet, a májat és a vWAT-ot eltávolítottuk. A szervek tömegének feljegyzését követően, a minták egy részét folyékony nitrogénben fagyasztottuk RNS izolálás céljából, más részét pedig 4%-os paraformaldehid oldatban (0,1 M PBS-ben, pH = 7,4) fixáltuk különböző hisztológiai vizsgálatokhoz (2. ábra).



2.ábra A kísérleti elrendezése az APOB, APOB/HSP kísérletnek.

3.2 DNS TISZTÍTÁS TRANSZGENIKUS EGEREK FAROKMINTÁIBÓL

A transzgén jelenlétét 7 napos utódok szövetmintáiból határoztuk meg. Ehhez az állatok farok végeinek levágásával szövetmintát vettünk. A szövetmintákat egy éjszakán át (overnight – O/N) 55°C-on emésztettük 15 µl proteináz K (10 µg/ml) és 200 µl TNES (10 mM Tris, 400 mM NaCl, 100 mM EDTA, 0,6% SDS) puffer hozzáadásával. Másnap 55 µl telített NaCl segítségével a mintákból a fehérjét kisóztuk, majd

szobahőmérsékleten történő 10 perces centrifugálás (16060 g) után a felülúszóból 500 µl-t átmértünk egy tiszta 1,5 ml-s centrifugacsőbe. A mintákat 200 µl kloroform hozzáadása után újabb 10 percig centrifugáltuk (16060 g), majd egy térfogatnyi 90%-os jéghideg etanol hozzáadásával kicsaptuk a DNS-t a felülúszóból. Ezután 30 perces 4 °C-on történő centrifugálással (15710 g) üleptítettük a pelletet, amit 70%-os etanollal mostunk. A mintát végül szobahőmérsékleten 2 percig centrifugáltuk (16060 g). A DNS-t ezután 50-100 µl 10 mM TRIS-HCl (pH = 7,4) pufferben visszaoldottuk 1 órán keresztül 65°C-on inkubálva. Végül spektrofotométer segítségével OD 260 nm-en (Nanodrop, DE, USA) meghatároztuk a DNS oldatok koncentrációját, és -20°C-on tároltuk őket felhasználásig.

3.3 A HUMÁN APOB-100 ÉS A HUMÁN HSPB1 TRANSZGÉN JELENLÉTÉNEK KIMUTATÁSA PCR ANALÍZISSEL

A PCR reakcióelegy tartalma: 10 µl templát DNS (400 ng); 8,65 µl steril H₂O; 2,5 µl 10 x Dream Taq Buffer; 0,5-0,5 µl forward és reverz primer; 2,5 µl 2mM dNTP; 0,35 µl Taq polimeráz enzim (Thermo Scientific Dream Taq kit). A reakcióhoz a humán gének promóter régiójára tervezett primer párt használtunk (humán APOB-100 forward primer: 5'-AGA AGG TTC CAG ATG TCT ATG AGG -3', humán APOB-100 reverz primer: 5'-TCC AAG TAT CTG TCT TCA AGA AAC C -3', humán HSPB1 forward primer: 5'-GTC CCT GGA TGT CAA CCA CT -3'; humán HSPB1 reverz primer: 5'-GAC TGG GAT GGT GAT CTC GT -3'). A 25 µl össztérfogatú PCR reakció programjának paraméterei (BIO-RAD MiniOpticon): denaturáció: 95°C - 3 perc, denaturáció: 95°C – 30 másodperc, annealing: 58°C - 30 másodperc, elongáció: 72°C – 1 perc, 35 ciklusban, végül 72°C - 5 perc. A reakciót követően a termékeket 100V-on 1,5%-os agaróz gélben szeparáltuk és 1,2 µl etídium-bromid hozzáadásával tettük láthatóvá.

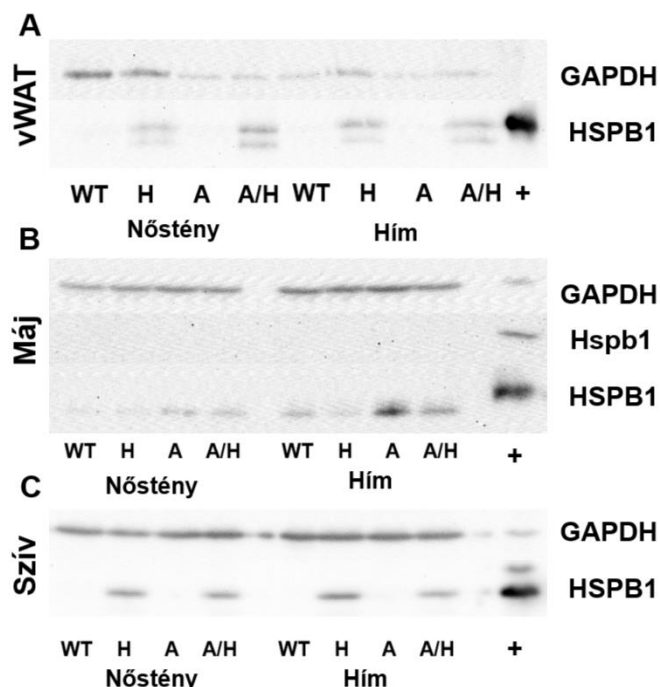
3.4 A HUMÁN HSPB1 FEHÉRJE KIMUTATÁSA WESTERN-BLOT ANALÍZISSEL

A transzgenikus HSPB1 fehérje szintjét vWAT-ból, májból és szívből határoztuk meg (n = 8–12/csoport; 3. ábra). A szöveteket a gyártó utasításainak megfelelően Bullet Blenderrel (Next Advance, Inc., Troy, NY, USA) homogenizáltuk 1 ml radioimmunprecipitációs (RIPA) pufferben, melyet proteáz gátló koktéllal egészítettünk ki (1 mM aminokapronsav, 1 mM benzamidin, 1 mM fenil-metil-szulfonil-fluorid elegye). A minták összfehérjetartalmát BCA™ Protein Assay Kit-tel (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) mértük. A mintákat nátrium-dodecil-szulfátot (SDS), glicerint, β-merkaptóetanolt és bróm-fenol-kéket tartalmazó mintapufferrel kevertük, majd 85 °C-on 6 percig inkubáltuk.

A fehérjemintákat 12%-os SDS-poliakrilamid gélekbe töltöttük és 90 V-on, 2 órán át futtattuk 1× SDS-PAGE futtatópufferben. Ezután a fehérjéket fél-száraz módszerrel blottoltuk polivinilidén-fluorid (PVDF) membránokra 30 percen keresztül, 15 V-on. Mosást (3 x 10 perc PBST) követően a membránokat blokkolópufferben inkubáltuk (Tris-pufferes sóoldat (TBS), 0,1% Tween-20 (Sigma-Aldrich) és 5% zsírszegény tejpor) 1 órán keresztül, szobahőmérsékleten. Ezt követően a membránokat ismét mostuk, majd elsődleges, humán HSPB1-et felismerő ellenanyaggal (1:1000, ADI-SPA-803, Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, USA) inkubáltuk (O/N, 4°C).

Másnap, a 3 x 10 perc mosást követően peroxidáz-konjugált másodlagos ellenanyaggal (A9169, anti-nyúl, Sigma-Aldrich) kezeltük a membránt, melyet 1 órán át szobahőmérsékleten végeztük a blokkolópufferhez hasonló összetételű oldatban (TBS,

0,1% Tween-20, 3% zsírszegény tejpor). Az immunreaktív fehérjét Immobilon Western Chemiluminescent HRP Substrate (Merck-Millipore, Burlington, MA, USA) segítségével vizualizáltuk. A kemilumineszcenciát AlphaView-FluorChem FC3 készülékkel (Cell Biosciences, Santa Clara, CA, USA) detektáltuk. Belső kontrollnak anti-GAPDH (G9545, Sigma-Aldrich) ellenanyagot használtunk.



3.ábra A humán HSPB1 fehérje kimutatása Western-blot analízissel. A: Viscerális fehérzsírszövetben: Gapdh; humán HSPB1; **B:** Májban: Gapdh; egér Hspb1 fehérje; humán HSPB1 fehérje; **C:** Szívben: Gapdh; humán HSPB1. WT = normál diétán tartott vad típusú, H = normál diétán tartott HSPB1 túltermelő, A = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túltermelő és A/H = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 és HSPB1 túltermelő egerek; n = 8–12/csoport.

3.5 ORÁLIS GLÜKÓZ TOLERANCIA TESZT

A diéta befejezése előtt egy héttel OGTT-t végeztünk az állatokon, a korábban leírtak szerint (Ruppert és mtsai. 2024). A tesztet megelőzően az állatoktól 14 órán keresztül megvontuk a táplálékot, illetve a HFD + FR csoporttól a 30%-os fruktóz-oldatot is. Az állatok éhomi vércukorszintjének lemerését követően orális befecskendezéssel 20%-os glükózoldatot adtunk 2 g/ttkg koncentrációban. Az állatok vércukorszintjének változását a 30., 60. és 120. percben kereskedelmi forgalomban kapható vércukorszintmérővel (AccuCheck®, Roche, Mannheim, Németország) mértük meg.

3.6 SZÉRUM TG, LDL- ÉS HDL-KOLESZTERIN MÉRÉS

A szérum TG, LDL- és HDL-koleszterin koncentrációkat kereskedelmi forgalomban kapható enzimatis, kolorimetriás reagensekkel végeztük el, a gyártó ajánlása szerint (Diagnosticum Zrt., Budapest, Magyarország). A mérésekhez szükséges vérmintákat terminális anesztézia alatt végzett szívpunkcióval vettük. Az alvadást követően a mintákat 10 percig 4°C-on (1000 g) centrifugáltuk, majd eltávolítottuk a szérumot és -80 °C-on tároltuk felhasználásig. Az erősen hemolizált szérum mintákat kizártuk az elemzésből. Minden szérummintát három párhuzamos mérésben elemeztünk. A mérés pontosságát Standard Lipid Controls kontroll minták (Diagnosticum Zrt., Budapest, Magyarország)

alkalmazásával ellenőriztük. A keletkezett lila/kék színű termék abszorbanciáját 505/596 nm-en mértük mikroplate olvasóval (Multiskan FC, ThermoScientific, Egyesült Államok). Az abszorbanciaértékek alapján számítottuk ki a szérum TG, LDL- és HDL-koleszterin koncentrációját, melyeket mmol/L egységben fejeztünk ki.

3.7 HEMATOXILIN-EOZIN FESTETT METSZETEK HISZTOLÓGIAI ELEMZÉSE

A máj szubvalvuláris-, míg a szív bal kamra részének izolálását követően a szövetmintákat formalinban fixáltuk, majd paraffinba ágyazva 5 μ m vastagságú szövettani metszeteket készítettünk. A metszeteket hematoxin-eozinnal (HE) festettük meg a korábban leírtak szerint (Kovács és mtsai. 2021). A szövettani metszeteket Panoramic Midi II szkennelrel (3D-Histech, Budapest, Magyarország) digitalizáltuk, és $\times 10$, $\times 40$ és $\times 100$ nagyítású digitális képeket rögzítettünk.

3.7.1 A máj lipid akkumulációjának meghatározása

A HE-festett májmetszeteken az elhízás által kiváltott zsírfelhalmozódást vizsgáltuk. A lipid cseppek számát és méretét ImageJ 1.53e szoftver (Bethesda, MD, USA) segítségével elemeztük a korábban leírtak szerint (Tóth és mtsai. 2021).

3.7.2 A nem-alkoholos zsírmájbetegség aktivitási pontrendszer (NAFLD Activity Score - NAS)

A minták értékelését Prof. Dr. Tiszlavicz László (Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Pathológiai Intézet) segítségével végeztük. A pontrendszer magába foglalja a MASLD és a NASH teljes spektrumán előforduló elváltozásokat. A pontszám 3 fő tényezőből adódik össze, a szteatózis (0–3), a lobularis gyulladás (0–3) és a májsejtek felfújtsága (hepatocyte ballooning) (0–2) értékeinek súlyozatlan összegeként (Brunt és mtsai. 2011; Kleiner és mtsai. 2005).

3.7.3 A szívizomsejtek morfológiájának alakulása a bal kamrában

A HSPB1 túltermelés hatását a szívizomsejtek keresztmetszeti morfológiájára a HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Lendület Mikroszkópos Képfeldolgozó és Gépi Tanulási Csoport munkatársaival, Dr. Horváth Péterrel, Kovács Ferencsel és Kriston Andrással együttműködésben mértük. A HE-festett bal-kamrai metszetek kiértékeléséhez a Biology Image Analysis Software-t (BIAS, Single-Cell Technologies Kft., Szeged, Magyarország) használtuk. A képfeldolgozást mélytanulás-alapú citoplazma-segmentálás követte. A szoftver segítségével 100 darab, hosszanti irányban elhelyezkedő, egymagvú kardiomiocita keresztmetszeti területét mérhettük le egyetlen bal kamrai harántmetszet digitális képe alapján.

3.8 RNS-IZOLÁLÁS ÉS REVERZ TRANZKRIPCIÓ

A relatív génexpressziós vizsgálatokhoz mRNS-t izoláltunk az állatok RNA later oldatban (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), vagy -80°C -on tárolt máj-, szívizom-, valamint viscerális fehérzsírszöveteiből. Az mRNS izolálást máj-, illetve a fehérzsírszövet esetében a Nucleospin RNA/protein (Macherey-Nagel, Düren, Németország) tisztító készlettel, míg a szívizomszövetből RNeasy Fibrous Tissue Mini Kittel (Qiagen, Hilden, Germany) végeztük, a gyártók utasításai szerint. A tisztított mRNS minták koncentrációit spektrofotométerrel (NanoDrop, DE, USA) határoztuk meg. Az mRNS minták cDNS-é történő átírásához a High Capacity cDNA Reverse

Transcription Kit-et (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) használtuk. A reakcióelegy a következő komponensekből állt: 1 µg RNS (15 µL), 1,5 µl reverz transzkriptáz enzim, 3 µl primer, 1,2 µl dNTP keverék, 3 µL puffer, 6,3 µL RNS-mentes víz. A reverz transzkripció program paraméterei a következők voltak: inkubáció 25 °C-on 10 percig, reverz transzkripció 37 °C-on 2 órán át, inaktiválás 85 °C-on 5 percig (a folyamatot MJ Mini—Personal Thermal Cycler készüléken végeztük, BioRad, Hercules, CA, USA). A kapott cDNS-t végül 1:20 arányban hígítottuk.

3.9 KVANTITATÍV VALÓS IDEJŰ POLIMERÁZ LÁNCREAKCIÓ (RT-PCR)

Az RT-PCR reakcióhoz az alábbi reakcióelegyet alkalmaztuk: 10 µL cDNS, 1 µL (250 nM végkoncentráció) primer mix (forward + reverz), 10 µL Power SYBR Green PCR Master Mix 2x (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Minden reakciót 20 µL végtérfogóban végeztünk a RotorGene 3000 készüléken (Qiagen, Hilden, Németország) a következő beállításokkal: denaturáció 95°C-on 10 percig, majd 40 ciklus: denaturálás 95°C-on 15 másodpercig, annealing és elongáció 60°C-on 60 másodpercig. A specifikus amplifikáció ellenőrzésére olvadási görbe analízist végeztünk 50–95 °C között. Az RT-PCR reakciókban alkalmazott primerszekvenciák a 2. táblázatban találhatóak. Belső kontrollként egér *Gapdh* (gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz) gént alkalmaztunk. A relatív génexpressziós szinteket a $\Delta\Delta C_t$ módszerrel számítottuk ki.

Gén	Forward primer	Reverz primer
<i>Adipor1</i>	TGGTCTTCGGGATGTTCTTC	CCCTGAATAGTCCAGTTTGGA
<i>Apoa5</i>	GTGCTGCTGTCCCAACCTA	CTGAGTGTAATGCCCCTGAGT
<i>Apoc2</i>	CCAACCCACTGGAGTACTGG	CCATGCTGTCTGGGACCT
<i>Ahsg</i>	GTCACAGATCCAGCCAAATG	TGAGATTTGCCTTGCAGAAG
<i>Cd36</i>	TTGAAAAGTCTCGGACATTGAG	TCAGATCCGAACACAGCGTA
<i>Cd44</i>	CACCTTGCCCACTCCTA	TCCGTTCTGAAACCACGTCT
<i>Cidea</i>	TGACATTCATGGGATTGCAGAC	GGCCAGTTGTGATGACTAAGAC
<i>Cox8b</i>	TGTGGGGATCTCAGCCATAGT	AGTGGGCTAAGACCCATCCTG
<i>Cryab</i>	GTTCTTCGGAGAGCACCTGTT	GAGAGTCCGGTGTCAATCCAG
<i>Fgf21</i>	GTGTCAAAGCCTCTAGGTTTCTT	GGTACACATTGTAACCGTCCTC
<i>Fndc5</i>	TTGCCATCTCTCAGCAGAAGA	GGCCTGCACATGGACGATA
<i>Gapdh</i>	GGGTTCTATAAATACGGACTGC	CCATTTTGTCTACGGGACGA
<i>Hspa1</i>	GAGATCGACTCTCTGTTCGAGG	GCCCGTTGAAGAAGTCCTG
<i>Hspb1</i>	ATCCCCTGAGGGCACACTTA	GGAATGGTGATCTCCGCTGAC
<i>Il10</i>	CAGAGCCACATGCTCCTAGA	TGTCCAGCTGGTCCTTTGTT
<i>Il1b</i>	GCAACTGTTCTGAACTCAACT	ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT
<i>Il6</i>	GCTACCAAACCTGGATATAATCAGGA	CCAGGTAGCTATGGTACTCCAGAA
<i>Insr</i>	TCAAGACCAGACCCGAAGATT	TCTCGAAGATAACCAGGGCATAG
<i>Irs1</i>	CGATGGCTTCTCAGACGTG	CAGCCCGCTTGTTGATGTTG
<i>Ldlr</i>	GTGGCTGAAAACCTCTTGTC	CACACCAGTTCACCCCTCTA
<i>Lep</i>	GTGGCTTTGGTCCTATCTGTC	CGTGTGTGAAATGTCATTGATCC
<i>Lepr</i>	AGCTAGGTGTAACTGGGACA	GCAGAGGCGAATCATCTATGAC
<i>Lpl</i>	CATGGATGGACGGTAACGGG	TTCTCTCTTGACAGGGCGG
<i>Leap2</i>	TGCCAAGATGCTACAGCTAAA	GGGGAACATTGACCTGACCC
<i>Nampt</i>	GCAGAAGCCGAGTTCAACATC	TTTTCACGGCATTCAAAGTAGGA
<i>Rarres2</i>	GCCTGGCCTGCATTAAAATGG	CTTGCTTCAGAATTGGGCAGT

<i>Retn</i>	ACAAGACTTCAACTCCCTGTTTC	TTTCTTCACGAATGTCCCACG
<i>Slc2a4</i>	ACACTGGTCTAGCTGTATTCT	CCAGCCACGTTGCATTGTA
<i>Tgfb</i>	CTCCCGTGGCTTCTAGTGC	GCCTTAGTTTGGACAGGATCTG
<i>Tnf</i>	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	GCTACGACGTGGGCTACAG
<i>Ucp1</i>	AGGCTTCCAGTACCATTAGGT	CTGAGTGAGGCAAAGCTGATT

2.táblázat Az RT-PCR reakciókhoz használt primerszekvenciák.

3.10 SZÍVULTRAHANG (TRANSTHORACALIS ECHOKARDIOGRÁFIA)

A szív morfológiai és funkcionális vizsgálatát Dr. Sárközy Mártával (Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Kórélettani Intézet) kollaborációban végeztük el. Az állatok, 9 hónapos korában, szívultrahanggal vizsgáltuk, az általunk korábban már leírtak szerint (Heger és mtsai. 2018; Tóth és mtsai. 2022). Az egereket 2%-os izofluránnal (Florane, AESICA, Queenborough Kent, Egyesült Királyság) altattuk, majd a mellkas leborotváltatása követően az állatokat hanyatt fekvő helyzetben egy fűtőpadra helyeztük. Ezután két-dimenziós, M-módú, Doppler, szöveti Doppler felvételek készültek az Amerikai Echokardiográfiai Társaság kritériumainak megfelelően. A kísérletekben egy Vivid IQ készüléket (General Electric Medical Systems) használtunk, míg a morfológiai vizsgálatokhoz lineáris 4,5–13 MHz frekvenciájú (GE 12L-RS), addig a funkcionális mérésekhez fázisos 5,0-11 MHz frekvenciájú (GE 12S-RS) transzducert alkalmaztunk. Az adatok elemzése három egymást követő szívciklust értékelve, majd átlagolva, (EchoPac Dimension szoftver, General Electric Medical Systems) az egyes csoportok ismerete nélkül, vakon történt.

A szisztolés és diasztolés falvastagságokat paraszternális rövidtengelyű nézetben (a papilláris izmok szintjén), valamint hosszú tengelyű nézetben (a mitrális billentyű szintjén) határoztuk meg. A bal kamrai átmérőket M-módú echokardiográfiával mértük rövid- és hosszútengelyű síkokban az endokardiális kontúrok alapján. A frakcionált rövidülés (FS) a bal kamra kontraktilitásának mutatója volt az alábbi képlet szerint számítva: $FS = (LVEDD - LVESD) / LVEDD \times 100$, ahol LVEDD a bal kamrai végdiasztolés átmérő, LVESD pedig a végszisztolés átmérő. A bal kamrai végdiasztolés térfogatot (LVEDV) és a bal kamrai végszisztolés térfogatot (LVESV) négyüregű nézetből, az endokardiális határok szisztolés és diasztolés történő megjelölésével kerültek meghatározásra. A verőtérfogatot (SV) az LVEDV és az LVESV különbségeként, míg a perctérfogat (CO) a verőtérfogat és a szívfrekvencia szorzataként határoztuk meg. Az ejekciós frakciót (EF) a globális szisztolés funkció mérésére használtuk, a következő képlettel: $(SV / LVEDV) \times 100$, míg a diasztolés funkciót a mitrális billentyűn áthaladó pulzushullám Dopplerrel, valamint a mitrális anulus szöveti Dopplerrel értékeltük apikális négyüregű nézetből. A korai mitrális áramlási sebesség (E), a szeptális mitrális anulus sebessége (e'), valamint ezek aránya (E/e') a diasztolés funkció jellemzésére szolgáltak.

3.11 CD44 IMMUNFESTÉS

Terminális altatást követően a vWAT-ot eltávolítottuk, 4%-os formalinban fixáltuk, majd paraffinba ágyaztuk. A blokkokból 4 µm vastagságú metszeteket készítettünk, majd pozitívan töltött tárgylemezre (Superfrost Plus, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) helyeztük őket. A metszeteket Bond-Dewax oldattal (Leica) deparaffináltuk, majd leszálló alkoholsorral és desztillált vízzel rehidratáltuk. Az antigén feltárás Bond-Max automatizált immunhisztokémiai gépen (Leica) végeztük, pH = 9 Bond Epitope Retrieval

2 oldatban (Leica) 20 percig inkubálva. Az endogén peroxidázok inaktiválására, a metszeteket 3%-os H_2O_2 oldatban inkubáltuk 5 percig, melyet egy mosás követett a Bond Wash oldattal (Leica). A metszeteket nyúl eredetű anti-CD44 elsődleges ellenanyaggal (Abcam, katalógusszám: ab157107; hígítás: 1:1000) inkubáltuk 20 percig, majd ismét Bond Wash oldattal (Leica) mostuk. Az antigénjel detektálásához a Bond Polymer Refine Detection rendszert (DS9800, Leica) alkalmaztunk, amely HRP-vel (tormaperoxidáz) konjugált kecske anti-nyúl másodlagos ellenanyagot, valamint DAB-3-at (3'-diaminobenzidin) használt kromogénként. A kontrasztanyagként sejtmagokat hematoxilinnel festettük. Az immunfestett metszeteket digitálisan beszkeneltük egy tárgylemez-szkennerrel (MiraxMidi, 3DHitech Ltd., Budapest, Magyarország). Az immunhisztokémiai festés és annak kiértékelése az egyes csoportok ismerete nélkül, vakon történt.

3.12 TÖMEGCITOMETRIAI (CYTOF) ANALÍZIS

A méréseket HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Központi Szolgáltató Laboratórium, Funkcionális Genomika Laboratórium munkatársaival, Dr. Szebeni Gáborral, Dr. Gémes Nikolett-tel és Dr. Neuperger Patríciával kollaborációban valósítottuk meg.

3.12.1 Sejtizolálás tömegcitometriai (CyTOF) méréshez

A terminális altatást követően vér, lép, nyirokcsomó és csontvelő mintákat vettünk a korábban leírtak alapján (Balog és mtsai. 2020; Fajka-Boja és mtsai. 2016; Szebeni és mtsai. 2023). A vérmintákat 1 ml-s fecskendővel gyűjtöttük az alábbiak szerint: 1 ml vérhez 50 μl 30 mg/ml koncentrációjú EDTA-t adtunk. A lépet és a nyirokcsomókat 100 μm pórusméretű sejtszűrőn (Merck, Darmstadt, Németország) homogenizáltuk egy 2 ml-es fecskendő dugattyújával, majd PBS-sel (Merck, Darmstadt, Németország) mostuk át. A csontvelőt a femúr és tibia epifízisének eltávolítását követően 1 ml PBS átmosásával izoláltuk. A vér-, lép- és csontvelőmintákban található vörösvértestek lízisére 5 ml ACK lízis puffert (ACK: 0,15 M NH_4Cl , 10 mM KHCO_3 , 0,1 mM Na_2EDTA , pH 7,3; Merck, Darmstadt, Németország) alkalmaztunk szobahőmérsékleten, 5 percen keresztül. A mintákat ezután kétszer mostuk 10 ml PBS-sel, majd sejtszámolást és életképességi vizsgálatot végeztünk tripán kék (Trypan Blue) viabilitási és exklúziós teszt segítségével. A sejtek krioprezerválását 4×10^6 sejt/minta mennyiségben végeztük 1 ml FBS-ben (Capricorn Scientific, Ebsdorfergrund, Németország), amelyhez 1:10 arányban DMSO-t (Merck, Darmstadt, Németország) adtunk. A mintákat Greiner Bio-One kriocsövekben (Mosonmagyaróvár, Magyarország) folyékony nitrogénben (Messer, Bad Soden, Németország) tároltuk felhasználásig.

3.12.2 Sejtelőkészítés tömegcitometriai (CyTOF) vizsgálathoz

A kriocsöveket (Greiner Bio-One, Mosonmagyaróvár, Magyarország) 37°C -os vízfürdőben 2 percig olvasztottuk, majd a sejteket 14 ml 10% FBS-sel (Capricorn Scientific, Ebsdorfergrund, Németország) kiegészített RPMI médiumba transzferáltuk, és $350 \times \text{g}$ -n centrifugáltuk, szobahőmérsékleten, 6 percen át. Ezután a sejteket újra átmostuk 10 ml RPMI + 10% FBS oldattal, a sejtszámolást és életképességi vizsgálatot tripán kék (Trypan Blue) viabilitási és exklúziós teszt segítségével végeztük. A sejteket 96 lyukú, tapadásmentes mikrolemezekbe osztottuk ki, lyukanként $2,5 \times 10^6$ sejt denzitásban 200 μl RPMI + 10% FBS elegyében. Két óra inkubációt követően a sejteket

10 ng/ml PMA-val, 1 µg/ml ionomicinnel és 5 µg/ml Brefeldin A-val stimuláltuk, majd éjszakán át 37 °C-on inkubáltuk. Másnap a sejteket összegyűjtöttük, és kétszer átmostuk Maxpar Cell Staining Bufferrel (MCSB; Fluidigm, South San Francisco, USA).

3.12.3 Egysejt-tömegcitometria (CyTOF) mérések

Az egysejt-tömegcitometriai mérésekhez az ellenanyag jelölést (Alföldi és mtsai. 2019; Kulmány és mtsai. 2021), illetve a minták mérését a korábban leírtak szerint, kisebb módosításokkal végeztük (J. Balog és mtsai. 2021; Neuperger és mtsai. 2022, 2023). A sejtek életképességét 5 µM koncentrációjú ciszplatinnal (500 µl PBS-ben oldva, 1:1000 (v/v), ¹⁹⁵Pt, Fluidigm, San Francisco, CA, USA) határoztuk meg, amelyhez a mintákat 3 percig jégen inkubáltuk. A mintákat ezt követően 3 ml MCSB (Fluidigm, San Francisco, CA, USA) hígítottuk, majd 350 × g-n centrifugáltuk 5 percig. A sejteket ezt követően 50 µl MCSB-ben reszuszpendáltuk, amelyet TrueStain FcX™ PLUS Fc receptor blokkoló oldattal (BioLegend, San Diego, USA) egészítettünk ki 1:100 (v/v) arányban, majd 10 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. Ezt követően a sejteket különböző fémjelölt (⁸⁹Y, ¹⁴⁷Sm, ¹⁷⁵Lu) CD45 ellenanyagokkal (klón: 30-F11; Fluidigm, San Francisco, CA, USA) bárkódoló eljárásnak vetettük alá. Az ellenanyagokat 1:100 (v/v) végső koncentrációban adtuk a mintákhoz és 30 percig 4°C-on inkubáltuk. A bárkódolás után a mintákat hármasával egyesítettük a további ellenanyagjelöléshez. Elsőként a sejteket Maxpar Mouse Spleen/Lymph Node Phenotyping antitest panellel (kat. szám: 201306, Fluidigm, San Francisco, CA, USA) inkubáltuk 30 percig 4 °C-on, ezt követően kétszer mostuk 2 ml MCSB-vel, majd 5 percig centrifugáltuk 350 g-n. A sejtek fixálását 1 ml Maxpar Fix I bufferrel (5×, Fluidigm, San Francisco, CA, USA) végeztük, PBS-ben hígítva, 30 percig szobahőmérsékleten inkubálva. A fixálás után a mintákat kétszer mostuk Maxpar PermS Bufferrel (Fluidigm, San Francisco, CA, USA) 800 × g-n centrifugálva 5 percig. Ezt követően a sejteket a Maxpar Mouse Intracellular Cytokine I panel kit-tel (kat. szám: 201310, Fluidigm, San Francisco, CA, USA) inkubáltuk 30 percig szobahőmérsékleten, majd kétszer mostuk MCSB-vel. A mintákat ezután 1 ml Pierce™ formaldehid oldattal (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), PBS-ben 1,6%-os végső koncentrációra hígítva, 10 percig szobahőmérsékleten fixáltuk. A jelölt és fixált sejteket 800 × g-n centrifugáltuk 6 percig, majd 800 µl Fix & Perm oldatban (Fluidigm, San Francisco, CA, USA) reszuszpendáltuk, amelyet ^{191/193}Ir DNS interkalátort (Fluidigm, San Francisco, CA, USA) tartalmazó oldattal egészítettünk ki 1:1000 (v/v) arányban, majd egy éjszakán át 4°C-on tároltuk felhasználásig.

A mintákat kétszer mostuk MCSB-vel, majd 800 g-n 5 percig centrifugáltuk. Egy PBS-sel történő mosást követően a mintákat 30 µm-es Celltrics gravitációs szűrőn (Sysmex, Kobe, Japán; forgalmazó: Sysmex, Görlitz, Németország) szűrtük át. A sejtsűrűséget 7×10^5 sejt/ml koncentrációra állítottuk be Maxpar Cell Acquisition Solution (Fluidigm, San Francisco, CA, USA) oldatban. A mérés előtt a mintákhoz EQ négy elemű kalibrációs gyöngyöt (Fluidigm, San Francisco, CA, USA) adtunk 1:10 (v/v) arányban. Az adatgyűjtést egy megfelelően kalibrált Helios tömegspektrométeres citométeren (CyTOF, Fluidigm, San Francisco, CA, USA) végeztük, egyéni PBMC mintánként 3×10^5 eseményt rögzítve. A keletkezett FCS (flow cytometry standard) fájlokat a CyTOF szoftver (verzió: 7.0.8493, Fluidigm, San Francisco, CA, USA) beépített FCS-feldolgozó moduljának alapértelmezett beállításával randomizáltuk és normalizáltuk. A sejtípusok

kapuzását és a markerek expressziós szintjeinek meghatározását manuális kijelölés segítségével végeztük a Cytobank platformon (Beckman Coulter, Brea CA, USA).

3.13 PLAZMAFEHÉRJE MÉRÉS

A méréseket HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Központi Szolgáltató Laboratórium, Funkcionális Genomika Laboratórium munkatársaival, Dr. Szebeni Gáborral, Dr. Gémes Nikolett-tel és Dr. Neuperger Patríciával kollaborációban valósítottuk meg.

3.13.1 Luminex MAGPIX®

A plazmafehérjék mennyiségének meghatározását multiplex immunoassay módszerekkel, többek között Luminex MAGPIX®-el végeztük. A méréseket a korábban leírtak szerint, kisebb módosításokkal hajtottuk végre (Balog és mtsai. 2021; Tóth és mtsai. 2021).

1 ml vér levétele után a mintákat $350 \times g$ -n centrifugáltuk 10 percig 4°C -on, majd a plazmafrakciókat -80°C -on tároltuk aliquotokban a mérésig. A Luminex xMAP (MAGPIX®) technológiát alkalmaztuk 20 különböző citokin/kemokin (IL-10, IL-1 β , IL-2, IP-10, IL-4, IL-6, PD-L1, IL-23, IFN- γ , IL-12p70, CXCL1, RANTES [CCL5], TNF- α , TIM-3, MCP-1 [CCL2], IL-17A, MIP-2 α [CXCL2], CXCL5, Leptin, CTLA4) fehérjekoncentrációjának meghatározására. A méréseket a gyártó utasításai szerint végeztük a ProcartaPlex™ Immunoassay kit (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) segítségével. Minden mintát felolvasztottunk, majd random módon duplikátumban mértük a készlethez mellékelt 96 lyukú mikrolemezre, mely $50\ \mu\text{l}$ rögzített ellenanyaggal bevont fluoreszcens kódolt gyöngyöt tartalmazott, lyukanként $40\ \mu\text{l}$ mintát, $25\ \mu\text{l}$ standardot és univerzális assay puffert adagoltunk. A megfelelő inkubáció után biotinilált detekciós ellenanyag-keveréket és streptavidin-PE-t adtunk a lemezhez. Az utolsó mosási lépést követően $120\ \mu\text{l}$ olvasási puffert adtunk minden lyukhoz, majd a lemezt további 5 percig inkubáltuk, és végül Luminex MAGPIX® készüléken olvastuk ki az eredményeket. Az adatrögzítéshez a Luminex xPonent 4.2 szoftvert használtuk. Az egyes analitokra vonatkozó standard görbéket ötpontos logisztikus (5-PL) regresszióval állítottuk fel, a gyöngyök medián fluoreszcenciaintenzitása alapján az Analyst 5.1 (Merck, Darmstadt, Németország) szoftver segítségével. Az adatok két független mérésből származnak, az eredményeket GraphPad Prism v8 szoftverrel (Dotmatics, Boston, USA) ábráztuk.

3.13.2 LEGENDplex™

A plazmafehérjék mennyiségének meghatározását multiplex immunoassay módszerekkel, többek között egy gyöngyalapú multiplex immunoassay-jel a LEGENDplex™-el végeztük, a gyártó utasításai szerint.

1 ml vér levétele után a mintákat $350 \times g$ -n centrifugáltuk 10 percig 4°C -on, majd a plazmafrakciókat -80°C -on aliquotokban tároltuk felhasználásig. A LEGENDplex™ a Mouse Inflammation Pannellel (kat. szám: 740446, BioLegend) 13 különböző citokin/kemokin (IL-23, IL-1 α , IFN- γ , TNF- α , MCP-1, IL-12p70, IL-1 β , IL-10, IL-6, IL-27, IL-17A, IFN- β , GM-CSF) fehérjekoncentrációjának egyidejű meghatározására képes. Ehhez a plazmamintákat előre kevert, rögzített ellenanyaggal bevont gyöngyökkel inkubáltuk. A mosási lépések után hozzáadtuk a detekciós ellenanyagokat, majd egy

újabb mosást követően a streptavidin-PE-t is. A standard görbék a készletben található citokin standardok alapján állítottuk fel. A legkisebb detektálható koncentrációk a következők voltak: IL-23: 4,2 pg/ml, IL-1 α : 1,3 pg/ml, IFN- γ : 0,8 pg/ml, TNF- α : 1,9 pg/ml, MCP-1: 1,7 pg/ml, IL-12p70: 0,7 pg/ml, IL-1 β : 2,8 pg/ml, IL-10: 2,1 pg/ml, IL-6: 0,9 pg/ml, IL-27: 9,8 pg/ml, IL-17A: 1,8 pg/ml, IFN- β : 4,0 pg/ml, GM-CSF: 1,9 pg/ml. A mintákat CytoFLEX S áramlási citométeren (Beckman Coulter) mértük, APC- és PE-csatornák alkalmazásával. Az adatok kiértékelését CytExpert 4.0 (Beckman Coulter) és Microsoft Excel programokkal végeztük, a medián értékek standard görbékre illesztésével.

3.14 STATISZTIKAI ELEMZÉS

A statisztikai elemzéseket a SigmaPlot 12.0 for Windows szoftverrel végeztük (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). A statisztikai szignifikancia szintjét $p < 0,05$ értékben határoztuk meg. Az adatokat átlag $\pm$ SEM formátumban adtuk meg. Az adatok normál eloszlását a Shapiro–Wilk normalitási teszttel ellenőriztük. Normál eloszlás fennállása esetén az egy nemet vizsgáló kísérletben egyutas varianciaanalízist (one-way-ANOVA), míg a mindkét nemet összehasonlító kísérletben kétutas varianciaanalízist (2-ways-ANOVA) alkalmaztunk, melyet Bonferroni *post hoc* teszt követett minden csoportban. Amennyiben az adatok nem mutattak normáloszlást, Kruskal–Wallis próbát (ANOVA on rank) alkalmaztunk. Szignifikáns csoportkülönbség esetén az ANOVA *on rank* után a Dunn-féle *post hoc* tesztet használtuk. Több csoportban ellentétes irányú változások miatt a nemek hatását is külön elemeztük: normáloszlás esetén Student-féle t-próbával, normáloszlás hiányában pedig Mann–Whitney U-próbával. Az RT-PCR eredményeket a megfelelő kontrollcsoport százalékában adtuk meg. A génexpressziós változások statisztikai értékelésekor szintén Shapiro–Wilk tesztet alkalmaztunk a normalitás vizsgálatára. Normáloszlás esetén páronkénti összehasonlítást paraméteres Student-féle t-próbával, ellenkező esetben nemparaméteres Mann–Whitney U-próbával végeztünk. A CyTOF-mérések statisztikai értékelését kétmintás, kétoldali, azonos szórású Student-féle t-próbával végeztük, Microsoft® Excel™ programban. A statisztikai szignifikancia szintjét $p < 0,05$ értékben határoztuk meg (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$). Minden adatot átlag $\pm$ SEM formájában közöltünk.

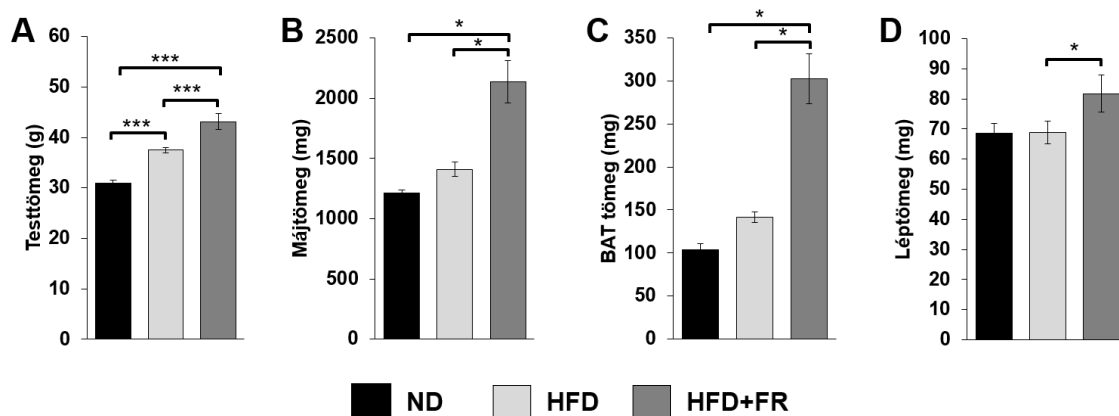
4 EREDMÉNYEK

4.1 A MAGAS ZSÍRTARTALMÚ ÉS A NYUGATI TÍPUSÚ ÉTREND ÖSSZEHAISONLÍTÁSA

Első kísérletsorozatunk célja a zsírdús diéta és a nyugati típusú étrend következtében kialakuló patológiás elváltozások vizsgálata volt, különös tekintettel a gyulladásos folyamatokra. A két diéta összehasonlítása érdekében hím C57BL/6J egerek egy csoportját zsírdús tápon tartottuk (HFD csoport), míg a HFD + FR csoport a zsírdús táp mellett 30% fruktóz oldatot kapott ivóvíz helyett. A kontroll csoport normál tápon nevelkedett. A kezelés 5 hónapon keresztül zajlott, mely során az állatok testtömegét havonta monitoroztuk, majd 8 hónapos korukban terminális anesztéziát követően különböző szerv és szövetmintákat gyűjtöttünk a későbbi vizsgálatokhoz (1. ábra).

4.1.1 A HFD testtömeg-növelő hatását a fruktóz fogyasztása jelentősen felerősíti

A HFD-vel táplált állatok testtömege szignifikánsan megnőtt az egészséges állatokhoz képest ($p < 0,05$). Még nagyobb mértékű testsúlynövekedést tapasztaltunk a HFD + FR csoportban ($p < 0,05$), ami szignifikáns különbséget eredményezett a két elhízásos modell között is ($p < 0,05$) (4A ábra). A HFD önmagában nem okozott jelentős gyarapodást a boncoláskor mért szervek (máj, BAT, lép) tömegében (4BCD ábra). Ezzel szemben a HFD + FR hatására szignifikáns növekedést figyeltünk meg a máj ($p < 0,05$) és a BAT ($p < 0,05$) tömegében a kontroll csoporthoz viszonyítva (4BC ábra). Emellett a HFD és a HFD + FR állatok között is szignifikáns különbségeket mértünk a máj ($p < 0,05$), a BAT ($p < 0,05$) és a lép ($p < 0,05$) esetében (4BCD ábra).



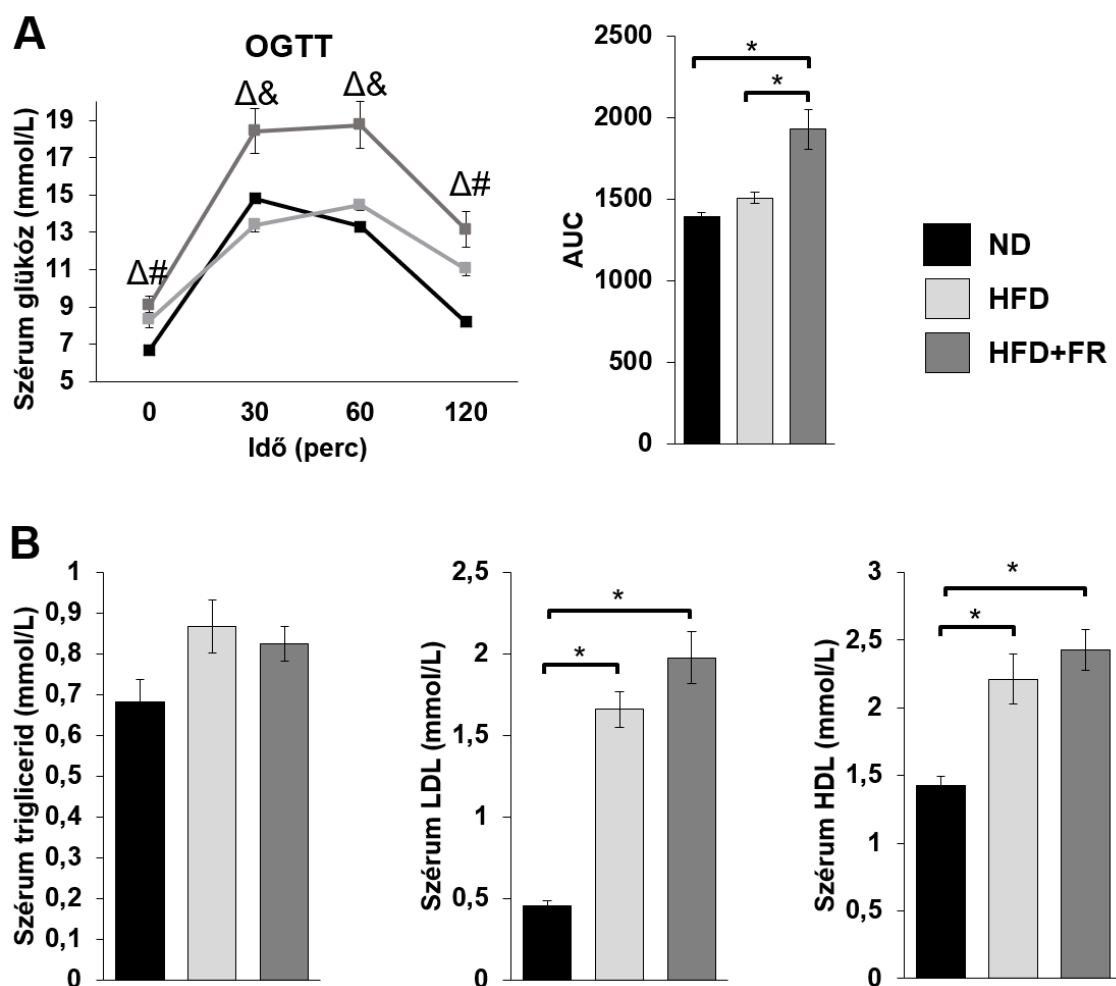
4.ábra A HFD és A HFD + FR hatása a test- és szervtömegekre. A: testtömeg, B: májtömeg, C: BAT tömeg, D: lép. Az adatok átlagnak $\pm$ SEM-nek felelnek meg; $n = 14-15$ /csoport; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; ND = normál diéta, HFD = magas zsírtartalmú diéta, HFD+FR = magas zsír- és fruktóztartalmú diéta.

4.1.2 A HFD + fruktóz diéta jelentős vércukorszint-emelkedést váltott ki

A glükóztolerancia diétákra adott válaszában nyomon követésére és az IR kimutatására OGTT-t végeztünk. Mindkét elhízásos modell esetében szignifikánsan emelkedett éhomi vércukorszintet mértünk az egészséges csoporthoz képest ($p < 0,05$ mindkét esetben). Ugyanakkor a HFD + FR csoport állatainál a vércukorszint jelentősen magasabb volt,

mint a kontroll és a HFD csoportokban ($p < 0,05$ a 30. és a 60. percben is; 5A ábra). Ennek megfelelően az OGTT görbe alatti területének (AUC) értéke a HFD + FR csoportban szignifikánsan magasabb volt a ND ($p < 0,05$) és a HFD ($p < 0,05$) csoporthoz képest, míg az ND és a HFD csoport között nem mutatkozott szignifikáns különbség (5A ábra).

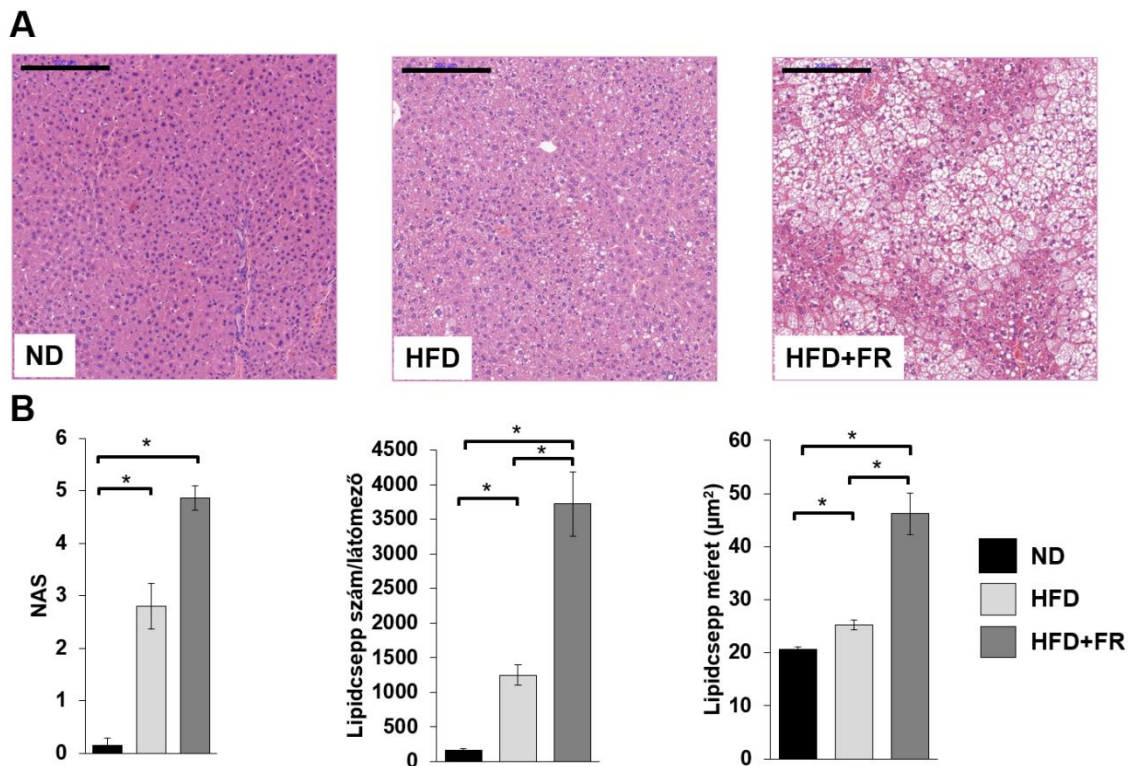
A diéta által kiváltott diszlipidémia súlyosságának összehasonlításához a különböző elhízásos modellekben szérumszintű TG, LDL- és HDL-koleszterinszinteket mértünk. A szérumszintű TG-k nem mutattak szignifikáns emelkedést sem a HFD, sem a HFD + FR csoportban (5B ábra). Ezzel szemben az LDL- és HDL-koleszterinszintek mind a HFD ($p < 0,05$), mind a HFD + FR ($p < 0,05$) csoportban szignifikánsan magasabbak voltak az egészséges állatokhoz képest, ugyanakkor a két elhízásos modell között nem találtunk különbséget (5B ábra). Eredményeink szerint tehát míg a fruktóz hozzáadása nem súlyosbította a diszlipidémiát, inzulinrezisztencia csak a HFD + FR csoportban alakult ki.

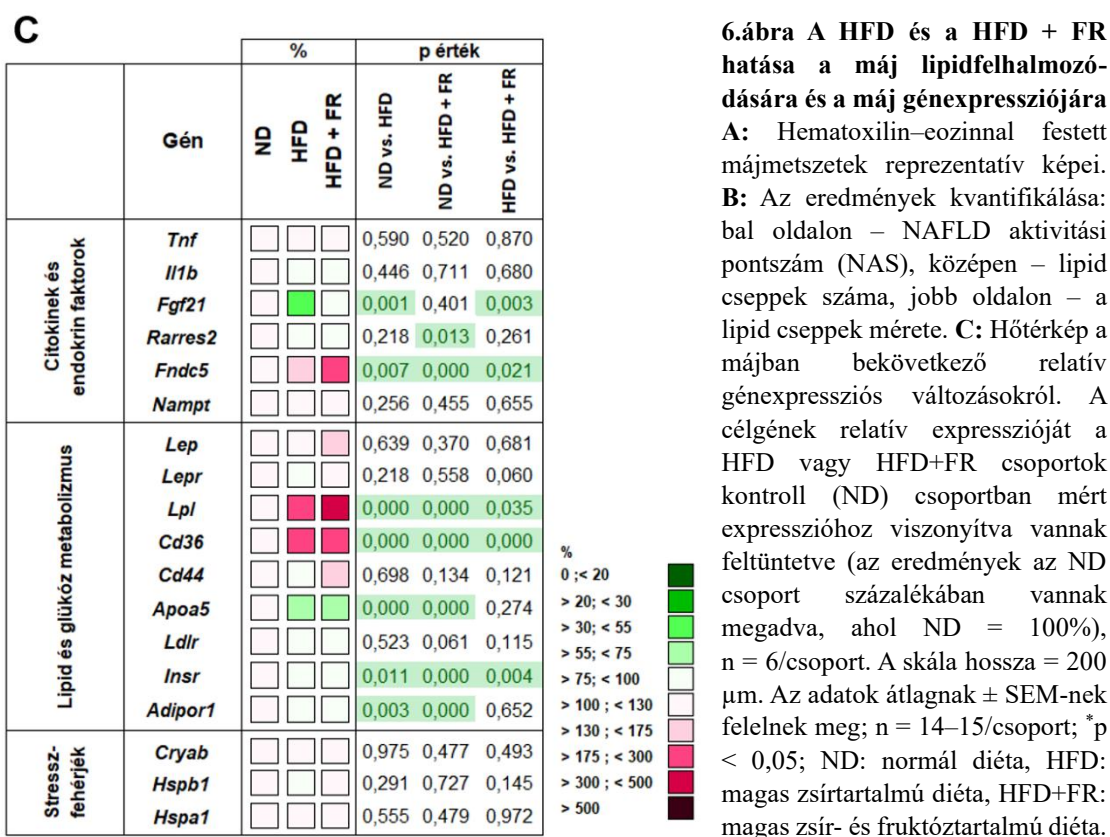


5.ábra A HFD és A HFD + FR hatása a vércukorszintre és a szérumszintű laboratóriumi paraméterekre. **A:** A szájon át végzett glükóztolerancia-teszt értékei (OGTT), bal oldalon – szérumszintű glükózszintek, jobb oldalon – görbe alatti terület (AUC) értékek; **B:** Szérumszintű lipid paraméterek: bal oldalon – TG, középen – LDL-koleszterin, jobb oldalon – HDL-koleszterin értékek. Az adatok átlagnak $\pm$ SEM-nek felelnek meg; * $p < 0,05$, # $p < 0,05$ az ND és HFD csoportok között, $\Delta p < 0,05$ az ND és HFD+FR csoportok között, & $p < 0,05$ a HFD és HFD+FR csoportok között. ND: normál diéta, HFD: magas zsírtartalmú diéta, HFD+FR: magas zsír- és fruktóztartalmú diéta.

4.1.3 A HFD által kiváltott metabolikus diszfunkcióval társult zsírmájbetegség tüneteit a fruktóz fogyasztása tovább súlyosbítja

A MAFLD, a sejtpusztulás és a gyulladásos mértékének vizsgálatához HE-festett májmetszetek szövettani elemzését végeztük el (6A ábra). A NAS értéket a szteatózis, a lebenyes gyulladás és a májsejtek felfújtsága alapján számítottuk ki. A szteatózis és a sejtek felfújtságának mértéke emelkedett a HFD és a HFD + FR állatok májában, ami mindkét elhízásos modell esetében szignifikánsan magasabb NAS-értékhez vezetett a ND csoporthoz képest ($p < 0,05$ mindkét esetben; 6B ábra). Ugyanakkor kifejezett gyulladásos jeleket egyik csoportban sem figyeltünk meg. Az egészséges, ND állatok májában csak minimális mennyiségű lipid cseppet észleltünk (6B ábra). A HFD csoportban mérsékelt emelkedést tapasztaltunk, míg a HFD + FR állatok májában a lipid cseppek száma és mérete jelentősen megnövekedett, ami szignifikáns különbséget eredményezett a HFD és a HFD + FR csoportok között ($p < 0,05$ a lipid cseppek számára és méretére is (6B ábra)).



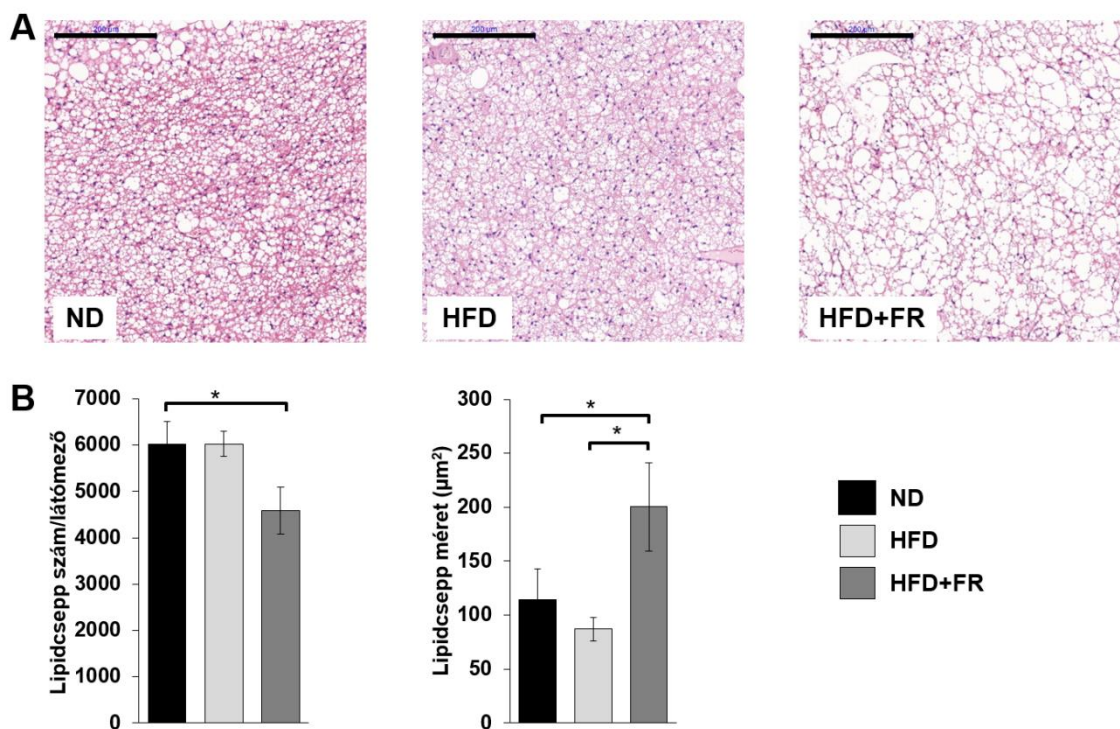


4.1.4 A lipidakkumulációért felelős gének expressziójának növekedését a fruktóz fogyasztás tovább fokozza a májban

A hisztológiai eredmények mögött húzódo molekuláris mechanizmusok feltárása érdekében RT-PCR segítségével elemeztük a hepatikus lipidhomeosztázisban és a gyulladásos folyamatok szabályozásában részt vevő gének relatív expressziós változásait (6C ábra). Az étrendek hatásának feltárása érdekében a HFD és HFD + FR csoport értékeit hasonlítottuk össze az ND csoporttal (minden összehasonlításban az ND = 100%). A lipoprotein lipázt (*Lpl*) kódoló gén expressziója szignifikánsan megnőtt mindkét diétás beavatkozás hatására: a HFD csoportban közel háromszoros ($p < 0,001$), míg a HFD + FR csoportban több mint négyszeres ($p < 0,05$) növekedést mutatott. A fibroblaszt növekedési faktor 21 (*Fgf21*) mRNS-szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a HFD-t kapó állatok májában ($p < 0,01$), ugyanakkor a HFD + FR csoportban ez az érték csak enyhén csökkent a kontrollhoz képest. A zsírsav transzlokázt kódoló *Cd36* gén expressziója a HFD-re adott válaszként nem érte el a kétszeres növekedést ($p < 0,001$), ezzel szemben a HFD + FR csoportban jelentős, közel háromszoros emelkedést mutatott ($p < 0,001$). Hasonlóan, az irizint kódoló *Fndc5* expressziója a HFD csoportban csak enyhén növekedett ($p < 0,01$), míg a HFD + FR csoportban szignifikánsan magasabb szintet ért el ($p < 0,001$). Génexpressziós vizsgálataink alapján arra következtethetünk, hogy a HFD + FR csoportra jellemző súlyosabb szteatózis háttérében a lipidakkumulációért felelős gének expressziójának növekedése állhat.

4.1.5 A barnazsírszövet morfológiai elváltozásai csak a HFD + fruktóz diéta hatására alakultak ki

A barna zsírszövet (BAT) morfológiai változásait HE-festett metszeteken vizsgáltuk (7A ábra). Az ND csoport esetében az egészséges BAT-ra jellemző, nagy számú apró lipidcseppet figyelhettünk meg, mely HFD hatására nem változott. Ezzel szemben a HFD + FR csoportban a lipid cseppek mérete nőtt, számuk ellenben csökkent (7B ábra). A kvantitatív elemzés szignifikáns különbségeket mutatott ki az ND és a HFD + FR csoportok között mind a lipid cseppek száma, mind mérete tekintetében ($p < 0,05$). Emellett a HFD és a HFD + FR csoportok között is szignifikáns különbség mutatkozott a cseppek méretében ($p < 0,05$). Ezt követően a gyulladásos citokineket és adipokineket kódoló gének expresszióját vizsgáltuk a BAT-ban (7C ábra). A BAT esetében a *Lep* gén expressziója nőtt a HFD hatására ($p < 0,05$), és még magasabb szintet ért el a HFD + FR csoportban ($p < 0,01$). Egy másik adipokin, az *Fgf21* mRNS-szintje szignifikánsan csak a HFD + FR állatokban emelkedett meg ($p < 0,01$), míg a *Tnf* expressziója enyhén, de statisztikailag szignifikáns mértékben emelkedett a HFD + FR csoportban az ND csoporthoz képest ($p < 0,01$).



C

	Gén	%			p érték		
		ND	HFD	HFD + FR	ND vs. HFD	ND vs. HFD + FR	HFD vs. HFD + FR
Citokinek és endokrin faktorok	<i>Tnf</i>				0,290	0,038	0,357
	<i>Il1b</i>				0,969	0,878	0,889
	<i>Fgf21</i>				0,126	0,003	0,020
	<i>Rarres2</i>				0,786	0,023	0,001
	<i>Tgfb</i>				0,736	0,839	0,520
	<i>Nampt</i>				0,879	0,001	0,000
Lipid és glükóz metabolizmus	<i>Lep</i>				0,025	0,001	0,029
	<i>Lepr</i>				0,037	0,000	0,072
	<i>Cd36</i>				0,264	0,936	0,061
	<i>Ucp1</i>				0,172	0,560	0,006
	<i>Cidea</i>				0,482	0,053	0,006
	<i>Cox8b</i>				0,117	0,005	0,000
Stressz-fehérjék	<i>Cryab</i>				0,638	0,666	0,877
	<i>Hspb1</i>				0,518	0,333	0,751
	<i>Hspa1</i>				0,928	0,672	0,721

%

0 ; < 20

> 20 ; < 30

> 30 ; < 55

> 55 ; < 75

> 75 ; < 100

> 100 ; < 130

> 130 ; < 175

> 175 ; < 300

> 300 ; < 500

> 500

7.ábra A HFD és a HFD + FR hatása a BAT morfológiájára és génexpressziójára.

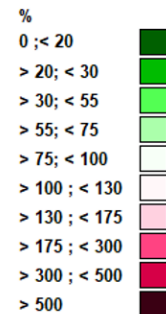
A: Hematoxinil-eozinnal festett metszetek reprezentatív képei ND, HFD és HFD+FR állatokból. **B:** Az eredmények kvantifikálása: bal oldalon – lipidcseppek száma, középen – mérete. **C:** Hő térkép a BAT-ban bekövetkező relatív génexpressziós változásokról. A célgének relatív expresszióját a HFD vagy HFD+FR csoportok kontroll (ND) csoportban mért expresszióhoz viszonyítva vannak feltüntetve (az eredmények az ND csoport százalékában vannak megadva, ahol ND = 100%), n = 6/csoport. Méretarány = 200 µm. Az adatok átlagnak ± SEM-nek felelnek meg; n = 14–15/csoport; *p < 0,05; ND = normál diéta, HFD = magas zsírtartalmú diéta, HFD+FR = magas zsír- és fruktóztartalmú diéta.

4.1.6 Az elhízással összefüggő magas citokinexpresszió tovább fokozódik fruktóz fogyasztás hatására a fehérzsírszövetben

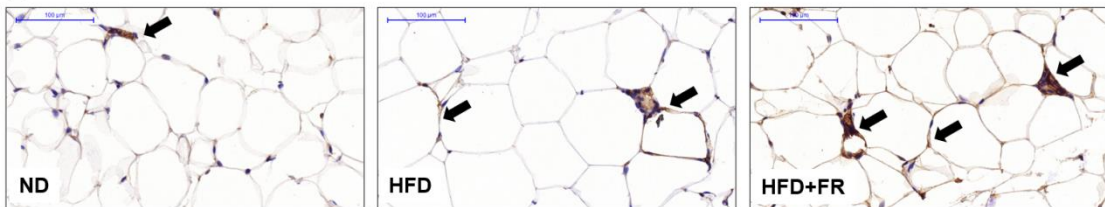
A különböző DIO-által kiváltott elhízásmodellek vWAT-ra gyakorolt hatását RT-PCR segítségével határoztuk meg (8A ábra). Ahogyan az várható volt, a *Lep* gén expressziója szignifikánsan magasabb volt mind a HFD ($p < 0,01$), mind a HFD + FR ($p < 0,001$) csoportban a kontroll állatokhoz képest. A két elhízásos modell között nem mutatkozott szignifikáns különbség. A vizsgált citokinek közül az *Il1b* és *Il6* gének expresszióját nem befolyásolták az étrendek, viszont a *Tnf*, *Il10* és transzformáló növekedési faktor $\beta 1$ (*Tgfb*) expresszióját mindkét diéta indukálta. Ezen túlmenően mindhárom marker magasabb expressziót mutatott a HFD + FR csoportban a HFD modellhez viszonyítva (*Tnf*: $p < 0,01$; *Il10*: $p < 0,05$; *Tgfb*: $p < 0,01$). A *Cd44*-et kódoló gén expressziója mindkét diéta hatására hasonló mértékben emelkedett a kontrollcsoportéhoz képest ($p < 0,01$ mind a HFD, mind a HFD + FR esetében). A CD44 fehérje eloszlását immunhisztokémiai festéssel vizsgáltuk a vWAT-ban (8B ábra). Az eredmények szerint a fehérje nagyobb mennyiségben termelődik az endotélsejtekben és a mezenchimális sejtekben, míg az adipociták gyengébb festődést mutattak. A vizsgált hő sokkfehérje-gének közül a *Cryab* expressziója több mint kétszeres növekedést mutatott mindkét diéta hatására ($p < 0,001$ a HFD és HFD + FR esetében is; 8A ábra). A különböző gének expressziós szintjei közötti lineáris összefüggés feltárására Pearson-féle korrelációs együtthatót számoltunk. Az eredmények erős pozitív lineáris korrelációt mutattak a *Lep* és *Cryab* ($r = 0,9275$; $p < 0,001$), valamint a *Lep* és *Hspb1* ($r = 0,8050$; $p < 0,001$) gének expressziója között (8C ábra), ami megerősíti a korábbi feltételezéseket, miszerint a hő sokkfehérjék adipokin funkciókkal is rendelkezhetnek.

A

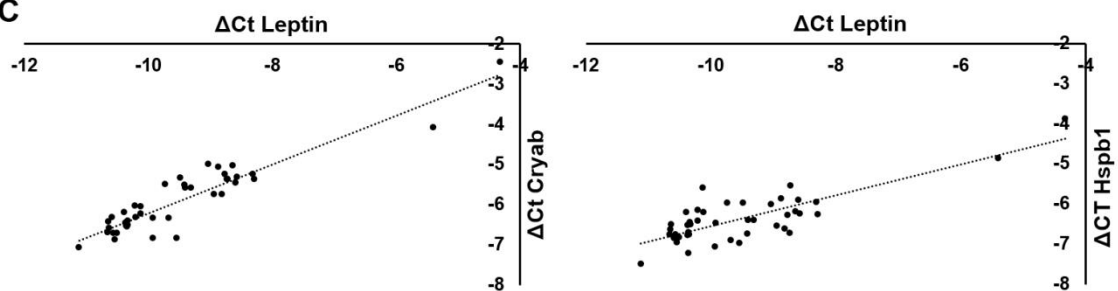
	Gén	%			p érték		
		ND	HFD	HFD + FR	ND vs. HFD	ND vs. HFD + FR	HFD vs. HFD + FR
Citokinek és endokrin faktorok	<i>Tnf</i>				0,001	0,000	0,004
	<i>Il1b</i>				0,367	0,348	0,053
	<i>Tgfb</i>				0,000	0,000	0,002
	<i>Il10</i>				0,008	0,000	0,012
	<i>Fgf21</i>				0,467	0,701	0,515
	<i>Il6</i>				0,871	0,655	0,642
	<i>Rarres2</i>				0,004	0,001	0,131
	<i>Nampt</i>				0,594	0,520	0,041
Lipid metabo- lizmus	<i>Lep</i>				0,001	0,000	0,198
	<i>Lepr</i>				0,090	0,685	0,184
	<i>Cd44</i>				0,005	0,001	0,249
Stressz- fehérjék	<i>Cryab</i>				0,000	0,000	0,227
	<i>Hspb1</i>				0,055	0,024	0,439
	<i>Hspa1</i>				0,197	0,012	0,367



B



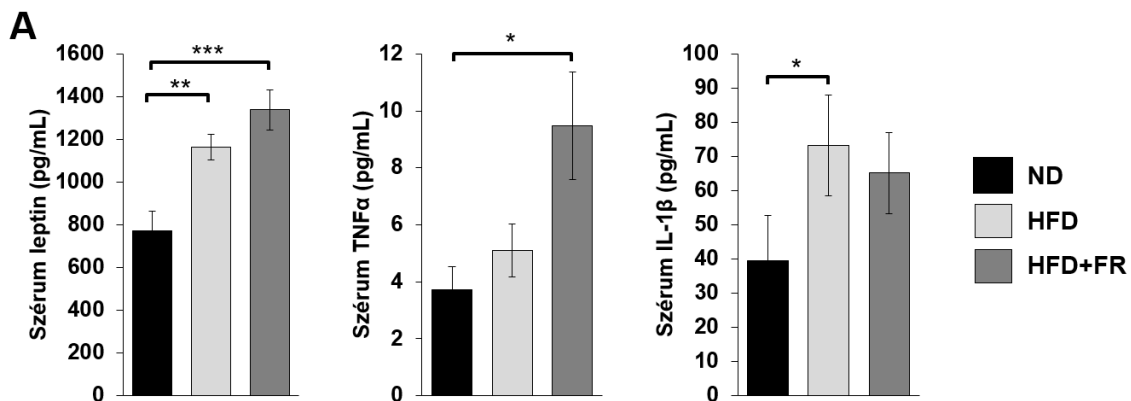
C



8.ábra A HFD és a HFD + FR által kiváltott gyulladásos elváltozások a viscerális fehérzsírszövetben (vWAT). A: Hőterkép a vWAT-ban bekövetkező relatív génexpressziós változásokról. A célgének relatív expresszióját a HFD vagy HFD+FR csoportok kontroll (ND) csoportban mért expresszióhoz viszonyítva vannak feltüntetve (az eredmények az ND csoport százalékában vannak megadva, ahol ND = 100%), n = 6/csoport. **B:** CD44 immunjelölés a vWAT metszeteken. A barna elszíneződés CD44 immunreaktivitást jelez (fekete nyilak). A sejtmagokat hematoxilinnel jelöltük. Méretskála: 100 μ m. **C:** Pearson-féle korrelációs együttható (r) és p-érték (p) bal oldalon – Lep (leptin) és Cryab (α B-kristallin), jobb oldalon – Lep és Hspb1 génexpressziós szintek közötti összefüggések vizsgálatához. Az adatok átlagnak $\pm$ SEM-nek felelnek meg; n = 14–15/csoport; *p < 0,05; ND: normál diéta, HFD: magas zsírtartalmú diéta, HFD+FR: magas zsír- és fruktóztartalmú diéta.

4.1.7 A szérumban $\text{TNF}\alpha$ szintje csak a HFD + fruktóz diéta hatására emelkedett meg szignifikánsan

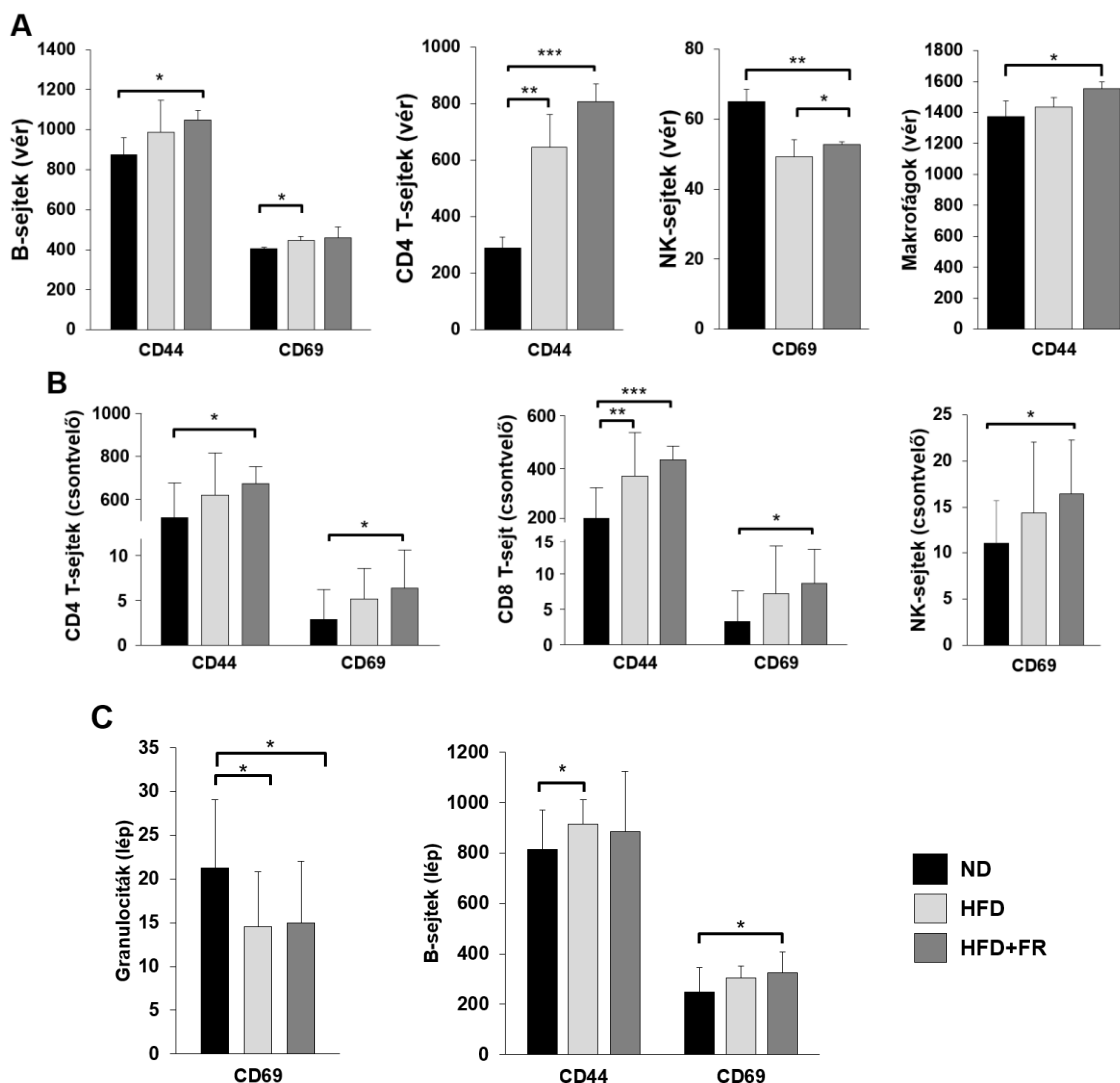
Az RT-PCR-analízis eredményeinek megerősítése érdekében multiplex immunoassay segítségével mértük az adipokinek és gyulladásos citokinek szérumban koncentrációját (9A ábra). Az RT-PCR-eredményekkel összhangban a szérumban leptin koncentráció szignifikánsan megemelkedett mind a HFD ($p < 0,01$), mind a HFD + FR ($p < 0,001$) állatokban a kontrollcsoportéhoz képest, ugyanakkor a két diéta hatása között nem mutatkozott jelentős különbség. A $\text{TNF}\alpha$ koncentrációja önmagában a HFD hatására nem emelkedett meg, azonban a HFD + FR ($p < 0,05$) csoportban szignifikánsan magasabb volt az ND csoportéhoz képest. Ezzel szemben az IL-1 β koncentrációjának növekedése csak a HFD ($p < 0,05$) csoportban érte el a statisztikai szignifikancia szintjét a kontrollhoz képest.



9. ábra A HFD és a HFD + FR adipokin és gyulladásos citokin moduláló hatása a szérumban. A: Bal oldalon – leptin, középen – $\text{TNF}\alpha$, jobb oldalon – IL-1 β szérumban koncentrációja. Az adatok átlagnak $\pm$ SEM-nek felelnek meg; $n = 14-15$ /csoport; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; ND: normál diéta, HFD: magas zsírtartalmú diéta, HFD+FR: magas zsír- és fruktóztartalmú diéta.

4.1.8 A fruktóz fogyasztás nem befolyásolta a CD44 és CD69 sejtfelszíni expresszióját a vizsgált immunsejteken

Végül immunfenotipizálást végeztünk a vérből, a csontvelőből és a lépéből izolált sejteken. A HFD + FR hatására az analízis fokozott CD44 sejtfelszíni glikoprotein expressziót mutatott ki a vér B-sejtjein ($p < 0,05$), CD4 $^{+}$ T-sejtjein ($p < 0,05$) és makrofágjain ($p < 0,05$; 10A ábra), valamint a csontvelő CD4 $^{+}$ ($p < 0,001$) és CD8 $^{+}$ T-sejtjein ($p < 0,05$; 10B ábra). A CD69 típusú II-es C-lektin receptor expressziója nőtt a vér B-sejtjein a HFD diéta hatására ($p < 0,05$; 10A ábra), míg a HFD + FR fokozta a CD4 $^{+}$ és CD8 $^{+}$ T-sejtek, valamint a csontvelői NK-sejtek és a lép B-sejtjeinek CD69-expresszióját is ($p < 0,05$; 10BC ábra). A keringő NK-sejtek és a lép granulocita sejteinek felszínén a CD69 expressziója csökkent mind a HFD, mind a HFD + FR hatására ($p < 0,05$; 10C ábra). Érdekesség, hogy egyik vizsgált marker esetében sem találtunk szignifikáns különbséget a HFD és a HFD + FR csoportok között, ami arra utal, hogy a sejtek immunfenotípusának megváltozása már egy alacsonyabb fokú elhízás hatására is bekövetkezett.



10.ábra A HFD és a HFD + FR által kiváltott CD44 és CD69 expresszió intenzitásának változása. A: Vérből izolált: bal oldalon – B-sejteken, középen – CD4⁺ T-sejteken, középen – NK-sejteken, jobb oldalon – makrofágokon, **B:** Csontvelőből (BM) izolált: bal oldalon – CD4⁺ T-sejteken, középen – CD8⁺ T-sejteken, valamint jobb oldalon – NK-sejteken, **C:** Lépből izolált: bal jobb oldalon – granulocitákon és jobb oldalon – B-sejteken. Az adatok átlagnak $\pm$ SEM-nek felelnek meg; $n = 14-15$ /csoport; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; ND = normál diéta, HFD = magas zsírtartalmú diéta, HFD + FR = magas zsír- és fruktóztartalmú diéta.

4.2 A HSPB1 ELHÍZÁS TÜNETEIRE KIFEJTETT HATÁSAINAK VIZSGÁLATA ZSÍRDÚS DIÉTÁN TARTOTT APOB-100 EGEREK BEN

Második kísérletsorozatunkban az elhízás következtében kialakuló tünetek vizsgálatához a diéta és a genetikai módosítás kombinációját használtuk zsírdús tápon tartott APOB-100 túltermelő állatok formájában (APOB csoport). Kísérleteink célja annak felderítése volt, hogy a HSPB1 hogyan befolyásolja a tünetek kialakulását. Ennek érdekében az APOB-100 túltermelő törzset egy HSPB1 túltermelő vonallal kereszteztünk össze (APOB/HSP csoport). Kontrollként normál tápon tartott vad típusú és HSPB1 túltermelő állatokat használtunk (WT és HSP csoport). Az esetleges nemi különbségek feltárása érdekében a hím és nőstény állatokat külön csoportokban vizsgáltuk. A 7 hónapon át tartó

diéta során mértük az állatok testtömegének alakulását, majd 9 hónapos korukban transthoracalis echokardiográfia segítségével felmértük a szívben bekövetkező morfológiai és funkcionális változásokat. Az állatok 10 hónapos korában terminális anesztéziát követően különböző szerv és szövetmintákat gyűjtöttünk a későbbi hisztológiai és génexpressziós vizsgálatokhoz (2. ábra).

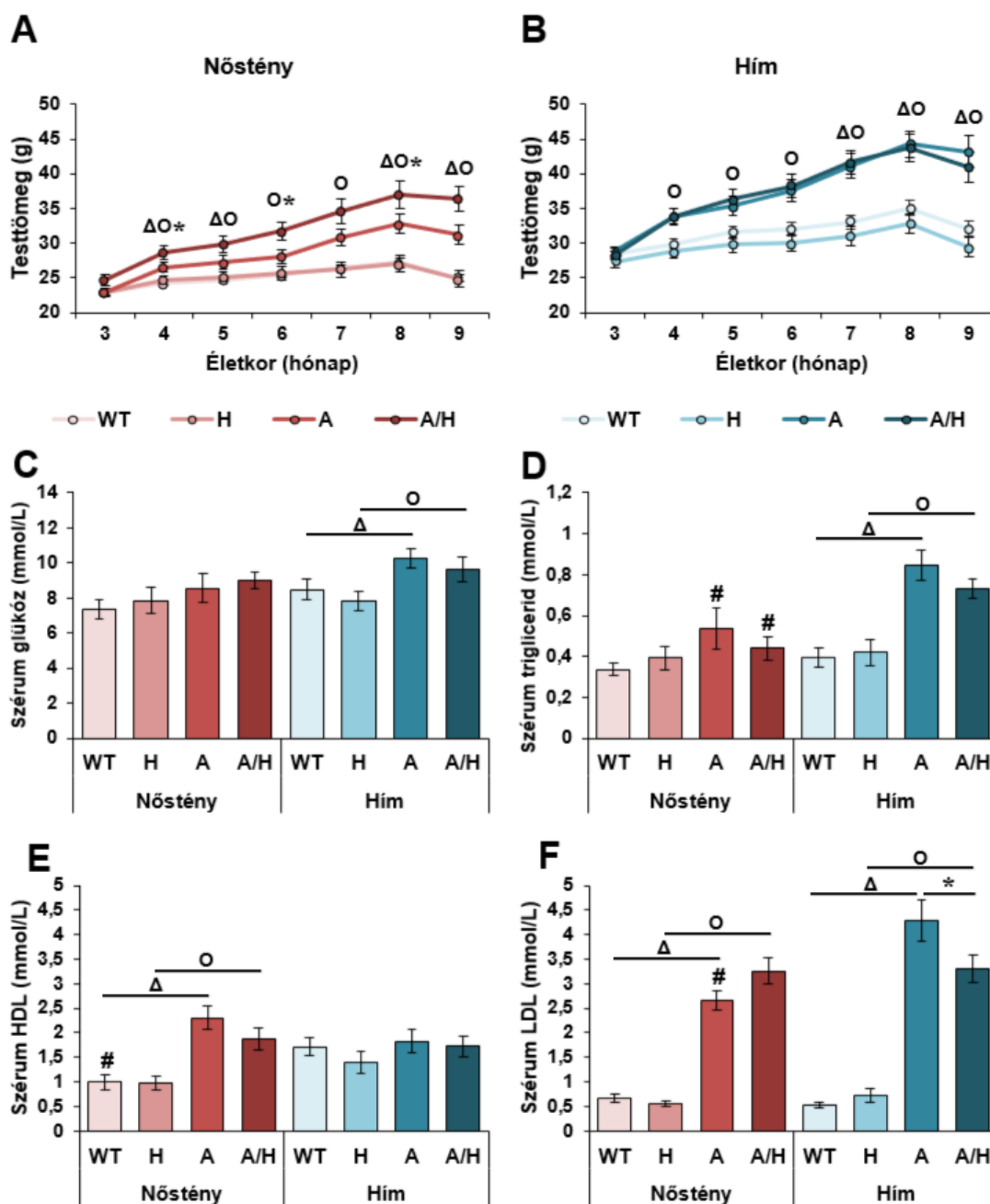
4.2.1 A HSPB1 túltermelés fokozza a HFD-indukált testtömeg-növekedést az APOB nőstény egerekben

A havonta monitorozott testtömeg adatok alapján a hím és a nőstény csoportokban egyaránt megfigyelhető, hogy a zsírdús diétán tartott APOB-100 túltermelő egerek tömege hónapról-hónapra gyarapodott, a vad típusú (WT) kontroll csoportokhoz képest (11AB ábra). A HSPB1 túltermelés nem befolyásolta a testtömeget sem a kontroll csoportokban, sem az APOB hímeknél. Az APOB nőstény egereknél azonban HSPB1 túltermelés további testtömeggyarapodást eredményezett, mivel ezeknél az egyedeknél szignifikánsan magasabb testtömeget detektáltunk, mint az APOB nőstények testtömege, már 2 hónap HFD után és ezt követően a terminálásig (11A ábra).

4.2.2 A HSPB1 nem-függő módon befolyásolja a zsírdús diétán tartott APOB transzgenikus egerek szérum LDL-szintjét

Az elhízásra és a MetS-re jellemző IR és hiperlipidémia felderítésére meghatároztuk az állatok éhomi szérum glükóz, TG, LDL-, és HDL-koleszterin koncentrációit (11C-F ábra). Az APOB-100 túltermelés HFD-vel kombinálva magasabb éhomi vércukorszintet eredményezett mind az APOB, mind a kettős transzgenikus állatokban, azonban csak a hím csoportoknál detektáltunk szignifikáns mértékű emelkedést a WT és a HSP hím csoportokhoz képest (11C ábra). Hasonló változásokat figyeltünk meg a szérum TG esetében is: az APOB és APOB/HSP hím egerek TG-szintje szignifikánsan magasabb volt, mint a WT és HSP csoportokban (11D ábra). Ezzel szemben a HDL-koleszterin szint emelkedése kizárólag az APOB és APOB/HSP nőstény csoportokban volt megfigyelhető (11E ábra), míg az LDL-koleszterin koncentrációja mindkét nemben emelkedett az APOB és APOB/HSP csoportokban (11F ábra).

A HSPB1 túltermelés nem befolyásolta az éhomi glükóz-, TG- vagy HDL-koleszterin szintek egyik vizsgálati csoportban sem (11DE ábra). Azonban nemtől függő hatást gyakorolt az LDL-koleszterin szintre az APOB csoportban: az APOB hímek esetében a HSPB1 túltermelés szignifikánsan csökkentette az LDL-koleszterin szintet az APOB egerekhez képest, míg nőstényekben csökkenő tendencia volt megfigyelhető az APOB/HSP csoportban az APOB csoporthoz képest (11F ábra).



11.ábra A nem, a MetS (metabolikus szindróma) és a HSPB1-túltermelés hatása a testtömegre és a szérum laboratóriumi paraméterekre. A: A nőstények és a B: a hímek testtömeg-változása, C: szérum glükóz-, D: TG-, E: HDL-koleszterin- és F: LDL-koleszterin-koncentrációk változása. WT = normál diétán tartott vad típusú, H = normál diétán tartott HSPB1 túltermelő, A = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túltermelő és A/H = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 és HSPB1 túltermelő egerek. Az adatok átlagnak $\pm$ SEM-nek felelnek meg; $n = 11-12$ /csoport; $\Delta p < 0,05$ A vs. WT; $O p < 0,05$ A/H vs. H; $* p < 0,05$ A/H vs. A; $\# p < 0,05$ nőstény vs. hím.

4.2.3 A HSPB1 túltermelés az *Fgf21* génexpressziójának növekedéséhez vezet a zsírdús diétán tartott APOB nőstények fehérzsírszövetében

Annak vizsgálatára, hogy a nem, az elhízás, illetve a HSPB1 túltermelése befolyásolja-e a gyulladás, az anyagcsere és a stresszválasz szabályozásában részt vevő gének

expresszióját, RT-PCR analízist végeztünk a vWAT-ból származó mintákon (12. ábra). Elsőként a nőstény és hím WT állatokat hasonlítottuk össze, a hímek értékeit véve alapul (100%). Az *Fgf21* és a *Cd44* kódoló gének expressziója szignifikánsan alacsonyabb volt a nőstények vWAT-jában (42%, $p < 0,05$ és 27%, $p < 0,01$), míg a leptin receptor (*Lepr*) mRNS szintje magasabb értéket mutatott, mint a hímeknél (191%, $p < 0,05$). Ezután az egyes transzgenikus csoportokat (HSP, APOB, APOB/HSP) vetettük össze a WT kontroll csoporttal, nemek szerint elkülönítve. Az *Lpl* génexpressziója hímekben nem változott sem elhízás, sem HSPB1 hatására, ugyanakkor nőstényekben az APOB és APOB/HSP csoportokban enyhe, de statisztikailag szignifikáns emelkedést figyeltünk meg a WT csoporthoz képest (167%, $p < 0,05$; illetve 161%, $p < 0,05$). Nőstény állatok esetében a HFD és APOB-100 túltermelés kombinációja nem változtatta meg az *Fgf21* szintjét, viszont az APOB/HSP csoportban az expresszió jelentősen megemelkedett (240%, $p < 0,05$). Ezzel szemben hímekben az elhízás csökkent *Fgf21* expresszióhoz vezetett (43%, $p < 0,05$), amit a HSPB1 jelenléte nem befolyásolt szignifikánsan (45%, $p = 0,083$). A *Lep* gén expressziója a hím APOB és APOB/HSP csoportokban több mint kétszeresére emelkedett a WT csoporthoz képest (220%, $p < 0,01$; illetve 248%, $p < 0,01$), míg nőstényekben ez az érték közel ötszörösre nőtt (489%, $p < 0,01$), sőt az APOB/HSP csoportban még magasabb szintet ért el (563%, $p < 0,001$). A *Tnf* expressziója az APOB hím állatokban jelentősen nőtt (334%, $p < 0,001$), bár az APOB/HSP csoportban kissé alacsonyabb értéket mutatott (252%, $p < 0,001$). Ezzel szemben nőstény állatokban egyik csoport esetében sem találtunk szignifikáns változást. A *Tgfb* expressziója mindkét nemben emelkedett az APOB csoportban (nőstények: 188%, $p < 0,01$; hímek: 235%, $p < 0,001$), ugyanakkor ezt a változást a HSPB1 jelenléte nem módosította. A *Cd44* gén expressziója az APOB csoportokban mindkét nemben több mint négyszeres növekedést mutatott (nőstények: 472%, $p < 0,01$; hímek: 410%, $p < 0,01$). Érdekes módon a HSPB1 túltermelése nemenként eltérő hatással volt: nőstényekben a *Cd44* szintje tovább emelkedett (683%, $p < 0,001$), míg hímekben csökkenést tapasztaltunk (256%, $p < 0,05$). Végül, a HSPB5-öt kódoló *Cryab* gén expressziója szignifikánsan magasabb volt mind az APOB, mind az APOB/HSP állatokban a WT csoporthoz képest, függetlenül a nemtől.

	Gén	vs. WT Hím		vs. WT															
				Nőstény						Hím									
		%	p érték	%			p érték			%			p érték						
		WT nőstény	WT nőstény	HSP	APOB	APOB/HSP	HSP	APOB	APOB/HSP	HSP	APOB	APOB/HSP	HSP	APOB	APOB/HSP				
Lipid és glükóz metabolizmus	Lpl		0,055				0,541		0,014		0,025				0,480	0,981	0,650		
	Fgf21		0,032				0,917	0,365		0,041				0,443		0,032	0,083		
	Lep		0,052				0,461		0,001		0,000				0,306		0,009	0,005	
	Lepr		0,027				0,209	0,372	0,727						0,707	0,271	0,575		
	Retn		0,055				0,860	0,922	0,096						0,494	0,113	0,237		
Citokinek	Tnf		0,894				0,145	0,471	0,604					0,544		0,000		0,001	
	Il1b		0,926				0,232	0,559	0,570					0,749	0,541	0,938			
	Il6		0,945				0,145	0,711	0,192					0,975	0,570	0,746			
	Il10		0,569				0,461	0,532	0,620					0,146	0,067	0,331			
	Tgfb		0,014				0,472		0,001		0,000					0,028		0,000	0,015
	Cd44		0,003				0,355		0,001		0,000				0,546		0,001		0,030
Stressz-fehérjék	Cryab		0,030				0,934		0,002		0,000				0,278		0,007		0,002
	Hspb1		0,180				0,876	0,423	0,245						0,608	0,818	0,977		
	Hspa1		0,703				0,281	0,672	0,980						0,981	0,254	0,289		

%

< 20

> 20; < 30

> 30; < 55

> 55; < 75

> 75; < 100

> 100; < 130

> 130; < 175

> 175; < 300

> 300; < 500

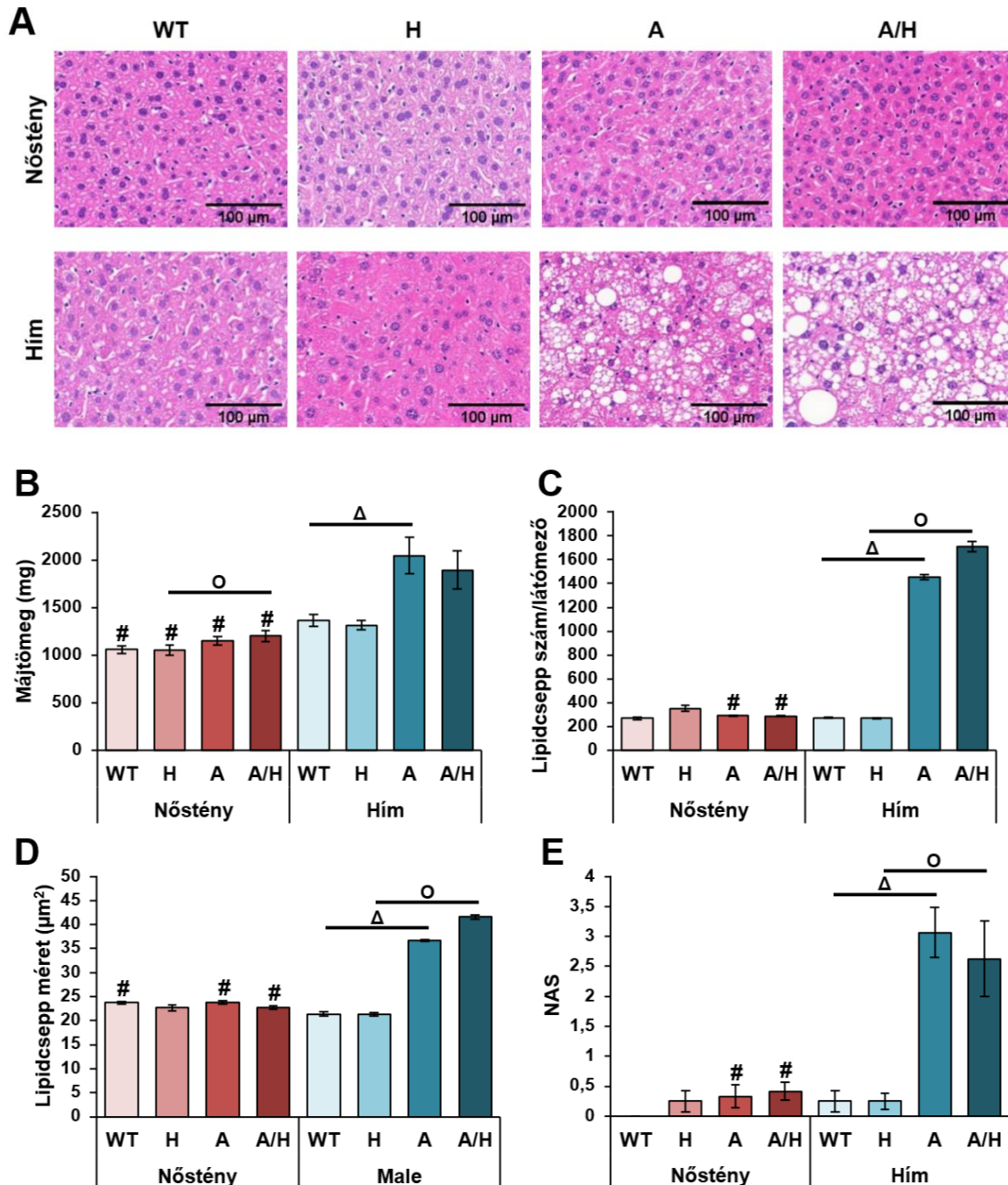
> 500

12.ábra A nem, az elhízás és a HSPB1-túltermelés hatása a viscerális fehér zsírszövetben (vWAT) mért relatív génexpressziós különbségek hőmérképe. Az RT-PCR során vizsgáltuk a lipid- és glükózanyagcsere-, gyulladásos és stresszel kapcsolatos gének relatív expressziós változásait. WT = normál diétán tartott vad típusú, HSP = normál diétán tartott HSPB1 túltermelő, APOB = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túltermelő és APOB/HSP = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 és HSPB1 túltermelő egerek. WT nőstény vs. WT hím összehasonlításnál a célgének nőstényekben mért relatív expresszióját hasonlítottuk a hímekben detektált szintekhez (az eredmények százalékban, ahol a hímcsoporthoz = 100%). HSP vs. WT, APOB vs. WT, valamint APOB/HSP vs. WT összehasonlításoknál a transzgenikus állatok génexpresszióját a WT nőstény és hím állatokhoz viszonyítottuk külön-külön (az eredmények százalékban vannak megadva, ahol a WT csoportok = 100%), n = 6/csoport.

4.2.4 A zsírdús diétán tartott APOB hím állatokban megfigyelhetőek a metabolikus diszfunkcióval társult zsírmájbetegség tünetei, melyet a HSPB1 nem befolyásolt

A kísérlet végén a májszöveteket eltávolítottuk és lemértük, majd a szövettani elváltozások detektálásához a metszeteken HE festést végeztünk (13A ábra). A testtömegváltozásokkal összhangban az APOB hímek májtömege szignifikánsan nagyobbak bizonyult a WT hímekéhez képest (13B ábra). Ezzel szemben, bár az APOB nőstények testtömege szintén emelkedett, májtömegük nem különbözött érdemben a WT nőstényekétől. Az APOB/HSP nőstények esetében ugyanakkor egy mérsékelt, de statisztikailag szignifikáns növekedést tapasztaltunk a májtömegben a HSP csoporthoz viszonyítva. A szövettani vizsgálat is alátámasztotta, hogy a zsírfelhalmozódás a májban az APOB hímeknél kifejezettebb volt, mint a nőstényeknél. A HE-festett metszeteken megfigyelhető lipidcseppek száma elenyésző volt az egészséges (WT és HSP) állatokban, valamint az APOB és APOB/HSP nőstényekben. Ezzel szemben az APOB és APOB/HSP hím állatok májában mind a lipidcseppek száma (13C ábra), mind azok mérete (13D ábra) szignifikánsan magasabb értéket mutatott, mint a megfelelő kontroll és nőstény

csoportokban. A zsírfelhalmozódás mellett az APOB és APOB/HSP hím állatoknál megfigyelhető volt a májsejtek felfújtsága is, amely a NAS pontszám emelkedéséhez vezetett (13E ábra). Ezzel szemben számottevő gyulladásos infiltráció egyik transzgenikus csoportban sem volt kimutatható. Összességében elmondható, hogy a HSPB1 túltermelés nem befolyásolta érdemben a máj morfológiai állapotát: sem a NAS értékek, sem a lipidcseppek mennyisége és mérete nem tért el jelentősen a túltermelő csoportok és a megfelelő kontroll állatok között.



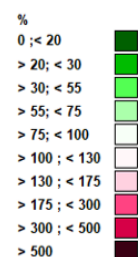
13.ábra A nem, az elhízás és a HSPB1-túltermelés hatása a metabolikus diszfunkcióval társult zsírmájbetegség (MASLD). A: Hematoxinil-eozinnal festett májmetszetek reprezentatív képei; **B:** májtömeg. Eredmények kvantifikálása: **C:** Zsírcseppek száma, **D:** zsírcseppek mérete, **E:** NAFLD aktivitási pontszám (NAS). WT = normál diétán tartott vad típusú, H = normál diétán tartott HSPB1 túltermelő, A = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túltermelő és A/H = magas zsírtartalmú diétán

tartott APOB-100 és HSPB1 túltermelő egerek. Az adatok átlagnak $\pm$ SEM-nek felelnek meg; n = 11–12/csoport; ^Δp < 0,05 A vs. WT; [○]p < 0,05 A/H vs. H; [#]p < 0,05 nőstény vs. hím.

4.2.5 HSPB1 túltermelés hatására csökkent a gyulladásos folyamatokban és lipid metabolizmusban szerepet játszó gének expressziója az APOB nőstény egerek májszövetében

A májban megfigyelt kóros elváltozások molekuláris hátterének feltárása érdekében RT-PCR-rel vizsgáltuk a gyulladás, valamint a glükóz- és lipidanyagcsere szabályozásában szerepet játszó gének expressziós szintjét (14. ábra). A WT nőstény és WT hím csoportok közvetlen összehasonlítása során szignifikánsan magasabb *Tnf* (197%, p < 0,05), *Lepr* (215%, p < 0,05) és *Cd36* (206%, p < 0,01) mRNS szintet találtunk a WT nőstények májában. A HSPB1 túltermelés hatását vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a vizsgált citokinek és hormonszerű molekulák expressziója csökkenő tendenciát mutatott az APOB/HSP nőstényekben a WT csoporthoz képest, amely több esetben statisztikailag is szignifikáns volt: *Il1b* (43%, p < 0,05), *Tgfb* (79%, p < 0,05), α -2-HS-glikoprotein (*Ahsg*; 68%, p < 0,01), *chemerin* (*Rarres2*; 74%, p < 0,05). Az adiponektin receptor 1-et (*Adipor1*) kódoló gén expressziója mindegyik APOB-100 túltermelő csoportban enyhén (~70%-os a WT-hez viszonyítva), de szignifikáns mértékben csökkent. A májban termelődő antimikrobiális peptid 2 (*Leap-2*) expressziója nem változott a transzgenikus hím csoportokban, ellenben az APOB (51%, p < 0,01) és APOB/HSP (63%, p < 0,05) nőstényekben szignifikánsan lecsökkent a WT nőstényekhez képest. A *Lpl* gén expressziója jelentősen megemelkedett az APOB (337%, p < 0,05) és APOB/HSP (415%, p < 0,01) hímek májában, míg a nőstény APOB-s csoportban kisebb mértékű emelkedés volt megfigyelhető (263%, p < 0,05), amelyet a HSPB1 túltermelés visszaállított WT szinthez közeli értékre (117%, p = 0,447). Végül, az apolipoprotein A-V (*Apoa5*) gén expressziója az APOB nőstényekben csak enyhén csökkent, míg az APOB (54%, p < 0,01) és APOB/HSP (53%, p < 0,001) hímek májában közel a felére esett vissza.

	Gén	vs. WT Hím		vs. WT							
				Nőstény				Hím			
		%	p érték	%	p érték			%	p érték		
		WT nőstény	WT nőstény	HSP APOB APOB/HSP	HSP APOB APOB/HSP	HSP APOB APOB/HSP	HSP APOB APOB/HSP	HSP APOB APOB/HSP	HSP APOB APOB/HSP	HSP APOB APOB/HSP	HSP APOB APOB/HSP
Citokinek és endokrin faktorok	<i>Tnf</i>		0,027				0,479 0,537 0,082			0,318 0,720 0,094	
	<i>Il1b</i>		0,119				0,150 0,792 0,034			0,574 0,177 0,119	
	<i>Tgfb1</i>		0,052				0,915 0,204 0,013			0,482 0,896 0,818	
	<i>Il10</i>		0,166				0,032 0,699 0,245			0,300 0,418 0,240	
	<i>Fgf21</i>		0,420				0,903 0,060 0,216			0,345 0,205 0,750	
	<i>Ahsg</i>		0,047				0,761 0,112 0,002			0,662 0,048 0,006	
	<i>Rarres2</i>		0,039				0,769 0,690 0,040			0,677 0,451 0,761	
	<i>Nampt</i>		0,589				0,699 0,496 0,393			0,375 0,381 0,481	
Lipid metabolizmus	<i>Lepr</i>		0,041				0,957 0,351 0,508			0,716 0,674 0,647	
	<i>Adipor1</i>		0,255				0,310 0,000 0,000			0,160 0,013 0,001	
	<i>Cd36</i>		0,003				0,571 0,749 0,583			0,156 0,029 0,042	
	<i>Leap2</i>		0,063				0,217 0,004 0,047			0,716 0,381 0,873	
	<i>Lpl</i>		0,931				0,369 0,029 0,447			0,667 0,027 0,007	
	<i>ApoA5</i>		0,334				0,103 0,039 0,110			0,666 0,002 0,000	
	<i>ApoC2</i>		0,287				0,699 0,204 0,047			0,589 0,752 0,387	



14.ábra A nem, az elhízás és a HSPB1-túltermelés hatása a májban mért relatív génexpressziós különbségek hőtérképe. Az RT-PCR során vizsgáltuk a lipidanyagcsere, gyulladásos citokinek és endokrin faktorok relatív génexpressziós változásait. WT = normál diétán tartott vad típusú, HSP = normál diétán tartott HSPB1 túltermelő, APOB = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túltermelő és APOB/HSP = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 és HSPB1 túltermelő egerek. WT nőstény vs. WT hím összehasonlításnál a célgének nőstényekben mért relatív expresszióját hasonlítottuk a hímekben detektált szintekhez (az eredmények százalékban, ahol a hímcsoporthoz = 100%). HSP vs. WT, APOB vs. WT, valamint APOB/HSP vs. WT összehasonlításoknál a transzgenikus állatok génexpresszióját a WT nőstény és hím állatokhoz viszonyítottuk külön-külön (az eredmények százalékban vannak megadva, ahol a WT csoportok = 100%), n = 6/csoport.

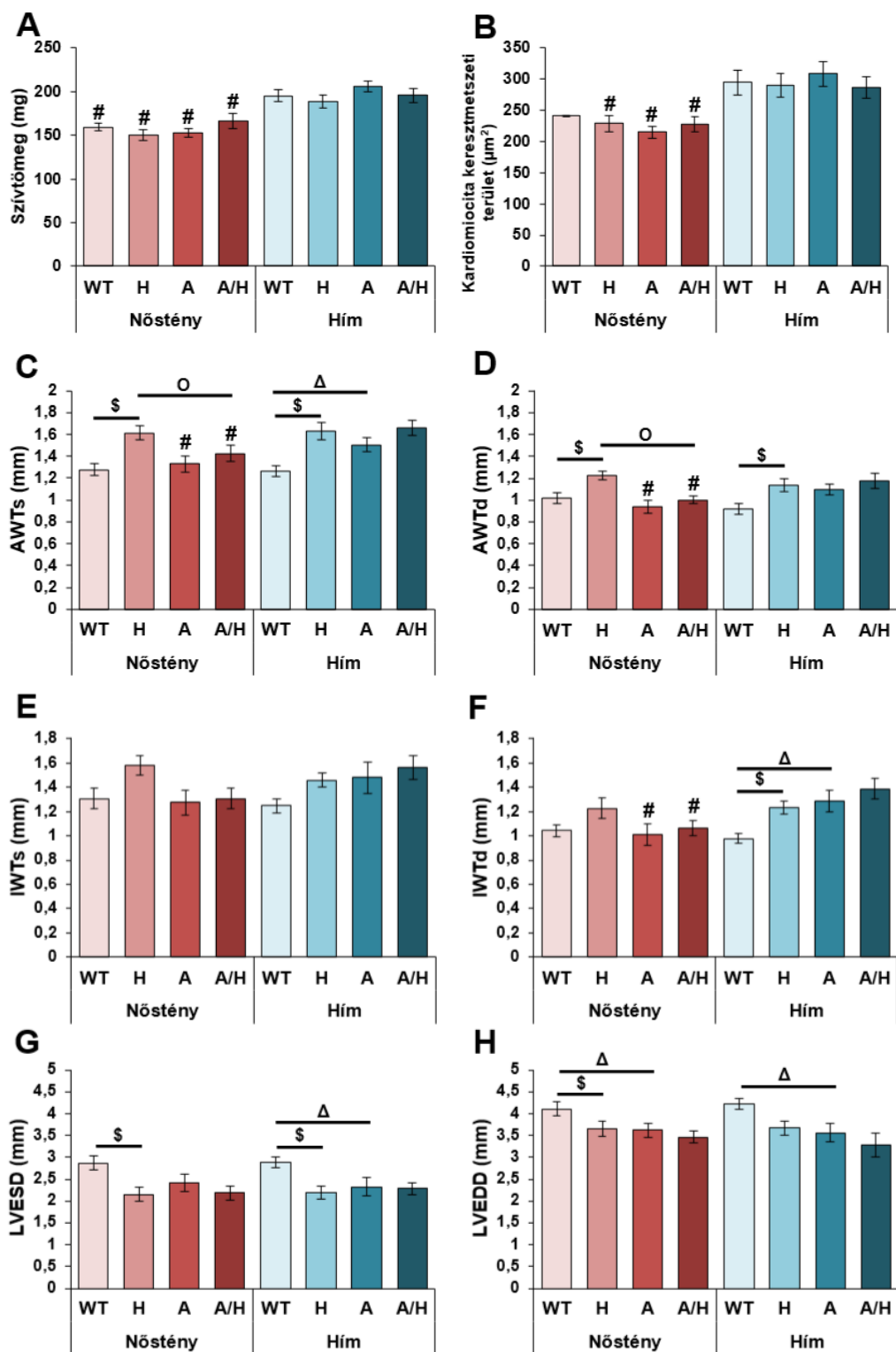
4.2.6 A HSPB1 túltermelés nem befolyásolta az elhízással összefüggő morfológiai elváltozásokat a szívben, ugyanakkor bal kamrai hipertrófiát idézett elő az egészséges állatokban

Annak vizsgálatára, hogy a HSPB1 túltermelése befolyásolja-e a szív morfológiáját és működését 9 hónapos korban transthoracalis echokardiográfiát végeztünk, majd a kísérlet végén a szívtömeg lemerését követően meghatároztuk a kardiomiociták keresztmetszeti területét, valamint a bal kamra génexpressziós változásait is. A szívtömeg (15A ábra) és a kardiomiociták keresztmetszeti területe (15B ábra) szignifikánsan alacsonyabb volt a nőstény csoportokban a hímekhez képest genotípustól függetlenül, megerősítve a nemek közötti különbségeket a szív méretében. Az APOB hímeknél az anterior falvastagság szisztolében (AWTs; 15C ábra) és az inferior falvastagság diasztolében (IWTd; 15F ábra) szignifikánsan nagyobb volt, mint a WT hímeknél. Emellett az LVESD és az LVEDD is jelentősen csökkent az APOB hímeknél (15GH ábra), illetve az FS is emelkedő tendenciát mutatott (16C ábra) a WT hímekhez képest, ami bal kamrai hipertrófia kialakulására utal. Ennek megfelelően az APOB és APOB/HSP hím állatoknál az LVEDV, az SV és a CO is

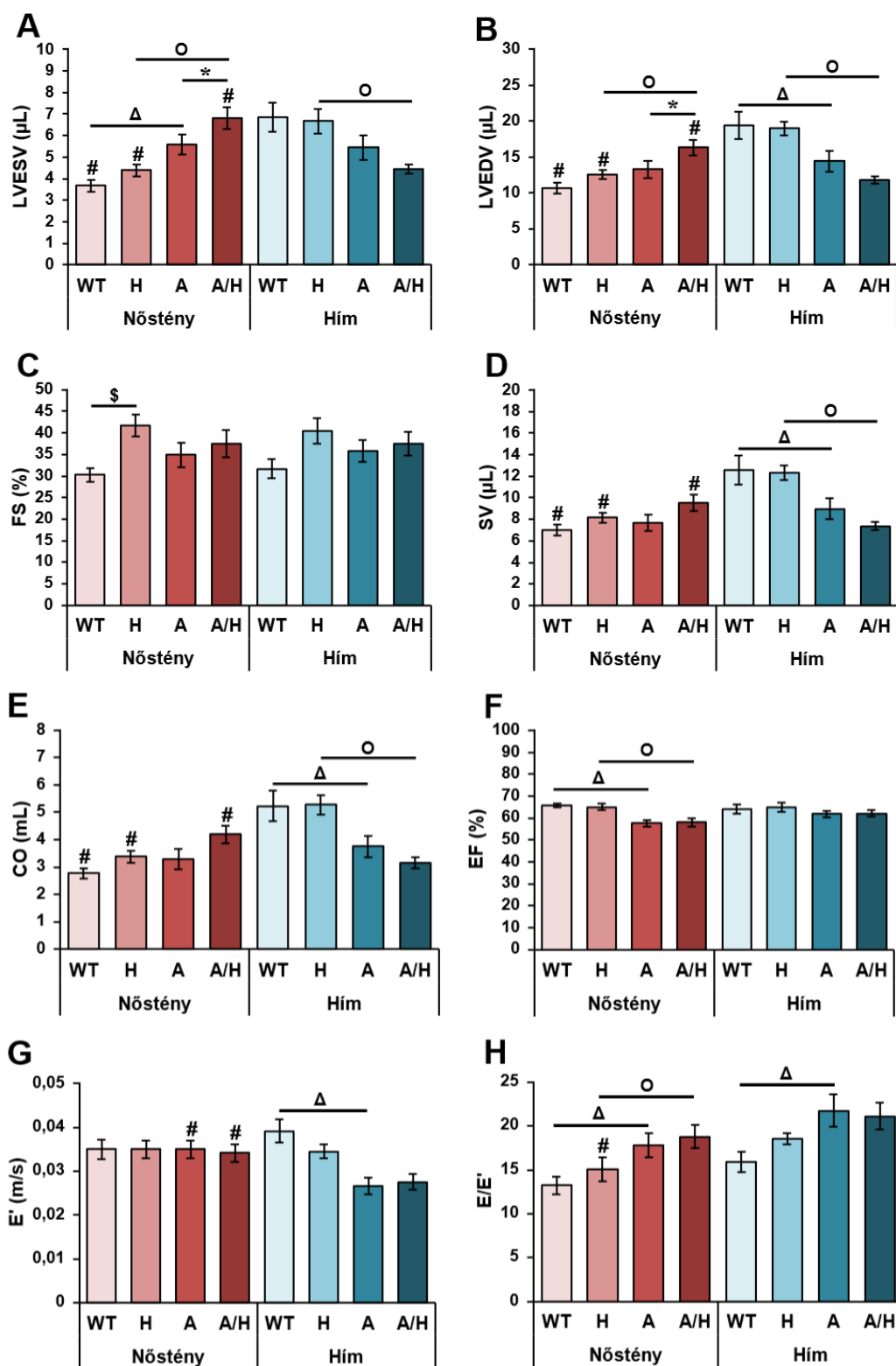
szignifikánsan alacsonyabb volt az egészséges kontrollokhöz képest (16BDE ábra). Továbbá, a diasztolés funkciót jelző e' paraméter szignifikánsan lecsökkent (16G ábra), míg az E/e' arány jelentősen magasabb volt az APOB hímeknél a megfelelő WT csoporthoz viszonyítva (16H ábra), ami diasztolés diszfunkció kialakulását jelzi.

Ezzel szemben az APOB nőstényeknél nem volt szignifikáns különbség a falvastagságban a WT nőstényekhez képest (15C-F ábra), ugyanakkor az LVEDD szignifikánsan alacsonyabb volt, ami a relaxáció károsodására utalhat (15H ábra). Ezzel szemben az LVESV jelentősen megnövekedett, ami a kontrakció károsodását jelzi (16A ábra). Az LVEDV enyhe növekvő tendenciát mutatott ($p = 0,066$), ami bal kamrai EF csökkenéséhez vezetett a WT nőstényekhez képest (16ABF ábra). Emellett az E/e' érték jelentősen magasabb volt az APOB nőstényekben a WT nőstény csoporthoz képest (16GH ábra).

A HSPB1 túltermelés esetében az AWTs és az AWTd jelentősen nagyobb volt, és az IWTs is növekvő tendenciát mutatott ($p = 0,091$ nőstényekben), míg az LVESD szignifikánsan lecsökkent a megfelelő WT csoportokhoz képest (15C-EG ábra), ami a bal kamrai hipertrófia kialakulását jelzi. Emellett a HSP hímekben az IWTd is szignifikánsan megnövekedett a WT hímekhez képest (15F ábra). Ezen kívül a szisztolés paraméter FS megnövekedett a humán HSPB1 túltermelés hatására a WT csoportokhoz képest (15G ábra). Érdekes módon nem volt szignifikáns különbség az LVESV, LVEDV, SV, CO, EF, e' és E/e' értékekben a HSP és a WT csoportok között (16A-CE-H ábra). A HSPB1 túltermelése nem befolyásolta az elhízás következtében kialakuló morfológiai elváltozásokat a szívben, mivel nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a mért bal kamrai falvastagságokban és átmérőkben, valamint a hemodinamikai és diasztolés funkcionális paraméterekben az APOB/HSP és az APOB állatok között (15-16 ábra). Az RT-PCR vizsgálatok alapján a WT nőstények bal kamrájában a *Tnf* expressziója szignifikánsan alacsonyabb, míg a *Lepr* expressziója szignifikánsan magasabb volt a hímekhez képest (17. ábra). Továbbá a HSPB1 túltermelés fokozta a *Lepr* expresszióját hímekben, különösen az APOB/HSP csoportban (241%, $p < 0,01$).



15.ábra A nem, az elhízás és a HSPB1-túltermelés hatása a szív morfológiai és funkcionális paramétereire. **A:** Szívtömeg; **B:** Kardiomiociták keresztmetszeti területe; **C:** Anterior bal-kamrai falvastagság szisztolében (AWTs); **D:** Anterior bal-kamrai falvastagság diasztolében (AWTd); **E:** Inferior falvastagság szisztolében (IWTs); **F:** Inferior falvastagság diasztolében (IWTd); **G:** Bal-kamrai végszisztolés átmérő (LVESD); **H:** Bal-kamrai végdiasztolés átmérő (LVEDD). WT = normál diétán tartott vad típusú, H = normál diétán tartott HSPB1 túltermelő, A = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túltermelő és A/H = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 és HSPB1 túltermelő egerek. Az értékek átlag ± SEM formájában vannak megadva; n = 11–12/csoport; ^{\$}p < 0,05 H vs. WT, ^Δp < 0,05 A vs. WT, [°]p < 0,05 A/H vs. H, [#]p < 0,05 nőstény vs. hím.



16.ábra A nem, az elhízás és a HSPB1-túlermelés hatása a szív morfológiai és funkcionális paramétereire. **A:** Bal-kamrai végszisztolés térfogat (LVESV); **B:** Bal-kamrai végdisztolés térfogat (LVEDV); **C:** Frakcionális rövidülés (FS); **D:** Verőtér-fogat (SV); **E:** perc-tér-fogat (CO); **F:** Ejekciós frakció (EF); **G:** e' sebesség; **H:** E/e' arány. WT = normál diétán tartott vad típusú, H = normál diétán tartott HSPB1 túlermelő, A = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túlermelő és A/H = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 és HSPB1 túlermelő egerek. Az értékek átlag ± SEM formájában vannak megadva; n = 11–12/csoport; \$p < 0,05 H vs. WT, ^Δp < 0,05 A vs. WT, ^op < 0,05 A/H vs. H, #p < 0,05 nőstény vs. hím.

	Gén	vs. WT		vs. WT					
		Hím		Nőstény			Hím		
		%	p érték						
		WT nőstény	WT nőstény	HSP	APOB	APOB/HSP	HSP	APOB	APOB/HSP
Citokinek	<i>Tnf</i>		0,030						
	<i>Il1b</i>		0,184						
	<i>Tgfb1</i>		0,971						
	<i>Il10</i>		0,146						
Lipid és glükóz metabolizmus	<i>Lepr</i>		0,010						
	<i>Cd36</i>		0,415						
	<i>Insr</i>		0,212						
	<i>Irs1</i>		0,090						
	<i>Slc2a4</i>		0,699						
	<i>Adipor1</i>		0,146						

17.ábra A nem, az elhízás és a HSPB1-túltermelés hatása a szívben mért relatív génexpressziós különbségek hő térképe. Az RT-PCR során vizsgáltuk a lipid- és glükózmetabolizmus, valamint a gyulladásos citokinek relatív génexpressziós változásait. WT = normál diétán tartott vad típusú, HSP = normál diétán tartott HSPB1 túltermelő, APOB = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 túltermelő és APOB/HSP = magas zsírtartalmú diétán tartott APOB-100 és HSPB1 túltermelő egerek. WT nőstény vs. WT hím összehasonlításnál a célgének nőstényekben mért relatív expresszióját hasonlítottuk a hímelekben detektált szintekhez (az eredmények százalékban, ahol a hímcsoporthoz = 100%). HSP vs. WT, APOB vs. WT, valamint APOB/HSP vs. WT összehasonlításoknál a transzgenikus állatok génexpresszióját a WT nőstény és hím állatokhoz viszonyítottuk külön-külön (az eredmények százalékban vannak megadva, ahol a WT csoportok = 100%), n = 6/csoport.

5 DISZKUSSZIÓ

Az elhízás egy olyan komplex tünetegyüttes, amely egyben számos betegség rizikófaktora is, azonban multifaktoriális mivolta miatt az általa indukált kórképek közötti pontos összefüggések még nem teljesen ismertek. Az inzulinérzékeny szövetekben megjelenő – ideértve a zsírszövetet, a májat, az izomzatot és a hasnyálmirigyet – szisztémás, krónikus, alacsony fokú gyulladt állapot jellemzi. A gyulladásos válasz kialakulásában kulcsszerepet játszanak az immunrendszer aktivált sejtjei, elsősorban a makrofágok, amelyek felhalmozódnak ezekben a szövetekben, és fokozzák a pro-inflammatorikus citokinek expresszióját (Rohm és mtsai. 2022). Az elhízással társult számos kórállapot – például a T2DM, a MASLD, CVD, illetve bizonyos daganatos megbetegedések – patogenezisében ez az enyhe, de perzisztáló gyulladásos háttér meghatározó szerepet játszhat. Ennek ellenére a gyulladásos folyamatok pontos mechanizmusa jelenleg még nem egészében tisztázott. Ezért vizsgálataink egyik fő célja az elhízás során fellépő gyulladásos folyamatok, és ezzel párhuzamosan a társbetegségek tüneteinek vizsgálata volt. Ezen kívül, mivel egyre több adat utal a HSP-k gyulladás szabályozó feladataira, azt is megvizsgáltuk, hogy egy kismolsúlyú hősokkfehérje, a HSPB1 hogyan befolyásolja a tünetek kialakulását. Kísérleteinkhez többféle diéta-indukált és genetikailag módosított elhízásmodellt használtunk, valamint vizsgáltuk a nemi különbségeket is.

A HFD-modell széles körben alkalmazzák a MetS, beleértve az elhízás, a hiperlipidémia és a hiperglikémia vizsgálatára (Li és mtsai. 2020). Ugyanakkor korábbi adatok arra utalnak, hogy a hozzáadott cukrok, különösen a fruktóz, módosíthatják a HFD metabolikus hatásait (Softic és mtsai. 2019). A fruktóz anyagcseréje jelentős mértékben eltér a glükózétól: nem stimulálja az inzulinszekréciót, és metabolizmusa döntően a hepatocitákban zajlik (Softic és mtsai. 2017). Ezen túlmenően a fruktóz erőteljes lipogén hatással rendelkezik, mivel elősegíti a zsírsavszintézist és aktiválja annak kulcsenzimeit (Softic és mtsai. 2019). Ennek következtében a túlzott fruktózbevitel jelentős mértékben hozzájárulhat a MASLD és a májban kialakuló IR progressziójához (Softic és mtsai. 2020).

Ennek megfelelően a HFD és HFD+FR modellek között számottevő különbséget találtunk bizonyos elhízással összefüggő kóros elváltozás tekintetében. Érdekes módon, bár az 5 hónapon át tartó HFD szignifikáns testtömeg-növekedést és enyhe MASLD-t eredményezett, nem alakított ki IR-t. Ezzel szemben azoknál az egereknél, amelyek HFD mellett fruktózzal dúsított ivóvizet is kaptak, az OGTT során magasabb csúcsglükóz-koncentrációkat mértünk. Ez arra utal, hogy a HFD + FR kombináció a glükózmetabolizmusra károsabb hatást gyakorol, mint a HFD önmagában, és elősegíti az IR kialakulását. Továbbá, a HFD + FR diéta nemcsak nagyobb mértékű testtömeg-növekedést okozott, hanem súlyosabb májszteatózist és a BAT-ban is fokozott lipidakkumulációt váltott ki a HFD-hez képest. A WAT-tal ellentétben a BAT elsődleges funkciója nem az energiatárolás, hanem a remegés nélküli hőtermelés (*non-shivering thermogenesis*), ezért a barna adipociták számos apró lipidcseppet tartalmaznak. Azonban túlzott kalóriabevitel hatására lipidfelhalmozódás figyelhető meg a BAT-ban is, amelynek szerkezete ilyenkor a WAT-hoz kezd hasonlítani: az adipociták kevesebb, de nagyobb lipidcseppet tartalmaznak (Tóth és mtsai. 2021). Ilyen morfológiai elváltozások kizárólag a HFD + FR csoportban voltak megfigyelhetők. A szérum lipid paraméterek tekintetében

ugyanakkor nem találtunk különbséget a két modell között. Bár a TG-szint egyik diéta hatására sem emelkedett szignifikánsan, az LDL- és HDL-koleszterinszintek hasonló mértékben növekedtek mindkét diéta következtében. Ez arra utal, hogy a szérumban hiperlipidémia kialakulásáért elsősorban a zsírfogyasztás felelős, és a fruktózbevitel – legalábbis a jelen vizsgált egérmodellben – nem gyakorol további jelentős hatást erre a paraméterre. A MASLD a TG-akkumuláció által kiváltott elváltozások folyamatát foglalja magába, amely a korai szteatózistól a krónikus gyulladással járó szteatohepatitiszen át akár fibrózisig és cirrózisig is terjedhet (Adams és mtsai. 2005; Kopec és Burns 2011). Vizsgálatainkban azt találtuk, hogy a HFD önmagában enyhe szteatózist okozott, míg fruktóz kiegészítéssel súlyosabb kórformák alakultak ki. A lényegesen magasabb NAS a fokozott lipidfelhalmozás és a felfújott májsejtek következményeként alakult ki. Ezzel összhangban több, lipidakkumuláció szabályozásában szerepet játszó gén – mint például a lipoprotein lipáz kódoló gén, a zsírsavtranszlokáz *Cd36*, valamint az irizin molekulát kódoló *Fndc5* – expressziója már HFD hatására is emelkedett, a HFD + FR esetén pedig még magasabb szintet ért el. Ugyanakkor májgyulladásra utaló szövettani elváltozásokat, illetve fokozott hepatikus citokinexpressziót nem detektáltunk. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a fruktóz kiegészítés súlyosbítja a lipidfelhalmozódást, ugyanakkor a betegség ezen stádiumában még nem vált ki gyulladásos választ a májban.

Jelenlegi ismereteink szerint az elhízással összefüggő szisztémás gyulladás fő mediátorai a WAT által termelt citokinek és más, hormonszerű molekulák (Khanna és mtsai. 2022). Mivel a fruktóz kiegészítés súlyosbította a metabolikus elváltozásokat, erőteljesebb gyulladásos válasz megjelenésére számítottunk ezekben az állatokban. Ennek megfelelően több gyulladásos jellemzőt vizsgáltunk, úgymint a citokinexpressziót és az immunsejt-aktivációt különböző szervekben és a vérben. Modelljeinkben a testtömeg növekedésével párhuzamosan emelkedett a *Lep* gén expressziója, ugyanakkor a két diéta között nem mutatkozott szignifikáns különbség ezen a téren. Három gyulladásos citokin (*Tnf*, *Il10* és *Tgfb*) expressziója szignifikánsan emelkedett HFD hatására, amelyet a fruktóz tovább fokozott. Ezzel szemben az *Il6* és *Il1b* mRNS szintje nem mutatott emelkedést az elhízott állatok vWAT-jában. A leptin és a TNF α szérumkoncentrációi összhangban voltak a zsírszövetekben mért mRNS szintekkel. Ezzel szemben az *Il1b* gén expressziója sem a vWAT-ban, sem a BAT-ban nem mutatott növekedést a diéták hatására, míg fehérje szinten magasabb koncentrációt mértünk a vérben az elhízott állatoknál az ND csoporthoz képest, ami arra utal, hogy az IL-1 β keringésben megjelenő formája más forrásból származhat. Egyes feltételezések szerint a vérbe kiválasztott citokinek hozzájárulhatnak az IR kialakulásához. Mind a TNF α , mind az IL-1 β képesek lehetnek befolyásolni az inzulinszignál útvonalait, ugyanakkor korábbi eredmények szerint a TNF α keringési szintje még elhízott betegekben is alacsonyabb, mint a biológiai hatékony koncentráció (Rohm és mtsai. 2022). Kísérleteinkben a TNF α szérumszintje magasabb volt a HFD + FR csoportban, ami összhangban áll a csoportban kimutatott magasabb IR-rel. Ezzel ellentétben az IL-1 β szérumkoncentrációja nem különbözött a két diétás csoport között, ami arra utal, hogy az IL-1 β önmagában nem elegendő az IR kialakulásához. Mivel a gyulladásos citokinek emelkedett szérumkoncentrációja krónikus szisztémás gyulladásra utal, a szisztémás immunválasz jellemzésére egysejt immunfenotipizálást végeztünk a vér, a csontvelő és a lép főbb immunsejt-populációin. A legmarkánsabb változásokat a CD69 és CD44 felszíni fehérjék expressziójában

észleltük. A CD69 az immunsejtek korai aktivációs markere, és kulcsszerepet tölt be az immunválaszok szabályozásában (Cibrián és Sánchez-Madrid 2017). Az elhízott állatokban fokozott CD69 felszíni expressziót mutattunk ki a csontvelői T-sejteken és NK-sejteken, valamint a vér- és lép-eredetű B-sejteken. Ezzel szemben a keringő NK-sejteken a CD69 expresszió csökkenését figyeltük meg elhízás hatására. Mivel a CD69 kulcsszerepet játszik az NK-sejtek tumorellenes aktivitásának (tumorsejt-lízis) megindításában (North és mtsai. 2007), csökkent expressziója gátolhatja a daganatokkal szembeni immunválaszt. Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy az elhízás kedvezőtlen hatással van az NK-sejtek működésére, és ezen keresztül hozzájárulhat a daganatfejlődéshez (Bähr és mtsai. 2020). A diétás kezelések hatására továbbá szignifikánsan fokozódott a CD44 felszíni expressziója különböző immunsejt-típusokon, többek között B-sejteken, makrofágokon, valamint CD4+ és CD8+ T-limfocitákon. A CD44 egy multifunkcionális sejtfelszíni glikoprotein, a hialuronsav és az oszteopontin receptoraként ismert, mely részt vesz a T-sejtek és NK-sejtek aktivációjában, proliferációjában. Eredményeink így további bizonyítékot szolgáltatnak a szisztémás gyulladás kialakulására az elhízott állatokban. Ugyanakkor a CD44-t nemcsak immunsejtek, hanem más sejttypusok, például hepatociták és adipociták is expresszálják, és szerepe van a diéta-indukálta gyulladásos folyamatokban is (Kang és mtsai. 2013). Ez utóbbit RT-PCR eredményeink is alátámasztják, amelyek szerint a *Cd44* gén expressziója jelentősen megnőtt a vWAT-ban, párhuzamosan a gyulladásos citokinek fokozott expressziójával. Korábbi vizsgálatokban szubkután zsírszövetben emelkedett CD44+ T-sejt-arányt figyeltek meg HFD-vel kezelt egerekben (Yang és mtsai. 2010), ami hozzájárulhatott a *Cd44* mRNS szint növekedéséhez jelen modellünkben is. Ugyanakkor, a korábbi kutatásokkal összhangban (Avila-Portillo és mtsai. 2020; Chen és mtsai. 2020), a CD44 immunfestési eredményeink azt mutatták, hogy a vWAT-ban az endotélsejtek, a mezenchimális őssejtek és kisebb mértékben az adipociták is fontos forrásai lehetnek a CD44 expressziónak. Továbbá meg kell említeni, hogy a CD44 fontos szerepet tölt be a sejtek adhéziójának és migrációjának szabályozásában, és kulcsszereplő a tumorok progressziójában és metasztázis képzésében is (Senbanjo és Chellaiyah 2017). Feltételezhető tehát, hogy a vWAT-ban megfigyelt fokozott CD44 expresszió újabb lehetséges kapcsolatot jelent az elhízás által kiváltott gyulladás és a daganatos betegségek fokozott kockázata között. Érdekes módon nem találtunk szignifikáns különbséget a CD69 és CD44 felszíni expressziójában a két elhízás-modell (HFD vs. HFD + FR) között, ami arra utal, hogy már a mérsékelt fokú elhízás is elegendő ezen immunfenotípusos változások kiváltásához.

Ennek ellenére eredményeink megerősítik, hogy a zsírdús táp és a fruktóztartalmú ivóvíz kombinációja hatékonyabb modellt biztosíthat a MetS bizonyos tüneteinek vizsgálatához, mint például az IR vagy a MASLD. Fontos azonban megjegyezni, hogy a fruktóz elsősorban a hepatikus lipid akkumulációban játszik szerepet, nem idéz elő emelkedett szérumkoleszterin-szintet (Szűcs és mtsai. 2019), ennek megfelelően a hiperlipidémiát a mi kísérletünkben sem súlyosbította.

Másik kísérletsorozatunkban ezért az elhízást genetikai módosítás és diéta kombinációjának segítségével modelleztük. Az APOB-100 túltermelése ugyanis egerekben megnövekedett LDL/HDL arányhoz vezet, így egy olyan szérum lipid profil jellemzi ezeket az állatokat, ami jobban hasonlít az emberéhez. Ennek következtében HFD-n tartva ez az egértörzs kiváló modellként szolgál a hiperkoleszterinémia és az

érelmeszesedés tüneteinek vizsgálatához (Csont és mtsai. 2007). Ezt jól mutatja, hogy a HFD-n tartott APOB-100 állataink szérum LDL-koleszterin szintje több mint kétszerese volt a HFD+FR állatokban mérhető értéknek, annak ellenére, hogy testtömegük megközelítőleg azonos volt. A hiperlipidémia mellett a HFD-n tartott APOB-100 állatokban megjelennek az elhízáshoz kapcsolható egyéb tünetek és társbetegségek is, úgy, mint az emelkedett éhomi vércukorszint, szisztémás gyulladás, a szív kóros elváltozásai vagy a MASLD (Tóth és mtsai. 2021, 2022). Fontos megjegyezni azonban, hogy a NAS és lipidcseppszám értékek alapján a HFD+FR modellben súlyosabb szteatózis alakul ki a májban, mint a HFD-n tartott APOB-s állatokban. Szembetűnő különbség még a modellek között, hogy míg a fruktóz kiegészítés nem okozott lényeges növekedést a *Cd44* expressziójában a HFD-vel kezelt állatokhoz képest, a HFD és APOB túltermelés kombinációja egy jelentősen magasabb *Cd44* mRNS szintet eredményezett a vWAT-ban. A CD44 nemcsak az atherogenezisben játszhat szerepet (Krolikoski és mtsai. 2019), de kimutatták például, hogy kolorektális adenokarcinóma sejtekben megemelkedik a *Cd44* expressziója oxidált LDL-koleszterin kezelés következtében (Zheng és mtsai. 2022). Bár az irodalomban számtalan ellentmondásos adat található a szérum koleszterinszint és a rák kapcsolatát illetően, több tanulmány rávilágít az LDL-koleszterin daganatos betegségekben betöltött fontos szerepére (Deng és mtsai. 2022), melyhez elképzelhető, hogy a *Cd44* expressziót befolyásoló hatása is hozzájárulhat. A két kísérletsorozatban használt állatok eltérő életkora és a különböző hosszúságú diéták miatt természetesen a két modell precíz összehasonlításához az eredmények célzott kísérletekkel történő megerősítése is szükséges lenne. Azonban az APOB-s állatokban megfigyelhető magasabb szérum LDL szint és a fruktózzal kezelt állatokra jellemző súlyosabb zsírmáj jól illeszkedik az irodalmi adatokhoz.

Második kísérletsorozatunkban külön figyelmet fordítottunk a nemi különbségek vizsgálatára is. Már korábbi tanulmányaink során is megfigyeltük, hogy az elhízáshoz kapcsolódó bizonyos tünetek súlyosabb formában jelentkeznek a HFD-n tartott APOB-100 hím állatokban, mint a nőstényekben (Tóth és mtsai. 2021, 2022), amit mostani eredményeink is megerősítenek. Míg a testsúly és az LDL-koleszterinszint mindkét nemben megemelkedett, magas szérum glükóz- és TG-szint csak a hímekben volt megfigyelhető. Ezen kívül a MASLD kialakulását kizárólag az APOB hím egyedeknél észleltük HFD hatására. Nőstény APOB egerekben azonban sem a máj tömege, sem a lipidcseppek mérete, vagy száma nem nőtt. A szív morfológiáját és funkcióját érintő elváltozások is súlyosabbak voltak a hím APOB állatokban a nőstényekhez képest. Az APOB hímeknél a bal kamrai hipertrófia és a diasztolés diszfunkció megtartott EF-fel járt együtt, ami az arányosan csökkent LVEDV-nek és LVESV-nek, a csökkent SV-nek és CO-nak köszönhető. Ezzel szemben az APOB nőstényeknél aránytalanul megnövekedett LVEDV-t és LVESV-t mértünk, aminek következtében csökkent EF-t mutattak enyhe diasztolés diszfunkcióval.

Az ösztrogén protektív hatásain túlmenően (Minta és mtsai. 2018; Zhu és mtsai. 2013) a nőstény egerek nagyobb leptin-érzékenysége is hozzájárulhat ehhez a jelenséghez. Génexpressziós vizsgálataink szerint ugyanis a leptin receptor expressziós szintje mindhárom vizsgált szövettípusban magasabb volt a vad típusú nőstényekben a hímekhez viszonyítva, ami szintén egybevág korábbi eredményeinkkel. A leptin egy elsősorban zsírsejtekben termelődő adipokin, mely az étvágy csökkentő hatása révén fontos szerepet játszik az energiahomosztázis és a testsúly fenntartásában. Leptin receptorok azonban

nemcsak az agyban, hanem perifériás szövetekben is megtalálhatóak, mint például a májban, az izomban vagy a zsírszövetben. Kimutatták, hogy a perifériás leptinrezisztencia a lipid- és glükózanyagcsere felborulásához vezet, ezáltal hozzájárulhat az elhízás során kialakuló tünetek súlyosbodásához (Sáinz és mtsai. 2015). Elképzelhetőnek tartjuk, hogy az egészséges nőstényekben megfigyelt magasabb leptin receptor expresszió is szerepet játszik abban, hogy ellenállóbbak a diéta által kiváltott tünetek kialakulásával szemben.

Ezen kívül a vWAT génexpressziós mintázatának vizsgálata során azt is megfigyeltük, hogy *Tnf* expresszió csak az elhízott hím állatokban emelkedett jelentősen. A $TNF\alpha$ több krónikus betegség mellett az elhízással is összefügg, és a zsírszövet általi fokozott termelése hozzájárulhat számos elhízással kapcsolatos tünet kialakulásához, például IR-hez (Draznin 2006; Tzanavari és mtsai. 2010), hipertrigliceridémiához (Makoveichuk és mtsai. 2017), MASLD-hoz (Lu és mtsai. 2022) vagy a szív funkcionális zavarához (Gutiérrez-Cuevas és mtsai. 2021). Ezért a *Tnf* expresszió jelentős növekedésének hiánya a vWAT-ban mind az APOB, mind az APOB/HSP nőstények esetében összhangban áll a fentebb említett tünetek enyhébb megjelenésével.

Az elmúlt évek kutatásai egyre több bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy a molekuláris *chaperonok* közé tartozó HSP-k szerepet játszanak a gyulladásos folyamatok és bizonyos metabolikus zavarok szabályozásában (Dukay és mtsai. 2021, 2019; Tóth és mtsai. 2015). Vizsgálataink során szignifikáns emelkedést tapasztaltunk a HSPB5 fehérjét kódoló *Cryab* mRNS szintjében a vWAT-ban a HFD, a HFD + FR és a HFD/APOB modellek esetében is. Az endogén *Hspb1* génexpressziójában egy kisebb mértékű, de szignifikáns emelkedést tapasztaltunk a HFD+FR állatok esetében, míg a *Hspa1* expressziója mindhárom modellben csökkenő tendenciát mutatott. Ezenkívül erős pozitív korrelációt találtunk a *Lep* és a *Cryab* gének expressziós szintjei között. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a kismolsúlyú hősokkfehérjék részt vehetnek az elhízással összefüggő anyagcsere-eltérések szabályozásában. Ez összhangban áll korábbi kutatásokkal, amelyek szerint az HSPB5 adipokinként funkcionálhat (Lehr és mtsai. 2012), és a HSPB2-vel együtt szerepet játszhat a diéta-indukált cukorbetegség patomechanizmusában (Toft és mtsai. 2016). A HSPB1 ilyen irányú hatásairól azonban kevesebb adat áll rendelkezésünkre, ezért második kísérletsorozatunk fókuszában ez a hősokkfehérje állt. Bár a HSP-ket sokáig intracelluláris fehérjéknek tekintették, szekréciójuk mára jól ismert jelenség, és egyre több adat utal arra, hogy a sejtek által termelt exoszómákban a HSPB1 is megtalálható (De Maio és mtsai. 2019; Rayner és mtsai. 2009). A kismolsúlyú HSP-k extracelluláris jelenlétét különböző kóros állapotokkal hozták összefüggésbe. A HSPB1-et kimutatták többek között különféle daganatok, krónikus pancreatitis vagy akut iszkémiás stroke esetén is a betegek szérumban mintáiban (Fanelli és mtsai. 1998; Gruden és mtsai. 2013; Liao és mtsai. 2009), emellett iszkémiát követően szívizomsejtekből is szekretálódik HSPB1 (Jin és mtsai. 2014). Érdekes, hogy a HSPB1 szekrécióját fokozza mind az atheroszklerózis kialakulásában szerepet játszó acetilált LDL, mind az ösztrogénkezelés. Ennek megfelelően korábban megfigyelték, hogy a HSPB1 szérumszintje magasabb a HFD-vel táplált APOE^{-/-} nőstény egerekben, mint a hímekben, és ez fordított arányban áll az atheroszklerotikus léziók területével. Ráadásul az extracelluláris HSPB1 képes csökkenteni az acLDL makrofágok általi felvételét, ezáltal gátolni a habsejt-képződést és a hozzá kapcsolódó gyulladást, ami azt jelzi, hogy a keringő HSPB1 ösztrogénfüggő, érlemezéscsökkentő-ellenes

hatással bír (Rayner és mtsai. 2008, 2009). Ezzel szemben jelen vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a HSPB1 túltermelése további testtömeg-növekedést idézett elő a HFD-vel táplált APOB-100 túltermelő nőtény egerekben, míg a hímek testtömege nem változott. Tanulmányunk egyik legérdekesebb megfigyelése a HSPB1 túltermelésének ellentétes hatása a szérumban LDL-koleszterinszintre a két nemben: míg az APOB/HSP hímeknél a szérumban LDL szignifikánsan alacsonyabb volt a vad típushoz képest, addig nőtény APOB állatokban a HSPB1 túltermelése az LDL-szint növekedésének irányába hatott. A csökkent LDL-koncentráció az APOB/HSP hímek esetében arra utal, hogy a HSPB1 túltermelése közvetlen védő hatással bír a hiperkoleszterinémiával szemben. Ezzel párhuzamosan az elhízás hatására megemelkedő *Cd44* génexpressziót a HSPB1 túltermelése közel felére csökkentette a hím állatok zsírszövetében. A CD44 egy membránreceptor melynek szintje megemelkedik elhízás során mind a májban, mind a zsírszövetben, és fontos szerepet játszik a MetS több aspektusában, így az IR-ben, szteatózisban és gyulladásban (Kang és mtsai. 2013). Kimutatták továbbá, hogy a makrofág infiltráció és a *Tnf* expresszió alacsonyabb szintű HFD-vel táplált CD44 *knock-out* egerek zsírszövetében a vad típushoz képest (Kang és mtsai. 2013; VerHague és mtsai. 2022). Ezek alapján elképzelhető, hogy az APOB/HSP hímekben megfigyelhető alacsonyabb *Cd44* expresszió összefüggésben áll a *Tnf* expresszió csökkenő tendenciájával, ami a HSPB1 gyulladáscsökkentő hatásaira utal (Park és mtsai. 2003).

A hímekkel ellentétben a nőtény APOB/HSP egerekben megfigyelt testtömeg-növekedés és emelkedett LDL-szint azt a lehetőséget veti fel, hogy a HSPB5 és HSPB2 fehérjékhez hasonlóan a HSPB1 is szerepet játszhat a HFD-indukált metabolikus eltérések kialakulásában. Fontos azonban megjegyezni, hogy a magasabb testtömeg ellenére az elhízással összefüggő tünetek és társbetegségek sem súlyosbodtak tovább az APOB/HSP nőtényekben. Épp ellenkezőleg, a gyulladásos citokinek génexpressziójában inkább egy csökkenő tendenciát figyelhetünk meg az APOB/HSP nőtények esetében, mind a máj-, mind a zsírszövetben az APOB csoporttal összehasonlítva. Az elhízás és a HSPB1 túltermelésének egy másik érdekes, nemek közötti eltérést mutató hatása az *Fgf21* expressziós szintje esetén figyeltük meg. Az FGF21 egy peptid hormon, melynek az energiahomeosztázis szabályozásában van szerepe. Az *Fgf21* expressziója szignifikánsan csökkent az APOB hím csoportban, amit a HSPB1 túltermelés nem befolyásolt. Ezzel szemben az *Fgf21* mRNS szintje enyhén emelkedett az APOB nőtényekben, és az APOB/HSP csoportban jelentősen magasabb volt. Habár a keringő FGF21 fő forrása a máj, más szervek, például a zsírszövetek is kifejezik azt (van Baak és mtsai. 2020). Korábbi vizsgálatok szerint az FGF21 autokrin módon is szabályozhatja az adipocitákban zajló folyamatokat, például a glükózfelvételt (Justesen és mtsai. 2020), vagy a fehér zsírszövet barnulását (Abu-Odeh és mtsai. 2021). HFD-vel táplált inzulinrezisztens egerekben a WAT-specifikus FGF21 túltermelés javította az anyagcsere-funkciókat azáltal, hogy csökkentette a gyulladást, az IR-t és a szteatózist (Queen és mtsai. 2021). Feltételezzük, hogy az APOB/HSP nőtények vWAT-jában tapasztalt magas *Fgf21* expresszió hozzájárulhat az anyagcsere egészségének megőrzéséhez a magasabb testtömeg ellenére is.

Ezen felül kimutattuk, hogy az *Lpl* expressziója megemelkedett az APOB egerek májában mindkét nemben. Érdekes módon az APOB hím egerek *Lpl* expressziója tovább nőtt HSPB1 túltermelés hatására, míg az APOB/HSP nőtényekben normalizálódott. Az LPL a lipoproteinek által szállított TG-k hidrolíziséért felelős, és fontos szerepet tölt be a

lipidanyagcsere szabályozásában. Bár normálisan felnőtt korban alacsony az expressziója a májban, MASLD-s betegekben megfigyelhető a szintjének emelkedése (Teratani és mtsai. 2019; Westerbacka és mtsai. 2007). Emellett kimutatták, hogy a májban történő túltermelése felgyorsítja a TG felhalmozódását (Kim és mtsai. 2001), ami alátámasztja az LPL szerepét a MASLD kialakulásában. Ennek megfelelően a legmagasabb *Lpl* expressziót az APOB és APOB/HSP hímek májában figyeltük meg, párhuzamosan a jelentős zsírmáj jeleivel. Érdekes módon, habár az APOB nőstényekben nem alakult ki MASLD, az *Lpl* expresszió esetükben is megemelkedett, ami arra utal, hogy a magas LPL szint önmagában nem elég a betegség kialakulásához. Mindazonáltal az APOB/HSP nőstényekben normalizálódott *Lpl* expresszió hozzájárulhat ahhoz, hogy a magasabb testtömeg és szérum LDL-szint ellenére sem alakult ki szteatózis ebben a csoportban. Ezen eredmények felvetik annak lehetőségét, hogy a HSPB1 túltermelődése képes ellensúlyozni a HFD káros hatásait az APOB nőstényekben, lehetővé téve számukra az energiatartalékok növelését negatív következmények nélkül.

Korábbi eredmények szerint a HSP-k kardioprotektív szerepet töltenek be (Tarone és Brancaccio 2014), modellünkben azonban a HSPB1 túltermelés önmagában nem tudta megszüntetni ezeket a tüneteket. Érdekességgént viszont egészséges egerekben váratlan hatást figyeltünk meg: mind a hím, mind a nőstény HSPB1-túltermelő állatok bal kamrájában a falvastagság növekedését detektáltunk, a vad típusú állatokhoz képest. Ez HSPB1 által indukált szívizom hipertrófiára utal, amely azonban nem jár együtt diasztolés diszfunkcióval. Ismert, hogy például testmozgás hatására kialakulhat egy adaptív, fiziológiás hipertrófia, melyben a HSP-nek is szerepe lehet. Megfigyelték ugyanis, hogy a HSP-k, köztük a HSPB1 expressziója megemelkedik testmozgás hatására a szívizomszövetben, míg a HSF1 csökkent szintje rontja az adaptív stresszválaszt az edzés során, ami szívfunkciós zavart eredményez (Sakamoto és mtsai. 2006). Kísérleteink eredményei felvetik annak lehetőségét, hogy a HSPB1 nemcsak gátolja a hipertrófiával járó szívfunkciós zavarok kialakulását, hanem maga is részt vehet az adaptív hipertrófia folyamatában.

Összegzésként elmondható, hogy bár a HFD önmagában is alkalmas bizonyos elhízással kapcsolatos paraméterek vizsgálatára, a fruktóz kiegészítéssel alkalmazott HFD + FR modell jobban tükrözi a nyugati típusú diéta metabolikus hatásait. A HFD + FR csoportban a testtömeg és a máj zsírfelhalmozódása nagyobb mértékben növekedett, és csak ebben a csoportban alakult ki IR. Ennek megfelelően a fruktóz kiegészítés fokozta a szérum TNF α szintjét, valamint bizonyos citokinek expresszióját a fehér- és barna zsírszövetben, ami fokozott szisztémás gyulladásra utal. Mindazonáltal, a két elhízásmodell között megfigyelt különbségek ellenére mindkettő esetében kimutathatók voltak olyan immunfenotípusos eltérések, amelyek összefüggésbe hozhatók az elhízással járó daganatos betegségek fokozott kockázatával. Megfigyeltük továbbá, hogy a fenti, pusztán diéta-indukált modellekkel szemben a HFD APOB-100 túltermeléssel történő kombinációja magasabb szérum LDL-szintet és vWAT *Cd44* génexpressziót eredményezett. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy jövőbeli kísérleteinkhez a humán diéta és az emberekben elhízás során lejátszódó folyamatok még pontosabb modellezéséhez egy HFD+FR diétán tartott APOB-100 modell lenne a legmegfelelőbb.

Eredményink továbbá arra is rámutatnak, hogy a HSPB1 részt vehet az elhízással összefüggő anyagcserezavarok szabályozásában, azonban hatása nemi dimorfizmust

mutat. Első megközelítésre az APOB/HSP nőstényeknél tapasztalt fokozott testsúlynövekedés és emelkedett szérum LDL-szint azt sugallja, hogy a HSPB1 túltermelése hozzájárulhat az elhízás káros következményeihez. Ugyanakkor, a nagyobb testsúly ellenére, az általunk vizsgált társbetegségek, mint a gyulladás, zsírmáj vagy szívfunkciós zavarok, nem mutattak romlást ezekben az állatokban. Tekintettel arra, hogy korábbi tanulmányok szerint az extracelluláris HSPB1 ösztrogénfüggő atheroprotektív hatással bír, feltételezhető, hogy a HSPB1 összetett szabályozó szerepet tölt be az elhízással összefüggő kórfolyamatokban. E tulajdonságok megértése elősegítheti a jövőbeni terápiás alkalmazások fejlesztését. Ugyanakkor kiemelten fontos a nemi különbségek figyelembevétele a lehető legoptimálisabb klinikai kimenetek eléréséhez.

6 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálámat szeretném kifejezni témavezetőmnek, **Dr. Tóth E. Melindának** a felém tanúsított türelméért, szakmai útmutatásáért és folyamatos támogatásáért. Köszönöm mindazokat a tapasztalatokat és lehetőségeket, amelyeket az ő segítségével szerezhettem, valamint azt, hogy általa számos értékes szakmai és emberi élménnyel gazdagodhattam.

Hálás vagyok társtémavezetőmnek és egyben csoportvezetőmnek **Dr. Török Zsoltnak**, illetve a Molekuláris Stresszbiológia Csoport korábbi vezetőjének **Prof. Dr. Vigh Lászlónak**, akik révén csatlakozhattam a csoporthoz, és akik mindvégig támogattak, jó tanácsokkal elláttak és biztosították a feltételeket a kísérleti munkám során. Köszönetemet fejezem ki **Dr. Sántha Miklósnak**, az Állatgenetikai és Molekuláris Neurobiológiai Laboratórium vezetőjének, hogy a PhD tanulmányaimat csoportjában kezdhettem meg.

Köszönettel tartozom **Dr. Sárközy Mártinak** az echokardiográfiás mérésekért, a szakmai tanácsaiért és a munkám során nyújtott segítségéért.

Halásan köszönöm a Funkcionális Genomikai Laboratórium valamennyi tagjának a vizsgálatokban való együttműködést. Külön köszönöm **Dr. Puskás Lászlónak**, **Dr. Szebeni Gábornak**, **Dr. Neuperger Patríciának** és **Dr. Gémes Nikolettnek** a tömegcitometriai és plazmafehérje mérések elvégzését.

Köszönöm **Prof. Dr. Tiszlavicz Lászlónak** a májmetszeteink patológiai elemzését.

Köszönettel tartozom együttműködő partnereinknek: az SZTE SZAOK MEDICS Munkacsoportból: **Dr. Csont Tamásnak** és **Dr. Szűcs Gergőnek**; a Lendület Mikroszkópos Képfeldolgozó és Gépi Tanulási Csoportból: **Dr. Horváth Péternek**, **Kriston Andrásnak** és **Kovács Ferencnek**; az SZTE Szent-Györgyi Albert Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermekegészségügyi Központ, Anyagcsere-betegségek Szűrővizsgálati Laboratóriumából: **Dr. Monostori Péternek** és **Dr. Galla Zsoltnak**; az SZTE, SZAOK Pathologia Intézetből: **Prof. Dr. Cserni Gábornak**, és a HUN-REN SZBK KSZL Központi Állatház munkatársainak, hogy hozzájárulásukkal lehetővé tették a dolgozat létrejöttét, valamint köszönöm a munkám során nyújtott technikai és elméleti segítségüket.

Hálával tartozom **Dr. Varga-Zsíros Vandának** a támogató beszélgetésekért, különösen nagyra értékelem, hogy bármilyen helyzetben bizalommal fordulhattam hozzá, és mindig számíthattam rá – szakmailag és emberileg egyaránt.

Köszönettel tartozom **Dr. Péter Máriának**, amiért mindig volt és van egy jó szava felém. Köszönöm, hogy a „*mestere” lehetek, igyekszem rászolgálni a címre. És egyúttal köszönöm **Dr. Balogh Gábornak** is, hogy Marcsival együtt támogattak.

Köszönetet szeretnék mondani **Dr. Hunya Ákosnak** a támogatásáért és hogy mind szakmailag mind emberileg segítségemre volt. Köszönöm **Dr. Dukic Barbarának** az ösztönző szavakat.

Köszönettel tartozom **Rákóczi Bettinának**, aki bármikor képes volt felvidítani és ösztönözni, irigylésre méltó lelkesedésével.

Köszönöm a Molekuláris Stresszbiológia Csoport valamennyi volt és jelenlegi tagjának, **Dr. Horváth Ibolyának, Dr. Glatz Attilának, Dr. Gombos Imrének, Gudmann Péternek, Dr. Pilbat Ana-Mariának, Dr. Kóta Zoltánnak, Bozóné Tóth Katának, Benyhe Zsuzsának, Zukic Erikának, Szabó Editnek, Hajdu Petrának, Dobóné Barta Évának, Hósi Rajmundnak és Koltai Zsófiának**, a közös gondolkodást, a technikai és szakmai támogatást, valamint az inspiráló, segítőkész légkört.

Hálával tartozom egykori munkatársamnak **Dr. Dukay Brigittának**, aki nélkül az agyszeletek felhúzása nem menne álmomból felkeltve is. Köszönöm a közös munkát.

Ugyan **Kis-Sebestyén Lászlóné Hegyvári Ibolya** már nem lehet velünk, amikor ezeket a sorokat írom, azonban nem maradhat ki a köszönetnyilvánításból, hiszen oszlopos tagja volt a csoportnak. Köszönöm neki a türelmét a figyelmét és minden beszélgetést, amivel megkönnyítette a kezdeti időszakot.

Köszönettel tartozom barátaimnak, hogy mindvégig kitartottak mellettem és támogattak. Külön köszönöm **Varga Gabriellának** a sok éves támogatását és felbecsülhetetlen barátságát.

Mérhetetlen hálával tartozom férjemnek, **Gellén Tamásnak**, amiért mindvégig támogatott és mellettem állt. Köszönöm a türelmet, és hogy egy séta mindig belefért.

Végül, de nem utolsó sorban végtelen hálával tartozom **családomnak**, hogy munkám során szeretetükkel, türelmükkel és biztatásukkal mindvégig támogattak és mellettem álltak. Köszönöm **Anyukámnak** és **Apukámnak**, hogy bíztak bennem és ösztönöztek, nélkülük nem juthattam volna el idáig.

Munkánkat az NKFIH FK138390, és a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásával készült.

7 IRODALOMJEGYZÉK

- Abu-Odeh, Mohammad, Yuan Zhang, Shannon M. Reilly, Nima Ebadat, Omer Keinan, Joseph M. Valentine, Maziar Hafezi-Bakhtiari, Hadeel Ashayer, Lana Mamoun, Xin Zhou, Jin Zhang, Ruth T. Yu, Yang Dai, Christopher Liddle, Michael Downes, Ronald M. Evans, Steven A. Kliewer, David J. Mangelsdorf, és Alan R. Saltiel. 2021. „FGF21 promotes thermogenic gene expression as an autocrine factor in adipocytes”. *Cell Reports* 35(13). doi:10.1016/j.celrep.2021.109331.
- Adams, Leon A., Paul Angulo, és Keith D. Lindor. 2005. „Nonalcoholic fatty liver disease”. *CMAJ. Canadian Medical Association Journal* 172(7):899–905. doi:10.1503/cmaj.045232.
- Alföldi, Róbert, József Balog, Nóra Faragó, Miklós Halmai, Edit Kotogány, Patrícia Neuperger, Lajos I. Nagy, Liliána Z. Fehér, Gábor J. Szebeni, és László G. Puskás. 2019. „Single cell mass cytometry of non-small cell lung cancer cells reveals complexity of in vivo and three-dimensional models over the petri-dish”. *Cells* 8(9). doi:10.3390/cells8091093.
- Ankar, Julius, és Lea Sistonen. 2007. *Heat Shock Factor 1 as a Coordinator of Stress and Developmental Pathways*. Köt. 594. szerkesztette Péter Csermely és László Vígh. Molecular Aspects of the Stress Response: Chaperones, Membranes and Networks, Springer.
- Ann M. Ingalls, Margaret M. Dickie, és G. D. Snell. 1950. „Obese, a new mutation in the house mouse”. *The Journal of Heredity* 41(12):317–18. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a106073.
- Aoun, Rita, Fatima Al Zahraa Chokor, Mandy Taktouk, Mona Nasrallah, Hussain Ismaeel, Hani Tamim, és Lara Nasreddine. 2022. „Dietary fructose and its association with the metabolic syndrome in Lebanese healthy adults: a cross-sectional study”. *Diabetology and Metabolic Syndrome* 14(1). doi:10.1186/s13098-022-00800-5.
- Arrigo, André Patrick. 2013. „Human small heat shock proteins: Protein interactomes of homo- and hetero-oligomeric complexes: An update”. *FEBS Letters* 587(13):1959–69.
- Avila-Portillo, Luz M., Fabio Aristizabal, Angela Riveros, Martin C. Abba, és Diego Correa. 2020. „Modulation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cell Transcriptome by G-CSF Stimulation”. *Stem Cells International* 2020. doi:10.1155/2020/5045124.
- van Baak, Marleen A., Roel G. Vink, Nadia J. T. Roumans, Christine C. Cheng, Andrew C. Adams, és Edwin C. M. Mariman. 2020. „Adipose tissue contribution to plasma fibroblast growth factor 21 and fibroblast activation protein in obesity”. *International Journal of Obesity* 44(2):544–47. doi:10.1038/s41366-019-0433-x.
- Bähr, Ina, Julia Spielmann, Dagmar Quandt, és Heike Kielstein. 2020. „Obesity-Associated Alterations of Natural Killer Cells and Immunosurveillance of Cancer”. *Frontiers in Immunology* 11.

- Balog, Jozsef A., Agnes Kemeny, Laszlo G. Puskas, Szilard Burcsar, Attila Balog, és Gabor J. Szebeni. 2021. „Investigation of Newly Diagnosed Drug-Naive Patients with Systemic Autoimmune Diseases Revealed the Cleaved Peptide Tyrosine Tyrosine (PYY 3-36) as a Specific Plasma Biomarker of Rheumatoid Arthritis”. *Mediators of Inflammation* 2021. doi:10.1155/2021/5523582.
- Balog, József, László Hackler, Anita K. Kovács, Patrícia Neuperger, Róbert Alföldi, Lajos I. Nagy, László G. Puskás, és Gábor J. Szebeni. 2020. „Single cell mass cytometry revealed the immunomodulatory effect of cisplatin via downregulation of splenic cd44+, il-17a+ mdses and promotion of circulating ifn- γ + myeloid cells in the 4t1 metastatic breast cancer model”. *International Journal of Molecular Sciences* 21(1). doi:10.3390/ijms21010170.
- Balog, József, Viktor Honti, Éva Kurucz, Beáta Kari, László G. Puskás, István Andó, és Gábor J. Szebeni. 2021. „Immunoprofiling of Drosophila Hemocytes by Single-cell Mass Cytometry”. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics* 19(2):243–52. doi:10.1016/j.gpb.2020.06.022.
- Beere, Helen M. 2004. „»The stress of dying«: The role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis”. *Journal of Cell Science* 117(13):2641–51.
- Bellanger, Tiffany, és Stéphanie Weidmann. 2023. „Is the lipochaperone activity of sHSP a key to the stress response encoded in its primary sequence?” *Cell Stress and Chaperones* 28(1):21–33.
- Bereczki, Erika, Gábor Bernat, Tamas Csont, Péter Ferdinandy, Henning Scheich, és Miklós Sántha. 2008. „Overexpression of human apolipoprotein B-100 induces severe neurodegeneration in transgenic mice”. *Journal of Proteome Research* 7(6):2246–52. doi:10.1021/pr7006329.
- Bjelik, Annamária, Erika Bereczki, Szilvia Gonda, Anna Juhász, Ágnes Rimanóczy, Marianna Zana, Tamás Csont, Magdolna Pákáski, Krisztina Boda, Péter Ferdinandy, László Dux, Zoltán Janka, Miklós Sántha, és János Kálmán. 2006. „Human apoB overexpression and a high-cholesterol diet differently modify the brain APP metabolism in the transgenic mouse model of atherosclerosis”. *Neurochemistry International* 49(4):393–400. doi:10.1016/j.neuint.2006.01.026.
- Bjornstad, Petter, és Robert H. Eckel. 2018. „Pathogenesis of Lipid Disorders in Insulin Resistance: a Brief Review”. *Current Diabetes Reports* 18(12).
- Brunt, Elizabeth M., David E. Kleiner, Laura A. Wilson, Patricia Belt, és Brent A. Neuschwander-Tetri. 2011. „Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: Distinct clinicopathologic meanings”. *Hepatology* 53(3):810–20. doi:10.1002/hep.24127.
- Bruxel, Maciel Alencar, Angela Maria Vicente Tavares, Luiz Domingues Zavarize Neto, Victor de Souza Borges, Helena Trevisan Schroeder, Patricia Martins Bock, Maria Inês Lavina Rodrigues, Adriane Belló-Klein, és Paulo Ivo Homem de Bittencourt. 2019. „Chronic whole-body heat treatment relieves atherosclerotic lesions, cardiovascular and metabolic abnormalities, and enhances survival time restoring

- the anti-inflammatory and anti-senescent heat shock response in mice". *Biochimie* 156:33–46. doi:10.1016/j.biochi.2018.09.011.
- Buzzetti, Elena, Massimo Pinzani, és Emmanuel A. Tsochatzis. 2016. „The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)". *Metabolism: Clinical and Experimental* 65(8):1038–48. doi:10.1016/j.metabol.2015.12.012.
- Calderwood, Stuart K., Jianlin Gong, és Ayesha Murshid. 2016. „Extracellular HSPs: The complicated roles of extracellular HSPs in immunity". *Frontiers in Immunology* 7(APR).
- Calligaris, Sebastián D., Manuel Lecanda, Felipe Solis, Marcelo Ezquer, Jaime Gutiérrez, Enrique Brandan, Andrea Leiva, Luis Sobrevia, és Paulette Conget. 2013. „Mice Long-Term High-Fat Diet Feeding Recapitulates Human Cardiovascular Alterations: An Animal Model to Study the Early Phases of Diabetic Cardiomyopathy". *PLoS ONE* 8(4). doi:10.1371/journal.pone.0060931.
- Chen, Hong, Olga Charlat, Louis A. Tartaglia, Elizabeth A. Woolf, Xun Weng, és Stephen J. Ellis. 1996. *Evidence That the Diabetes Gene Encodes the Leptin Receptor: Identification of a Mutation in the Leptin Receptor Gene in db/db Mice However, db/db mice fail to respond to recombinant*. Köt. 84.
- Chen, Keqin, Changmiao Hou, Lei Xu, Hanwu Peng, Chaogui He, Jing Liu, Guoqing Wang, Shaoshuai Huang, és Xiehong Liu. 2022. „HSPB1 Regulates Autophagy and Apoptosis in Vascular Smooth Muscle Cells in Arteriosclerosis Obliterans". *Cardiovascular Therapeutics* 2022. doi:10.1155/2022/3889419.
- Chen, Li, Chenying Fu, Qing Zhang, Chengqi He, Feng Zhang, és Quan Wei. 2020. „The role of CD44 in pathological angiogenesis". *FASEB Journal* 34(10):13125–39. doi:10.1096/fj.202000380RR.
- Christopher Glass, Atherosclerosis K., és Joseph L. Witztum. 2001. *Atherosclerosis: The Road Ahead Review*. Köt. 104.
- Christopher P. Day, és Oliver W. James. 1998. „Steatohepatitis: A Tale of Two ``Hits'?" *Gastroenterology*. doi:10.1016/s0016-5085(98)70599-2.
- Chung, Jason, Anh-Khoi Nguyen, Darren C. Henstridge, Anna G. Holmes, M. H. Stanley Chan, Jose L. Mesa, Graeme I. Lancaster, Robert J. Southgate, Clinton R. Bruce, Stephen J. Duffy, Ibolya Horvath, Ruben Mestril, Matthew J. Watt, Philip L. Hooper, Bronwyn A. Kingwell, Laszlo Vigh, Andrea Hevener, Mark A. Febbraio, és Michael Karin. 2008. „HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance". 5;105(5):1739-44. doi:10.1073/pnas.0705799105.
- Cibrián, Danay, és Francisco Sánchez-Madrid. 2017. „CD69: from activation marker to metabolic gatekeeper". *European Journal of Immunology* 47(6):946–53.
- Coleman, DL, és KP Hummel. 1973. „The Influence of Genetic Background on the Expression of the Obese (Oh) Gene in the Mouse*". *Diabetologia* 9:287–93. doi:10.1007/BF01221856.

- Cornier, Marc Andre, Dana Dabelea, Teri L. Hernandez, Rachel C. Lindstrom, Amy J. Steig, Nicole R. Stob, Rachael E. Van Pelt, Hong Wang, és Robert H. Eckel. 2008. „The metabolic syndrome”. *Endocrine Reviews* 29(7):777–822.
- Csoboz, Balint, Imre Gombos, Zoltán Kóta, Barbara Dukic, Éva Klement, Vanda Varga-Zsíros, Zoltán Lipinszki, Tibor Páli, László Vigh, és Zsolt Török. 2022. „The Small Heat Shock Protein, HSPB1, Interacts with and Modulates the Physical Structure of Membranes”. *International Journal of Molecular Sciences* 23(13). doi:10.3390/ijms23137317.
- Csont, Tamás, Erika Bereczki, Péter Bencsik, Gabriella Fodor, Anikó Görbe, Ágnes Zvara, Csaba Csonka, László G. Puskás, Miklós Sántha, és Péter Ferdinandy. 2007. „Hypercholesterolemia increases myocardial oxidative and nitrosative stress thereby leading to cardiac dysfunction in apoB-100 transgenic mice”. *Cardiovascular Research* 76(1):100–109. doi:10.1016/j.cardiores.2007.06.006.
- Csont, Tamás, Csaba Csonka, Péter Ferdinandy, Gábor Balogh, Imre Boros, Ibolya Horváth, és László Vigh. 2002. „Hyperlipidemia induced by high cholesterol diet inhibits heat shock response in rat hearts”. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 290(5):1535–38. doi:10.1006/bbrc.2002.6377.
- Demigné, Christian, May Bloch-Faure, Nicolas Picard, Houada Sabboh, Catherine Besson, Christian Rémésy, Valérie Geoffroy, Anh Thu Gaston, Antonino Nicoletti, Albert Hagège, Joël Ménard, és Pierre Meneton. 2006. „Mice chronically fed a westernized experimental diet as a model of obesity, metabolic syndrome and osteoporosis”. *European Journal of Nutrition* 45(5):298–306. doi:10.1007/s00394-006-0599-6.
- Deng, Chang Feng, Neng Zhu, Tan Jun Zhao, Hong Fang Li, Jia Gu, Duan Fang Liao, és Li Qin. 2022. „Involvement of LDL and ox-LDL in Cancer Development and Its Therapeutical Potential”. *Frontiers in Oncology* 12.
- Dhar, Indu, Arti Dhar, Lingyun Wu, és Kaushik M. Desai. 2013. „Increased Methylglyoxal Formation with Upregulation of Renin Angiotensin System in Fructose Fed Sprague Dawley Rats”. *PLoS ONE* 8(9). doi:10.1371/journal.pone.0074212.
- Draznin, Boris. 2006. „Molecular mechanisms of insulin resistance: Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85 α : The two sides of a coin”. *Diabetes* 55(8):2392–97.
- Dukay, Brigitta, Bálint Csoboz, és Melinda E. Tóth. 2019. „Heat-shock proteins in neuroinflammation”. *Frontiers in Pharmacology* 10. doi:10.3389/fphar.2019.00920.
- Dukay, Brigitta, Fruzsina R. Walter, Judit P. Vigh, Beáta Barabási, Petra Hajdu, Tamás Balassa, Ede Migh, András Kincses, Zsófia Hoyk, Titanilla Szögi, Emőke Borbély, Bálint Csoboz, Péter Horváth, Livia Fülöp, Botond Penke, László Vigh, Mária A. Deli, Miklós Sántha, és Melinda E. Tóth. 2021. „Neuroinflammatory processes are augmented in mice overexpressing human heat-shock protein B1 following ethanol-induced brain injury”. *Journal of Neuroinflammation* 18(1). doi:10.1186/s12974-020-02070-2.

- Eckel, Robert H., Scott M. Grundy, és Paul Z. Zimmet. 2005. „The metabolic syndrome”. O. 1415–28 in *Lancet*. Köt. 365. Elsevier Limited.
- Esmaeilzadeh, Abdolreza, Vahid Mohammadi, Reza Elahi, és Negin Rezakhani. 2023. „The role of heat shock proteins (HSPs) in type 2 diabetes mellitus pathophysiology”. *Journal of Diabetes and its Complications* 37(11).
- Fajka-Boja, Roberta, Veronika S. Urbán, Gábor J. Szebeni, Ágnes Czibula, Andrea Blaskó, Éva Kriston-Pál, Ildikó Makra, Ákos Hornung, Eniko Szabó, Ferenc Uher, Nándor G. Than, és Éva Monostori. 2016. „Galectin-1 is a local but not systemic immunomodulatory factor in mesenchymal stromal cells”. *Cytotherapy* 18(3):360–70. doi:10.1016/j.jcyt.2015.12.004.
- Fanelli, Mariel A., F. Dario, Cuello Carrion, Judith Dekker, Joop Schoemaker, és Daniel R. Ciocca. 1998. „Serological Detection of Heat Shock Protein hsp27 in Normal and Breast Cancer Patients”. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 7:791–95. <http://aacrjournals.org/cebpa/article-pdf/7/9/791/2291068/791.pdf>.
- Fu, Xinmiao. 2014. „Chaperone function and mechanism of small heat-shock proteins”. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 46(5):347–56.
- Gatineau, Eva, Isabelle Savary-Auzeloux, Carole Migné, Sergio Polakof, Dominique Dardevet, és Laurent Mosoni. 2015. „Chronic intake of sucrose accelerates sarcopenia in older male rats through alterations in insulin sensitivity and muscle protein synthesis”. *Journal of Nutrition* 145(5):923–30. doi:10.3945/jn.114.205583.
- Goossens, Gijs H., és Ellen E. Blaak. 2015. „Adipose tissue dysfunction and impaired metabolic health in human obesity: A matter of oxygen?” *Frontiers in Endocrinology* 6(APR). doi:10.3389/fendo.2015.00055.
- Gordon, Scott M., Hailong Li, Xiaoting Zhu, Amy S. Shah, L. Jason Lu, és W. Sean Davidson. 2015. „A comparison of the mouse and human lipoproteome: Suitability of the mouse model for studies of human lipoproteins”. *Journal of Proteome Research* 14(6):2686–95. doi:10.1021/acs.jproteome.5b00213.
- Gruden, Gabriella, Federica Barutta, Irene Catto, Giovanni Bosco, Maria Giovanna Caprioli, Silvia Pinach, Paolo Fornengo, Paolo Cavallo-Perin, Ottavio Davini, Paolo Cerrato, és Graziella Bruno. 2013. „Serum levels of heat shock protein 27 in patients with acute ischemic stroke”. *Cell Stress and Chaperones* 18(4):531–33. doi:10.1007/s12192-013-0403-5.
- Gutiérrez-cuevas, Jorge, Ana Sandoval-rodriguez, Alejandra Meza-rios, Hugo Christian Monroy-ramírez, Marina Galicia-moreno, Jesús García-bañuelos, Arturo Santos, és Juan Armendariz-borunda. 2021. „Molecular mechanisms of obesity-linked cardiac dysfunction: An up-date on current knowledge”. *Cells* 10(3):1–28.
- Hariri, Niloofar, és Louise Thibault. 2010. „High-fat diet-induced obesity in animal models”. *Nutrition Research Reviews* 23(2):270–99. doi:10.1017/S0954422410000168.
- Heger, Jacqueline, Julia Bornbaum, Alona Würfel, Christian Hill, Nils Brockmann, Renáta Gáspár, János Pálóczi, Zoltán V. Varga, Márta Sárközy, Péter Bencsik, Tamás

- Csont, Szilvia Török, Baktybek Kojonazarov, Ralph Theo Schermuly, Kerstin Böngler, Mariana Parahuleva, Peter Ferdinandy, Rainer Schulz, és Gerhild Euler. 2018. „JDP2 overexpression provokes cardiac dysfunction in mice”. *Scientific Reports* 8(1). doi:10.1038/s41598-018-26052-w.
- Henstridge, Darren C., Martin Whitham, és Mark A. Febbraio. 2014. „Chaperoning to the metabolic party: The emerging therapeutic role of heat-shock proteins in obesity and type 2 diabetes”. *Molecular Metabolism* 3(8):781–93.
- Hooper, Philip L. 1999. „Hot-Tub Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus”. *N Engl J Med* Volume 341 Number 12 · 917.
- Hooper, Philip L., Gabor Balogh, Eric Rivas, Kylie Kavanagh, és Laszlo Vigh. 2014. „The importance of the cellular stress response in the pathogenesis and treatment of type 2 diabetes”. *Cell Stress and Chaperones* 19(4):447–64.
- Hooper, Philip L., és Paul L. Hooper. 2009. „Inflammation, heat shock proteins, and type 2 diabetes”. *Cell Stress and Chaperones* 14(2):113–15.
- Horváth, Ibolya, Gabriele Multhoff, Alois Sonnleitner, és László Vigh. 2008. „Membrane-associated stress proteins: More than simply chaperones”. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1778(7–8):1653–64.
- Hoyk, Zsófia, Melinda E. Tóth, Nikolett Lénárt, Dóra Nagy, Brigitta Dukay, Alexandra Csefová, Ágnes Zvara, György Seprényi, András Kincses, Fruzsina R. Walter, Szilvia Veszélka, Judit Vigh, Beáta Barabási, András Harazin, Ágnes Kittel, László G. Puskás, Botond Penke, László Vigh, Mária A. Deli, és Miklós Sántha. 2018. „Cerebrovascular pathology in hypertriglyceridemic APOB-100 transgenic mice”. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 12. doi:10.3389/fncel.2018.00380.
- Janowska, Maria K., Hannah E. R. Baughman, Christopher N. Woods, és Rachel E. Klevit. 2019. „Mechanisms of small heat shock proteins”. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 11(10). doi:10.1101/cshperspect.a034025.
- Jeanne, Xavier, Zsolt Török, László Vigh, és Chrisostomos Prodromou. 2024. „The role of the FKBP51–Hsp90 complex in Alzheimer’s disease: An emerging new drug target”. *Cell Stress and Chaperones* 29(6):792–804. doi:10.1016/j.cstres.2024.11.006.
- Jin, Chunhua, Joseph C. Cleveland, Lihua Ao, Jilin Li, Qingchun Zeng, David A. Fullerton, és Xianzhong Meng. 2014. „Human myocardium releases heat shock protein 27 (HSP27) after global ischemia: The proinflammatory effect of extracellular HSP27 through toll-like receptor (TLR)-2 and TLR4”. *Molecular Medicine* 20(1):280–89. doi:10.2119/molmed.2014.00058.
- Jin, Xin, Tingting Qiu, Li Li, Rilei Yu, Xiguang Chen, Changgui Li, Christopher G. Proud, és Tao Jiang. 2023. „Pathophysiology of obesity and its associated diseases”. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 13(6):2403–24.
- Justesen, S., KV Haugegaard, JB Hansen, HS Hansen, és B. Andersen. 2020. „The autocrine role of FGF21 in cultured adipocytes”. *Biochem J.* 17;477(13):2477-2487. doi:10.1042/BCJ20200220.

- Kang, Hong Soon, Grace Liao, Laura M. DeGraff, Kevin Gerrish, Carl D. Bortner, Stavros Garantziotis, és Anton M. Jetten. 2013. „CD44 Plays a Critical Role in Regulating Diet-Induced Adipose Inflammation, Hepatic Steatosis, and Insulin Resistance”. *PLoS ONE* 8(3). doi:10.1371/journal.pone.0058417.
- Kasza, Ágnes, Ákos Hunya, Zsuzsa Frank, Ferenc Fülöp, Zsolt Török, Gábor Balogh, Miklós Sántha, Árpád Bálint, Sándor Bernáth, Katie L. I. M. Blundell, Chrisostomos Prodromou, Ibolya Horváth, Hans Joachim Zeiler, Philip L. Hooper, László Vigh, Botond Penke, és Jose Abisambra. 2016. „Dihydropyridine Derivatives Modulate Heat Shock Responses and have a Neuroprotective Effect in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer’s Disease”. *Journal of Alzheimer’s Disease* 53(2):557–71. doi:10.3233/JAD-150860.
- Khanna, Deepesh, Siya Khanna, Pragma Khanna, Payal Kahar, és Bhavesh M. Patel. 2022. „Obesity: A Chronic Low-Grade Inflammation and Its Markers”. *Cureus*. doi:10.7759/cureus.22711.
- Khera, Amit V., Mark Chaffin, Kaitlin H. Wade, Sohail Zahid, Joseph Brancale, Rui Xia, Marina Distefano, Ozlem Senol-Cosar, Mary E. Haas, Alexander Bick, Krishna G. Aragam, Eric S. Lander, George Davey Smith, Heather Mason-Suares, Myriam Fornage, Matthew Lebo, Nicholas J. Timpson, Lee M. Kaplan, és Sekar Kathiresan. 2019. „Polygenic Prediction of Weight and Obesity Trajectories from Birth to Adulthood”. *Cell* 177(3):587-596.e9. doi:10.1016/j.cell.2019.03.028.
- Kim, Jason K., Jonathan J. Fillmore, Yan Chen, Chunli Yu, Irene K. Moore, Marc Pypaert, E. Peer Lutz, Yuko Kako, Wanda Velez-Carrasco, Ira J. Goldberg, Jan L. Breslow, és Gerald I. Shulman. 2001. „Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance”. 19;98(13):7522-7. doi:10.1073/pnas.121164498.
- Kleiner, David E., Elizabeth M. Brunt, Mark Van Natta, Cynthia Behling, Melissa J. Contos, Oscar W. Cummings, Linda D. Ferrell, Yao Chang Liu, Michael S. Torbenson, Aynur Unalp-Arida, Matthew Yeh, Arthur J. McCullough, és Arun J. Sanyal. 2005. „Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease”. *Hepatology* 41(6):1313–21. doi:10.1002/hep.20701.
- Kopec, Krzysztof Lukasz, és David Burns. 2011. „Nonalcoholic fatty liver disease: A review of the spectrum of disease, diagnosis, and therapy”. *Nutrition in Clinical Practice* 26(5):565–76.
- Kovács, Zsuzsanna Z. A., Gergő Szűcs, Marah Freiwan, Mónika G. Kovács, Fanni M. Márványkövi, Hoa Dinh, Andrea Siska, Katalin Farkas, Ferenc Kovács, András Kriston, Péter Horváth, Bence Kővári, Bálint Gábor Cserni, Gábor Cserni, Imre Földesi, Tamás Csont, és Márta Sárközy. 2021. „Comparison of the antiremodeling effects of losartan and mirabegron in a rat model of uremic cardiomyopathy”. *Scientific Reports* 11(1):17495. doi:10.1038/s41598-021-96815-5.

- Krolikoski, Mia, James Monslow, és Ellen Puré. 2019. „The CD44-HA axis and inflammation in atherosclerosis: A temporal perspective”. *Matrix Biology* 78–79:201–18.
- Kulmány, Ágnes E., Éva Frank, Dóra Kovács, Kerstin Kirisits, Georg Krupitza, Patrícia Neuperger, Róbert Alföldi, László G. Puskás, Gábor J. Szebeni, és István Zupkó. 2021. „Antiproliferative and antimetastatic characterization of an exo-heterocyclic androstane derivative against human breast cancer cell lines”. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 140. doi:10.1016/j.biopha.2021.111728.
- Kupai, Krisztina, Tamás Várkonyi, Szilvia Török, Viktória Gáti, Zsolt Czimmerer, László G. Puskás, és Gábor J. Szebeni. 2022. „Recent Progress in the Diagnosis and Management of Type 2 Diabetes Mellitus in the Era of COVID-19 and Single Cell Multi-Omics Technologies”. *Life* 12(8).
- Kurucz, Istvan, A. ' . Gota Morva, Allan Vaag, Karl-Fredrik Eriksson, Xudong Huang, Leif Groop, és Laszlo Koranyi. 2002. *Decreased Expression of Heat Shock Protein 72 In Skeletal Muscle of Patients With Type 2 Diabetes Correlates With Insulin Resistance*. Köt. 51. <http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/51/4/1102/661569/db0402001102.pdf>.
- Latchman, David S. 2001. *Heat shock proteins and cardiac protection*. Köt. 51. www.elsevier.com/locate/cardiore.
- Lee, Jae Ho, Anna Park, Kyoung Jin Oh, Sang Chul Lee, Won Kon Kim, és Kwang Hee Bae. 2019. „The role of adipose tissue mitochondria: Regulation of mitochondrial function for the treatment of metabolic diseases”. *International Journal of Molecular Sciences* 20(19).
- Lehr, Stefan, Sonja Hartwig, Daniela Lamers, Susanne Famulla, Stefan Müller, Franz Georg Hanisch, Claude Cuvelier, Johannes Ruige, Kristin Eckardt, D. Margriet Ouwens, Henrike Sell, és Juergen Eckel. 2012. „Identification and validation of novel adipokines released from primary human adipocytes”. *Molecular and Cellular Proteomics* 11(1). doi:10.1074/mcp.M111.010504.
- Lénárt, Nikolett, Viktor Szegedi, Gábor Juhász, Aniko Kasztner, János Horváth, Erika Bereczki, Melinda E. Tóth, Botond Penke, és Miklós Sántha. 2012. „Increased Tau Phosphorylation and Impaired Presynaptic Function in Hypertriglyceridemic ApoB-100 Transgenic Mice”. *PLoS ONE* 7(9). doi:10.1371/journal.pone.0046007.
- Lénárt, Nikolett, Fruzsina R. Walter, Alexandra Bocsik, Petra Sántha, Melinda E. Tóth, András Harazin, Andrea E. Tóth, Csaba Vizler, Zsolt Török, Ana Maria Pilbat, László Vígh, László G. Puskás, Miklós Sántha, és Mária A. Deli. 2015. „Cultured cells of the blood-brain barrier from apolipoprotein B-100 transgenic mice: Effects of oxidized low-density lipoprotein treatment”. *Fluids and Barriers of the CNS* 12(1). doi:10.1186/s12987-015-0013-y.
- Li, Jinglei, Haishan Wu, Yuting Liu, és Liu Yang. 2020. „High fat diet induced obesity model using four strains of mice: kunming, c57bl/6, balb/c and icr”. *Experimental Animals* 69(3):326–35. doi:10.1538/expanim.19-0148.

- Liao, Wei-Chih, Ming-Shiang Wu, Hsiu-Po Wang, Yu-Wen Tien, és Jaw-Town Lin. 2009. „Serum Heat Shock Protein 27 Is Increased in Chronic Pancreatitis and Pancreatic Carcinoma”. *Pancreas* 422–26. doi:10.1097/MPA.0b013e318198281d.
- Lindquist, Susan. 1986. „THE HEAT-SHOCK RESPONSE”. *Annual Review of Biochemistry* 55:1151–91.
- Liu, I. Fan, Tzu Chieh Lin, Shu Chi Wang, Chia Hung Yen, Chia Yang Li, Hsuan Fu Kuo, Chong Chao Hsieh, Chia Yuan Chang, Chuang Rung Chang, Yung Hsiang Chen, Yu Ru Liu, Tsung Ying Lee, Chi Yuan Huang, Chih Hsin Hsu, Shing Jong Lin, és Po Len Liu. 2023. „Long-term administration of Western diet induced metabolic syndrome in mice and causes cardiac microvascular dysfunction, cardiomyocyte mitochondrial damage, and cardiac remodeling involving caveolae and caveolin-1 expression”. *Biology Direct* 18(1). doi:10.1186/s13062-023-00363-z.
- Lu, Sijia, Yibing Wang, és Junli Liu. 2022. „Tumor necrosis factor- α signaling in nonalcoholic steatohepatitis and targeted therapies”. *Journal of Genetics and Genomics* 49(4):269–78.
- Lumeng, Carey N., Jennifer L. Bodzin, és Alan R. Saltiel. 2007. „Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization”. *Journal of Clinical Investigation* 117(1):175–84. doi:10.1172/JCI29881.
- Luo, Yuwen, Christine M. Burrington, Emily C. Graff, Jian Zhang, Robert L. Judd, Promporn Suksaranjit, Quanhathai Kaewpoowat, Samantha K. Davenport, Ann Marie O’neill, és Michael W. Greene. 2016. „Metabolic phenotype and adipose and liver features in a high-fat Western diet-induced mouse model of obesity-linked NAFLD”. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 310:418–39. doi:10.1152/ajpendo.00319.2015.-nonalcoholic.
- Lusis, Aldons J., Alan D. Attie, és Karen Reue. 2008. „Metabolic syndrome: From epidemiology to systems biology”. *Nature Reviews Genetics* 9(11):819–30.
- De Maio, Antonio, David M. Cauvi, Ricardo Capone, Ivan Bello, Wilma Vree Egberts, Nelson Arispe, és Wilbert Boelens. 2019. „The small heat shock proteins, HSPB1 and HSPB5, interact differently with lipid membranes”. *Cell Stress and Chaperones* 24(5):947–56. doi:10.1007/s12192-019-01021-y.
- Makoveichuk, Elena, Evelina Vorrsjö, Thomas Olivecrona, és Gunilla Olivecrona. 2017. „TNF- α decreases lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocytes by up-regulation of angiopoietin-like protein 4”. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1862(5):533–40. doi:10.1016/j.bbalip.2017.02.005.
- Mann, Vivek, Alamelu Sundaresan, és Shishir Shishodia. 2024. „Overnutrition and Lipotoxicity: Impaired Efferocytosis and Chronic Inflammation as Precursors to Multifaceted Disease Pathogenesis”. *Biology* 13(4).
- Meyrelles, Silvana S., Veronica A. Peotta, Thiago M. C. Pereira, és Elisardo C. Vasquez. 2011. „Endothelial Dysfunction in the Apolipoprotein E-deficient Mouse: Insights into the influence of diet, gender and aging”. *Lipids in Health and Disease* 10.

- Minta, Wanitchaya, Siripong Palee, Duangkamol Mantor, Wissuta Sutham, Thidarat Jaiwongkam, Sasiwan Kerdphoo, Wasana Pratchayasakul, Sirinart Kumfu, Siriporn C. Chattipakorn, és Nipon Chattipakorn. 2018. „Estrogen deprivation aggravates cardiometabolic dysfunction in obese-insulin resistant rats through the impairment of cardiac mitochondrial dynamics”. *Experimental Gerontology* 103:107–14. doi:10.1016/j.exger.2018.01.006.
- Morimoto, R. I. 1993. „Cells in Stress: Transcriptional Activation of Heat Shock Genes”. *Science* 259:1409–10.
- Morimoto, R. I. 1998. „Regulation of the heat shock transcriptional response: Cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators”. *Genes and Development* 12(24):3788–96.
- Morimoto, R. I., P. E. Kroeger, és J. J. Cotto. 1996. *Stress-Inducible Cellular Responses ed The transcriptional regulation of heat shock genes: A plethora of heat shock factors and regulatory conditions*.
- de Moura e Dias, Mariana, Sandra Aparecida dos Reis, Lisiane Lopes da Conceição, Catarina Maria Nogueira de Oliveira Sedyama, Solange Silveira Pereira, Leandro Licursi de Oliveira, Maria do Carmo Gouveia Peluzio, J. Alfredo Martinez, és Fermín Ignacio Milagro. 2021. „Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers”. *Diabetology and Metabolic Syndrome* 13(1).
- Mouse Genome Sequencing Consortium. 2002. „Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome”. *Nature* 420:520–62. <http://www.infor->
- Mukherjee, P., S. Roy, D. Ghosh, és S. K. Nandi. 2022. „Role of animal models in biomedical research: a review”. *Laboratory Animal Research* 38(1).
- Neuperger, Patrícia, József Balog, László Tiszlavicz, József Furák, Nikolett Gémes, Edit Kotogány, Klára Szalontai, László G. Puskás, és Gábor J. Szebeni. 2022. „Analysis of the single-cell heterogeneity of adenocarcinoma cell lines and the investigation of intratumor heterogeneity reveals the expression of transmembrane protein 45a (Tmem45a) in lung adenocarcinoma cancer patients”. *Cancers* 14(1). doi:10.3390/cancers14010144.
- Neuperger, Patrícia, Klára Szalontai, Nikolett Gémes, József Balog, László Tiszlavicz, József Furák, György Lázár, László G. Puskás, és Gábor J. Szebeni. 2023. „Single-cell mass cytometric analysis of peripheral immunity and multiplex plasma marker profiling of non-small cell lung cancer patients receiving PD-1 targeting immune checkpoint inhibitors in comparison with platinum-based chemotherapy”. *Frontiers in Immunology* 14. doi:10.3389/fimmu.2023.1243233.
- Nie, Zhenwang, Congshu Xiao, Yingzi Wang, Rongkuan Li, és Fangcheng Zhao. 2024. „Heat shock proteins (HSPs) in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): from molecular mechanisms to therapeutic avenues”. *Biomarker Research* 12(1).
- North, Janet, Ismail Bakhsh, Chloe Marden, Hanna Pittman, Elena Addison, Cristina Navarrete, Robert Anderson, és Mark W. Lowdell. 2007. „Tumor-Primed Human

- Natural Killer Cells Lyse NK-Resistant Tumor Targets: Evidence of a Two-Stage Process in Resting NK Cell Activation". *The Journal of Immunology* 178(1):85–94. doi:10.4049/jimmunol.178.1.85.
- de Oliveira, Amanda Almeida, Valentina Ochoa Mendoza, Swasti Rastogi, és Kenia Pedrosa Nunes. 2022. „New insights into the role and therapeutic potential of HSP70 in diabetes". *Pharmacological Research* 178.
- Panuganti, KK, M. Nguyen, és RK Kshirsagar. 2024. *Obesity Continuing Education Activity*.
- Park, Kyu Jin, Richard B. Gaynor, és Youn Tae Kwak. 2003. „Heat shock protein 27 association with the I κ B kinase complex regulates tumor necrosis factor α -induced NF- κ B activation". *Journal of Biological Chemistry* 278(37):35272–78. doi:10.1074/jbc.M305095200.
- Penke, Botond, Ferenc Bogár, Tim Crul, Miklós Sántha, Melinda E. Tóth, és László Vigh. 2018. „Heat shock proteins and autophagy pathways in neuroprotection: From molecular bases to pharmacological interventions". *International Journal of Molecular Sciences* 19(1). doi:10.3390/ijms19010325.
- Petersen, M. C., és G. I. Shulman. 2018. „Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance". *Physiol Rev* 98:2133–2223. doi:10.1152/physrev.
- Piedrahita, Jorge A., Sunny H. Zhang, John R. Hageman, Paula M. Oliver, és Nobuyo Maeda. 1992. *Generation of mice carrying a mutant apolipoprotein E gene inactivated by gene targeting in embryonic stem cells (homologous recombination/atherosclerosis)*. Köt. 89.
- Pi-Sunyer, Xavier. 2009. „The medical risks of obesity". *Postgraduate Medicine* 121(6):21–33. doi:10.3810/pgm.2009.11.2074.
- Plump, Andrew S., Jonathan D. Smith, Tony Hayek, Katriina Aalto-Setälä, Annemarie Walsh, Judy G. Verstuyft, Edward M. Rubin, és Jan L. Breslow. 1992. *Severe Hypercholesterolemia and Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice Created by Homologous Recombination in ES Cells*. Köt. 71.
- Pockley, A. Graham, Ruhia Wu, Carola Lemne, Rolf Kiessling, Ulf De Faire, és Johan Frostegård. 2000. *Circulating Heat Shock Protein 60 Is Associated With Early Cardiovascular Disease*. <http://www.hypertensionaha.org>.
- Pouwels, Sjaak, Nasser Sakran, Yitka Graham, Angela Leal, Tadeja Pintar, Wah Yang, Radwan Kassir, Rishi Singhal, Kamal Mahawar, és Dharmanand Ramnarain. 2022. „Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss". *BMC Endocrine Disorders* 22(1).
- Purcell-Huynh, Deborah A., Robert V Farese, David F. Johnson, Laura M. Flynn, Vincenzo Pierotti, Dale L. Newland, Macrae F. Linton, David A. Sanan, és Stephen G. Young. 1995. „Transgenic Mice Expressing High Levels of Human Apolipoprotein B Develop Severe Atherosclerotic Lesions in Response to a High-Fat Diet". *The Journal of clinical investigation* 2246–57. doi:doi:10.1172/JCI117915.

- Queen, Nicholas J., Rhiannon Bates, Wei Huang, Run Xiao, Bhavya Appana, és Lei Cao. 2021. „Visceral adipose tissue-directed FGF21 gene therapy improves metabolic and immune health in BTBR mice”. *Molecular Therapy Methods and Clinical Development* 20:409–22. doi:10.1016/j.omtm.2020.12.011.
- Rayner, Katey, Yong Xiang Chen, Melissa McNulty, Trevor Simard, Xioaling Zhao, Dominic J. Wells, Jacqueline De Belleruche, és Edward R. O’Brien. 2008. „Extracellular release of the atheroprotective heat shock protein 27 is mediated by estrogen and competitively inhibits acLDL binding to scavenger receptor-a”. *Circulation Research* 103(2):133–41. doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.172155.
- Rayner, Katey, Jiangfeng Sun, Yong Xiang Chen, Melissa McNulty, Trevor Simard, Xiaoling Zhao, Dominic J. Wells, Jacqueline De Belleruche, és Edward R. O’Brien. 2009. „Heat shock protein 27 protects against atherogenesis via an estrogen-dependent mechanism: Role of selective estrogen receptor beta modulation”. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 29(11):1751–56. doi:10.1161/ATVBAHA.109.193656.
- Reaven, Gerald M. 1988. „Banting Lecture 1988 Role of Insulin Resistance in Human”. *Diabetes* 1595–1607. doi:DOI:10.2337/diab.37.12.1595.
- Rohde, Kerstin, Maria Keller, Lars la Cour Poulsen, Matthias Blüher, Peter Kovacs, és Yvonne Böttcher. 2019. „Genetics and epigenetics in obesity”. *Metabolism: Clinical and Experimental* 92:37–50. doi:10.1016/j.metabol.2018.10.007.
- Rohm, Theresa V., Daniel T. Meier, Jerrold M. Olefsky, és Marc Y. Donath. 2022. „Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders”. *Immunity* 55(1):31–55.
- Ruppert, Zsófia, Patrícia Neuperger, Bettina Rákóczi, Nikolett Gémes, Brigitta Dukay, Petra Hajdu, Mária Péter, Gábor Balogh, László Tiszlavicz, László Vigh, Zsolt Török, László G. Puskás, Gábor J. Szebeni, és Melinda E. Tóth. 2024. „Characterization of obesity-related diseases and inflammation using single cell immunophenotyping in two different diet-induced obesity models”. *International Journal of Obesity*. doi:10.1038/s41366-024-01584-6.
- Sáinz, Neira, Jaione Barrenetxe, María J. Moreno-Aliaga, és José Alfredo Martínez. 2015. „Leptin resistance and diet-induced obesity: Central and peripheral actions of leptin”. *Metabolism: Clinical and Experimental* 64(1):35–46.
- Sakamoto, Masaya, Tohru Minamino, Haruhiro Toko, Yosuke Kayama, Yunzeng Zou, Masanori Sano, Eiichi Takaki, Teruhiko Aoyagi, Katsuyoshi Tojo, Naoko Tajima, Akira Nakai, Hiroyuki Aburatani, és Issei Komuro. 2006. „Upregulation of heat shock transcription factor 1 plays a critical role in adaptive cardiac hypertrophy”. *Circulation Research* 99(12):1411–18. doi:10.1161/01.RES.0000252345.80198.97.
- Samuel, Varman T. 2011. „Fructose induced lipogenesis: From sugar to fat to insulin resistance”. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 22(2):60–65.
- Schleisinger, M. J. 1990. „Heat Shock Proteins”. *The Journal of Biological Chemistry* 265:12111–14.

- Sebők, Judit, Zsófia Édel, Szilárd Váncsa, Nelli Farkas, Szabolcs Kiss, Bálint Erőss, Zsolt Török, Gábor Balogh, Zsolt Balogi, Rita Nagy, Philip L. Hooper, Paige C. Geiger, István Wittmann, László Vigh, Fanni Dembrovszky, és Péter Hegyi. 2021. „Heat therapy shows benefit in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis”. *International Journal of Hyperthermia* 38(1):1650–59.
- Senbanjo, Linda T., és Meenakshi A. Chellaiah. 2017. „CD44: A multifunctional cell surface adhesion receptor is a regulator of progression and metastasis of cancer cells”. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 5(MAR).
- Shah, Ravi V., Venkatesh L. Murthy, Siddique A. Abbasi, Ron Blankstein, Raymond Y. Kwong, Allison B. Goldfine, Michael Jerosch-Herold, João A. C. Lima, Jingzhong Ding, és Matthew A. Allison. 2014. „Visceral adiposity and the risk of metabolic syndrome across body mass index: The MESA study”. *JACC: Cardiovascular Imaging* 7(12):1221–35. doi:10.1016/j.jcmg.2014.07.017.
- Softic, Samir, Manoj K. Gupta, Guo Xiao Wang, Shiho Fujisaka, Brian T. O’Neill, Tata Nageswara Rao, Jennifer Willoughby, Carole Harbison, Kevin Fitzgerald, Olga Ilkayeva, Christopher B. Newgard, David E. Cohen, és C. Ronald Kahn. 2017. „Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling”. *Journal of Clinical Investigation* 127(11):4059–74. doi:10.1172/JCI94585.
- Softic, Samir, Jesse G. Meyer, Guo Xiao Wang, Manoj K. Gupta, Thiago M. Batista, Hans P. M. M. Lauritzen, Shiho Fujisaka, Dolors Serra, Laura Herrero, Jennifer Willoughby, Kevin Fitzgerald, Olga Ilkayeva, Christopher B. Newgard, Bradford W. Gibson, Birgit Schilling, David E. Cohen, és C. Ronald Kahn. 2019. „Dietary Sugars Alter Hepatic Fatty Acid Oxidation via Transcriptional and Post-translational Modifications of Mitochondrial Proteins”. *Cell Metabolism* 30(4):735-753.e4. doi:10.1016/j.cmet.2019.09.003.
- Softic, Samir, Kimber L. Stanhope, Jeremie Boucher, Senad Divanovic, Miguel A. Lanaspá, Richard J. Johnson, és C. Ronald Kahn. 2020. „Fructose and hepatic insulin resistance”. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 57(5):308–22.
- Sörhede Winzell, Maria, és Bo Ahrén. 2004. „The High-Fat Diet-Fed Mouse A Model for Studying Mechanisms and Treatment of Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes”. *Diabetes* 53(3):215–19. http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/53/suppl_3/S215/379353/zdb1120400s215.pdf.
- Szebeni, Gábor J., Róbert Alföldi, Lajos I. Nagy, Patrícia Neuperger, Nikolett Gémes, József Balog, László Tizslavicz, és László G. Puskás. 2023. „Introduction of an Ultraviolet C-Irradiated 4T1 Murine Breast Cancer Whole-Cell Vaccine Model”. *Vaccines* 11(7). doi:10.3390/vaccines11071254.
- Szűcs, Gergő, Andrea Sója, Mária Péter, Márta Sárközy, Bella Bruszel, Andrea Siska, Imre Földesi, Zoltán Szabó, Tamás Janáky, László Vigh, Gábor Balogh, és Tamás Csont. 2019. „Prediabetes Induced by Fructose-Enriched Diet Influences Cardiac Lipidome and Proteome and Leads to Deterioration of Cardiac Function prior to the

- Development of Excessive Oxidative Stress and Cell Damage”. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019. doi:10.1155/2019/3218275.
- Tarone, Guido, és Mara Brancaccio. 2014. „Keep your heart in shape: Molecular chaperone networks for treating heart disease”. *Cardiovascular Research* 102(3):346–61.
- Tedesco, B., R. Cristofani, V. Ferrari, M. Cozzi, P. Rusmini, E. Casarotto, M. Chierichetti, F. Mina, M. Galbiati, M. Piccolella, V. Crippa, és A. Poletti. 2022. „Insights on Human Small Heat Shock Proteins and Their Alterations in Diseases”. *Frontiers in Molecular Biosciences* 9:25:9:842149. doi:10.3389/fmolb.2022.842149.
- Teratani, Toshiaki, Kengo Tomita, Hirotaka Furuhashi, Nao Sugihara, Masaaki Higashiyama, Makoto Nishikawa, Rie Irie, Takeshi Takajo, Akinori Wada, Kazuki Horiuchi, Kenichi Inaba, Yoshinori Hanawa, Naoki Shibuya, Yoshikiyo Okada, Chie Kurihara, Shin Nishii, Akinori Mizoguchi, Hideaki Hozumi, Chikako Watanabe, Shunsuke Komoto, Shigeaki Nagao, Junji Yamamoto, Soichiro Miura, Ryota Hokari, és Tananori Kanai. 2019. „Lipoprotein Lipase Up-regulation in Hepatic Stellate Cells Exacerbates Liver Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis in Mice”. *Hepatology Communications* 3(8):1098–1112. doi:10.1002/hep4.1383/supinfo.
- Thaker, Vidhu V. 2017. „GENETIC AND EPIGENETIC CAUSES OF OBESITY”. *Adolesc Med State Art Rev.* 28(2):379–405.
- The State of Food Security and Nutrition in the World 2022. 2022. FAO.
- Tilg, Herbert, és Alexander R. Moschen. 2010. „Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis”. *Hepatology* 52(5):1836–46. doi:10.1002/hep.24001.
- Toft, Daniel J., Miles Fuller, Matthew Schipma, Feng Chen, Vincent L. Cryns, és Brian T. Layden. 2016. „ α B-crystallin and HspB2 deficiency is protective from diet-induced glucose intolerance”. *Genomics Data* 9:10–17. doi:10.1016/j.gdata.2016.03.010.
- Tóth, Melinda E., Brigitta Dukay, Zsófia Hoyk, és Miklós Sántha. 2020. „Cerebrovascular Changes and Neurodegeneration Related to Hyperlipidemia: Characteristics of the Human ApoB-100 Transgenic Mice”. *Current Pharmaceutical Design* 26(13):1486–94. doi:10.2174/1381612826666200218101818.
- Tóth, Melinda E., Brigitta Dukay, Mária Péter, Gábor Balogh, Gergő Sűcs, Ágnes Zvara, Gábor J. Szebeni, Petra Hajdu, Márta Sárközy, László G. Puskás, Zsolt Török, Tamás Csont, László Vigh, és Miklós Sántha. 2021. „Male and female animals respond differently to high-fat diet and regular exercise training in a mouse model of hyperlipidemia”. *International Journal of Molecular Sciences* 22(8). doi:10.3390/ijms22084198.
- Tóth, Melinda E., Imre Gombos, és Miklós Sántha. 2015. *Heat shock proteins and their role in human diseases*. Köt. 59. <http://www.sci.u-szeged.hu/ABS>.
- Tóth, Melinda E., Márta Sárközy, Gergő Szűcs, Brigitta Dukay, Petra Hajdu, Ágnes Zvara, László G. Puskás, Gábor J. Szebeni, Zsófia Ruppert, Csaba Csonka, Ferenc

- Kovács, András Kriston, Péter Horváth, Bence Kővári, Gábor Cserni, Tamás Csont, és Miklós Sántha. 2022. „Exercise training worsens cardiac performance in males but does not change ejection fraction and improves hypertrophy in females in a mouse model of metabolic syndrome”. *Biology of Sex Differences* 13(1). doi:10.1186/s13293-022-00414-6.
- Tóth, Melinda Erzsebet, Szilvia Gonda, Laszlo Vigh, és Miklos Santha. 2010. „Neuroprotective effect of small heat shock protein, Hsp27, after acute and chronic alcohol administration”. *Cell Stress and Chaperones* 15(6):807–17. doi:10.1007/s12192-010-0188-8.
- Török, Zsolt, Tim Crul, Bruno Maresca, Gerhard J. Schütz, Felix Viana, Laura Dindia, Stefano Piotto, Mario Brameshuber, Gábor Balogh, Mária Péter, Amalia Porta, Alfonso Trapani, Imre Gombos, Attila Glatz, Burcin Gungor, Begüm Peksel, László Vigh, Bálint Csoboz, Ibolya Horváth, Mathilakath M. Vijayan, Phillip L. Hooper, John L. Harwood, és László Vigh. 2014. „Biochimica et Biophysica Acta Plasma membranes as heat stress sensors : From lipid-controlled molecular switches to therapeutic applications”. *BBA - Biomembranes* 1838:1594–1618. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.12.015>.
- Tsvetkova, Nelly M., Ibolya Horváth, Zsolt Török, Willem F. Wolkers, Zsolt Balogi, Natalia Shigapova, Lois M. Crowe, Fern Tablin, Elizabeth Vierling, John H. Crowe, és Vigh László. 2022. „Small heat-shock proteins regulate membrane lipid polymorphism”. *PNAS* 13504–9. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.192468399>.
- Tune, Johnathan D., Adam G. Goodwill, Daniel J. Sassoon, és Kieren J. Mather. 2017. „Cardiovascular consequences of metabolic syndrome”. *Translational Research* 183:57–70.
- Tzanavari, T., P. Giannogonas, és Katia P. Karalis. 2010. „TNF- α and Obesity”. *Curr Dir Autoimmun. Basel, Karger* 11:145-56. doi:10.1159/000289203.
- Tylutka, Anna, Barbara Morawin, Łukasz Walas, Marta Michałek, Anna Gwara, és Agnieszka Zembron-Lacny. 2023. „Assessment of metabolic syndrome predictors in relation to inflammation and visceral fat tissue in older adults”. *Scientific Reports* 13(1). doi:10.1038/s41598-022-27269-6.
- Vercalsteren, Ellen, Christine Vranckx, Katrien Corbeels, Bart Van Der Schueren, Greetje Vande Velde, Roger Lijnen, és Ilse Scroyen. 2021. „Carbohydrates to Prevent and Treat Obesity in a Murine Model of Diet-Induced Obesity”. *Obesity Facts* 14(4):370–81. doi:10.1159/000516630.
- VerHague, Melissa, Jody Albright, Keri Barron, Myungsuk Kim, és Brian J. Bennett. 2022. „Obesogenic and diabetic effects of CD44 in mice are sexually dimorphic and dependent on genetic background”. *Biology of Sex Differences* 13(1). doi:10.1186/s13293-022-00426-2.
- Vigh, László, Pablo V. Escribá, Alois Sonnleitner, Max Sonnleitner, Stefano Piotto, Bruno Maresca, Ibolya Horváth, és John L. Harwood. 2005. „The significance of lipid composition for membrane activity: New concepts and ways of assessing function”. *Progress in Lipid Research* 44(5):303–44.

- Vigh, László, Ibolya Horváth, Bruno Maresca, és John L. Harwood. 2007. „Can the stress protein response be controlled by »membrane-lipid therapy«?” *Trends in Biochemical Sciences* 32(8):357–63. doi:10.1016/j.tibs.2007.06.009.
- Vigh, László, Péter Literáti N., Ibolya Horváth, Zsolt Török, Gábor Balogh, Attila Glatz, és ... 1997. „Bimoclomol: A nontoxic, hydroxylamine derivative with stress protein-inducing activity and cytoprotective effects”. *Nature medicine* 3:1150–54. <http://ci.nii.ac.jp/naid/110002916101/>.
- Vigh, László, Bruno Maresca, és L. John Harwood. 1998. „Does the membrane’s physical state control the expression of heat shock and other genes?” *Trends in Biochemical Sciences* 23(10):369–74. doi:[https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01279-1](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01279-1).
- Weisberg, Stuart P., Daniel McCann, Manisha Desai, Michael Rosenbaum, Rudolph L. Leibel, és Anthony W. Ferrante. 2003. „Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue”. *Journal of Clinical Investigation* 112(12):1796–1808. doi:10.1172/JCI200319246.
- Westerbacka, Jukka, Maria Kolak, Tuula Kiviluoto, Perttu Arkkila, Jukka Sirén, Anders Hamsten, Rachel M. Fisher, és Hannele Yki-Järvinen. 2007. „Genes involved in fatty acid partitioning and binding, lipolysis, monocyte/macrophage recruitment, and inflammation are overexpressed in the human fatty liver of insulin-resistant subjects”. *Diabetes* 56(11):2759–65. doi:10.2337/db07-0156.
- Xu, Qingbo, Georg Schett, Hannes Perschinka, Manuel Mayr, Georg Egger, Friedrich Oberhollenzer, Johann Willeit, Stefan Kiechl, és Georg Wick. 2000. *Serum Soluble Heat Shock Protein 60 Is Elevated in Subjects With Atherosclerosis in a General Population*. <http://www.circulationaha.org>.
- Yang, Hyunwon, Yun-Hee Youm, Bolormaa Vandanmagsar, Anthony Ravussin, Jeffrey M. Gimble, Frank Greenway, Jacqueline M. Stephens, Randall L. Mynatt, és Vishwa Deep Dixit. 2010. „Obesity Increases the Production of Proinflammatory Mediators from Adipose Tissue T Cells and Compromises TCR Repertoire Diversity: Implications for Systemic Inflammation and Insulin Resistance”. *The Journal of Immunology* 185(3):1836–45. doi:10.4049/jimmunol.1000021.
- Ye, J. 2009. „Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance”. *International Journal of Obesity* 33(1):54–66.
- Yiying Zhang, Ricardo Proenca, Margherita Maffei, Marisa Barone, Lori Leopold, és Jeffrey M. Friedman. 1994. „Positional cloning of the mouse obese gene and its human homolog”. *Nature* 425–32.
- Zatterale, Federica, Michele Longo, Jamal Naderi, Gregory Alexander Raciti, Antonella Desiderio, Claudia Miele, és Francesco Beguinot. 2020. „Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes”. *Frontiers in Physiology* 10.
- Zheng, Shi Min, Hao Chen, Wei Hong Sha, Xiao Fen Chen, Jian Bin Yin, Xiao Bo Zhu, Zhong Wen Zheng, és Juan Ma. 2022. „Oxidized low-density lipoprotein stimulates CD206 positive macrophages upregulating CD44 and CD133 expression in

- colorectal cancer with high-fat diet”. *World Journal of Gastroenterology* 28(34):4993–5006. doi:10.3748/wjg.v28.i34.4993.
- Zhou, Yingjiang, és Liangyou Rui. 2013. „Leptin signaling and leptin resistance”. *Frontiers of Medicine* 7(2):207–22. doi:10.1007/s11684-013-0263-5.
- Zhu, Lin, William C. Brown, Qing Cai, Andrée Krust, Pierre Chambon, Owen P. McGuinness, és John M. Stafford. 2013. „Estrogen treatment after ovariectomy protects against fatty liver and may improve pathway-selective insulin resistance”. *Diabetes* 62(2):424–34. doi:10.2337/db11-1718.
- Zou, Jiangying, Yongle Guo, Toumy Guettouche, F. David Smith, és Richard Voellmy. 1998. „Repression of Heat Shock Transcription Factor HSF1 Activation by HSP90 (HSP90 Complex) that Forms a Stress-Sensitive Complex with HSF1”. *Cell* 94:471–80.

8 ÖSSZEFOGLALÁS

Az elhízás kórképe összetett, több tényező által befolyásolt állapot, amely számos betegség kockázati tényezője. Jellemzője a szisztémás, krónikus, alacsony fokú gyulladás, különösen az inzulinérzékeny szövetekben (zsírszövet, máj, izom, hasnyálmirigy). A gyulladásban kulcsszerepet játszanak az immunsejtek, főként a makrofágok, amelyek fokozzák a gyulladásos citokinek termelését. Ez a perzisztáló gyulladás hozzájárulhat több elhízással kapcsolatos betegség – pl. T2DM, MASLD, CVD, daganatok – kialakulásához. A gyulladás pontos mechanizmusai azonban még nem teljesen ismertek.

Kutatásaink célja az elhízással összefüggő pathomechanizmusok feltárása volt, különös tekintettel a HSPB1 hősokkfehérjére, mint potenciális terápiás célpontra. Ehhez különböző egérmodelleket és diétákat, valamint a nemi különbségeket is vizsgáltuk.

A HFD modellt gyakran alkalmazzák a MetS vizsgálatára, de a fruktóz jelenléte módosíthatja annak hatásait. A fruktóz inzulinfüggetlen anyagcseréje főként a májban zajlik, mivel fokozza a zsírsavszintézist, ami hozzájárul a MASLD és IR kialakulásához. Ennek megfelelően kísérletsorozatunk első részében egy 5 hónapon keresztül zajló HFD és 30%-os fruktózzal kiegészített HFD kombinációját vizsgáltuk. A két modell között számottevő különbségeket detektáltunk, melyben a 30% fruktóz súlyosabb anyagcserezavarokat okozott, mint a HFD önmagában: fokozta a testtömeg-növekedést, a szteatózist, az IR kialakulását, valamint lipidfelhalmozódást idézett elő a barna zsírszövetben is. Bár gyulladásos elváltozást nem észleltünk, a fruktóz kiegészítés jelentősen fokozta a lipidmetabolizmust szabályozó gének expresszióját, és rontotta a glükóztoleranciát. A szérum lipid profilban viszont nem volt különbség a két diéta között, ami a zsírfogyasztás domináns szerepét jelzi ebben a paraméterben. Az elhízással összefüggő szisztémás gyulladás fő forrásai a WAT által termelt citokinek és adipokinek. A fruktózzal kiegészített elhízásmodellben fokozott gyulladásos válaszra számítottunk, ezért több szinten vizsgáltuk a gyulladásos folyamatokat: citokinexpressziót, immunsejt-aktivációt és sejtfelszíni markereket elemeztünk különböző szervekben és a vérben. A *Tnf*, *Il10* és a *Tgfb* expressziója emelkedett HFD hatására, amit a fruktóz tovább fokozott, míg más gyulladásos gének (pl. *Il6*, *Il1b*) nem mutattak jelentős változást a zsírszövetben. A leptin- és TNF α -szintek a szérumban is emelkedtek, különösen a fruktózt is fogyasztó állatoknál, utalva az IR-rel való kapcsolatra. Az IL-1 β esetében azonban csak szérumszint-emelkedés volt megfigyelhető, ami arra utal, hogy fő szekretáló forrása nem a zsírszövet. A szisztémás immunválasz jellemzésére végzett áramlási citometriás vizsgálatok során fokozott CD69 és CD44 expressziót tapasztaltunk a vér, a csontvelő és a lép főbb immunsejt-típuson. Különösen érdekes, hogy az NK-sejtek CD69 expressziója a keringésben csökkent, ami károsíthatja a tumorelles immunválaszt. A CD44 expressziója nemcsak immunsejteken, hanem a zsírszövet más sejtjein is fokozódott, különösen a vWAT-ban, ami a gyulladás és a daganatkockázat közötti összefüggést is felveti. Noha a fruktóz tovább súlyosbította a metabolikus elváltozásokat, a CD69 és CD44 markerek expressziójában nem volt jelentős különbség a két elhízásmodell között, ami arra utal, hogy már a mérsékelt elhízás is elegendő a szisztémás immunválasz módosításához.

Kísérletsorozatunk másik részében az elhízást genetikai módosítás és diéta kombinációjával modelleztük. Az APOB-100 túltermelése egerekben az emberihez

hasznos magas LDL/HDL arányt eredményez, így a 7 hónapos HFD-vel kiegészítve ez a modell jól alkalmazható a hiperkoleszterinémia és érelmeszesedés vizsgálatára. Ugyanakkor ebben a kísérletben a nemi különbségek vizsgálata is fókuszba került. Korábbi eredményeinkhez hasonlóan, most is azt találtuk, hogy az elhízáshoz kapcsolódó tünetek súlyosabbak a hím APOB-modell egerekben, mint a nőstényekben. Mindkét nemnél emelkedett a testsúly és az LDL-koleszterinszint, ám a magas szérumszén-dioxid- és TG-szint csak a hímnél volt jelen. A MASLD kialakulása kizárólag a hím APOB egereknél volt megfigyelhető HFD hatására, míg a nőstényeknél nem nőtt sem a májtömege, sem a lipidcseppek mérete vagy száma. A szív morfológiai és funkcionális elváltozásai is erőteljesebbek voltak a hímnél: náluk kóros bal kamrai hipertrófia, csökkent szívperctérfogat és diasztolés diszfunkció jelentkezett, míg a nőstényeknél csak enyhe bal kamrai hipertrófia volt észlelhető. Az ösztrogén védőhatásán túl a nőstény egerek nagyobb leptin-érzékenysége is hozzájárulhat a nemi különbségekhez. Génexpressziós vizsgálataink szerint a *Lepr* szintje mindhárom vizsgált szövetben (vWAT, máj, szív) magasabb volt a vad típusú nőstényekben, ami összhangban van korábbi eredményeinkkel. A perifériás leptinrezisztencia hozzájárulhat az elhízás szövődéséhez, ezért feltételezzük, hogy a nőstények magasabb *Lepr* expressziója segíti őket a diéta okozta tünetekkel szembeni ellenállásban. Emellett a vWAT-ban a *Tnf* gén csak a hím elhízott állatokban mutatott jelentős emelkedést. Mivel a TNF α számos elhízással kapcsolatos betegség – például IR, MASLD vagy szívfunkciós zavarok – kialakulásában szerepet játszik, a *Tnf* expresszió hiánya a nőstényekben összhangban áll a náluk megfigyelt enyhébb tünetekkel.

Az elmúlt évek kutatásai egyre inkább alátámasztják, hogy a molekuláris *chaperonok* közé tartozó hősokkfehérjék (HSP-k) fontos szerepet játszanak gyulladásos folyamatokban és metabolikus zavarok szabályozásában. Vizsgálataink során a *Cryab* mRNS-szintje szignifikánsan emelkedett a zsírszövetben mind a HFD, a HFD+FR és a HFD-vel kombinált APOB modellekben. Az egerek *Hspb1* génje is enyhén, de szignifikánsan megemelkedett a HFD+FR állatoknál, míg a *Hspa1* expressziója mindhárom modellben csökkent. A *Lep* és a *Cryab* génexpressziók erősen korreláltak, ami arra utal, hogy ezek a kis hősokkfehérjék adipokinként is működhetnek és szerepük lehet az elhízás anyagcsere-eltéréseiben. Mivel a HSPB1-ről kevesebb adat áll rendelkezésre, második kísérletsorozatunkban ezt a fehérjét vizsgáltuk, APOB-100 túltermelő egerek HSPB1-túltermelőkkel való keresztezésével. A HSPB1 túltermelése a nőstény APOB egerekben fokozta a testtömeg-növekedést, míg a hímek testtömege nem változott. Érdekes módon a HSPB1 túltermelése ellentétes hatással volt a szérumszén-dioxid-koleszterinszintre: a hím APOB/HSP egerekben csökkentette az LDL-szintet, míg a nőstényeknél növelte azt. Emellett a HSPB1 csökkentette az elhízás hatására emelkedő *Cd44* génexpressziót a hímek zsírszövetében, ami gyulladáscsökkentő hatásra utal. A CD44 membránreceptor szerepet játszik a MetS számos tünetében, így az IR-ben, szteatózisban és gyulladásban, és csökkent *Cd44* expresszió mellett a makrofág infiltráció és a *Tnf* expresszió is mérséklődik. Összességében eredményeink szerint a HSPB1 túltermelése nemcsak a koleszterin-anyagcsere, hanem a gyulladásos folyamatokra is hatással van, nemi különbségek mellett, így fontos szerepe lehet az elhízással összefüggő társbetegségek szabályozásában.

A nőstény APOB/HSP egerekben a testtömeg és LDL-szint emelkedése arra utal, hogy a HSPB1, hasonlóan a HSPB5 és HSPB2-höz, szerepet játszhat a HFD-indukált

anyagcserezavarokban. Ugyanakkor az elhízással járó tünetek nem súlyosbodtak náluk; sőt, a gyulladásos citokinek génexpressziója csökkent mind a májban, mind a zsírszövetben az APOB csoporthoz képest. Érdekes nemi különbség, hogy az *Fgf21* expressziója hímeknél csökkent, míg nőstény APOB/HSP egerekben jelentősen nőtt, ami hozzájárulhat a metabolikus egészség megőrzéséhez a magasabb testtömeg ellenére. Az APOB egerek májában mindkét nemből emelkedett az *Lpl* expressziója. Hím APOB/HSP egerekben az *Lpl* tovább nőtt, míg nőstény APOB/HSP egerekben normalizálódott. A legmagasabb *Lpl* expresszió az APOB és APOB/HSP hímeknél jelentkezett, együtt a zsírmáj tüneteivel. Nőstény APOB egerekben *Lpl* nőtt MASLD nélkül, ami arra utal, hogy más tényezők is szükségesek a betegséghez. Az APOB/HSP nőstényekben az *Lpl* normalizálódása hozzájárulhat a máj lipidfelhalmozódás hiányához a magas testtömeg és LDL-szint ellenére. Ez azt sugallja, hogy a HSPB1 túltermelése védő hatású lehet a HFD káros következményeivel szemben nőstény egerekben. A szívparaméterek tekintetében érdekesség, hogy az egészséges HSPB1-túltermelő egerekben, mindkét nemből, vastagabb szívizomfalat detektáltunk a bal kamrában a kontrollhoz képest, ami hipertrófiára és javult ejekciós frakcióra utal. Eredményeink arra utalnak, hogy a HSPB1 nemcsak védi a szívet a funkciós zavaroktól, hanem aktívan részt vesz az adaptív hipertrófia kialakulásában is.

Összefoglalva, bár a HFD önmagában is alkalmas az elhízással kapcsolatos folyamatok vizsgálatára, a fruktózzal kiegészített HFD modell jobban tükrözi a nyugati típusú diéta metabolikus hatásait, mivel itt jelentősebb testtömeg-növekedés, májzsírfelhalmozódás és IR alakult ki, valamint fokozott szisztémás gyulladás volt megfigyelhető. Mindkét modellben kimutathatók voltak az elhízáshoz kötődő immunfenotípusos eltérések, melyek daganatos kockázathoz kapcsolódhatnak. Az APOB-100 fehérje túltermelésével kombinált HFD pedig magasabb LDL-szintet és *Cd44* génexpressziót eredményezett, ezért az APOB egérmódel HFD+FR diétával a legmegfelelőbb a humán elhízás pontosabb kutatásához. Eredményeink továbbá rámutatnak, hogy a HSPB1 szerepet játszik az elhízással kapcsolatos anyagcserezavarok szabályozásában, de hatása nemek szerint eltérő. Bár az APOB/HSP nőstények nagyobb testtömeget és emelkedett LDL-szintet mutattak, a gyulladás, szteatózis és szívproblémák nem súlyosbodtak, ami arra utal, hogy a HSPB1 összetett, részben ösztrogénfüggő védő szerepet tölthet be az elhízás patológiájában. Mely tovább hangsúlyozza a nemi különbségek figyelembevételének fontosságát, mely elengedhetetlen a jövőbeli terápiák fejlesztésében és klinikai alkalmazásában.

9 SUMMARY

Obesity is a complex, multifactorial condition and a major risk factor for numerous diseases. It is characterized by systemic, chronic, low-grade inflammation, particularly in insulin-sensitive tissues such as adipose tissue, liver, muscle, and pancreas. Immune cells, particularly macrophages, play a crucial role in the development of inflammation by enhancing the production of pro-inflammatory cytokines. This persistent inflammation may contribute to the development of several obesity-related diseases, including T2DM, MASLD, CVD, and certain cancers. However, the exact mechanisms of this inflammation are still not fully understood.

Our research aimed to explore these obesity related pathomechanisms, with a special focus on the heat shock protein HSPB1 as a potential therapeutic target. To this end, we used various mouse models and diets, and also investigated sex-related differences.

The HFD is a commonly used model to study metabolic syndrome, but the presence of fructose may modulate its effects. Fructose metabolism is largely insulin-independent and occurs primarily in the liver, where it promotes fatty acid synthesis and may contribute to MASLD and insulin resistance. Accordingly, in the first part of our experiments, we investigated the effects of a 5-month HFD and HFD supplemented with 30% fructose. We detected considerable differences between the two models: the 30% fructose diet induced more severe metabolic alterations than HFD alone, such as increased body weight gain, hepatic steatosis, insulin resistance, and lipid accumulation in brown adipose tissue. Although no marked inflammatory changes were observed, fructose supplementation significantly increased the expression of genes regulating lipid metabolism and impaired glucose tolerance. However, there were no significant differences in serum lipid profiles between the two diets, suggesting that fat intake has a more dominant effect on this parameter. The main sources of obesity-associated systemic inflammation are cytokines and adipokines produced by white adipose tissue (WAT). Given the metabolic deterioration induced by fructose, we expected an enhanced inflammatory response in this model, and therefore analyzed inflammatory processes at multiple levels: cytokine gene expression, immune cell activation, and surface marker expression in various tissues and blood. Expression of *Tnf*, *Il10*, and *Tgfb* was increased by HFD and further elevated by fructose, while other inflammatory genes such as *Il6* and *Il1b* showed no significant changes in adipose tissue. Leptin and TNF α levels were also elevated in serum, particularly in fructose-fed animals, indicating a link to insulin resistance. Interestingly, IL-1 β was elevated only in serum, suggesting that its main source is not adipose tissue. Flow cytometry analyses of systemic immune responses showed increased CD69 and CD44 expression on major immune cell types in blood, bone marrow, and spleen. Notably, CD69 expression on NK cells was decreased in the circulation, which may impair anti-tumor immunity. CD44 expression was also elevated on non-immune cells in adipose tissue, especially in vWAT, indicating a possible connection between inflammation and cancer risk. Despite the more severe metabolic alterations in the HFD+FR model, CD69 and CD44 expression did not differ significantly between the two obesity models, suggesting that even moderate obesity is sufficient to induce systemic immune modulations.

The second phase of our investigation involved modeling obesity through a combined strategy of genetic modification and dietary intervention. The APOB-100 overexpression combined with 7 months of HFD in mice results in a human-like high LDL/HDL ratio, making this model suitable for studying hypercholesterolemia and atherosclerosis. This experiment also focused on sex differences. Consistent with previous findings, we observed more severe obesity-related symptoms in male APOB mice compared to females. Both sexes exhibited increased body weight and LDL-cholesterol levels, but elevated serum glucose- and TG-levels were only observed in males. MASLD developed exclusively in male APOB mice in response to HFD, while female mice showed no increase in liver weight, or the size or number of lipid droplets. Cardiac morphological and functional changes were also more pronounced in males, including pathological left ventricular hypertrophy, reduced cardiac output, and diastolic dysfunction, while only mild hypertrophy was observed in females. In addition to estrogen's protective role, greater leptin sensitivity in female mice may also contribute to sex differences. Our gene expression analyses revealed higher *Lepr* levels in all three studied tissues (vWAT, liver, heart) of WT females, consistent with our previous results. Since peripheral leptin resistance contributes to obesity complications, we hypothesize that higher *Lepr* expression in females helps them resist diet-induced symptoms. Moreover, *Tnf* gene expression in vWAT was significantly increased only in obese males. Given TNF α 's role in obesity-related diseases such as insulin resistance, MASLD, and cardiac dysfunction, the lack of *Tnf* elevation in females aligns with their milder symptoms.

Recent research increasingly supports that HSPs, molecular chaperones, play important roles in inflammation and metabolic regulation. In our analyses, *Cryab* mRNA levels were significantly elevated in adipose tissue in all three models (HFD, HFD+FR, and HFD+APOB). *Hspb1* expression was also mildly but significantly increased in the HFD+FR group, while *Hspa1* expression decreased in all models. The expression levels of *Lep* and *Cryab* showed strong correlation, suggesting that these small HSPs may also function as adipokines and contribute to obesity-related metabolic disturbances. Due to the limited knowledge on HSPB1, our second experimental series focused on this protein by crossing HSPB1-overexpressing mice with APOB-100-overexpressing mice. HSPB1 overexpression increased weight gain in female APOB mice but had no effect on body weight in males. Interestingly, HSPB1 overexpression had opposite effects on LDL levels: it decreased LDL in male APOB/HSP mice but increased it in females. Additionally, HSPB1 reduced *Cd44* gene expression in male adipose tissue, suggesting an anti-inflammatory effect. CD44 is a membrane receptor involved in many metabolic syndrome-related symptoms, including insulin resistance, steatosis, and inflammation. Reduced *Cd44* expression is associated with decreased macrophage infiltration and *Tnf* expression. Overall, our results indicate that HSPB1 overexpression affects not only cholesterol metabolism but also inflammation in a sex-specific manner, suggesting its potential role in regulating obesity-related comorbidities. In female APOB/HSP mice, increased body weight and LDL levels suggest that HSPB1, like HSPB5 and HSPB2, may contribute to HFD-induced metabolic alterations. However, obesity-related symptoms did not worsen; rather, inflammatory cytokine gene expression decreased in both liver and adipose tissue compared to APOB control.

Notable sex difference was the significant increase in *Fgf21* expression in APOB/HSP females, while it decreased in males. This may contribute to the maintenance of metabolic health despite increased body weight. *Lpl* expression was elevated in the liver of both APOB sexes. In males, *Lpl* further increased with HSPB1 overexpression, while in females it normalized. The highest *Lpl* levels were found in APOB and APOB/HSP males, alongside hepatic steatosis. In contrast, *Lpl* increased in APOB females without MASLD, suggesting that additional factors are required for disease manifestation. The normalization of *Lpl* in APOB/HSP females may contribute to the absence of hepatic lipid accumulation, despite high body weight and LDL levels, implying a protective role of HSPB1 against HFD-induced hepatic damage in females. Regarding cardiac parameters, we observed thicker left ventricular walls in healthy HSPB1-overexpressing mice of both sexes, compared to controls, suggesting hypertrophy and improved ejection fraction. These results indicate that HSPB1 not only protects the heart from dysfunction but may also contribute to the development of adaptive hypertrophy.

In summary, while HFD alone is a suitable model for studying obesity-related processes, the HFD+FR model better reflects the metabolic effects of a Western-type diet, inducing more pronounced weight gain, hepatic steatosis, insulin resistance, and systemic inflammation. Both models revealed immune phenotypic alterations associated with obesity, potentially linked to cancer risk. The HFD combined with APOB overexpression resulted in elevated LDL levels and *Cd44* expression, making the APOB mouse model with HFD+FR the most appropriate for studying human obesity. Furthermore, our findings demonstrate that HSPB1 contributes to the regulation of obesity-related metabolic disturbances in a sex-dependent manner. Although APOB/HSP females exhibited increased body weight and LDL levels, inflammation, hepatic steatosis, and cardiac complications were not exacerbated. This suggests that HSPB1 may exert a complex, partially estrogen-dependent protective role in obesity pathology, emphasizing the importance of considering sex differences in the development and clinical application of future therapies.

10 PUBLIKÁCIÓS LISTA

MTMT azonosító: 10074141

Összesített IF: 22

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények:

❖ **Ruppert Zsófia**, Sárközy Márta, Rákóczi Bettina, Dukay Brigitta, Hajdu Petra, Szűcs Gergő, Galla Zsolt, Hunya Ákos, Kovács Ferenc, Kriston András, Monostori Péter, Horváth Péter, Cserni Gábor, Tiszlavicz László, Csont Tamás, Vígh László, Sántha Miklós, Török Zsolt, Tóth E. Melinda. Overexpression of the human heat shock protein B1 alters obesity-related metabolic changes in a sex-dependent manner in a mouse model of metabolic syndrome.

Biology of Sex Differences (2025) 16:1 Paper: 65, 21 p.

<https://doi.org/10.1186/s13293-025-00746-z>

SJR indikátor: D1; IF₂₀₂₄: 5,1

❖ **Ruppert Zsófia**^{*}, Neuperger Patrícia^{*}, Rákóczi Bettina, Gémes Nikolett, Dukay Brigitta, Hajdu Petra, Péter Mária, Balogh Gábor, Tiszlavicz László, Vígh László, Török Zsolt, Puskás László G., Szebeni J. Gábor[#], Tóth E. Melinda[#]. Characterization of obesity-related diseases and inflammation using single cell immunophenotyping in two different diet-induced obesity models.

International Journal of Obesity (2024) 48, 1568–1576.

<https://doi.org/10.1038/s41366-024-01584-6>

SJR indikátor: D1; IF₂₀₂₄: 3,8

^{*}, [#] a szerzők azonos mértékben járultak hozzá a publikációhoz

Egyéb közlemények:

❖ Dukic Barbara, **Ruppert Zsófia**, Tóth E. Melinda, Hunya Ákos, Czibula Ágnes, Bíró Péter, Tiszlavicz Ádám, Péter Mária, Balogh Gábor, Erdélyi Miklós, Timinszky Gyula, Vígh László, Gombos Imre, Török Zsolt. Mild Hyperthermia-Induced Thermogenesis in the Endoplasmic Reticulum Defines Stress Response Mechanisms.

Cells (2024) 13, 1141.

<https://doi.org/10.3390/cells13131141>

SJR indikátor: Q1; IF₂₀₂₄: 5,2

❖ Tóth E. Melinda, Sárközy Márta, Szűcs Gergő, Dukay Brigitta, Hajdu Petra, Zvara Ágnes, Puskás László G., Szebeni J. Gábor, **Ruppert Zsófia**, Csonka Csaba, Kovács Ferenc, Kriston András, Horváth Péter, Kővári Bence, Cserni Gábor, Csont Tamás, Sántha Miklós. Exercise training worsens cardiac performance in males but does not change ejection fraction and improves hypertrophy in females in a mouse model of metabolic syndrome.

Biology of Sex Differences (2022) 13:1 Paper 5, 20p.

<https://doi.org/10.1186/s13293-022-00414-6>

SJR indikátor: D1; IF₂₀₂₂: 7,9