

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**HIPOXIA ÉS HEMORRÁGIA: MIKROKÖRNYEZETI
HATÁSOK AZ ÉRELMESZESEDÉS ÉS A VASZKULÁRIS
KALCIFIKÁCIÓ PATOGENEZISÉBEN**

Dr. Jeney Viktória



DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
MOLEKULÁRIS MEDICINA KUTATÓKÖZPONT

DEBRECEN
2022

Bevezetés

A halálozási statisztikákat világszerte az érlelmeszesedés talaján kialakuló kardiovaszkuláris események (agyvérzés, szívinfarktus) vezeték. Az ateroszklerózis egy lassú, progresszív betegség, mely már gyerekkorban elkezdődhet, klinikai tüneteket azonban csak évtizedekkel később mutat, ezért is szoktak az érlelmeszesedésre „csendes gyilkosként” utalni.

Hajlamosak vagyunk azt gondolni, hogy az érlelmeszesedés civilizációs betegség, azonban a közelmúltban múmiákon végzett vizsgálatok során kimutatták, hogy az erek meszesedése végigkísérte az emberiség történelmének eddigi 4000 évét.

Az érlelmeszesedés patomechanizmusát feltáró alapkutató és az ezen eredményeket felhasználó gyógyszerfejlesztés hatására napjainkra a betegség valamelyest megelőzhetővé, de legalábbis lassíthatóvá vált, a klinikai tünetek jellemzően későbbi életkorban jelentkeznek. Az érlelmeszesedés pathogenezisében kitüntetett szerepet játszik a megemelkedett koleszterin (különös tekintettel az alacsony sűrűségű lipoprotein (LDL)) szint és a diszlipidémia, a betegség kezelésének elsődleges célpontja. Ugyanakkor a szerteágazó kutató számos egyéb pro-aterogén faktort azonosított, melyek egy része lokálisan, a plakk mikroköznyezetében van jelen.

Ilyen lokális faktor a hipoxia, mely az előrehaladott érlelmeszesedéses léziók jellemzője. A hipoxia jelenlétét a plakk közepső régiójában különböző állapotmodellekben és humán karotisz mintákban is megfigyelték. Apolipoprotein E deficiens egérmodellben kimutatták, hogy mind a krónikus, mind az intermittáló hipoxia fokozza a plakk progresszióját. Számos mechanizmust azonosítottak, melyek által a hipoxia fokozza az érlelmeszesedést.

A hipoxia a plakkban található sejtek metabolizmusát az anaerób glikolízis irányába tolja el, mely a laktát termelés fokozódását, és a plakk savasodását eredményezi. Hipoxiában felborul az elektron transzport és az intracelluláris oxigén koncentráció egyensúlya, melynek következtében megemelkedik a reaktív oxigéngyökök (ROS) képződése. Hipoxiában felgyorsul a makrofágok zsírsav szintézise, ugyanakkor csökken a béta oxidációt katalizáló enzimek expressziója és a koleszterin efflux, így fokozódik a lipid akkumuláció és a habos sejt-képződés. Hipoxia hatására emelkedik a pro-inflammatórikus citokinek és a sejtadhéziós molekulák

expressziója. A hipoxia a plakk stabilitását negatív irányba befolyásolja, melyben több folyamat játszik szerepet. A plakk extracelluláris mátrixa a plakk progressziója során folyamatosan átépül, melynek során proteolitikus enzimek degradálják ez extracelluláris mátrixot alkotó fehérjét. A hipoxia fokozza a mátrix metalloproteinázok expresszióját, a plakk metabolikus savasodása pedig fokozza a lizoszomális hidrolázok, valamint az elasztin- és kollagénbontó katepszinek aktivitását.

A hipoxia egyik további jól ismert hatása az érújdonképződés indukciója. A plakk neovaszkuarizációja régóta ismert volt, mint az előrehaladott érlelmeszesedés plakkok jellemzője, manapság azonban egyre több bizonyíték van arra, hogy a neovaszkuarizáció az érlelmeszesedés korai stádiumaiban is jelen van, amikor az intima megvastagodása meghaladja a 200–250 μm -t, az oxigén szöveti diffúziós távolságát. A plakkba benövő kapillárisok nem rendelkeznek stabil struktúrával, szivárognak és törékenyek, mely a plakk bevézését okozza. Intraplakk hemorrágia a magas rizikójú plakkok mintegy 40%-ában kimutatható, elősegíti a plakk progresszióját és növeli a plakk vulnerabilitását. Egyes vélekedések szerint az intraplakk hemorrágia kulcsszerepet játszik az érlelmeszesedéssel összefüggő akut klinikai események kiváltásában.

A vörösvérsejtben jelenlévő komplex antioxidáns rendszer kulcsszerepet játszik abban, hogy a hemoglobin (Hb) prosztetikus csoportjában található hem-vas ferro, az-az +2-es oxidációs állapotban maradjon, mely feltétele annak, hogy a Hb oxigént tudjon megkötni és szállítani. A vörösvérsejt lízisét követően azonban bekövetkezhet a Hb oxidációja. Különösen jelentős lehet ez a folyamat szöveti környezetben (pl. intra-plakk hemorrágia), ahol a Hb haptogloblin általi megkötése és eltávolítása nem, vagy csak korlátozott mértékben valósul meg.

A Hb oxidációja egy komplex folyamat, melyet több, az érrendszerben jelenlévő oxidáló ágens indukálhat, mint például a hidrogén-peroxid vagy a nitrogén-oxid. A Hb egy elektronos oxidációja során methemoglobin keletkezik, melyben a hem vas oxidációs állapota +3. A hidrogén-peroxid, illetve a lipid-hidroperoxidok a Hb kételektronos oxidációját idézik elő, mely reakcióban ferrilHb keletkezik, melyben a hem vas oxidációs állapota +4. A metHb is reagálhat peroxidokkal, mely reakcióban ferrilHb gyökök keletkeznek, amelyekben a párosítatlan elektron vagy a globin láncon, vagy a porfirin gyűrűn lokalizálódik. A ferril oxidációs állapot nagyon instabil,

ezért ezek a Hb formák rövid életidejű intermedierek, melyek gyorsan tovább alakulnak. A ferril-ion erős oxidáló ágens, a környezetében lévő oxidációra érzékeny aminosavakat (pl. a Hb alfa láncon lévő α Tyr-24, α Tyr-42, α His-20, illetve a béta láncon lévő β Tyr-35, β Tyr-130 és β Cys-93) oxidálja, melynek során intramolekuláris elektrontranszfer révén az adott pozícióban egy globin gyök, és ferri-vas keletkezik. Ezen oxidációs reakciókban keletkező globin- és porfirin gyökök egymással reagálva globin-globin, illetve globin-porfirin adduktokat képeznek. A Hb alegységek szerkezetét és a hem proszтетikus csoport globin láncokhoz kötődését jelentősen befolyásolja a hem-vas oxidációs állapota. A hem-vas oxidációja olyan torzulást idéz elő a Hb alegységek szerkezetében, mely csökkenti a hem-globin kötés stabilitását, és a hem disszociációjához vezet.

A plakk bevezetését követően tehát új lokális faktorok, vörösvérsejt membrán, hemoglobin (Hb), oxidált Hb formák és szabad hem jelennek meg a plakk mikrokörnyezetében, melyek a plakk sejtes és nem-sejtes elemeivel kölcsönhatásba lépve befolyásolhatják a plakk progresszióját.

Az extracelluláris Hb és az oxidációja során keletkező Hb formák elsődleges celluláris targetjei lehetnek az érfalat alkotó vaszkuláris simaizomsejtek (VSMCs) és endotélsejtek, valamint a plakk progresszióját jelentősen befolyásoló makrofágok. A nem sejtes targetek közül lényeges az LDL, melynek a szubendotéliális térben való akkumulációja és módosulásai az érlelmeszesedés fő etiopathogenetikai tényezői.

A vér és szövetek között lévő barriert az endotélium folytonos és egyrétegű laphám szerkezete biztosítja. A nyugalomban lévő endotélsejtek fontos funkciója hogy anti-adhéziós, anti-trombotikus, és anti-inflammatórikus felszint biztosítanak az érrendszerben. Az érlelmeszesedés patomechanizmusában az endotél aktiváció kitüntetett szereppel bír, melyet pro-inflammatórikus molekulák valamint biomechanikai tényezők (megváltozott áramlási viszonyok) idéznek elő. Ezen biokémiai és biomechanikai stimulusok döntően a pleiotropikus transzkripciós faktor, nukleáris faktor kappa B (NF- κ B) indukcióján keresztül fejtik ki hatásukat, és a sejtfelszíni adhéziós molekulák, szekretált és membrán-asszociált kemoattraktáns molekulák, illetve pro-trombotikus mediátorok expressziójának fokozódását okozzák. Ezek hatására fokozódik a monociták és egyes típusú T limfociták szelektív kiáramlása a keringésből a szubendotéliális térbe. A szubendotéliális térben az aktivált endotélsejtek, a makrofágok és a limfociták közötti interakciók révén létrejön egy

citokinekből, növekedési faktorokban és ROS-ban gazdag pro-inflammatórikus mikrokörnyezet, mely elősegíti a plakk progresszióját.

A plakk növekedése a lipidek és az inflammatórikus sejtek szubendotéliális akkumulációja révén többnyire évtizedeken keresztül tünetmentesen zajlik. Ugyanakkor az inflammatórikus sejtek citokineket és növekedési faktorokat szekretálnak, melyek befolyásolják az érfal tulajdonságait. Ezen molekulák elsődleges célpontjai a vaszkuláris simaizomsejtek. A plakk komplex környezetében megfigyelték a vaszkuláris simaizomsejtek proliferációját és migrációját a plakk lumen felőli szélé irányába, valamint a vaszkuláris simaizomsejtek fenotípusának megváltozását.

Az alapvetően kontraktilis simaizomsejtek oxidált LDL hatására a makrofágokból képződő habos sejtekhez hasonló sejtekké válnak, melyek fő jellemzője a szkevendzser receptorok expressziója, és az oxLDL felvétele. Sejt-eredet nyomonkövetéses vizsgálatok kimutatták, hogy a plakkból található habos sejtek jelentős hányada simaizomsejt eredetű, és egyszerre expresszálja a CD68 makrofág antigént valamint az α -aktin simaizomsejt markert. Szöveti károsodás hatására a kontraktilis simaizomsejtek szintetikus simaizomsejtekké válnak, melyeket egyes extracelluláris mátrix fehérjék (pl. fibronektin és elasztin) megnövekedett expressziója jellemez. A szintetikus simaizomsejtek az érlelmeszesedéses plakktól borító fibrózis sapka felépítésében játszanak szerepet. Számos különféle stimulus kiválthatja a simaizomsejtek oszteogén irányú transzdifferentiálódását is. A simaizomsejtek oszteogén irányú differentiálódása során kialakuló oszteoblaszt-szerű sejtek csonthoz hasonló extracelluláris mátrixot termelnek, ez okozza a plakk kalcifikációját. Mikrokalcifikáció ($<0.5\text{--}15\text{ }\mu\text{m}$) már a patológiás intima megvastagodás stádiumában is detektálható. A plakk progressziójával a kalcifikációs nodulusok száma és mérete is növekszik (makrokalcifikáció, lemezes kalcifikáció). A kalcifikáció és a plakk stabilitása közötti összefüggés nem egyértelmű. Patológiai vizsgálatok eredményei szerint a stabil plakkokban magas a lemezes kalcifikáció prevalenciája, ugyanakkor a mikrokalcifikáció az instabil plakkokra jellemző. Ugyanakkor komputertomográfiás vizsgálatok szerint a magas szöveti kalcium-szint a kardiovaszkuláris események fokozott előfordulásával van összefüggésben.

Az elmúlt években ez a mikrokörnyezet állt kutatómunkám fókuszában; a hipoxia, az oxidált Hb formák és a belőlük szabadabbá váló hem szerteágazó hatásait vizsgáltam különféle *in vitro* és *in vivo* modellrendszerekben.

Célkitűzés

Munkám során célom volt:

1. a plakk bevékezés következtében a plakkba kerülő Hb sorsának tanulmányozása, a Hb oxidációjának vizsgálata, valamint a Hb-LDL interakciók feltérképezése,
2. a Hb oxidációja során keletkezett oxidált Hb formák és a szabad hem pro-inflammatórikus hatásának, valamint hatásmechanizmusának vizsgálata endotélsejteken és makrofágokon,
3. a hem hatásának, valamint hatásmechanizmusának vizsgálata vaszkuláris simaizomsejtek és billentyű intersticiális sejtek oszteogén irányú differenciálódására,
4. a hipoxia hatásának és hatásmechanizmusának vizsgálata vaszkuláris simaizomsejtek oszteokondrogén irányú differenciálódására normál és magas foszfát szintek mellett,
5. a Daprodustat (hipoxiamimetikum) hatásának és hatásmechanizmusának vizsgálata vaszkuláris simaizom-sejtek oszteokondrogén irányú differenciálódására magas foszfát szintek mellett,
6. a Daprodustat vaszkuláris kalcifikációra kifejtett hatásának vizsgálata *in vivo* körülmények között CKD egérmodellben.

Kísérleti módszerek

- A kísérleteinkben használt LDL-t és Hb-t önkéntes donoroktól vett vénás vérből izoláltuk. Az LDL-t egy lépéses gradiens ultracentrifugálással szeparáltuk. A Hb-t a vörösvérsejtek lízisét és a membrán eltávolítását követően anioncserés oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottuk.

- Az LDL oxidatív módosulásának detektálása során a konjugált diének, lipid-hidroperoxidok és tiobarbitursav reaktív anyagok koncentrációit határoztuk meg fotometriás módszerekkel.
- A kísérleinkben használt metHb előállítása során a tisztított Hb-t 1,5-szeres moláris mennyiségű $K_3[Fe(CN)_6]$ -tal reagáltattuk. FerrilHb előállításához a Hb-t a hemcsoporthoz viszonyított 10-szeres mennyiségű H_2O_2 -dal inkubáltuk. Az oxidáció végeztével a metHb és ferrilHb oldatokat dializáltuk, töményítettük és $-70\text{ }^\circ\text{C}$ -on tároltuk.
- A különböző oxidációs állapotú Hb minták Hb, metHb és ferrilHb koncentrációját a minták 450-700 nm között Nanodrop 2000 készülékkel felvett abszorpciós spektruma alapján a szakirodalomból ismert moláris extinciókoefficiensek és egyenletek segítségével határoztuk meg.
- Kísérleteink során a sejteket (humán umbilikális véna endotélsejt (HUVEC), RAW 264.7 makrofág, csontvelői eredetű eger makrofág (BMDM), humán aorta simaizomsejt (VSMC), humán billentyű intersticiális sejt (VIC)) sejtenyészítő inkubátorban 5% CO_2 , és amennyiben másként nem jeleztük, 21% O_2 tartalom mellett $37\text{ }^\circ\text{C}$ -on tenyésztettük. Néhány kísérletben hipoxiás (1% O_2) környezetben tartottuk a sejteket.
- *Ex vivo* aorta szövettenyésztéses kísérleteinkben C57BL/6 egerek aszeptikus körülmények között eltávolított 4-5 mm hosszúságúra darabolt aortáját használtuk.
- A reaktív oxigéngyökök (ROS) keletkezését fluoreszcens módszerrel, a sejt permeábilis CM-H2DCFDA festékkel detektáltuk.
- A sejtek életképességét annexin V és propidium jodid festést követően áramlási citometriával, valamint MTT módszerrel határoztuk meg.
- ELISA módszereket használtunk az adhéziónak molekulák (E-szelektin, intercelluláris adhéziónak molekulák-1 (ICAM-1) és vaszkuláris sejt adhéziónak molekulák (VCAM-1)), a szekretált interleukin-1 béta (IL-1 β), a vaszkuláris endotélialis növekedési faktor A (VEGF-A), valamint az oszteokalcin (OCN) koncentrációinak meghatározására.
- A sejtek mRNS expressziójának meghatározása során a sejtekből Trizol reagenst használva totál RNS-t izoláltunk. Az RNS-ből High Capacity cDNA RT kiten használva cDNS-t állítottunk elő. A PCR reakciót valós idejű qPCR készülékkel hajtottuk végre. A target gének amplifikációja során iTaqTM Universal Probes Supermix-et és validált FAM

fluorofórral konjugált TaqMan próbát és a hozzá megtervezett primereket használtuk. A relatív mRNS expressziókat a $\Delta\Delta C_t$ módszerrel számítottuk ki, GAPDH-t vagy Ciklofilin A-t használva belső kontrollként.

- Géncsendesítést rövid interferáló RNS (siRNS) konstrukttokkal végeztünk. A transzfekciót Oligofectamin reagenssel, illetve Lipofectamine® RNAiMAX reagenssel végeztük.
- A sejtek fehérje expresszióját Western blot analízissel vizsgáltuk, melynek során a sejtizátumot 10%-os SDS poliakrilamid gélen futattuk, nitrocellulóz membránra blottoltuk, a membránt tejpor oldattal blokkoltuk, majd target-specifikus elsődleges, majd torna peroxidázzal konjugált másodlagos antitestekkel jelöltük. A kemilumineszcenciás detektáláshoz Western ECL reagenst használtuk. Az eredményeket röntgenfilmen vagy digitálisan hívtuk elő.
- Az alkalikus foszfatáz (ALP) enzimaktivitásának mérése során a sejtizátumhoz ALP szubsztrátot adtunk, majd fotometriás módszerrel mértük a 4-nitrofenol képződését.
- Alizarin vörös (AR) festéssel detektáltuk az extracelluláris mátrixban felhalmozódó kalcium depozitumokat. Ennek során a sejteket paraformaldehid oldattal fixáltuk, majd AR oldattal festettük. Az eredmény fényképes dokumentálását követően az AR festést kvantáltuk, melynek során a bekötődött AR festéket hexadecylpyridinium klorid oldatban feloldottuk, és 570 nm-en fotometráltuk.
- A kalcifikálódott VSMCs és aorta minták extracelluláris mátrix kalcium tartalmát sósavval kioldottuk, majd koncentrációját QuantiChrome Calcium Assay Kit-tel határoztuk meg.
- A karotisz plakkok gyűjtését a Debreceni Egyetem Sebészeti Intézetének közreműködésével a „Bevérzett athero-scleroticus plakkok vizsgálata műtéti preparátumból” című DE OEC RKEB/IKEB 3712-2012 protokoll azonosítójú tudományetikai engedély szerint végeztük. A bemutatásra került plakkok endarterektómia során eltávolított műtéti anyagok. A szövetek tudományos irányú felhasználása a betegek írásos beleegyezésével történt.
- A Hb formák gyulladáskeltő hatásának vizsgálatát az “Oxidált hemoglobin formák szerepe malária-asszociált akut vesekárosodásban” című 2/2016/DEMÁB számon nyilvántartott etikai engedélyben leírtak szerint végeztük. A kísérleteinkhez használt C57BL/6 és NLRP3^{-/-}

egereket a Debreceni Egyetem TTK konvencionális állatházában tartottuk. A Hb formák gyulladáskeltő tulajdonságát vizsgálva 30 C57BL/6 és 15 NLRP3^{-/-} egeret vizsgáltunk.

- A krónikus veseelégtelen (CKD) egérm modellen végzett vizsgálatainkat a “Hipoxia szerepe a vaszkuláris kalcifikációban” című 3/2018/DEMÁB számon nyilvántartott etikai engedélyben leírtak szerint végeztük. A kísérletekben 25 C57BL/6 egeret (8-12 hetes, hím) használtunk fel. A DPD-t 1% metilcellulózban szuszpendáltuk és naponta gyomorszondán keresztül adagoltuk.
- A CKD kísérletekben a szérum urea és kreatinin szinteket Cobas® c502 készülékkel határoztuk meg. A hematológiai paramétereket K3-EDTA-val antikoagulált vérből Siemens Advia-2120i automatával határoztuk meg.
- Az aorta kalcifikáció érzékeny kimutatására OsteoSense festéket és IVIS Spectrum In Vivo Imaging készüléket használtunk.
- A humán érminták és eger aorta gyűrűk hisztológiai vizsgálata során szövetdarabokat 10%-os formalinban fixáltuk, majd paraffinba ágyaztuk. A hematoxin-eozin festést 5 µm vastag paraffinmentesített rehidratált metszeteken végeztük el. Az eger aorta gyűrűkön von Kossa festést is végeztünk a Von Kossa Kit útmutatását követve.

Eredmények és diszkusszió

1. Örögi kör: intraplakk hemorrágia, hemoglobin-plakk lipid interakciók

A Hb egy oxidációra hajlamos molekula, redukált állapotban tartása a vörösvérsejtben megvalósul, az extracelluláris térben azonban az antioxidáns védelmi rendszer hiánya a Hb oxidációját eredményezi. Kísérleteink során vizsgáltuk a Hb és a metHb H₂O₂-dal kiváltott oxidációját, mely a Hb, illetve a metHb két elektronos oxidációját, ferrilHb és ferrilHb gyök képződését idézi elő. A Hb H₂O₂-dal kiváltott oxidációját követően mi elsősorban metHb-t tudtunk detektálni, a ferrilHb szintje nagyon alacsony volt. Ugyankor a metHb H₂O₂-dal kiváltott oxidációját követően detektált ferrilHb mennyisége fordított arányban állt a H₂O₂ koncentrációjával. Eredményeink alátámasztják a korábbi ismereteket a ferrilHb instabil természetéről. A ferrilHb-ban lévő magas oxidációs

állapotú (+4) ferril ion intramolekuláris elektron transzfer által stabilizálódik, melynek során az elektron a globin lánc kitüntetett, a hem prosztetikus csoporthoz térben közel álló és elektron donációra hajlamos aminosav oldalláncaitól a ferril ion irányába vándorol. Az intramolekuláris elektron transzfer eredményeként a ferril ion Fe^{3+} ionná redukálódik és létrejön egy globin gyök. A globin gyökök egymással reagálva kovalens kötések alakítanak ki, és létrejönnek a keresztkötött Hb alegységekből álló multimerek, melyeket mi is detektáltunk a H_2O_2 -dal oxidált Hb és metHb mintákban. Megállapítottuk, hogy a H_2O_2 dózisfüggő módon idézi elő a multimerek kialakulását, és a metHb oxidációja során sokkal erőteljesebb multimerképződést tapasztaltunk, mint a Hb esetében. Oxidált Hb formák (metHb, hemikróm) és Hb multimerek jelenlétét bevérzett érelmeszesedéses plakkokban is kimutattuk.

Az érelmeszesedéses plakk progressziójában jelentős esemény a szubendotéliális térben rekedt LDL módosulása (pl. oxidáció), majd makrofágok általi felvétele. A hem egy amfipatikus molekula, mely fokozza az LDL H_2O_2 -dal indukált oxidációját. Az oxidáció során konjugált diének, lipid- hidroperoxidok és tiobarbitursav reaktív anyagok keletkeznek, a hem vas pedig katalizátorként gyorsítja a reakciót. Ismert továbbá az is, hogy a hem-globin kötés erőssége nagymértékben függ a hem-vas oxidációs állapotától. A hem vas-ion oxidációja (ferro $\rightarrow$ ferri) a Hb molekula torzulását idézi elő, mely jelentősen, mintegy századára gyengíti a hem-globin kötetést a metHb-ban a Hb-hoz viszonyítva. A hem-globin kötés erősségének csökkenése ferrilHb-ban is megfigyelhető. A hem- vas oxidációja által előidézett molekulaszervezeti torzulások miatt a hem eltérő mértékben képes disszociálni a különböző redox állapotú Hb formákról. Feltételeztük, és munkánk során bizonyítottuk, hogy a plakkban jelenlévő oxidált Hb formák a hem disszociációja által hozzájárulnak az LDL oxidációjához.

Az LDL oxidációja során különféle lipid-peroxidációs termékek keletkeznek, többek között lipid-hidroperoxidok is. Kimutattuk, hogy a natív LDL nem, ugyanakkor az oxidált LDL - lipid-hidroperoxid tartalmától függő módon - oxidálja a Hb-t. Így tehát a plakk lipidek és a Hb között egy körfolyamat alakul ki, melyben az oxidált lipidek Hb oxidációt, az oxidált Hb formák pedig további lipid-peroxidációt indukálnak.

2. A hem és az oxidált Hb formák pro-inflammatorikus hatásai

A hem egy jól ismert pro-oxidáns molekula, mely tulajdonsága - legalábbis részben - azon alapul, hogy a hem-vas a Fenton reakcióban elektron donorként és akceptorként is funkcionálva hidroxil gyökök képződését katalizálja.

Az elmúlt években a hem pro-inflammatórikus jellegére is fény derült. A hem a monocitákra és neutrophil granulocitákra kemoattraktáns hatású. Endotél sejtekben a hem TLR4-függő NF- κ B aktivációt idéz elő, melynek hatására fokozódik a sejtek ROS termelése és a sejtfelszíni adhézis molekulák expressziója. A hem aktiválja a neutrofil granulocitákat, mely folyamat eredményeként fokozódó ROS termelődést, emelkedett IL-8 expressziót, és neutrofil extracelluláris csapda képződést figyeltek meg. A hem hatását legkiterjedtebben makrofágokon vizsgálták. Ismert, hogy a hem TLR4 és NLRP3 inflammaszóma aktivációt idéz elő makrofágokban, melynek hatására fokozódik a ROS, és a pro-inflammatórikus citokinek termelődése. A hem indukálja a makrofágok immunmemóriáját is. Az immunmemória kialakulásának hátterében epigenetikus reguláció, a hiszton H3 acetilációja áll, és az immunválaszt fokozó hatás akár több héten keresztül is fennállhat. Végezetül, a hem aktiválja a komplement rendszert, mely a C3a és a C5a aktivációs fragmentek keletkezéséhez és a membránkárosító komplex kialakulásához vezet.

Munkánk során endotélsejteken és makrofágokon vizsgáltuk a hem és a különböző Hb formák gyulladáskeltő hatását. Megállapítottuk, hogy a Hb formák közül egyedülként a ferrilHb endotélsejt aktivációt okoz, melyet az adhézis molekulák fokozott expressziója és az egysejtréteg integritásának csökkenése jellemez. Kimutattuk továbbá, hogy az adhézis molekulák ferrilHb általi indukciója az NF- κ B, a p38 MAPK és a JNK útvonalak aktivációján keresztül valósul meg. Korábbi munkákban kimutatták, hogy a hem TLR4-függő módon fokozza az adhézis molekulák expresszióját endotélsejtekben, felmerült tehát a kérdés hogy vajon az adhézis molekulák ferrilHb általi indukcióját a ferrilHb disszociábilis hem csoportja okozza-e. Meglátásunk szerint a ferrilHb által indukált endotélsejt aktivációt nem a ferrilHb-ról ledisszociáló hem, hanem maga a ferrilHb okozza, mely elgondolás egyrészt azon alapszik, hogy a ferrilHb általi endotélsejt aktiváció TLR4 független, másrészt pedig azon, hogy a metHb, amely hajlamosabb a hem csoport disszociációjára mint a ferrilHb, nem okoz endotélsejt aktivációt.

A hem NLRP3 aktiváló hatását Dutra és munkacsoportja írta le elsőként makrofágokon. Ismert, hogy az endotélsejtek rendelkeznek a velünk született immunrendszer mintázat-felismerő receptoraival, továbbá az is, hogy az NLRP3 inflammaszóma endotélsejtekben is aktiválható, mely folyamat szerepet játszik a hemorrágiás sokk-indukált tüdőkárosodásban, a diabéteszes retino- és nefropátia, valamint a CKD patogenezisében. Kimutattuk, hogy LPS-sel előkezelt endotélsejtekben a hem indukálja az NLRP3 inflammaszóma aktivációját és az IL-1 β termelődését. A szakirodalomból ismert, hogy az NLRP3 inflammaszóma aktivációjához két szignál szükséges, s ezt a mi eredményünk, - miszerint LPS előkezelés hiányában IL-1 β termelődést nem tapasztaltunk - is alátámasztja. Megállapítottuk, hogy a hem struktúrális integritása szükséges az NLRP3 inflammaszóma indukciójához, mely eredmény egybeesik korábban makrofágokon tett megfigyelésekkel.

Az NLRP3 inflammaszómát számos, struktúrájában és funkciójában is jelentősen eltérő molekula indukálja, mely közös útvonalak aktivációján keresztül valósul meg. Kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy az NLRP3 inflammaszóma hem általi indukciójában a fokozott ROS termelődés kulcsszerepet játszik.

A különböző Hb redox formák hatását is vizsgáltuk az NLRP3 inflammaszóma aktivációjára endotélsejtekben és makrofágokban. A Hb formák közül egyedülként a ferrilHb indukált IL-1 β termelést LPS-sel előkezelt makrofágokban, ugyanakkor endotélsejtekben egyik Hb forma sem. Az eltérés okát jelenleg nem ismerjük. Az endotélsejtek mintegy tizedannyi IL-1 β -t termelnek mint a makrofágok. Ha azonban tekintetbe vesszük az endotélsejtek tömegét a szervezetben, mely az agy tömegével vethető össze, lehetséges, hogy ez a csekély mértékű IL-1 β termelés jelentős hatással bírhat, és szerepet játszhat hemolízissel járó betegségek patogenezisében.

3. A hem által indukált protektív mechanizmusok, az Nrf2/HO-1/ferritin rendszer

A hem pro-inflammatórikus és pro-oxidáns hatásának csökkentésében kulcsfontosságú a hem-oxigenáz-1 (HO-1), a HO enzimsalád indukálható izoenzime, melynek indukcióját az Nrf2 transzkripció faktor szabályozza. A HO-1 a hem degradációját katalizálja, mely reakcióban ekvimoláris mennyiségben keletkezik szén monoxid (CO), biliverdin és vas- ion. A

biliverint a biliverdin reduktáz bilirubinná alakítja, a vas- ion pedig fokozza a ferritin transzlációját. A vas a ferritinben katalitikusan inaktív formában tárolódik.

Az egészséges érfalhoz képest a HO-1 és a ferritin expressziója emelkedett már az érlelmeszesedéses plakk kialakulásának korai szakaszában. Az oxidált LDL, az érlelmeszesedés patogenezisének egyik fő komponense, egyben a HO-1 expressziójának erőteljes induktora endotélsejtekben, simaizomsejtekben és makrofágokban is. A HO-1 érfali expressziójának megemelkedését atero-protéktív mechanizmusnak tekintjük, melyet számos megfigyelés támaszt alá. Egyrészt a HO-1 expresszió fokozása kémiai induktorokkal vagy virális géntranszferrel gátolja az érlelmeszesedést hiperkoleszterémiás állatmodellekben. Ezzel szemben a HO-1 hiánya fokozza az érlelmeszesedést apolipoprotein E deficiens egerben. Emberekben a HO-1 hiány igen ritka, eddig mindösszesen 9 esetet ismer a szakirodalom. A humán HO-1 deficiens betegek esetleírásaiból is tisztán kirajzolódik, hogy a HO-1 kulcsszerepet játszik az oxidatív stressz és gyulladás elleni védelemben, a sejt és szövetkárosodás kivédésében. A humán HO-1 deficiencia vaszkuláris vonatkozása az endotélium sérülése és az előrehaladott érlelmeszesedés, mely már gyermekkorban megfigyelhető.

A HO-1 protektív hatása nagyrészt a hem degradációja során keletkező termékek anti-oxidáns és anti-inflammatórikus hatásain alapul. A bilirubin koncentrációjától függően kettős hatású, anti-oxidáns és pro-oxidáns jellegű hem degradációs metabolit. Fiziológias koncentrációban számos ROS formát képes semlegesíteni, és lipofil tulajdonsága miatt jelentős szerepet játszik a sejtmembánt alkotó lipidek, valamint az LDL oxidatív stresszel szembeni védelmében. A totál bilirubin szint fordítottan arányos a keringő oxidált LDL koncentrációjával, és a plazma bilirubin fiziológias tartományba eső, de emelkedett szintje csökkenti a koronária artéria betegség rizikóját. Hiper-bilirubinémia esetén azonban a bilirubin anti-oxidáns jellege helyett a pro-oxidáns hatása lép előtérbe, neuronok apoptózisát okozva. A bilirubin oxidációja során keletkező termékek simaizomsejtekre kifejtett vazokonstriktív hatása is ismert.

A hem degradáció másik terméke a gáz halmazállapotú CO diffúzibilis, könnyen keresztüljut a különféle sejt-kompartimenteken, és először a hem tartalmú fehérjék (szolubilis guanilát cikláz (sGC), oxidázok, endotéliális NO szintáz (eNOS), a mitokondriális légzési lánc

fehérjei, hem tartalmú transzkripció faktorok) hem csoportjaihoz kötődve fejti ki hatását. A CO kötődése aktiválja vagy gátolja a target fehérjéket, és indirekt módon, redox jelátviteli folyamatokon keresztül, nem hem fehérjék expressziójának megváltozását idézi elő, melynek következtében a sejtek anti-inflammatórikus jellege válik dominánssá.

A hem degradáció harmadik terméke a vas-ion, mely a ferritin láncok szintézisét poszt-transzkripció módon regulálja. A ferritin egy 24, H és L láncokból felépülő szférikus molekula, melynek 80 Å átmérőjű központi magjában közel 4500 vas (III) iont képes tárolni szervesen komplex formában. A H alegység ferroxidáz aktivitással rendelkezik, funkciója a citoszoláris vas(II) ionok vas(III) ionokká oxidálása, míg az L alegységek a vas hatékony inkorporációjában játszanak szerepet. A ferritin ferroxidáz aktivitás-függő anti-oxidáns tulajdonságát elsőként Balla és munkatársai figyelték meg endotélsejteken.

A komplikált érelmeszesedéses lézióban a hemorrágia, a fokozott HO-1 expresszió és a kalcifikáció gyakorta együttesen van jelen. Ismert továbbá a fokozott ROS termelődés szerepe a vaszkuláris simaizomsejtek oszteokondrogén irányú differenciálódásában. Ezért munkánk során vizsgáltuk a pro-oxidáns tulajdonságú hem hatását vaszkuláris simaizomsejtek kalcifikációjára. Előzetes várakozásunkkal ellentétben azt tapasztaltuk, hogy a hem gátolta a simaizomsejtek oszteokondrogén irányú differenciálódását és a kalcifikációt. Megállapítottuk, hogy a simaizomsejtek oszteokondrogén differenciálódásának és kalcifikációjának gátlásában főként a hemből kiszabaduló vas-ion és az általa indukált ferritin ferroxidáz aktivitással rendelkező H alegysége vesz részt.

A komplikált lézióhoz hasonlóan a sztenotikus aorta billentyűkben is megfigyelhető neoangiogenezis, hemorrágia és a HO-1 expresszió fokozódása. A hemorrágia megléte összefüggést mutat az aorta sztenózis gyorsabb prog-ressziójával. Ezeket a megfigyeléseket alapul véve vizsgáltuk a hem hatását billentyű intersticiális sejtek oszteoblast irányú differenciálódásra. Kimutattuk, hogy a simaizomsejtek esetében megfigyelttel hasonló módon, a hem gátolta a billentyű intersticiális sejtek fenotípus változását, és bizonyítottuk, hogy a hem kalcifikációt gátló hatása csak a HO-1/Nrf2 útvonal zavartalan működése esetén érvényesül. A hem degradációs termékek mindegyike - a bilirubin, a vas-ion, és a CO kisebb-nagyobb mértékben gátolta a kalcifikációt. A vaszkuláris simaizomsejtekhez hasonlóan a billentyű intersticiális sejtekben is

kimutattuk a ferritin mindkét alegységének hem általi indukcióját, és az exogén módon adott ferritin anti-kalcifikációs hatását.

Korábbi munkákban vizsgálták az Nrf2 rendszer aktivációjának hatását vaszkuláris simaizomsejtek kalcifikációjára. Az Nrf2 különféle endogén, természetes, és farmakológiai induktorait alkalmazva ezen munkák egyértelműen bizonyították az Nrf2 aktiváció anti-kalcifikációs hatását vaszkuláris simaizomsejteken. Az Nrf2 anti-kalcifikációs hatásmechanizmusában az Nrf2 transzkripció kontrollja alatt álló antioxidáns gének aktivációja és a ROS termelés szuppressziója áll. Szívbillentyű intersticiális sejteken végzett vizsgálataink, ezen eredményekkel összhangban állva, az Nrf2 útvonal aktivációjának anti-kalcifikációs hatását bizonyították.

4. A HIF-1 útvonal jelentősége vaszkuláris kalcifikációban

A vaszkuláris kalcifikáció két legjellegzetesebb formája az intima és a média kalcifikáció. A hipoxia mindét típusú kalcifikációs mintázat mellett jelen van az érfalban. Ismert az is, hogy olyan betegségekből, melyek szisztémás, lokális vagy intermittáló hipoxiával járnak együtt, fokozódik a vaszkuláris kalcifikáció. Például, egy eset-kontroll tanulmányban asztmás betegekben a tüdőartéria fokozott kalcifikációját mutatták ki, mely kalcifikáció mértéke az asztma fennállásának időtartamával mutatott korrelációt. Egy másik tanulmányban krónikus obstruktív tüdőbetegségben szenvedő betegekben a koronária artéria kalcifikációját mutatták ki, melynek mértéke erőteljes negatív korrelációt mutatott a véroxigén szinttel.

Ismert volt tehát a hipoxia jelenléte, és vaszkuláris kalcifikációval való összefüggése, azonban a jelenség hátterében álló mechanizmus felderítetlen maradt. Ezért munkánk során a hipoxia közvetlen hatását vizsgáltuk vaszkuláris simaizomsejtek oszteokondrogén irányú differenciálódására és kalcifikációjára. Kimutattuk, hogy a hipoxia előidézi a vaszkuláris simaizomsejtek oszteokondrogén irányú differenciálódását és kalcifikációját. A hipoxia vaszkuláris simaizomsejtek oszteogén differenciálódására kifejtett hatását rajtunk kívül Mokas és munkatársai is vizsgálták. A sejteket oszteogén stimulusnak tették ki (magas foszfát) normoxiában és hipoxiában, és a hipoxia kalcifikációt fokozó hatását figyelték meg, amely a mi eredményeinkkel összhangban áll.

A hipoxiára adott válasz mester regulátora a HIF-1 transzkripció faktor, mely számos olyan gén transzkripcióját regulálja, mely segíti a

túlélést a sejt és az organizmus szintjén is, limitált oxigénkoncentráció esetén. A HIF-1 oxigén-érzékeny szabályozó alegysége a HIF-1 α , melynek emelkedett expresszióját kimutattuk hipoxiában tartott simaizomsejtekben. Kísérleteink során megállapítottuk, hogy a hipoxia vaszkuláris simaizomsejtekre kifejtett oszteokondrogén differenciálódást indukáló hatása HIF-1 függő. A HIF-1 útvonal, ezen belül is a HIF-1 α expresszió kalcifikációban betöltött jelentős szerepére hívta fel a figyelmet két korábbi közlemény. Az egyikben kimutatták, hogy a HIF-1 α fokozott expressziója elősegíti, míg csökkent expressziója gátolja tüdőartéria simaizomsejtek oszteogén differenciálódását. A másik klinikai vonatkozású cikkben pedig azt találták, hogy a plazma HIF-1 α szintje korrelál, és független prediktora a koronária artéria kalcifikációjának kettes típusú diabéteszes betegekben.

A hipoxia és a ROS termelődés közötti komplex viszony felderítése számos cikk témája volt, azonban a tudományterület tele van egymásnak ellentmondó megfigyelésekkel. Egyes cikkekben a ROS képződés csökkenését, másokban a ROS termelődés fokozódását figyelték meg hipoxiának kitett sejtekben. Napjainkra bebizonyosodott, hogy a hipoxia érzékeléséhez és a hipoxiára adott reakcióhoz szükséges a mitokondriális légzési lánc működése, és az is, hogy a hipoxia a mitokondriális és a NADPH oxidáz eredetű ROS képződését is fokozza. A mitokondriális ROS inhibitorok gátolják a hipoxia választ, ami azt bizonyítja, hogy a hipoxia által indukált ROS termelődés esszenciális szerepet tölt be a HIF-1 útvonal működésében. A hipoxia fokozza a ROS termelést, ugyanakkor a fokozott ROS termelés stabilizálja a HIF-1 α -t, ez által egy pozitív visszacsatolási mechanizmus jön létre a HIF-1 útvonal aktiváció és a ROS képződés között.

A fokozott ROS termelés kulcsszerepet játszik a vaszkuláris patológiákban, beleértve a vaszkuláris kalcifikációt is. A ROS szerepet játszik a vaszkuláris simaizomsejtek oszteogén differenciálódásában, és az oszteogén markereket expresszáló sejteket az érfalban ROS forrásként azonosították. Munkánk során tehát vizsgáltuk a ROS szerepét a hipoxia kalcifikációt indukáló hatásában. Megállapítottuk, hogy a szakirodalmi előzményekkel összhangban a hipoxia fokozza a ROS képződést vaszkuláris simaizomsejtekben. Kimutattuk, hogy a ROS inhibitorok gátolják a HIF-1 α hipoxia által indukált stabilizációját, valamint a vaszkuláris simaizomsejtek oszteo-kondrogén differenciálódását és kalcifikációját. Az *in vitro* modellrendszer mellett a hipoxia hatását *in vivo* körülmények között is vizsgáltuk. Kimutattuk, hogy a hipoxiás (10% O₂)

körülmények között tartott egerek aortájában fokozódik az oszteogén differenciálódást szabályozó RUNX2 transzkripció faktor mRNS expressziója.

Mokas és munkatársai a hipoxia hatását magas foszfát jelenlétében vizsgálták, és kimutatták, hogy a hipoxia fokozza a vaszkuláris simaizomsejtek magas foszfáttal indukált kalcifikációját. A foszfát a vaszkuláris kalcifikáció egyik legjelentősebb induktora, mely kitüntetett szerepet játszik a CKD-asszociált média kalcifikációban.

A CKD gyakran társul anémiával, melynek kialakulásában az alacsony eritropoetin (EPO) képződés, a vörösvérsejtek élettartamának csökkenése és a vashiány játszik szerepet. Ennek megfelelően a CKD-asszociált anémia kezelésének fő célpontjai az EPO szint emelése és a vörösvérsejt termelés serkentése, valamint a vaspótlás. Az első generációs eritropoézist serkentő gyógyszerekről azonban számos tanulmányban bebizonyították, hogy tovább fokozzák a CKD betegek alapvetően is magas kardiovaszkuláris rizikóját.

Alternatív terápiás lehetőségként kezdték el vizsgálni a prolin hidroxiláz inhibitorokat, melyek a HIF-1 útvonal aktivációján keresztül fokozzák az EPO termelést és a vörösvérsejt képzést. Ezek egyik képviselője az általunk is vizsgált Daprodustat (DPD), melyről több tanulmányban kimutatták, hogy adverz, illetve off-target hatásoktól mentesen, hatékonyan korrigálja az anémiát CKD betegekben. A DPD használatát 2020-ban engedélyezték Japánban CKD-hoz köthető anémia kezelésére.

Munkánk során a DPD hatását vizsgáltuk magas foszfáttal indukált *in vitro*, *ex vivo* és *in vivo* kalcifikációs modellrendszerekben. Kimutattuk, hogy a DPD HIF-1-függő módon fokozza a vaszkuláris simaizomsejtek és az egér aorta gyűrű magas foszfáttal indukált kalcifikációját.

Végezetül, a DPD hatását *in vivo* körülmények között is tanulmányoztuk. Vizsgálatunkhoz egy adeninnel indukált CKD egérmodellt választottunk, melyben a kalcifikációt magas foszfát tartalmú diétával segítettük elő. A DPD-t a humán alkalmazást követve naponta, orálisan adagolva adtuk.

A DPD kalcifikációra kifejtett hatásának vizsgálata során a DPD-t az anémiát korrigáló dózisban alkalmaztuk. Kimutattuk, hogy a DPD 15 mg/kg/nap dózisban alkalmazva fokozta a kalcifikációt hiperfoszfatémiás CKD egerekben. Az eredmény óvatosságra int, és további, a DPD

kalcifikációra gyakorolt hatásának felderítését célzó klinikai tanulmányokat sürget.

Az értekezésben ismertetett új tudományos eredmények összefoglalása

1. A Hb és a metHb oxidációja során instabil ferrilHb keletkezik, mely tovább alakul kovalens módon keresztkötött Hb formákká. A Hb multimerekben összekapcsolódó Hb láncok száma függ az oxidáló ágens koncentrációjától és a kiindulási Hb formában lévő hem-vas oxidációs állapotától.
2. Humán bevértet karotisz plakkokban kovalens módon keresztkötött Hb formák vannak jelen.
3. A plakkban egyidejűleg jelenlévő LDL és Hb között egy körfolyamat alakul ki, melyben az oxidált lipidek Hb oxidációt, az oxidált Hb formák pedig további lipid-peroxidációt indukálnak.
4. A ferrilHb NF- κ B-függő módon endotélsejt aktivációt idéz elő, mely az adhézis molekulák emelkedett expressziójával, az aktin citoszkeleton átrendeződésével, intercelluláris rések kialakulásával, és az endotél egysejtréteg integritásának csökkenésével jellemezhető.
5. Az intakt hem ROS-függő módon NLRP3 inflammaszóma aktivációt és aktív IL-1 β szekréciót indukál LPS-sel előkezelt endotélsejtekben.
6. A ferrilHb NLRP3 inflammaszóma aktivációt és aktív IL-1 β szekréciót indukál LPS-sel előkezelt makrofágokban.
7. A hem gátolja vaszkuláris simaizomsejtek és billentyű intersticiális sejtek magas foszfáttal indukált oszteokondrogén differenciálódását és kalcifikációját.
8. A hem anti-kalcifikációs hatásában jelentős szerepe van az Nrf2/HO-1/ferritin antioxidáns rendszer indukciójának, és a hem degradációja során keletkező termékeknek.
9. A hipoxia a HIF-1 útvonal aktivációján és a ROS termelés fokozódásán keresztül indukálja vaszkuláris simaizom-sejtek oszteokondrogén irányú differenciálódását és kalcifikációját.

10. A hipoxia mimetikum DPD a HIF-1 útvonal aktivációján keresztül fokozza vaszkuláris simaizomsejtek és egér aorta gyűrűk magas foszfáttal indukált kalcifikációját.
11. A DPD korrigálja az anémiát, ugyanakkor fokozza a kalcifikációt hiperfoszfatémiás krónikus veseelégtelen egerekben.

Kapcsolódó közlemények, tudománymetria

a) az értekezést megalapozó eredeti közlemények

1. Zarjou A*, **Jeney V***, Arosio P, Poli M, Antal-Szalmás P, Agarwal A, Balla G, Balla J. Ferritin prevents calcification and osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells. *J Am Soc Nephrol*. 2009 Jun;20(6):1254-63. (* megosztott első szerzők)
2. Silva G, **Jeney V**, Chora A, Larsen R, Balla J, Soares MP. Oxidized hemoglobin is an endogenous proinflammatory agonist that targets vascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2009 Oct 23;284(43):29582-95.
3. Nagy E, Eaton JW, **Jeney V**, Soares MP, Varga Z, Galajda Z, Szentmiklósi J, Méhes G, Csonka T, Smith A, Vercellotti GM, Balla G, Balla J. Red cells, hemoglobin, heme, iron, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Jul;30(7):1347-53.
4. Potor L, Bányai E, Becs G, Soares MP, Balla G, Balla J, **Jeney V**. Atherogenesis may involve the prooxidant and proinflammatory effects of ferryl hemoglobin. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:676425.
5. Erdei J, Tóth A, Balogh E, Nyakundi BB, Bányai E, Ryffel B, Paragh G, Cordero MD, **Jeney V**. Induction of NLRP3 Inflammasome Activation by Heme in Human Endothelial Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Mar 20;2018:4310816.
6. Nyakundi BB, Tóth A, Balogh E, Nagy B, Erdei J, Ryffel B, Paragh G, Cordero MD, **Jeney V**. Oxidized hemoglobin forms contribute to NLRP3 inflammasome-driven IL-1 β production upon intravascular hemolysis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019 Feb 1;1865(2):464-475.
7. Balogh E, Tóth A, Méhes G, Trencsényi G, Paragh G, **Jeney V**. Hypoxia Triggers Osteochondrogenic Differentiation of Vascular Smooth Muscle Cells in an HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor 1)-Dependent and Reactive Oxygen Species-Dependent Manner. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019 Jun;39(6):1088-1099.
8. Nyakundi BB, Erdei J, Tóth A, Balogh E, Nagy A, Nagy B Jr, Novák L, Bognár L, Paragh G, Kappelmayer J, **Jeney V**. Formation and Detection of

Highly Oxidized Hemoglobin Forms in Biological Fluids during Hemolytic Conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Apr 25;2020:8929020.

9. Balogh E, Chowdhury A, Ababneh H, Csiki DM, Tóth A, **Jeney V**. Heme-Mediated Activation of the Nrf2/HO-1 Axis Attenuates Calcification of Valve Interstitial Cells. *Biomedicines*. 2021 Apr 15;9(4):427.

b) az értekezéshez kapcsolódó összefoglaló közlemények

10. Gozzelino R, **Jeney V**, Soares MP. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2010;50:323-54.
11. **Jeney V**, Eaton JW, Balla G, Balla J. Natural history of the bruise: formation, elimination, and biological effects of oxidized hemoglobin. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:703571.
12. **Jeney V**, Balla G, Balla J. Red blood cell, hemoglobin and heme in the progression of atherosclerosis. *Front Physiol*. 2014 Oct 2;5:379.
13. Vinchi F, Muckenthaler MU, Da Silva MC, Balla G, Balla J, **Jeney V**. Atherogenesis and iron: from epidemiology to cellular level. *Front Pharmacol*. 2014 May 5;5:94.
14. **Jeney V**. Pro-Inflammatory Actions of Red Blood Cell-Derived DAMPs. *Exp Suppl*. 2018;108:211-233.
15. Bozza MT, **Jeney V**. Pro-inflammatory Actions of Heme and Other Hemoglobin-Derived DAMPs. *Front Immunol*. 2020 Jun 30;11:1323.
16. Tóth A, Balogh E, **Jeney V**. Regulation of Vascular Calcification by Reactive Oxygen Species. *Antioxidants (Basel)*. 2020 Oct 8;9(10):963.

c) az értekezésben nem tárgyalt közlemények

17. Magyar MT, Szikszai Z, Balla J, Valikovics A, Kappelmayer J, Imre S, Balla G, **Jeney V**, Csiba L, Bereczki D. Early-onset carotid atherosclerosis is associated with increased intima-media thickness and elevated serum levels of inflammatory markers. *Stroke*. 2003 Jan;34(1):58-63.
18. Nguyen AD, Itoh S, **Jeney V**, Yanagisawa H, Fujimoto M, Ushio-Fukai M, Fukai T. Fibulin-5 is a novel binding protein for extracellular superoxide dismutase. *Circ Res*. 2004 Nov 26;95(11):1067-74.
19. **Jeney V**, Itoh S, Wendt M, Gradek Q, Ushio-Fukai M, Harrison DG, Fukai T. Role of antioxidant-1 in extracellular superoxide dismutase function and expression. *Circ Res*. 2005 Apr 15;96(7):723-9.
20. Nagy E, **Jeney V**, Yachie A, Szabó RP, Wagner O, Vercellotti GM, Eaton JW, Balla G, Balla J. Oxidation of hemoglobin by lipid hydroperoxide associated with low-density lipoprotein (LDL) and increased cytotoxic effect

- by LDL oxidation in heme oxygenase-1 (HO-1) deficiency. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2005 Sep 30;51(4):377-85.
21. Balla J, Vercellotti GM, **Jeney V**, Yachie A, Varga Z, Eaton JW, Balla G. Heme, heme oxygenase and ferritin in vascular endothelial cell injury. *Mol Nutr Food Res*. 2005 Nov;49(11):1030-43.
 22. Ujhelyi L, Balla G, **Jeney V**, Varga Z, Nagy E, Vercellotti GM, Agarwal A, Eaton JW, Balla J. Hemodialysis reduces inhibitory effect of plasma ultrafiltrate on LDL oxidation and subsequent endothelial reactions. *Kidney Int*. 2006 Jan;69(1):144-51.
 23. Szatmari I, Vámosi G, Brazda P, Balint BL, Benko S, Széles L, **Jeney V**, Ozvegy-Laczka C, Szántó A, Barta E, Balla J, Sarkadi B, Nagy L. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-regulated ABCG2 expression confers cytoprotection to human dendritic cells. *J Biol Chem*. 2006 Aug 18;281(33):23812-23.
 24. Qin Z, Itoh S, **Jeney V**, Ushio-Fukai M, Fukai T. Essential role for the Menkes ATPase in activation of extracellular superoxide dismutase: implication for vascular oxidative stress. *FASEB J*. 2006 Feb;20(2):334-6.
 25. Balla J, **Jeney V**, Varga Z, Komódi E, Nagy E, Balla G. Iron homeostasis in chronic inflammation. *Acta Physiol Hung*. 2007 Mar;94(1-2):95-106.
 26. Pamplona A, Ferreira A, Balla J, **Jeney V**, Balla G, Epiphanyo S, Chora A, Rodrigues CD, Gregoire IP, Cunha-Rodrigues M, Portugal S, Soares MP, Mota MM. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide suppress the pathogenesis of experimental cerebral malaria. *Nat Med*. 2007 Jun;13(6):703-10.
 27. Balla J, Balla G, Lakatos B, **Jeney V**, Szentmihályi K. A hemvas az emberi szervezetben [Heme-iron in the human body]. *Orv Hetil*. 2007 Sep 9;148(36):1699-706.
 28. Balla J, Vercellotti GM, **Jeney V**, Yachie A, Varga Z, Jacob HS, Eaton JW, Balla G. Heme, heme oxygenase, and ferritin: how the vascular endothelium survives (and dies) in an iron-rich environment. *Antioxid Redox Signal*. 2007 Dec;9(12):2119-37.
 29. Ferreira A, Balla J, **Jeney V**, Balla G, Soares MP. A central role for free heme in the pathogenesis of severe malaria: the missing link? *J Mol Med (Berl)*. 2008 Oct;86(10):1097-111.
 30. Pócsi I, **Jeney V**, Kertai P, Pócsi I, Emri T, Gyémánt G, Fésüs L, Balla J, Balla G. Fungal siderophores function as protective agents of LDL oxidation and are promising anti-atherosclerotic metabolites in functional food. *Mol Nutr Food Res*. 2008 Dec;52(12):1434-47..
 31. **Jeney V**, Komódi E, Nagy E, Zarjou A, Vercellotti GM, Eaton JW, Balla G, Balla J. Suppression of hemin-mediated oxidation of low-density lipoprotein

- and subsequent endothelial reactions by hydrogen sulfide (H₂S). *Free Radic Biol Med*. 2009 Mar 1;46(5):616-23.
32. Cheng C, Noordeloos AM, **Jeney V**, Soares MP, Moll F, Pasterkamp G, Serruys PW, Duckers HJ. Heme oxygenase 1 determines atherosclerotic lesion progression into a vulnerable plaque. *Circulation*. 2009 Jun 16;119(23):3017-27.
 33. Zarjou A, **Jeney V**, Arosio P, Poli M, Zavaczki E, Balla G, Balla J. Ferritin ferroxidase activity: a potent inhibitor of osteogenesis. *J Bone Miner Res*. 2010 Jan;25(1):164-72. (* megosztott első szerzők)
 34. Larsen R, Gozzelino R, **Jeney V**, Tokaji L, Bozza FA, Japiassú AM, Bonaparte D, Cavalcante MM, Chora A, Ferreira A, Marguti I, Cardoso S, Sepúlveda N, Smith A, Soares MP. A central role for free heme in the pathogenesis of severe sepsis. *Sci Transl Med*. 2010 Sep 29;2(51):51ra71.
 35. Ferreira A, Marguti I, Bechmann I, **Jeney V**, Chora A, Palha NR, Rebelo S, Henri A, Beuzard Y, Soares MP. Sick cell hemoglobin confers tolerance to Plasmodium infection. *Cell*. 2011 Apr 29;145(3):398-409.
 36. Zavaczki E, **Jeney V**, Agarwal A, Zarjou A, Oros M, Katkó M, Varga Z, Balla G, Balla J. Hydrogen sulfide inhibits the calcification and osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells. *Kidney Int*. 2011 Oct;80(7):731-9.
 37. Katko M, Zavaczki E, **Jeney V**, Paragh G, Balla J, Varga Z. Homocysteine metabolism in peripheral blood mononuclear cells: evidence for cystathionine beta-synthase activity in resting state. *Amino Acids*. 2012 Jul;43(1):317-26.
 38. Oros M, Zavaczki E, Vadasz C, **Jeney V**, Tosaki A, Lekli I, Balla G, Nagy L, Balla J. Ethanol increases phosphate-mediated mineralization and osteoblastic transformation of vascular smooth muscle cells. *J Cell Mol Med*. 2012 Sep;16(9):2219-26.
 39. Bányai E, Balogh E, Fagyas M, Arosio P, Hendrik Z, Király G, Nagy G, Tanczos B, Pócsi I, Balla G, Balla J, Bánfalvi G, **Jeney V**. Novel functional changes during podocyte differentiation: increase of oxidative resistance and H-ferritin expression. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:976394.
 40. **Jeney V**, Ramos S, Bergman ML, Bechmann I, Tischer J, Ferreira A, Oliveira-Marques V, Janse CJ, Rebelo S, Cardoso S, Soares MP. Control of disease tolerance to malaria by nitric oxide and carbon monoxide. *Cell Rep*. 2014 Jul 10;8(1):126-36.
 41. Bolisetty S, Zarjou A, Hull TD, Traylor AM, Perianayagam A, Joseph R, Kamal AI, Arosio P, Soares MP, **Jeney V**, Balla J, George JF, Agarwal A. Macrophage and epithelial cell H-ferritin expression regulates renal inflammation. *Kidney Int*. 2015 Jul;88(1):95-108.
 42. Alvarado G, **Jeney V**, Tóth A, Csősz É, Kalló G, Huynh AT, Hajnal C, Kalász J, Pásztor ET, Édes I, Gram M, Akerström B, Smith A, Eaton JW, Balla G,

- Papp Z, Balla J. Heme-induced contractile dysfunction in human cardiomyocytes caused by oxidant damage to thick filament proteins. *Free Radic Biol Med*. 2015 Dec;89:248-62.
43. Becs G, Zarjou A, Agarwal A, Kovács KÉ, Becs Á, Nyitrai M, Balogh E, Bányai E, Eaton JW, Arosio P, Poli M, **Jeney V**, Balla J, Balla G. Pharmacological induction of ferritin prevents osteoblastic transformation of smooth muscle cells. *J Cell Mol Med*. 2016 Feb;20(2):217-30.
 44. Balogh E, Tolnai E, Nagy B Jr, Nagy B, Balla G, Balla J, **Jeney V**. Iron overload inhibits osteogenic commitment and differentiation of mesenchymal stem cells via the induction of ferritin. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Sep;1862(9):1640-9.
 45. Balogh E, Tóth A, Tolnai E, Bodó T, Bányai E, Szabó DJ, Petrovski G, **Jeney V**. Osteogenic differentiation of human lens epithelial cells might contribute to lens calcification. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Sep;1862(9):1724-31.
 46. **Jeney V**. Clinical Impact and Cellular Mechanisms of Iron Overload-Associated Bone Loss. *Front Pharmacol*. 2017 Feb 21;8:77.
 47. Potor L, Nagy P, Méhes G, Hendrik Z, **Jeney V**, Pethő D, Vasas A, Pálincás Z, Balogh E, Gyetvai Á, Whiteman M, Torregrossa R, Wood ME, Olvasztó S, Nagy P, Balla G, Balla J. Hydrogen Sulfide Abrogates Hemoglobin-Lipid Interaction in Atherosclerotic Lesion. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Jan 21;2018:3812568.
 48. Balogh E, Nagy B Jr, Gyetvai Á, Bene Z, Hendrik Z, **Jeney V**, Nagy P, Papp Á, Balla J, Balla G, Kappelmayer J, Nagy B. Impaired Immunosuppressive Effect of Bronchoalveolar Mesenchymal Stem Cells in Hypersensitivity Pneumonitis: Preliminary Findings. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018 Mar;94(2):363-368.
 49. Fejes Z, Czimmerer Z, Szük T, Póliska S, Horváth A, Balogh E, **Jeney V**, Váradi J, Fenyvesi F, Balla G, Édes I, Balla J, Kappelmayer J, Nagy B Jr. Endothelial cell activation is attenuated by everolimus via transcriptional and post-transcriptional regulatory mechanisms after drug-eluting coronary stenting. *PLoS One*. 2018 Jun 11;13(6):e0197890.
 50. Balogh E, Paragh G, **Jeney V**. Influence of Iron on Bone Homeostasis. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018 Oct 18;11(4):107.
 51. Ramos S, Carlos AR, Sundaram B, **Jeney V**, Ribeiro A, Gozzelino R, Bank C, Gjini E, Braza F, Martins R, Ademolue TW, Blankenhau B, Gouveia Z, Faisca P, Trujillo D, Cardoso S, Rebelo S, Del Barrio L, Zarjou A, Bolisetty S, Agarwal A, Soares MP. Renal control of disease tolerance to malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Mar 19;116(12):5681-5686.
 52. Váradi J, Hermenean A, Gesztelyi R, **Jeney V**, Balogh E, Majoros L, Malanga M, Fenyvesi É, Szenté L, Bácskay I, Vecsernyés M, Fehér P, Ujhelyi Z, Vasvári G, Árvai I, Rusznyák Á, Balta C, Herman H, Fenyvesi F.

Pharmacokinetic Properties of Fluorescently Labelled Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin. *Biomolecules*. 2019 Sep 20;9(10):509.

53. Erdei J, Tóth A, Nagy A, Nyakundi BB, Fejes Z, Nagy B Jr, Novák L, Bognár L, Balogh E, Paragh G, Kappelmayer J, Bácsi A, **Jeney V**. The Role of Hemoglobin Oxidation Products in Triggering Inflammatory Response Upon Intraventricular Hemorrhage in Premature Infants. *Front Immunol*. 2020 Mar 6;11:228.
54. Fejes Z, Erdei J, Pócsi M, Takai J, **Jeney V**, Nagy A, Varga A, Bácsi A, Bognár L, Novák L, Kappelmayer J, Nagy B Jr. Elevated Pro-Inflammatory Cell-Free MicroRNA Levels in Cerebrospinal Fluid of Premature Infants after Intraventricular Hemorrhage. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 19;21(18):6870.
55. Fejes Z, Pócsi M, Takai J, Erdei J, Tóth A, Balogh E, Ruzsnyák Á, Fenyvesi F, Nagy A, Kappelmayer J, **Jeney V**, Nagy B Jr. Preterm Intraventricular Hemorrhage-Induced Inflammatory Response in Human Choroid Plexus Epithelial Cells. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 11;22(16):8648.

MTMT tudományos és oktatási munkásságának összefoglalása
Jeney Viktória tudományos és oktatási munkásságának összefoglalása
MTA VIII. Biológiai Tudományok Osztálya (2022.01.17)

Közlemény típusok ¹	Szám		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Tudományos folyóiratcikk	61	---	---	---
teljes cikk ² , nemzetközi folyóiratban	---	56	4028	4646
teljes cikk, hazai idegen nyelvű folyóiratban	---	1	21	21
teljes cikk, magyar nyelvű folyóiratban	---	4	3	4
teljes cikk, rövid közlemény	---	0	0	0
II. Könyvek	0	---	---	---
a) Szakkönyv, tankönyv szerzőként	0	---	---	---
Szakkönyv, kézikönyv, idegen nyelvű	---	0	0	0
Szakkönyv, kézikönyv, magyar nyelvű	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
b) Szakkönyv szerkesztőként	0	---	---	---
Szakkönyv, kézikönyv, idegen nyelvű	---	0	---	---
Szakkönyv, kézikönyv, magyar nyelvű	---	0	---	---
Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
III. Könyvfejezet	3	---	---	---
Könyvfejezet, idegen nyelvű	---	3	9	11
Könyvfejezet, magyar nyelvű	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	0	0	0
IV. Konferenciaközlemény	0	---	0	0
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	64	---	4061	4682
V. Egyéb tudományos	2	---	---	---
Egyéb tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkekét és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkekét is	---	1	2	2
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	1	3	3
VI. Absztrakt	23	---	2	2
Összesített impact faktor	363.2	---	---	---
Idézettség száma¹	---	---	4068	4689
Hirsch-index¹	32	---	---	---

Köszönetnyilvánítás

Emléktöredékek: A nyírmadai ház padlása kimeríthetetlen kincsesbánya. A csomókba kötözött régi Nők Lapja, Fürge Ujjak és Füles magazinok között két bőrönd. Az egyikben parókák és mindenféle sminkeszközök, a másikban kémcssövek, lombikok, golyós hűtő, borszeszégő, különféle ásványok, és egy kis üvegben higany. Nagyapám vándorszínészi és kémia tanári életének kellékei. A kémia bőrönd sokkal érdekesebb, a higanyos üveggel órákon át el lehet szórakozni.

A nagyszülőkhöz való megérkezés után az első utam a nyárikonyhába vezet. A nagyapám a falusi könyvterjesztő, ide érkeznek a könyvek. A Világirodalom remekei sorozat, pár gyerekkönyv. Bármelyiket megkaphatom.

A fürdőszoba ajtaja kulcsra van zárva. Senki se mehet be, apám a nagydoktorijához maratja a nyomtatott áramköröket, vagy fényképeket hív elő. Esténként a magyar híradó után az egész család a „Vremját” nézi az orosz csatornán, mert apám oroszul tanul. A nagydoktori védése után családi fotózkodás az MTA aulájában, mindenki boldog, anyám is megbocsájtotta már, hogy a vasklorid örök nyomot hagyott a fürdőkádon.

Nagyszüleim, szüleim, az első köszönet nektek jár! Olyan közeget teremtettetek ahol a szorgalom, az olvasás, a tudás, a tanulás érték volt.

Augusztus végén várom a könyvosztást. A kémiakönyv a legizgalmasabb, le se tudom tenni. Mengyelejev a kedvencem. Kémai szakkörön Gundel palacsintát süt nekünk tanárnő. Az alkoholt meggyújtja a tetején, egyszerűen varázslatos!

Köpenyvizit a Vegyipariban. Ki kell menni a tanári asztalhoz, és körbeforogni. A köpeny nem lehet piszkos, gyűrött vagy szakadt, nagy a szigor. Nagymamám szorgalmasan foltozza a savmarta lyukakat.

Az osztály fele egyetemre készül, én is megpróbálom. És sikerül! Én vagyok a legbüszkébb vegyész hallgató, de az érzés múlandónak bizonyul. Küzdök megannyi más sorstársammal együtt. Másodévre már csak feleannyian iratkoznak be.

Diplomamunkát kellene írnom, de nem találok a helyem. Voltam már az analitika és a szerves kémai tanszéken is, egyik se tetszik. A barátnőm a mikrobiológia tanszéken van, szereti, így én is megpróbálkozom. **Pócsi István** lesz a témavezetőm, azt mondja nem lesz kész a diplomamunkám időben, túl későn jöttem. De ez nem zavar, érdekel végre, amit csinálunk, hihetetlen új világ nyílik előttem, amelyben a *Bacillus Macerans* a főszereplő, ő termeli az enzimet, amit tisztítani kell. Vegyész feladat, de azért mégse teljesen. Dolgozunk **Nógrádi**

Noémi PhD hallgatóval éjjel-nappal, és a diplomamunka csakazértis készen lesz, pont időben.

A második köszönet a tiétek, kedves általános- és középiskolai tanáraitok, egyetemi oktatóim, akik fenn tudtátok tartani bennem az érdeklődést!

Egyetem után kitérő, Kazincbarcika, ökotoxikológiai labor. Nem akarok már csak élettelen „kémiás” dolgokkal foglalkozni. Itt vannak algák, halak, mustármag csíráztatás, és a jövőbeli remény arra, hogy olyan mikroorganizmusokat szelektáljunk, melyek az ipari szennyvíz szerves alkotóit képesek lebontani. Nem győzőm kivárni, ötödannyi fizetésért PhD hallgatónak szegődök inkább.

PhD felvételi, záporoznak a kérdések, egyikre se tudom a választ. Az-az mégis, tudom mi a pH, és hogy hogyan kell mérni. Ezzel megvolnánk, felvettek! A témavezetőim **Balla György** és öccse, **Balla József**, nagyon lelkes, amolyan megszállott kutatók, rohamtempóban tanítanak meg mindenre. Nekem minden új, a vegyész szakon se endotélsejtekről, se LDL-ről, de még a hemoglobinnal se tanultunk. A laborban én vagyok az első, és sokáig egyetlen PhD hallgató, egy asszisztens, **Dobolyi Alice** a társaságom. Gyuri esténként néz be a laborba, ha nem vagyok ott, megnézi a jegyzőkönyvemet. Ha tetszik neki az eredmény, ☺-t rajzol mellé. Tél van, Jóskával hemoglobint tisztítunk. Hűtőszoba nincs, így nyitott ablaknál dolgozunk, reggelre megfagy a DMSO (is). Hihetelen módon hat év után két Blood cikkel védem meg a PhD-t.

Köszönöm nektek ezeket a felejthetetlen éveket!

Pár nappal Atlantába való megérkezésünk után körülbelül tíz ismeretlen ember figyel, hogy melyik szusit választom a tálról **Tohru Fukai** és felesége Masuko karácsonyi buliján. Másnap a laborban megmutatják a helyemet, a vadonatúj pipettasorozatot, a vortexet és a centrifugát. Egy lapon listázva az aznapi feladatok, majd magamra hagynak. Mélyvíz. Tohru és Masuko szinte az intézetben laknak, az íróasztaluk alatt összetekerve egy-egy matrac. Vannak viták; munkaidőről, európai-ázsiai gondolkodásmódról, a felettes-beosztotti és a férfi-női viszonyrendszerekről. De nagy cikkeket publikálunk és eredményeinket világhíres kongresszusoskon mutatjuk be!

Két év távollét után ismét a Balla laborban, ami időközben benépesül: **Nagy Emőke**, **Becs Gergely**, **Zavacki Erzsébet**, **Zarjou Abolfazl**, **Balázsné Szőnyi Anikó** és **Gyetzvai Ági**, örömmel gondolok vissza rátok!

Gyűjtöm az aprót, 5, 10 és 20 centeseket. 25 cent egy kávé az IGC-ben (Instituto Gulbenkian de Ciencia, Portugália). Minden reggel itt kezdünk, **Rasmus Larsen**, **Raffaella Gozzellino** és **Ana Ferreira** társaságában, „the morning shift”, ahogy hívjuk magunkat. **Miguel Soares** laborjában vagyunk posztdoktorok, a többiek csak később, tizenegy felé kezdenek szállingózni.

Köszönettel tartozom nektek is posztdoktori éveim témavezetői, PhD hallgató és posztdoktor társai, barátai, mindannyiótoktól rengeteget tanultam szakmailag és emberileg egyaránt!

2015. augusztus 27-e nevezetes dátum: ekkortól számítom az önálló kutatócsoportunk megalakulását. Ez a folyamat sehol sem egyszerű, de a magyar, erősen hierarchikus rendszerben még bonyolultabb. Szerencsés vagyok, hogy olyan sokan segítettek, közöttük **Paragh György és Seres Ildikó, Papp Zoltán, Mátyus László, Pongor Ildikó és Nagy Katalin**, valamint **Kappelmayer János**. Örökké hálás leszek nektek ezért!

Bátorításukért, segítségükért köszönet **Fésüs László, Nagy László, Muszbek László, Szölössi János és Virág László** Professzor Uraknak, és **Búzás Edit** Professzor Asszonynak.

Az elmúlt pár évben kialakult és elmélyült szakmai és egyben baráti kapcsolatokért nagyon hálás vagyok **Czimmerer Zsolt**nak és **Nagy Bélá**nak.

És akik nélkül most biztosan nem tartanék itt: egykori és jelenlegi PhD hallgatóim, **Bányai Emese, Balogh Enikő, Tóth Andrea, Erdei Judit, Benard Bogonko Nyakundi, Arpan Chowdhury, Csiki Dávid Máté, Haneen Ababneh és Lente Gréta**, köszönet nektek a munkátokért, kitartásotokért és barátságotokért! Rengeteg közös élmény köt össze minket, remélem, néhány sztori megjelenik majd MTA Doktori értekezések köszönetnyilvánításában, de az már a Ti történetetek lesz.

Boldizsár fiam rajzol, az óvónéni nem tudja értelmezni a rajzot. Nem csoda, egy malária parazitával fertőzött vörösvérsejt van rajta. **Janka lányom** a laborban figyeli az egérboncolást, közben egy túrórudit majszol. Drága, már-már felnőtt gyermekeim, Boldizsár és Janka, köszönöm nektek hogy a világ legtermészetesebb módján rugalmasan kezeltétek a tudósléttel járó helyzeteket, sőt azokból mindig a legjobbat hoztátok ki! Nagyon jó fejek vagytok, imádlak benneteket!

Köszönöm **édesanyámnak**, aki minden lehetséges módon segített, s ha még élne, nagyon büszke lenne rám; **nővéremnek, Anitának** és családjának, akikre mindig számíthattam; és végül, de nem utolsósorban férjemnek, **Boross Péternek**, akinél türelmesebb, megértőbb és segítőkészebb embert keresve se találhattam volna erre az élet nevű projektre.