

mark.laszlo_314_25

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**LÉZERES MINTABEVITELRE ÉPÜLŐ TÖMEGSPEKTROMETRIÁS
MÓDSZEREK FEJLESZTÉSE ÉS ALKALMAZÁSA BIOAKTÍV VEGYÜLETEK
VIZSGÁLATÁBAN**

MÁRK LÁSZLÓ



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
BIOKÉMIAI ÉS ORVOSI KÉMIAI INTÉZET

PÉCS
2025.

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A lézer abláció/deszorpció tömegspektrometriás alkalmazása immár fél évszázados múltra tekint vissza, és a szakterület fejlődése a mai napig töretlen. Napjainkban a kémiai analitika és főként az „omikák” kiváló műszerezettséggel vannak felvértezve, mégis gyakran szembesülünk azzal, hogy a biológiai és klinikai kérdések megválaszolása komoly nehézségekbe ütközik. A legáltalánosabb problémák a mintaelőkészítés során, elsődlegesen a magasfokú biológiai variabilitás miatt alakulhatnak ki. A MALDI és más lézeres mintabeviteli technikák többnyire kiküszöbölik vagy minimalizálják a mintaelőkészítésből származó bizonytalanságokat, így hátrányaik ellenére a mai napig versenyképesek maradtak a rutin vizsgálatok és a fejlesztések során egyaránt. A dinamikus fejlődéshez nagyban hozzájárul a lézeres technikák nagy térbeli felbontást biztosító molekuláris képalkotási alkalmazása. A képalkotási tömegspektrometria egy olyan univerzális, jelölésmentes, nagy érzékenységgű és specificitású, a lokális szövettani és molekuláris heterogenitást kezelni képes módszer, amely a modern bioanalitika, biokémia és klinikai diagnosztika egyik hajtóereje lehet [XXVIII, XXIX, XXX, XXXII].

Értekezésemben bemutatott tudományos eredményeim 3 fő témakörben születtek, amelyek a lézer abláció/deszorpció, elsősorban a MALDI tömegspektrometria fejlesztése és alkalmazása révén a kismolekulatömegű vegyületek; a peptidek és fehérjék; valamint a biológiai szövetminták közvetlen molekuláris vizsgálatára irányultak.

Ennek megfelelően az alábbi célokat fogalmaztam meg a két évtizedet átívelő kutatómunkám során:

- fullerének MALDI mátrixként való alkalmazása kis molekulatömegű vegyületek vizsgálatára,
- szteroid hormonok, szintetikus szteránvázas vegyületek, polifenolok, antocianinok kémiai módosítást nem igénylő, nagy mintaáterestőképességű tömegspektrometriás vizsgálatának kidolgozása,
- a hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) tömegspektrometriás vizsgálati módszerének kifejlesztése és a peptid jelenlétének detektálása biológiai és klinikai mintákból,
- fehérjék expressziós változásainak meghatározása PACAP hiányos (PACAP KO) egérmodellben,
- évszakos változásokat mutató (hibernációs) neuropeptidek kvalitatív és szemikvantitatív tömegspektrometriás meghatározása,

mark.laszlo_314_25

- patológiás folyamatokra (fej-nyaki tumor, oszteoszarkóma, ajak- és szájpad hasadék) jellemző potenciális biomarkerek kimutatására alkalmas módszerek tervezése és kidolgozása,
- a képképzési tömegspektrometria bevezetése és módszertani fejlesztése,
- tumorok molekuláris heterogenitásának tömegspektrometriás vizsgálata,
- a patológiás spermatogenezis lokális lipidomikai változásainak feltérképezése,
- szövetszintű molekuláris változások meghatározása a korai fázisú embriogenezis során,
- az asszisztált reprodukciós technológiát kísérő molekuláris, elsősorban foszfolipid anyagcserét érintő változások felderítése,
- egy sejt (single cell) felbontású képképzési tömegspektrometria fejlesztése.

TÉZISEK

Új tudományos eredményeimet a bevezetésben ismertetett 3 fő tématerülethez kapcsolódóan az alábbiakban részletezett 6 tézispontban foglaltam össze. Eredményeim szinte kizárólag a tanszékemen működő, általam létrehozott tömegspektrometriás laboratóriumban születtek. Kivételt csupán a nemzetközi együttműködésben (Prof. Vértés Ákos, George Washington University) végzett lézer ablációs elektroporlasztásos ionizációra épülő vizsgálatok (6.3. pont) képeztek.

A téziseimben bemutatott tudományos eredmények meghatározó hányada saját kezdeményezésre és pályázati forrásból megvalósított szisztematikus analitikai módszerfejlesztésre épül, megteremtve a lehetőséget számos biokémiai, biológiai és klinikai kérdés megválaszolására.

1. C₇₀ fullerén alkalmazása MALDI mátrixként a kis molekulatömegű vegyületek vizsgálatánál tapasztalható minta-mátrix jelinterferencia csökkentése érdekében [II, VI]

- 1.1. Elsőként alkalmaztam C₇₀ fullerént MALDI mátrixként. Optimalizáltam a vizsgálati körülményeket az alkalmazott oldószer, koncentráció és a felvitel módja tekintetében. A C₇₀ hatékony mátrixnak bizonyult kis molekulatömegű vegyületek MALDI TOF MS vizsgálatában. Szobahőmérsékleten telített toluolos oldatban vékony réteggként a mintatartóra szárítva, vagy „szendvics” technikában használva nem csupán az alacsony tömegtartományban tapasztalható mátrix interferenciát csökkentette, de szerves oldószerekben jól oldódó vegyületekkel elegyítve rendkívül hatékony MALDI mátrixként használható apoláris vegyületek közvetlen vizsgálatára.
- 1.2. Elsőként dolgoztam ki kémiai átalakítást nem igénylő kvalitatív analitikai módszert szteroid hormonok MALDI TOF MS vizsgálatára. A módszerrel sikeresen detektáltam az ösztrol, ösztadiol, ösztrol, progeszteron és tesztoszteron kvázimolekulai csúcsait 38 és 74 pmol/spot koncentráció tartományban. Az új, nagy áteresztőképességű és néhány mikroliter mintaigényű analitikai módszer széleskörű alkalmazhatóságát változatos szerkezetű szintetikus szteránvázas vegyületeken, klinikai (vizelet) és környezeti (Duna, Velencei-tó, Balaton) mintákon bizonyítottam.

2. Módszertani fejlesztések borok polifenolos komponenseinek tömegspektrometriás meghatározásához; különböző mátrixvegyületek és mátrixmentes körülmények hatásának feltárása borászati termékek lézerdeszorpciós tömegspektrometriai elemzése során [I, IX, XVII]

- 2.1. Szisztematikus vizsgálatokat végeztem a *transz*-rezveratrol UV izomerizációjának megismerésére. A szakirodalomban korábban ismertetett termékek mellett felfedeztem

egy új komponens keletkezését, melynek molekula szerkezetét (3,4',5-trihidroxi-difenilacetilén) elsőként azonosítottam és publikáltam.

- 2.2. Elsőként végeztem el borok lézerdeszorpciós elemzését. Az LDI módszer alkalmasnak bizonyult a *transz*-rezveratrol és glükozidjának (piceid) kimutatására, de erős fragmentációt mutatott a kvercetin, rutin, malvidin és malvidin-galaktozid esetében. Az LDI PSD TOF/TOF tömegspektrumok elemzése során meghatároztam a lehetséges fragmentációs folyamatokat és azonosítottam a keletkezett fragmens ionokat.
- 2.3. A nagy lézerfluencia hatására bekövetkező szabályozatlan fragmentáció elkerülése érdekében megvizsgáltam a hagyományos (CHCA, SA, DHBA, THAP) és a C₇₀ fullerén mátrixok alkalmazásának lehetőségét. A legjobb tömegspektrometriás eredményeket a DHBA alkalmazása során kaptam. A C₇₀ mátrix segítségével az antocianinok aglikon formáinak kimutatása volt megvalósítható. A THAP mátrix alkalmazása minimális spontán bomlást eredményezett viszont a tandem MS vizsgálatoknál a PSD fragmentációt kellő mértékben támogatta. A MALDI vizsgálatok során 22 fenolos komponenst azonosítottam.

3. MALDI TOF MS módszer fejlesztése neuropeptidek nagyérzékenységű, széleskörű kimutatására [III, IV, V, VII, VIII, XX, XXI, XXXIII]

- 3.1. Elsőként dolgoztam ki tömegspektrometriás módszert a hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) 38 és 27 aminosavból felépülő formáinak detektálására. Munkám során elvégeztem a módszer optimalizálását, valamint felderítettem és kiküszöböltem a polipeptid speciális tulajdonságaiból (fiziológiás stabilitás, adszorpciós képesség) eredő analitikai problémákat. A kvalitatív MALDI TOF MS eljárás segítségével számos klinikai és biológiai közegből (szérum, plazma, anyatej, tüdőfolyadék, könny) mutattam ki elsőként a polipeptid jelenlétét. Tandem tömegspektrometriás vizsgálattal elvégeztem a PACAP-38, PACAP-27 és PACAP-szerű peptidek aminosavszekvenciájának azonosítását a mintaközegekben. Az új módszer segítségével elsőként mutattam ki, hogy a PACAP-38 mennyisége szignifikánsan megemelkedik a csecsemőjüket szoptató nők vérében, valamint, hogy az anyatej PACAP koncentrációja mintegy 10-szer nagyobb a vérplazmában mért értéknél. Elsőként azonosítottam tömegspektrometriával (MALDI TOF MS és nanoDESI MS/MS) a PACAP-38 endogén jelenlétét humán- és egérkönyben. Eredményeinket a szárazszem-szindróma potenciális kezelésének kidolgozásában hasznosítottuk, ugyanis PACAP-38 tartalmú szemcsepp hatására a könnykiválasztás mértéke szignifikánsan növelhető volt a kísérleti állatokban. Kísérleti állatok (Helix, Lymnea) hemolimfájának és központi idegrendszerének vizsgálata során PACAP-27 jelenlétét detektáltam. Vizsgálataim során elsőként mutattam ki PACAP-szerű peptid jelenlétét a *Lymnaea* idegrendszerében, illetve az

AC/cAMP/PKA aktivációban és a hosszú távú memória kialakulásában való lehetséges szerepét a klasszikus kondicionálás során.

- 3.2. MALDI TOF MS vizsgálatokkal elsőként azonosítottam hibernációs, évszakfüggő ciklikusságot mutató neuropeptideket éticsiga idegrendszerében és hemolimfájában. Az agyi homogenátumban 79 peptidet azonosítottam, amelyek közül 11-et kizárólag vagy következetesen magasabb intenzitással detektáltam a hibernált állatokban. Ezenkívül 30 peptidet mutattam ki a hibernált csigák hemolimfa mintáiból, ahol 13 vegyület csak a hibernált állatokban volt jelen. Az agyi homogenátumban felfedeztem egy új, aktivitásfüggő neuropeptidet, amelynek aminosavszekvenciája: GSGASGSGSMPATTS. A peptidet szignifikánsan magasabb koncentrációban figyeltem meg az aktív állatokban, ami arra utal, hogy a neuropeptid valószínűleg részt vesz az aktív állapot kialakulásában és fenntartásában.

4. MALDI TOF MS alapú fehérjeanalitikai vizsgálatok fejlesztése és alkalmazása patológiás folyamatok molekuláris változásainak meghatározására [XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVIII, XXXV-XXXVII]

- 4.1. Fehérjeanalitikai vizsgálatokkal elsőként határoztam meg PACAP génkiütött (KO) egerek fehérjekészletének expressziós változásait. Vizsgálataink elsőként világítottak rá a PACAP-hiányos egerek növekedett stresszhatásokkal szembeni sebezhetőségére és az öregedés fokozott mértékére. Eredményeink azt mutatták, hogy a PACAP KO állatokban az ATP-szintáz szint emelkedése egy kompenzációs mechanizmus eredménye, amely a sérült energia-egyensúly kompenzálására szolgál stresszmentes körülmények között.
- 4.2. Kutatásaim során eljárást dolgoztam ki a nem stimulált nyálminták MALDI TOF/TOF MS vizsgálatára. Módszert fejlesztettem ki fej-nyaki laphámkarinóma (HNSCC) során expresszáldó fehérjék, mint diagnosztikailag jelentős potenciális tumorbiomarkerek azonosítása és kimutatása érdekében. A detektált fehérjék közül az annexin 1 és a peroxiredoxin-2 kivétel nélkül minden tumoros nyálmintában detektálható volt. A korai diagnosztikai lehetőségek feltárása érdekében szisztematikus vizsgálatokat végeztem diabetes melitusban szenvedő betegek nyálmintáin. Eredményeim azt mutatták, hogy minden diabéteszes beteg nyálmintájában találtunk laphámkarinóma sejtek által expresszált fehérjéket, bár a betegeknél nem diagnosztizáltak malignitást vagy précaner állapotot. A megnövekedett annexin 1, peroxiredoxin-2 és tirozin-protein kináz jelenlétét mindegyik vizsgált diabéteszes beteg nyálmintájában azonosítottam. Eredményeim azt tükrözik, hogy a diabetes melitus premalignus állapotnak tekinthető. Elsőként állapítottam meg, hogy az 5 vagy annál több éve diabéteszben szenvedő betegeknél magasabb arányban fordul elő a peroxiredoxin-2 biomarker, mint azoknál, akik 5 évnél rövidebb ideje cukorbeteg.

- 4.3. Először mutattam ki fej-nyaki laphámkarzinóma esetén detektálható megnövekedett peptidáz/poteáz aktivitást a betegek nyálmintáiban. Megfigyelésemre építve megterveztem, létrehoztam és szabadalmaztattam egy olyan új eljárást, illetve célkészüléket, amely ca. 7-8 perc alatt képes a HNSCC kimutatására nyálmintákból. A készüléket jelenleg az IVDR rendelet által meghatározott klinikai teljesítményértékelési vizsgálaton teszteljük (10000 fő), majd terveink szerint az OKFŐ által bejegyzett szűrővizsgálatként hasznosítjuk.
- 4.4. Módszert dolgoztam ki antropológiai csontminták paleoproteomikai vizsgálatára. Elsőként azonosítottam 2000 éves oszteoszarkómás csontleletekből tumorbiomarker-fehérjéket (annexin A10 és a vimentin).
- 4.5. Elsőként dolgoztam ki eljárást száj- és ajakhasadék során expresszáldó fehérjék (pl. dermokin, TGFβ3) kimutatása érdekében betegek nyálmintáiból. A vizsgálataim során kimutatott jelentős dermokin expresszió valószínűleg a hasadék során aktiválódó keratinocitáknak tulajdonítható.

5. MALDI TOF képalkotási tömegspektrometriás módszerek kifejlesztése és alkalmazása klinikai szövetminták közvetlen molekuláris vizsgálatára [XII, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVI, XXVII]

- 5.1. Hazánkban én honosítottam meg a képalkotási tömegspektrometria (IMS) alkalmazását, amit jelenleg is tanszékelem zászlóshajójának tekintek. Kutatásaim során az alapoktól kezdve megterveztem, kifejlesztettem és optimalizáltam a MALDI képalkotáshoz szükséges mintaelőkészítési és vizsgálati módszereket. Munkacsoportomban kifejlesztettem egy piezoelektromos, homogén mátrix felvitelére szolgáló berendezést, amely kiválóan alkalmas a szövetmetszetek mátrixszal való bevonására és a vegyületek felszíni extrakciójára. Kidolgoztam a szövetminták beágyazásának, metszésének és lipidmentesítésének részletes munkafolyamatait.
- 5.2. Elsőként mutattam ki az S100A9 és S100A8 fehérjék lokális expresszióját fej-nyaki laphámkarzinóma esetében. Eredményeim alapján az említett fehérjék egyértelműen megjelentek a malignitást mutató neoplasztikus régióban, míg az egészséges szöveti struktúrákban nem voltak kimutathatók. Vizsgálataim kiterjedtek a HNSCC-ban megjelenő lipidek lokális eloszlásának és kvantitatív változásainak feltérképezésére, amelynek során több, mint 300 lipidmolekulát azonosítottam. Az egészséges szövetben az LPC (16:0) és az LPC (18:2) expresszáldott, míg specifikus tumor biomarkerként a PC (32:1) molekulát detektáltam.

- 5.3. Elsőként dolgoztam ki eljárást humán hereszövetek MALDI TOF IMS vizsgálatára annak érdekében, hogy a nem-obstruktív azoospermia leggyakoribb okának a Sertoli cell only szindrómának (SCOS) lipidomikai vonatkozásait megismerjem. Eredményeim alapján a szfingomielinek (SM), foszfatidil-kolinok (PC), glicerofoszfatidil-kolinok, plazmalogének és foszfatidil-etanolaminok lokális eloszlása és expressziós szintje jelentősen eltér az egészséges és SCOS hereszövetben. A legjelentősebb különbségek az SM (16:0) és PC (16:0, 20:4) lipidek eloszlásában mutatkozott. Az SM expressziója szignifikánsan magasabb volt az egészséges spermatogenezist mutató mintákban, míg a PC komponens az SCOS mintákban mutatott magasabb szintet. Elsőként mutattam ki közvetlen kapcsolatot a SCOS súlyosságára vonatkozó Johnsen pontozási rendszer és a foszfolipidek lokális eloszlása között.
- 5.4. Elsőként dolgoztam ki eljárást a mesterséges megtermékenyítést kísérő korai embrionális fejlődés térbeli és időbeni változásainak molekuláris feltérképezése érdekében. A MALDI TOF IMS elemzések során különböző embrionális korban lévő egérembriók PC változásait határoztam meg. Vizsgálataim megerősítették, hogy az embrionális implantáció során és az embriók fejlődésének korai szakaszában jelentős időbeni és térbeli változások mutathatók ki a foszfolipidek eloszlásában. Az is kijelenthető, hogy az IVF beavatkozás szignifikánsan megváltoztatja, átalakítja a PC lipidspecieszek lokális expresszióit. Vizsgálatomban a túlnyomórészt OA-t tartalmazó PC (34:1) és PC (36:1) magas intenzitást mutatott az uterus különböző részein a periimplantációs időszakban, mind normál, mind IVF terhességben. A PC (36:1)-et a mezometriális deciduában figyeltem meg IVF-terhesség alatt, de a normál terhességben szinte hiányzott. Ez a szembevetendő különbség az OA-tartalmú lipidek szerepére utal a korai embrionális fejlődésben. A többszörösen telítetlen zsírsav tartalmú PC-k mind térbeli, mind időbeni különbségeket mutattak a periimplantációs periódusban mindkét csoportban. Figyelemre méltó, hogy a legnagyobb eltérést a normál és az IVF csoport között az embrionális 8,5. napon figyeltük meg a PC (36:2), PC (36:4), PC (38:4) és PC (40:6) intenzitásában.

6. Sejtszintű térbeli felbontással rendelkező képkalkotási tömegspektrometriás vizsgálatok kidolgozása [X, XIX, XXXI, XXXII]

- 6.1. Új eljárást fejlesztettem ki neuropeptidek sejtszintű lokális eloszlásának tömegspektrometriás vizsgálatára. Először mutattam be az FMRFa lokális eloszlását *Helix pomatia* idegrendszerében ellenanyag használata nélkül. Képkalkotási tömegspektrometriás vizsgálataim során elsőként térképeztük fel sejtszintű, néhány mikrométeres (ca. 5 μ m) térbeli felbontással az m/z 599,37 (FMRFa) tartalmú neuronok eloszlását közvetlenül a CNS ganglionjaiban. Eredményeim szerint az FMRFa túlnyomórészt a CNS agyi ganglionok, a pedális ganglionok és a jobb oldali parietális ganglionok pro-, mezo- és postcerebrális régióiban található neuroncsoportokban lokalizálódott.

- 6.2. Elsőként végeztem el egy neuron feltöltését fluoreszcens festék és MALDI mátrix elegyével annak érdekében, hogy a lézerfluencia a feltöltött sejtben összpontosulva ott lokális ablációt és ionizációt hozzon létre. A kifejlesztett új módszer alkalmasnak bizonyult az FMRFa neuropeptid eloszlásának egysejt-szintű detektálására.
- 6.3. Nemzetközi együttműködés keretében bemutattam a lézer ablációs elektroporlasztásos ionizációra épülő ionmobilitási képalkotási tömegspektrometria előnyeit az izobár tömeggel jellemezhető komponensek elkülönítésére. Eljárást dolgoztunk ki automatizált sejt felismerésre és pozicionálásra épülő nagyfelbontású képalkotási LAESI vizsgálatra.
- 6.4. Elsőként hoztam létre egy olyan fsLAESI MS/MS készüléket, amely alkalmas volt m/z 200 és m/z 3000 tartományon belül lipidek és peptidek vizsgálatára. A berendezés segítségével megvizsgáltam a *Helix pomatia* központi idegrendszerét, amelyben számos bioaktív vegyületet detektáltam. A tömegspektrometriás vizsgálatok során kísérletet tettem néhány komponens tandem tömegspektrometriás azonosítására.

KUTATÁSI EREDMÉNYEK IPARI HASZNOSÍTÁSA

Határozott meggyőződésem, hogy a lézeres mintabevitelre épülő tömegspektrometriás módszerek egyre nagyobb szerepet kapnak az ipari, klinikai környezetben végzett rutin eljárások viszonylatában (pl. BioTyper). Munkacsoportomban is számos olyan fejlesztés folyik, amelyek a MALDI módszerek jövőbeni agrár-, élelmiszer- és egészségipari adaptálását szolgálják.

Analitikai és klinikai eredményeim alapján kifejlesztettem a Gere és Bock Pincészetek szőlőmagőrleményeit. Szakmai vezetőként irányítottam a megnövelt biológiai hasznosulással rendelkező Bock szőlőmagőrlemény tabletta tervezését, létrehozását, élettani vizsgálatait és a gyártóüzem megvalósítását.

Proteomikai vizsgálataink mintaelőkészítésének elősegítése érdekében kifejlesztettem egy moduláris, automatizálható mintaelőkészítő berendezést [XXXIV].

Nyálproteomikai vizsgálataimra alapozva létrehoztam és szabadalmaztattam egy célkészüléket fej-nyaki tumoros elváltozások detektálására [XXXV, XXXVI, XXXVII].

Eljárást dolgoztam ki részecskék fizikai elkülönítésére és azok „omika-kompatibilis” mintaelőkészítésére akár „single cell” felbontásban. A találmány alkalmas áramlásos citométerrel, sejtszorterrel, folyadékkromatográfiával, tömegspektrometriával való közvetlen on-line kapcsolásra [XXXVIII, XXXIX, XL].

Kifejlesztettem egy merőben új koncepción alapuló, állattenyésztésben alkalmazható embrionális tápoldatot, amely a sikeres terhesség kialakulásának arányát 20%-ról ca. 60%-ra emelte az IVF beavatkozások során. Ezen projekt folytatásaként a korai fázisú embrionális fejlődéssel kapcsolatos molekuláris eredményeimre építve egy embrionális tenyésztésre alkalmas automatizálható berendezést hoztam létre, amely alkalmas a spermiumok és a petesejtek minőségi elemzésére és szelekciójára, a fertilizáció elvégzésére és a blasztociszta felnevelésére a beültetés előtt. A berendezés végül a 3 vagy 5 napos embriót egy beültető kapillárisba fagyasztja és így tárolja el a felhasználásig.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

(*első vagy utolsó szerzőként)

Közlemények referált szakfolyóiratokban

- [I] Montskó G, Pour Nikfardjam MS, Szabó Z, Böddi K, Lóránd T, Ohmacht R, **Márk L***: Determination of products derived from trans-resveratrol UV photoisomerisation by means of HPLC-APCI-MS, *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 196:44-50. (2008)
- [II] Montsko G, Vaczy A, Maasz G, Mernyak E, Frank E, Bay C, Kadar Z, Ohmacht R, Wolfling J, **Mark L***: Analysis of nonderivatized steroids by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using C70 fullerene as matrix, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395:869-874. (2009)
- [III] Börzsei R, **Márk L***, Tamás A, Bagoly T, Bay Cs, Csanaky K, Bánki E, Kiss P, Váczy A, Horváth G, Nemeth J, Szauer E, Helyes Z, Reglodi D: Presence of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-38 in human plasma and milk, *European Journal of Endocrinology* 160:561-565. (2009)
- [IV] Pirger Z, Lubics A, Reglodi D, Laszlo Z, **Mark L**, Kiss T: Mass spectrometric analysis of activity-dependent changes of neuropeptide profile in the snail, *Helix pomatia*, *Neuropeptides* 44:475-483. (2010)
- [V] Horváth G, **Márk L**, Brubel R, Szakály P, Rácz B, Kiss P, Tamás A, Helyes Z, Lubics A, Hashimoto H, Baba A, Shintani N, Furjes G, Nemeth J, Reglodi D: Mice deficient in pituitary adenylate cyclase activating polypeptide display increased sensitivity to renal oxidative stress in vitro, *Neuroscience Letters* 469:70-74. (2010)
- [VI] Pirger Z, Kiss T, László Z, G-Tóth L, Váczy A, **Márk L***: Modern tömegspektrometriai módszerek (MALDI TOF és LC-ESI MS) alkalmazása a vizek hormontartalmának kimutatására, *Hidrológiai Közlöny* 90:117-119. (2010)
- [VII] Pirger Z, Laszlo Z, Hiripi L, Hernadi L, Toth G, Lubics A, Reglodi D, Kemenes G, **Mark L***: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) and its receptors are present and biochemically active in the central nervous system of the pond snail *Lymnaea stagnalis*, *Journal of Molecular Neuroscience* 42:464-471. (2010)
- [VIII] Brubel R, Reglodi D, Jambor E, Koppan M, Varnagy A, Biro Z, Kiss P, Gaal V, Matkovits A, Farkas J, Lubics A, Bodis J, Bay C, Veszpremi B, Tamas A, Nemeth J, **Mark L***: Investigation of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide in human gynecological and other biological fluids by using MALDI TOF mass spectrometry, *Journal of Mass Spectrometry* 46:189-194. (2011)
- [IX] Ivanova V, Dörnyei Á, Stefova M, Stafilov T, Vojnoski B, Kilár F, **Márk L***: Rapid MALDI-TOF-MS detection of anthocyanins in wine and grape using different matrices, *Food Analytical Methods* 4:108-115. (2011)

- [X] **Mark L***, Maasz G, Pirger Z: High resolution spatial distribution of neuropeptides by MALDI imaging mass spectrometry in the terrestrial snail, *Helix pomatia*, *Acta Biologica Hungarica* (1983-2018) 63:113-122. (2012)
- [XI] Szántó I, **Márk L**, Bóna Á, Maász G, Sándor B, Gelencsér G, Turi Zs, Gallyas F: High-throughput screening of saliva for early detection of oral cancer: A pilot study, *Technology in Cancer Research & Treatment* 11:181-188. (2012)
- [XII] Járari T, Maász G, Burián A, Bóna Á, Jámboer É, Gerlinger I, **Márk L***: Mass spectrometry-based salivary proteomics for discovery of head and neck squamous cell carcinoma, *Pathology and Oncology Research* 18:623-628. (2012)
- [XIII] Szabo GT, Tihanyi R, Csulak F, Jambor E, Bona A, Szabo G, **Mark L***: Comparative salivary proteomics of cleft palate patients, *Cleft Palate-Craniofacial Journal* 49:519-523. (2012)
- [XIV] Jancsik VA, **Mark L**, Gelencser G, Olasz L: Nyálból izolált szájüregi laphámkarinóma biomarkerek vizsgálata 2-es típusú diabéteszes betegekben, *Fogorvosi Szemle* 106:109-115. (2013)
- [XV] Maasz G, Pirger Z, Reglodi D, Petrovics D, Schmidt J, Kiss P, Rivnyak A, Hashimoto H, Avar P, Jambor E, Tamas A, Gaszner B, **Mark L***: Comparative protein composition of the brains of PACAP-deficient mice using mass spectrometry-based proteomic analysis, *Journal of Molecular Neuroscience* 54:310-319. (2014)
- [XVI] Bóna Á, Pápai Z, Maász G, Tóth GA, Jámboer É, Schmidt J, Tóth C, Farkas C, **Márk L***: Mass spectrometric identification of ancient proteins as potential molecular biomarkers for a 2000-year-old osteogenic sarcoma, *PLOS ONE* 9:e87215. (2014)
- [XVII] Petropulos IV, Dörnyei Á, Stefova M, Stafilov T, Vojnoski B, **Márk L**, Hermosín-Gutiérrez I, Kilár F: Application of a novel small-scale sample cleanup procedure prior to MALDI-TOF-MS for rapid pigment fingerprinting of red wines, *Food Analytical Methods* 7:820-827. (2014)
- [XVIII] Jancsik V, Gelencsér G, Maász G, Schmidt J, Molnár G, Wittmann I, Olasz L, **Márk L***: Salivary proteomic analysis of diabetic patients for possible oral squamous cell carcinoma biomarkers, *Pathology and Oncology Research* 20:591-595. (2014)
- [XIX] Li H, Smith BK, **Márk L**, Nemes P, Nazarian J, Vertes A: Ambient molecular imaging by laser ablation electrospray ionization mass spectrometry with ion mobility separation, *International Journal of Mass Spectrometry* 377:681-689. (2015)
- [XX] Nakamachi T, Ohtaki H, Seki T, Yofu S, Kagami N, Hashimoto H, Shintani N, Baba A, **Mark L**, Lanekoff I, Kiss P, Farkas J, Reglodi D, Shioda S: PACAP suppresses dry eye signs by stimulating tear secretion, *Nature Communications* 7: 12034-12047. (2016)

- [XXI] Maasz G, Schmidt J, Avar P, **Mark L***: Automated SPE and nanoLC–MS analysis of somatostatin, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 40:400-406. (2017)
- [XXII] Schmidt J, Kajtár B, Juhász K, Péter M, Járari T, Burián A, Kereskai L, Gerlinger I, Tornóczky T, Balogh G, Vigh L, **Márk L***, Balogi Z: Lipid and protein tumor markers for head and neck squamous cell carcinoma identified by imaging mass spectrometry, *Oncotarget* 11:2702-2717. (2020)
- [XXIII] Burian A, Lujber L, Gerlinger I, Jarai T, Orosz E, Turiak L, Acs A, Hegedus Z, Konigne Peter A, Tornoczky T, Gombos K, **Mark L***: Label-free semiquantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometry proteomics analysis of laryngeal/hypopharyngeal squamous cell carcinoma on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples - a pilot study, *Pathology and Oncology Research* 26:2801-2807. (2020)
- [XXIV] Sulc A, Czétány P, Máté G, Balló A, Semjén D, Szántó Á, **Márk L***: MALDI imaging mass spectrometry reveals lipid alterations in physiological and Sertoli cell-only syndrome human testicular tissue sections, *International Journal of Molecular Sciences* 25:8358-8369. (2024)
- [XXV] Gitta S, Szabó É, Sulc A, Czétány P, Máté G, Balló A, Csabai T, Szántó Á, **Márk L***: Investigation of phosphatidylcholine by MALDI imaging mass spectrometry in normal and IVF early-stage embryos, *International Journal of Molecular Sciences* 25:7423-7434. (2024)

Összefoglaló művek

- [XXVI] Czétány P, Gitta S, Balló A, Sulc A, Máté G, Szántó Á, **Márk L***: Application of mass spectrometry imaging in uro-oncology: discovering potential biomarkers, *Life-Basel* 12:366-376. (2022)
- [XXVII] Gitta S, **Márk L**, Szentpéteri JL, Szabó É: Lipid changes in the peri-implantation period with mass spectrometry imaging: a systematic review, *Life* 13:169. (2023)

Az értekezés témájához kapcsolódó könyvfejezetek

- [XXVIII] Talián CG, **Márk L**, Melegh B: Tömegspektrometria, In: Debreczeni, L; Kovacs, GL (szerk.) Gyakorlati laboratóriumi medicina, Budapest, Magyarország: Literatura Medica Kiadó Kft. 477-492. (2008)
- [XXIX] **Márk L***: A proteomika kutatási eredményei a jelen és a jövő klinikai laboratóriumában, In: Ludány A (szerk.) A fehérjekutatás modern módszertana, Budapest, Magyarország: Medicina Könyvkiadó 361-364. (2008)
- [XXX] **Márk L***: Tömegspektrometria, In: Ludány, Andrea (szerk.) A fehérjekutatás modern módszertana, Budapest, Magyarország: Medicina Könyvkiadó 175-187. (2011)
- [XXXI] Li H, Smith BK, Shrestha B, **Mark L**, Vertes A: Automated cell-by-cell tissue imaging and single-cell analysis for targeted morphologies by laser ablation

electrospray ionization mass spectrometry, In: He, L (szerk.) Mass Spectrometry Imaging of Small Molecules, New York, Amerikai Egyesült Államok: Springer Science+Business Media 117-127. (2015)

- [XXXII] **Márk L***: Lézerdeszorpciós tömegspektrometria, In: Csősz É (szerk.) Bevezetés a proteomikába: a fehérjék korszerű vizsgálata, Budapest, Magyarország: Semmelweis Egyetem 150-157. (2023)

Az értekezésben szereplő szabadalmak, mintaoltalmak

- [XXXIII] Pirger Z, Kiss T, **Mark L**: Activity-dependent peptide: Version: B3EWK7.1 GI:395406806, B3EWK7, Ügyszám: GI:395406806
- [XXXIV] **Mark L**, Schmidt J, Maasz G: Moduláris, automatizált mintaelőkészítő berendezés, HU201300147-A1
- [XXXV] **Márk L**: In vitro eljárás rosszindulatú állapotok diagnosztizálására, HU1800440A2
- [XXXVI] **Márk L**: Simple, non-invasive method for diagnosing oral cancer, WO2020128546A1
- [XXXVII] **Márk L**: In vitro method for the diagnosis of malignant conditions, EP3671213A1
- [XXXVIII] **Márk L**: Appareil et procede de separation de particules, EP4394350A1/fr
- [XXXIX] **Márk L**: Vorrichtung und verfahren zur trennung von partikeln, EP4394350A1/de
- [XL] **Márk L**: Apparatus and method for separating particles, EP4394350A1/en