

NADPH-OXIDÁZ ÉS PEROXIDÁZ ENZIMEK VIZSGÁLATA  
EMLŐS SEJTEKBEN



GEISZT MIKLÓS  
SEMMELWEIS EGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR  
ÉLETTANI INTÉZET

BUDAPEST  
2011

1. Bevezetés	3
2. Tudományterületi háttér	3
2.1 Reaktív oxigén származékok (ROS)	3
2.2 A NADPH oxidáz (Nox) enzimek családja	4
2.3 A peroxidáz enzimekről	5
3. Célkitűzések	6
4. Kísérleti megközelítés	7
5. Az új tudományos eredmények összefoglalása	10
6. Az eredmények gyakorlati jelentősége	13
7. Saját közlemények	13
7.1 Az értekezés alapjául szolgáló közlemények	13
7.2 Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények	15

## 1. Bevezetés

Amikor reaktív oxigén származékokról vagy szabadgyökökről hallunk, akkor gyakran e molekulák előnytelen tulajdonságai kerülnek előtérbe és joggal érezzük, hogy célszerű elkerülni a találkozást ezekkel a vegyületekkel. A reaktív oxigén származékok rövidítésének hangzása a ROS szintén nem éppen előnyös tulajdonságokat sejtet. A reaktív oxigén származékokról korábban valóban azt gondolták, hogy kizárólag káros hatásokkal rendelkeznek és ennek valószínűleg az a magyarázata, hogy ROS elleni védekezés mechanizmusait korábban írták le, mint a szabályozott ROS termelés jelenségét. Az elmúlt néhány évtized kutatásai azonban egyértelműen kimutatták, hogy ezeknek a molekuláknak számos fontos, fiziológias funkciója is van. Az MTA doktori értekezésem főszereplői a reaktív oxigén származékok; az elmúlt bő tíz évben kísérleteim a ROS képződésének és hatásainak vizsgálatára irányultak.

## 2. Tudományterületi háttér

### 2.1 Reaktív oxigén származék (ROS)

A reaktív oxigén származékok (ROS) olyan oxigénből kialakuló molekulák, amelyek igen hatékonyan reagálnak az élő szervezetek különböző alkotóelemeivel. Az oxigénből kialakuló legfontosabb reaktív oxigén származékok a szuperoxid ( $O_2^{\cdot-}$ ), a hidrogén-peroxid ( $H_2O_2$ ) és a hidroxil-gyök ( $\cdot OH$ ) a szinglet oxigén ( $^1O_2$ ), valamint az ózon ( $O_3$ ). Ezen molekulákat gyakran emlegetik szabadgyökként is, azonban csak a szuperoxid és a hidroxil-gyök tekinthető szabadgyököknek, ugyanis ezek a molekulák tartalmaznak párosítatlan elektront a külső elektronhéjukon. A reaktív oxigén származékok nitrogén monoxiddal

reagálva reaktív nitrogén származékokat képezhetnek. Ezek közül legfontosabb a peroxinitrit (ONOO $\cdot$ ), amely a szuperoxidból és a nitrogén monoxidból képződik.

A ROS szintézisének kiindulási molekulája legtöbbször a szuperoxid anion, amely a molekuláris oxigénből alakul ki egy elektron felvételével. A molekula kiemelkedő reakcióképességét a párosítatlan elektron jelenléte magyarázza. A ROS fontos tulajdonsága, hogy igen hevesen lép reakcióba a szervezet különböző alkotóelemeivel, amit gyakran azok szerkezet- és funkcióváltozása követ. Régebben azt gondolták, hogy a különböző molekulák ROS-al történő reakciója mindenképpen az adott molekula károsodásához, funkcióvesztéséhez vezet. Mára azonban egyértelművé vált, hogy a módosulás gyakran fiziológias folyamat része, ami sokszor reverzibilis. A szabályozott fehérjemódosítás különösen a  $H_2O_2$ -re jellemző, amelynek a jelátviteli folyamataiban játszott szerepe mára egyértelművé vált.

### 2.2 A NADPH oxidáz (Nox) enzimek családja

A sejtekben zajló szabályozott ROS termelésért a NADPH oxidáz (Nox) enzimek felelősek. A Nox enzimek szinte minden többsejtű élőlényben előfordulnak, ami bizonyítja, hogy a ROS szabályozott termelése általános jelenség az élővilágban.

Emlős sejtekben a szabályozott ROS termelésre az első példa a fagocita sejtek ún. oxidatív robbanása (respiratory burst) volt, amelyért a fagocitákban kifejeződő NADPH-oxidáz felelős. Az oxidatív robbanás az a jelenség, melynek során a fagocitáló fehérvérsejtek oxigénfogyasztása jelentősen fokozódik. Kezdetben úgy gondolták, hogy ennek magyarázata a kórokozók bekebelezéséhez szükséges „extra” energia termelése, azonban a fokozott

oxigénfogyasztás érzéketlennek bizonyult a mitokondriális légzés gátlószereire. Később derült fény arra, hogy az extra oxigénfogyasztás szuperoxid termelésére fordítódik és a folyamat kulcsfontosságú a kórokozók elpusztításában. Az elmúlt tíz évben különféle szövetekben több, a fagocita-oxidázzal homológ enzimet fedeztek fel, melyeket ma a NADPH-oxidázok Nox enzimes családjaként ismerünk. Az enzimes családnak emlősökben összesen hét tagja van: a Nox1, Nox2, Nox3, Nox4 és Nox5 fehérjék, valamint a Duox1 és a Duox2. A Nox fehérjék működésük során elektront transzportálnak a NADPH-ról a molekuláris oxigénre, ami szuperoxid anion képződését eredményezi. A NADPH-oxidázok által katalizált reakció tehát a következő:



### 2.3 A peroxidáz enzimekről

A szuperoxidból képződő  $\text{H}_2\text{O}_2$  élő szervezetekben kialakuló hatásai gyakran peroxidáz enzimek közvetítésével jönnek létre. A peroxidáz enzimes család tagjai egyaránt megtalálhatók prokariótákban, gombákban, növényekben és állatokban. A hem-kötő peroxidázoknak két szupercsaládjá létezik. Az egyik szupercsaládba a gomba, növényi és bakteriális peroxidázok tartoznak. A másik, az állati peroxidázok szupercsaládjá, amelynek tagjai az evolúció folyamán az előbb említett enzimektől függetlenül alakultak ki és váltak hasonló enzimatis funkcióval rendelkező fehérjékké. Az állati peroxidázok heme-t köté fehérjék, amelyek különböző szubsztrátok oxidálását katalizálják  $\text{H}_2\text{O}_2$  jelenlétében. Az állati peroxidázok molekuláris szerkezete nagymértékben konzervált az élővilágban, a peroxidázok által katalizált reakció pedig számos biokémiai illetve élettani folyamatban alapvető jelentőségű. Az állati peroxidázok közé tartozik a

mieloperoxidáz (MPO), laktoperoxidáz (LPO), eozinofil peroxidáz (EPO), tireoperoxidáz (TPO) és a peroxidazin (PXDN). Az MPO a neutrofil granulociták terméke, amely hipó képzésén keresztül vesz részt a baktériumok és gombák elpusztításában. Az EPO az eozinofil granulociták granulumaiban található, és az MPO-hoz hasonlóan a kórokozók, azon belül is a különböző paraziták elpusztításában játszik szerepet. Az LPO különböző exokrin szekréciókban, tejben, nyálban és könnyben található nagy mennyiségben és a nyálkahártyákhoz kötődő immunitás fontos szereplője. Az eddig ismertetett peroxidázoktól eltérően a TPO nem immunvédekező folyamatokban, hanem hormonszintézisben fontos, a PXDN pedig a *Drosophila* extracelluláris mátrixának szintézisében játszik szerepet.

### 3. Célkitűzések

1. A fagocita oxidáz aktiválódásának végső lépéseiről már meglehetősen sokat tudunk, azonban az enzimes komplex összeállításához vezető jelátviteli útvonalak kevésbé ismertek. A plazmamembrán receptorokon keresztül ható és az oxidázt aktiváló stimulusokra jellemző, hogy az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -szint emelkedését hozzák létre. Nem volt világos azonban, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$ -szignálnak milyen szerepe van a szuperoxidtermelés elindításában. Munkánkban ezért célul tűztük ki annak megismerését, hogy a neutrofil granulocitákban kialakuló  $\text{Ca}^{2+}$ -szignálnak milyen szerepe van a NADPH oxidáz aktivációjában.

2. A Rac kis G fehérje aktivációja elengedhetetlen az aktív fagocita oxidáz enzimes komplex összeállításához. A Rac nukleotid-kötő állapotának módosítása tehát a szuperoxidtermelés szabályozásának lehetőségét jelenti. A Rac GTP-áz

aktivitását GTP-áz aktiváló fehérjék (Rac-GAP fehérjék) modulálják, azonban a neutrofil granulocitákban található Rac-GAP fehérjéről nagyon keveset tudunk. Ezért célul tűztük ki a neutrofil granulocitákban található Rac-GAP aktivitású fehérjék jellemzését.

3. Régóta ismert volt, hogy ROS termelésre nemcsak a fagocita sejtek, hanem számos más sejtfeleség is képes. A nem-fagocita sejtek ROS termelésének enzimatis hátere azonban ismeretlen volt. Munkánkban célul tűztük olyan, korábban ismeretlen enzimek azonosítását és jellemzését, amelyek képesek ROS előállítására.

4. A Nox enzimek gyakran működnek együtt peroxidáz enzimekkel, ahol a peroxidázok felhasználják a Nox fehérjék által termelt szuperoxidból kialakuló  $H_2O_2$ -t. Az állati peroxidázok közül a laktoperoxidáz és a peroxidazin enzimek vizsgálatát tűztük ki célul. Azért esett erre a két enzimre a választásunk, ugyanis az esetükben felmerült annak a lehetősége, hogy szerepük lehet az extracelluláris mátrix oxidatív módosításában.

#### 4. Kísérleti megközelítés

*ROS termelés mérése:* A szuperoxidtermelést fotometriás úton a ferricitokróm c festék szuperoxid dizmutáz (SOD) érzékeny redukciója alapján mértük. Ez a módszer elsősorban a fagocita oxidáz aktivitásának vizsgálatára alkalmas, mert az nagy mennyiségben termel szuperoxidot. A szuperoxidtermelést érzékenyebb, kemilumineszcens módszerrel is mértük a Diogenes nevű reagens felhasználásával.  $H_2O_2$  termelés mérésére az Amplex Red technikát használtuk,

ahol a torna peroxidáz  $H_2O_2$  jelenlétében fluoreszcens terméké oxidálja az Amplex Red reagentst.

*Intracelluláris  $Ca^{2+}$ -koncentráció mérése:* Az intracelluláris  $Ca^{2+}$ -koncentráció méréséhez a Fura-2  $Ca^{2+}$ -érzékeny fluoreszcens festéket használtuk.

*Poliklonális antitestek előállítása:* A poliklonális antitestek előállításához szükséges antigéneket GST fúziós fehérje formájában állítottuk elő *E. coli* baktériumokban és affinitás kromatográfia segítségével tisztítottuk meg a sejtek lizátumából. Az immunizálás során standard immunizálási protokollt alkalmaztunk. A célfehérjére specifikus antitesteket GST-vel kimerített szérumból, affinitás kromatográfia segítségével tisztítottuk meg. A szérumot és a tisztított antitestet Western blot kísérletekben teszteltük.

*A GTP-áz és Rac-GAP aktivitás mérése:* A Rac GTP-áz aktivitását nitrocellulóz filterhez való kötődés segítségével mértük. A neutrofil granulociták citoszolikus és membrán frakcióinak Rac-GAP hatású fehérjéit overlay technikával vizsgáltuk.

*mRNS detektálási technikák:* Az mRNS expressziót Northern blot, kvantitatív PCR (QPCR) és *in situ* hibridizáció technikákkal vizsgáltuk.

*A korábban ismeretlen Nox homológok és szabályozó fehérjék klónozásának menete:* A korábban ismeretlen szekvenciákat a Génbank EST (Expressed Sequence Tags) adatbázisában történt homológia kutatás segítségével azonosítottam. Az EST adatbázis használatának előnye volt, hogy ez az adatbázis cDNS szekvenciákat tartalmaz és a humán genom szekvenáló

projektek befejezése előtt ez volt a genom expresszáldó részét legjobban reprezentáló adatbázis. Homológ szekvenciák azonosítása után elemeztük a homológia fokát és az adott mRNS expressziós mintázatát. A klónozást általában olyan sejtvonalból vagy szövetből végeztük, amely az expressziós vizsgálatok eredménye alapján nagy mennyiségben tartalmazta az adott mRNS-t.

*Fehérje detektálási technikák:* A fehérjéket sejtliázátumból specifikus antitestek felhasználásával, Western blot technika segítségével mutattuk ki. Ha nem rendelkezünk az adott fehérjére specifikus antitesttel, akkor epitóppal jeleztük a fehérjét és az epitópot felismerő antitestet használtunk a kísérleteinkben. A fehérjék sejten, illetve szöveten belüli elhelyezkedését immuncitokémia, illetve immunhisztokémia segítségével vizsgáltuk. Az intracelluláris lokalizációt konfokális mikroszkópia segítségével határoztuk meg.

*Heterológ expressziós technikák:* Fehérjék heterológ expressziójára legtöbb esetben a pcDNA3.1 emlős expressziós vektort alkalmaztuk. A plazmidok transzfekcióját Genepor, Fugene vagy Lipofectamine 2000 transzfekciós reagens segítségével végeztük el. A tranziens expressziós kísérletekben a transzfekció után 24-48 órával vizsgáltuk a sejteket. A Nox4-et stabilan expresszáló sejtek létrehozásánál Geneticinnel végeztük a szelekciót és a sejtek kihígítása után rezisztens klónokat izoláltunk. Az izolált klónokat kiterjesztettük és a Nox4 expresszióját RT-PCR illetve Northern blot technikák segítségével ellenőriztük.

*Génexpressziót gátló (knock-down) kísérletek:* Ezekben a kísérletekben antiszenz oligonukleotidok vagy siRNS-ek segítségével gátoltuk a génexpressziót. A Duox1

expresszió gátlására légúti epithel sejtekben foszfotioát antiszenz oligonukleotidokat alkalmaztunk, amelyeket Oligofectamine transzfekciós reagens segítségével juttattunk a sejtekbe. A siRNS technikát alkalmazó kísérleteinkben Stealth siRNS-t alkalmaztunk, amit RNAiMAX transzfekciós reagens segítségével juttattunk a sejtekbe. Az siRNS-es kísérletekben a génexpresszió gátlásának hatékonyságát Western blot segítségével ellenőriztük.

## 5. Az új tudományos eredmények összefoglalása

1. Kimutattuk, hogy a fiziológiás tartományban létrejövő  $Ca^{2+}$ -szignál önmagában nem elégséges a neutrofil granulociták szuperoxidtermelésének aktiválásához. Azt is kimutattuk, hogy a receptor agonista fMLP,  $Ca^{2+}$ -szignál hiányában is képes a NADPH-oxidáz aktiválására, azonban a maximális stimuláló hatás csak emelkedett  $Ca^{2+}$ -szint mellett jön létre.

2. Saját kísérletes és irodalmi adatok alapján új hipotézist dolgoztunk ki a krónikus granulomatózis betegségben megfigyelhető neutrofil granulocita funkciózavar magyarázatára.

3. Neutrofil granulociták membránban elhelyezkedő Rac-GAP fehérjét vizsgálva kimutattuk, hogy a sejtek membránjában megtalálható a p50Rho-GAP és ez a fehérje felelős a membrán domináns, renaturálható Rac-GAP aktivitásáért, azonban a natív membránpreparátum Rac-GAP aktivitásában nem játszik szerepet.

4. Kimutattuk, hogy a Nox1 nem rendelkezik mitogén aktivitással és az expressziója fokozódik colon tumor sejtek differenciálódása folyamán. Megállapítottuk, hogy a Nox1 képes együttműködni a fagocita oxidáz citoszolikus komponenseivel.

5. Azonosítottuk a Nox1 colon epithel sejtekben expresszáldó citoszolikus regulátorait, a NOXO1 és NOXA1 fehérjéket. Leírtuk a NOXO1 és NOXA1 mRNS-ek expressziós mintázatát és kimutattuk, hogy a fehérjék hatékonyan támogatják a Nox1 enzim működését.

6. Azonosítottuk a NADPH oxidáz 4 (Nox4) enzimet és kimutattuk, hogy a Nox4 nagy mennyiségben expresszáldik a vesében, ahol a vesetubulusok epithel sejtjeiben található. Felvetettük, hogy a Nox4 szerepet játszhat a vese oxigénérzékelésében.

7. Kimutattuk a Duox fehérjék expresszióját nyálmirigyben, a vastagbélben és a nagyobb légutakban. Megállapítottuk, hogy a légutak epithel sejtjei Duox-függő módon  $H_2O_2$ -ot termelnek. Felállítottuk a Duox-LPO védekező rendszer modelljét.

8. Kimutattuk, hogy a Duox1 expresszáldik urothel sejtekben és megállapítottuk, hogy a Duox1 felelős a sejtek  $Ca^{2+}$ -szignál által aktivált  $H_2O_2$  termeléséért. Kimutattuk, hogy a Duox1 szerepet játszik a húgyhólyag fiziológiás nyomás válaszainak kialakításában.

9. Jellemeztük a LPO ditrozinképző aktivitását és megállapítottuk, hogy az enzimnek ez az aktivitása alkalmas sejtek  $H_2O_2$  termelésének mérésére.

10. Kimutattuk, hogy a PXDN fehérje rendelkezik peroxidáz aktivitással és a sejtek endoplazmás retikulumában található. Megállapítottuk, hogy miofibroblaszt differenciálódás során nő a PXDN expressziója és a fehérje szekretálódik az extracelluláris térbe. Megállapítottuk, hogy ez az eddig ismeretlen mátrixképző mechanizmus aktiválódik vesefibrózis kialakulása során.

## 6. Az eredmények gyakorlati jelentősége

A fagociták ROS termelésének megváltozása fontos szerepet játszik különböző betegségek kialakulásában. Számos kísérleti adat utal arra, hogy fagocita oxidáz elégtelen vagy fokozott működése egyaránt problémát okozhat. Joggal feltételezhetjük tehát, hogy ez a nem-fagocita sejtekben található Nox fehérjék működésére is igaz lehet. Az általunk elsőként azonosított Nox4-ről kimutatták, hogy szerepet játszik a tüdőfibrózis kialakulásában és egy, a Nox4-et és Nox1-et gátló gyógyszerjelöltet a közeljövőben fognak kipróbálni a diabéteszes vesekárosodás gyógyításában (forrás: www.genkyotex.com). A Duox-LPO védekező rendszer azonosításának szintén lehet gyakorlati jelentősége. A dolgozatomban korábban említettem, hogy cisztás fibrózisban csökken a légutak antibakteriális aktivitása. A közeljövőben indul egy olyan készítmény kipróbálása, amely részben ennek a védekező rendszernek a stimulálásán keresztül javítaná a CF-es légutak antibakteriális aktivitását (forrás: www.alaxia-pharma.eu).

## 7. Saját közlemények

### 7.1 Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Geiszt M.**, Szeberényi B.J., Káldi K., Ligeti E., Role of different sources of calcium in the regulation of superoxide production of human neutrophil granulocytes. *Free Radical Biology and Medicine* (1999) 26, 1092-1099. **IF: 4.079**
2. **Geiszt M.**, Dagher M.C., Molnár G., Havasi A., Faure J., Paclet M.H., Morel F., Ligeti E. Characterization of Rac GTP-ase activating proteins (Rac-GAP) in human neutrophil granulocytes. *Biochem. J.* (2001) 351, 851-858. **IF: 4.326**
3. **Geiszt M.**, Kapus A., Ligeti E. Chronic granulomatous disease: more than the lack of superoxide? *J. Leukoc. Biol.* (2001) 69, 191-196. **IF: 4.516**

4. **Geiszt M.**, Lekstrom K., Brenner S., Hewitt S.M., Dana, R., Malech H.L., Leto T.L. NAD(P)H oxidase 1, a product of differentiated colon epithelial cells, can partially replace gp91<sup>phox</sup> in the regulated production of superoxide by phagocytes. (2003) *J. Immunol.* 171, 299-306. **IF: 6.702**
5. **Geiszt M.**, Lekstrom K., Witta J., Leto T.L. Proteins homologous to p47<sup>phox</sup> and p67<sup>phox</sup> support superoxide production by NADP(H) oxidase 1 in colon epithelial cells. (2003) *J. Biol. Chem.* 278, 20006-20012 **IF: 6.482**
6. **Geiszt M.**, Lekstrom K., Leto T.L. Analysis of mRNA transcripts from the NAD(P)H oxidase 1 (Nox1) gene. Evidence against production of the NOH-1S transcript variant. (2004) *J. Biol. Chem.* 279, 51661-8 **IF: 6.355**
7. Ueyama T., **Geiszt M.**, Leto T.L. Involvement of Rac1 in activation of multicomponent Nox1- and Nox3-based NADPH oxidases. (2006) *Mol. Cell. Biol.* 26, 2160-74. **IF: 6.773**
8. **Geiszt M.**, Leto T. L. The Nox family of NAD(P)H oxidases: Host defense and beyond. (2004) *J. Biol. Chem.* (2004) 279, 51715-8 **IF: 6.355** (összefoglaló közlemény)
9. **Geiszt M.**, Kopp J.B., Várnai P., Leto TL. Identification of Renox, an NAD(P)H-oxidase in kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2000) 97, 8010-8014. **IF: 10.789**
10. **Geiszt M.**, Witta J., Baffi J., Lekstrom K., Leto T.L. Dual oxidases represent novel hydrogen peroxide sources supporting mucosal surface host defense. (2003) *FASEB J.* 17, 1502-1504. **IF: 7.172**
11. Donkó Á., Péterfi Z., Sum A., Leto T., **Geiszt M.** Dual oxidases (2005) *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci.* 360, 2293-300. **IF: 3.510** (összefoglaló közlemény)
12. **Geiszt M.** NADPH oxidases: new kids on the block. (2006) *Cardiovasc. Res.* 71, 289-99. **IF: 4.997** (összefoglaló közlemény)
13. Donkó A., Ruisanchez E., Orient A., Enyedi B., Kapui R., Péterfi Z., de Deken X., Benyó Z., **Geiszt M.** Urothelial cells produce hydrogen peroxide through the activation of Duox1. *Free Radic. Biol. Med.* (2010) 49, 2040-8. **IF: 5.707**

14. Donkó A., Orient A., Szabó P.T., Németh G., Vántus T., Kéri G., Orfi L., Hunyady L., Buday L., **Geiszt M.** Detection of hydrogen peroxide by lactoperoxidase-mediated dityrosine formation. (2009) *Free. Radic. Res.* 43, 440-5. **IF: 2.215**

15. Péterfi Z., Donkó A., Orient A., Sum A., Prókai A., Molnár B., Veréb Z., Rajnavölgyi E., Kovács K.J., Müller V., Szabó A.J., **Geiszt M.** Peroxidase is secreted and incorporated into the extracellular matrix of myofibroblasts and fibrotic kidney. (2009) *Am. J. Pathol.* 175, 725-35. **IF: 5.673**

## 8.2 Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények

1. Mócsai A., Bánfi B., Kapus A., Farkas Gy., **Geiszt M.**, Buday L., Faragó A., Ligeti E. Differential effects of two tyrosine kinase inhibitors and an inhibitor of the mitogen-activated protein kinase cascade on degranulation and superoxide production of human neutrophil granulocytes *Biochem. Pharmacol.* (1997) 54, 781-789. **IF: 2.443**

2. Ligeti E., **Geiszt M.** Medical Importance of small GTP-binding proteins (Hungarian) *Orvosi Hetilap* (1999) 140, 2385-2391. **IF: -**

3. Molnár G., Dagher M. C., **Geiszt M.**, Settleman J., Ligeti E. Role of prenylation in the interaction of Rho-family small GTPases with GTPase activating proteins. *Biochemistry* (2001) 40, 10542-10549. **IF: 4.114**

4. Káldi K., Szeberényi J., Rada B.K., Kovács P., **Geiszt M.**, Mócsai A., Ligeti E. Contribution of phospholipase D and a brefeldin A sensitive ARF to chemoattractant induced superoxide production and secretion of human neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* (2002) 71, 695-700. **IF: 4.132**

5. Rada B.K., Geiszt M., Van Bruggen R., Német K., Roos D., Ligeti E. Calcium signalling is altered in myeloid cells with a deficiency in NADPH oxidase activity. *Clin. Exp. Immunol.* (2003) 132, 53-60. **IF: 2.347**

6. Rada B.K., **Geiszt M.**, Káldi K., Timár C., Ligeti E. Dual role of phagocytic NADPH oxidase in bacterial killing. (2004) *Blood* 104, 2947-53. **IF: 9.782**

7. Rada B.K., **Geiszt M.**, Hably C., Ligeti E. Consequences of the electrogenic function of the phagocytic NADPH oxidase (2005) *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci.* 360, 2293-300. **IF: 4.997** (összefoglaló közlemény)

8. Sirokmány G., Szidonya L., Káldi K., Gáborik Z., Ligeti E., **Geiszt M.** Sec14 homology domain targets p50RhoGAP to endosomes and provides a link between Rab and Rho GTPases. (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 6096-105. **IF: 5.808**

9. Leto TL, **Geiszt M.** Role of nox family NADPH oxidases in host defense. (2006) *Antioxid. Redox. Signal.* 8(9-10), 1549-61. **IF: 4.232** (összefoglaló közlemény)

10. Orient A., Donkó A., Szabó A., Leto TL., **Geiszt M.** Novel sources of reactive oxygen species in the human body. (2007) *Nephrol Dial. Transplant.* 22, 1281-8. **IF: 3.167** (összefoglaló közlemény)

11. Enyedi B, Várnai P, Geiszt M. Redox state of the endoplasmic reticulum is controlled by Ero1L-alpha and intraluminal calcium. (2010) *Antioxid. Redox. Signal.* 13, 721-9. **IF: 8.209**

12. Borbély G., Szabadkai I., Horváth Z., Markó P., Varga Z., Breza N., Baska F., Vántus T., Huszár M., Geiszt M., Hunyady L., Buday L., Órfi L., Kéri G. Small-Molecule Inhibitors of NADPH Oxidase 4. (2010) *J. Med. Chem.* 53, 6758-62 **IF: 5.207**

13. Petheo G.L., Orient A., Baráth M., Kovács I., Réthi B., Lányi A., Rajki A., Rajnavölgyi E., **Geiszt M.** Molecular and functional characterization of Hv1 proton channel in human granulocytes. *PLoS One.* (2010) 5, e14081. **IF: 4.411**