

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**AZ INTRACELLULÁRIS XIII-AS VÉRALVADÁSI FAKTOR A ALEGYSÉG
SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A MONOCITA/MAKROFÁGOK
FAGOCITÓZISÁBAN**

SÁRVÁRY ATTILA

**DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
NÉPEGÉSZSÉGÜGYI ISKOLA
MEGELŐZŐ ORVOSTANI INTÉZET
DEBRECEN, 2004.**

**AZ INTRACELLULÁRIS XIII-AS VÉRALVADÁSI FAKTOR A ALEGYSÉG
SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A MONOCITA/MAKROFÁGOK
FAGOCITÓZISÁBAN**

Sárváry Attila

**Témavezető:
Prof. Dr. Ádány Róza**

**DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
NÉPEGÉSZSÉGÜGYI ISKOLA
MEGELŐZŐ ORVOSTANI INTÉZET
DEBRECEN, 2004.**

1. BEVEZETÉS

1.1. A XIII-as faktor szerepe a véralvadásban

A XIII-as faktor (FXIII) szerepe a véralvadásban több évtizede jól ismert. A FXIII heterotetramerként kering a vérben, amelyet a két globuláris A alegység (FXIII-A) és az azt körülvevő két egyenes B alegység (FXIII-B) alkot. A FXIII proteolitikus úton, trombin hatására aktiválódik, a folyamatot elsősorban a Ca^{2+} és a fibrin(ogén) szabályozza. A FXIII aktív formája (FXIIIa) transzglutaminázként $\epsilon(\gamma\text{-glutamyl})\text{lysyl}$ keresztkötéseket hoz létre a fibrinmonomerek között, amivel a véralvadási kaszkád révén létrejött fibrinhálót stabilizálja. Ismert az is, hogy a FXIIIa a fibrinolízis fő inhibitorát, az α_2 -plazmin inhibitorát az α -fibrinlánc polimerekhez köti kovalensen, ami megvédi a fibrint a gyors fibrinolitikus degradációtól. A FXIII-B alegysége az emberi szervezetben, a májsejtekben szintetizálódik, míg az A alegységet nagyrészt a megakariociták/trombociták és a monociták/makrofágok, illetve kis mértékben a májsejtek termelik. Néhány évvel ezelőtt bizonyították, hogy a kondrociták is képesek a FXIII-A szintézisére.

1.2. A XIII-as faktor véralvadási folyamaton kívüli szerepe

Az elmúlt három évtizedben nyilvánvalóvá vált, hogy a FXIII szerepe nem korlátozódik kizárólag a véralvadás területére. Mind klinikai megfigyelések, mind kísérleti eredmények bizonyítják, hogy a FXIII szerepet játszik a sebgyógyulásban és a terhesség fenntartásában is. Noha már évtizedekkel ezelőtt kimutatták a FXIII-A-t a trombocitákban és több, mint 15 évvel ezelőtt a monocita/makrofág sejtvonalban, a FXIII-A intracelluláris szerepéről keveset tudunk. Kísérleti és klinikai eredmények alapján valószínűsíthető, hogy a megakariociták, monociták és makrofágok nem tekinthetők pusztán a plazma FXIII-A szintézis helyének és a FXIII A alegységének intracelluláris funkciói is vannak:

- a.) A FXIII-A jelen van a monocita/makrofág sejtvonalban a csontvelői fejlődésük legkorábbi szakaszától a keringésben levő monocitákon keresztül a szövetekbe és szerózus testüregekbe vándorolt, makrofággá differenciálódott sejtekben.
- b.) A FXIII-A nem rendelkezik szignál szekvenciával és amikor tenyésztett újszülött hörcsög vesesejtekkel expresszáltatták, nem jelent meg a tápfolyadékban, ami arra

utal, hogy a FXIII-A csak a sejtek szétesése vagy membránjuk károsodása esetén juthat ki a sejtekből.

- c.) A makrofágokban a FXIII-A jellegzetes citoplazmatikus eloszlást mutat; elsősorban a citoplazmatikus vakuolumok körül és a pszeudopodiumokban figyelhető meg, de a fagocitotikus vakuolumokban nem lehet kimutatni. Immunelektronmikroszkópos vizsgálatok kimutatták, hogy a FXIII-A a mikrofilamentumok mentén található a sejtekben, de sohasem detektálható a szekretoros vezikulumokban.
- d.) A fontosabb citoszkeletális proteinek (miozin, aktin, vinkulin) a FXIII-A szubsztrátjai.

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a FXIII-A a monocita/makrofág sejtvonalban aktiválható és bizonyos intracelluláris funkciója(i) van(nak), celluláris transzglutaminázként részt vehet a citoszkeleton átrendeződésével jellemezhető folyamatokban. Mivel a fagocitózis folyamatában a citoszkeleton átrendeződése az egyik legmarkánsabb jelenség, munkánk során olyan kísérleteket végeztünk, melyek hozzájárulhatnak a FXIII-A monocita/makrofágok fagocitózisában játszott szerepének tisztázásához.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során célul tűztük ki a FXIII-A lehetséges intracelluláris szerepének tisztázását a monocita/makrofág sejtvonalban.

Az alábbi kérdéseket kívántuk tanulmányozni:

A monocita/makrofág differenciáció során vizsgáltuk, hogy:

- ◆ hogyan változik a FXIII-A mRNS expressziója és a fehérje termék produkciója?
- ◆ hogyan változik az Fc γ és komplement receptor által mediált fagocitózis mértéke?
- ◆ megfigyelhető-e valamilyen összefüggés a monocita/makrofágok fagocitózis mértékének változása és a FXIII-A expressziójának változása között?
- ◆ a FXIII-A által katalizált reakció gátlásával *in vitro* gátolható-e a monociták/makrofágok fagocitózisa?

Faktor XIII deficiens betegekből izolált monocita preparátumokon vizsgáltuk, hogy:

- ◆ ki lehet-e mutatni FXIII deficiens betegek monocitáin a fagocitózis csökkenését?
- ◆ a FXIII-A a partikulumok kötődésében vagy internalizációjában játszik-e szerepet?

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Monociták szeparálása és tenyésztése

A monocitákat egészséges donoroktól származó trombocitamentes buffy coatból izoláltuk elutriációs centrifugálással és a sejteket 10%-os inaktivált human AB savóval komplettált RPMI 1640 médiumban 4 napig tenyésztettük.

3.2. XIII-as faktor deficiens betegek

A vizsgálatban tizenhárom FXIII-A deficiens beteg vett részt. Hárman (nők) Lengyelországból, egy férfi Németországból és kilencen (5 férfi, 4 nő) Izraelből. A német és az izraeli betegek esetében azonosították azokat a FXIII-A génben levő mutációkat, amelyek a FXIII deficienciát okozták.

3.3. Monociták szeparálása a FXIII deficiens betegekből és a kontrollokból

A FXIII-A deficiens betegek és egészséges kontroll egyének (n=21) heparinnal alvadásgátolt véréből a mononukleáris sejteket Ficoll gradiens centrifugálással szeparáltuk. A mononukleáris sejszuspenzióból a monocitákat üveglemezre való kitapasztással választottuk el. Mind a betegek, mind a kontrollok beleegyezésüket adták a vizsgálatok elvégzéséhez.

3.4. IgG-vel szenzitizált vörösvértestek kötődésének és fagocitózisának vizsgálata

Az ún. vörösvértest antitest (EA) Fc γ receptoron keresztüli kötődésének és fagocitózisának vizsgálatát nyúlszérumból izolált IgG-vel szenzitizált birka vvt-vel végeztük. A betegekből és kontrollokból szeparált mononukleáris sejteket üveglemezre tapasztottuk ki és EA-val inkubáltuk. Meghatároztuk az ún. uptake indexet (UI), amely a sejt felszínéhez kötődött és a sejt által fagocitált partikulumok egy sejtre vonatkoztatott átlagos számát jelenti. A sejt felszínéhez kötődött szenzitizált vvt-k hipotóniás lízise után a sejt által fagocitált partikulumok átlagos számát a fagocitózis index-el fejeztük ki (PI). Az uptake index és a fagocitózis index különbsége adja a kötődési (binding) indexet (BI): $BI=UI-PI$.

3.5. Az élesztő partikulumok kötődésének és fagocitózisának vizsgálata

Az élesztő gombákat (*Saccharomyces cerevisiae*) IgG és fibronectin mentes humán AB szérummal kezeltük. A betegekből és a kontrollokból szeparált mononukleáris sejteket üveglemezre tapasztottuk ki és komplementtel opsonizált és nem opsonizált, fluorescein isotiocianáttal (FITC) konjugált élesztőpartikulumokkal inkubáltuk. A partikulumok kötődését és fagocitózisát fluoreszcens kioltásos módszerrel határoztuk meg. Tripánkék festés után, - amely teljesen kioltja a sejtek felszínéhez kötődött élesztőpartikulumok fluoreszcenciáját - számoltuk ki a fagocitózis indexet. A kötődési indexet az uptake index és a fagocitózis index különbségeként határoztuk meg.

3.6. A fagocitózis gátlása

A monocita/makrofágok Fc γ és komplement receptoron keresztül történő fagocitózisát monodanzilkadaverin (MDC) inkubációt követően is megvizsgáltuk. Az MDC a transzglutaminázok által katalizált keresztkötések kialakulását gátló vegyület. A monocita/makrofág sejtenyészetből származó sejteket MDC-t tartalmazó tápfolyadékban inkubáltuk, majd a fagocitózist a 3.4. és a 3.5. pontban ismertetett módon vizsgáltuk. Kontrollként az MDC-vel nem kezelt sejt kultúrák szolgáltak.

3.7. A FXIII-A immunfluoreszcens jelölése és a preparátumok image analízise

A monocita/makrofág sejtenyészetből naponta elkülönített szuszpenzió aliquotokból citospin preparátumokat készítettünk. A preparátumokat paraformaldehiddel fixáltuk. A FXIII-A-t indirekt immunfluoreszcens reakcióval poliklonális nyúl anti-FXIII-A, biotinnal jelölt anti-nyúl IgG és FITC-streptavidin felhasználásával detektáltuk. A FXIII-A relatív mennyiségét Axioplan típusú fluoreszcens mikroszkóphoz (Zeiss, Oberkochen, Germany) kapcsolt Charged-Coupled Device (CCD) kamera (IMAC-CCD, Sony, Japan) és képanalizáló szoftver (ISIS, Metasystems, Germany) segítségével sejtszinten mértük az általunk kidolgozott és publikált módszerrel.

3.8. A FXIII-A mRNS expresszió változása a tenyésztés során

A FXIII-A mRNS expressziójának meghatározására kvantitatív reverz-transzkriptáz polimeráz láncreakciót használtunk (QRT-PCR). A sejtekből a High Pure RNA Isolation Kit (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) segítségével totál RNS-t izoláltunk. Kétlépeses kvantitatív reverz-transzkriptáz PCR reakciót alkalmaztunk. Az első lépésben minden mintából azonos mennyiségű RNS-t írtunk át cDNS-re, majd ezt FXIII-A specifikus primerekkel és probe-bal ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, USA) készüléken amplifikáltuk. Egyszerre 3 párhuzamos minta fluoreszcencia intenzitás változását mértük. Belső kontrollként a 18S rRNS-t használtuk.

3.9. SDS-PAGE elektroforézis és Western blot analízis

A monocita/makrofág tenyészetből e célra naponta kivett mintákban desztillált vizes feltárás után a citoszolban meghatároztuk a fehérjekoncentrációt. Denaturált rekombináns FXIII-A-t, minden mintából azonos mennyiségű fehérjét és nagy molekulásúlyú, illetve biotinált molekulásúly standardot vittünk fel nátrium-dodecil-szulfát (SDS) poliakrilamid géltre, majd elvégeztük az elektroforézist (Hoefler SE 600, Pharmacia Biotech, San Francisco, USA). A fehérjéket a gélen Coomassie blue festéssel tettük láthatóvá. Ezután a fehérjéket nitrocellulóz membránra blottoltuk át (Hoefler TE 50X, Pharmacia Biotech, San Francisco, USA). A nitrocellulóz membránt blokkolás után FXIII-A ellenes antitesttel inkubáltuk, majd biotinált nyúl IgG, avidin-biotinált peroxidáz komplex felhasználásával jelöltük és diaminobenzidin tetrahidrokloriddal (ABC/DAB) tettük láthatóvá.

3.10. Statisztikai analízis

Az egészséges kontrollok és a FXIII deficiens betegek monocitáin végzett mérések eredményeit a Student féle t-tesztel hasonlítottuk össze. A különbséget akkor tekintettük statisztikailag szignifikánsnak, ha a $P < 0,05$. A kvantitatív RT-PCR eredményeit statisztikailag az ún. komparatív threshold cycle (Ct) módszerrel értékeltük ki. A minták RNS tartalmának normalizálásához a 18S rRNS-t használtuk, mint belső kontrollt és a FXIII-A első nap mért mRNS expresszióját tekintettük az eredmények összevetésekor viszonyítási alapnak. Átlag és a $2^{-\Delta\Delta Ct \pm SD}$ értékeket határoztuk meg.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A monocita/makrofágok Fc γ és CR mediált fagocitózisának változása és gátlása a tenyésztés során

A buffy coatból elutriációs centrifugálással nyert monocitákat 4 napig tenyésztettük és minden nap meghatároztuk a sejtek Fc γ és CR mediált fagocitózisát a FXIII-A által katalizált keresztkötések kialakulását gátló MDC jelenlétében és anélkül. A sejtek fagocitózis aktivitása fokozatosan növekedve a 3. napon érte el a maximumát mind az Fc γ , mind pedig a CR mediált fagocitózis esetében. MDC jelenlétében mindkét úton történő fagocitózis nagymértékben gátlódott: az Fc γ receptor által mediált 55-70%-kal, a CR által közvetített 20-70%-kal.

4.2. A FXIII-A fehérje expressziójának sejtszinten történő változása a tenyésztés során

A FXIII-A expressziójának sejtszinten történő követéséhez az immunfluoreszcensen jelölt preparátumok mikroszkópos és számítógépes képanalízisét végeztük el. A tenyésztés első napján a kis fluoreszcencia intenzitású sejtek domináltak, majd a 2. napon jelentős eltolódás következett be a nagyobb intenzitású sejttartomány felé, majd a 3. napon a nagyobb fluoreszcencia intenzitást mutató sejtek aránya tovább fokozódott. A negyedik napon mért fluoreszcencia intenzitás megoszlása hasonló volt a harmadik napon észlelthez.

4.3. A FXIII deficiens betegekből izolált monociták fagocitafunkcióinak vizsgálata

Egyrészt vizsgáltuk a FXIII-A deficiens betegek monocitáinak EA kötését és fagocitózisát, másrészt a nem opszonizált és opszonizált élesztő partikulumok fagocitózisát. A betegek monocitáinak EA kötése alacsonyabb volt, mint a kontrolloké, a változás azonban nem volt szignifikáns, a betegekből izolált monociták Fc γ receptoron történő fagocitózisa viszont szignifikánsan alacsonyabb volt a kontrollok átlagához képest. Ugyancsak szignifikánsan alacsonyabbnak adódott a FXIII-A deficiens betegek lektin-szerű és komplement receptoron keresztül történő fagocitózisa is.

4.4. A FXIII-A mRNS expressziója a monocita/makrofág differenciáció során

A FXIII-A mRNS mennyiségi változásának vizsgálatára kvantitatív RT-PCR reakciót alkalmaztunk. A FXIII-A mRNS expressziója gyorsan növekedett a sejtekben a tenyésztés során és a legmagasabb szintet a 3. napon érte el. A FXIII-A mRNS expressziójának mértéke a 3. napon több, mint 70 szerez volt az első napi értékhez képest.

4.5. A monocita/makrofágok Western immunoblot analízise

A protein szintézis képanalízissel tapasztalt változásának megerősítésére az elektroforézissel szeparált fehérjék Western immunoblot analízisét végeztük el. A FXIII-A fehérje szintézise az első naptól kezdve a 2. és a 3. napig folyamatosan emelkedett, majd a 4. napon nagymértékben csökkent.

5. MEGBESZÉLÉS

A keringésben lévő monociták a mononukleáris fagocita rendszer tagjai, melyek a csontvelői prekurzor sejtekből differenciálódnak, majd a keringésből a szövetekbe és a különböző testüregekbe jutva makrofágokká differenciálódnak. A monociták *in vitro* történő makrofággá érése sejt kultúrákban jól modellezi az *in vivo* lejátszódó folyamatot. A FXIII-ról kimutatták, hogy több sejt típus is képes szintetizálni, többek között a monociták/makrofágok is. Bár a véralvadásban nélkülözhetetlen szerepet játszó FXIII a trombin, illetve a Ca^{2+} ionok hatására aktiválódik, a FXIII nem proteolitikus aktivációját is leírták. A FXIII-nak a citoskeletális átrendeződésben szerepet játszó fehérjék - az aktin, miozin, vinkulin – szubsztrátjai. Egy nem fagocitáló és immunhisztokémiai detektálás során FXIII-A negatív mielomonocitás (DD) sejtvonalról kimutatták, hogy forbol-észter aktivációval helyreállítható a fagocitáló képessége, és ezzel párhuzamosan a FXIII-A szintézise is észlelhetővé vált. Ezekből a kísérleti eredményekből feltételezhető, hogy az intracelluláris FXIII olyan folyamatokban játszhat szerepet a sejtben, amelyek a citoskeletális átrendeződéshez kapcsolódnak, így többek között a fagocitózisban. Eddig sem a FXIII-A szintézisének változását nem vizsgálták a monocita/makrofág differenciáció során, sem a sejtek FXIII-A tartalma és fagocitózisa közötti kapcsolatot.

Eredményeink szerint a FXIII-A szintézise fokozódik sejtszinten a monocita/makrofág differenciáció során. A FXIII-A-hoz kapcsolható fluoreszcencia intenzitás 10-szer nagyobb volt a 3. napos sejtek domináns szubpopulációjában, mint a tenyésztés első napján észlelt, az egész sejtpopulációt jellemző mérték. A kvantitatív RT-PCR eredménye szerint a 3. napon a FXIII gén expressziója több, mint 70 szerese volt az első nap mért értéknek. Ez az eredmény összhangban áll a Western immunoblot analízis eredményével, ami a FXIII-A protein párhuzamos változását jelezte. A FXIII-A szintézisével párhuzamosan változott a sejtek Fc γ és komplement receptor mediált fagocitózisa. A fagocitózis és a FXIII-A szintézis párhuzamos változása felveti annak a lehetőségét, hogy a két folyamat kapcsolatban van egymással és ezt a feltételezést a következő kísérletekkel támasztottuk alá:

1. Az MDC, amely a FXIII-A által katalizált keresztkötések kialakulását gátolja, nagymértékben csökkentette a monocita/makrofágok fagocitózist.
2. A FXIII deficiens betegek monocitáinak - akiknek monocitáiból hiányzik a FXIII-A és nincs detektálható transzglutamináz aktivitásuk - Fc γ receptor, komplement receptor és lektin-szerű receptor mediált fagocitózisa szignifikánsan alacsonyabb volt a kontrollokéhoz képest.

Az a tény, hogy mind az Fc γ , mind a komplement receptor mediált fagocitózis majdnem teljesen párhuzamosan változott a FXIII-A expressziójával és mindkettő nagymértékben csökkent a FXIII deficiens betegek monocitáiban, illetve MDC jelenlétében a normál monocitákban/makrofágokban azt feltételezi, hogy a FXIII-A a fagocitózis folyamatának egy közös pontján fejt ki hatását. Ezzel ellentétben a transzglutamináz aktivitás gátlása nem csökkentette az EA és a komplementtel opsonizált partikulumok kötését és nem volt szignifikáns különbség a kontrollok és a FXIII deficiens betegek monocitáinak EA kötése között. Ez azt mutatja, hogy a csökkent Fc γ receptor mediált fagocitózis valószínűleg nem a betegek monocitáinak csökkent kötési kapacitásának, hanem a megkötött partikulumok csökkent internalizációjának tulajdonítható. A ligandok monocita/makrofágok felszínéhez való kötődését követően receptor-klaszterképződés jön létre, ami többszörös kötődést tesz lehetővé a felszínhez. Ez a jelenség a citoszkeleton átrendeződésén alapul, mely lehetővé teszi a komplement és az Fc γ receptorok cappingjét vagy akár közös cappingjét és következményes endocitózist. Az Fc γ receptor mediált fagocitózis egy bonyolult jelátviteli folyamaton keresztül az aktin polimerizációjához vezet. A citoszkeleton átrendeződés a komplement receptor mediált fagocitózisnak is esszenciális része.

Biokémiai kísérletek bizonyították, hogy a citoszkeletális proteinek – a miozin, az aktin és a vinkulin – szubsztrátjai lehetnek a FXIII-A-nak és egy előző immunelektronmikroszkópos tanulmányban kimutatták, hogy a FXIII-A szoros asszociációt mutat a mikrofilamentumokkal a sejtekben.

Eredményeink azt mutatják, hogy a FXIII-A szerepet játszhat a monocita/makrofágok receptor mediált fagocitózisában. További vizsgálatok szükségesek azonban annak tisztázására, hogy a FXIII-A pontosan milyen szinten, hol játszik szerepet a citoszkeleton átrendeződésében vagy a fagocitózis folyamatának más lépésében.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során a monocita/makrofág sejtekben szintetizálódó transzglutamináz, a faktor XIII-A lehetséges intracelluláris funkcióját kívántuk vizsgálni. Irodalmi adatok alapján feltételeztük, hogy a FXIII-A-nak a monocita/makrofágokban szerepe lehet olyan intracelluláris folyamatokban, mint a citoszkeleton átrendeződése, mely a legkarakterisztikusabban a fagocitózisban nyilvánul meg. A vizsgálatainkat egyrészt egészséges donorokból izolált monociták sejtenyészetén, másrészt faktor XIII deficiens betegek monocitáin végeztük.

1. Megállapítottuk, hogy mind az Fc γ , mind a komplement receptor mediált fagocitózis növekedett a monociták makrofággá differenciálódását lehetővé tevő tenyésztés során és a 3. napon érte el a csúcspontját. A sejtek fagocitózisa jelentős mértékben gátolható monodanzilkadaverinnel, amely a transzglutaminázok által katalizált keresztkötések gátlószere.
2. A FXIII-A deficiens betegek monocitáinak Fc γ , komplement és lektin-szerű receptorokon keresztüli fagocitózisa szignifikáns csökkenést mutatott az egészséges kontrollok átlagértékeihez képest.
3. A tenyésztett monociták/makrofágok fagocitózisa a FXIII-A mRNS expressziójával és protein szintézisével párhuzamos változást mutatott.
4. Eredményeink szerint a FXIII-A szerepet játszhat a monociták/makrofágok Fc γ és komplement receptor mediált fagocitózisában.

Eredményeink hozzájárulnak a FXIII-A intracelluláris szerepének jobb megértéséhez, azonban további vizsgálatok szükségesek annak tisztázásához, hogy a FXIII-A pontosan milyen szinten, hol játszik szerepet a citoszkeleton átrendeződésében vagy a fagocitózis folyamatának más lépéseiben.

7. KÖZLEMÉNYEK

Az értekezésben felhasznált közlemények

Sárváry A, Szűcs S, Balogh I, Becsky Á, Bárdos H, Kávai M, Ádány R, Seligsohn U, Egbring R, Lopaciuk S, Muszbek L: Possible role of factor XIII subunit A in Fcγ and complement receptor mediated phagocytosis. *Cell Immunol*, 228: 81-90 (2004).

IF: 1,829

Szűcs S, Vámosi Gy, Póka R, Sárváry A, Bárdos H, Balázs M, Kappelmayer J, Tóth L, Szöllősi J, Ádány R: Single-cell measurement of superoxide anion and hydrogen peroxide production by human neutrophils with digital imaging fluorescence microscopy. *Cytometry*, 33: 19-31 (1998).

IF: 2,317

Ádány R, Bárdos H, Antal M, Módis L, Sárváry A, Szűcs S, Balogh I: Factor XIII of blood coagulation as a nuclear crosslinking enzyme. *Thromb Haemost*, 85: 845-51 (2001).

IF: 4,910

Egyéb közlemények

Tóth L, Pásti G, Sárváry A, Balázs M, Ádány R: Effect of tumor conditioned medium on intercellular communication and proliferation of Balb/c 3T3 cells. *Cancer Letts*, 151: 57-61 (2000).

IF: 1,517

Szűcs S, Tóth L, Legoza J, Sárváry A, Ádány R: Simultaneous determinations of styrene, toluene, and xylene metabolites in urine by gas chromatography/mass spectrometry. *Arch Toxicol*, 76: 560-569 (2002).

IF: 1,852

Szűcs S, **Sárváry A**, McKee M, Ádány R: Could the high level of cirrhosis in Central and Eastern Europe be partly due to the quality of alcohol consumed? An exploratory investigation. *Addiction*, in press.

IF: 3,241

Szűcs S, **Sárváry A**, Cain T, Ádány R: Method validation for the simultaneous determination of faecal sterols in surface waters by gas chromatography/mass spectrometry (közlésre elküldve)

Idézhető absztrakt

Szűcs S, Vámosi Gy, Póka R, **Sárváry A**, Bárdos H, Balázs M, Kappelmayer J, Tóth L, Szöllösi J, Ádány R: Single-cell measurement of granulocyte respiratory burst with digital imaging fluorescence microscopy. *Br J Haematol*, 102., 58, 1998. (abstract).

Egyéb előadások, poszterek

3rd Meeting of ETRO Working Party on Factor XIII, Eger, 1997. május 28-31. **Sárváry A.**, Bárdos H., Balogh I., Ádány R. Measurement of the expression of factor XIII subunit A gene at single cell level with the combination of in situ RT-PCR and image analysis technique. (*előadás*)

Népegészségügyi Tudományos Társaság XI. Nagygyűlése, Nyíregyháza, 2002. április 11-13. **Sárváry A.**, Vargáné Hajdú P., Kardos L., Kériné Fülöp I., Ádány R.: Budapest és a budapesti agglomeráció lakosságának halálozási viszonyai, 1994-1999 (*előadás*)

Népegészségügyi Tudományos Társaság XI. Nagygyűlése, Nyíregyháza, 2002. április 11-13. Szűcs S., Tóth L., **Sárváry A.**, Ádány R.: Házi főzésű és kereskedelmi forgalomban kapható tömény szeszes italok mennyiségi és minőségi összetételének analízise gázkromatográf/tömegspektrometriás módszerrel (*előadás*)

Népegészségügyi Tudományos Társaság XIII. Nagygyűlése, Szekszárd, 2004. május 6-8. Szűcs S., **Sárváry A.**, Ádány R.: Felszíni vizek fekális szennyezettségének vizsgálata szterol biomarkerek GC/MS analízisével (*poszter*)