

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Oxidatív stressz és poli-ADP-riboziláció a normál bőrben és a  
sebgyógyulás folyamatában**

Dr. Bodnár Edina

Témavezető: Dr. Szabó Éva



DEBRECENI EGYETEM

MOLEKULÁRIS ORVOSTUDOMÁNY DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2023

# **Oxidatív stressz és poli-ADP-riboziláció a normál bőrben és a sebgyógyulás folyamatában**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében

a Elméleti Orvostudományok tudományágban

Írta: **Dr. Bodnár Edina**

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudomány doktori iskolája  
("Jelátviteli folyamatok sejt- és molekuláris biológiája" doktori programja) keretében

Témavezető: Dr. Szabó Éva

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr. Szekanecz Zoltán, MTA doktora

tagok: Dr. Hidvégi Bernadett, PhD

Dr. Lekli István, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, ÉTK 3.009-010

2024. 02.16. 11:00 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Szolnoky Győző, PhD

Dr. Szántó Magdolna, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Dr. Szekanecz Zoltán, MTA doktora

tagok: Dr. Hidvégi Bernadett, PhD

Dr. Lekli István, PhD

Dr. Szolnoky Győző, PhD

Dr. Szántó Magdolna, PhD

Az értekezés védésének időpontja: DE ÁOK Belgyógyászati Intézet A épület tanterme

2024. 02. 16. 13:00 óra

## BEVEZETÉS

### Oxidatív stressz, antioxidáns rendszerek

Az oxidatív stressz kutatása napjainkban reneszánszát éli. Vizsgálati eredmények sora bizonyítja szerepét számos betegségben. Az oxidatív stressz által indukált PARP aktiváció szintén számos pathofiziológiai folyamatban szerepet játszik. Az oxidatív stressz a szervezetben zajló oxidációs folyamatok és ezek megakadályozását végző ún. antioxidáns rendszerek közötti egyensúly felborulása az előbbiekre javára. Oxidatív stresszt a fokozott szabadgyök termelés mellett, a csökkent lebontás, azaz az antioxidáns rendszerek kóros működése is okozhat.

Szabadgyökök a sejtekben fiziológiai körülmények között (endogén oxidánsok) és külső, toxikus hatásra (exogén oxidánsok) is keletkezhetnek. A gyökök nem csak károsak lehetnek, hanem bizonyos folyamatokban nélkülözhetetlenek. A szervezet ezért nem a szabadgyökök teljes eliminálására törekszik, hanem a megfelelő pro- és antioxidáns egyensúly fenntartására. Az **endogén oxidánsok** közül kiemelendők a ROS-ok, melyek fiziológiai folyamatokban vesznek részt, fontos szerepet játszanak a sejtek jelátvitelében és homeosztázisában, illetve a kórokozók elleni nem specifikus védelemben, de nagy mennyiségben termelődnek gyulladásban is. A legismertebb ROS a szuperoxid ( $O_2^{\bullet-}$ ) és a hidroxil gyök ( $\bullet OH$ ), a hidrogén-peroxid ( $H_2O_2$ ). A legismertebb reaktív nitrogén származékok (**RNS**) a nitrogén monoxid ( $NO^{\bullet}$ ), és a peroxinitrit ( $ONOO^-$ ). A nitrogén monoxid ( $NO^{\bullet}$ ) fontos celluláris jelátviteli molekula, de alapvető szerepe van a neurológiai, fiziológiai és immunológiai folyamatokban, a keringés szabályozásban. Gyulladásos folyamatok során a túlermelődött szuperoxid anion és  $NO$  reakciójából nagy reakcióképességű *peroxinitrit* ( $ONOO^-$ ) keletkezik, mely makromolekulákat károsíthat, DNS töréseket hoz létre, illetve jelátviteli útvonalak működését befolyásolja. A tirozin nitrálása révén létrejött nitrotirozin, az *in vivo* termelődő peroxinitrit jelenléte utal. Az endogén oxidánsok mellett számos külső, toxikus tényező indíthat be vagy fokozhat oxidatív folyamatokat (**exogén oxidánsok**). Ezek közül kiemelhető az UV-sugárzás, légszennyeződés (cigarettafüst), ionizáló sugárzások.

A szervezetben fiziológiai körülmények között termelődő oxidatív molekulák egyensúlyban tartása érdekében a szervezet sajátos védelmi, eltakarító, ún. **antioxidáns rendszert** hozott létre. Az antioxidáns védelemnek három szintjét ismerjük. Az első szintet az antioxidáns enzimek képviselik, melyek segítik a gyök-kioltó reakciókat vagy maguk is képesek a ROS semlegesítésére, a másodikat a kis molekulású antioxidánsok, melyek a már

beindult szabadgyökös láncreakciókat állítják le (pl. aszkorbinsav, glutation). Az antioxidáns védekező rendszer harmadik vonala a már kialakult sérülések eltávolítása, a hibás részek kijavítása (pl.: DNS-repair enzimek, hősokk fehérjék, chaperonok).

Ma már szinte nincs olyan betegség, állapot, amelynek patomechanizmusában a szabadgyökök károsító hatását ne mutatták volna ki, szerepe van pl. arteriosclerosisban, ischaemia/reperfúzió okozta károsodásban, gyulladásokban, daganatokban, diabéteszeben. A szabadgyökök in vitro direkt vizsgálata a szövetekben, sejtekben és testfolyadékokban igen rövid féléletidejük miatt nehézkes és igen költséges (elektron spin rezonancia, kemilumineszcencia), ezért rutin célból inkább a szabadgyökökkel történő reakció során átalakult stabilabb molekulák, megváltozott szerkezetű fehérjék, lipidek, DNS, vagy stabil metabolitjaik (nitrát, nitrit) kimutatása történik. Az oxidatív stresszt vizsgálhatjuk az antioxidáns rendszer elemeinek kimutatásával, mérésével is.

### **Poli-ADP-riboziláció**

Mára már a legtöbb betegségben jól ismert a reaktív oxigén és nitrogén tartalmú intermedierek pathogenetikai szerepe. A ROS/RNS indukálta szövetkárosodási útvonal egy késői lépése a poli(ADP-ribóz) (PAR) metabolizmus fokozódása, mely így klinikai beavatkozásra alkalmas széles terápiás ablakot biztosít. A poli-ADP-riboziláció egy összetett regulációs mechanizmus. A poli(ADP-ribóz) a sejtmag egyik legnagyobb mennyiségben megtalálható fehérjéje. A poli-ADP-riboziláció során a poli(ADP-ribóz) polimerázok (PARP) a NAD<sup>+</sup>-ot nikotinamidra és ADP-ribózra hasítják, majd ezekből hosszú, elágazó (ADP-ribóz)<sub>n</sub> polimereket szintetizálnak megfelelő akceptor fehérjék glutamát oldalláncához kapcsolva. A PAR polimerek lebontását a poli(ADP-ribóz) glikohidroláz (PARG) és az ADP ribozil protein liáz végzi.

#### *Poli-ADP-riboziláció biológiai szerepe*

Miután a PARP-1 nagy mennyiségben megtalálható a sejtmagban, DNS károsodás hatására azonnal, nagy mennyiségben tud aktiválódni. A PARP-1 elsődleges feladata a genom integritásának fenntartása, a DNS károsodások kijavítása. Fiziológias állapotokban a poli-ADP-riboziláció, illetve a PARP-1 más fehérjékkel való interakciója befolyásolja a kromatin szerkezetet, szerepet játszik a DNS repairben, a genom organizációban és a genom stabilitás megőrzésében, a replikáció, transzkripció, proliferáció, differenciálódás, az anyagcsere és a

sejthalál szabályozásában (nekrózis/apoptózis) is. PARP gátlása során károsodik a bázis kivágásos hibajavítás (base excision repair - BER), melynek feladata a mutagén bázisok kivágása és cseréje. A poli(ADP-ribóz) metabolizmust gátló beavatkozásokkal, a PARP enzim gátlásával (pl. nikotinamid, benzamid, 3-aminobenzamid), illetve PARP gén hiányos állatmodellek vizsgálatával kimutatták, hogy a PARP túlműködése számos oxidatív stressz mediálta kórfolyamatban vesz részt, így PARP gátlók hatékony terápiát jelenthetnek ezen patológiás állapotokban.

#### *Poli-ADP-ribosiláció a bőrben*

Elsőként Hinshaw és mtsai bizonyították, hogy a bőrben is történik PARP aktiváció kénmustár (egy citotoxikus, DNS károsító anyag) hatására. Később Farkas és mtsai a PARP aktiváció szerepét írták le UV expozíció által kiváltott égésben. Szabó és munkatársai HaCaT sejteken vizsgálták a peroxinitrit citotoxikus hatását, illetve a késői típusú kontakt hiperszenzitivitásban a peroxinitrit- DNS károsodás - PARP aktivációs útvonal jelenlétét. Virág és munkacsoportja vizsgálta a PARiláció szerepét UV-fény keratinocitákra kifejtett hatásában. A PAR jelenlétét bőrtumorokban is vizsgálták. A tumorsejtekben lévő fokozott oxidatív stressz, illetve a tumorsejtek hypoxiája is okozhat PARP aktivációt, amit a tumor körüli erek intenzív PAR festése jelez. A PAR kimutatásának jelentőségét az adja, hogy a PAR metabolizmus fontos target lehet a melanoma malignum adjuváns kezelése során. Munkacsoportunk PAR jelenlétét tudta kimutatni melanoma malignumban is, a pozitivitás intenzitása korrelált a tumor inváziós mélységével (Clark stádium) és vastagságával (Breslow index). Mivel különböző tumorokban már klinikai kipróbálások folynak PARP gátlószerekkel, ezért a PAR tartalom meghatározása segítséget nyújthat a PARP gátlókkal végzendő daganatellenes terápia hatékonyságának előrejelzésében.

### **Sebgyógyulás folyamata fiziológiás állapotban, akut sebek**

A sebgyógyulás egy komplex többfázisú folyamat, amelynek során a bőr és a bőr alatti szövetek sérülés után helyreállnak. Ezen komplex regulációs folyamat felborulása a sebgyógyulás elhúzódásához vezethet. A különböző krónikus sebek közös jellemzői a hipoxia, a perzisztáló gyulladás, a bakteriális kolonizáció és a megváltozott stresszválasz.

#### *Normál sebgyógyulás folyamata*

A normál sebgyógyulás 6-7 napot vesz igénybe. A *haemostasis szakaszban* koaguláció és vasokonstrictio történik, melyben a thrombocyták a főszerep. Fibrin aktiválódás, vérrög képződés csökkenti a vérzést, a thrombocyták, endothel sejtek, keratinocyták által termelt növekedési faktorok (EGF, TGF alfa, béta, PDGF) beindítják a sebgyógyulás követő szakaszát. A második, 1-3 napig tartó *gyulladásos szakban* különböző immunsejtek hatolnak be a sebbe, a fő szerep a neutrophil sejteké és makrofágoké, melyek eltakarítják a szövettörmelék, baktériumokat. Ezek mellett endothel aktiválódás, pro-inflammatorikus citokinek (pl. IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IFN), növekedési faktorok (PDGF, TGF $\beta$ ), proteolitikus enzimek, ROS/RNS specieszek aktiválódása is segíti a folyamatot. A harmadik *granulációs és profilerációs szakasz* a 3. naptól a 3. hétig tart. Ebben a szakban fibroblasztok aktiválódása révén kötőszövet felhalmozódás, extracellularis matrix termelése történik, továbbá neoangiogenezis, lymphangiogenezis. A folyamatban számos citokin, növekedési faktor vesz részt, így transzformáló növekedési faktor- $\beta$  család, az interleukin (IL) család és az angiogenezis faktorok (pl. VEGF-vaszkuláris epidermális növekedési faktor). A sebgyógyulás utolsó lépése az *epithelizációs vagy remodelling* fázis a 7. naptól a kb. 6. hétig tart. A keratinociták migrációja, proliferációja és differenciációja révén az epidermalis barrier helyreáll, a seb behámosodik, a granulációs szövetre jellemző III. típusú kollagén fokozatosan lebomlik, felváltja az szilárdságot biztosító I. típusú kollagén.

### ***Kóros, elhúzódó sebgyógyulás, krónikus sebek***

A sebgyógyulás összetett folyamata zavart szenvedhet számos ponton és nem gyógyuló krónikus sebek vagy kóros hegek (pl. hipertrófiás hegek, keloidok) kialakulásához vezethet. Krónikus sebről akkor beszélünk, ha a komplett sebgyógyulás nem történik meg 6 héten belül, ilyenkor általában perzisztáló gyulladás áll fenn, melyet általában perzisztáló granulációs, proliferációs stádium követ. Krónikus sebek esetében az epithelizáció, remodelling is elhúzódó, részleges vagy nem következik be. A sebgyógyulást számos tényező késlelteti, leggyakoribbak a károsodott lokális keringés, a hypoxia, vénás pangás, feszülés a sebszéleken, infekciók, krónikus gyulladás, táplálkozási problémák, malnutríció, immunszuppresszió vagy a metabolikus diszreguláció, különös tekintettel a diabetesre. Számos tanulmány mellett saját vizsgálataink is azt bizonyítják, hogy az oxidatív stressznek szerepe van a nem gyógyuló sebek patogenezisében.

### **Oxidatív stressz a sebgyógyulásban, antioxidánsok szerepe a sebgyógyulásban**

Egyre több kutatási eredmény bizonyítja az oxidatív stressz szerepét a sebgyógyulásban. A folyamatban fontos szerepe van a ROS-nak, kis mennyisége nélkülözhetetlen mediátor az intracelluláris jelátvitel számára. A nagy mennyiségben jelen levő ROS negatívan befolyásolja a sebgyógyulást. A legtöbb vizsgálatban a sebekben lévő ROS szintet közvetett módon, a lipidek, fehérjék oxidációs termékeinek elemzése révén határozzák meg. Leírták a lipidperoxidáció egyik fő termékének, a 8-izoprosztánok koncentrációjának erőteljes növekedését krónikus sebekben, továbbá oxidatív stressz által kiváltott fokozott fehérje karbonilációt jelenlétét. Van vizsgálati eredmény arra vonatkozóan is, hogy a peroxinitrit jelenlétére utaló nitrotirozin is fokozottan lehet jelen a sebekben. Számos állatkísérletben bizonyították, hogy az alacsony tömegű antioxidánsok (pl. E-vitamin, C-vitamin, glutation) csökkent szintje kapcsolódik a károsodott sebgyógyuláshoz, így leírták diabeteszes állatmodellben is. Az alacsony molekulatömegű antioxidánsok mellett számos ROS antioxidáns enzim (SOD, kataláz, glutation peroxidáz, peroxiredoxinok, hem oxigenázok) is kulcsfontosságú a sejtek redox egyensúlyának szabályozásában.. A SOD-k sebgyógyulásban betöltött szerepét vizsgálták ischaemiás seb állatmodellben, ahol elősegítette a gyógyulást.

### **Poli-ADP-ribosiláció lehetséges szerepe a sebgyógyulásban**

A cukorbetegség és az ischaemia az alsó végtagok nem gyógyuló sebeinek két fő etiológiája. A cukorbetegségből származó hiperglikémia és az ischaemiából származó oxidatív stressz aktiválja a PARP-1-et, amelyről ismert, hogy a DNS-hibajavításban betöltött szerepe mellett számos sejtfunciót befolyásol. Bizonyított, hogy mind a diabetes mellitus, mind az ischaemia indukálja a PARP-1-et, és számos PARilációval kapcsolatos reakció (oxidatív stresszválasz, gyulladásos citokinek és kemokinek expressziója, sejtproliferáció és migráció) nagyon fontos szerepet játszik a sebgyógyulásban. A PARP-1 diabeteszes sebekben betöltött szerepére vonatkozóan még sok a tisztázatlan részlet. A sebgyógyulás **gyulladásos szakaszában** a PARP-1 hozzájárul a különféle proinflammatorikus mediátorok előállításához is. A PARP-1 3-aminobenzamid (3-AB) általi gátlásáról kimutatták, hogy enyhíti az oxidatív / nitrozatív stresszválaszt és felgyorsítja a sebgyógyulást. A **proliferációs szakban** a PARP gátlása az angiogenesis fokozása és a granulációs szövetképződés javítása érdekében történhet. Több adat van arra vonatkozóan, hogy PARP-inhibitorok elősegítik a keratinocyták proliferációját, migrációját, PARP-1 knockout sebgyógyulás modellben fokozódott az angiogenesis. A sebgyógyulás **remodelling szakaszában** a PARP gátlásával a állatmodellben hegesezés csökkentése érhető el.

## **CÉLKITŰZÉSEK**

Vizsgálataink egyik fő célja volt, hogy megnézzük a poli-ADP-riboziláció (PARiláció) szerepét a bőr élettani folyamatában és a sebgyógyulásra vonatkozóan. Munkánk során kifejezetten az oxidatív/nitrozatív stressz által stimulált PARilációnak a szerepét vizsgáltuk. Megnéztük, hogy a peroxinitrit- DNS károsodás- PARP aktivációs útvonal jelen van-e a sebgyógyulás folyamatában akut és krónikus sebekben. Valamint célunk volt a redox környezet jellemzése a normál bőrben és a sebgyógyulás folyamatában oxidatív stresszmarkerek segítségével valamint antioxidáns kapacitás mérésével.

Vizsgálataink során a következő kérdésekre kerestünk választ:

1. Kimutatható-e PAR /poli(ADP-ribóz)/ a normál bőrben, ha igen akkor a bőr mely sejtjeiben?
2. Kimutatható-e a NO és a szuperoxid reakciója során keletkező peroxinitrit a krónikus sebek szövettani mintáiban, és ha igen, akkor van-e különbség jelenlétében a normál bőrrel összehasonlítva?
3. Kimutatható-e PARP aktiváció a krónikus sebekben?
4. Ha a peroxinitrit- DNS károsodás- PARP aktivációs útvonal kimutatható a sebgyógyulás során, van-e szerepe a sebgyógyulás folyamatában, befolyásolja-e az elhúzódó sebgyógyulást?
5. Kimutatható-e oxidatív stresszre utaló biomolekula károsodás akut és krónikus sebben szenvedők sebfolyadékában, ha igen, van-e különbség jelenlétükben?
6. Antioxidáns kapacitásban van-e különbség az akut és krónikus sebben szenvedők sebfolyadékában?
7. Kimutatható-e oxidatív stresszre utaló biomolekula károsodás és antioxidáns kapacitás akut és krónikus sebben szenvedők szérumában, és ha igen van-e különbség jelenlétükben?
8. Van-e különbség a gyulladáshoz vezető mediátorok termelésében akut és krónikus sebekben, ha igen, a különbség megnyilvánul-e a szérumban és a sebfolyadékban is?
9. A mért adatok között vannak-e korrelációk, és ha igen, milyen összefüggések állnak fenn?

## **ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

A munkánk során alkalmazott anyagokat és módszereket terjedelmi okok miatt a tézisben nem ismertetem, az értekezés 3. fejezetében megtalálható.

## **EREDMÉNYEK**

### **1. Immunhisztokémiai vizsgálatok a normál bőrben és krónikus sebeken:**

#### **1.1. A poli(ADP-ribóz) /PAR/ vizsgálata a normál bőrben**

A poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) aktivitás kimutatására az enzim végtermékét a poli(ADP-ribóz) (PAR) jelenlétét vizsgáltuk normál bőrben immunhisztokémiai módszerrel. A normál bőrben PAR számos területen kimutatható: az epidermisben a keratinocitákban, a haj folliculusok sejtjeiben, a dermisben az endothel sejtjeiben, és az érfal egyéb sejtjeiben, sebocytákban, a sebaceus mirigyek sejtjeiben és a subcutan zsírszövet adipocytáiban. Jelen volt PAR pozitivitás a melanocytás naevusokban is.

#### **1.2. Nitrotirozin és PAR vizsgálata krónikus sebeken**

A minták krónikus vénás elégtelenség következtében kialakult ulcusok széli részéből származtak. Ezen szövetekből készült metszeteken immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk nitrotirozin és PAR kimutatásra. Kontrollként normál bőrt használtunk. Mind a nitrotirozin, mind a PAR intenzívebben volt jelen a vénás sebeken a kontrollhoz képest. A normál bőrmintákban gyenge nitrotirozin és PAR festődés volt detektálható vagy nem volt festődés. A semiquantitativ analízis szignifikánsan emelkedett nitrotirozin és PAR festődést mutatott a sebalapok területén és az ulcus széli részein a normál bőrhöz képest.

### **2. Sebfolyadék és szérumminták vizsgálata**

A sebgyógyulás folyamatában jelen lévő redox homeosztázis jellemzésére megvizsgáltuk a reaktív oxigén és nitrogén intermedierek (ROS/RNS) és az antioxidáns rendszerek (gyökfogó kapacitás és glutation szint) jelenlétét. Vizsgálatainkat sebfolyadék és szérum mintákból végeztük.

#### **2.1. Biomolekulák károsodásának és az antioxidánsok szintjének mérése sebfolyadékban akut és krónikus sebben szenvedőknél**

A két betegcsoportban, vagyis az akut és krónikus sebben szenvedők sebfoliadék mintáiban nem volt szignifikáns különbség a fehérje oxidációban és a fehérjék tirozin nitrációjában. A lipid peroxidáció mértéke a krónikus ulcus sebfoliadék mintákban szignifikánsan nagyobb volt az akutoz képest. Továbbá a gyökfogó kapacitás, valamint a fő antioxidáns, a glutation szint is szignifikánsan magasabb volt, a krónikus sebek nagyobb antioxidáns kapacitással rendelkeznek az akutoz képest.

## **2.2. Biomolekulák károsodásának meghatározása és az antioxidáns szint mérése akut és krónikus sebben szenvedők és egészséges kontrollok szérumban**

A sebbel rendelkezők szérumban mintáiban nem volt jelentős különbség az akut és krónikus ulcusos betegek között. A protein karbonil és a lipid peroxidáció enyhén, de szignifikánsan kisebb mértékű volt a krónikus sebbel rendelkező betegek szérumban az egészséges kontrollokhoz képest. A lipid peroxidáció termékek szintje szintén alacsonyabbak voltak az akut sebbel rendelkező betegek szérumban, összehasonlítva a kontrollal.

A protein tirozin nitrációban nem volt jelentős különbség a sebben szenvedők szérumban és az egészséges kontroll csoportban, de a krónikus sebbel rendelkező betegek szérumban alacsonyabb nitrotirozin szint volt mérhető az akut sebekhez képest.

Az akut és krónikus sebben szenvedő betegek szérumban a gyökfogó kapacitás és az antioxidáns szintekben nem volt jelentős különbség az egészséges kontrollhoz viszonyítva.

## **2.3. Sebgyógyulás folyamatában jellemző markerek vizsgálata akut és krónikus sebben szenvedők sebfoliadékában és szérumban, továbbá egészséges kontroll szérumban**

A szövetkárosodás mértékére utaló laktát dehidrogenáz (LDH) aktivitás, a granulocita kiáramlásra, infiltrációra utaló IL-8 szint, a gyulladás mértékére utaló TNF-alfa szint és a vascularizáció mértékére utaló VEGF szintek a krónikus sebben szenvedőknél szignifikánsan magasabbak voltak a betegek sebfoliadékában az akut sebekhez képest. De a betegek szérumban ezek a biomarkerek nem voltak detektálhatók.

## **3. Összefüggések keresése a mért biokémiai paraméterek között**

A páronkénti korrelációt minden mért biokémiai paraméter esetében elvégeztük. Szignifikáns korrelációt találtunk a krónikus sebben szenvedők szérumban mért protein karbonil szint és a lipid peroxidáció értékek között. A krónikus sebfolyadék mintákban a VEGF és a TNF-alfa szintek szintén szignifikánsan korreláltak egymással. Továbbá az akut sebekkel rendelkező betegek sebfolyadék mintáiban pozitív korrelációt találtunk a lipid peroxidáció és a glutation szintek között, míg a tirozin nitráció és a gyökfogó kapacitás között fordított korrelációt találtunk.

#### **4. Korrelációs analízis a sebfolyadék/szérumbiomarkerek és a páciensek életkora között**

Az akut és krónikus sebek redox környezete közötti különbség vizsgálata során nem szabad figyelmen kívül hagyni azt a tényt, hogy az általunk vizsgált betegpopuláció különböző életkori eloszlású. A betegpopulációnk átlag életkora a krónikus sebbel rendelkező betegek esetén 66,5, míg az akut sebbel rendelkezők átlagéletkora 45,5 év volt. Mivel a redox környezet változhat a korrallal, a korrelációs analízissel próbáltuk kizárni annak a lehetőségét, hogy a két vizsgálati csoport közötti különbségek azért voltak, mert a betegcsoportok az átlagéletkorban különböztek. Valójában néhány azon redox és gyulladásos paraméter közül, amit mértünk (szérumban ABTS scavenger aktivitása és a TNF $\alpha$ , IL-8 és VEGF szintek a sebfolyadékban) pozitív korrelációt találtunk az életkorral az összes betegcsoportban.

## **MEGBESZÉLÉS**

## **1. Poli-ADP-riboziláció a normál bőrben**

Vizsgálataink során először igazoltuk a poli(ADP-ribóz) jelenlétét a normál bőrben. Az epidermis fő sejtjeiben, a keratinocitákban már korábban leírták a PARP-1 expresszióját. Ezenkívül számos kutatócsoport bizonyította a PARP-1 domináns expresszióját a tenyésztett primer keratinocitákban és HaCaT sejtekben. A keratinocitákban a PARP-1 aktiválódását összefüggésbe hozták gyulladásos bőrbetegségekkel és a napégéssel is. Azt is kimutatták, hogy a PARP-1 szabályozza a gyulladásos citokinek és kemokinek (IL-1, TNF- $\alpha$ , MIP-1a, MIP-2, MCP-1 stb.) expresszióját és az oxidatív stressz által kiváltott sejthalált. Jelen vizsgálataink során kimutattuk, hogy a PAR jelátviteli molekulaként is szolgálhat a keratinocitákban, mivel a polimer kimutatható az egészséges bőr keratinocitáiban. Ugyanakkor további vizsgálatokat igényel annak kimutatása, hogy a keratinocitákban zajló PAR szintézist a DNS-törések vagy a DNS-töréstől független folyamatok indukálják-e.

Intenzív PAR festődés volt jelen a szőrtüszők sejtjeiben. Ennek oka lehet a gyors sejtciklus, amit alátámaszt az a tény, hogy a PARiláció szerepet játszik a proliferáció szabályozásában. A PAR polimereket a sebocitákban és az adipocitákban is kimutattuk, ami a PAR új szerepére utalhat ezekben a lipideket felhalmozó sejtípusokban. A PARP-1 adipocitákban betöltött szerepét már felvetették, azonban a PARP-1 érett adipocitákban való jelenlétét munkacsoportunk írta le először. Az utóbbi években több tudományos közlemény is beszámolt a PARP zsírsavcsereiben betöltött szerepéről. Irodalmi adatok alapján valószínű, hogy a PARP-1 kötődését az aktív sejtmag receptorokhoz a DNS-szál törés indítja el a receptor aktiválódása során, így valószínűleg ez a magyarázata a PAR jelenlétét ezekben a sejtekben.

## **2. Oxidatív-, nitrozatív stressz akut és krónikus sebekben**

A sebgyógyulás összehangolt biokémiai történések sorozata. A ROS/RNS speciesek alapvető szignalizációs szerepet játszanak a gyógyulási folyamatban például a sejtproliferációban és az angiogenezisben, továbbá hozzájárulnak a patogének elleni védelemben. Ugyanakkor a fokozottan termelődő reaktív intermedierek a redox homeosztázis egyensúly felborulásához vezethetnek, ami elhúzódó sebgyógyuláshoz vezethet például diabéteszben, kemoterápia, sugárkezelés, illetve szteroid kezelés során. Nem teljesen tisztázott, hogy a redox környezet hogyan változik akut és krónikus sebekben, különböznek-e egymástól. Továbbá az sem ismert hogyan változik a redox környezet a sérült szövetekben, és hogy

tükröződik ez a szérumban. A folyamat jobb megértéséhez célunk a redox környezet jellemzése volt akut és krónikus sebekben.

Vizsgálataink során megnéztük, hogy oxidatív stresszmarkerek, így protein karboniláció, lipid peroxidáció, tirozin nitráció jelen van-e akut és krónikus sebekben, és van-e különbség a jelenlétükben a szérumban és a szövetekben, sebfolyadékban, valamint megnéztük az antioxidáns szinteket is. Továbbá megnéztük, hogy a sebgyógyulás fontos kulcsmolekulái hogyan vannak jelen a különböző sebekben, és hogyan alakulnak a szérumban.

Mind az akut, mind a krónikus sebekből származó sebfolyadékban ki tudtunk mutatni protein karbonilációt, de az akut és krónikus sebek között nem volt szignifikáns intenzitás különbség. A lipid peroxidáció egy kicsit intenzívebb volt a krónikus sebfolyadékokban, míg a tirozin nitrálásban nem volt különbség az akut és krónikus sebből származó sebfolyadékok között. Az akut és krónikus sebek antioxidáns profilja azonban szignifikánsan eltér egymástól: a krónikus sebeknek nagyobb gyökfogó aktivitásuk volt és nagyobb a GSH tartalom összehasonlítva az akut sebekkel.

### **3. A sebgyógyulás során kulcsfontosságú biomolekulák akut és krónikus sebekben**

A szövetkárosodás mértékére utaló LDH aktivitás, a vascularizáció kulcsmediátorának a VEGF-nek a szintje, valamint a fő granulocita toborzó faktor és inflammatorikus citokin, az IL8 szint, illetve TNF $\alpha$  szintek magasabbak voltak a krónikus sebek sebfolyadékában összehasonlítva az akut sebekkel. Ezek az adatok együttesen erősebb gyulladást sugallnak a krónikus sebekben, amely valószínűleg velejárája a magasabb ROS/RNS species termelésnek. Az antioxidánsok kompenzatórikus túlprodukcója magyarázhatja, hogy a megnövekedett ROS/RNS termelés miatt nem okoz fokozott biomolekuláris károsodást. A kismértékben, de szignifikánsan magasabb lipid peroxid szintek a krónikus sebfolyadékokban valószínűleg azt jelzik, hogy a lipidek sérülékenyebb targetek mint a fehérjék.

Az érintett szövetekben zajló molekuláris történések hatásai gyakran a vérkeringésben is megmutatkoznak. Ezért megnéztük, hogy a sebgyógyulás során kimutatható redox környezet változások kimutathatóak-e a betegek szérumában. Nem találtunk jelentős különbséget az akut és krónikus sebben szenvedő betegek és a kontroll csoport szérum mintáinak biomolekula károsodás marker szintjeiben, így a gyökfogó aktivitásban, glutation szintben, fehérje oxidációban és a lipid peroxidációban sem. Ez az eredmény magyarázható azzal a ténnyel, hogy a redox módosulások lokalizálva maradnak a seb területén és a seb környezetében, de szisztémásan nem okoznak jelentős különbséget. Megjegyzendő, hogy a lipid peroxidációs

termékek alacsonyabb értékekkel jelennek meg mind az akut, mind a krónikus sebbel rendelkező betegek szérumaiban, összehasonlítva a kontrollokkal, míg a sebfoliadék mintákban szignifikáns különbséget találtunk a két sebcsoportban. Valószínű, hogy a sebfoliadékok közvetlenül tükrözik a szövetekben zajló biokémiai folyamatok szintjét, míg a szérum szinteket jobban érinti a clearance mechanizmus.

#### **4. Összefüggések a mért paraméterek között, korrelációs vizsgálatok**

Megnéztük, hogy van-e összefüggés a mért biokémiai paraméterek között. A vizsgálat a mért biokémiai paraméterek páros korrelációs analízise során szignifikáns korrelációt fedett fel néhány párban. Megjegyzendő, hogy a pozitív korreláció két biomolekuláris marker között, nevezetesen a lipid peroxidok és a protein carbonilok között arra utalhat, hogy ugyanaz a fajta oxidatív redox környezet váltja ki ezt a két módosulást vénás ulcusban szenvedő betegek szérumaiban. Egy inverz korreláció a gyökfogó aktivitás és a nitrotirozin képződés között jelzi hogy a gyökfogók gátolhatják a tirozin nitrálást az akut sebbel rendelkező betegek szérumaiban. A pozitív összefüggés a lipid peroxidáció és a glutathion szint között az akut sebbel rendelkező betegek szérumaiban némileg meglepő. Számos oxidatív stresszhez kapcsolódó állapotban kimutatták, hogy a lipid peroxidáció tipikusan növekszik, míg a glutathion szintek leesnek a gyulladásos szövetekben. Más vizsgálatok arról számoltak be, hogy nem tapasztaltak paralell változást a glutathion és a lipid peroxid szintek között, ami arra utalhat, hogy valószínű sokkal komplexebb kapcsolat van ezen paraméterek között.

Ismert, hogy a VEGF expressziót elsősorban a hypoxia szabályozza, azonban van irodalmi adat arra vonatkozóan, hogy gyulladásos citokinek mint pl. a  $TNF\alpha$  és az  $IL-1\beta$  és az oxidánsok mint pl. a  $H_2O_2$  szintén fokozhatják a VEGF expressziót. Korábban kimutatták  $H_2O_2$  által indukált VEGF expressziót a bőrben, és leírták sebgyógyulást elősegítő hatását. A VEGF  $H_2O_2$  általi indukciója úgy tűnik hogy független a hypoxia útvonaltól, de gátolható a thiol antioxidáns N-acetylciszteinnel. A krónikus sebfoliadék mintáinkban a  $TNF\alpha$  szintek korreláltak a VEGF szintekkel. Így feltételezhető az a hipotézis, hogy a gyulladásos és oxidatív szignál indukálja a VEGF expressziót a krónikus sebekben.

Míg az akut és krónikus sebek redox környezete közötti különbséget vizsgáljuk, nem szabad figyelmen kívül hagyni azt a tényt, hogy a mi vizsgálati populációnk eltérő életkori eloszlású. A mi betegpopulációnk átlag életkora a krónikus sebbel rendelkező betegek esetén 66,5 év, míg az akut sebbel rendelkezők átlagéletkora 45,5 év volt. A redox környezet változhat a korrallal, így felvetődik a lehetőség, hogy néhány különbség a két vizsgálati csoport között azért

volt, mert az átlagéletkorban különböztek. Azonban több paraméter esetén ki tudjuk zárni, hogy a mért különbség az átlagéletkor különbözőség miatt lenne. Valójában néhány, a vizsgálatban mért redox és gyulladási paraméter közül (a szérumban a gyökfogó kapacitás /ABTS scavenger aktivitás/ és a sebfoladék TNF $\alpha$ , IL-8 és VEGF szintek) korreláltak az életkorral az összes betegcsoportban. Ezekből a paramétereiből a szérumban ABTS aktivitás nem mutatott különbséget a vizsgálati csoportok között. Mivel a többi oxidatív károsodási paraméter nem mutatott életkor függőséget, ezért azt gondoljuk, hogy nem valószínű, hogy a redox stressz vizsgált szignáljai a sebfoladékokban az életkori tényező következményei. Másrészt a TNF $\alpha$ , IL-8 és VEGF szintek pozitívan korreláltak az életkorral és magasabb értékeket mutattak a krónikus sebek sebfoladék mintáiban, összehasonlítva az akut sebekkel. További vizsgálatok szükségesek hasonló korú betegcsoportokkal hogy megerősítsék vagy megcáfolják az életkor szerepét a magasabb TNF $\alpha$ , IL-8 és VEGF szintek esetén a krónikus sebfoladékokban összehasonlítva az akut esetekkel.

## **5. A vizsgálatok korlátai**

A kétféle sebfoladék közötti különbségek értelmezésénél fontos figyelembe venni a következőket. Míg a krónikus sebek, amelyekből sebfoladékot gyűjtöttünk, ki voltak téve a külső környezetnek (a fedőkötéstől eltekintve) és a saját mikrobiomjuk is jelen volt, addig az akut sebek hólyagfoladékai hólyagtetővel borítottak és sterilek voltak.

## **6. Peroxinitrit- PARP aktiváció krónikus sebekben szövettani szinten**

Immunhisztokémiával a krónikus sebekben fokozott tirozin nitráció mutatható ki az egészséges bőrrel összehasonlítva, ami valószínűleg az indukálható nitrogén oxid szintetáz fokozott expressziójának köszönhető a fokozott szuperoxid termeléssel együtt. Ismert, hogy a peroxinitrit és a hidroxil gyökök DNS törést okoznak, ami PARP-1 aktivációhoz vezet. A PARP aktivációt a humán krónikus sebekben az enzim végtermékének a poli(ADP-ribóz) immundetektálásával igazoltuk. Fokozott PARP-1 expressziót tudtunk kimutatni a sebekben, különösen a sebszéleken. A fokozott PARP-1 aktiváció jelezheti a DNS-javítást oxidatív DNS-károsodást követően, de fokozott oxidatív stresszben hozzájárulhat a sejt-károsodáshoz is.

## **KONKLÚZIÓ**

Vizsgálataink alapján a következő megállapításokat tehetjük, válaszolva célkiűzésünk során feltett kérdésekre:

1. Vizsgálatainkban demonstráltuk a PAR jelenlétét keratinocitákban, sebocitákban, haj folliculusokban, endothel sejtekben és a subcutan adipocitákban a normál bőrben, jelezve azt, hogy a PAR fiziológias funkciókat szabályozhat ezekben a sejtekben.
2. Adataink bizonyítják, hogy keletkezik peroxinitrit a humán sebekben. Immunhisztokémiával a krónikus sebekben fokozott tirozin nitráció mutatható ki az egészséges bőrrel összehasonlítva.
3. A PARP aktivációt a humán krónikus sebekben az enzim végtermékének a poli(ADP-ribóz) immundetektálásával igazoltuk.
4. Fokozott PARP aktivációt tudtunk kimutatni a sebekben a normál bőrhöz képest, a PAR expresszió a sebszéleken még kifejezettebb volt. A fokozott PARiláció jelezheti a DNS-javítást oxidatív DNS-károsodást követően, de fokozott oxidatív stresszben hozzájárulhat a sejtkárosodáshoz is a krónikus sebekben. A fokozott PARilációnak szerepe lehet az elhúzódó sebgyógyulásban.
5. A biomolekula károsodást az oxidatív stressz markerek vizsgálatával mértük, protein karbonilációt, lipid peroxidációt, tirozin nitrációt vizsgáltunk, mely jelen volt akut és krónikus sebfolyadékokban. A lipid peroxidáció mértékében találtunk különbséget, a krónikus ulcus sebfolyadék mintákban szignifikánsan nagyobb volt az aktivitás az akuthoz képest, a többi paraméterben nem volt jelentős különbség a két csoport között.
6. A gyökfogó kapacitás, valamint a fő antioxidáns, a glutation szint is szignifikánsan magasabb volt, a krónikus sebek nagyobb antioxidáns kapacitással rendelkeznek az akuthoz képest. Az antioxidáns profil az akut és krónikus sebekben szignifikánsan eltér egymástól: a krónikus sebeknek nagyobb gyökfogó aktivitásuk volt és nagyobb a GSH tartalom összehasonlítva az akut sebekkel. Az antioxidánsok kompenzatórikus túlprodukciója magyarázhatja, hogy a megnövekedett ROS/RNS termelődés miatt nem okoz fokozott biomolekuláris károsodást.
7. A szérumvizsgálatok során nem találtunk jelentős különbséget az akut és krónikus sebben szenvedő betegek és a kontroll csoport szérum mintáinak biomolekula károsodás marker szintjeiben, és a gyökfogó aktivitásban, glutation szintben, fehérje oxidációban

és a lipid peroxidációban sem. Ez az eredmény magyarázható azzal a ténnyel, hogy a redox módosulások lokalizálva maradnak a seb területén és a seb környezetében, de szisztémásan nem okoznak jelentős különbséget az akut és krónikus sebbel rendelkező betegekben.

8. Az LDH aktivitás, a VEGF, az IL-8, illetve a TNF $\alpha$  szintek magasabbak voltak a krónikus sebek sebfolyadékában összehasonlítva az akut sebekkel. Mindez gyulladásos környezetet sugall a krónikus sebekben, amely valószínűleg velejárója a magasabb ROS/RNS species termelésnek.
9. A páronkénti kölcsönösségi viszonyt minden mért biokémiai paraméter esetében elvégeztük. Szignifikáns korrelációt találtunk a krónikus sebben szenvedők szérumban mért protein karbonil szint és a lipid peroxidáció értékek között. Továbbá a krónikus sebfolyadék mintákban a VEGF és a TNF-alfa szintek szintén szignifikánsan korreláltak egymással, ami arra utalhat, hogy a gyulladásos és oxidatív szignál indukálja a VEGF expressziót a krónikus sebekben. Továbbá az akut sebekkel rendelkező betegek sebfolyadék mintáiban pozitív korrelációt találtunk a lipid peroxidáció és a glutation szintek között. Az általunk mért redox és gyulladásos paraméter közül ( szérumban ABTS scavenger aktivitása és a TNF $\alpha$ , IL-8 és VEGF szintek a sebfolyadékban) pozitív korrelációt találtunk az életkorral az összes betegcsoportban.

## **ÖSSZEFOGLALÁS**

Az oxidatív stressz kutatása napjainkban reneszánszát éli. Vizsgálati eredmények sora bizonyítja szerepét számos betegségben. Az oxidatív stressz által indukált PARP aktiváció szintén számos pathofiziológiai folyamatban szerepet játszik.

Vizsgálataink egyik fő célja az volt, hogy megnézzük a PARiláció szerepét a bőr élettani folyamataiban és a sebgyógyulásra vonatkozóan. Munkánk során kifejezetten az oxidatív/nitrozatív stressz által stimulált PARilációnak a szerepét vizsgáltuk. Megnéztük, hogy a peroxinitrit- DNS károsodás- PARP aktivációs útvonal jelen van-e a sebgyógyulás folyamatában akut és krónikus sebekben. Valamint célunk volt a redox környezet jellemzése a normál bőrben és a sebgyógyulás folyamatában oxidatív stresszmarkerek segítségével.

Vizsgálatainkban demonstráltuk a PAR jelenlétét keratinocitákban, sebocitákban, haj folliculusokban, endothel sejtekben és a subcutan adipocitákban a normál bőrben, jelezve azt, hogy a PARP fiziológias funkciókat szabályozhat ezekben a sejtekben.

Ismert, hogy az oxidatív stressznek szerepe van a sebgyógyulás bonyolult folyamatában, de még sok a feltáratlan részlet. Vizsgálataink során jellemeztük az akut és krónikus sebek redox környezetét. Eredményeink alapján egyértelmű, hogy a redox környezet a krónikus emberi sebekben különbözik az akut sebettől, amit az intenzív gyulladás és a magasabb antioxidáns szintek tükröznek. Az egyes ROS speciesek valamint a redox szignál mechanizmusok szerepének további elemzése célzott terápiás lehetőségeket is jelenthet a jövőben a késleltett sebgyógyulás kezelésére.

Felvetődik a kérdés, hogy vajon a sebfolyadékok vagy szérumok részletes redox- és gyulladásos biomarker-profilja képes lesz-e prediktív biomarkereket szolgáltatni a nem gyógyuló sebek azonosítására. A peroxinitrit-termelés és a PARiláció is jelen van a krónikus sebekben, és valószínűleg hozzájárul a szövetkárosodáshoz. Ezen folyamatok szerepének pontosabb tisztázása normális és patológiás sebekben további vizsgálatokat igényel, melyekre vonatkozóan már elkezdtek vizsgálatokat.



Nyilvántartási szám: DEENK/352/2023.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Bodnár Edina  
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

#### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Bodnár, E.**, Bakondi, E., Kovács, K., Hegedűs, C., Lakatos, P., Robaszkiewicz, A., Regdon, Z., Virág, L., Szabó, É.: Redox Profiling Reveals Clear Differences between Molecular Patterns of Wound Fluids from Acute and Chronic Wounds.  
*Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018, 1-12, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2018/5286785>  
IF: 4.868
2. Géhl, Z., Bai, P., **Bodnár, E.**, Emri, G., Remenyik, É., Németh, J., Gergely, P., Virág, L., Szabó, É.: Poly(ADP-ribose) in the skin and in malignant melanomas.  
*Histol. Histopath.* 27, 651-659, 2012.  
IF: 2.281

#### További közlemények

3. **Bodnár, E.**: Korunk népbetegsége: a körömgomba. Szisztémás antimikotikum vagy körömlakk segíthet?  
*Med. Tribune.* 5, 17-19, 2018.
4. Pogácsás, L., Felföldi, N., **Bodnár, E.**, Csordás, A., Szabó, É.: A krónikus vénás elégtelenség klasszifikációja és korszerű kezelése.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 93 (3), 108-113, 2017.
5. Szima, G. Z., Janka, E. A., Kovács, A., Bortély, B., **Bodnár, E.**, Sawhney, I., Szabó, É., Remenyik, É.: Comparison of hair removal efficacy and side effect of neodymium: yttrium-aluminum garnet laser and intense pulsed light systems (18-month follow-up).  
*J. Cosmet. Dermatol.* 16 (2), 193-198, 2017.  
IF: 1.529





6. Kiss, B. K., Bíró, T., Bai, P., Gáspár, K., **Bodnár, E.**, Kertész, Z., Szikszai, Z., Juhász, I., Remenyik, É., Hunyadi, J., Kiss, Á. Z.: A fizikai fényvédők biológiai hatásainak áttekintése = Overview of the biological effects of physical sunscreens.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 90 (3), 94-99, 2014.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.7188/bvsz.2014.90.3.5>
7. **Bodnár, E.**: Gombás fertőzések kezelése a háziorvosi gyakorlatban.  
*Háziorv. Továbbk. Szle.* 18, 251-256, 2013.
8. **Bodnár, E.**: Gombaellenes hatóanyagok.  
*Gyógyszerész. Továbbk.* 6 (4), 25-28, 2012.
9. **Bodnár, E.**: Gombaellenes hatóanyagok.  
*Háziorv. Továbbk. Szle.* 17 (5), 261-264, 2012.
10. Szikszai, Z., Kertész, Z., **Bodnár, E.**, Borbíró, I., Kiss, B. K., Angyal, A., Csedreki, L., Furu, E., Szoboszlai, Z., Kiss, Á. Z., Hunyadi, J.: Nuclear microprobe investigation of the penetration of ultrafine zinc oxide into human skin affected by atopic dermatitis.  
*Nucl. Instrum. Methods. Phys. Res. B.* 269 (20), 2278-2280, 2011.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2011.02.055>  
IF: 1.211
11. Szegedi, A., **Bodnár, E.**, Remenyik, É.: Ustekinumabbal szerzett tapasztalatok a debreceni Bőrgyógyászati Klinikán = Our experiences with Ustekinumab at the Department of Dermatology in the University of Debrecen.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 87 (3), 102-106, 2011.
12. Szikszai, Z., Kertész, Z., **Bodnár, E.**, Major, I., Borbíró, I., Kiss, Á. Z., Hunyadi, J.: Nuclear microprobe investigation of the penetration of ultrafine zinc oxide into intact and tape-stripped human skin.  
*Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. B-Beam Interact. Mater. Atoms.* 268 (11-12), 2160-2163, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2010.02.040>  
IF: 1.042
13. Szegedi, A., Herédi, E., **Bodnár, E.**, Remenyik, É.: Humira terápia bevezetése súlyos psoriasis vulgarisban szenvedő betegeknél.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 85 (4), 193-195, 2009.
14. **Bodnár, E.**, Irinyi, B., Barta, Z., Hunyadi, J., Remenyik, É., Szegedi, A.: Psoriasis és gluténszenzitív enteropathia együttes előfordulása = coexistence of psoriasis and coeliac disease.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 84 (4), 120-123, 2008.
15. Herédi, E., **Bodnár, E.**, Schmidt, E., Hunyadi, J., Szegedi, A.: Biológiai terápia psoriasis vulgarisban történő alkalmazása során szerzett tapasztalataink.  
*Bőrgyógyász. Venerol. Szle.* 83 (3), 97-101, 2007.





16. Juhász, I., **Bodnár, E.**, Péter, Z., Erdei, I.: Az időskori égések sajátosságai: az égések élettani jelentősége.  
*Magy. Orv. 13* (5), 20-24, 2005.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 10,931**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 7,149**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2023.07.19.

