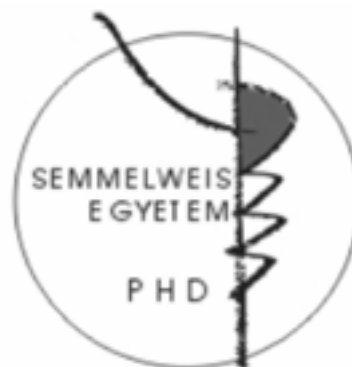


Tirozin-kináz jelpályák szerepének vizsgálata neutrofil granulocitákban és autoimmun betegségmodellekben

Doktori tézisek

Futosi Krisztina

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezetők: Dr. Mócsai Attila egyetemi docens, az MTA doktora
Dr. Vántus Tibor tudományos munkatárs, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Bácsi Attila egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Tóthfalusi László egyetemi docens, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Buzás Edit egyetemi tanár, az MTA doktora
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Klebovich Imre egyetemi tanár, az MTA doktora
Dr. Kacs Kovics Imre egyetemi docens, az MTA doktora

Budapest
2014

BEVEZETÉS

A neutrofil granulociták rövid életű, a vérben legnagyobb számban keringő, terminálisan differenciált fehérvérsejtek. A veleszületett immunrendszer tagjaiként kulcsfontosságú szerepet töltenek be a gazdaszervezet kórokozókkal szembeni védelmében. A feladat ellátásához bonyolult folyamatsor vezet, mely áll a patogének, illetve a gyulladásos szövet felismeréséből, a keringésből a gyulladás helyére, a szövet közötti térbe történő kilépésből, majd a gyulladást okozó patogének eliminációjából.

A neutrofil granulociták rendkívül gazdag sejtfelszíni receptor-készlettel rendelkeznek élettani funkciójuk betöltéséhez. Az immunglobulinokkal opsonizált részecskéket Fc-receptoraik segítségével ismerik fel, míg sejtfelszíni adhéziós molekuláik (szelektinek, integrinek) révén képesek az endotélsejtekhez kitapadni, majd a transzendenteliális és a szöveti migráció során a gyulladás helyére vándorolni. Rendelkeznek továbbá klasszikus formil-peptid felismerő, kemokin-, illetve kemoattraktáns receptorokkal, melyek G-fehérjéhez kapcsolt, hét transzmembrán doménnel rendelkező receptorok. Ezen túlmenően a neutrofilek felszínén megjelennek különböző citokin-receptorok is, valamint rendelkeznek különböző mintázatfelismerő receptorokkal (például Toll-like receptorokkal – TLR, valamint C-típusú lektin receptorokkal).

A neutrofil granulociták sejtfelszíni receptoraikról induló jelátviteli utak többsége különböző kináz-kaszkádon keresztül vezet a fagocitasejtek effektor sejtválaszainak megjelenéséhez (pl. migrációhoz, granulum-ürítéshez, szuperoxid-termeléshez, fagocitózishoz). Munkacsoportunk korábbi eredményei is alátámasztották egyes tirozin-kinázok (pl. Syk, Src-típusú tirozin-kinázok) elengedhetetlen szerepét a neutrofilek működésében. Ez alapján felmerült a lehetősége annak, hogy egy rendelkezésünkre álló kismolekulás kináz-gátló vegyülettár szűrővizsgálatával a neutrofil granulociták működésében esszenciális tirozin-kinázok gátlása révén gyulladásgátló hatással rendelkező vegyületeket azonosíthatunk.

A szűrővizsgálatainkban a neutrofilek sejtválaszait nagy hatékonysággal gátló vegyületek közül az egyik legígéretesebbnek a Philadelphia-kromoszóma pozitív leukémiák kezelésére használt Abl- és Src-kinázokat gátló dasatinib bizonyult. Irodalmi adatok alapján a dasatinib a tumorsejtek gátlásán túl hatékonyan gátolja egyes érett hemopoetikus sejttypus (például T-limfociták, bazofil granulociták, NK-sejtek) funkcióit is, azonban ezidáig nem vizsgálták a dasatinib hatását a vérben legnagyobb számban keringő fehérvérsejteken, a neutrofil granulocitákon. Ezek alapján doktori munkám során elvégeztük a dasatinib részletes hatásvizsgálatát a különböző sejt felszíni receptorokon keresztül aktivált neutrofilek effektor sejtválaszain.

A veleszületett és adaptív immunrendszer szoros kapcsoltságban egyrészt biztosítják a szervezetet károsító hatások kivédését a gyulladásos folyamatok során, másrészt azonban rendellenes működésük az immuntolerancia károsodása révén autoimmun gyulladások kialakulásához vezethet. Az autoimmun kórképek egyik legnagyobb csoportját az autoimmun ízületi gyulladások alkotják. Genetikai és farmakológiai megközelítéssel végzett vizsgálatok fényt derítettek arra, hogy ezen betegségcsoport kialakulásában esszenciális szereppel bírnak egyes tirozin-kinázok, illetve a gyulladás effektor fázisában fontosak a neutrofil granulociták. Ezek alapján logikusan következett, hogy amennyiben a tirozin-kináz gátló dasatinib *in vitro* körülmények között hatékonyan gátolta neutrofilek működését, megvizsgáljuk a gátlószer hatását a neutrofil-függő autoantitest-indukált gyulladásos modellekben. Ezt követően transzgénikus technika segítségével tisztáztuk a dasatinib fő célmolekulái közé tartozó Src-típusú tirozin-kinázok közül a mieloid-specifikus Hck, Fgr és Lyn szerepét az Arthus-reakció kialakulásában.

A neutrofilek működésében kulcsfontosságúak az integrinek, az Src-típusú tirozin-kinázok és a különböző kis G-fehérjék. Ez alapján felmerült, hogy a nem-hemopoetikus sejtek integrin-mediált jelátvitelében az Src-kinázok egyik fő szubsztrátjaként viselkedő fehérje, az egyes kis G-fehérjék inaktiválásában

szerepet játszó p190RhoGAP szerepét tisztázzuk bizonyos neutrofil funkciók esetén.

Doktori ösztöndíjasként a gyulladásos folyamatok effektor sejtjeiben, a neutrofil granulocitákban zajló jelátviteli utak vizsgálatával foglalkoztam, különös tekintettel a szignalizációban elengedhetetlen tirozin-kinázokra. Munkám fontos részét képezték a kismolekulás tirozin-kináz gátló dasatinib neutrofilekre és autoimmun gyulladásos folyamatokra gyakorolt hatásainak vizsgálata.

A neutrofilek jelátviteli folyamatainak megismerése hozzásegíthet bennünket a gyulladásos folyamatok alaposabb megértéséhez, és olyan célmolekulák azonosításához, melyek megalapozhatják a gyulladásos betegségekben alkalmazható újabb terápiás megoldások kifejlesztését.

CÉLKITŰZÉSEK

PhD-munkám során az alábbi öt témakörrel foglalkoztam:

1. Egy hierarchikus felépítésű, kismolekulás kináz-gátló vegyülettár viszonylag nagy áteresztőképességű szűrővizsgálata humán neutrofil granulocitákban
2. A kismolekulás tirozin-kináz gátlószer, a dasatinib részletes hatásvizsgálata érett humán neutrofil granulociták sejtválaszain in vitro körülmények között
3. A dasatinib hatásának vizsgálata in vivo kísérletes gyulladáisos betegségmodellekben (K/BxN szérumsztransfer artritiszben és Arthus-reakcióban)
4. A neutrofilekben expresszálandó Src-kinázok (Hck, Fgr, Lyn) szerepének vizsgálata Arthus-reakcióban
5. A p190RhoGAP szerepének vizsgálata a neutrofil granulociták β_2 -integrintől független degranulációs folyamataiban.

MÓDSZEREK

A kináz-gátló vegyülettár felépítése, gátlószerekkel történő előkezelés

A viszonylag nagyáteresztő képességű szűrővizsgálatokhoz használt kináz-gátlók a Vichem Kft. jelenleg közel 30.000 molekulát tartalmazó hierarchikusan felépülő vegyülettárának tagjai (Nested Chemical LibraryTM).

A szűrővizsgálatok esetén a gátlószereket 10 μ M koncentrációban, a dasatinibbel történő részletes hatásvizsgálat esetén a dasatinibet 10 nM – 1 μ M közötti koncentráció-tartományban alkalmaztuk. Kontrollként a gátlószerek vivőanyagának használt DMSO-val (dimetil-szulfoxiddal) kezelt sejteket használtunk. Az előinkubálás 37 °C-on 30 percig zajlott, Mg^{2+} -mentes oldatban. A viszonylag nagyáteresztő képességű szűrővizsgálatok minőségellenőrzésére Z-faktor analízist használtunk.

A kísérleteinkhez használt egértörzsek, csontvelői kimérák

A p190RhoGAP hiányának vizsgálatához egy p190RhoGAP mutáns allélt homozigóta formában hordozó (*Grlf1*^{tm2JSet/tm2JSet}) egértörzs felhasználásával készített csontvelői kimérákat használtam. Integrin-függő referenciaként CD18-hiányos (*Itgb2*^{tm2Bay/tm2Bay}) egerek szolgáltak. A neutrofil granulocitákban expresszálandó Src-kinázok (Hck, Fgr, Lyn) hiányának vizsgálatához mindhárom Src-kinázra nézve génhianyos (*Hck*^{tm1Hev/tm1Hev}/*Fgr*^{tm1Hev/tm1Hev}/*Lyn*^{tm1Sor/tm1Sor}) egereket használtunk. Kontrollként genetikai módosítástól mentes, a transzgenikus egértörzsek genetikai hátterével megegyező vad típusú (C57BL/6) egereket vagy vad típusú donorok segítségével létrehozott kimérákat használtunk.

A neutrofil granulociták izolálása

A kísérleteink során használt humán neutrofil granulocitákat egészséges önkéntes donorok perifériás véréből izoláltuk dextrános ülepítést követően, Ficoll gradiensen történő centrifugálás segítségével. Az egér neutrofil

granulocitákat csontvelőből preparáltuk Percoll gradiensen. A preparálás minden esetben szobahőmérsékleten Ca^{2+} - és Mg^{2+} -mentes oldatokban, endotoxinmentes körülmények között történt.

A funkcionális mérések előtt az oldatokat kalcium-kloriddal és (néhány kivételtől eltekintve) magnézium-kloriddal egészítettük ki. A funkcionális vizsgálatok 37 °C-on történtek.

A neutrofilek sejtválaszainak vizsgálati módszerei

A neutrofil granulociták aktiválása

Az adhézió-mediált folyamatok vizsgálatához a sejteket fibrinogénnel fedett felszínen valamely gyulladáshoz vezető mediátor (pl. tumor nekrosis faktor α – $\text{TNF}\alpha$, lipopoliszacharid, bakteriális tripeptid: formil-metionil-leucil-fenilalanin – fMLP) jelenlétében aktiváltuk. Az immunkomplex-aktiváció esetén humán szérumból albumin és anti-albumin antitest vagy laktoferrin és anti-laktoferrin antitest segítségével létrehozott immobilizált immunkomplex felszínt használtunk. Az adhéziótól független sejtaktivációt sejtszuspenzióban Mg^{2+} -mentes oldatban végeztük.

A neutrofilek sejtválaszainak mérése

A neutrofilek szuperoxid-termelését citokróm c redukciós módszerrel, vagy luminometrián mérjük. A zselatináz degranulációt zselatináz zimográfia, a laktoferrin-ürítést szendvics-ELISA segítségével, a sejtszétterülést fáziskontraszt mikroszkópia, a letapadást savas foszfátáz-assay segítségével értékeltük. A neutrofilek migrációját Transwell-kamrában vizsgáltuk. A neutrofilek baktériumölési képességét egy baktérium-túlélési teszt segítségével mérjük, a neutrofilek és a baktériumok együtt inkubálását követően. Ezen méréseinkhez *Staphylococcus aureus* és *Escherichia coli* baktériumtörzset használtunk.

Az intracelluláris jelátviteli folyamatok vizsgálatához Western-blot technikát használtunk.

Adhéziós vizsgálatok humán és egér neutrofil granulocitákon teljes szérum jelenlétében

A *humán fehérvérsejt gazdag felülúszót* egészséges önkéntes donorok perifériás véréből, míg az *egér fehérvérsejteket* különböző dózisu (2, 5 és 10 mg/kg) dasatinibbel kezelt kísérleti állatok perifériás véréből nyertük a vörösvértestek dextrános ülepitését követően. A humán fehérvérsejteket a gátlószerezrel történő kezelést követően, az egér fehérvérsejteket közvetlenül a dextrános ülepitést követően integrin-ligand felszínen szolubilis gyulladásoo mediátorok jelenlétében aktiváltuk, és a felszínhez letapadt sejtek számát savas foszfataz assay segítségével határoztuk meg.

Az in vivo autoantitest-indukált gyulladásoo betegségmodellek kiváltása, értékelése

A *K/BxN szérum transzfer arthritisz* során az ízületi gyulladásoo kiváltásához a K/BxN egerek szérumát intraperitoneálisan injektáltuk vad típusú dasatinib nélküli és dasatinibbel kezelt egerekbe. Az ízületi gyulladásoo klinikai tüneteit 14 napon keresztül követtük nyomon. A bokaízület funkcionális állapotáról rácson való lógás/lógatás segítségével nyertünk információt. A *reverz passzív Arthus-reakció* kiváltásához a kísérleti állatoknak (a gátlószerezes kísérletekben vad típusú, míg a genetikai megközelítés esetén vad típusú, valamint $Hck^{-/-}Fgr^{-/-}Lyn^{-/-}$ – Src-család KO – egereknek) szisztémásan antigént (ovalbumint), lokálisan a fül bőrébe (anti-ovalbumin) antitesteket injektáltunk, ezt követően a lokális gyulladásoo mértékét a kontroll kezelt fülhöz képest NanoSPECT/CT készülékkel radioaktív mérési módszer segítségével határoztuk meg.

A kísérletekből származó adatok értékelése és prezentálása

Valamennyi vizsgálatot legalább három független kísérletben megismételtünk. A kísérletekből származó adatokat a kísérleti felállásnak megfelelően egy- vagy kétmintás t-próbának, illetve ismétléses, kétfaktoros variancia-analízisnek (ANOVA módszernek) vetettük alá (+ Tukey-féle post-

hoc teszt). A statisztikai kiértékeléshez a STATISTICA programot használtuk.
A szignifikancia határának a $p=0,05$ értéket tekintettük.

EREDMÉNYEK

Egy kináz-gátló vegyülettár viszonylag nagyáteresztő képességű szűrővizsgálata humán neutrofil granulocitákon

Szűrővizsgálatainkban 10 μ M koncentrációban vizsgáltuk a vegyülettár gátlószereinek hatását a neutrofil granulociták szuperoxid-termelésére. A sejtekre gyakorolt hatást két fiziológiás (Fc-receptoron keresztüli, illetve adhézió-függő) és egy nem-fiziológiás (forbol-észterrel történő) aktivációs rendszerben teszteltük. Találati molekulákként azonosítottuk a fiziológiás stimulálási rendszerekben a neutrofilek sejtválaszait gátló, de a nonspecifikus aktiválási rendszerben adott sejtválaszokat nem befolyásoló, azaz a sejtek életképességére, válaszadó képességére nem ható vegyületeket. A vegyülettár 2417 letesztelt molekulája közül szűrővizsgálatainkban nagy arányban tűntek ki a feltételeinknek megfelelő találati-molekulák. A leghatékonyabb és farmakológiai tulajdonságok, illetve szabadalmaztathatóság tekintetében is a legígéretesebbnek tűnő 39 vegyület közül a legtöbb kiemelkedő mértékű gátlást mutatott az Src-családba tartozó tirozin-kinázokon. Szűrővizsgálatainkban az egyik leghatékonyabb vegyületnek a klinikumban is használt Abl/Src kináz kettős gátlóként jellemzett dasatinib bizonyult.

A dasatinib hatásának részletes vizsgálata érett humán neutrofil granulocitákon in vitro

A dasatinib hatása a neutrofil granulociták adhézió-függő sejtválaszaira

A dasatinib rendkívül alacsony koncentrációban eredményesen csökkentette a neutrofilek adhézió-függő szuperoxid-termelését különböző gyulladásos mediátorok (a TNF α , a komplement fragmens C5a, illetve egyes Toll-like receptor agonisták) jelenlétében integrin-ligand (fibrinogén) felszínen. A legérzékenyebb aktivációs rendszerben a félgátló-koncentráció 10 nM alatti értéknek adódott. A dasatinib 50 nM alatti félgátló-koncentrációban gátolta a neutrofilek szétterülését, letapadását, laktoferrin-ürítését. 100 nM koncentráció-

tartományban drámai mértékben csökkentette a neutrofilek alap és az adhézió-függő aktivációra megjelenő teljes tirozin-foszforilációját, illetve a Syk tirozin-kináz foszforilációját. Míg a dasatinib az adhézió-függő sejtválaszokat már rendkívül alacsony koncentrációban is képes volt gátolni, addig az adhéziótól független TNF-receptorról induló jelátviteli folyamatokat a dasatinib 10-100 nM koncentráció tartományban nem befolyásolta számottevő mértékben.

A dasatinib hatása a neutrofil granulociták immunkomplex-mediált sejtválaszaira

Kísérleteinkben a dasatinib hatékonyan gátolta a neutrofil granulociták immunkomplex felszínen mutatott szétterülését, valamint szuperoxid-termelését. A dasatinib blokkolta továbbá a neutrofilek szekunder (laktoferrin) és terciér (zselatináz) granulumainak ürítését. A gátló hatás minden esetben 50 nM alatti félgátló koncentráció-tartományban jelentkezett. Az aktivációt követően végzett teljes tirozin-foszforiláció vizsgálatát célzó kísérleteinkben a 100 nM koncentrációjú dasatinibbal kezelt sejtek esetén nemcsak az immunkomplex-aktiváció által eredményezett fokozott foszforiláció szűnt meg, hanem az alap tirozin-foszforilációs jel is drámai mértékben csökkent, továbbá nem jött létre a p38 MAP-kináz aktivációja és a Syk tirozin kináz foszforilációja sem.

A dasatinib hatásának vizsgálata a neutrofil granulociták G-fehérje-kapcsolt jelátviteli folyamataira

A dasatinib részlegesen gátolta a neutrofilek bakteriális formilpeptid fMLP által kiváltott szuperoxid-termelését és laktoferrin-ürítését. Ezzel szemben a legnagyobb általunk használt (1 μ M) koncentrációtól eltekintve nem befolyásolta lényegesen a neutrofilek zselatináz-ürítését, p38 MAPK- és ERK-foszforilációját fMLP, interleukin-8, C5a és leukotrién B4 aktiváció esetén.

A dasatinib hatása a neutrofil granulociták migrációjára

A dasatinib a legnagyobb általunk alkalmazott koncentrációban sem gátolta a neutrofilek in vitro Transwell-migrációs kamrában mutatott migrációját a kemoattraktánsként használt bakteriális tripeptid fMPL-t, vagy interleukin-8-at tartalmazó oldatok irányába. A migrációs képesség abban az esetben sem csökkent a DMSO-val kezelt kontroll sejtekhez képest, amennyiben a Transwell-kamrát kiegészítettük egy, a sejtek számára migrációs barriert képző komplex extracelluláris mátrix (Matrigel) réteggel.

A dasatinib hatása a neutrofil granulociták mintázatfelismerő receptorain keresztül létrejövő sejtválaszaira

A dasatinib gátolta az opszonizálatlan és hőinaktivált szérummal opszonizált zimozán által kiváltott sejtválaszokat, azonban a komplement-rendszer jelenlétében opszonizált zimozán hatására létrejövő sejtválaszokon a gátlás kevésbé volt kifejezett. Ezen túlmenően a dasatinib részleges gátlást eredményezett a TLR agonisták segítségével kiváltott sejtválaszokon.

A dasatinib hatása a neutrofil granulociták baktériumölési képességére

Eredményeink szerint a dasatinib előkezelésben részesült neutrofil granulociták direkt baktériumölési képessége részleges csökkenést mutatott. A részleges gátlás elsősorban a legnagyobb általunk használt koncentráció-tartományban jelent meg.

A dasatinib hatása a fehérvérsejtek letapadási képességére teljes szérum jelenlétében

A dasatinib gátolta a humán fehérvérsejtek adhézións képességét teljes szérum jelenlétében, a dasatinibbel kezelt betegek terápiás (200 nM körüli) koncentráció-tartományában lévő félgátló-koncentráció mellett.

A szájon át adott dasatinib hatása az egér fehérvérsejtek ex vivo adhéziójára

Kísérleteinkben a dasatinib 4,6 mg/kg félgátló-koncentrációban képes volt csökkenteni szájon át történő adagolást követően a kísérleti egerek ex vivo vizsgált fehérvérsejteinek adhéziós képességét is.

A dasatinib vizsgálata in vivo gyulladásoos állatmodellekb

A dasatinib hatásának vizsgálata autoimmun ízületi gyulladásmo

A dasatinib dózis-függő módon csökkentette az autoantitest-indukált ízületi gyulladás klinikai tüneteit. Az 50 mg/kg dasatinib napi kétszeri dózisban preventíven adva szignifikáns mértékben csökkentette az általunk vizsgált kísérletes autoantitest-indukált ízületi gyulladás mo

A dasatinib hatásának vizsgálata reverz passzív Arthus-reakcióban

Kísérleteinkben azt tapasztaltuk, hogy 50 mg/kg dasatinib képes volt szignifikáns mértékben gátolni az Arthus-reakció során létrejövő gyulladás mértékét a tirozin-kináz gátlót nem kapott állatokhoz képest.

Az Src-típusú tirozin-kinázok szerepének vizsgálata reverz passzív Arthus-reakcióban

Az Src-családba tartozó, mieloid sejtekben expresszálódó Hck, Fgr és Lyn tirozin-kinázok együttes genetikai hiányában a reverz passzív Arthus-reakció drámai mértékben csökkent a vad típusú egerekhez képest.

A p190RhoGAP szerepe a neutrofilek integrin-független degranulációs folyamataiban

Kísérleteinkben azt találtuk, hogy a gyulladáshoz vezető mediátor TNF α képes volt adherens felszín nélkül, β_2 -integrintól független módon kiváltani a neutrofilek zselatináz degranulációját. A p190RhoGAP hiánya nem befolyásolta a neutrofilek zselatináz-ürítését, amennyiben a sejteket sejtszuspenzióban TNF-receptoron, G-fehérje-kapcsolt receptorokon, Toll-like receptoron keresztül, valamint forbolészterrel aktiváltuk. A p190RhoGAP nem bizonyult elengedhetetlennek a neutrofilek Fc-receptor-mediált zselatináz degranulációjához sem.

KÖVETKEZTETÉSEK

A célkitűzések alapján a következtetéseimet az alábbi öt pontban foglalom össze.

1. A fókuszált, kismolekulás kináz-gátló vegyülettár szűrővizsgálata során a 2417 letesztelt molekulából közel 40, a neutrofil granulociták fiziológias működését gátolni képes kináz-gátló molekulát azonosítottam, melyek közül több hatékonyan gátolta az Src-típusú tirozin-kinázokat. A vizsgálataink alapján felmerül, hogy a neutrofilekben lévő Src-típusú kinázok gátlása révén gyulladásgátló hatás érhető el.

2. Az Abl Src specifikus kismolekulás tirozin-kináz gátló dasatinib drámai mértékben gátolta a neutrofil granulociták integrin- és Fc-receptor-függő folyamatait. Ezzel szemben a dasatinib részlegesen gátolta, vagy nem befolyásolta a G-fehérje-kapcsolt receptorokon, illetve a mintázatfelismerő receptorokon keresztüli aktivációt követően létrejövő sejtválaszokat.

3. A dasatinib gátolta a neutrofil-függő gyulladással betegségelekben a gyulladás klinikai tüneteit. Ezáltal felmerül a dasatinib-származékokban rejlő terápiás lehetőség a túlzott neutrofil aktivációval járó (autoimmun) gyulladással megbetegedésekben.

4. A mieloid sejtekben expresszáldó Src-típusú tirozin-kinázok (Hck, Fgr és Lyn) genetikai hiányában a reverz passzív Arthus-reakció drámai mértékben csökkent. Munkacsoportunk további eredményeivel együtt ez az Src-típusú tirozin-kinázok kulcsfontosságú szerepére utal az immunkomplex-mediált gyulladással folyamatokban.

5. A p190RhoGAP nem játszott elengedhetetlen szerepet a neutrofil granulociták β_2 -integrintől független degranulációs folyamataiban.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A tézisek alapjául szolgáló közlemények és kézirat:

Németh T, **Futosi K**, Hably Cs, Brouns MR, Jakob SM, Kovács M, Kertész Zs, Walzog Settleman BJ, Mócsai A. Neutrophil functions and autoimmune arthritis in the absence of p190RhoGAP: Generation and analysis of a novel null mutation in mice. *J Immunol* 2010; 185:3064-3075. IF: 5,745

Futosi K, Németh T, Pick R, Vántus T, Walzog B, Mócsai A. Dasatinib inhibits proinflammatory functions of mature human neutrophils. *Blood* 2012; 119:4981-4991. IF: 9,06

Futosi K, Fodor Sz, Mócsai A. Neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. *Int Immunopharmacol* 2013; 17:638-50., Review. IF: 2,417

Kovács M, Németh T, Jakus Z, Sitaru C, Simon E, **Futosi K**, Botz B, Helyes Zs, Lowell CA, Mócsai A. Hck, Fgr and Lyn are critical for the generation of the in vivo inflammatory milieu without a direct role in leukocyte recruitment (*bírálat alatt álló kézirat*)

Egyéb, az értekezés témájához nem kapcsolódó fontosabb közlemények:

Kenessey I, Simon E, **Futosi K**, Bereczky B, Kiss A, Erdödi F, Gallagher JT, Tímár J, Tóvári J. Antimigratory and antimetastatic effect of heparin-derived 4-18 unit oligosaccharides in a preclinical human melanoma metastasis model. *Thromb Haemost.* 2009; 102(6):1265-73. IF: 4,451

Borbély G, Huszár M, Varga A, **Futosi K**, Mócsai A, Örfi L, Idei M, Mandl J, Kéri Gy, Vántus T. Optimization of important early ADME(T) parameters of NADPH oxidase-4 inhibitor molecules. *Med Chem.* 2012; 8(2):174-81. IF: 1,37

Jani PK, Kajdácsi E, Megyeri M, Dobó J, Doleschall Z, **Futosi K**, Tímár CsI, Mócsai A, Makó V, Gál P, Cervenak L. MASP-1 induces a unique cytokine pattern in endothelial cells: a novel link between complement system and neutrophil granulocytes. *PLoS One.* 2014; 29;9(1):e87104. IF: 3,73

Tóvári J, **Futosi K**, Bartal A, Tátrai E, Gacs A, Kenessey I, Paku S. Boyden Chamber-Based Method for the Characterization of the Distribution of Adhesions and Structure of the Cytoskeleton in HT1080 Fibrosarcoma Cells. *Cell Adh Migr.* 2014 doi: 10.4161/cam.28734 (*elfogadva*). IF: 2,34