ZRÍNYI MIKLÓS
NEMZETVÉDELMI EGYETEM
Doktori Tanács

Karvaly Gellért Balázs gyógyszerész százados

A kénmustár bőrfelszínről történő penetrációjának vizsgálata *in vivo* mikrodialízis modell segítségével

című doktori (PhD) értekezésének szerzői ismertetése és hivatalos bírálatai

Budapest
2008.

ZRÍNYI MIKLÓS NEMZETVÉDELMI EGYETEM

Karvaly Gellért Balázs gyógyszerész százados

A kénmustár bőrfelszínről történő penetrációjának vizsgálata *in vivo* mikrodialízis modell segítségével

című doktori (PhD) értekezésének szerzői ismertetése és hivatalos bírálatai

Témavezető:

(Prof. Dr. Fűrész József o. ezds.)
egyetemi magántanár

Budapest
2008.

A tudományos probléma megfogalmazása

A XX. században kifejlesztett tömegpusztító – vegyi, biológiai, radiológiai és nukleáris (CBRN) – fegyverek az emberiség és az élhető környezet minden egyéb eszköznél hatékonyabb és teljesebb elpusztítására adnak lehetőséget használóinak. Alkalmazásukat vagy az azzal való fenyegetést a civilizált világ elfogadhatatlannak tartja. Ennek ellenére 1914 és 1990 között ezek az eszközök – elsősorban a vegyi és nukleáris fegyverek – számos ország hadrendjébe bekerültek, és alkalmazásukra is egészen a közelmúltig akadnak példák. A nonproliferációs egyezmények és a több évtizede folyó, mára globálissá vált leszerelési kezdeményezések ellenére létük – különösen a terrorizmus révén – továbbra is katonai, a világ több pontján pedig környezeti fenyegetést is jelent, amely érinti az észak-atlanti régió országait, így hazánkat is [1].

A kénmustár (2,2'-diklórdietilszulfid; SM) a vegyi fegyverek összetevőjeként használható hólyaghúzó mérgező harcanyagok katonai szempontból legfontosabb képviselője. A vegyület számos állam haderejénél rendszeresítésre került, meglévő készleteit több ezer tonnára becsülik. Katonai alkalmazására a XX. században a mérgező harcanyagok közül a legtöbbször került sor. Az SM kiemelkedő jelentőségét ma rendkívüli toxicitása mellett előállításának kivitelezhetősége, valamint fizikai és kémiai tulajdonságai adják, melyek révén az aszimmetrikus hadviselés hatékony eszköze lehet [2].

Az SM katonai szempontból fontos biológiai hatásait a bőrön, a szemen és a légutakon fejti ki. A klinikai elváltozások hátterében álló irreverzibilis molekuláris folyamatok – a harcanyag azonnali felszívódása és gyors hatáskifejtése miatt – a kontaktust követően percek alatt végbemennek, azonban az első tünetek csak órák múlva jelentkeznek, amikor a patologiás folyamatok visszafordíthatatlanná váltak. Az emiatt legtöbbször későn észlelt elváltozások súlyossága, kiterjedtsége miatt megelőzésük és ellátásuk problémája e szervek egyike esetében sem megoldott. Ajánlások a bőrfelszínre jutó, folyadék halmazállapotú SM mentesítésével, valamint a különböző szervekben manifesztálódó sérülések fekvőbeteg-intézeti ellátásával kapcsolatban ismertek (utóbbiak a sérültek életbentartását és a tüneti kezelést célozzák), azonban hiányoznak a megelőzés, a korai diagnózis, az antidotum kezelés és a célzott terápia lehetőségei [3].

Az SM expozíció során leggyakrabban érintett szerv a bőr. A kontaktus következtében az epidermis és dermis sejtes állományának masszív nekrózisa, valamint az extracelluláris fehérjemátrix károsodása megy végbe, ami gyulladásos tünetek, vezikáció, ulceratio kialakulásához, illetve a dermis expozíciójához vezet, melyhez a szövetek felülfertőződése

társulhat. Bár a harcanyag a bőrön keresztül a szisztémás keringésbe is felszívódik – elsősorban a hematopoesis akut károsodását eredményezve –, a helyi tünetek legtöbbször önmagukban is tartós harcképtelenséget okoznak és hetekig tartó fekvőbeteg-intézeti kezelést tesznek szükségessé [4].

A CBRN fegyverek által megtestesített fenyegetés kezelése komplex védelmi erőfeszítéseket igényel, melyek fontos részét képezik a védelem-egészségügyi eszközök és eljárások. Az SM által okozott sérülések súlyossága és elhúzódó gyógyulása miatt a legcélszerűbb egészségügyi megközelítés az elváltozások kialakulásának megelőzése. Az elmúlt években leírásra kerültek olyan folyadékként, gélként illetve porként formulált összetételek, melyek a profilaktikus alkalmazás során – legalábbis állatkísérletekben – kimutathatóan mérsékelik a bőrbe jutó SM mennyiségét, illetve a fellépő bőrválasz intenzitását. E bőrvédő készítmények használata indokolt a vegyivédelmi ruházat elemeinek kapcsolódási pontjainál, ha védőruházat felöltésére nincs mód, vagy ha fontos szempont az általa okozott fizikai-pszichés stressz elkerülése, a mozgáskoordináció megtartása.

Hazánk fegyveres, rend-, polgár- és katasztrófavédelmi erőinek állománya, valamint az egészségügyi ellátást nyújtó szakszemélyzet kontaminált környezetben történő szolgálatteljesítésének elősegítése érdekében fontos, hogy a jövő védőkészítményei közül a hatékonyság és biztonságosság szempontjából egyaránt optimális formuláció kiválasztásra kerülhessen. Ehhez szükséges, hogy rendelkezésünkre álljanak olyan biológiai modellek, melyek alkalmasak a készítmények hatékonyságának hiteles vizsgálatára és összehasonlítására. Ilyen – *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokban alkalmazható – modelleket korábban több kutatócsoport bemutatott.

A korábban leírt *in vivo* modellek esetében az expozíciót követően mért biológiai jellemzők (pl. erythema, ödéma) értékelésével ítélték meg az összetételek hatékonyságát. E vizsgálati módszerek, bár az elváltozások súlyosságát és a gyógyulási folyamatokat jól modellezik, nehezen reprodukálhatók, a szubjektív ítéletalkotás miatt körülményesen hitelesíthetők, és nem nyújtanak összevethető, extrapolálható eredményeket. További nehézséget jelent, hogy a megfelelő adatmennyiséghez több modell esetében nagyszámú állat felhasználásával juthatunk, ami etikai és költségproblémákat vet fel. Mivel azonban az SM és az élő szervezet kölcsönhatásának megítéléséhez elengedhetetlen annak *in vivo* környezetben történő jellemzése, fontos feladat olyan modell létrehozása, amely a harcanyag bőrbe jutásának gyors és specifikus kimutatására nyújt lehetőséget, egyben alkalmas az SM penetrációját megakadályozó készítmények és eljárások hatékonyságának megítélésére és összevetésére.

Az értekezésben részletes bemutatásra kerül a probléma megoldása érdekében kifejlesztett *in vivo* modell. Lényege, hogy az SM bejutásakor a subcutan extracelluláris folyadék összetétele az exponált terület környezetében megváltozik, így követésével az SM expozíció mértéke jellemezhető. Ezt a hypodermisben folytatott mikrodialízissel oldottam meg, az SM hidrolízistermékeként megjelenő tiodiglikol (2,2'-tiodietanol; TDG) kimutatásával.

Célkitűzések

Az értekezés elkészítése során az alábbi célkitűzéseket tűztem ki:

1. Fő célom volt egy *in vivo* kísérletes modell megalkotása, mely alkalmas a bőrfelszínre jutó mérgező harcanyagok penetrációjának, valamint a harcanyagok és a bőrfelszín kontaktusát megakadályozó készítmények és eljárások hatékonyságának vizsgálatára. Kiemelten fontosnak tartottam, hogy biztosítva legyen a lehetőség:

    a. különösen veszélyes anyagok tartós felvitelére, azok párolgásának megakadályozásával;
    b. a bőrön áthatoló vegyületek, illetve metabolitjaik koncentrációjának folyamatos nyomon követésére.

2. Célom volt a mikrodialízis technika mintavételi módszerként történő adaptálása, a mintavétel körülményeinek részletes vizsgálata és optimalizálása *in vitro* és *in vivo* környezetben.

3. Célként tűztem ki a modell vegyületként alkalmazott kénmustár penetrációjának kimutatására alkalmas specifikus analit azonosítását, továbbá mennyiségi analitikai módszer kidolgozását a kiválasztott analit koncentrációjának kis térfogatú (<80 µl) vizes mintákban történő meghatározásához.

4. Célom volt a kifejlesztett modell kísérletes tesztelése, ezen belül:

    a. a kénmustár penetrációjának jellemzése a bőrfelszínre felvitt mennyiséggel összefüggésben;
    b. szakirodalomból ismert, mások által fejlesztett és vizsgált védőkészítmények hatékonyságának jellemzése;
    c. egy eddig kénmustár ellen preventív szerként nem alkalmazott készítmény tesztelése.

Kutatási módszerek

A TDG mikrodializátumokban történő mennyiségi meghatározásához gázkromatográfiás elválasztást követő pulzáló lángfotometriás detektálással fejlesztettem ki módszert. A méréseket kísérő standard használatával végeztem. A TDG és a kísérő standardként használt 3,3'-tiodipropanol (TDP) kimutatása heptafluorvajsavval képzett diészterük formájában történt.

Az állatkísérleteket hím Wistar patkányokon folytattam, ketamin/xylazin kombinációval történő intramuscularis altatást követően. A kénmustárt – minden állat esetében két ponton – folyadékként vittem fel a borotvált hasi bőrre. Az expozíciót okkluzív körülmények között folytattam 360 percig. Az *in vivo* modell fejlesztésekor 1,0; 2,0; 3,0 vagy 5,0 µl kénmustárt juttattam a bőrre, míg a bőrfelszíni védőkészítmények hatékonyságának vizsgálata során a felvitt térfogat 2,0 µl volt. A védőkészítmények között egy nanorészecskéket és antioxidánsokat tartalmazó gél (HP01), a Fomblin Y45® olaj (HP02) és a Pasta Zinci Oxydati néven forgalmazott gyógyszertári készítmény (HP03) szerepelt. A készítményekkel a kénmustár felcseppentését megelőzően fedtem a bőrt.

A folyamatos mintavételt a subcutan zsírszövetben folytatott mikrodialízissel hajtottam végre. A mintavételi körülményeket *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokban részletesen vizsgáltam. A dialízist az expozíció teljes időtartama alatt folytattam, 20 perces frakciók gyűjtésével. A tiodiglikol *in vivo* kinyerési hányadosát retrodialízis módszerrel határoztam meg.

Az expozíció után 24 órával az érintett bőrterületeket kimetszettem és azokat hematoxilin-eozin festést követően fénymikroszkóp alatt vizsgáltuk.

A kénmustár penetrációját a tiodiglikol koncentráció-profilokból számított modellfüggetlen toxikokinetikai jellemzők elemzésével jellemeztem. A védőkészítmények hatékonyságának megítéléséhez az átlagos maximális koncentrációt ($\underline{c}_{max}$), illetve az expozíció első 60 percében ($\underline{AUC}_{0\text{-}60}$) és teljes időtartamán belül ($\underline{AUC}$) kapott görbe alatti területet számítottam ki.

Eredmények

A tiodiglikol mennyiségi meghatározása gázkromatográffal kapcsolt pulzáló lángfotometriás detektorral

A gázkromatográfiás elválasztást követő pulzáló lángfotometriás detektálás megfelelő módszernek bizonyult a tiodiglikol minőségi és mennyiségi analízisére mikrodializátumokban. Az analitikai folyamat során 3,3'-tiodipropanolt használtam kísérő standard vegyületként. Preanalitikai módszert dolgoztam ki, amely lehetővé tette az interferáló vegyületek eltávolítását, a minták analit-koncentrációjának megnövelését, valamint a TDG és a TDP gázkromatográfálását. Az analitot és a kísérő standardet származékképzést követően, tiodiglikol heptafluorvajsav-diészter (TDG-HFBA) és a tiodipropanol heptafluorvajsav-diészter (TDP-HFBA) formájában határoztam meg. A származékképzési reakciók 10 perc alatt reprodukálhatóan lejátszódtak. A szennyező komponensek folyadék-folyadék extrakcióval történő eltávolítását követően a származékok alapvonalig elválasztott csúcsként voltak detektálhatók, interferáló csúcsok jelenléte nélkül. A tiodiglikol minőségi kimutatási határa 0,200 nmol ml^{-1}, a mennyiségi kimutatás alsó határa 0,364 nmol ml^{-1} volt. A c_{TDG}/c_{TDP} arány, valamint a TDG-HFBA és a TDP-HFBA esetében kapott csúcsmagasságok négyzetgyökének hányadosa közötti összefüggés – három mintasorozat mérési eredményei alapján – a 0,41-3,69 nmol ml^{-1} (50,0-450,2 ng ml^{-1}) koncentráció-tartományban lineáris volt, a mennyiségi méréseket ezért ebben a tartományban végeztem.

A módszer pontosságát három eltérő TDG tartalmú, precizitását öt azonos TDG tartalmú oldat mérésével vizsgáltam. A mérési pontosság vizsgálatakor a mért koncentráció-értékek a névleges töménységektől 1,64-7,26%-kal tértek el. A precizitás meghatározására öt alkalommal előkészített és lemért oldatban a mért TDG koncentráció a névleges értéktől 1,09-7,01 %-kal tértek el; az eredmények relatív standard deviációja 2,75% volt.

A tiodiglikol kinyerése mikrodialízissel

A TDG és az alkalmazott mikrodialízis rendszer kölcsönhatásának vizsgálata céljából a vegyület vizes oldatában 1,0–20 µl min^{-1} áramlási sebesség között végeztem dialízist. A vegyület kinyerési hányadosa a dializátum áramlási sebességének növelésével folyamatos, exponenciális csökkenést mutatott. 2,0 µl min^{-1} áramlási sebesség mellett a kinyerési

hányados 55,50±5,49 % volt. Ez az áramlási sebesség megfelelő időközönként történő, a mérésekhez szükséges térfogat biztosító minták gyűjtését tette lehetővé.

In vivo vizsgálatokat végeztem annak meghatározására, hogy a TDG a kénmustár bőrfelszínre jutását követően specifikusan megjelenik-e a subcutan extracelluláris térben. Kénmustár-expozíció hiányában nem volt TDG a subcutan dializátumokban, azonban már az első dializátumban megjelent a harcanyag bőrre juttatása után, és a mintagyűjtési időszak végéig kimutatható maradt. Koncentrációjának alakulására ebben az időtartamban egyrekeszes kinetikai modell szerinti görbeillesztés volt lehetséges. A TDG subcutan koncentrációjának pontos méréséhez retrodialízis módszerrel határoztam meg a vegyület *in vivo* kinyerési hányadosát, amely 54,1±7,2%-nak adódott.

A bőrfelszínre felvitt kénmustár felszívódásának idő- és dózisfüggése

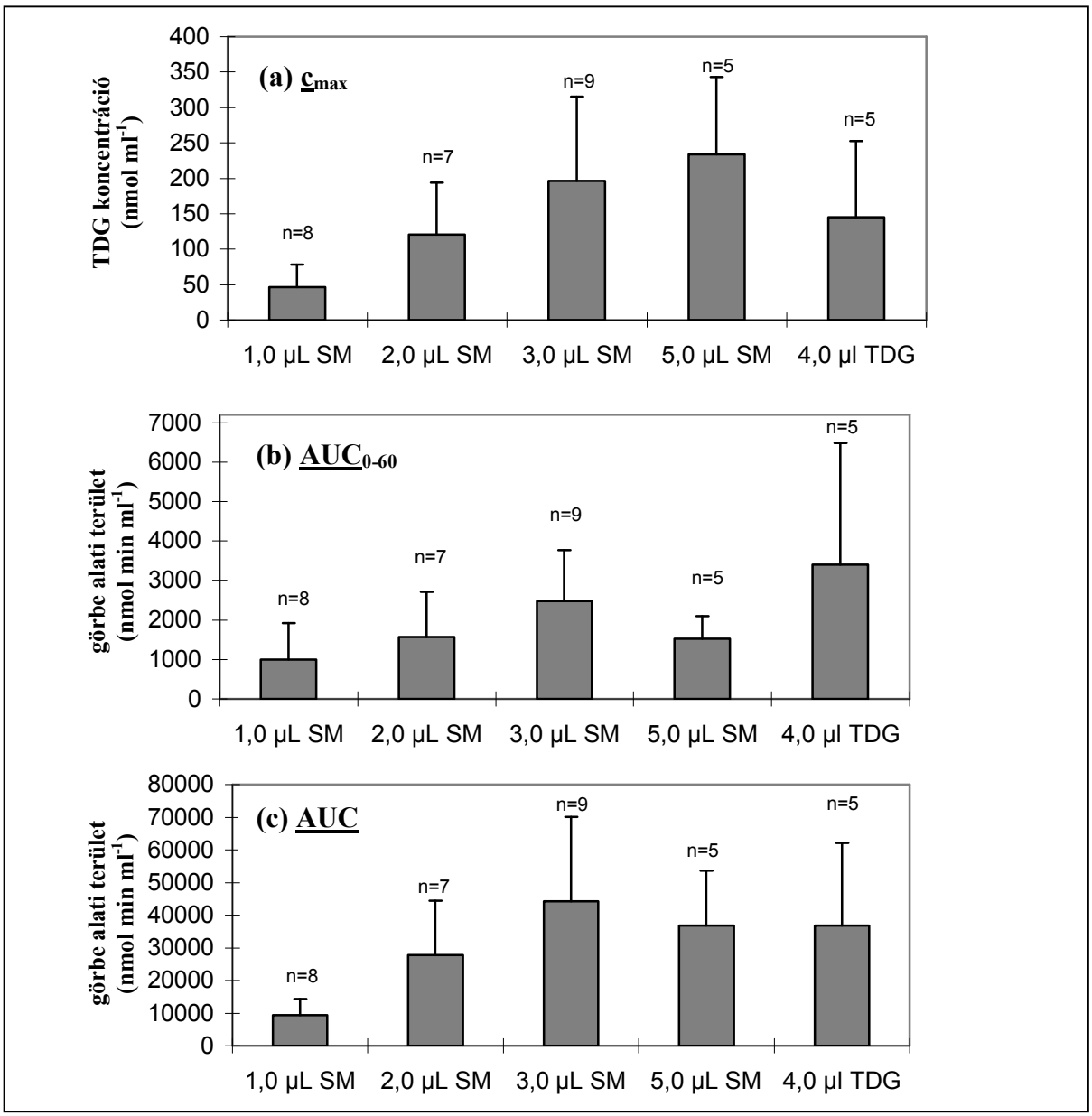
A TDG subcutan koncentrációjának alakulását 1,0 – 5,0 µl SM dózis felvitelét követően vizsgáltam. 1,0 µl SM felvitelekor a kísérletek 50 %-ában, 2,0 µl alkalmazása után az esetek 86%-ában, 3,0 és 5,0 µl dózis esetén minden vizsgálatban azonnal megjelent a TDG a gyűjtött mintákban a harcanyag felvitelét követően. A vegyület dózistól függetlenül kimutatható volt a 40-360. perc között gyűjtött frakciókban.

Az SM dózis és a subcutisban megjelenő TDG-mennyiség között a TDG koncentráció-profilok elemzésével kapott maximális koncentráció (c_{max}), a maximális koncentráció eléréséhez szükséges idő ($t_{max;0-360}$), az első mintában mérhető koncentráció (c_{0-20}), a 0-60. perc között számított görbe alatti terület (AUC_{0-60}), valamint a teljes expozíciós időtartamra számított görbe alatti terület (AUC) átlagos értékeinek vizsgálatával kerestem összefüggést. Az SM dózis emelésekor 1,0-3,0 µl tartományban mindegyik érték monoton nőtt (*1. ábra*). A $\underline{c}_{max}$, az $\underline{AUC}_{0-60}$ és az $\underline{AUC}$ esetében szignifikáns lineáris korrelációt tapasztaltam a fenti dózistartományban az SM mennyisége és a kapott értékek között (*1. ábra*). A 3,0 és 5,0 µl SM felvitele esetében kapott értékek minden paraméter esetében közeli egyezést mutattak.

A kénmustár bőrfelszínről történő felszívódása következtében kialakuló szöveti morfológiai elváltozások

Az SM dózis és a bőrben fellépő szöveti károsodás közötti összefüggést az exponált területekről készült szövettani metszetek mikroszkópos vizsgálatával elemeztem. 1,0 µl SM

felvitele után a dermisben és a hypodermisben ödéma jelent meg, e rétegek fellazultak, határaik elmosódtak, és a rétegek több ponton egymásba csúsztak. 2,0 µl SM alkalmazását követően ugyanezek az elváltozások súlyosabb formában jelentek meg. A dermis és a subcutan zsírszövet teljesen összeolvadt. A subcutan fascia felszakadozott, helyenként eltűnt. 3,0 µl SM alkalmazásakor a dermis és a subcutan zsírszövet elfolyósodó nekrózisa volt megfigyelhető, a szöveti válasz a vázizom felszíni rostjait is érintette. 5,0 µl SM felvitele után a szövettani kép ettől jelentős eltérést nem mutatott, azonban az érintett terület kiterjedtebb volt.



1. ábra: 360 perces TDG koncentráció-profilokból számított (a) c_{max}, (b) AUC_{0-60} és (c) AUC értékek 1,0-5,0 µl SM, illetve 4,0 µl TDG felvitelét követően.

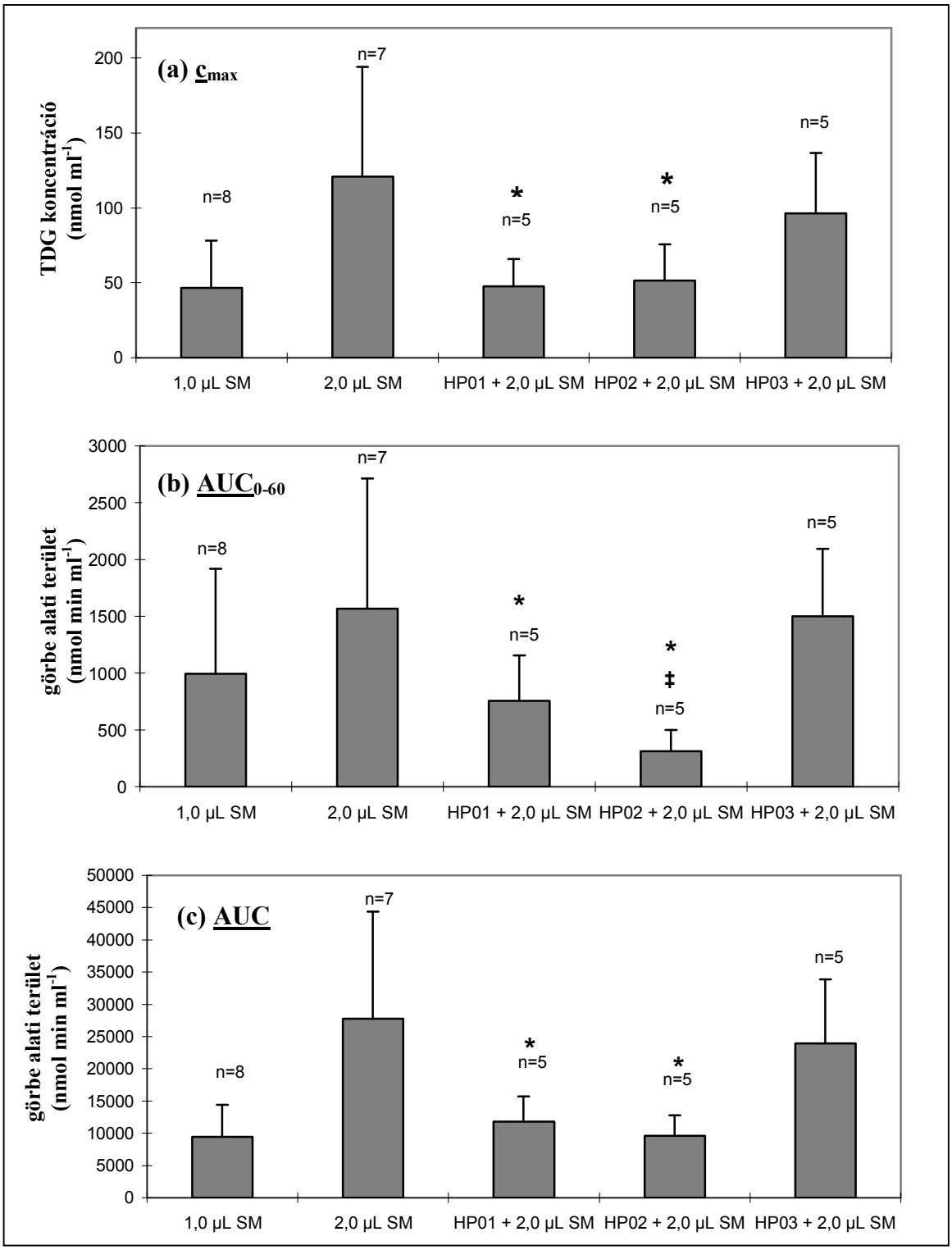
Bőrfelszíni védőkészítmények hatékonyságának vizsgálata

A modell alkalmasságát három bőrfelszíni készítmény SM bőrbe jutására gyakorolt hatásának vizsgálatával teszteltem. A nanorészecskéket és antioxidánst tartalmazó készítmény felvitelét követően a 0-20. perc között gyűjtött dializátumokban öt eset közül háromban mutattam ki TDG-t. Az analit legfeljebb a 40. perc után megjelent. A Fomblin Y45® alkalmazásával végzett öt vizsgálat közül három esetben a 20-40. perc között vett frakcióban, míg egy esetben csak 40 perc után jelent meg. A Pasta Zinci Oxydati alkalmazásakor a TDG minden vizsgálatban megjelent az első 20 percben vett frakciókban. A vegyület mindhárom készítmény alkalmazásakor kimutatható volt a további mintákban. A Fomblin Y45® készítmény használatakor az SM felvitele utáni 60. és 360. perc között az átlagos TDG koncentráció lineárisan emelkedett.

A Pasta Zinci Oxydati alkalmazásakor egyik toxikokinetikai jellemző esetében sem tapasztaltunk szignifikáns csökkenést az előkezelés nélkül kapott értékekhez képest. A nanorészecskéket és antioxidánst tartalmazó készítmény és a Fomblin Y45® felvitele után ezzel szemben szignifikánsan alacsonyabb $\underline{c}_{max}$, $\underline{AUC}_{0-60}$ és $\underline{AUC}$ értékeket kaptunk, mint 2,0 µl SM előkezelés nélkül történő alkalmazásakor. A HP02 felvitele esetében kapott $\underline{AUC}_{0-60}$ az 1,0 µl SM előkezelés nélkül történő felvitelekor kapott értékekhez képest is szignifikánsan alacsonyabb volt (*2. ábra*).

Tiodiglikol kimutatása a hypodermisben bőrfelszínről történő felszívódását követően

4,0 µl TDG bőrfelszínre történő juttatása után a vegyület az összes kísérletben, azok teljes időtartamában kimutatható volt a subcutan mikrodializátumokban. A koncentrációk kezdetben gyorsan emelkedtek; öt vizsgálat közül háromban platót értek el, egy esetben lassú emelkedést, egy esetben pedig némi csökkenést mutattak. A TDG felvitelével végzett kísérletek során a bőrben nem tapasztaltam morfológiai elváltozást.



2. ábra. 360 perces subcutan TDG koncentráció-profilokból számított (a) c_{max}, (b) AUC_{0-60} és (c) AUC értékek védőkészítmények felvitelével végzett vizsgálatokban. Összehasonlítás-képpen feltüntetésre kerültek az 1,0 és 2,0 µl SM előkezelés nélküli felvitelét követően kapott értékek. A * szignifikáns eltérést jelöl a 2,0 µl SM felvitelekor, a ‡ az 1,0 µl SM felvitelekor kapott értéktől ($p<0,05$).

Összegzett következtetések

1. A tiodiglikol heptafluorvajsavval képzett diésztere formájában érzékenyen detektálható és tiodipropanol kísérő standardként történő használatával mikrodializátumokban mennyiségileg meghatározható gázkromatográffal kapcsolt pulzáló lángfotometriás detektor segítségével. A mintaelőkészítés és a mérés rövid idő alatt, megfelelő reprodukálhatósággal és költséghatékonyan végrehajtható.

2. A tiodiglikol megjelenése a subcutan extracelluláris térben a kénmustár bőrfelszínről történő bejutásának specifikus és azonnali bizonyítéka.

3. Összefüggés van a bőrfelszínre jutó kénmustár és (1) a subcutan mikrodializátumokban mért tiodiglikol maximális koncentrációja, valamint a koncentrációkból számított (2) 60 perces és (3) 360 perces görbe alatti területek között.

4. Az értekezésben bemutatott modell alkalmas a kénmustár bőrbe jutásának igazolására, valamint a penetrációt befolyásoló készítmények és eljárások hatékonyságának megítélésére.

5. A kénmustár bőrbe jutása hatékonyan gátolható megfelelő nanorészecskéket és antioxidánsokat tartalmazó gélek, illetve a Fomblin Y45® profilaktikus alkalmazásával.

Új tudományos eredmények

- Kísérleti munkám során *in vitro* és *in vivo* kísérletekkel optimalizáltam a mikrodialízis technikát a patkány bőr subcutan szöveti tér vizsgálatára.

- Mikroanalitikai módszert dolgoztam ki a kénmustár perkután penetrációjának jellemzésére alkalmas specifikus analit, a tiodiglikol vizes fázisból történő kimutatására.

- Szövettani vizsgálattal jellemeztem a kénmustár patkányok bőrére gyakorolt hatását.

- *In vivo* altatott patkány modellen, mikrodialízis segítségével vizsgáltam a kénmustár perkután penetrációját az idő és a koncentráció függvényében. Ennek részeként félkvantitatív összefüggéseket tártam fel a bőrfelszínre felvitt kénmustár mennyisége és a subcutan tiodiglikol koncentráció-idő görbékből számítható toxikokinetikai jellemzők között. Ezt követően igazoltam, hogy a kifejlesztett modell alkalmas a kénmustár bőrfelszínről történő felszívódását megakadályozó profilaktikus készítmények vizsgálatára.

- Egy korábban kénmustár elleni védelem céljából nem alkalmazott, nanorészecskéket és antioxidánsokat tartalmazó bőrvédő készítményről igazoltam, hogy – feltehetően kémiai kölcsönhatás révén – akadályozza a kénmustár bőrfelszínről történő felszívódását.

Az eredmények felhasználására vonatkozó ajánlások

Javaslom a kifejlesztett kémiai analitikai módszer alkalmazását:

- tiodiglikol kis térfogatú (akár 15 µl) biológiai mintákban (mikrodializátumok, vér, vizelet, nyál, szöveti extracelluláris folyadék) történő mennyiségi meghatározására a kénmustár-expozíció igazolása céljából;

- egyéb mustár típusú hólyaghúzó vegyületek hidrolízistermékeinek mikrodializátumokból és egyéb, kis térfogatú (akár 15 µl) biológiai mintákból történő mennyiségi meghatározására a mustár típusú hólyaghúzó vegyületekkel szembeni expozíció igazolása céljából.

Javaslom a kifejlesztett állatkísérletes modell alkalmazását:

- a kénmustár bőrfelszínről történő felszívódását megakadályozó védőkészítmények hatékonyságának *in vivo* vizsgálatára és összehasonlítására;

- a kénmustár felszívódásának, valamint valamint az azt meggátló védőkészítmények hatékonyságának többszempontú vizsgálatára a mások által kifejlesztett *in vivo* modellekkel történő kombináció révén;

- mustár típusú hólyaghúzó vegyületek bőrfelszínről történő felszívódásának, valamint az azt megakadályozó védőkészítmények hatékonyságának vizsgálatára hidrolízis-termékeik subcutan extracelluláris koncentrációjának monitorozása révén;

- egyéb vegyi harcanyagok bőrfelszínről történő felszívódásának, valamint az azt megakadályozó védőkészítmények hatékonyságának vizsgálatára alkalmas analit subcutan extracelluláris koncentrációjának monitorozása révén;

- mérgek bőrfelszínről történő felszívódásának többszempontú vizsgálatához kifejlesztendő modellek részeként.

Az értekezés tárgyával kapcsolatos publikációk és előadások jegyzéke

1. **Karvaly G**, Halász L, Fűrész J, Solymosi J: Szaddam Huszein vegyi fegyverei. *Hadtudomány* **13** (3-4) (2003); 36-45.

2. **Karvaly G**, Gachályi A, Boldis O, Mátyus M, Kocsis Gy, Némethné Karpova N, Fűrész J: A fegyverként alkalmazható toxinok méregtani és bioanalitikai vonatkozásai. *Honvédorvos* **56** (2003); 62-77.

3. **Karvaly G**, Gachályi A, Boldis O, Mátyus M, Kocsis Gy, Némethné Karpova N, Fűrész J: A kénmustár sorsa a szervezetben. *Honvédorvos* **56** (2003); 78-95.

4. Fűrész J, Gachályi A, Kocsis G, **Karvaly G**, Boldis O: Mass selective detection of amphetamine, metamphetamine and related compounds in urine. *J Chrom Sci* **42** (2004); 259-63.

5. **Karvaly G**, Fűrész J, Gachályi A, Mátyus M, Farkas R, Kocsis Gy, Némethné Karpova N, Boldis O: Egyéni mentesítés enzimek alkalmazásával mérgező harcanyagokkal szembeni expozíciót követően. *Honvédorvos* **56** (2004); 315-26.

6. **Karvaly G**, Boldis O, Némethné Karpova N, Kocsis Gy, Mátyus M, Farkas R, Gachályi A, Fűrész J: A kénmustár minőségi és mennyiségi kimutatása biológiai mintákból. Szóbeli előadás. MH Orvosi Tudományos Tanács Tudományos Konferenciája, Budapest , 2004. március 17.

7. **Karvaly G**, Farkas R, Boldis O, Némethné Karpova N, Gachályi A, Fűrész J: Tiodiglikol mennyiségi meghatározása *in vivo* mikrodializátumokban gázkromatográffal kapcsolt pulzáló lángfotometriás detektor (PFPD) segítségével. Poszter előadás, Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Hévíz, 2004. szeptember 22-24.

8. **Karvaly G**, Gachályi A, Fűrész J: Quantitative analysis of the sulfur mustard hydrolysis product thiodiglycol (2,2'-sulfobisethanol) in in vivo microdialysates using gas chromatography coupled with pulsed flame photometric detection. *J Chrom Sci* **43** (2005); 319-23.

9. **Karvaly G**, Gachályi A, Fűrész J: Az *in vivo* mikrodialízis alkalmazásának lehetősége a kénmustárral szembeni expozíció tanulmányozásában. Szóbeli előadás. MH Orvosi Tudományos Tanács Tudományos Konferenciája, Budapest , 2005. március 17.

10. **Karvaly G**, Jäckel M, Némethné Karpova N, Gachályi A, Fűrész J: Komplex *in vivo* modell a bőrfelszínre jutó kénmustár penetrációjának tanulmányozására mikrodialízis technika és szövettani vizsgálatok segítségével. Szóbeli előadás. MH Orvosi Tudományos Tanács Tudományos Konferenciája, Budapest, 2006. június 14.

11. **Karvaly G**, Némethné Karpova N, Gachályi A, Fűrész J: *In vivo* modell a bőrfelszínre felvitt kénmustár penetrációjának tanulmányozására mikrodialízis technika segítségével. Szóbeli előadás. Tox'2006 Konferencia, Magyar Toxikológusok Társasága, Galyatető, 2006. október 6.

12. **Karvaly G**, Gachályi A, Fűrész J: Application of *in vivo* microdialysis for studying the efficacy of protective preparations against sulfur mustard penetrating the skin. *J Appl Toxicol* **28** (2008); 21-6.

Hivatkozott irodalom

[1] Treble A: Chemical and biological weapons: possession and programs past and present. Center for Nonproliferation Studies, Monterey, 2002. http://cns.miis.edu/research/cbw/possess.htm (2008. április 15.)

[2] Dacre JC, Goldman M: Toxicology and pharmacology of the chemical warfare agent sulfur mustard. *Pharm Rev* **48** (1996); 289-326.

[3] Graham JS, Chilcott RP, Rice P, Milner SM, Hurst CG, Mallner BI: Wound healing of cutaneous sulfur mustard injuries: strategies for the development of improved therapies. *J Burns Wounds* **4** (2007); 1-45.

[4] Sidell FR, Urbanetti JS, Smith WJ, Hurst CG: Vesicants. In: Zajtchuk R, Bellamy RF (eds): *Textbook of Military Medicine Part 1: Warfare, Weaponry, and the Casualty. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare.* Office of the Surgeon General, Department of the Army, Washington DC, 1997. p. 197-228.

Karvaly Gellért Balázs gyógyszerész százados szakmai-tudományos életrajza

Karvaly Gellért Balázs 1978. augusztus 24-én született Szegeden. Érettségi vizsgáját a szegedi Deák Ferenc Gimnáziumban tette le 1996-ban. 1996 és 2001 között a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Karának hallgatója volt, 2001-ben okleveles gyógyszerész és angol-magyar egészségügyi szakfordító diplomát szerzett. Egyetemi tanulmányai ideje alatt 1999 és 2001 között az Oktatási Minisztérium Köztársasági Ösztöndíjában, illetve a Honvédelmi Minisztérium Tanulmányi Ösztöndíjában részesült. Angol nyelvből „C" típusú felsőfokú valamint NATO STANAG 3.3.3.3 szintű nyelvvizsgával, német nyelvből középfokú „C" típusú nyelvvizsgával rendelkezik.

1998 és 2001 között a Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszerkémiai Intézetében tudományos diákköri munkát végzett. Az egyetem által 2000-ben megrendezett Tudományos Diákköri Konferencián III. helyezést ért el. 1999 és 2001 között az SZTE Gyógyszerésztudományi Kar dékánjától demonstrátori megbízást kapott, amely értelmében részt vett az egyetemi oktatásban.

2004-ben elvégezte az Organization for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW) „Course on Analytical Skills Development" elnevezésű kémiai kurzusát. 2006-ban minőségügyi munkatárs és minőségügyi megbízott képesítést szerzett.

2001 óta a Magyar Honvédség hivatásos tisztjeként teljesített szolgálatot különböző beosztásokban. 2002 óta a Zrínyi Miklós Nemzetvédelmi Egyetem Katonai Műszaki Doktori Iskola doktorandusz hallgatója. Tagja a Magyar Hadtudományi Társaságnak, a Magyar Gyógyszerész Kamarának, a Magyar Gyógyszerészeti Társaságnak, valamint a Magyar Elválasztástudományi Társaságnak.

Szolgálati adatok:

- MH Egészségügyi Kiképző Központ, Költségvetési és Ellenőrző Részleg (gyógyszerész, 2001-2002)

- Zrínyi Miklós Nemzetvédelmi Egyetem, Vegyi és Környezetbiztonsági Tanszék (doktorandusz, 2002-2003)

- MH Egészségvédelmi Intézet, Toxikológiai Kutató Osztály (egészségügyi tiszt, 2003-2007)

- MH Dr. Radó György Honvéd Egészségügyi Központ, Tudományos Intézet, Toxikológiai Kutató Osztály (egészségügyi tiszt, 2003-2007)

- Állami Egészégügyi Központ, Központi Laboratóriumi Diagnosztikai Osztály (gyógyszerész, 2007-)