

**A Gyógyszerészeti Tudományok Doktori
Iskola szimpóziumának absztrakt kiadványa**

2022. június 20.

Michael Magdy Fahmy Girgis

Supervisor: László Horváth

Number of active semesters: 2

Use of Complementary and Alternative Medicine Among Patients With Epilepsy and Diabetes Mellitus, Focusing on the Outcome of Treatment

Workplace: Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Surveillance and Economics

Introduction: Epilepsy is widely spread and requires long-term drug treatment. The aims of this study were to determine the prevalence of complementary and alternative medicine (CAM) use among patients with epilepsy, to compare the results to those of the patients with diabetes mellitus (DM), to reveal driving factors of CAM use, to measure outcomes and adherence and to get information about CAM use by those patients in our region.

Materials and Methods: We conducted a non-interventional study using a self-developed questionnaire distributed among adult patients with either epilepsy or DM who also suffered from cardiovascular consequences. A database was compiled from the anonymous questionnaires filled in voluntarily by the patients. Basic statistics were used to analyze this database.

Results: A total of 227 questionnaires were filled in by 127 patients (55.9%) with epilepsy and 100 patients (44.1%) with DM. Mean age was 54.54 ± 17.33 years. Of the patients, 50.2% were male. Average body weight was 80.3 ± 17.3 kg. Of the patients, 22 (9.7%) used CAM because they believed in CAM. Two of them reported ADRs. Among Epileptic patients, the ratio was only 7.9% compared to 12% among those with DM. While the number of CAM users was higher among younger patients with epilepsy, it was the elderly patients with DM who tended to use CAM.

Conclusion: Health-conscious patients tend to use CAM more often (than the general population). CAMs modulating cytochrome P450 (CYP) enzymes were the most common, leading to interactions with medication used and resulting in ADRs.

Publications published so far, which form the basis of the future dissertation:

Girgis MMF, Fekete K, Homoródi N, Márton S, Fekete I, Horváth L. Use of Complementary and Alternative Medicine Among Patients With Epilepsy and Diabetes Mellitus, Focusing on the Outcome of Treatment. Front Neurosci. 2022 Jan 11;15:787512. doi: 10.3389/fnins.2021.787512. PMID: 35087374; PMCID: PMC8787116.

Dr. Pham Le Khanh Ha

Témavezető: Dr. Kovácsné dr. Bácskay Ildikó Katalin

Aktív félévek száma: 8

Comparative study of different PEG:ketoprofen solid dispersions

Munkahely: Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai Tanszék

Solid dispersions are an innovative way of drug delivery for APIs with low water solubility. They are proven to enhance the drug bioavailability by increasing the solubility and dissolution rate of poorly-water soluble drug in gastrointestinal fluids.

Our aim was to formulate solid dispersions with an API which is ketoprofen and a vehicle which is polyethylene glycol (PEG), without any other excipient to study the effect of molecular weight on the physical and pharmacokinetic properties of solid dispersions. We formulated solid dispersions in a 1:9 ratio with PEG 1000, 1500, 2000, 4000, 8000, 10000, 12000 and 20000.

Dissolution studies were carried out with 100 mg solid dispersion loaded into one capsule in both phosphate buffer (pH = 6.8) and acid buffer (pH = 1.2) as the dissolution medium. At the specified times, samples were withdrawn, filtered, and measured for the ketoprofen content. Solubility improving effect of pure PEGs was studied as well. The ketoprofen was dissolved in different PEG solutions excessively at the following concentration 1% m/v, 5% m/v, 10% m/v, 20% m/v. These solutions were stirred continuously for 72 hours, centrifuged and the supernatants were collected after the centrifugation and diluted in ethanol in a 1:9 ratio and measured for ketoprofen content. Additionally, the FT-IR and PXRD studies were carried out to physically analyse the formulations.

Overall, only the PEGs with low molecular weight resulted in stable solid dispersions according to the FT-IR and PXRD studies, as the other formulations contained crystallized form of ketoprofen as well.

Publications published so far, which form the basis of the future dissertation:

„Comparative investigation of cellular effects of polyethylene glycol (PEG) derivatives”

Polymers 2022, 14(2), 279; <https://doi.org/10.3390/polym14020279>

Csige Katalin

Témavezető: Dr. Hajdu István

Aktív félévek száma: 6

Radiojelölt ciklodextrin származékok farmakokinetikai karakterizálása pozitron emissziós tomográfia segítségével

Munkahely: Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Képző Intézet, Nukleáris Medicina Tanszék

Célkitűzés: A ciklodextrinek csonka kúp alakú semleges glükóz oligomerek. Kiváló gyógyszerhordozó tulajdonságaik mellett egyes β -ciklodextrinek az FDA által elfogadottan önmagukban is gyógyszernek minősülnek. Ilyen β -ciklodextrin pl a hidroxipropil-béta-ciklodextrin (HPBCD), melyet azügynevezett Niemann-Pick ritka gyógyíthatatlan gyermekbetegség terápiájában használnak, illetve a random metilezett béta-ciklodextrin (RAMEB), amely az ízületi gyulladáshoz fájdalom csillapításában használható. Továbbá korábbi kutatások arról is beszámoltak, hogy a random-metilezett-béta-ciklodextrin, (RAMEB) nagy affinitást mutat a daganatok által expresszált, PGE-2-vel történő komplexképzés felé. Ezen eredmények alapján a radioaktívan jelzett ciklodextrinek - mint új radiofarmakonok- új utat nyithatnak a PGE2 pozitív daganatok in vivo diagnosztikájában, tovább bővítve a ciklodextrinek alkalmazását. A kutatómunka célja: PGE2 specifikus, Gallium-68 (^{68}Ga) jelzett NODAGA-random-metilezett-béta-ciklodextrin (^{68}Ga -NODAGA-RAMEB) szintetizálása, és tulajdonságainak vizsgálata volt.

Eredmények: A szerves kémiai reakciók reprodukálhatók voltak, az átlagos hozam 80% körül adódott. A minőségellenőrzési és szerkezetazonosítási vizsgálatok egyértelműen bizonyítják, hogy a kívánt terméket állítottuk elő. A radiojelölés után a ^{68}Ga -NODAGA-RAMEB radiokémiai tisztasága (RCP%) 98%-nál magasabb volt. A stabilitás vizsgálatok esetén azt tapasztaltuk, hogy a termékünk legalább 120 percig stabil maradt. In vivo vizsgálataink során BxPC-3 és PancTu-1 tumort hordozó CB17 SCID egereket használtunk. A ^{68}Ga -NODAGA-RAMEB intravénás beinjektálása után Pozitron Emissziós Tomográfia (PET), és gamma counterrel vizsgáltuk a farmakon akkumulációját a tumorokban és különböző szövetekben.

Konklúzió: Munkánk során sikerült NODAGA kelátorral módosított random-metilezett-béta-ciklodextrin származékot előállítani, majd Gallium-68 radioizotóppal megjelölni. Biodisztribúciós vizsgálataink azt mutatták, hogy a ^{68}Ga -NODAGA-RAMEB jelentős mértékben halmozódott a PGE2 pozitív BxPC-3 tumorokban. A halmozás megközelítőleg 15-20-szor nagyobb, mint a háttér, ezáltal a ^{68}Ga -jelzett RAMEB ígéretes radiotracer lehet a PGE2 pozitív tumorok PET diagnosztikájában.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik: György Trencsényi, Adrienn Kis, Judit P. Szabó, Ágnes Ráti, Katalin Csige, Éva Fenyvesi, Lajos Szenté, Milo Malanga, Gábor Méhes, Miklós Emri, István Kertész, Miklós Vecsernyés, Ferenc Fenyvesi, István Hajdu: In vivo preclinical evaluation of the new ^{68}Ga -labeled beta-cyclodextrin in prostaglandin E2 (PGE2) positive tumor model using positron emission tomography International Journal of Pharmaceutics (2020)

Dr. Pető Ágota

Témavezető: Dr. Kovácsné dr. Bácskay Ildikó Katalin
Aktív félévek száma: 8

Philadelphus coronarius tartalmú kenőcsök formulálása és vizsgálata

Munkahely: DE GYTK, Gyógyszertechnológiai Tanszék

A gyógynövények gyógyászati alkalmazása töretlen népszerűségnek örvend, jótékony hatásuk miatt a betegek körében nagy a kereslet a gyógynövényeket tartalmazó készítményekre. A *Philadelphus coronarius*-t a népi gyógyászatban előszeretettel alkalmazzák különböző betegségek kezelésére, antimikrobiális valamint feltételezett gyulladáscsökkentő hatása ismert, ám tudományosan mégis kevésbé kutatott terület, külsőleges gyógyszerforma nem áll rendelkezésünkre belőle.

Munkám során célkitűzésem volt O/V típusú emulziós kenőcsök formulálása *P. coronarius* levél vagy virág liofilezett kivonatának felhasználásával, különböző penetrációfokozó segédanyagok hozzáadásával, majd a kenőcsök *in vitro* diffúziós vizsgálata és textúra analízise. Emellett célom volt a hatóanyag antimikrobiális vizsgálata, valamint a formuláció során felhasznált segédanyagok és a kenőcsök biokompatibilitási vizsgálata.

A kenőcsök formulálását követően a hatóanyag diffúziója során a Tefose 63-at tartalmazó összetétel produkálta a legjobb kioldódási eredményeket. A konzisztencia vizsgálat a Tefose 63 tartalmú formulációk mutatták a legkeményebb konzisztenciát. Az MTT teszt eredményei alapján a kenőcsök és a felhasznált segédanyagok nem bizonyultak toxikusnak. A mikrobiológiai vizsgálatok eredményei alapján elmondhatjuk, hogy a növény virága nem, de a levele mutatott antimikrobiális tulajdonságokat.

A *P. coronarius* tartalmú kenőcsök a vizsgálatok során ígéretesnek bizonyultak, így a jövőben több indikációban is hasznos kiegészítése lehet az eddig alkalmazott terápiának.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Ágota Pető, Dóra Kósa, Ádám Haimhoffer, Pálma Fehér, Zoltán Ujhelyi, Dávid Sinka, Ferenc Fenyvesi, Judit Váradi, Miklós Vecsernyés, Alexandra Gyöngyösi, István Lekli, Péter Szentesi, Annamária Marton, Imre Gombos, Barbara Dukic, László Vigh, Ildikó Bácskay

Nicotinic Amidoxime Derivate BGP-15, Topical Dosage Formulation and Anti-Inflammatory Effect ,Pharmaceutics, 13, 2037, 2021

Ágota Pető, Dóra Kósa, Ádám Haimhoffer, Dániel Nemes, Pálma Fehér, Zoltán Ujhelyi, Miklós Vecsernyés, Judit Váradi, Ferenc Fenyvesi, Adina Frum, Felicia Gabriela Gligor, Laura Gratiela Vicas, Eleonora Marian, Tunde Jurca, Annamaria Pallag, Mariana Eugenia Muresan, Zoltán Tóth, Ildikó Bácskay

*cím: Topical Dosage Formulation of Lyophilized *Philadelphus coronarius* L. Leaf and Flower: Antimicrobial, Antioxidant and Anti-Inflammatory Assessment of the Plant*

folyóirat, oldalszám, évszám: Molecules, 27, 2652, 2022

Nagy József Bálint

Témavezető: Dr. Kardos Gábor

Aktív félévek száma: 8

Sirályokból, Dunából és emberekből származó karbapenem rezisztens *Escherichia coli* izolátumok összehasonlítása

Név: Nagy József Bálint

Munkahely: Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Télen nagyszámú Dankasirály (*Chroicocephalus ridibundus*) gyülekezik a Duna budapesti szakaszán. Kutatásunkban Dankasirályokból, a Dunából és humán klinikai mintákból származó karbapenem rezisztens bélbaktériumokat hasonlítottunk össze.

Előzetesen a Dunából 7, sirályokból (2019 és 2020) 6 illetve 8 karbapenem rezisztens *E. coli* (CRE) törzsek gyűjtöttünk. A kutatásba további 21 humán klinikai mintából származó törzset vontunk be.

A karbapenemáz gén eloszlás hasonló volt a madarak és dunai izolátumok között; a *bla_{NDM-1}* és *bla_{VIM-4}* gének fordultak elő, utóbbi minden esetben *bla_{NDM-1}*-el együtt volt jelen a törzsekben. A humán izolátumokban szintén a *bla_{NDM-1}* volt a leggyakoribb gén, de összességében jóval változatosabb eloszlás volt megfigyelhető. A korezisztencia mintázatok és értékek hasonlóak voltak a madár és dunai törzsek között és több rezisztencia gént is hordoztak a humán izolátumokhoz képest. Összesen 25 különböző szekvencia típust (ST) azonosítottunk a 42 *E. coli* törzsből: ST1437 törzseket 2019 és 2020-as sirály valamint 2020-as dunai mintákban is találtunk, ezek között 22-24 allélnyi különbségek voltak. ST410-es törzsek a dunában és a humán mintákban is előfordultak. Alapjában véve a dunai, sirály és humán törzsek különböző ST-kbe tartoztak és a humán törzsek viszonylagosan távol álltak a környezeti és állati izolátumoktól.

A folyók, mint a Duna számos ország határát átszelve és a sirályok kóborló és vándorló viselkedésük miatt fontos szerepet játszanak magas-kockázató CRE klónok és rezisztencia gének terjedésében még egy olyan országban is, ahol a CRE prevalenciája az embereken relatíve alacsony.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Nagy BJ, Balázs B, Benmazouz I, Gyüre P, Kövér L, Kaszab E, Bali K, Lovas-Kiss Á, Damjanova I, Majoros L, Tóth Á, Bányai K and Kardos G (2022) Comparison of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates From Rooks (*Corvus frugilegus*) and Contemporary Human-Derived Strains: A One Health Perspective. *Front. Microbiol.* 12:785411.

Katona Melinda

Témavezető: Dr. Csoma Eszter

Aktív félévek száma: 8

Humán polyomavírusok: DNS és szeroprevalencia

Név: Katona Melinda

Munkahely: Debreceni Egyetem, ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A 2007-ben felfedezett KI és WU humán polyomavírusok (KIPyV és WUPyV) patogén szerepe máig nem tisztázott. Felmerült, hogy mindkét vírus légúti megbetegedést okozhat, akár társfertőző vírus is lehet légúti megbetegedésekben.

Munkánk egyik célja volt, hogy SARS-CoV-2 pozitív és negatív légúti mintákban vizsgáljuk a KI és WU polyomavírusok jelenlétét. A mintákat 2020 augusztusa és 2021 októbere közt gyűjtöttük. Összesen 1030 mintából végeztünk multiplex, real-time PCR vizsgálatot. A 680 SARS-CoV-2 pozitív minták közül egy esetében WUPyV, míg kettő esetében KIPyV koinfekciót detektáltunk. Ugyanakkor a SARS-CoV-2 negatív minták közül szintén egyben mutattunk WUPyV, míg háromból KIPyV DNS-t. A SARS-CoV-2 pozitív mintákban tehát nem tapasztaltunk magasabb koinfekciós rátát. Sőt, az Olaszországból publikáltakkal ellentétben jóval alacsonyabb DNS prevalenciát tapasztaltunk.

Ezért munkánk másik célja volt vizsgálni, hogy a WU és KI polyomavírusok a populációban mennyire elterjedtek, a szeroprevalencia hasonló-e vagy eltér a világ néhány pontjáról már publikáltakétól. Továbbá felnőtt vesetranszplantáltak és hematológiai betegek szeroprevalenciáját is összevetettük felnőtt immunkompetens személyekével. Ezekhez a vizsgálatokhoz olyan indirekt ELISA módszert fejlesztettünk és optimalizáltunk, amelyhez a virális antigént is elő kellett állítanunk.

WUPyV szeroprevalenciát 705, míg a KIPyV esetén 692 szérum minta analízisével végeztünk, amelyeket 2016 és 2021 közt gyűjtöttünk. Mindkét vírus esetében az irodalmi adatokhoz hasonlóan magas szeropozitivitást mértünk: a felnőttek 93,7 %-a már átesett a KIPyV fertőzésen, míg ugyanez az arány WUPyV esetén 89,2 %-nak bizonyult. Mindkét vírussal való első találkozás jórészt kora gyermekkorban történik, mivel a 2-6 éves korcsoportban már >60%-ot meghaladó a szeropozitívak aránya. A vesetranszplantáltak és hematológiai betegek esetében alacsonyabb szeropozitivitást tapasztaltunk az egészséges személyekéhez képest, ami a gyengült humorális immunválasz a vírusok reaktivációjának lehetőségét veti fel.

Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a 2020 márciusa után bevezetett szigorú, az emberi társas érintkezéseket korlátozó intézkedések hatására visszaszorulhatott a WU és KI polyomavírusok terjedése.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Katona, M.; Jeles, K.; Kovács, R.; Csoma, E. KI and WU Polyomaviruses: Seroprevalence Study and DNA Prevalence in SARS-CoV-2 RNA Positive and Negative Respiratory Samples. Microorganisms 2022, 10, 752. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040752>

Forgács Lajos

Témavezető: Dr. Majoros László

Aktív félévek száma: 8

Posaconazole *in vitro* és *in vivo* hatékonyságának vizsgálata *Candida auris* izolátumok ellen

Munkahely: DE ÁOK, Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A Posaconazole egy jól alkalmazható antifungális szer az invazív *Aspergillus*, illetve *Candida* fertőzések kezelésére, azonban az olyan ritka *Candida* fajok esetén, mint a *Candida auris* még csak korlátozott adatok állnak a rendelkezésünkre a szer hatékonyságát illetően, ezért kutatómunkánk során *Candida auris* izolátumok Posaconazole érzékenységét kívántuk meghatározni.

Az *in vitro* tesztek során idő-ölés görbe vizsgálatokat (time-kill assay) végeztünk 11 *Candida auris* izolátumon. Az idő-ölés görbe vizsgálatához izolátumonként 5 gyógyszer koncentrációt határoztunk meg a vizsgált törzs MIC értékének függvényében. Fungicidnek abban az esetben tekintettünk egy adott koncentrációt, amennyiben az inokulum CFU (colony-forming unit) csökkenése nagyobb, mint $3 \log_{10}$, azaz 99.9%-os a csökkenés.

In vivo kísérleteinkben neutropéniás Balb/c egereket használtunk és kládonként 2-2, általunk reprezentatívnak ítélt törzset vizsgáltunk meg. A meghatározott koncentrációjú (10^7 gombasejt/egér) inokulumot a laterális farok vénán keresztül juttattuk az egerekbe. A fertőzést követő 5 napban végeztük az állatok antifungális kezelését Posaconazole-lal (6 mg/ttkg) intraperitoneálisan. A túlélési kísérlet során az állatok megfigyelését 21 napig végeztük.

Az *in vitro* tesztek során megállapítottuk a Posaconazole erélyes fungisztikus hatását a vizsgált törzsekkel szemben. Az *in vivo* vizsgálatok eredményei korreláltak az *in vitro* vizsgálatok eredményeivel, azaz a kísérlet terápiás szakaszáig a kezelt csoportokban nem volt megfigyelhető számottevő elhullás, majd az idő előrehaladtával, ahogy a gyógyszer koncentrációja a szövetekben lecsökkent, úgy nőtt az egyes csoportokban az elhullott egyedek száma is.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Tóth Zoltán, Forgács Lajos, Jeffrey Locke, Kardos Gábor, Nagy Fruzsina, Kovács Renátó, Székely Adrienn, Andrew Borman, Majoros László.

cím: In vitro activity of rezafungin against common and rare Candida species and Saccharomyces cerevisiae.

folyóirat, oldalszám, évszám: Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 74: 3505-3510, 2019.

közlemény impakt faktora: 5.439

Dr. Sinka Dávid Zsolt

Témavezető: Dr. Kovácsné Dr. Bácskay Ildikó Katalin

Aktív félévek száma: 8

Görögszéna kivonat tartalmú sedds formulálása és permeabilitási vizsgálatai

Munkahely: Debreceni Egyetem Gyógyszertechnológiai Tanszék

A görögszénamag fűszerként és tradicionális gyógynövényként használatos különböző gyógyászati célokra, főleg antidiabetikus és antioxidáns hatásainak köszönhetően. A növényi hatóanyagokból formulált önemulgeáló rendszereket (SEDDS) széles körben vizsgálják az elmúlt években, ezen vizsgálatok célja elsősorban a biohasznosulás és a stabilitás növelése. A kutatásunk célja görögszéna kivonat tartalmú SEDDS formulálása volt, mely stabilabbá teszi a növényi hatóanyagokat, és javítja a felszívódásukat Caco-2 sejteken keresztül. A kísérletekhez standardizált görögszénamag kivonatot használtunk fel, a SEDDS rendszerek tulajdonságait részecskeméret-analízissel és zéta potenciál mérésével határoztuk meg. A transzport kísérleteket Caco-2 sejtrétegeken végeztük el, amelyek integritását előzetes és utánkövetéses TEER mérésével ellenőriztük. A kezelések hatását a sejtleletképessegre MTT teszttel vizsgáltuk, végül egy indirekt kioldódási vizsgálatot elvégeztünk, DPPH antioxidáns reagens használatával. Két különböző SEDDS rendszert formuláltunk, melyek a nano- illetve mikroemulziós tartományba estek, és stabilitásuk kielégítő volt. A komponensek biohasznosulását sikerült növelnünk, és elnyújtott hatóanyag-leadást értünk el a HPMC kapszulákból. Eredményeink alapján modern, citokompatibilis görögszéna SEDDS rendszer formulálható jó antioxidáns tulajdonságokkal, minden komponens permeabilitásának és biohasznosulásának növelésével.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Critical Evaluation Of Modified-release Formulation Containing Silybum Marianum Extract For Oral Application. Dávid Sinka , Alexandra Hagymási, Pálma Fehér, Zoltán Ujhelyi, Miklós Vecsernyés, Ferenc Fenyvesi, Judit Váradi, Gábor Vasvári, Tünde Jurca, Sebastian Nemeth, Daniela Elena Popa, Ildikó Bácskay. FARMACIA, 2019, Vol. 67, 5

Formulation, Characterization and Permeability Studies of Fenugreek (Trigonella foenum-graecum) Containing Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS). Dávid Sinka, Enikő Doma, Nóra Szendi, Jázmin Páll, Dóra Kósa, Ágota Pető, Pálma Fehér, Zoltán Ujhelyi, Ferenc Fenyvesi, Judit Váradi, Miklós Vecsernyés, Zsolt Szűcs, Sándor Gonda, Zoltán Cziáky, Attila Kiss-Szikszai, Gábor Vasas, Ildikó Bácskay. Molecules. 2022 Apr 29;27(9):2846. doi: 10.3390/molecules27092846.

Csaplár Marianna

Témavezetők: Dr. Vereb György, Dr. Szöör Árpád

Aktív félévek száma: 6

A kostimulációs domének meghatározó jelentőségűek a kiméra antigén receptorok sejt felszíni szerveződésében és a receptorokat kifejező T sejtek aktivációjában

Munkahely: Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A kiméra antigén receptorokkal (CAR) módosított CD19 specifikus CAR T sejtek paradigmaváltást hoztak a B sejt leukémiák kezelésében, szolid szervi daganatokkal szemben alkalmazva azonban hatékonyságuk elmaradt a várakozástól. Ahhoz, hogy ennek hátterét megértsük, elengedhetetlen a CAR T sejtek kiváltotta daganatellenes immunválasz molekuláris szintű felderítése szolid tumor modellekben. Projektünkben konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal szubmikronos szinten vizsgáltuk a kostimulációs endodomének szerepét a HER2 tumorasszociált antigént specifikusan felismerő CAR-ok sejt felszíni szerveződésére, membrándiffúziós dinamikájára, illetve a tumor-effektor sejtek között létrejövő immunszinapszis kialakulására. Impedancia alapú sejtanalizátorral feltártuk ezen molekuláris mechanizmusok összefüggését a citolitikus jelátvitel hatékonyságával a korai aktiváció során.

Eredményeink azt mutatták, hogy a nagyobb kiterjedésű és lassabb laterális diffúziót mutató klaszterekben rendeződő kostimulációs alegységet nem kifejező (HER2.CD3z), illetve a kisebb, mobilisabb klaszterekben rendeződő CD28 és 41BB kostimulációs alegységeket kifejező (HER2.CD28.41BB.z) HER2-specifikus CAR-ok CD3z foszforiláción alapuló korai aktivációja meghaladja a CD28, illetve 41BB kostimulációs alegységeket önmagukban kifejező (HER2.CD28.z, HER2.41BB.z) CAR-okét. A korai citolitikus hatékonyság vizsgálatok azt tapasztaltuk, hogy a nagyobb méretű klaszterekben rendeződő HER2.CD3z, illetve HER2.CD28.z CAR-ok egyaránt gyorsabb tumorelles aktivitást mutatnak, mint a fragmentált klaszterekben összegyűlő HER2.41BB.z, illetve HER2.CD28.41BB.z CAR-ok. Ezt a hatást nem befolyásolta az egyes domének eltérő diffúziós kinetikája.

Eredményeinkből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az alkalmazott kostimulációs domének már a tumor célpont és az effektor sejt asszociációját megelőzően meghatározhatják a HER2-CAR-ok sejt felszíni szerveződését és membrándiffúziós dinamikáját, mely paraméterek összefüggést mutattak a korai aktivációt kísérő szignáltranszdukciós folyamatok lejárásának sebességével, valamint a citolitikus hatékonysággal a tumor target és CAR T effektor sejtek kokulturálásának első 24 órája során.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Marianna Csaplár, János Szöllősi, Stephen Gottschalk, György Vereb, Árpád Szöör

Cím: Cytolytic activity of CAR T cells and maintenance of their CD4+ subset is critical for optimal antitumor activity in preclinical solid tumor models

Folyóirat, oldalszám, évszám: Cancers vol. 13,17 4301. 2021

Dr. Erdélyi Lóránd

Témavezető: Dr Váradi Judit

Aktív félévek száma: 6

Probiotikus baktériumok mikroformulációjának előállítása és vizsgálata

Munkahely: Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai Intézet

A probiotikumok mikrokapszulák formájában történő alkalmazása számos előnyt hordoz a baktériumok életképessége, szállítása és a készítményből megfelelő mennyiségben történő felszabadulása tekintetében. Néhány tényezőt azonban figyelembe kell venni a probiotikus mikrokapszulák formulációja során, mint például a felszabaduló bevonó anyag mennyiségét és hatását, a kioldódási vizsgálatok protokollját.

Munkánk célja a mikrokapszulázás során felhasznált anyagok, bevonatok probiotikus baktériumok életképességére gyakorolt hatásának vizsgálata. Kísérleteink során a kitozán és az Eudragit L100-55 sejtekre gyakorolt hatásával foglalkoztunk. Alginát mikrokapszulákat állítottunk elő gélesedéses módszerrel, melyekbe *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* (ATCC 14917) baktérium szuszpenziót ($1,5 \times 10^9$ CFU/ml) ágyasztunk.

A hőterheléses és az *in vitro*, gasztrointesztinális folyadékban történő kioldódási vizsgálat után, életképességet hasonlítottunk össze CFU/ml értékek alapján. A mikrokapszulából felszabadult élő/holt *Lactobacillus plantarum* sejtek arányát és számát áramlási citometriával is vizsgáltuk. A mérések alapján azt mondhatjuk, hogy a kitozán bevonat mellett az életképesség szignifikánsan 20% alá csökkent, míg az Eudragit L100-55 esetében 90% fölött maradt.

A különböző szintetikus, félszintetikus kitozán származékok MIC-értékeivel publikációkban találkozunk, megerősítve a kitozán antibiotikus aktivitását és e célból történő alkalmazását. Eredményeink igazolására meghatároztuk az általunk használt kitozának és az Eudragit L100-55 a MIC értékét. Elsőként vizsgáltuk a kioldódásvizsgálatok során leoldódó kitozán mennyiségét és koncentrációját a kioldó közegben, amely számításaink szerint elérte a MIC értéket.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Erdélyi L, Fenyvesi F, Gál B, Haimhoffer Á, Vasvári G, Budai I, Remenyik J, Bereczki I, Fehér P, Ujhelyi Z, Bácskay I, Vecsernyés M, Kovács R, Váradi J.. Polymers. 2022 Apr 20;14(9):1664. doi: 10.3390/polym14091664.

Jeles Krisztina

Témavezető: Dr. Csoma Eszter

Aktív félévek száma: 6

Humán polyomavírusok szeroprevalenciája

Munkahely: Debreceni Egyetem, ÁOK, Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A *Polyomaviridae* családon belül másfél évtized alatt számos új humánpatogén vírust írtak le célzott vírusvadászat eredményeként. A szekvencia alapon elkülönített és taxonómiailag besorolt vírusfajok jó részének patogeneziséről azonban szinte semmi vagy nagyon csekély információval rendelkezünk. Vannak kivételek, mivel a Merkel sejt polyomavírus ma már egészen jól megismert tumorvírus, a Trichochodysplasia spinulosa asszociált polyomavírus pedig egy már régóta ismert betegség kórokozója. Ahhoz, hogy a vírusok jelentőségét megismerjük, két irányban zajló vizsgálatok indultak, amelyhez munkacsoportunk is csatlakozott. Az egyik vizsgálat a vírusok terjedési módját, behatolási kapuját, szervezetben belüli terjedését célozza, ezek a különféle klinikai mintákból végzett DNS prevalencia vizsgálatok. Emellett azonban nagy jelentősége van a populációs átfertőzöttséget tanulmányozó, úgynevezett szeroprevalencia vizsgálatoknak. Ezzel térképezhetjük fel, hogy mikor, milyen életkorban találkozunk először a vírussal, a populációban mennyire elterjedtek, vannak-e veszélyeztetett betegcsoportok.

Munkánk célja olyan indirekt ELISA módszer kifejlesztése volt, amellyel humán szérummintákban különféle polyomavírusok elleni IgG ellenanyagok jelenlétét tudjuk vizsgálni. Ehhez először virális antigénre volt szükségünk, amelyet bakteriális fehérje expressziós rendszerben állítottunk elő. A tagelt fehérjéket a tag segítségével tisztítottuk. A fehérjék minőségét western-blottal és SDS-PAGE, majd coomassie brilliant blue festéssel ellenőriztük. A megfelelő fehérjékkel pedig ELISA módszereket optimalizáltunk.

Vizsgálataink során a humán polyomavírus (HPyV) 5, 6, 7, 9, 10, 11 és 12 elleni ellenanyagok jelenlétét vizsgáltuk különböző korcsoportokban, vírusonként 545-1030 szérumszámú mintával. Tanulmányoztuk az egyes korcsoportokon belüli szeropozitivitást, az életkorra jellemző optikai denzitás értékeket.

Eddigi eredményeink alapján — összhangban a nemzetközi közleményekkel — minden vizsgált polyomavírus elterjedt a populációban, bár némelyek, így a HPyV9, 10 és 12 még a felnőttek közt sem éri az 50 %-os szeropozitivitási rátát. Magas szeroprevalencia és gyermekkori primer fertőzés jellemző a HPyV 5, 6 és 7 vírusokra, míg a többi vizsgált vírus esetében az életkorral növekvő szeropozitivitást tapasztaltunk.

Király József

Témavezető: Dr. Szabó Zsuzsanna

Aktív félévek száma: 6

Angiogenezis markerek és miRNS-ek kapcsolatának vizsgálata humán vese karcinómában

Munkahely: Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Biofarmácia Tanszék

A vesekarcinóma diagnosztizálása és terápiája egyre nagyobb kihívást jelent. Gyakran a tumoros állapot azonosítására csak később kerül sor, ezért az újabb diagnosztikus biomarkerek azonosítása nagy jelentőséggel bír. A miRNS-ek megismerésével az invazív beavatkozások elkerülhetőek lennének, elősegítve a pontosabb diagnózis felállítását. Célunk volt humán tumoros és ép vese szövetminták miRNS-ek expressziójának vizsgálata, illetve a vizsgált miR-ekre specifikus target gének elemzése és ezek közötti kapcsolatok feltárása.

Vizsgálatainkhoz vesetumoros betegekből származó 20 db tumoros/ép szövetmintát használtunk. A Macherey-Nagel kit segítségével izolált totál RNS-t (6 ép/tu) a Nanostring nCounter® microRNS platformmal miRNS profilozásához használtuk. A Nanostring elemzéssel kapott eredmények alapján néhány miRNS expresszióját TaqMan assay-el validáltuk. A vizsgált szövetek egy részével (8 ép/tu) a Proteome Profiler Human Angiogenesis Array alapján az angiogenezis útvonalban szereplő target fehérjék azonosítását is elvégeztük. A miRNS-ek és vizsgált gének közötti kapcsolatot *in silico* adatbázisok (miRDB, TargetScan, Tarbase) összehasonlító elemzése követte.

A NanoString-es elemzés alapján különbségek mutatkoztak a tumoros és ép minták miR profiljában (pl. hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-15b-5p, hsa-miR-99b-5p). A Taqman assay alapú qPCR-el kapott eredmények szerint az említett miRNS-ek a tumoros mintákban jelentősen downreguláltak voltak az ép mintákban mutatott miR expresszióhoz képest. Az array-k értékelését követően a vizsgált tumoros minták esetében egyes angiogén fehérjék (pl. Serpin E1, Angiogenin, VEGF) expressziójában emelkedés mutatkozott, míg az MMP-9 és TIMP-1 target fehérjék expressziójában csökkenés volt megfigyelhető. Az *in silico* adatbázisok elemzése során a targetek között több átfedést is találtunk, ami az adott miRNS-re mutatott specifikusságát, valamint a vesetumrok kialakulását szabályozó jelátviteli útvonalban betöltött szerepét jelzi.

A munkát támogatta: GINOP-2.3.2.-15-2016-00043 (GH) és a TKP2020-IKA-04 (GH)

Kocsis Beatrix

Témavezető: Dr. Leiter Éva Julianna

Aktív félévek száma: 6

Egy szekunder metabolit génekklaszter jellemzése *Aspergillus nidulans*ban

Munkahely: Debreceni Egyetem TTK, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék

Doktori témám célja az oxidatív stresszre túltermelő AN7884-es szekunder metabolit génekklaszter és az AN7872-es Zn(2)-Cys(6) binukleáris klaszter domén transzkripciósfaktort kódoló gén működésének vizsgálata valamint a termelő szekunder metabolitok azonosítása.

Az AN7872 deléziós mutáns Double-Joint PCR módszerrel állítottuk elő, a túltermelő mutánsokat a nitráttal indukálható promotert (*niiA*) tartalmazó pHS11 vektorba történő klónozással állítottuk elő.

Elvégeztük a mutánsok oxidatív, sejtfal, nehézfém és ozmotikus stresszérzékenységének vizsgálatát. A deléziós mutánsok 0,8mM *t*BOOH-ra és 2mM diamidra voltak érzékenyek. A túltermelő mutánsok a sejtfalstresszt indukáló kongóvörösről és az ozmotikus stresszt okozó szorbitra szignifikáns, NaCl-ra enyhe rezisztenciát mutattak.

A deléziós mutánsban kevesebb kleisztotécium termelődése volt jellemző. A vizsgált túltermelő mutáns klónok közül pedig csak a 17-es mutáns esetében volt az összspóraszám mennyisége kevesebb a kontrollhoz képest.

Az 1% glükóz-2% maltóz-1% pepton tartalmú folyékony táptalajban 200 rpm fordulatszámon 25°C-on történő 3 napos rázatás után a túltermelő mutánsok esetében általunk már ismert molekulatömegű vegyület beazonosítása folyamatban van. A Czapek-Dox táptalajban történő statikus 14 napig 25°C-on történő tenyésztés során termelő piros színű vegyületet már beazonosítottuk, mennyiségét is meghatároztuk.

A sterigmatocisztin termelődésének mennyiségi változását is vizsgáltuk. A HPLC analízis eredményei alapján az AN7872 deléziós mutánsokban növekedett, míg a túltermelőkből csökkent a sterigmatocisztin mennyisége.

A fénymikroszkópos és scanning elektronmikroszkópos felvételek alapján a konidiospórák méretét tekintve elmondható, hogy a 17-es túltermelő törzs nagyobb spóramérettel jellemezhető.

A kapilláris elektroforézis és offline tömegspektrometriával kapott kromatogramokon a mutánsoknál a kontroll törzshöz képest egyéb eltérő molekulaméretű csúcsok is megfigyelhetők voltak, ezen vegyületek beazonosítása illetve további új vegyületek kutatása is céljaink között szerepel.

Plaszko Tamás

Témavezető: Dr. Gonda Sándor

Aktív félévek száma: 6

Metabolom – mikrobiom korrelációk vizsgálata különböző tormaajtákban

Munkahely: DE TTK, Növénytan Tanszék

Az elmúlt évben vizsgálataink elsősorban a gomba endofiton közösség és a növényi metabolom közötti interakciók feltárására irányultak. Modellnövényként a Hajdú-Bihar régió egyik meghatározó haszonnövényét, az *Armoracia rusticana*-t választottuk. Célkitűzéseink között szerepelt 8 különböző tormaajta teljes metabolomjának (metabolit összességének) feltárása célzatlan LC-ESI-MS/MS metabolomikai módszerrel, továbbá a növényekben élő gombaközösségek összetételének meghatározása új-generációs amplikon szekvenálással.

Vizsgálatainkhoz egy kísérleti termőterületről gyűjtöttünk mintákat 2 éven keresztül. A gyökérmintákból felületi fertőtlenítés és kriogén homogenizálás után metabolomikai és genomi DNS extraktumokat készítettünk, majd a műszeres analíziseket követően extenzív adatbányászattal vizsgáltuk a metabolom – mikrobiom korrelációkat. A mintákból szigorú minőségi szűrések után 355 kémiai featuret (metabolit jelöltet) vizsgáltunk, melyekből 90-t legalább vegyületosztály szintjén tudtunk azonosítani (pl.: cianogén és flavonoid glikozidok, lipidek, aminosav származékok, aromás vegyületek, stb.). Ezekből 21-t részletesebben, MS/MS fragmentáció alapján is sikerült azonosítani szakirodalmi adatok, illetve a CSI:FingerID és Canopus algoritmusok segítségével. A szekvenálási adatok bioinformatikai elemzésével mintánként 24-109 egyedi ASV-t (amplicon sequence variant) tudtunk azonosítani, melyek taxonómiaiilag számos tipikus növény-asszociált (endofitonok, epifitonok, patogének) gombarendhez rendelhetőek.

A metabolom – mikrobiom korrelációs analízisek alapján a gazdanövények kémiai összetétele leginkább a *Monosporascus*, *Setophoma* és *Tetracladium* genusokba tartozó gombák mennyiségére volt a legnagyobb a hatással. Az azonosított vegyületesaládok közül a flavonoid glikozidok mutatták a legerősebb korrelációkat. Ezzel szemben a tormaiban jelentősen nagy koncentrációban megtalálható glükozinolátok, melyek erős antifungális hatású vegyületek prekursorai, sokkal csekélyebb mértékű hatással bírtak a gombaközösség összetételét illetően. Konklúzióként elmondható, hogy a gombaközösségek közel egyharmadában szignifikáns korrelációk figyelhetők meg legalább egy kémiai featurel, mely a célzatlan metabolomikai megközelítés erejét bizonyíthatja és hasznos kiegészítője lehet proteomikai és transzkriptomikai analíziseknek.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Plaszko, T., Szűcs, Z., Vasas, G., and Gonda, S. 2022. Interactions of fungi with non-isothiocyanate products of the plant glucosinolate pathway: A review on product formation, antifungal activity, mode of action and biotransformation *Phytochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113245>

Plaszkó, T., Szűcs, Z., Vasas, G., and Gonda, S. 2021. *Effects of Glucosinolate-Derived Isothiocyanates on Fungi: A Comprehensive Review on Direct Effects, Mechanisms, Structure-Activity Relationship Data and Possible Agricultural Applications*. *JOURNAL OF FUNGI* 7, 7, 539. <https://doi.org/10.3390/jof7070539>

Plaszkó, T., Szűcs, Z., Kállai, Z., Csoma, H., Vasas, G., and Gonda, S. 2020. *Volatile Organic Compounds (VOCs) of Endophytic Fungi Growing on Extracts of the Host, Horseradish (Armoracia rusticana)*. *METABOLITES* 10, 11, 451. <https://doi.org/10.3390/metabo10110451>

Elfogadva: Plaszkó, T., Szűcs, Z., Cziáky, Z., Ács-Szabó, L., Csoma, H., Géczi, L., Vasas, G., and Gonda, S. 2022. Correlations between the metabolome and the endophytic fungal metagenome suggests importance of various metabolite classes in community assembly in horseradish (Armoracia rusticana L., Brassicaceae) roots. Frontiers in Plant Science. (IF: 5,754 / SJR2021: D1)

Éles Zsolt Barnabás

Témavezető: Dr. Szalmás Anita

Aktív félévek száma: 4

HPV onkoproteinek mutációinak és módosításainak hatása a HPV-asszociált benignus és malignus tumorok kialakulásában

Munkahely: DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Az alacsony és magas onkogén-kockázatú humán papillomavírusokra (HPV) jellemző, hogy az életciklusukban kiemelkedő szereppel bíró virális E7-fehérje kölcsönható partnerei között megtaláljuk a PTPN14 tirozin-foszfataz, illetve a retinoblasztóma tumorszupresszor-fehérjét. Intézetünkben a HPV-11 pozitív klinikai izolátumok döntő többségéből a HPV-11 A2-es altípusa mutatható ki, mely genomi E7-ORF régiójára jellemző a referencia genomhoz képest egy egyedi nukleotid polimorfizmus, melynek eredménye egy A45S aminosavcsere az E7-fehérjében. Célkitűzésem volt, hogy elvégezzem az A45S aminosav-szubsztitúciót tartalmazó HPV-11 E7, illetve különböző prototípus HPV típusok E7 fehérjéinek funkcionális összehasonlító vizsgálatát az említett célfehérjével való kölcsönhatásaikra vonatkoztatva.

A korábban irányított-mutagenezissel létrehozott A45S E7 fehérjét expresszáló, illetve a különböző, prototípus HPV-E7 fehérjét kódoló plazmidokkal transziens transzfekciót végeztünk epitheliális, immortalizált sejtvonalakon. Az E7-fehérjék és a tumorszupresszorok közötti kölcsönhatások vizsgálatát Western-blot, valamint immunprecipitációs módszerekkel végeztük. Jelenlegi eredményeink alapján feltételezhető, hogy a HPV-11 E7 általunk vizsgált polimorfizmusa a vizsgált sejtvonalakban jelentősen befolyásolja az E7 asszociációját mind a retinoblasztóma, mind a PTPN14 fehérjével. Bizonyos esetekben az HPV-11 A45S E7 fehérje kölcsönhatásai eltérőnek bizonyulnak a prototípus "low-risk" HPV-11 E7 kölcsönhatásaihoz viszonyítva, illetve több esetben nagyobb hasonlóságot mutatnak a "high-risk" HPV típusok E7 fehérjéinek asszociációihoz.

Vizsgálatainkat befolyásolhatták az alkalmazott sejttípusok tulajdonságai, így a megbízhatóbb eredmények érdekében jelenleg is zajlanak ezen kísérletek, illetve egyéb vizsgálatok elvégzése primer, humán keratinocita sejtekkel. Célunk, hogy a primer-sejtkultúrákon végzett kísérletek eredményeit összehasonlítsuk a sejtvonalakon végzett kísérleteink eredményeivel, majd levonjuk a megfelelő predikcióinkat. Eddigi eredményeink alapján elmondható, hogy a HPV-11 genetikai polimorfizmusai különböző mértékben megváltoztathatják az E7 és annak celluláris proteinekkel való kölcsönhatásait, így a HPV-asszociált betegség prognózisát, illetve manifesztációját is befolyásolhatják.

Dr. Koleszár Balázs

Témavezető: dr. Kardos Gábor

Aktív félévek száma: 4

Harmadik generációs cefalosporin rezisztens bélbaktériumok és vancomycin rezisztens Enterococcusok előfordulása vadmadarakban

Munkahely: DE-ÁOK Mikrobiológiai Intézet

Az ökoszisztémába kerülő, ott fennmaradó, és potenciálisan a humán populációba visszakerülő antimikrobiális rezisztencia terjedésében a nagy területet bejáró fajok szerepe igen jelentős. Ugyanakkor az eltérő életmód, táplálék és élőhely miatt az egyes fajok, fajcsoportok szerepe eltérő lehet. Célunk egy széleskörű felmérés elvégzése volt a madarak körében, elsősorban a különböző vízimadarakra és az általuk hordozott harmadik generációs cefalosporin rezisztens bélbaktériumokra és vancomycin rezisztens Enterococcusokra koncentrálva.

Adult dankasirályokban évről évre növekvő 60% (2019), 63% (2020), 77% (2021), prevalenciát tapasztaltunk a Harmadik generációs cefalosporin rezisztens bélbaktériumok terén, VRE 4% (2019), 7% (2020), 3% (2021) előfordulási valószínűséget mutatott. Különböző sirályfajok fiókáiban 2019-2021 közt β -laktám rezisztens bélbaktérium esetében telepenként változó, 68-76% előfordulási gyakoriságot találtunk, VRE tekintetében pedig 0-53% közt mozgott ez az érték. A sirályokkal együtt költő csérek az előbbi csoportra 56%, az utóbbira 57%-os prevalenciát mutattak egy telepen 2020-21-ben. Ragadozómadarakban, természetes élőhelyen élő lúdalkatúakban és egyéb vízimadarakban nem találtuk a fent említett törzseket, kormoránokban 1%, partimadarakban 6%-os prevalenciát találtunk β -laktám rezisztens bélbaktériumok tekintetében, a városias élőhelyeken a récékben és hattyúkban pedig 37% volt ez az érték 2020-22 közt. Ezekben a fajokban nem találtunk VRE-t.

Sirályok esetében egy növekvő prevalencia figyelhető meg a harmadik generációs cefalosporin rezisztens bélbaktériumokat tekintve, és a szakirodalmi adatokhoz képest kifejezetten magas előfordulási gyakoriságot találunk a sirályokkal azonos élőhelyeket használó taxonokban. A széleskörű felmérés eredményei több kérdést is felvetnek. A 2022-es terepszézonban gyűjtött adatokkal kiegészült prevalenciák leközlése és a törzsek mikrobiológiai szemléletű publikációs feldolgozása után az epidemiológiai, ökológiai és metagenomikai irányú vizsgálatok felé kell fordulnunk.

Rahmani Leila

Témavezető: Dr. Szalmás Anita

Aktív félévek száma: 4

PTPN21 és MYPT1 fehérjék szerepe az onkogén HPV típusok által okozott fertőzésekben

Munkahely: DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A humán papillomavírus (HPV) fertőzésekhez társuló tumorok kialakulásához és progressziójához a HPV E6 és E7 onkoproteinek hatása elengedhetetlen. Ezek a vírusfehérjék a gazdasejt túlélését, proliferációját és migrációját szabályozó celluláris fehérjékkel képesek kölcsönhatni.

Vizsgálataink során különböző genotípusú HPV E7 onkoproteinek és egyes celluláris regulátor fehérjék – MYPT1 és PTPN21 – közötti kapcsolatok jellemzése a célunk.

Immortalizált sejteken elvégzett kísérleteink alapján megállapítottuk, hogy a PTPN21 és MYPT1 fehérjék expressziós mintázata HPV negatív (C33a, HEK-293, HaCaT) és HPV pozitív (HeLa, CaSki) sejtvonalakban eltérő, továbbá, hogy a két fehérje különböző genotípusú HPV E7 onkoproteinek jelenlétére adott válasza nagyban függ az őket expresszáló sejtvonaltól. HPV-18 pozitív HeLa sejtekben az E6 és E7 onkoproteinek siRNS-sel történő gécensendesítésének következtében emelkedett PTPN21 és MYPT1 fehérje-expressziót figyeltünk meg, tehát a virális onkoproteinek feltételezhetően gátolják a vizsgált fehérjék expresszióját. Immunprecipitációs vizsgálatainkkal igazoltuk a MYPT1 és a különböző genotípusokból származó HPV E7 onkoproteinek közötti kapcsolatot azonban, az endogén PTPN21 ezen kísérlet alapján feltételezhetően nem alakít ki kötődést egyik genotípusban jelenlévő HPV E7 fehérjével sem.

Eddigi eredményeinkből kiemelendő a MYPT1 és a HPV-16 E7 között azonosított erős kapcsolat és a fehérje expressziójában megjelenő jelentős változások a HPV-16-os genotípusból származó E7 onkoprotein jelenlétében, amely magyarázatot adhat a HPV-16 által kialakított tumorok jóval gyakoribb megjelenésére a többi HPV típushoz viszonyítva.

Jelenleg HPV onkoproteineket expresszáló, transzdukált primer humán keratinocita sejtekkel végzünk kísérleteket a PTPN21 és MYPT1 fehérjék stabilitásának és lokalizációjának meghatározására, ez által pontosabb információt kaphatunk a fehérjék között fellépő kölcsönhatásról és arról, hogy ez a kapcsolat milyen szerepet játszik a vírus életciklusában és a HPV okozta tumorok kialakításában.

Vass Virág

Témavezető: Dr. Tótsaki Árpád

Aktív félélévek száma: 3

Egy új hidrogén-szulfid (H₂S)-donor molekula, BM-88, kardioprotektív hatásának vizsgálata izolált patkányszívben

Munkahely: Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani Tanszék

A hidrogén-szulfid (H₂S) fiziológiai szabályozómolekulaként részt vesz a szívizomszövetben lezajló iszkémia/reperfúzió (I/R) okozta szöveti károsodásokhoz kapcsolódó jelátviteli útvonalak szabályozásában. Kedvező hatást fejt ki szöveti károsodásokkal szemben, valamint képes csökkenteni a nem-szteroid gyulladásgátló szerek (NSAIDs), köztük az ibuprofén ilyen jellegű mellékhatásait. Vizsgálataink célja egy H₂S leadó ibuprofén-származék molekuladonor (BM-88) szintézise és kardioprotektív hatásához kapcsolódó farmakológiai jellemzése izolált patkányszívben.

In vitro vizsgálatokban, Langendorff izolált szív módszert alkalmazva teszteltük a BM-88, egy H₂S-donor, különböző koncentrációit (1.0-20.0 μM). A H₂S leadó képességet elektrokémiai szenzor segítségével regisztráltuk. A BM-88 lehetséges kardioprotektív tulajdonságait az antiarritmiás hatás, infarktusos terület, valamint az autofágiás és apoptotikus markerek (p62, LC3I/II és Beclin-1) változásainak a szemszögéből tanulmányoztuk.

A BM-88 10 μmol/ml koncentrációban és iszkémia előtt, előkezelés formájában, alkalmazva 92%-ról 12%-ra csökkentette a reperfúzió során előidézett kamrafibrilláció (VF) mértékét a kezeletlen csoporthoz képest. A BM-88 különböző koncentrációit alkalmazva ez az antiarritmiás hatás nem egyértelműen dózisfüggő. Továbbá, a BM-88, 10 μmol/ml koncentrációban, szignifikáns védőhatást fejtett ki a szívizomra és csökkentette az infarktusos területek méretét. A fentebb említett védőhatások nem mutattak összefüggést a koronária-átáramlás (CF) mértékével, sem pedig a vizsgált molekuláris markerek változásaival.

Eredményeink azt mutatják, hogy a H₂S szívizomszövetben lejátszódó iszkémiás/reperfúziós mechanizmusok még nem tisztázottak, viszont a H₂S donorok fontos szerepet játszhatnak az iszkémia/reperfúzió okozta károsodásának enyhítésében, lehetőséget teremtve új és kevesebb mellékhatással rendelkező terápiás ágensek fejlesztésére.

Támogatás: GINOP-2.3.2-15-2016-00043, NKFIH-K-124719, ELKH-DE Pharmamodul Kutatócsoport.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

Virág Vass, Erzsébet Szabó, Ilona Bereczki, Nóra Debreczeni, Anikó Borbás, Pál Herczegh, Árpád Tótsaki - Reperfusion-induced injury and the effects of the dithioacetate type hydrogen sulfide donor ibuprofen derivative, BM-88, in isolated rat hearts. Pharmaceuticals, benyújtva, 2022.

Balácsi Dávid

Témavezető: Dr. Majoros László

Aktív félévek száma: 2

Antifungális szerek in vivo hatékonysága *Candida auris* ellen

Munkahely: Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A *Candida auris* egy új, világszerte terjedő multirezisztens gombafaj. Ez az új fungális patogén még alig egy évtizede ismert a tudományos világ előtt, mégis világszerte jelentettek már a gombafaj által okozott, az egészségügyi ellátással összefüggő fertőzéseket. Kutatómunkánk célja az volt, hogy in vivo és módszerekkel megvizsgáljuk az echinocandinok (rezafungin, micafungin, anidulafungin és caspofungin) hatékonyságát a négy fő kládba tartozó *Candida auris* izolátum esetében.

Kísérleteinkben neutropéniás Balb/c egereket használtunk és kládonként 2-2, törzset vizsgáltunk meg. A fertőzést követő 5 napban végeztük az állatok kezelését. Az állatok megfigyelését 21 napig végeztük.

A dél-afrikai kládhoz tartozó 2-es és 204-es törzsek esetében is a rezafungin valamint a caspofungin bizonyult a leghatásosabbnak.

A dél-ázsiai kládból a 27-es és 196-os törzseket vizsgáltuk. Az előbbinél a caspofungin volt a leghatásosabb szer az utóbbi esetében szinte hatástalan volt a terápia.

A dél-amerikai kládból a 13108-as és a 13112-es törzseket vizsgáltuk. Az előbbi esetében a rezafunginnal értük el a legjobb eredményeket az utóbbi esetében hatástalan volt a terápia. Az Izraelből származó dél-amerikai klád két vizsgált törzse az I-24-es és I-156-os volt. Mindkét törzs esetében a rezafungin bizonyult a leghatásosabbnak.

A kelet-ázsiai kládból a 12372 és 12373 törzseket vizsgáltuk. Az előbbi törzs esetében a caspofungin bizonyult a leghatásosabbnak. 90%-os volt a túlélés. Az utóbbi törzsnél is ugyanazt a túlélési arányt figyeltük meg a caspofunginnál viszont a többi gyógyszer esetében még az 50%-ot se érte le.

Ezen eredmények alapján kijelenthető, hogy, rezafunginnal és caspofunginnal érhetünk el a legnagyobb terápiás sikereket szisztémás *Candida auris* fertőzéssel szemben.

Balla Noémi

Témavezető: Dr. Kovács Renátó
Aktív félévek száma: 2

A farnesol hatásának vizsgálata *Candida auris* ellen

Munkahely: Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A farnesol (FAR) quorum-sensing molekulaként központi szerepet játszik egyes gombafajok morfogenezisében. A FAR jelentős terápiás potenciállal is rendelkezhet, azonban az antifungális hatás háttere felderítetlen, különösen a non-*albicans* fajok –mint például a *Candida auris*– esetében. Az antifungális hatás feltérképezése érdekében transzkripciós szinten (RNS-Seq) vizsgáltuk a FAR hatását *C. auris* sejtekre, amely eredményeket összevetettünk korábbi élettani vizsgálatokkal.

A FAR expozíció 1766 eltérően expresszálódó gént eredményezett, amelyekből 447, valamint 304 gén mutatott legalább 1,5-szeres növekedést, illetve csökkenést. A FAR kezelés számos virulencia gén expresszióját csökkentette. Ezek jelentős része a biofilm éréshez (*RBT1*, *HWP1*, *BCR1*, *EFG1*, *UME6*), diszperzióhoz (*NRG1*, *UME6*), valamint morfológiához (*EFG1*, *HWP1*, *WALI*) köthető. Hasonló negatív hatást figyeltünk meg az ergosterol szintézishez szükséges gének, valamint a vas, mangán, réz és cink anyagcserében szerepet betöltő gének esetében is. Az oxidatív stresszhez köthető gének expressziója növekedett (*CAT1*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD6*, *HOG1*). Az élettani kísérletek összhangban voltak az RNS-Seq eredményekkel. A *C. auris* sejtszám és életképesség már a kezelést követő 2. órától szignifikánsan csökkent a kezeletlen sejtekkel összehasonlítva. Jelentősen megemelkedett az oxidatív stresszhez köthető enzimek aktivitása. Az intracelluláris ion koncentrációk szignifikánsan csökkentek, legalábbis a vas, mangán és a cink esetében.

A FAR hatékony eszköz lehet a multirezisztens *C. auris* okozta fertőzések kezelésében, valamint a bemutatott eredmények hozzájárulhatnak a FAR és más quorum-sensing molekula fiziológiai és molekuláris hátterének mélyebb megértéséhez a non-*albicans* fajok esetében. A munka a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (FK138462), Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (Kovács Renátó) és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-21-5-473 (Bolyai+) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült (Kovács Renátó).

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

szerzők: Ágnes Jakab, Noémi Balla, Ágota Ratyák, Fruzsina Nagy, Fruzsina Kovács, Zsófi Sajtos, Zoltán Tóth, Andrew M. Borman, István Pócsi, Edina Baranyai, László Majoros, Renátó Kovács

cím: Transcriptional Profiling of the Candida auris Response to Exogenous Farnesol Exposure folyóirat, oldalszám, évszám: mSphere 27;6(5):e0071021.,2021

Kovács Fruzsina

Témavezető: Dr. Kovács Renátó

Aktív félévek száma: 2

A surfactin antifungális hatásának vizsgálata *Candida albicans* ellen

Munkahely: Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A *C. albicans* felszaporodása a bélben jelentős kockázatot jelent a szisztémás candidiasis kialakulása szempontjából. Egyre nő az érdeklődés a *Bacillus subtilis* probiotikumként való felhasználása iránt, amely ráadásul potenciális antifungális hatással bírhat. Hipotézisünk alapján az antifungális hatás hátterében egy metabolit a surfactin (SUR) állhat. Ezért vizsgálatunk célja volt a SUR *Candida* ellenes tulajdonságainak feltérképezése. Kísérleteinkben 128 mg/L SUR kezelés mellett vizsgáltuk *C. albicans* növekedésre, morfológiára, metabolizmusra, intracelluláris fémtartalomra gyakorolt hatását.

Az abszorbancia értékek alapján (OD_{640}) az 1 órás SUR expozíció szignifikánsan gátolta a sejtek növekedését ($0,96 \pm 0,04$ vs. $0,75 \pm 0,02$). Továbbá, a SUR szignifikánsan csökkentette hifák arányát 8 órás inkubáció után ($10,33\% \pm 2,08\%$ vs. $14,33\% \pm 1,53\%$). A SUR kezelés szignifikáns növekedést okozott a glükóz felhasználásban az expozíciót követő 4. órában ($4,1 \pm 0,3$ vs. $2,95 \pm 0,4$ g/g DCM). Emellett fokozott etanol-fermentációt is megfigyeltünk 4 órával az expozíció után ($5,1 \pm 0,7$ vs. $0,64 \pm 0,08$ g/g DCM). A 4 órás SUR kezelést követően az élesztősejtek vas-, mangán- és cinktartalma csökkent ($70,9 \pm 8,4$ vs. $127,1 \pm 18,4$ mg/kg; $5,3 \pm 1,3$ vs. $8,1 \pm 0,5$ mg/kg és $169,6 \pm 8,9$ vs. $214,4 \pm 4,5$ mg/kg, a vas, a mangán és a cink esetében), míg a sejtek réztartalma nem változott jelentősen ($3,1 \pm 0,95$ vs. $2,0 \pm 0,25$ mg/kg). Három független kísérlet alapján szinergista kölcsönhatás volt megfigyelhető a fluconazole és a SUR között (FICI: $0,135-0,37$).

Jelen kísérleti eredményeink alátámasztják a *B. subtilis* SUR-nal kapcsolatos gombaellenes hatását, továbbá jó kiindulási alapot adhatnak új, jövőbeli probiotikumok fejlesztésére is.

A munka a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (FK138462), Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (Kovács Renátó) és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-21-5-473 (Bolyai+) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült (Kovács Renátó).

Kónya Gábor

Témavezető: Dr. Halmos Gábor

Aktív félévek száma: 6

Az indolamin-2,3-dioxigenáz (IDO) és PTEN expressziójának vizsgálata vesetumороkban és humán vese daganat sejtvonalakon

Munkahely DE GYTK Biofarmácia Tanszék

A rossz indulatú daganatok immunológiai folyamatai eltérőek az egészséges szövetekétől. Ezek az eltérések az alapjai a különböző immunterápiáknak, illetve számos esetben a kemoterápiával együtt kombinált terápiás kezelést tesznek lehetővé. Az egyik kulcsfontosságú enzim az IDO mely negatívan hat különböző immunsejtekre, gátolva azok működését. Így ennek gátlása egy rendkívül ígéretes támadási pont lehet a terápiákban. A tumorok kialakulása során szerepet játszó tumorszuppresszorok, pl. a PTEN is befolyásolhatja a betegség prognózisát és az immunterápiát.

Célul tűztük ki a vese tumorokban lejátszódó azon folyamatok feltárását, melyek képesek az immunrendszer működésének blokkolására. Ehhez kapcsolódóan munkánkban az IDO és a PTEN jelenlétét vizsgáltuk humán vesetumoros és ép szövetmintákon, valamint humán CAKI-2 és A-498 vesedaganat sejtvonalakon.

Vizsgálatainkhoz eddig a Debreceni Egyetem Urológiai Klinikájáról műtétiileg eltávolított 20 vesetumoros betegből származó tumoros- és ép veseszövetminta állt rendelkezésünkre. Minden mintából illetve az általunk használt sejtvonalakból teljes RNS-t izoláltunk. Majd reverz transzkripciót követően specifikus oligonukleotid primerekkel real-time qRT-PCR technikával (CFX-96, BIORAD) vizsgáltuk az IDO és a PTEN gének expresszióját.

Western-Blot technikával fehérje szinten is vizsgáltuk a két gén expresszióját.

Eredményeink alapján az IDO és PTEN gének magasabb expressziós szintet mutatnak a tumoros mintákban az egészséges szövetekhez képest. A magasabb mRNS értékek fehérje szinten is mutatkoztak. A minták korcsoport, valamint nemek szerinti megoszlása nem mutatott összefüggést a vizsgált gének expressziójával. A PTEN expressziója az A-498 és a CAKI-2 sejtvonalakban is megfigyelhető volt, míg az IDO-t egyik vizsgált humán vese daganat sejtvonal sem expresszálta külső indukció nélkül.

Kutatásaink alapján a primer vese tumorokban az IDO és PTEN expresszió is növekedett az egészséges mintákhoz képest. Eredményeink remélhetőleg hozzájárulnak az új terápiák hatékonyságának növeléséhez.

Lőrincz Eszter Boglárka

Témavezető: Dr. Bakai-Bereczki Ilona

Aktív félévek száma: 6

Antibakteriális és antivirális hatású kinasav és glikopeptid antibiotikum származékok szintézise

Munkahely: Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerészi Kémia Tanszék, Kémia Intézet

A Föld túlnépesedése miatt a közeljövőben számítanunk kell arra, hogy a SARS-CoV-2-höz hasonló, vagy akár sokkal halálosabb koronavírus járványok vagy más vírus okozta járványok is kitörhetnek. A vírus okozta járványok mellett a közeljövőben hatalmas problémát fog okozni a rezisztens baktériumok elterjedése. Ez a helyzet a kutatókat arra ösztönzi, hogy új, szélesebb spektrummal rendelkező antivirális szereket és hatékonyabb antibiotikumokat fejlesszenek ki.

A tanszéken korábban előállított lipofil csoportokkal ellátott neuraminsav származékokról kiderültek, hogy influenza ellenes hatással rendelkeznek. Ebből kiindulva terveztük analóg származékok előállítását, melyhez az influenzaellenes gyógyszer, az oszeltamivir egyik kiindulási anyagát, a kinasavat használtuk. A kinasavat azid-, amin- vagy guanidin-csoportok kialakítását követően lipofil csoporttal ellátott galaktóz hordozó molekulához kapcsoltuk.

A tanszéken régóta folynak kutatások antivirális és antibakteriális glikopeptid antibiotikum származékok előállítására. A korábbi kutatásokat folytatva fluortartalmú oldallánccal ellátott glikopeptid antibiotikum származékokat állítottam elő, melyek egy része kitűnő antibakteriális és SARS-CoV-2 ellenes hatással rendelkezik. Korábbi kutatások során kiderült, hogy a glikopeptid antibiotikumokon történő lipofil módosítások növelik az antivirális hatást, de sajnos a citotoxicitást is, ezért természetes, lipofil, nem citotoxikus csoportok kapcsolását terveztük glikopeptid antibiotikumokhoz. Ilyen volt pl. a sztíviol, a kannabidiol és kannabigerol. A sztíviol származékok kitűnő antibakteriális hatással rendelkeznek.

Eddig megjelent közlemények, melyek a majdani disszertáció alapját képezik:

I. Bereczki, V. Vimberg, E. Lőrincz, M. Krutova, H. Papp, L. Nagy, S. Kéki, Gy. Batta, A. Mitrović, J. Kos, Á. Zsigmond, I. Hajdú, Zs. Lőrincz, D. Bajusz, L. Petri, J. Hodek, F. Jakab, Gy. M. Keserű, J. Weber, L. Naesens, P. Herczegh, A. Borbás, Semisynthetic teicoplanin derivatives with dual antimicrobial activity against SARS-CoV-2 and multiresistant bacteria, J. Med. Chem. elbírálás alatt