

*A Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
szimpóziumának absztraktjai
2014*

Faecal carriage of ESBL producers in hospitalized patients

DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet

The aim of the study was to determine the prevalence of ESBLs, the presence of integrons and characterization of gene cassettes.

A total of 2106 faecal specimens (1623 from inpatient, 324 from outpatients and 159 from screening of medical students) were screened for ESBL producers between October 2010 and December 2011 using cefotaxim-supplemented eosin-methylene blue agar. The presence of ESBL-encoding genes and class 1 and 2 integrons was detected by PCRs and identified by sequencing.

Overall prevalence of ESBL production was 8.6% (181/2106). Occurrence of ESBLs within intensive care units was higher than in non intensive care units (15% vs 9%, $p=0.001$) while prevalence was 4% (13/324) in outpatients. The most frequently detected ESBL gene was $bla_{CTX-M-15}$ (74%, 136/184). Prevalence of $bla_{CTX-M-15}$ was significantly higher among adults than in children ($p=0.0001$).

Class 1 integrons were more frequent than class 2 integrons (75% vs 4%). Among inpatient groups adults carried more class 1 integrons than children ($p=0.0001$). Eight different gene cassette arrays were identified (aadA1a, aadA2, dfrA17-aadA5, $aac6'(Ib)$ -cmlA1, dfrA15-aadA1, dfrA12-orf-aadA2, dfrA1-aadA1, dfrA7). The results highlight the high prevalence of faecal carriage of ESBL-producers in both inpatients and outpatients with $bla_{CTX-M-15}$ as the predominant ESBL gene, suggesting these carriers are likely sources of infections. High rate of integron carriage indicates that these integrons are widely present in ESBL-producers especially in adults and may be considered as an important factor in development of multidrug resistant strains.

Ölési ráták meghatározása caspofungin esetén *Candida albicans* izolátumok ellen rövid és hosszú expozíciós időket alkalmazva szérumban, szérumban és tápközegben

DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Korábbi kutatások bebizonyították, hogy az echinocandinok ugyanolyan hatékonysággal képesek a *Candida albicans* sejtek elpusztítására rövid (≤ 1 óra) és hosszú (24 óra) expozíciós idők alkalmazásakor, RPMI-1640 közegben. Vizsgálataink során célul tűztük ki az ölési ráták meghatározását rövid és folyamatos echinocandin expozíciókat alkalmazva RPMI-1640-ben és 50 % humán szérumban kiegészített RPMI-1640 médium esetében.

Kísérleteink során négy echinocandin érzékeny *C. albicans* izolátumot, egy ATCC 10231 típusú törzset és egy echinocandin rezisztens izolátumot (DPL20, FKS F645P) vizsgáltunk. Meghatároztuk a caspofungin minimális gátló koncentrációit (MIC) mikrodilúciós módszer (CLSI) segítségével normál RPMI-1640-ben és 50% humán szérumban kiegészített RPMI-1640 médiumban. Továbbá vizsgáltuk a caspofungin posztantifungális hatását (PAFE) és az ölési rátát (k) RPMI-1640-ben és RPMI-1640 +50% humán szérumban jelenlétében az idő-ölés görbék segítségével.

Az idő-ölés kísérletek során tapasztalt telepszám csökkenés koncentráció független volt humán szérumban jelenlétében 0,25, 1, 4, 8, 16 és 32 mg/l koncentrációkon, amelyet azonban normál RPMI-1640 esetében nem tapasztaltunk. Az idő-ölés kísérletek során a caspofungin ölési hatása szignifikánsan alacsonyabb volt 16-32 mg/l koncentrációkon, mint 0,25, 1, 4, 8 mg/l koncentrációkon ($P < 0,05-0,001$) normál RPMI-1640 médiumban. 50% humán szérumban jelenlétében a PAFE jelentősen csökkent 4, 16 és 32 mg/l koncentrációkon.

A folyamatos caspofungin expozíció esetében az ölési ráták magasak és koncentráció függetlenek maradtak 50% humán szérumban jelenlétében. Bár a PAFE 50% szérumban is kimutatható, a k érték (ölési ráta) mindig negatív volt (szaporodás). A caspofungin PAFE *in vivo* klinikai jelentősége megkérdőjelezhető.

50% humán szérum hatása a micafungin ölü aktivitására *C. dubliniensis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* és *C. kefyr* klinikai izolátumok ellen

DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Az invazív candidiasis terápiájában alkalmazott echinocandinok (caspofungin, micafungin, anidulafungin) farmakodinámiáját befolyásolja a szérumfehérjékhez való nagymértékű kötődésük, ezért *in vitro* kísérletekben célszerű szérumot használni, hogy jobban tudjuk demonstrálni az *in vivo* körülményeket. Jelenleg kevés adat áll rendelkezésre a ritkábban izolálható, de klinikailag még releváns fajok echinocandinokkal szembeni farmakodinámiájáról.

Munkánkban idő-ölés kísérletek segítségével vizsgáltuk a micafungin *in vitro* aktivitását négy ritkábban izolálható *Candida* faj klinikai izolátumai ellen RPMI-1640 és 50% humán szérummal kiegészített RPMI-1640 tápközegben. 50% humán szérum jelenlétében a MIC értékek megemelkedtek (8-128-szoros) az összes vizsgált izolátum esetében. Az idő-ölés kísérleteink során normál RPMI-1640 tápközegben a micafungin minden izolátumnál fungisztatikus aktivitást mutatott $\geq 1 \times \text{MIC}$ koncentrációkon. Fungicid aktivitást tapasztaltunk $\geq 0,25$ mg/l koncentrációkon az összes *C. kefyr*, illetve ≥ 4 mg/l koncentrációkon 4-ből 3 *C. lusitaniae* esetében. RPMI-1640+50% humán szérum tápközegben fungisztatikus aktivitást figyeltünk meg *C. dubliniensis* és *C. lusitaniae* esetében ≥ 1 , illetve ≥ 16 mg/l koncentrációkon. A *C. kefyr* izolátumokat tekintve fungicid hatást értünk el 16-32 mg/l koncentrációkkal 12-24 óra elteltével. A *C. guilliermondii* izolátumok ellen nem volt hatékony a micafungin egyik alkalmazott koncentráción sem.

A szérum csökkentette a micafungin *in vitro* aktivitását az összes vizsgált izolátumnál. A micafungin jó *in vitro* aktivitást mutatott a *C. dubliniensis* ellen még szérum jelenlétében is. Jelentős aktivitás csökkenés figyelhető meg a *C. kefyr* és *C. lusitaniae* izolátumok esetén, míg a *C. guilliermondii* izolátumok ellen az összes vizsgált koncentráció hatástalannak bizonyult. Eredményeink alapján a micafungint és feltehetőleg a többi echinocandint is megfontoltan kell alkalmazni nemcsak a „psilosis” csoport, hanem a ritkán izolálható *Candida* fajok esetében is.

Glükokortikoszteroid hatása a humán patogén *Candida albicans* morfológiájára és oxidatív stressz érzékenységére

DE Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

A glükokortikoszteroidok a humán terápiában széleskörűen alkalmazott immunszuppresszáns és gyulladáscsökkentő hatású vegyületek. A kortikoid terápia azonban invazív gombás fertőzéseket eredményezhet, mint amilyen a kandidózis, ugyanis ezen szteroidok immunválaszt csökkentő hatásuk révén fokozhatják a *Candida* fajok virulenciáját.

Kutatásunkban a betametazon (2 és 4 mM) opportunistá patogén élesztőre, a *Candida albicans*-ra, gyakorolt hatását tanulmányoztuk. Megfigyeltük, hogy a betametazon fokozza a *C. albicans* virulenciáját, ugyanis megnövelte az extracelluláris foszfolipáz és extracelluláris aszpartát proteáz aktivitását, intenzívebb hifázást indukált, de nem befolyásolta a birka szérumban történő csíratömlő képzését. Más részről a betametazon kezelés megnövelte az élesztő sejtek oxidatív stressz érzékenységét, ugyanis menadionnal történő kombinációja, a sejtek életképességének jelentős csökkenését eredményezte RPMI tápközegben. Emellett a szteroid kezelés szignifikánsan csökkentette a gomba kataláz antioxidáns enzim aktivitását, míg menadionnal történő együttes alkalmazásakor megnőtt a glutation reduktáz, glutation peroxidáz, de csökkent a kataláz és a szuperoxid dizmutáz enzimek aktivitása. A betametazon megnövelte a *C. albicans* sejtek reaktív oxigén gyök, intracelluláris glutation és glutation diszulfid szintjét is. A kortikoid kezelés módosította az antifungális szerek hatásfokát, azaz csökkentette a nisztatin és az amfotericin B, azonban nem befolyásolta a flukonazol *C. albicans*-ra gyakorolt hatását.

Elmondhatjuk, hogy a kortikoszteroid - polién antifungális szerek között tapasztalt interakció klinikai fontosságú lehet a *C. albicans* fertőzések kezelésekor. Míg a betametazon oxidánsokkal történő együttes használata hozzájárulhat egy új, hatékony antifungális stratégia kifejlesztéséhez, a felületi mikózisok kezelésére.

A prezentáció elkészítését az Országos Tudományos Kutatási Alapprogram (OTKA K75883), TAMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024 és a TAMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0045 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

A caspofungin *in vitro* és *in vivo* farmakodinámiájának vizsgálata *Candida krusei* klinikai izolátumok esetében

DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Kísérletünkben normál RPMI-1640-ben, valamint 50% humán szérummal kiegészített tápközegben idő-ölés kísérleteket alkalmazva vizsgáltuk a caspofungin (CAS) által kifejtett ölési rátát (K) 1-32 mg/L közötti CAS koncentrációkon *Candida krusei* klinikai izolátumok ellen.

A CAS iránti minimális gátlókoncentrációk (MIC) meghatározása a CLSI M27-A3-as ajánlása alapján standard makrodilúciós módszerrel történt. Az idő-ölés kísérletek során 0,5-16X MIC érték közötti koncentrációkat alkalmazva vizsgáltuk a CAS *in vitro* farmakodinámiáját mindkét tápközegben. Az idő-ölés kísérletek során nyert adatokat felhasználva meghatároztuk a CAS ölési rátáját. A különböző izolátumok és koncentrációk közötti eltéréseket Tukey-féle teszttel kiegészített egyszempontos varianciaanalízissel vizsgáltuk mindkét tápközegben. Ugyanazon CAS koncentrációk különböző médiumban kapott értékeinek összehasonlítását T-próbával végeztük.

A szérumban kapott MIC értékek a normál RPMI-1640-ben mért értékeknél 8X magasabbak voltak. A *C. krusei* klinikai izolátumok esetében a legmagasabb ölési rátát 4 mg/L CAS koncentrációnál jegyeztük fel RPMI-1640 tápközegben, ami szignifikánsan magasabb volt, mint a 2 és 32 mg/L koncentrációnál mért K értékek ($P < 0,05$). 50% szérum jelenlétében a hatásos CAS koncentrációkhoz (4-32mg/L) tartozó K értékek között nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést ($P > 0,05$). Az 1, 2 és 4 mg/L CAS koncentrációknál mért ölési ráták szignifikánsan magasabbak voltak normál RPMI-1640-ben, mint 50% szérum jelenlétében ($P < 0,01-0,005$).

1, 2, 3, 5, 15 mg/kg/nap dozírozási stratégiát alkalmazva vizsgáltuk a CAS *in vivo* hatékonyságát neutropéniás egérmodellben. A klinikai izolátumok vizsgálata során a 3, 5 és a 15 mg/kg/nap csökkentette szignifikánsan a veséből kitenyészett gombák számát ($P < 0,05-0,001$).

50% szérum jelenlétében az ölés koncentrációfüggetlen volt a hatékony koncentrációkon (≥ 4 mg/L). A kapott *in vitro*, valamint *in vivo* eredmények alapján a dóziseszkaláció hatékonysága megkérdőjelezhető.

A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával a **TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001** azonosító számú "Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program" című kiemelt projekt keretei között valósult meg. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Integronok hordozásának és a klonalitás vizsgálata endémiásan előforduló *Acinetobacter baumannii* izolátumok körében

DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet

A tanulmány célja a Debreceni Egyetem, különböző klinikáiról gyűjtött (2010-2011) *Acinetobacter baumannii* izolátumokban található carbapenem, -aminoglikozid,- és tetraciklin rezisztencia gének kimutatása, valamint integron hordozásuk vizsgálata.

A vizsgálatba bevont izolátumok száma 160 volt, klonalitásukat pulzáló mezejű gélelektroforézissel vizsgáltuk. A gének kimutatása irodalomból adaptált PCR módszerekkel történt. Az *Acinetobacter* izolátumokban öt carbapenemáz gén, bla_{OXA-23-like}, bla_{OXA-24-like}, bla_{OXA-48-like}, bla_{OXA-51-like}, bla_{OXA-58-like}, hat aminoglikozid modifikáló enzim gén, *aac(3')-IIa*, *aac(6')-Ib*, *ant(2'')-Ia*, *ant(3'')-Ia*, *aph(3')-Ia*, *aph(3')-VIa*, három riboszóma metilációért felelős gén, *arm-A*, *rmt-A* és *rmt-B*, valamint öt tetraciklin efflux pumpát kódoló gén, a *tet(A)*, *tet(B)*, *tetD*, *tet(C)* és *tet(E)* jelenlétét vizsgáltuk. Megvizsgáltuk az *A. baumannii* és az antibiotikum felhasználás összefüggését is (2002-2011) idősor-analízissel.

Hat rokonsági csoportot határoztunk meg. Négy csoportba kizárólag carbapenem rezisztens izolátumok tartoztak, minden izolátum hordozta a bla_{OXA-23-like} gént. A másik két csoportba carbapenem rezisztens és érzékeny izolátumok is tartoztak, a rezisztencia itt is a bla_{OXA-23-like} gén hordozásával függött össze. A többi rezisztenciagén és az integronok hordozása jellemző volt az egyes csoportokra, kivéve az *armA* gént, amelyet csak a D csoport izolátumainak 30%-ában (19/63) találtunk meg.

Az idősor analízis az *A. baumannii* gyakoribb előfordulása és fokozódó carbapenem rezisztenciája háttérében a carbapenem fogyasztás fokozódását valószínűsítette (maximális korreláció, $r=0.53$, $p<0.001$ illetve $r=0.43$, $p=0.005$ a három negyedévvél készített adatokkal).

Az *A. baumannii* visszaszorításához valószínűleg a carbapenem fogyasztás korlátozására lenne szükség.

A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012- 0001 azonosító számú "Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program" című kiemelt projekt keretei között valósult meg.

A celluláris immunitás vizsgálata a T-sejt aktiváció során termelődő citokinek kimutatásával

DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Az infekciós laboratóriumi vizsgálatok egyik alappillére a kórokozó elleni immunválasz kimutatása. Az antigénspecifikus sejtes immunválaszra vonatkozó vizsgálati lehetőségek a folyamat többlépcsős és bonyolult mivolta miatt jóval korlátozottabbak. A sejtes immunitás fehérjetermészetű antigéneket, avagy T-sejt epitópokat ismer fel, amennyiben azok MHC molekulához kapcsolódnak, így a T-sejtben aktivációs jelátvitelt indukálnak. Az aktiválódásuk érzékeny és specifikus markere az IFN- γ szekréció.

Célunk az volt, hogy olyan antigént azonosítsunk és alkalmazzunk eredményesen, amely a populáció jelentős részében immunválaszt indukál, továbbá, hogy olyan rendszert hozzunk létre, mely alkalmas leukociták tenyésztésére, valamint a stimuláló ágens hatására aktiválódó fehérvérsejtek, elsősorban T-limfociták, aktivációs markereinek vizsgálatára.

Kezdetben teljes humán vért, a későbbiekben izolált fehérvérsejtek stimuláltunk, melyeket sűrűséggrádiens centrifugálással szeparáltunk. Kísérleteink első szakaszában az antigén natív formáját alkalmaztuk, ez azonban sikertelennek bizonyult, így áttértünk a szintetikus peptid antigén, valamint az ún. főzött *Candida* felülúszó használatára. Az inkubációs idő lejártát követően a sejtekből RNS-t izoláltunk, majd reverz transzkripciót követően valós idejű PCR-rel vizsgáltuk az IFN- γ és IL-2 mRNS szintjeit, a citokinek relatív expresszióját $\Delta\Delta C_t$ módszerrel határoztuk meg.

Kísérleteink során olyan rendszert hoztunk létre, melyben a fehérvérsejtek funkcióképes állapotban fenntarthatók, feldolgozás után a kívánt mérések elvégezhetőek rajtuk. Eredményeink azt mutatják, hogy stimuláció hatására a vizsgált minták 40%-ánál emelkedik legalább az egyik vizsgált citokin mRNS szintje.

Az *Aspergillus fumigatus* antifungális érzékenységének *in vitro* vizsgálata

DE Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék

Az invazív tüdőaszpergillózis az egyik leggyakoribb szisztémás mikózis az immunhiányos betegek körében, amelyet elsősorban az *Aspergillus fumigatus* okoz. Az invazív tüdőaszpergillózis súlyossága, magas halálozási aránya és előfordulásának gyakorisága új antifungális szerek sürgős kidolgozására hívják fel a figyelmet. Bebizonyosodott, hogy a vas és a sziderofór rendszer az *Aspergillus fumigatus* legfontosabb virulencia faktorai közé tartoznak.

Ezen tanulmány célja, hogy megvizsgáljuk az *Aspergillus fumigatus* gomba érzékenységét külön-külön endogén és exogén sziderofórokkal, amfotericin B-vel, flukonazollal és PAF-fal szemben, valamint e hatóanyagok kombinációjával szemben is. Feltételezzük, hogy a deszferri-sziderofórok antifungális szerekkel történő kombinált alkalmazása az *Aspergillus fumigatus in vitro* tenyészetek apoptózisához vezethet.

A hatóanyagok *in vitro* antifungális aktivitását 12-lyukú szövettenyésztő plate-en a gombatelep átmérőjének lemérésével határoztuk meg. Ezt követően az Abbott formulát használtuk annak becslésére, hogy a különböző anyagok együttes alkalmazása során mekkora mértékű interakció lépett fel.

Megállapítottuk, hogy a deszferri-sziderofórok képesek az *Aspergillus fumigatus in vitro* növekedését gátolni. Különösen a deszferri-triacetilfuzarinin C és a ferrikrocin mutattak jelentős antifungális sajátságokat. Továbbá, a deszferri-triacetilfuzarinin C és amfotericin B kombinált alkalmazása során szinergizmust állapítottunk meg. Másrészt, a flukonazol és az *Aspergillus fumigatus* endogén sziderofórai között enyhe antagonizmust figyeltünk meg, amely a hatékony kezelés érdekében új antifungális szerek alkalmazására hívja fel a figyelmet.

Eredményeink azt mutatják, hogy ha deszferri-sziderofórokat adunk a táptalajhoz, az az *Aspergillus fumigatus* vasháztartásának felborítását eredményezi, valamint az aszpergillózis kezelésének egy új aspektusát jelentheti.

Ez a munka az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (OTKA K75883) és a Nemzeti Fejlesztési Ügynökség (TÁMOP -4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0045) támogatásával valósult meg.

**Klinikailag egészséges szájnyalkahártya HPV hordozásának vizsgálata magas kockázatú
nőbetegekben és férfitpartnereiknél**

DE Orvosi Mikrobiológia Intézet

A humán papillomavírus (HPV) szexuális kontaktus során történő terjedésekor a nők és a férfiak egyaránt fertőződhetnek, valamint felmerül a szájúregi transzmisszió lehetősége is. Ennek következtében kialakulhat az orális nyálkahártya perzisztens fertőzése, amely később különböző premalignus és malignus kórképek kialakulásához vezethet.

Vizsgálataink során elsődleges célunk volt a HPV előfordulási gyakoriságának felmérése, valamint genotípusának és kópiaszámának meghatározása 39 magas fokú laphám eredetű intraepitheliális lézióval (HSIL) rendelkező nőbeteg és 31 olyan férfi esetében, akiknek partnerei HSIL elváltozással rendelkeztek. Vizsgálati alanyaink körében 19 párnál volt lehetőségünk a szájúregi és genitális nyálkahártya egyidejű mintázása.

A nőbetegek genitális nyálkahártyájáról származó exfoliált sejtekben szignifikánsan magasabb ($p=0,006$) volt a HPV prevalencia (32/39), mint a férfi partnerek (17/31) esetében, azonban a szájúregi minták HPV pozitivitása nem mutatott jelentős különbséget. A HPV DNS átlagos kópiaszáma szignifikánsan alacsonyabb volt a nők szájúregi mintáiban ($5,8 \times 10^3$ kópia/1 μ g DNS; $p=0,002$) és férfi partnerek genitális nyálkahártyájában ($5,0 \times 10^5$ kópia/1 μ g DNS, $p=0,01$), mint a nők genitális mintáiban ($7,8 \times 10^5$ kópia/1 μ g DNS). A 19 pár vizsgálatakor kilencben volt detektálható a HPV DNS a genitális nyálkahártyán a férfi és a nő esetében is, a tipizálható mintákban a vírus genotípusa megegyezett a partnerek között.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a lézióval rendelkező nőbetegek esetében hasznos lehet a férfi partnerek HPV státuszának felmérése is, amely hozzájárulhat a gyorsabb eradikációhoz, valamint a reinfekció kockázata is csökkenthető. A párok vizsgálata alapján elmondható, hogy a perzisztensen HPV pozitív partnerrel történő folyamatos kontaktus sem biztosít elegendő feltételt a HPV szájúregi transzmissziójához.

Munkánkat a Mec-13/2011 támogatta.

A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú "Nemzeti Kiválóság Program - Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program" című kiemelt projekt keretei között valósult meg.

A medvehagyma (*Allium ursinum*) protektív hatásainak vizsgálata magas koleszterin tartalmú diétán tartott New Zealand nyúl modellen

DE, Gyógyszerhatástani Tanszék

A kardiovaszkuláris megbetegedések összefüggésbe hozhatóak bizonyos - a helytelen életmóddal kapcsolatos és ezáltal befolyásolható – rizikófaktorokkal, melyek elleni küzdelem napjainkban is kiemelt helyet foglal el az orvostudományban. Számos tanulmány igazolta már különböző növényi hatóanyagok (pl.: *Allium sativum*, *Vitis vinifera*) jótékony hatását a szív-érrendszerre.

Jelen tanulmányunkban a medvehagyma, *Allium ursinum*, komplex kardiovaszkuláris hatásait vizsgáltuk hiperkoleszterinémias nyúl modellen. Hím New Zealand nyulakat 3 csoportra osztottunk (n=6): I: kontroll csoport, normál táp, II: HC csoport, 2% koleszterinnel dúsított táp, III: HCM csoport, 2% koleszterinnel és 2% medvehagyma liofilizátummal dúsított táp, melyet az állatok 8 héten keresztül kaptak *ad libitum*. Vizsgálatunk során a következő tényezőkre irányultak vizsgálataink: 1) a szérumban paraméterek (CRP, GOT, LDH, CK, Totál Koleszterin, LDL, HLD, Triglicerid) megállapítása, 2) szívfunkciós paraméterek „izolált dolgozó szív” perfúziós készülék segítségével (AF, CF, AOP), valamint echocardiográfiás vizsgálattal (FS, EF, A/E, TAPSE), 3) plakk képződés kimutatása Sudan III festékkel aorta thoracicából, 4) hemoxigenáz-1 fehérje (HO-1) expressziójának vizsgálata Western blot analízissel.

Kezelésünk jelentősen javította a vér lipid paramétereit, valamint kedvezően befolyásolta a miokardiális infarktus prognosztikus markereinek szérumszintjét a beteg csoporthoz képest. Az echocardiográfia során szignifikánsan javult szív szisztolés funkciót mértünk, bár a diasztolés funkció vizsgálata során jelentős változást nem tapasztaltunk. Az ateroszklerotikus léziók analízise során drámai csökkenést, Western blot vizsgálatunk során szignifikáns HO-1 fehérje expressziót tapasztaltunk a kezelés hatására.

A vizsgált paraméterek tekintetében elmondhatjuk, hogy kedvező hatással bír a medvehagyma a szív-érrendszerre, célunk további vizsgálatok elvégzése, hogy hatásmechanizmusának pontos molekuláris hátterét is feltérképezzük.

Autofágia és kamrafibrilláció

DE Gyógyszerhatástani Tanszék

Az iszkémián átesett szívizomban a reperfüzió során aritmiák alakulhatnak ki. Az autofágiás folyamatok és az aritmiák kapcsolatáról azonban kevés információ áll rendelkezésre. Az iszkémia, mint „autofágia induktor” szerepe többé-kevésbé ismert, ezért jelen kísérletünkben elektromos stimulussal váltottuk ki a kamrafibrillációt. Vizsgálatainkkal a kamrafibrillációk és autofágiás folyamatok közötti esetleges ok-okozati összefüggéseket tanulmányoztuk. Valamint azt is vizsgáltuk, hogy az autofágiás folyamatok és az apoptózis hogyan korrelálnak egymással.

Kísérleteinkben izolált dolgozó patkány szívmodellt használtunk. Az izolálást követően a szíveket „Langendorff” perfúziós készülékre helyeztük, és a kontroll csoport kivételével különböző hosszúságú elektromos stimulus indukálta fibrillációt (1, 3, 5, 10 perc) valamint tachycardiát (10 perc) váltottunk ki. Ezt követően egy 120 perces perfúzió következett. A kísérlet alatt vizsgáltuk az elektromos stimuláció előtti és utáni szívfunkciókat. Munkánk során szívfrekvenciát, aorta kiáramlást, koronária átáramlást és aortanyomást mértünk, majd ezekből perctérfogatot és verőtérfogatot számoltunk. A szívszöveteket a későbbiekben különböző molekuláris biológiai vizsgálatokhoz használtuk fel. Western-blot segítségével olyan autofágiás és apoptotikus markerek szintjét mértük, mint például az LC3II/LC3I arány, Beclin-1, Atg5, Atg7, Atg12, Caspase-3. Western-blot eredményeink alátámasztása érdekében TUNEL assay segítségével szívmetszeteken vizsgáltuk az apoptotikus sejtek mennyiségét.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a kamrafibrilláció idejének növelésével a szívfunkciós paraméterek arányosan romlanak. Western-blot eredményeink alapján a fibrilláció idejének növelésével emelkedő autofágiás marker szinteket detektáltunk, azonban ez később csökkent és az apoptotikus markerek szintje emelkedett meg, melyet TUNEL assay is megerősített. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy egy viszonylag hosszabb idejű fibrillációt követően az autofágia már nem elegendő a túléléshez és aktiválódik az apoptotikus sejthalál útvonala.

Támogatások: Szodoray Lajos és Bolyai János kutatási ösztöndíj, TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0045, TÁMOP 4.2.4. A/2-11/1-2012-0001 ‘Nemzeti Kiválóság Program’.

Szilárd meggy mag kivonat fogyasztói vizsgálata és toxikológiai elemzése

DE, GYTK, Gyógyszerhatástani Tanszék

Az iszkémiás/reperfúziós szívizom károsodások csökkentésében fontos szerepet játszhatnak különböző növényi kivonatok a bennük található biológiailag aktív komponenseknek köszönhetően és használatuk a prevencióban is egyre nagyobb teret hódít.

Munkánk során célul tűztük ki egyrészt a meggy mag kivonat étrend kiegészítőként való fogyasztói vizsgálatát egészséges önkénteseken. Etikai engedélyezést követően elvégzett kontrollált vizsgálatban tíz önkéntes vett részt. A kezelt csoport 14 napig átlagos étrend mellett naponta egyszer fogyasztotta a 250 mg meggy mag őrleményt, míg a kontroll csoport placebót kapott. Fizikális vizsgálatokat, EKG-t és terheléses EKG-t, valamint laboratóriumi vizsgálatokat végeztünk, valamint az önkéntesek életminőséget felmérő kérdőívet is kitöltöttek. A vizsgálat során a vérparaméterek normál tartományon belül maradtak. EKG-k elemzésekor a vizsgálat előtti és utáni értékekben szignifikáns különbséget nem találtunk. Az önkéntesek társadalmi aktivitása nőtt és általános egészségi állapotukat is jobbra értékelték a vizsgálatot követően, mint azt megelőzően.

Továbbá arra kerestük a választ, hogy hosszantartó meggy mag kivonattal való etetés hím SD patkányokon jár-e valamilyen toxikológiai szempontból releváns szervi elváltozással. Az állatok (n=12) 6 hónapig kaptak tápjukba két különböző koncentrációban (0,05 és 1m/m%) kevert meggy mag kivonatot, míg a kontroll csoport regranulált tápot fogyasztott. A kísérlet végén a szerveket szövettani toxikológiai vizsgálatoknak vetettük alá, amely során egyik csoport egyik mintájában sem tapasztaltunk kóros elváltozást.

A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú, „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg, DE Belső Kutatási Pályázat.

A béta-karotin kardiovaszkuláris hatásai elvesznek magas dózisban történő alkalmazás esetén

DE, GYTK, Gyógyszerhatástani Tanszék

Fokozott mértékű oxidatív stressz kialakulásának a szervezetben rengeteg oka lehet, egyaránt befolyásolják külső és belső tényezők. Számos betegség hátterében is fellelhető ezen változás, melynek eredményeképpen megfigyelhető többek között a szervek, szövetek csökkent oxigénellátása és perfúziója. A folyamat során reaktív szabadgyökök képződnek, melyek felelősek a bekövetkező károsodásokért. Az antioxidáns tulajdonsággal rendelkező vegyületek szabadgyök fogó hatásuk révén, a prooxidáns-antioxidáns egyensúly javítása által a káros hatásokat csökkenteni képesek. A C-vitamin mellett az egyik leggyakrabban alkalmazott antioxidáns vegyület a béta-karotin. Klinikai kísérletek sora foglalkozott már szervezetre gyakorolt hatásaival; az eredmények nagymértékben ellentmondásosak. Ezekre alapozva vizsgáltuk hosszú idejű alacsony- és magas-dózisú béta-karotin kezelés hatásait egészséges és ZDF patkányokból izolált, iszkémia/reperfúzióknak kitett szívekben.

Eredményeink alapján, az alacsony dózisú kezelés szignifikáns mértékben javította a posztisztkémiás szívfunkciókat, valamint csökkentette a szívek infarktusos területeinek mértékét. Érdekes módon magas dózisú kezeléseket követően ezen protektív hatások eltűntek. Habár a béta-karotin kezeléseket követően a szívek HO-1 enzim szintjében növekedés látható, mégsem tapasztaltunk ebből adódóan jobb szívfunkció értékeket és/vagy magas dózisú kezelés következtében kisebb területen infarktust. Továbbá a kezelt beteg állatok esetében szignifikánsan alacsonyabb vércukor értékeket tapasztaltunk a nem kezelt beteg csoporthoz képest dózisfüggetlen módon, míg egészséges állatok vércukor értékeiben nem figyeltünk meg változást a kezeléseket követően.

Az általunk tapasztalt ellentmondásos kardiovaszkuláris hatások hátterében feltételezhetően a béta-karotinból reperfúzió során képződő ártalmas oxidatív termékek tehetők felelőssé. Ennek bizonyításához azonban további kísérletekre van szükség.

DE Belső Kutatási Pályázat. A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

A1 adenzin receptor deszenzitizáció tartós thyroxin előkezelés során: farmakológiai analízis
A1 ADENOZIN RECEPTOR DESZENZITIZÁCIÓ TARTÓS THYROXIN ELŐKEZELÉS SORÁN:
FARMAKOLÓGIAI ANALÍZIS

DE. Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet.

Korábbi kísérleteink során megállapítottuk, hogy a 8 napos *in vivo* thyroxin előkezelés tengerimalacokon gátolja az A1 adenzin receptor-indukált myocardialis kontraktilitás csökkenést, valamint a pulmonális artérián létrejövő fázikus kontrakciót. Jelenlegi kísérleteinkben izolált, tengerimalac arteria pulmonalis gyűrűpreparátumokon kimutattuk, hogy 1./ A1 adenzin receptor agonista (CPA) hatására fokozódik az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció. 2./ A fázikus kontrakció gátolható a membránális lassú kalcium csatornák blokkolásával (D-600, nifedipin). 3./ A foszfolipáz-C gátlása mérsékelt gátlást eredményez. 4./ Az intracelluláris Ca^{2+} -raktárak thapsigarginnal vagy cyclopiazonsavval történő depléciója jelentősen csökkenti a fázikus kontrakciót. 5./ Az intracelluláris Ca^{2+} -szenzitizációban résztvevő enzimek közül a tirozin kinázt genisteinnel, a foszfolipáz-C-t calphostin-C-vel, a Rho-kinázt HA-1077-el ill. Y-27632-vel gátoltuk. A kísérletek a tirozin kináz mérsékelt részvételére utaltak. 6./ Thyroxin előkezelés után az A1 adenzin receptor expresszió szignifikánsan csökkent mind pitvari myocardiumban, mind arteria pulmonalisban. 7./ Az A1 adenzin receptor-ADA-CD26-hsp73 makromolekuláris komplex vizsgálata során megállapítottuk, hogy thyroxin kezelést követően a gátló hatású hsc73 kifejeződése nem változik a pitvari myocardiumon, de jelentősen fokozódik arteria pulmonaliszon. 9./ 9./ Az A1 adenzin receptorra ill. a hsp73-ra vonatkozó megfigyeléseinket immunhisztokémiai vizsgálataink is megerősítették. Megállapítható, hogy az adenzin által létrehozott fázikus kontrakcióban mind a membránális Ca^{2+} csatornák mind az intracelluláris Ca^{2+} raktárak aktiválódásának fontos szerepe van. Szerepet játszik a folyamatban a PLC ill. az intracelluláris Ca^{2+} érzékenyítésben szerepet játszó tirozin kináz is. A tartós thyroxin előkezelés csökkenti az A1 receptor expresszióját és fokozza a hsp73 kifejeződését. Mindezek alapján jól magyarázható a fázikus kontrakció thyroxin expozíciót követő eltűnése.

Az Archazolid-B az ErbB2 fehérjék molekuláris kölcsönhatásainak megbontásán keresztül gátolja Herceptin rezisztens tumorok *in vitro* és *in vivo* növekedését

DE Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Az ErbB2 pozitív tumorok célzott antitest-terápiájában a Herceptin igen hatékony, ugyanakkor a tumorok jelentős százaléka rezisztenssé válik a terápiával szemben. Emiatt az alternatív tumorterápiás szerek kutatása kiemelt fontossággal bír. Az ErbB2 jelátvitel kulcsfontosságú mozzanata a receptor internalizációja és recirkulációja, így ennek gátlása új terápiás lehetőségeket nyit meg a Herceptin-rezisztens tumorok kezelésére. A vakuoláris (V)-ATP-áz fontos szerepet játszik az intracelluláris lebontó vezikulumok pH-homeosztázisában, valamint az endocitotikus- és a sejten belüli vezikuláris- transzportfolyamatokban, így alternatív terápiás célpont lehet. Jimt-1 sejtvonalon végzett kísérleteink során igazoltuk, hogy az Archazolid-B V-ATP-áz gátló molekula csökkenti az ErbB2 mennyiségét a sejtmembránban, fokozza az internalizált receptorok vezikulumokban történő felhalmozódását, valamint csökkenti azok relatív foszforilációját. *In vivo* kísérleteink során csökkent tumor növekedést tapasztaltunk Archazolid kezelést követően. A tumormetszetek konfokális mikroszkóppal végzett vizsgálata során csökkent Ki67 pozitivitást tapasztaltunk, mely a sejtproliferáció gátlására utal. Az alacsony Ki67 szint fokozott intracelluláris ErbB2 felhalmozódással is társult. Feltételezéseink szerint a csökkent proliferáció hátterében az ErbB2 csökkent recirkulációja áll, részben az ErbB2 sejtmembránban egyébként létrejövő molekuláris kölcsönhatásainak megváltoztatásán keresztül. Archazolid kezelést követően FLIM-FRET technika felhasználásával vizsgáltuk az ErbB2, β 1-integrin és a kölcsönhatásukban résztvevőként feltételezett Rab11-FIP1 molekulák közötti molekuláris kapcsolatot. Méréseink alapján úgy gondoljuk, hogy az Archazolid hatására csökken az ErbB2 és β 1-integrin, valamint az ErbB2 és Rab11-FIP1 molekulák közötti kölcsönhatás, s ennek feltételezhető következménye a sejtek csökkent migrációs és túlélő képessége. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy az Archazolid-B potenciálisan gátolja a Herceptin-rezisztens Jimt-1 tumorok növekedését azáltal, hogy meggátolja az internalizált ErbB2 molekulák újbóli kihelyeződését a sejtmembránba, ezáltal megbontva a tumorsejtek számára optimális jelátvitelükhöz szükséges molekuláris kölcsönhatásokat.

A hemodinamikai nitrát tolerancia meningeális érreakciókra gyakorolt hatásának vizsgálata

DE Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Közismert a nitroglicerín (glicerín-trinitrát, GTN) terápia fejfájást kiváltó hatása, ahogyan az is, hogy alkalmazása hemodinamikai nitrát tolerancia kialakulásához vezethet. A nitrogén-monoxid (NO) a trigeminovaszkuláris rendszer egyik fontos mediátor molekulája, mely egyéb mediátorokkal interakcióban komplex módon hat a trigeminovaszkuláris rendszer működésére. Célunk megvizsgálni a hemodinamikai nitrát tolerancia meningeális mikrocirkulációra kifejtett hatását.

A vizsgálatokat egészséges nőstény Sprague-Dawley patkányokon végeztük. A hemodinamikai nitrát toleranciát bőr alá beültetett Nitro-Dur tapasz segítségével értük el, kialakulását pedig 30 µg/kg GTN intravénás infúziójával igazoltuk. A trigeminovaszkuláris rendszer működését az artéria meningeá media területén alkalmazott GTN és nitroprusszid-nátrium (sodium nitroprusside, SNP) topikális adásával, valamint a dura mater elektromos ingerlésével vizsgáltuk. A meningeális véráramlásban bekövetkező változásokat Laser-Doppler mérőfej segítségével detektáltuk, Heamosys szoftver segítségével regisztráltuk és értékeltük. Végül a migrén akut gyógyszeres terápiájában hatékonynak bizonyult szumatriptán topikális applikációjának hatását vizsgáltuk egészséges kontroll és nitrát toleranciás patkányokban.

Hemodinamikai nitrát tolerancia fennállása esetén a topikális GTN alkalmazása után elmaradt a meningeális áramlásfokozódás, azonban a topikális SNP-re történő válasz megtartott volt. A dura mater elektromos ingerlésével nitrát toleranciás patkányban is képesek voltunk vasodilatációt kiváltani. A szumatriptán topikális alkalmazása csökkentette az elektromos ingerléssel kiváltott értágulat mértékét mind a kontroll, mind a nitrát toleranciás patkányokban.

Konkrét következtetések levonására csak az állatszám növelése és széleskörű statisztikai értékelése után lesz lehetőség. Terveink között szerepel a hemodinamikai nitrát toleranciában kiváltható meningeális vazodilatáció mediátor hátterének további vizsgálata.

Az adenzin direkt negatív inotróp hatásához tartozó A₁ adenzin receptor rezerv meghatározása hyperthyreoid tengerimalac pitvaron, továbbá a metabolikus rizikófaktorok összehasonlítása asthma bronchiale-s betegek inzulin érzékeny és inzulin rezisztens csoportjai között

DE Gyógyszerhatástani Tanszék

Kutatásaim két területet érintenek: **1.)** a pitvari A₁ adenzin receptor (A₁ receptor) direkt negatív inotróp hatásra vonatkozó receptor rezervjét, valamint **2.)** az asthma bronchiale és COPD diagnózissal kezelt betegek laboratóriumi, légzésfunkciós és életminőségi paramétereinek összefüggéseit.

1.) A szívizom ischaemiával szembeni toleranciáját növelő farmakonok intenzív kutatás tárgyát képezik. Mivel a hyperthyreosis növeli az ischaemiás szívbetegség kockázatát, ezek a szerek különösen hasznosak lehetnek hyperthyreoid betegek számára. Ilyen lehetőséget jelentenek az A₁ receptor agonisták, mivel az A₁ receptor kardioprotektív folyamatokat iniciál.

Korábbi kutatásaink során igen nagy A₁ receptor rezervet találtunk az adenzin direkt negatív inotróp hatására nézve tengerimalac bal pitvaron. Ez arra utal, hogy a pitvari kontraktilitás gyengítése az A₁ receptort stimuláló szerek mellékhatása lehet. Célunk az A₁ receptor rezerv meghatározása volt hyperthyreosisban. Vizsgálatainkhoz egy nemrégiben kifejlesztett kísérletes elrendezést és matematikai módszert használtunk, melyek segítségével gátolható az exogén adenzin eliminációja és korrigálható az endogén adenzin felhalmozódásából eredő torzulás.

Eredményeink szerint a hyperthyreosis nem befolyásolja lényegesen az adenzin pitvari direkt negatív inotróp hatásához tartozó A₁ receptor rezervet. Következésképp a pitvarok gyengülése az A₁ receptort stimuláló szerek fontos mellékhatása lehet mind eu-, mind hyperthyreoid állapotban.

2.) A Debreceni Egyetem Tüdőgyógyászati Klinikáján gondozott asthma bronchiale-s járóbetegek metabolikus rizikóstatusát mértük fel. Az inzulin érzékenységet a HOMA index-szel jellemeztük (inzulin rezisztencia: HOMA index $\geq 4,4$), a légzésfunkciót teljesest-pletizmográfiaival, az életminőséget pedig a Szent György Kórház Légzési Panaszokkal Kapcsolatos Kérdőívével (SGRQ) mértük.

A 164 beteg közül 36 bizonyult inzulin rezisztensnek. Az inzulin érzékeny és inzulin rezisztens csoport kora, nem szerinti megoszlása, dohányzási szokásai, továbbá összkoleszterin, LDL-C, Lp(a) és ApoB szintjei nem tértek el szignifikánsan. Ezzel szemben a rezisztens csoportban szignifikánsan magasabb volt a HgA1c, triglicerid, CRP, húgysav, testtömeg index, haskőfogát, a reziduális volumen referenciához viszonyított eltérése, valamint a négy életminőségi jellemző közül az aktivitás és az összpontszám. A HDL-C és az ApoA1 ugyanakkor szignifikánsan alacsonyabb volt a rezisztens csoportban. Az általunk vizsgált inzulin rezisztens asthma bronchiale-s betegek körében tehát magasabb kardiovaszkuláris rizikó, valamint rosszabb légzésfunkció és szubjektív életminőség figyelhető meg. Ez rávilágít az inzulin rezisztens állapot jelentőségére asthma bronchiale-s betegek esetében.

Algaszervezetek (*Nostoc sp.*) hatóanyag-analízise és metabolomikai vizsgálata patkányon

DE Növénytani tanszék, Farmakognózia részleg

A természetes alga tömegtermékek az elmúlt években kitüntetett szerepet kaptak, mint természetes hatóanyagforrás és számos farmakológiailag különleges metabolitot azonosítottak világszerte.

Kutatásunk célja egyes algaszervezetek (kiemelt tekintettel *Nostoc* fajok) hatóanyag termelésének jellemzése, kitüntetett speciális anyagcseretermékek vizsgálata, egyes erőhatású metabolitok izolálása, analízise természetes tömegtermékekből valamint táplálék-kiegészítőként forgalmazott algafajokból. Ezen túl bizonyos algaszervezetekre jellemző hatóanyagok hatásának vizsgálata metabolomikai módszerekkel modell állatokon.

Magyarországon, a Hortobágyon megtalálható a *Nostoc* alga faj, melyet sikerült izolálnunk és labor körülmények között jól fenntartható tenyészetet kialakítanunk. Elvégeztük kémiai analízisét a főbb komponensekre. A nyálkaanalízis (GC-MS) során meghatároztuk szénhidrát monokomponenseit, melyek igen jelentős mennyiségben vannak jelen a fajban. Karotinoid összetevőit LC-MS technikával vizsgáltuk mellyel több fontos vegyületet azonosítottunk. Mivel a cianobaktériumokra jellemző a toxintermelés (microcystin, anatoxin cylindrospermopsin), *in vivo* akut toxicitási vizsgálatot végeztünk patkányokon. Metabolomikai vizsgálatok során vizelet és szérum analízist (GC-MS) végeztünk négy hetes etetést követően.

Eddigi eredményeink alapján elmondható, hogy a *Nostoc* algafaj metabolomikai elemzésével egy kevésbé felderített területet vizsgálunk és összetevőinek analízisével egy kémiailag jól definiált fajt írtunk le, mely nem toxikus patkány modellre nézve. Tervezzük a metabolomikai vizsgálatok folytatását egy-egy fontosabb molekulát is kiemelve illetve krónikus toxikológiai tesztekkel.

Metil-béta-ciklodextrin endocitózisának vizsgálata

DE Gyógyszertechnológiai Tanszék

A ciklodextrinek széles körben alkalmazott segédanyagok. A gyógyszeriparban biohasznosíthatóságot növelő gyógyszerhordozó rendszerek képezhetők velük. Hidrofób belső üregükben vízben rosszul oldódó vendégmolekulák molekuláris kapszulázására képesek. Munkacsoportunk korábbi vizsgálataiból kiderült, hogy a ciklodextrinek a vékonybél enterocitáival kölcsönhatásba lépnek, az egysejtrétegen keresztül lassan és kis mennyiségben penetrálódnak, illetve bekerülnek a sejtek citoplazmájába.

A bemutatandó kísérletek célja a sejtbejutás mechanizmusának - feltehetően az endocitózisnak - a megismerése volt.

A bélhámsejt eredetű Caco-2 sejtek differenciált egysejtrétegén fluoreszcensen jelölt random metilezett béta-ciklodextrin (FITC-RAMEB) használatával vizsgáltuk a sejtbe jutó ciklodextrin mennyiségét. A fluoreszcencia intenzitás növekedett az idő függvényében. A ciklodextrin felvételét sejtuszuspenzióban is megvizsgáltuk 0- és 37 °C-on áramlási citometriával. 0 °C-on nem történt felvétel, 37 °C-on az előzővel egyező eredményeket kaptunk. A differenciálatlan sejtekben fluoreszcensen jelölt korai endoszómális fehérjét (RFP-Rab-5) expresszáztattunk, FITC-RAMEB-es kezelést követően konfokális pásztázó lézer mikroszkóppal vizsgáltuk a kolokalizációjukat. A felvételeken kolokalizáció a sejtmembránban volt mérhető. Az ismert fluid fázisú endocitózis marker (Lucifer Yellow) felvételével összehasonlítva megfigyelhető, hogy a FITC-RAMEB hasonló módon jut be a sejtekbe.

A kísérletek eredményeiből arra következtethetünk, hogy a ciklodextrin fluid fázisú endocitózissal bejut a bélhámsejtekbe és ott endoszómális vezikulumokban halmozódik fel konfluens, differenciált monolayer és különálló, differenciálatlan sejtek esetén is. Így az alkalmazásánál az eddigi tulajdonságai mellett, mint oldékonyságnövelés, permeabilitás és felszívódás fokozás, egy új mechanizmussal is számolni kell, mégpedig azzal, hogy gyógyszerhordozóként bejut a bélhámsejtek citoplazmájába.

A 3-as és 4-es kromoszóma aneuploidiájának vizsgálata uvealis melanómában fluoreszcencia in situ hibridizációval

DE Biofarmácia Tanszék

Az uvealis melanoma a szem leggyakoribb rosszindulatú primer daganatos megbetegedése. Korábbi eredményeink során az uvealis melanomák jelentős részében (47%) detektáltuk az I-es típusú LH-RH receptorát, melynek génje a 4-es kromoszómán helyezkedik el. Előzetes eredményeink alapján, az uvealis melanómában leggyakoribb 3-as kromoszóma aberráció mellett a 4-es kromoszóma is eltérést mutat. Munkánk során célul tűztük ki a 3-as és 4-es kromoszóma jelenlétének tanulmányozását uvealis melanoma szövetmintákon.

Mintáink a Debreceni Egyetem Szemklinikájáról származnak. Munkánkban az interfázisban lévő sejtmagokban megjelenő számbeli eltérések kimutatására legalkalmasabb eszközt, a fluoreszcencia in situ hibridizációt (FISH) alkalmaztuk. Vizsgálatainkban egyidejűleg tanulmányoztuk a prognosztikai jelentőséggel bíró 3-as és a 4-es kromoszóma alterációit centroméra-specifikus szondákkal.

A 4-es kromoszóma az esetek csupán 7%-ában volt sejtenként 2 kópiában jelen, 32 esetben (71%) kópiaszám többletet, 2 esetben (4%) kópiaszám veszteséget találtunk. Eredményeinket összevetettük a mintákon korábban elvégzett LH-RH receptor expresszióra vonatkozó eredményeinkkel, melynek alapján kijelenthetjük, hogy az általunk vizsgált mintákban az LH-RH receptor expressziója független a 4-es kromoszóma megoszlásától. A 3-as kromoszóma monoszómiája az esetek 36 %-ban volt megfigyelhető, 13 %-ban pedig a 3-as kromoszóma többletét detektáltuk.

A 4-es kromoszóma a normál sejtekhez képest eltérő mennyiségben található meg uvealis melanomákban. Statisztikai analízisünk szerint az azonos uvealis melanoma mintákból származó 3-as és 4-es kromoszóma indexek között mérsékelt fokú, de statisztikailag szignifikáns ($p = 0,0036$) korreláció mutatkozott. Eredményeink újabb információkkal szolgálnak ezen igen agresszív daganattípus genetikai hátterének megismeréséhez és hozzájárulhatnak a betegség prognózisának és terápiájának pontosabb meghatározásához. Munkánk felgyorsítása érdekében szöveti microarray-t készítettünk, melyeken folytatjuk a FISH vizsgálatokat, illetve azokat immunhisztokémiai módszerrel egészítjük ki.

Antibiotikumok és szénhidrátok fullerén-származékának szintézise

DE Gyógyszerészi Kémiai Tanszék

Korábbi munkám során előállítottam egy olyan aggregációra hajlamos molekulát, ahol a lipofil tulajdonságú fullerén szerepelt hordozómolekulaként, ehhez egy hidrofil összekötő láncon keresztül teikoplanin-pszüdoaglikont kapcsoltam, mely egy glikopeptid típusú antibiotikum származék. A molekula aggregációs tulajdonságától azt vártuk, hogy az aggregátum felületén a fullerén molekulákhoz kovalensen kapcsolt antibiotikum molekulák nagyobb számban vannak jelen, ezáltal erősebb kölcsönhatást várhatunk a bioaktív molekula és a baktérium sejtfalán található kötőhelyek között. Az előállított molekula kiválóan aggregálódott, jó antibakteriális hatással is rendelkezett, és influenza A vírusokkal szemben mérsékelt antivirális aktivitással is bírt.

Újabb célunk immár egy antivirális aktivitással rendelkező fullerén-származék előállítása volt: olyan önszerveződő, vizes közegben várhatóan nagyméretű aggregátumot képező multivalens ligandum szintézise, amely multivalens kötődéssel képes az influenzavírus felületén lévő hemagglutininekhez kötődni, ezzel meggátolva a vírus fertőzőképességét. Vagyis egy olyan vegyület előállítása a cél, mely a vírus megkötése céljából *N*-acetyl-neuraminsavat tartalmaz, és nem hasítható a neuraminidáz enzim által, így megakadályozza az influenzavírus fertőzőképességét. A szervezetben az *N*-acetyl-neuraminsav mindig egy galaktóz egységhez kötődik) *O*-interglikozidos kötőssel, ezért egy olyan diszacharid kialakítását tűztük ki célul, amely a neuraminidáz enzim által nem hasítható *S*-interglikozidos kötést tartalmaz. Ehhez a diszacharid molekulához egy 1,3-dipoláros cikloaddíciós reakcióval, ún. click-reakcióval hozzákapcsoltuk a fent említett tetraetilén-glikol molekulákkal ellátott fullerén-származékot. Ez a vegyület szintén jól aggregálódott, a biológiai vizsgálat során azonban kiderült, hogy sajnos nem rendelkezik a várt antivirális hatással az előállított származék, azonban közepes mértékű influenzavírus neuraminidázgátló hatással igen. Ezek után ugyanezen célból terveztük még egy monoszacharid és egy kevesebb hidrofil lánccal ellátott fullerén-származék szintézisét is.