



***A Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola  
szimpóziumának és a TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-  
2015-0001 projekt keretében végzett munkák  
absztraktjai  
2015***



***PhD hallgatók***  
***Farmakológia program***

**Kalantari Azin**

**The Enhanced Inhibitory Effect of Different Antitumor Agents in Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems on Human Cervical Cancer HeLa Cells**

*DE Gyógyszertechnológiai Tanszék*

The aim of this study was to develop topical self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) containing antitumor agents (bleomycin, cisplatin and ifosfamide) and to investigate their inhibitory potential in SMEDDS on human cervical cancer HeLa cells. The physicochemical properties of cytostatic drug loaded SMEDDS were characterized. The cytotoxicity of main components of SMEDDS was also investigated. Their IC 50 values were determined. HeLa cells were treated by different concentrations of cisplatin, bleomycin and ifosfamide alone and in various SMEDDS. The inhibitory effect on cell growth was analyzed by MTT cell viability assay. Inflammation is a driving force that accelerates cancer development. The inhibitory effect of these antitumor agents has also been tested on HeLa cells in the presence of inflammatory mediators (IL-1- $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) as an in vitro model of inflamed human cervix. Significant differences in the cytotoxicity of cytostatic drugs alone and in SMEDDS have been found in a concentration-dependent manner. Self-micro emulsifying system may potentiate the effectiveness of bleomycin, cisplatin and ifosfamide topically. The effect of SMEDDS containing antitumor agents was decreased significantly in the presence of inflammatory mediators. According to our experiments the optimal SMEDDS formulation is 1:1:2:6:2 ratios of Isopropyl myristate, Capryol 90, Kolliphor RH 40, Cremophor RH40, Transcutol HP and Labrasol. It can be concluded that SMEDDS may increase the inhibitory effect of bleomycin, ifosfamide and cisplatin on human cervical cancer HeLa cells. Inflammation on HeLa cells hinders the effectiveness of SMEDDS containing antitumor agents. Our results might ensure useful data for development of optimal antitumor formulations.





## Bombicz Mariann

### Új fitoterápiás lehetőségek monokrotalin indukálta pulmonális hipertónia kezelésében

*DE, Gyógyszerhatástani Tanszék*

A szív jobb kamrájának szerepéről rendelkezésünkre álló ismeretanyag messze elmarad a bal kamrához képest. Részben ezen okból kifolyólag is tekintik a jobb oldali szívelégtelenséget gyógyíthatatlannak, mely állapot egyik leggyakoribb oka az emelkedett pulmonális artériás nyomás. Kutatócsoportunk azt feltételezi, hogy az *Allium ursinum* L. növénynek terápiás értéke lehet pulmonális hipertónia kezelésében.

Sprague Dawley patkányokat három csoportra osztottunk: I.: 2 % medvehagyma liofilizátummal dúsított normál táppal etetett (Kontroll); II.: Pulmonális hipertenzív beteg csoport (PAH); III.: Pulmonális hipertóniás állatok, melyek 2% medvehagyma liofilizátummal dúsított tápot kapnak (Kezelt). A pulmonális hipertóniát egyetlen dózis intraperitoneálisan beadott monokrotalin oldattal értük el (60mg/kg). A kezelés nyolc hétig tartott, a szívfunkciós paramétereket *in vivo* echokardigráfia, *ex vivo* izolált dolgozó szív perfúziós készülék segítségével vizsgáltuk, melyet ketamin/xyzalazin anesztézia után végeztünk.

A diasztolés szívfunkciók monitorozásához Doppler technikát alkalmaztunk, mely során a jobb kamrai funkciók (TAPSE) szignifikáns javulását tapasztaltuk a kezelt csoportban. Az E/A arány és az S hullám nem mutatott jelentős változást. Az izolált szív preparátumokon szignifikáns aorta kiáramlás növekedés volt megfigyelhető a medvehagyma-kezelt csoportban a PAH csoporthoz képest, ugyanakkor a koronária-átáramlás értékeiben nem találtunk különbségeket.

Eredményeink egyértelműen azt sugallják, hogy az *Allium ursinum* kedvező hatással bírhat a jobb kamrai hipertrófia kezelésében.



**Czeglédi András**

## **Autofágia és kamrafibrilláció**

### *DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

Az iszkémián átesett szívizomban a reperfúzió 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, 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’.





## Czompa Attila

### A fekete fokhagyma hatásainak vizsgálata iszkémia reperfundált patkány szívizomban

#### *DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

A fekete fokhagymát (FF) a fokhagyma hosszú ideig tartó magas hőmérsékleten való érlelésével állítják elő, összetétele mellett külső jegyekben is nagy változásokon megy keresztül. Vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy ez az ízben és illatban is új jegyeket hordozó növényi származék milyen hatást fejt ki a szív-érrendszerre a fokhagymával (F) összehasonlítva.

Hím Sprague Dawley patkányokat kezeltünk négy héten át 300 mg/kg/nap F és FF kivonattal. A kontroll csoport tagjai vivőanyagot kaptak. A kezelés végén az állatokat elaltattuk, vért vettünk tőlük, szívüket izoláltuk és 30 perc iszkémiának, majd 120 perc reperfúzióknak vetettük alá, amelyek alatt folyamatosan regisztráltuk a szívfunkciós paramétereket. Reperfúziót követően meghatároztuk az infarktusos terület nagyságát, valamint Western blot analíziseket végeztünk a lehetséges molekuláris mechanizmusok feltérképezése miatt.

Az állatok testtömegében és vérparamétereiben a kezeléseket követően említésre méltó különbséget nem tapasztaltunk a 3 csoport állatai között. 30 perc iszkémiát és 120 perc reperfúziót követően a kezelt állatok szívében a kontroll állatokhoz viszonyítva a posztiszkémiás szívfunkciók számottevően kisebb mértékben romlottak a kezdeti állapothoz képest, ám a két kezelt csoport paramétereit között nem mértünk szignifikáns különbségeket. A kontroll állatok szíveiben 30% körüli szívizomelhalás volt tapasztalható, míg a F és a FF kezelés hatására jelentősen csökkent az infarktusos terület nagysága. Emelkedést tapasztaltunk a kezelt állatok miokardiumában az antiapoptotikus Bcl-2 fehérje szintjében, valamint enyhe csökkenést a cytochrome-c fehérje mennyiségében.

Eredményeink alapján a fokhagyma érlelése során végbemenő változások nem csökkentik a fokhagyma jótékony hatásait. A molekuláris változások arra engednek következtetni, hogy ez a protektív hatás a fekete fokhagyma esetében is részben annak köszönhető, hogy bizonyos apoptotikus útvonalak gátlódnak.

Támogatások: DE Belső Kutatási Pályázat, OTKA K-104017 és PD-11794, TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001, TÁMOP-4.2.6-15/1-2015-0001



**dr. Csépanyi Evelin**

**Alacsony- és magas-dózisú béta-karotin kezelés kardiovaszkuláris hatásai patkány modellben**

*DE, Gyógyszerhatástani Tanszék, Bioanalitikai Nem Önálló Tanszék*

A szervezet prooxidáns/oxidáns egyensúlyának felborulásának rengeteg oka lehet, egyaránt befolyásolják külső és belső tényezők. A növekedett mértékű oxidatív stressz a szervezetben, számos betegség kialakulását előidézheti; mint például kardiovaszkuláris, neurodegeneratív vagy daganatos jellegű kórképek. A folyamat során reaktív szabadgyökök képződnek, melyek felelősek a bekövetkező károsodásokért. Az antioxidáns tulajdonsággal rendelkező vegyületek szabadgyök fogó hatásuk révén, a káros hatásokat csökkenteni képesek. A C-vitamin mellett az egyik leggyakrabban vizsgált antioxidáns vegyület a béta-karotin. Klinikai kísérletek sora foglalkozott már szervezetre gyakorolt hatásaival; az eredmények azonban nagymértékben ellentmondásosak. Ezekre alapozva vizsgáltuk hosszú idejű alacsony- és magas-dózisú béta-karotin kezelés hatásait 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 és növelte a szívszövet antioxidáns kapacitását. 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. Ezt követően megvizsgáltuk a béta-karotin citotoxicitását sejtenyészeten MTT assay segítségével, H9c2 sejtvonalon. Eredményeink alapján elmondható, hogy a H9c2 sejteken hidrogén-peroxid hatására a kontrol csoportban bekövetkezett életképes sejtek számának növekedése volt tapasztalható a 2.5, 5, 10  $\mu\text{mol}$  koncentrációjú béta-karotin kezelés következtében. A 20  $\mu\text{mol}$  koncentrációjú béta-karotin kezelés hatására a kontrolhoz képest nem változott szignifikáns mértékben az életképes sejtek száma.

Az egészséges állatokon béta-karotinnal végzett kísérleteink eredményeit összefoglaló kézirat jelenleg major revíziót követően bírálat alatt áll a „Pharmacological Research” folyóiratnál.

Támogatások: DE Belső Kutatási Pályázat, TÁMOP-4.2.6.-15/1-2015-0001. 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.





**Fodor Klára**

**A célzott daganatterápiára kifejlesztett citotoxikus LHRH analóg AN-152 (AEZS-108) hatásmechanizmusának vizsgálata humán uvealis melanoma sejteken**

*DE Biofarmácia Tanszék*

A doxorubicinnel konjugált, LHRH (Luteinizing Hormon- Releasing Hormon) receptorához kötődő AN-152 (AEZS-108) sejtosztódásra gyakorolt gátló hatását már számos *in vitro* és *in vivo* kísérletben több daganattípus esetén igazolták. Korábbi munkánk alapján az OCM-3 humán uvealis melanoma (UM) sejtek expresszálják az LHRH-R-t és az AN-152 0,5-10  $\mu$ M koncentrációban szignifikánsan csökkenti a sejtek proliferációját. Jelenlegi munkánk során azt vizsgáljuk, hogy az AN-152 citotoxikus LHRH analóg milyen génextpressziós változásokat idéz elő UM sejtekben, s a változások különböznek-e a doxorubicin ekvivalens dóziséval történő kezeléssel indukáltaktól.

Kísérleteinkben 94, az angiogenezisben részt vevő gén kifejeződését vizsgáltuk a kezeletlen és AN-152-vel kezelt sejteken RT-qPCR-array-vel. A legnagyobb mértékű eltérést mutató Maspin tumorszupresszor mRNS-szintű expresszióját RT-PCR segítségével normál uvea és UM szövetekben, valamint doxorubicinnel kezelt OCM-3 sejtekben is megvizsgáltuk. A legjelentősebb, változást mutató gének expresszióját fehérje szinten is megerősítettük.

Az RT-qPCR-array eredményei alapján a kontroll sejtekhez képest a kezelt mintákban 5 gén expressziójában szignifikáns emelkedést, 7 gén expressziójában szignifikáns csökkenést figyeltünk meg. A legnagyobb mértékű változást a Maspin tumorszupresszor gén expressziójában figyeltünk meg (203x-os upreguláció). A Maspin mRNS expresszióját valamennyi vizsgált egészséges szövetmintából sikerült kimutatnunk, ellentétben a megvizsgált UM szövetmintákkal, melyek nem mutattak pozitívást. A fehérje szintű vizsgálatok megerősítették az RT-qPCR-array során kapott eredményeinket, mely szerint az AN-152 hatására jelentős, s a doxorubicin által okozott változáshoz képest nagyobb mértékben nő a Maspin kifejeződése, számottevő a HIF-1 $\alpha$ , VEGF és VEGF-B protoonkogének downregulációja is.

Az AN-152 kezelés UM sejtekben – a doxorubicin által indukált sejtproliferáció gátláson kívül - eddig nem ismert sejtszintű folyamatokat indít el. TÁMOP 4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0025, TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001, OTKA K 8159





## Hadházi Ádám

### Új neuraminidáz-gátlók és hemagglutinin-kötők szintézise influenza ellen

#### *DE Gyógyszerészi Kémiai Tanszék*

Az influenzavírus felületén található hemagglutinin nevezetű fehérje felelős a vírus-gazdasejt közötti kapcsolat kialakításáért, míg a kórokozó neuraminidáz (szialidáz) enzime az ellentétes irányú folyamatot katalizálja az *N*-acetilneuraminsav (NANA) –D-galaktóz közötti *O*-glikozidos kötés hasításával.

A fertőzés elleni védekezés egy lehetséges módját képezheti olyan sejtfelszíni szénhidrát-mimetikumok előállítása, melyek átmeneti állapot szerkezetüknek köszönhetően gátolják a neuraminidáz enzim működését, vagy a hemagglutinin kötőzsebéhez kapcsolódva megakadályozzák a vírus szaporodását. Ilyen ligandumokat biológiailag aktív molekulák szintetikus módosításával nyerhetünk, amihez nélkülözhetetlen segítséget nyújt a preparatív szerves kémia, az izolálást elősegítő kromatográfiás módszerek (VRK, oszlop- és flash-kromatográfia), valamint a modern szerkezetigazolási technikák (1D és 2D NMR: COSY, TOCSY, HSQC; HPLC-MS, IR, MALDI-TOF és DART) együttes alkalmazása.

Munkánk során sikerrel előállítottuk a tervezett neuraminsav-peracetát származékokat, majd Lewis-savas kezelést alkalmazva tioacetátra cseréltük az anomer funkciót. A következő lépésben oxidációs módszereket használva jutottunk a szulfonsav típusú vegyülethez, melyről Zemplén szerint távolítottuk el a védőcsoportokat.

További terveink között szerepel a teljes szintézisterv megvalósítása, az így nyert molekulák biológiai aktivitásának vizsgálata, remélve, hogy a szialsavszármazékok megfelelően nagy affinitással kötődnek az influenzavírus hemagglutinin ill. neuraminidáz fehérjéjéhez.





**Parizsa Péter**

**Algametabolitok analitikája és hatástani vizsgálata patkány modellen**

*DE Növénytani Tanszék*

Az algák és a belőlük előállított készítmények egyre nagyobb mennyiségben jelennek meg a piacon az utóbbi években, viszont a háttérükben annál kevesebb a bizonyítékon alapuló vizsgálat.

Célkitűzésünk a vizsgálati algafajjal kezelt kísérleti állatok vér és vizelet mintájából történő változások detektálása, esetleges mintázatok észlelése, metabolitok azonosítása. Vizsgálataink során mintákat LC-MS módszerrel elemezzük, illetve mérési módszer fejlesztünk ki, végül a kapott eredményeket a megfelelő adatbázisokkal vetjük össze.

Eddig sikerült az vizsgálati algafajt kémiaiilag karakterizálni, a vizeletminták vizsgálatához jól használható módszert fejleszteni, azonosított metabolitok változásait regisztrálni.

Ezek alapján elmondható, hogy érdemes további vizsgálatokat folytatni a kísérleti algafajjal.

**dr. Pák Krisztián**

**Az adenzin-dezamináz gátlás hatása eu- és hyperthyreoid tengerimalac pitvarok interstitialis adenzin-szintjére**

*DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

Az ischaemiás szívbetegetség a vezető halálok a fejlett országokban, ezért a szív ischaemiával szembeni toleranciájának farmakológiai eszközökkel való fontos stratégiai cél a gyógyszerfejlesztésben. Az egyik ilyen lehetőség az A<sub>1</sub> adenzin receptorok aktivációja, amely kardioprotektív hatással bír. Az is ismert, hogy a hyperthyreosis fokozza a kardiovaszkuláris morbiditást és mortalitást, ezért a szív védelmét előmozdító beavatkozások különösen fontosak a hyperthyreoid betegeknél. Ennek megfelelően PhD munkám fő célja az volt, hogy összehasonlítsuk az adenzin-dezamináz gátlás interstitialis adenzin-szintre kifejtett hatását izolált eu- és hyperthyreoid tengeri malac pitvaron.

Kísérleteinket 8 napon keresztül oldószer- illetve tiroxin-kezelt (330 µg/kg L-tiroxin ip. naponta) tengerimalacok izolált, ingerelt bal pitvarán végeztük. Koncentráció-hatás görbéket vettünk fel adenzinnal





(adenozin receptor agonista) és metakolinnal (acetyl- $\beta$ -metilkolin; muszkarin receptor agonista) a kialakuló negatív inotróp hatást mérve. Az adenzin-dezaminázt pentostatinnal (2'-deoxikoformicin) gátoltuk. A klasszikus izolált szervi technikát az általunk kifejlesztett receptorális válaszkésztség módszerrel (RRM) kiegészítve alkalmaztuk. Az RRM egy görbeillesztésen alapuló koncentráció-beclő módszer, amelyet a többlet interstitialis adenzin kvantifikálására alkalmaztunk.

Eredményeink szerint az adenzin-dezamináz gátlás az oldószert- illetve tiroxin-kezelt pitvarokban annyit többlet interstitialis adenzint halmozott fel, ami 28.05 nmol/l illetve 44.36 nmol/l metakolinnal ekvivalens a pitvari negatív inotróp hatás tekintetében. Az adenzin-dezamináz gátlás tehát nagyobb interstitialis adenzin koncentráció emelkedést okozott a hyperthyreoid, mint az euthyreoid pitvarokban, melynek az adenzin kardioprotektív hatása következtében a későbbiekben klinikai jelentősége lehet.

**Riba Milán**

### **Algafajok (*Microcystis* sp.) biológiailag aktív oligopeptid vizsgálata**

*DE Növénytani Tanszék*

Régóta ismert, hogy a cianobaktériumok képesek biológiailag aktív metabolitok termelésére. Ezen metabolitok heterogenitásából fakadóan hatásuk igen sokféle lehet.

Munkánk során 29 *Microcystis* sejtvonal biológiailag aktív oligopeptid mintázatát vizsgáltuk. A sejtvonalak több mint felében találtunk oligopeptideket, melyeket MS/MS fragmentációs mintázatuk alapján azonosítottunk, vagy soroltuk be az egyes metabolit csoportokba. A bioaktivitást mustár (*Sinapis alba*) növényteszt segítségével mértük.

13 sejtvonalban találtunk microginin vagy microginin jellegű metabolitokat. Ezek a lineáris oligopeptidek cink-metalloproteináz gátló (angiotenzin-konvertáló enzim; aminoproteináz) hatásúak, és a magas vérnyomás és a hozzá kapcsolódó betegségek kezelésében lehet fontos szerepük.

Anabaenopeptinek közül mintáinkban hármát sikerült azonosítani, ezen kívül találtunk szerkezetileg két nagyon hasonló metabolitot. Az anabaenopeptinek proteáz inhibitorok (protein-foszfataz-1) valamint proteolitikus enzimeket is gátolnak (tripszin, kimotripszin, elasztáz, karboxipeptidáz-A), ezen kívül egyes anabaenopeptinek izomlazító hatásúak.



*Microcystis* fajok által termelt legismertebb és legkutatottabb metabolit csoport a mikrocisztinek. Izolátumaink közül kettőben találtunk mikrocisztin variánsokat (főként MCY-LR, de MCY-YR is). A mikrocisztinek a 1 és 2A típusú protein foszfatázok specifikus gátlószereikén ismertek. A különböző szervezetekre nézve számos toxikus hatásuk ismert, állati és humán szervezetekben elsősorban a májat és az emésztőrendszert érintik.

A vizsgált minták többsége microginin termelő volt. A microgininek nagymértékű variabilitásából fakadóan a bioaktivitásuk mértéke is igen eltérő volt, de minden esetben gátolták a mustár csíranövények növekedését. Az anabaenopeptin domináns vonalak hasonlóképpen gátolták a növekedést. A legnagyobb gátlást a mikrocisztinek estében tapasztaltuk, ahol a legkisebb koncentráció is 70%-ban gátolta a növekedést.

## Róka Eszter

### **$\alpha$ -ciklodextrin származékok citotoxicitásának vizsgálata es további származékok kémiai szintézise**

*DE Gyógyszertechnológiai Tanszék*

*Claude Berdard Université Lyon 1 Equipe CSAp*

A ciklodextrinek (CD) évtizedek óta a tudományos érdeklődés középpontjában állnak. Ez a figyelem kifejezetten előnyös szerkezetükből adódik. A CD-ek 6, 7, vagy 8  $\alpha$ -1,4 glükopiranoz egységből felépülő, gyűrű alakú molekulák. Külső felszínük az OH-csoportoknak köszönhetően hidrofil, míg belső üregük hidrofób. Alkalmask megfelelő méretű és lipofilitású kisebb molekulák, vagy atomcsoportok fogadására, komplexképzésre. Ezt a tulajdonságot a gyógyszeripar mellett a mezőgazdaság, kozmetikai ipar, élelmiszeripar is régóta kihasználja. A felepitő egységek számától függően a CD-ek belső üregének mérete változó. A  $\beta$ -CD-ek alkalmasak a legtöbb biológiailag aktív molekulával való komplexképzésre, ezért ezek már szélés körben tanulmányozottak, ellentétben az  $\alpha$  és  $\gamma$  származékokkal. Célul tűztük ki az  $\alpha$ -CD-ek toxicitásának kiterjettebb vizsgálatát. A nativ anyamolekulából számtalan, változatos származék képezhető. A szubsztituens csoport típusától es elhelyezkedésétől függően változik a CD molekula számos tulajdonsága, így az oldékonyság és komplexképzés is. Különböző, első generációs  $\alpha$ -CD-eket vizsgáltunk citotoxikológiai szempontól. MTT teszttel es Real-Time Cell Electronic Sensing (RT-CES) módszerrel az



egyedülállóan meghatároztuk meg a Caco-2 sejteken, hemolízis teszttel pedig a HC50 értékeket, humán vörösvértesteket használva. Vizsgálataink eredményeként megállapítottuk, hogy az egyes származékok toxicitása függ a behatás idejétől, az alkalmazott koncentrációtól, és a szubsztituens csoport típusától, pozíciójától. A ma forgalomban lévő CD-ek jellemzője, hogy a származékok csak körülbelül meghatározott szubsztitúciós fokkal rendelkeznek. Körültekintő szerkezet-hatás összefüggések azonban csak pontosan jellemzett szerkezetekkel történhet. Így munkánk következő szakaszában célul tűztük ki különböző elsőgenerációs CD-ek szintézisét, a szerkezet-hatás összefüggés további vizsgálatát, valamint alegységenként különböző szubsztituens csoportokat is tartalmazó, másodgenerációs származékok szintézisét.

**Dr. Sipos Éva**

### **Az őssejt marker FZD6 immunhisztokémiai vizsgálata human uveális melanomában**

#### *DE Biofarmácia Tanszék*

Az uveális melanoma (UM), a szem leggyakoribb primer daganatos megbetegedése. A diagnózis felállításakor a betegek 50%-ánál távoli áttét is kimutatható. Az UM genetikai és epigenetikai hátteréről, valamint a metasztázis kialakulását előrejelző megbízható prognosztikai markerekről keveset tudunk. Korábbi vizsgálataink során a műtéti UM szövetminták jelentős százalékában detektáltuk mRNS szinten a következő őssejt markereket: FZD6 (100%), SOX10 (100%), NES (94%), NGFR (94%), PROM1 (82%). Ezen gének egyes kutatások szerint különféle daganatoknál prognosztikai markerek lehetnek és segíthetnek előre jelezni az áttétek megjelenését. Jelen vizsgálattal célunk volt az FZD6 őssejt marker további tanulmányozása, mely agresszív neuroblastomák markereként is ismert ugyanakkor szerepét UM-ban még nem vizsgálták.

Munkánk során 52 paraffinba ágyazott human UM szövetmintából szöveti mikroarray blokkokat (TMA) készítettük, melyeken az FZD6 fehérje expresszióját immunhisztokémiai módszerrel tanulmányoztuk. A betegek életkora 30 – 83 év közé esett (23 nő és 29 férfi). A TMA kontrollként 2 human naevus szövetmintát is tartalmazott.



Eredményeink alapján az FZD6 fehérje jelenléte detektálható volt UM szövetmintákban. Az általunk megvizsgált esetek > 60%-ában az összejt marker gyenge, míg > 10%-ában erős expressziója volt kimutatható. A naevusok a fehérjét nem expresszálták.

A daganat összejt teória szerint az olyan összejt markereket expresszáló sejtek, mint az általunk tanulmányozott FZD6, képesek kontrollálatlanul osztódó és/vagy áttétképzésre hajlamos sejtek létrehozására. E markerek segítségével a tumor kialakulásáért és fenntartásáért felelős sejtek azonosítása és szeparálása is lehetővé válhat. Eredményeink szerint az FZD6 expressziója a minták jelentős százalékában kimutatható, így feltételezhetjük, hogy szerepet játszhat ennek az agresszív daganattípusnak a létrehozásában és/vagy fenntartásában.

TÁMOP 4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0025, TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001, OTKA K 81596

**Szászné dr. Réti-Nagy Katalin**

### **Fluoreszcens béta-ciklodextrin származékok és komplexeik endocitózisának vizsgálata Caco-2 sejtvonalon**

*DE Gyógyszertechnológiai Tanszék*

A ciklodextrinek segédanyagként fontos szerepet töltenek be a gyógyszerek formulálása során. Legfőképpen a hatóanyag oldékonyságának növelésére és felszívódásának fokozására alkalmazzák őket, ám a legújabb kutatási eredmények rámutatnak arra is, hogy milyen összetett módon képesek kölcsönhatásba lépni a sejtek membránjával, ezáltal a biológiai barrierékkal. Emellett az is megerősítésre került, hogy a ciklodextrinek képesek a sejtekbe bejutni endocitózis segítségével. A vizsgált ciklodextrinek száma korlátozott, és ennek az új mechanizmusnak a szerepe sem tisztázott még a gyógyszerek hatóanyagainak felszívódása szempontjából.

Célunk volt megvizsgálni különféle béta-ciklodextrinek (hidroxipropil-béta-ciklodextrin (HPBCD), random metil-béta-ciklodextrin (RAMEB), és vízóldékony béta-ciklodextrin polimer(BCDpolimer)) fluoreszcensen jelölt származékainak az endocitotikus felvételét Caco-2 bélműsejtekbe. Emellett célul tűztük ki egy fluoreszcensen jelölt taxol származék komplexálását ezekben a ciklodextrinekbe, majd ezen komplexeket is vizsgálni az endocitózis szempontjából.





Kísérleteink során arra jutottunk, hogy a korábban már vizsgált RAMEB-hez hasonlóan a másik két származék permeabilitása is meglehetősen alacsony mértékű Caco-2 felszívódási modellen, ám szintén felvételre kerülnek a sejtek citoplazmájába. Mikroszkópos felvételeinken jól látszik, hogy az eltérő fluoreszcens festékekkel jelölt taxol és RAMEB egyazon vezikulákban helyezkednek el sejten belül a liofilezéssel létrehozott zárványkomplexeikkel történő kezelés után.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a ciklodextrin komplexek endocitózissal történő felvétele befolyásolhatja a hatóanyag felszívódásának folyamatát.

**dr. Tóth Gábor**

### **Her2 pozitív tumorok célzott kezelése humanizált antitestek kombinációjával**

*DE Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet*

A trastuzumab ErbB2 célpontú humanizált monoklonális antitest, mely az ErbB2 leszabályozását fokozza. Egy másik antitest, a pertuzumab az ErbB2 dimerizációs karjához kötődve annak heterodimerizációját gátolja. Kombinációjuk javíthatja a kezelés kimenetelét, akár célsejt szintű folyamatok miatt (pl. hiperkeresztükötés alapú ErbB2 internalizáció fokozódás), akár sztérikusan komplementer kötőhelyeket kínálva NK-sejtek számára az ADCC folyamatában.

Trastuzumab és pertuzumab F(ab')<sub>2</sub>-t pepszin-agaróz emésztéssel és gélszűréssel nyertünk. Az EC50 értékeket *in vitro* MTT alapú proliferációs kísérletekben határoztuk meg. Nem-radioaktív *in vitro* ADCC esszéhez nagy affinitású CD16 receptorral transzfektált NK-92 sejtvonalat használtunk. Az immunológiai szinapszisok kialakulását konfokális mikroszkóppal igazoltuk. Az antitestek antiproliferatív és ADCC vizsgálatát antitest-rezisztens JIMT-1 xenografton vizsgáltuk SCID egerekben. Az *ex vivo* szövettani metszetekben a tumorban jelenlévő NK sejtek számát, penetrációs képességét és a szinapszisok kialakulását vizsgáltuk fluoreszcenciás konfokális mikroszkóppal.

Az Fc régió hiánya nem befolyásolta jelentősen az antitestek önálló *in vitro* hatását sem a szenzitív BT-474, sem a rezisztens JIMT-1 sejtek proliferációjára. Az *in vitro* proliferációs kísérletekben a két antitest kombinációja additív hatásúnak tűnt mind a teljes antitestek, mind a F(ab')<sub>2</sub> esetében. Az ADCC alapú ölési kísérletekben az F(ab')<sub>2</sub> nem fejtett ki hatást, míg a teljes antitest mediálta az ölést. A két antitest kombinációjával jelentős mértékben csökkent a tumor növekedése *in vivo*. A kombinált kezelést kapott



állatokban az NK sejtek aránya, tumor penetrációs mélysége nőtt, morfológiájuk alapján ölfunkciójukban aktívabbak voltak.

Az *in vitro* és *in vivo* eredmények alátámasztják, hogy az antitestek kombinációs alkalmazásával a terápiás hatékonyság nő még a monoterápiára rezisztens daganatok esetén is, és ennek háttérében a két antitest által együttesen erősebb ADCC-t kiváltó hatás állhat.



***PhD hallgatók***  
***Mikrobiológia program***

**Domán Marianna**

**A caspofungin *in vitro* és *in vivo* aktivitásának vizsgálata paradox növekedést mutató, illetve nem mutató *Candida albicans* izolátumok ellen**

*DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet*

Az echinocandinok koncentrációfüggő aktivitása miatt elméletileg fokozható a terápiás hatékonyság nagyobb dózisok adagolásával invazív candidiasis kezelésében.

Munkánk során ezért a caspofungin ölési rátáját ( $k$ ) határoztuk meg idő-ölés módszerrel RPMI-1640-ben és 50% humán szérummal kiegészített tápközegben paradox növekedést (PG) mutató és PG-t nem mutató *C. albicans* izolátumok, valamint egy echinocandin rezisztens törzs ellen. Továbbá neutropéniás egérmodellben vizsgáltuk a caspofungin *in vivo* aktivitását.

A MIC értékek megemelkedtek 50% humán szérum jelenlétében a normál tápközegben mért értékekhez képest, azonban PG-t egyik esetben sem tapasztaltunk. RPMI-1640-ben az 1 és 32 mg/L koncentrációkhoz tartozó átlag  $k$  értékek 0,54 és 0,33 1/h voltak a PG-t mutató, illetve 0,36 és 0,13 1/h a PG-t nem mutató izolátumok esetében. Szérumos tápközegben az 1-32 mg/L koncentrációkhoz tartozó átlag  $k$  értékek a PG-t mutató izolátumok esetében szignifikánsan magasabbak voltak, mint a PG-t nem mutató izolátumoknál (0,60-0,65 1/h, illetve 0,18-0,21 1/h). Azonban szérum jelenlétében az ölési ráták 1-32 mg/L-en koncentráció függetlenek voltak az összes vizsgált *C. albicans* izolátum esetében, függetlenül a PG-től. Neutropéniás egérmodellben a napi 3, 5 és 15 mg/kg caspofungin dózisok szignifikánsan csökkentették a vesékből kitenyésztett élő sejtszámot a kontrollhoz viszonyítva mind a PG-t mutató, mind a PG-t nem mutató *C. albicans* izolátumok esetén.

Eredményeink alapján elmondható, hogy az 50% szérum csökkenti a caspofungin aktivitását, és a hatékony koncentrációkon, koncentráció független ölést eredményez az összes izolátum ellen. Az egyes izolátumok esetén tapasztalt különbségek a szérumban mért  $k$ -értékek esetén nem tükröződnek az *in vivo* eredményekben, a dózisznövelés nem eredményezett jobb hatékonyságot. *In vivo* a PG-nek nincs jelentősége.





## Szakács Levente

### T-helper aktivitás *Mycobacterium* fertőzésben

*DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet*

Tuberkulózist (TBC) leggyakrabban a *Mycobacterium tuberculosis* komplexbe tartozó baktérium fajok okoznak. A T-limfociták jelentős szereppel bírnak mind az immunválasz, mind a betegség diagnosztikájának szempontjából.

Célul tűztük ki, hogy a perifériás vér TBC specifikus, peptid antigénekkal történő, *ex vivo* stimulációját követően mRNS szinten vizsgáljuk az egyes citokinek expressziójában bekövetkező változásokat, továbbá, hogy az ily módon megállapított citokin expressziós mintázat segítségével részletesebben jellemezhesük az immunválasz során aktiválódó T-limfociták összetételét. Az Interferon-gamma release assay (IGRA) tesztekben a perifériás vért *M. tuberculosis* komplexre specifikus, oligopeptid epitóp keverékkel, *ex vivo* stimuláljuk 16-24 órán keresztül. Stimulációt követően a citokinek expressziójában bekövetkezett változásokat vizsgáljuk.

IGRA pozitív vérmintákból RNS-t izoláltunk. Reverz transzkripciót követően a citokinek mRNS színjét mértük, relatív mennyiségüket (RQ) *ddCt* módszerrel határoztuk meg.

Eredményeinkből arra következtetünk, hogy az immunválasz során Th1 limfocita populáció aktiválódott, mivel az általuk szekretált IFN $\gamma$  és IL-2 mRNS mennyisége növekedett. A Th2-specifikus citokin és transzkripciós faktor, az IL-10 és a GATA3 mRNS mennyiségében nem tapasztaltunk változást. Az IL-17A és az IL-22 mRNS mennyisége erőteljes növekedett, ami Th17 populáció aktiválódására utal. Növekedést tapasztaltunk továbbá IL-13 esetében, amely IL-22 növekedéssel társult, így Th22 limfocita populáció aktiválódását is feltételezzük. A Treg populációra jellemző transzkripciós faktor, a Foxp3 mRNS mennyisége is növekedett a stimulációt követően.



dr. Saleh Qasem

***Candida krusei* okozta véráramfertőzések a Debreceni Egyetem klinikáin (1995-2015)**

*DE Orvosi Mikrobiológiai Intézet*

A MEDSOL adatbázis alapján vizsgáltuk meg *Candida krusei* okozta véráramfertőzések klinikai jellemzőit. A vizsgált időszakban 21 beteg véréből izoláltuk ezt a ritka kórokozót. A betegek életkora 2,5-85 év között volt. Az alapbetegségek közül ALL 2, AML 1, Hodgkin és non-Hodgkin lymphoma 1-1, DM 4, pancreatitis 3, nőgyógyászati tumorok 3, égés, Ewing sarcoma, és alkoholos májcirrhosis 1-1 esetben szerepeltek. A betegek 14 illetve 90%-ka korábban antifungális illetve antibiotikus terápiában részesült. Nyolc beteg volt neutropéniás, 9 beteg szteroid vagy egyéb immunosuppresszív terápiában részesült a gomba vérből való izolálásának idején. 14 betegnek centrális vénás katétere volt. Hét beteg esetén egyidejűleg bakteriemia-t is diagnosztizáltunk, beleértve 2 MRSA fertőzést is. Nyolc beteg nem kapott antifungális kezelést. A terápia 8 esetben flukonazol, 4 esetben amphotericin B, egy alkalommal itraconazol míg 3 esetben caspofungin vagy micafungin voltak. A 8 illetve 30 napon belüli túlélések 43 illetve 19% voltak.

Eredményeink alapján a *C. krusei* okozta mortalitás szignifikánsan magasabb a nemzetközi adatoknál. Számos esetben nem adekvát terápiát tapasztaltunk a fajszintű meghatározás után is. A gyors és pontos diagnózis, az azonnal elkezdett antifungális terápia segíthet a flukonazol iránt primer rezisztenciával rendelkező *C. krusei* okozta candidemiák mortalitásának a csökkentésében.



**TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001 projekt keretében végzett munkák absztraktjai**

**Dr. Bak István**

**A Bioanalitikai Nem Önálló Tanszék curriculumának fejlesztése a GYTDI arculatába illeszkedő új, kreditpontos kurzus és kiscsoportos, gyakorlatorientált szeminárium tematikájának kidolgozása**

*DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

Jelenleg a gyógyszeriparban illetve a bioanalitika vizsgálatokban az a fejlődési irány, hogy egyre kisebb térfogatú mintákból kell egyre kisebb koncentrációban jelenlevő vizsgálandó anyagokat kimutatni. Az analitikai mérések sarkalatos pontja a mintavétel, illetve a mintaelőkészítés. Hiába rendelkezünk a legmodernebb, legérzékenyebb műszerrel, ha ezek során hibát vétünk, akkor a mérési eredmény is hibás lesz. Ezért úgy gondoltam, hogy célszerű lenne egy olyan kurzus kialakítása, amely során a hallgatók megismerhetik a legújabb mintaelőkészítési technikákat. Fontos szempont továbbá, hogy a nagyon kis koncentrációban levő vizsgálandó anyagokat nagy érzékenységű és nagy hatékonyságú műszerek segítségével határozzuk meg. Ezek részletesebb megismeréséhez pedig egy kiscsoportos gyakorlatorientált szeminárium kialakítása a cél, hogy az elméleti kurzusokon megismert műszerek felépítését, működését, valamint a műszerek által szolgáltatott eredmények információértékét a gyakorlatban is megtapasztalhassák a hallgatók.

**dr. Lekli István**

**Kurzus fejlesztés a Tamop 4.2.2.B-15\1\KONV-2015-0001 pályázat keretén belül a Gyógyszerhatástani Tanszéken**

*DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

A Támop pályázat keretén belül két kurzus kerül kidolgozásra. Az első kurzus gyakorlati és elméleti oktatást is tartalmaz. Az elméleti oktatás során a Tanszék kardiovaszkuláris kutatási projektjei kerülnek bemutatásra. Ez két blokkból áll. Az első blokk (3 előadás) keretében természetes eredetű derivátumok





kardiovaszkuláris rendszert érintő hatásait mutatjuk be. A második blokkban (3 előadás) a szívizom és az autofágia kapcsolatának bemutatása a célunk. Minden blokkhoz egy előadó, valamely társegyetemről kerül meghívásra. A kurzus gyakorlati részében az izolált dőgozó szív modell bemutatása és annak felhasználási lehetőségeit mutatjuk be a PhD hallgatóknak.

A második kurzus egy sportfarmakológia kurzus. A kurzus kidolgozása a Támop pályázat keretein belül valósul meg, azonban a PhD hallgatók mellet IV éves gyógyszerészhallgatók számára is meghirdetésre kerül. A kurzus során bemutatásra kerülnek a dopping és tiltólistás szerek, a különböző étrendkiegészítők és speciális tápszerek.

**Juhász Béla**

### **Diasztolés szívfunkció vizsgálata echocardiográfia segítségével SD patkányokon és New Zealand nyulakon**

*DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

Metabolikus rendellenességek, mint a koleszterin háztartás zavara, az atherosclerosis, az iszkémiás cardio- és cerebrovaszkuláris betegségek, az elhízás, a II-es típusú diabetes és komplikációi hatalmas egészségügyi és gazdasági terhet jelentenek a magas és közepes jövedelmű nyugati társadalmaknak. Tanszékünkön szerteágazó kutatás folyik a fent említett betegségek pathomechanizmusainak felderítésében, ill. azok farmakoterápiájában, különös tekintettel a szív és érrendszeri szövödményekre. Ezen okoknál fogva kutatási projektünkben követni kívánjuk a szív systolés és dyastolés szívfunkciós paramétereinek romlását SD patkányokon és New Zealand nyulakon és azt PhD hallgatókkal megismertetni. A szív státuszának monitorozására non-invazív módszerként echokardiográfiát alkalmazunk. A szív funkciós paramétereinek monitorozása során meghatározhatóak a szív állapotára utaló értékek, valamint kifejezhető annak teljesítőképessége is. A vizsgálat során nagy előny, hogy valós időben vizsgálható a szív működése. Az eszköz nagyfrekvenciájú ultrahangot bocsát ki, ennek visszaverődését vizualizálja és ezáltal képes megjeleníteni a szövetek mozgását. A képkötés három fő részből tevődik össze, melyek: az ultrahang kibocsátása, a visszaverődés mérése és az adatok képpé történő átalakítása. Az ultrahangot egy kerámia piezoelektromos transzducer hozza létre. Kísérletük során egy speciálisan kistrágcslókra kifejlesztett transzducerrel végeztük el a vizsgálatokat. A létrehozott hang frekvenciája 2 – 18 MHz között változhat. A



transzducerrel a hullámokat fókuszálhatjuk a kívánt mélységbe. Pulsed wave (PW) Doppler: szoftveresen a mintavételi kaput a megfelelő helyre helyezve mérhetőek áramlási sebességek, így például vizualizálhatóak a dyastolés funkció mérőszámai (E/A), valamint az aorta kiáramlási sebesség, ill. a TVI-PW Doppler (Tissue velocity imaging): A kaput a mozgó szövetrészeire illesztve meghatározható a szöveti mozgási sebesség: S', E' és A' hullámok. A szív dyastolés funkciójának időbeli követése és a módszer rutinszerű alkalmazása és megtanítása segíthet a PhD hallgatók kísérleteinek időbeli tájékozódásában.

**dr. Varga Balázs**

### **Streptozotocin indukálta diabeteses retinopathia vizsgálata elektroretinográfiával Fisher patkányokon**

*DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

Napjainkban az iparilag fejlett országokban mindinkább háttérbe szoruló fertőző betegségek helyére az úgynevezett „civilizációs betegségek” léptek. Ezek közül is kiemelkedő a diabetes mellitus, melyben a legfrissebb adatok szerint jelenleg 366,2 millió ember szenved, sőt a következő évtizedre, mint járványról beszélünk. Köztudott, hogy a diabetes mellitusban szenvedő betegek körében igen gyakoriak a szemészeti szövődmények. Magyarországon a diabeteses retinopathia a második leggyakoribb vaksághoz vezető betegség. Jelen kísérletünkben streptozotocinnal indukált I. típusú diabetes mellitusban kívánjuk vizsgálni a retinopathia kialakulásának időbeniségét, illetve az elektroretinográfiával való követés/előrejelzés lehetőségét. Magyarországon I. típusú diabetes mellitusban az inzulinon kívül a metformin az egyetlen orális antidiabetikum, amit a szakmai protokoll ajánl. Kísérletünkben ezért meg kívánjuk vizsgálni a metformin hatását a diabeteses retinopathia kialakulására.



*Gyöngyösi Alexandra*

## **A hemoxigenáz-1 rendszer és az autofágia kapcsolatának vizsgálata szívizomsejteken**

*DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

A szív és érrendszert érintő megbetegedések a mai napig vezető népegészségügyi problémát jelentenek, melynek hátterében leggyakrabban a szívizom iszkémia áll. Ugyanakkor a hirtelen, újra meginduló keringés (reperfúzió) további jelentős károsodásokat okozhat. A hemoxigenáz-rendszerről már korábban kimutatták antiarritmiás és kardioprotektív tulajdonságait. Kutatásaink során arra kerestük a választ, hogy az indukálható hemoxigenáz-1 (HO-1) és az autofágiás folyamatok között milyen kapcsolat állhat fenn. Kísérleteinket H9c2 sejteken végeztük és így tanulmányoztuk a hemin szerepét. A sejteket 50  $\mu$ M hemin oldattal kezeltük 24 órán át HO-1 expresszió növelése céljából. Kezelést követően vizsgáltuk a sejtek életképességét MTT assay segítségével, valamint a sejtek méretének és az autofagolizoszómák számának változását. Munkánk során elkezdtünk vizsgálni Western blottal néhány fehérje expressziójának változását is. Eredményeink alapján a H9c2 sejtek mérete a hemin kezelést követően nem változott számottevően, azonban a sejtek életképessége kis mértékben csökkent. Az autofagolizoszómák száma a perinukleáris térben a hemin-kezelt sejtek esetében jelentősen megnőtt a kezeletlen sejtekhez képest. Western-blottal igazoltuk a HO-1 indukálódását és egy autofágiás marker, a Beclin-1 fehérje szintjének emelkedését is. A kísérleteinkből arra következtetünk, hogy a HO-1 indukálása képes valamilyen módon az autofágiát aktiválni, melynek pontosabb felderítése további kutatásokat igényel.

Támogatások: OTKA K-104017 és PD-111794, TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001, TÁMOP-4.2.2B-15/1/KONV-2015-0001





## Czompa Attila

### A kamrai tachikardia hatása az autofágiás folyamatokra patkányokban

#### *DE Gyógyszerhatástani Tanszék*

Az autofágia egy olyan intracelluláris folyamat, amely során a sejtek saját alkotóelemeiket, sérült makromolekuláikat egy lizoszómális degeneratív útvonalon keresztül bontják le. A kamrai tachikardia egy nagyon veszélyes ventrikuláris aritmia, ami könnyen végzetes kamrafibrillációba torkollhat. Munkacsoportunk korábban már vizsgálta az I/R indukálta fibrilláció és az autofágia kapcsolatát izolált egérszív modellen. Jelen kísérleteink során célunk volt „in vivo” patkány modellen megvizsgálni a kamrai tachikardia és az autofágia közötti kapcsolatot. Kamrai tachikardiát különböző dózisokban intraperitoneálisan adott izoproterenollal váltottunk ki (0,005; 0,05; 0,5; 5; 50 mg/ttkg i.p.). Az állatokat 24 óra elteltével ketamin/xylazin i.p. injekcióval elaltattuk, majd vérvétel és szívizólás következett. A szíveket a további molekuláris biológiai vizsgálatokhoz megfelelően készítettük elő és tároltuk. Western-blottal vizsgáltuk az autofágiás és apoptotikus markereket. Ahogyan azt vártuk az izoproterenol dózisának növelésével növekedett a 24 órás mortalitás, megjegyzendő, hogy az általunk használt nagyobb izoproterenol dózisoknál a kamrai aritmia mellett az iszkémia is kulcsfontosságú szerepet játszik a szívizom károsodások kiváltásában. Ezt támasztja alá a szérum Troponin T szintje, ami az izoproterenol szint növelésével arányosan növekszik. Az LC3BII/LC3BI aránya már alacsony izoproterenol dózisonál emelkedést mutat, megjegyzendő, hogy a magasabb dózisok alkalmazásakor, amikor az iszkémia szerepe megnő a marker szintje emelkedett marad. A beclin-1 szintje hasonló irányú változást mutatott. Jelenlegi eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a kamrai aritmiák önállóan is modulálják az autofágiás folyamatokat, azonban további vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy megvizsgáljuk milyen mértékben és ez hogyan járul hozzá a szívizom károsodásához esetleg védelméhez. Támogatás: TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001





dr. Csépanyi Evelin

## Újonnan szintetizált kromén származékok antioxidáns kapacitásának és citotoxicitásának vizsgálata

*DE Gyógyszerhatástani Tanszék, Bioanalitikai Nem Önálló Tanszék*

Rohanó világunkban a mai kor emberének élete részévé kell tennie a stressz és egyéb külső tényezők okozta szervezeti károsodások elleni védekezést. Számos betegség kialakulásának hátterében a szervezet antioxidáns-prooxidáns egyensúlyának felborulása áll. A kialakuló prooxidáns túlsúly pedig különböző kórképek kialakulásához vezethet. Napjainkban rengeteg antioxidáns tulajdonságú hatóanyag van forgalomban. Különböző kémiai szerkezettel rendelkező molekulák bírnak antioxidáns hatással, melyek esetenként szervspecifikus viselkedést mutatnak. Vizsgálataink során 20 db eltérően szubsztituált kromén alapváz vegyületet vizsgálunk. A kísérletek során meghatározzuk gyökfogó hatékonyságukat galvinoxyl, DPPH, és ABTS gyökökkel szemben, valamint FRAP és ORAC assay segítségével az antioxidáns kapacitásukat. Továbbá vizsgáltuk a vegyületek citotoxicitását H9c2 sejtvonalon, valamint H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indukálta sejtelhalásra kifejtett hatásukat. Eddigi eredményeink alapján elmondható, hogy a vizsgált vegyületek egyike sem mutatott kiemelkedő mértékű antioxidáns kapacitást galvinoxyl illetve DPPH gyökökkel szemben, míg ABTS gyök esetén 4 vegyület [(2E)-3-(4-oxo-4H-kromén-3-il)prop-2-én-sav, 4-oxo-4H-kromén-3-karboxil-sav, 3-[5-(klórmetil)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-4H-kromén-4-on, 3-[(Z)-2-feniletetil]-4H-kromén-4-on] is jelentős gyökfogási hatékonysággal rendelkezett. A FRAP assay esetében pedig az előbb felsorolt 4 vegyület szintén hatásosnak bizonyult. A már elvégzett kísérletek alapján 4 potenciális vegyület antioxidáns tulajdonságaik alapján alkalmas lehet az iszkémia/ reperfüzió-indukálta szívizom károsodások kivédésére, azonban az ORAC assay valamint a citotoxicitási vizsgálatok elvégzését követően pontosabb képünk lesz a vegyületek tulajdonságairól.





## Hadházi Ádám

### Potenciális hemagglutinin-blokkolók szuperszámítógépes molekulamodellezésére

#### *Gyógyszerészi Kémiai Tanszék*

Az influenzavírus olyan sejtfelszíni receptorokhoz kötődik, melynek szénhidrát típusú poliszacharidjai sziálsavval végződnek. Ez a monoszacharid rendszerint galaktózhoz kötött, mely ideális szerkezettel rendelkezik a hemagglutinin vírusfehérjéje számára. Az alábbi projekt potenciális hemagglutinin-blokkolók szuperszámítógépes molekulamodellését/tervezését célozta meg.

A szuperszámítástechnika (HPC) szerepe a tervezésben:

Dokkolási fázis: Számítógépes molekulamodellezés (dokkolás: Schrödinger, Glide) felhasználásával egy előre elkészített virtuális molekulahalmaz (kémiai tér: ~ 12 vegyület) fehérjékkel (biológiai tér: 3 hemagglutinin mutáns (PDB: 1RVZ, 2WRG, 3UBE) való kölcsönhatását vizsgáltuk a megfelelő kötőkonformációk meghatározása végett. Ennek ismeretében pontozófüggvények segítségével kiválasztottuk azokat a vegyületeket, melyek ideális szintetikus célpontoknak tekinthetők a becsült kötődési affinitás értékek alapján.

Modellfinomítás: A dokkolás jól használható a kötődési konformáció előrejelzésében, de a kapott score értékek gyakran gyengén korrelálnak a mért adatokkal, így ezek pontosítása érdekében MM-GBSA számolásokat végeztünk (Schrödinger, Prime). A biológiai rendszerek természetének megértéséhez kulcsfontosságú, hogy pontos ismeretekkel rendelkezünk a folyamatokban résztvevő molekulák mozgásáról/dinamikájáról. Ehhez az akadémiai célokra ingyenesen elérhető Desmond 3.7 molekuladinamikai csomagot használtuk fel.

Alkalmazott módszerek: dokkolás, molekuladinamika (MD) és szabadenergia perturbációs számítások (FEP).



**Kicsák Máté**

### **Triciklánók: új típusú nukleozid analógok**

*DE Gyógyszerészi Kémiai Tanszék*

Nukleozidok szintetikus módosítását tűztük ki célul. Az RNS-alkotó (uridin, adenzin, citidin, guanozin) és két nem „természetes” (inozin, 5-metiluridin) ribonukleozidok átalakítása is terveink közt szerepel. Az 5'-helyzetben lévő primer hidroxil-csoportot *tert*-butil-dimetilszilil (TBDMS)-védőcsoporttal látjuk el. Perjodátos reakcióban 2'- és 3'-helyzetben dialdehiddé oxidáljuk gyűrűfelnyílás közben. A megfelelő dialdehideket a trisz-hidroximetil-aminometánnal (*Tris*) reagáltatva sztereoszelektív reakcióban egy teljesen új triciklusos vázat alakítottunk ki, a 3,7,10-trioxa-11-aza-tricikloundekánt. Ezek alapján a vegyületeinket elneveztük triciklánóknak. A TBDMS- és az amino-védőcsoport eltávolítása után állítható elő a monomer triciklánó nukleozid-származék. A belgiumi Leuveni Katolikus Egyetemmel együttműködés keretében biológiai vizsgálatokat tervezünk. Az uridin- és az adenzin-származékok antivirális-aktivitás vizsgálata már folyamatban van különböző vírustörzsekre, és a továbbiakban előállított vegyületeket is szeretnénk megvizsgáltatni. Jelen ösztöndíjpályázat keretében a citidin és a guanozin származékok szintézisével foglalkoztam.

**Riba Milán**

### **Nostoc fajok oligopeptid vizsgálata**

*DE Növénytani Tanszék*

A *Nostoc* nemzetségbe tartozó fajok farmakológiai szempontból jelentős peptid típusú molekulák termelésére lehetnek képesek. Ezek a másodlagos anyagcsere-termékek hatásukat tekintve igen széleskörűek lehetnek, úgymint antimikrobiális, tumorelles, antioxidáns, különböző enzimaktivitást gátlók.

A Hortobágy területéről korábban begyűjtött 65 mintából izoláltunk fajok. A minták bioaktivitását mustár (*Sinapis alba*) növénytesztrel vizsgáltuk, az izolátumok peptid metabolit mintázatát folyadék kromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriai módszerrel (LC-MS) kezdtük vizsgálni. A kezdeti





vizsgálathoz 5 izolátumot választottunk, melyekből vizes és metanolos (50% és 80%) kivonatokat készítettünk. A méréshez a kivonatokat tízszeresére hígítottuk, úgy hogy metanolra nézve 10%-osak legyenek.

A növényesztek kiértékelés során találtunk mind növekedést gátló, mind növekedést serkenő izolátumokat. Az előzetes LC-MS mérések során találtunk biológiailag aktív peptideket, de ezek azonosítása még folyamatban van.

**Szűcs Zsolt**

### **Tilia fajok szövettanyészetének vizsgálata**

*DE Növénytani tanszék*

Az előző évben *Tilia tomentosa*, *Tilia cordata* és *Tilia plathyphyllos* murvaleveleiből sikeresen indítottunk szövettanyészetet. A metanolos kivonatot már vizsgáltuk vékonyréteg kromatográfiásan. Ebből már kiderült számunkra, hogy a szövettanyészet termel valamilyen bioaktív anyagot. Vékonyréteg kromatográfiásan összehasonlítva a kallusz, UV-ban detektálható anyagok szempontjából szegényesebb volt, mint a növények murvalevele.

Elvégeztük az LC-ESI-MS vizsgálatokat, amiből kiderült, hogy a mintázata eltér az adott faj murvalevelének mintázatától. A kalluszban lévő anyagok mennyisége legalább egy nagyságrenddel meghaladja a növények murvalevelében lévő anyagok mennyiségét. A három vonal bioaktív hatóanyag mintázata szinte megegyezik egymással, csupán az anyagok mennyisége tér el egymástól helyenként. A kalluszokban 335, 385, 387, 633, 865 m/z értékű csúcsok voltak a legjelentősebbek, amik a fragmentációjukat tekintve valószínűleg nem flavonoidok. Találtunk viszont egy 577 m/z értékkel rendelkező csúcsot, ami viszont flavonoid származék lehet, tömegspektrum alapján két flaván váz összekapcsolódásából származó vegyület. 335-ös csúcs több helyen is megtalálható a kromatogramon. A legtöbb esetben ez a vegyület a *T. cordata* kalluszában található meg. Továbbá nagyobb mennyiségben van jelen a *T. cordata* kalluszában a 633-as és a 865-ös m/z értékkel rendelkező anyag. A 385-ös és a 387-es m/z értékű anyagok pedig a *T. vulgaris* kalluszában van jelen nagyobb mennyiségben.



Tóth Gábor

## Trastuzumab emtanzin (T-DM1) fluoreszcenciás jelölése és kötődésének vizsgálata

*DE Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet*

A trastuzumab olyan, tumor terápiában alkalmazott ErbB2 célpontú humanizált monoklonális antitest, melyre egyszerre jellemző a terápiás siker és a magas rezisztencia arány. A fellépő terápiás nehézségek miatt az ErbB2 ellenes célzott kezelések folyamatos fejlesztése a cél. A trastuzumab emtanzin (T-DM1) a trastuzumab antitest és a cytotoxikus emtanzin konjugátuma.

Célunk az ErbB2-t célzó *in vitro* és *in vivo* daganatellenes kezelések összehasonlító vizsgálatainkat a T-DM1 antitestre is kiterjeszteni. Ennek érdekében a klinikai terápiában alkalmazott trastuzumab és T-DM1 antitesteket fluoreszcens festékekkel szükséges konjugáljunk az antitestek affinitásának és hatékonyságának megőrzése mellett. A kísérletek első fázisában a trastuzumab fluoreszcens konjugálását végeztük. Fluoreszcens festékek az Alexa Fluor festékcsalád 488, 555 és 647 jelű tagjait használtuk. Az antitestek specifikus antigén felismerő tulajdonságainak összehasonlításához kettős kompetíciós vizsgálatot végeztünk ErbB2-pozitív SKBR-3 sejteken, áramlási citométeres méréssel. A proliferáció-gátló hatást MTT-alapú esszével mértük. A trastuzumab antitest affinitását és proliferáció-gátló képességét egyik Alexa Fluor fluoreszcens festék sem módosította jelentősen. A fluoreszcensen jelölt antitestek megbízhatóan alkalmazhatóak a fluoreszcens festékekkel nem konjugált, terápiában alkalmazott trastuzumab helyett. A projekt második felében a T-DM1 konjugálását fluoreszcens festékekkel és annak ellenőrző vizsgálatait tervezzük elvégezni.



Rebenku István

## ITGA5 ellenes monoklonális antitest hibridoma általi termelésének és izolálásának optimalizálása

*DE Biofizikai és Sejtbiológiai intézet*

Az ITGA5 jellemzően az ITGB1-el heterodimert alkotva található meg, ezt nevezzük fibronectin receptornak. Vizsgálatainkhoz elengedhetetlen, hogy rendelkezünk megfelelő ITGA5 elleni antitestel. Az AIIB2 monoklonális antitestet patkány hibridoma sejtvonal termeli, az ITGA5 inaktív formájához kötődik.

A laborunkban korábban alkalmazott antitest termelési és izolálási protokollt használva azt tapasztaltuk, hogy a protein G oszlopról eluált antitest jelentős mennyiségű szérum fehérjével szennyezett. Emiatt meghatároztuk, hogy a különböző mennyiségű szérumot tartalmazó médiumban hogyan változik a sejtek életképessége (DMEM + 0, 2, 5, 10, 20% FBS). Egy hét elteltével az elpusztult és élő sejtek arányát áramlási citométerben propidium jodid és fluoreszcein diacetát segítségével állapítottuk meg. Az előbbi eredményekre alapozva 2 % valamint 1% szérum tartalmú médiumban növesztettük a sejteket, majd a felülúszóból izoláltuk az antitesteket protein G töltetű oszlopon. Az így nyert antitesteket U87 glioblasztoma sejtvonalon teszteltem. Az AIIB2-t primer antitestként használtam, másodlagos antitestként kecske anti-patkány IgG (Alexa Fluor 488) –t használtam. Kontrollként más labor által izolált AIIB2 szolgált. A három primer antitestből hígítási sort készítettem, az ennek eredményeként kapott telítési görbéket összehasonlítva arra jutottunk, hogy a 2% FBS tartalmú médiummal sikerült a várt tisztaságot és kinyerést reprodukálni.

Vizsgáltam továbbá, hogy a foszfát (pH 7,4) és az acetát (pH 5,5) puffer hogyan befolyásolja a protein G oszlopon történő szeparálás hatékonyságát. Eredményeim szerint a két puffer hatékonysága között mindössze 15% a különbség az acetát puffer javára. Ez azért meglepő, mert egy hasonló patkány hibridoma által termelt antitest esetében 250%-kal jobb kinyerést tapasztaltunk acetát puffer esetén.