

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Čellárová Eva, prof. RNDr. CSc.	Evidenčné číslo projektu: 20-0037-04
Názov projektu: <i>Hypericum perforatum</i> L.: Genetické aspekty syntézy hypericínu a jeho cytofototoxické účinky	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, Ústav biologických a ekologických vied, Katedra genetiky a Katedra bunkovej biológie
	Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra genetiky
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Univerzita v Dortmunde a v Oldenburgu, Nemecko
	Biofyzikálny ústav v Brne, Česká republika
	Univerzita v Oulu, Fínsko
	Univerzita sv. Klimenta Ohridského v Sofii, Bulharsko
	Univerzita v Neapole, Taliansko
	Ústav experimentálnej botaniky v Sanreme, Taliansko

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače alebo pripravované):	Urbanová M. et al.: Genetic and biochemical analysis of <i>Hypericum perforatum</i> L. regenerated after cryopreservation. <i>Plant Cell Rep.</i> 25, 140-147, 2006
Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.	Košuth J. et al.: Expression of the hyp-1 gene in early stages of development of <i>Hypericum perforatum</i> L. <i>Plant Cell Rep.</i> 26, 211-217, 2007
	Vlček D. et al.: <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> : a convenient model system for the study of DNA repair in photoautotrophic eukaryotes. <i>Curr. Genet.</i> , 53, 1-22, 2008
	Kleban J. et al.: Pre-treatment of HT-29 cells with 5-LOX inhibitor (MK-886) induces changes in cell cycle and increases apoptosis after photodynamic therapy with hypericin. <i>J. Photochem. Photobiol. B: Biology</i> 84, 79-88, 2006
	Kleban J. et al.: Modulation of hypericin photodynamic therapy by pre-treatment with 12 various inhibitors of arachidonic acid metabolism in colon adenocarcinoma HT-29 cells. <i>Photochem. Photobiol.</i> 83, 1174-1185, 2007
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	Využitie výsledkov projektu je v oblasti biotechnologickej alternatívy produkcie bioaktívnych látok a nových farmakoterapeutických postupov pre farmaceutický priemysel a klinickú prax.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas ku zverejneniu údajov v nej uvedených.

Podpis riešiteľ'a:

Dátum: 25.01.2008

Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: 20-0037-04

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Projekt bol zameraný na štúdium genetických aspektov produkcie bioaktívnych látok v *Hypericum perforatum* L. a ďalších zástupcov rodu *Hypericum* s cieľom prispieť k objasneniu funkcie jediného známeho génu s predpokladanou účasťou v biosyntéze hypericínu, ale aj k znalostiam o dedičnosti ďalších znakov a vlastností a navrhnúť možnosti dlhodobého uchovávanía genotypov s požadovanými vlastnosťami bez rizika genetických zmien a zníženia biosyntetického potenciálu. K pozitívnym výsledkom projektu prispela genealogická analýza potomstiev somaklonov, ktorá pomohla objasniť dedičnosť hlavných reprodukčných mechanizmov a ich vzťah k ploidii. Štúdium exprese génu *hyp-1* ukázalo, že jeho funkcia v biosyntéze hypericínu, pokiaľ takúto funkciu má, sa evidentne líši od predpokladu publikovaného v roku 2003. Kryobiologické štúdium potvrdilo genetickú stabilitu a biosyntetický potenciál kryokonzervovaných explantátov. Druhou oblasťou výskumu, ktorá tvorí „interface“ medzi štúdiom bioaktívnych látok v prírodnom(ých) zdroji(och) a potenciálnym využitím týchto látok v protinádorovej terapii, bol screening hypericínu na jeho mutagénnu/antimutagénnu aktivitu na prokaryotických a eukaryotických modeloch, ktorý mutagénny účinok nepotvrdil, čo predstavuje pozitívny výsledok pre jeho ďalšie uplatnenie. V nadväznosti na uvedené výsledky bolo cieľom projektu zhodnotiť využitie predinkubácie buniek rôznymi inhibítormi LOX, COX a cytochróm P450 dráhy s následnou subletálnou koncentráciou aktivovaného hypericínu na nádorovú bunkovú líniu HT-29. Predinkubácia buniek s inhibítorom 5-LOX dráhy, ako aj 5, 12-LOX a 12-LOX dráhy v kombinácii s fotodynamickou terapiou (PDT) dávково závislým spôsobom ovplyvnila prežívanie nádorových buniek. Predinkubácia buniek s nešpecifickými inhibítormi COX dráhy posilnila fotocytotoxický vplyv hypericínu, aj keď s najväčšou pravdepodobnosťou sú uvedené efekty nezávislé na COX. Naše výsledky naznačujú, že tento experimentálny model PDT s inhibítorom LOX dráhy (MK-886) môže byť využitý v klinickej praxi ako terapeutický postup navodzujúci inhibíciu proliferácie buniek a tým aj progresiu nádorového rastu.

Všetky ciele projektu boli splnené v súlade s harmonogramom riešenia aktualizovaným pre jednotlivé roky.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

Project was aimed at the study of genetic aspects of production of bioactive substances in *Hypericum perforatum* L. and other representatives of the genus *Hypericum* in order to contribute to understanding of the function of the only known gene with proposed function in hypericin biosynthesis as well as to recent knowledge on inheritance of other traits and to design possibilities of long-term storage of desirable genotypes without risk of genetic changes and lowering of biosynthetic potential. Genealogical analysis of somaclones and their progenies contributed to clearing up inheritance of major reproduction pathways and their association with ploidy. Study of expression of the *hyp-1* gene showed that its role in hypericin biosynthesis, if any, is different from that originally suggested in 2003. Kryobiological study proved genetic stability and biosynthetic potential of cryopreserved meristems. The second field forms an interface between study of bioactive substances in their natural sources and their potential use in anti-cancer therapy. It comprises screening of mutagenic/antimutagenic activity of hypericin on selected prokaryotic and eukaryotic models. No mutagenic activity of hypericin was found what represent positive results for its potential use. Therefore, the final objective of this project was to evaluate the effectiveness of pre-treatment of cells with various inhibitors of lipoxygenase, cyclooxygenase and cytochrome P450-monooxygenase pathways followed by hypericin-mediated photodynamic therapy (PDT). Pre-treatment of human colon cancer cells HT-29 prior to PDT with 5-lipoxygenase inhibitor, as well as 5, 12-lipoxygenase and 12-lipoxygenase inhibitors respectively, resulted in significant and dose-dependent effects on cell survival. Pre-treatment with nonspecific COX inhibitors promoted hypericin-mediated PDT, but these effects were probably COX-independent. In contrast, application of specific inhibitors of COX-1 and COX-2 respectively, attenuated PDT. These results indicate that combined treatment involving PDT and LOX inhibitor MK-886 may improve the therapeutic effectiveness of PDT. All goals stated in project proposal have been fulfilled in accordance with the updated plan for each year.

Podpis riešiteľa: