



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0094

Obranné mechanizmy mikrobiálnych a živočíšnych buniek pri znižovaní ich citlivosti na rastlinné defenzné zlúčeniny

Zodpovedný riešiteľ **prof. Ing. Albert Breier, DrSc.**

Príjemca

Slovenská technická univerzita v Bratislave - Fakulta chemickej a potravinárskej technológie

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav biochémie a mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Projekt bol riešený bez zahraničnej spolupráce.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Žiaden takýto výstup nebol dosiahnutý ako priamy výstup riešenia projektu. Albert Breier je spoluautorom Úžitkového vzoru na izoláciu glukorafanínu (rastlinného prekurzora sulforafanu) z vesnovky obyčajnej. Šimkovič Martin, Polozsányi Zoltán, Galádová Helena, Breier Albert, Spôsob získavania glukorafanínu z vesnovky obyčajnej C07H 1/08, ktorý súvisí s problematikou riešenou v tomto projekte.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

- [1] A. Bertova, S. Kontar, Z. Polozsanyi, et al., Effects of Sulforaphane-Induced Cell Death upon Repeated Passage of Either P-Glycoprotein-Negative or P-Glycoprotein-Positive L1210 Cell Variants, International Journal of Molecular Sciences 23 (2022) 10818
- [2] V. Betinova, N.T. Hervay, D. Elias, et al., The UPC2 gene in stress adaptation, Folia Microbiol 67 (2022) 641-647
- [3] K. Cverenkárová, P. Olejníková, K. Soltys, et al., Comparison of gut resistomes in healthy individuals and patients with severe alcoholic hepatitis, Acta Chim Slovaca 16 (2023) 109-121.
- [4] D. Elias, N.T. Hervay, M. Bujdos, Y., et al. Essential Role of Erg6p in Maintaining Oxidative Stress Tolerance and Iron Homeostasis in, J Fungi 9 (2023) 579
- [5] D. Elias, N. Toth Hervay, J. Jacko, et al., Erg6p is essential for antifungal drug resistance, plasma membrane properties and cell wall integrity in Candida glabrata, FEMS Yeast Res 21 (2022) foac045.
- [6] M. Garaiova, Q. Hua, R. Holic, Heterologous Production of Calendic Acid Naturally Found in by Recombinant Fission Yeast, J Agr Food Chem 71 (2023) 3842-3851.
- [7] N.T. Hervay, A. Bencova, M. Valachovic, et al., gene deletion modifies sterol homeostasis and susceptibility to metabolic inhibitors in, Yeast 37 (2020) 647-657.

- [8] N.T. Hervay, D. Elias, M. Habova, et al., Catechin potentiates the antifungal effect of miconazole in, *Folia Microbiol* 68 (2023) 835-842.
- [9] R. Holic, D. Stastny, P. Griac, Sec14 family of lipid transfer proteins in yeasts, *Bba-Mol Cell Biol L* 1866 (2021) 158990.
- [10] L. Janotka, L. Messingerová, K. Simoniová, et al., Changes in Apoptotic Pathways in MOLM-13 Cell Lines after Induction of Resistance to Hypomethylating Agents, *International Journal of Molecular Sciences* 22 (2021) 2076
- [11] Z. Kocibalova, M. Guzyova, I. Borovska, et al., Development of Multidrug Resistance in Acute Myeloid Leukemia Is Associated with Alterations of the LPHN1/GAL-9/TIM-3 Signaling Pathway, *Cancers* 13 (2021) 3629.
- [12] M. Krahulcova, K. Cverenkova, J. Korenkova, et al., Occurrence of Antibiotic-Resistant Bacteria in Fish and Seafood from Slovak Market, *Foods* 12 (2023) 3912.
- [13] Z. Kubová, T. Pagác, J. Víglas, P. Olejníková, Detoxification and adaptation mechanisms of to antifungal agents, *Acta Chim Slovaca* 15 (2022) 85-96.
- [14] T. Kyca, L. Pavlíková, V. Boháčová, et al., Insight into Bortezomib Focusing on Its Efficacy against P-gp-Positive MDR Leukemia Cells, *International Journal of Molecular Sciences* 22 (2021) 5504
- [15] K. Lépesová, P. Olejníková, T. Mackul'ak, et al., Hospital Wastewater-Important Source of Multidrug Resistant Coliform Bacteria with ESBL-Production, *Int J Env Res Pub He* 17 (2020) 7827
- [16] B. Pavilek, D. Bortnák, J. Sofranko, et al., Synthesis of Pyrazoloazepines from 5-Aminopyrazoles and Study of Their Cytotoxicity in Cancer Treatment, *Eur J Org Chem* 26 (2023)
- [17] L. Pavlíková, M. Seres, A. Breier, Z. Sulová, The Roles of microRNAs in Cancer Multidrug Resistance, *Cancers* 14 (2022) e202300410
- [18] L. Pelegrinova, L. Sofrankova, J. Spaldova, et al., Zosuquidar: An Effective Molecule for Intracellular Ca(2+) Measurement in P-gp Positive Cells, *Int J Mol Sci* 25 (2024) 3107 .
- [19] L. Petriskova, M. Kodedova, M. Balazova, et al., Lipid droplets control the negative effect of non-yeast sterols in membranes of *Saccharomyces cerevisiae* under hypoxic stress, *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 1869 (2024) 159523.
- [20] Z. Polozsanyi, H. Galadova, M. Kalinak, et al., The Antimicrobial Effects of Myrosinase Hydrolysis Products Derived from Glucosinolates Isolated from *Lepidium draba*, *Plants (Basel)* 13 (2024) 406.
- [21] K. Simoniová, L. Janotka, H. Kavcová, et al., Different mechanisms of drug resistance to hypomethylating agents in the treatment of myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia, *Drug Resist Update* 61 (2022) 100805
- [22] K. Simoniová, L. Janotka, H. Kavcova, et al., Resistance of Leukemia Cells to 5-Azacytidine: Different Responses to the Same Induction Protocol, *Cancers* 15 (2023) 3063
- [23] D. Stastny, L. Petriskova, D. Tahotna, et al., Yeast Sec14-like lipid transfer proteins Pdr16 and Pdr17 bind and transfer the ergosterol precursor lanosterol in addition to phosphatidylinositol, *FEBS Lett* 597 (2023) 504-514.
- [24] J. Víglas, P. Olejníková, An update on ABC transporters of filamentous fungi-from physiological substrates to xenobiotics, *Microbiol Res* 246 (2021) 126684

Uplatnenie výsledkov projektu

1. Niektoré deriváty prírodných látok skúmané v rámci projektu (aminopyrazoly, kryptopleurín, katechíny a éterické oleje) majú potenciál ako nové terapeutické látky na liečbu neoplázií a mikrobiálnych nákaz, vrátane liekovej rezistencie. Tento výskum môže viesť k vývoju nových liekov zacielených na liekovo rezistentné bunky.
2. Kombinácia katechínhydrátu s flukonazolom alebo mikonazolom môže byť účinná pri liečbe kvasinkových infekcií, najmä tých spôsobených rezistentnými kmeňmi, ako je *Candida glabrata*.
3. Izotiokyanáty sú nádejné podporné terapeutické látky na liečbu rakoviny. Ich schopnosť indukovať autofágiu v leukemických bunkách môže viesť k novým liečebným protokolom, ktoré zvyšujú efektívnosť protirakovinovej terapie.
4. Heterológna produkcia kalendovej a punikovej kyseliny môže mať rôzne aplikácie v potravinárskom, kozmetickom a farmaceutickom priemysle vďaka ich bioaktívnym vlastnostiam. Táto produkcia umožňuje efektívnu a ekonomickú výrobu týchto kyselín na priemyselnej úrovni, čo môže viesť k ich širšiemu využitiu v komerčných produktoch.

5. Zistenie vysokej afinity k lanosterolu u dvoch kvasinkových fosfatidylinozitolových transferových proteínov môže prispieť k vývoju nových antifungálnych liekov alebo metabolických inžinierskych techník v kvasinkách, čo je dôležité pre biotechnologické aplikácie vrátane produkcie bioaktívnych látok a liečiv.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

1. Z kondenzovaných aminopyrazolov s polyfluorovaným benzénovým reťazcom sme našli dva najúčinnnejšie deriváty, ktoré účinne zasahujú leukemické bunky nezávisle od P-gp, no sú málo účinné na prokaryotické a eukaryotické organizmy.
2. Študovali sme význam ABC transportérov vo vláknitých hubách v súvislosti s ich prirodzenými substrátmi alebo xenobiotikami.
3. Pri dvoch klinických izolátoch *Candida glabrata* (DSY565; DSY562) a laboratórnych kmeňoch (wt; Δ pdr1) sme preukázali synergický účinok kombinácie katechínhydrátu s flukonazolom alebo mikonazolom. Katechínhydrát výrazne znižuje expresiu hlavnej efluxnej pumpy CgCDR1 v *C. glabrata*, aj v prítomnosti mikonazolu.
4. Stanovili sme cytotoxické účinky izotiokyanátov (sulforafan, alylizotiokyanát, benzyl izotiokyanát, fenyletylizotiokyanát) na modelové kmene liekovo senzitívnych a rezistentných mikroorganizmov. Leukemické bunky reagujú na tieto látky vstupom do autofágie, čo môže viesť k pokračovaniu proliferácie alebo bunkovej smrti v závislosti od použitého protokolu.
5. Vypracovali sme postup na heterológnu produkciu dvoch bioaktívnych mastných kyselín: kalendovej kyseliny (CA) a punikovej kyseliny (PuA) s konjugovaným systémom dvojítých väzieb.
6. Kvasinkový fosfatidylinozitolový transferový proteín (PITP) podobný Sec14 má hydrofóbnu dutinu, ktorá môže viazať fosfatidylinozitol (PI) alebo inú molekulu. Zistili sme, že dva kvasinkové PITP z rodiny Sec14, Pdr16p (Sfh3p) a Pdr17p (Sfh4p), majú vysokú afinitu k lanosterolu.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

1. From the group of condensed aminopyrazoles with a polyfluorinated benzene side chain, we identified two most effective derivatives. These target leukemic cells independently of P-gp expression and surprisingly have low effectiveness on prokaryotic and eukaryotic organisms.
2. We studied the importance of ABC transporters in filamentous fungi concerning their natural substrates or xenobiotics.
3. In two specific *Candida glabrata* related clinical isolates (DSY565; DSY562) and in laboratory strains (wt; Δ pdr1) of *Candida glabrata*, we demonstrated the synergistic action of catechin hydrate combined with either fluconazole or miconazole. Catechin hydrate leads to a significant reduction in the expression of the main efflux pump CgCDR1 in *C. glabrata* cells, not only under standard conditions but also in the presence of miconazole.
4. We determined the cytotoxic effects of selected isothiocyanates (sulforaphane, allyl isothiocyanate, benzyl isothiocyanate, and phenylethyl isothiocyanate) on model strains of drug-sensitive and drug-resistant prokaryotic and eukaryotic microorganisms. In research on the effects on leukemic cells, it was shown that the cells respond to these substances by entering autophagy, which results in either continued proliferation or cell death depending on the protocol used.
5. We developed a method for the heterologous production of two bioactive fatty acids: calendic acid (CA, 18:3 Δ 8trans,10trans,12cis) and punიცic acid (PuA, 18:3 Δ 9cis,11trans,13cis) with a conjugated system of double bonds.
6. The yeast phosphatidylinositol transfer protein (PITP) similar to Sec14 contains a hydrophobic cavity capable of accepting one molecule of phosphatidylinositol (PI) or another molecule in a mutually exclusive manner. We showed that two yeast PITPs of the Sec14 family, Pdr16p (Sfh3p) and Pdr17p (Sfh4p), have high binding and transfer affinity for lanosterol.