

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A gombaeredetű quorum sensing molekulák hatásának
vizsgálata *Candida auris* esetében**

Balla Noémi

Témavezető: Dr. Kovács Renátó



DEBRECENI EGYETEM

Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2026

A gombaeredetű quorum sensing molekulák hatásának vizsgálata *Candida auris* esetében

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészeti tudományok tudományágban

Írta: Balla Noémi okleveles biotechnológus

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskolája
(Mikrobiológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Kovács Renátó, PhD

Az értekezés bírálói: Dr. Lekli István, PhD

Egediné Dr. Fehér Enikő, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Bácsi Attila, MTA doktora

tagok: Dr. Lekli István, PhD

Egediné Dr. Fehér Enikő, PhD

Dr. Domán Marianna, PhD

Dr. Varga István, PhD

Az értekezés védésének helye és időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet 'A' épület tanterme
2026. július 9. 13:00 óra

Bevezetés

A gombák az eukarióta élővilág egy változatos csoportját alkotják, amelynek fajgazdagsága a mai napig csak részlegesen feltárt. Becslések szerint világszerte 2,2–3,8 millió gombafaj létezik, ugyanakkor ezek közül mindössze mintegy 300 olyan fajt írtak le, amely képes humán megbetegedést okozni (Hawksworth és mtsai. 2017). A klinikailag releváns gombakórokozók közül kiemelt jelentőséggel bírnak az opportunistá élesztőgombák, különösen a *Candida* nemzetség tagjai, amelyek a humán gombafertőzések egyik leggyakoribb etiológiai ágensei (Pendleton és mtsai. 2017).

Az invazív gombafertőzések jelentősége az elmúlt évtizedekben folyamatosan növekedett, ami paradox módon részben a modern orvoslás következménye. Az immunszuppresszív terápiák, a szervtranszplantáció, a hematológiai malignitások kezelése, az intenzív osztályos ellátás terjedése, valamint az invazív eszközök (például centrális vénás katéterek) széles körű alkalmazása egyaránt növeli a fogékony betegpopuláció arányát. Ezzel párhuzamosan világszerte emelkedett az antifungális rezisztenciával összefüggő esetek száma is. Az antifungális szerek széles körű és sokszor hosszan tartó alkalmazása - nemcsak humán gyógyászatban, hanem a mezőgazdaságban és állatgyógyászatban is - szelekciós nyomást gyakorol a környezetben és a gazdaszervezetben jelen lévő gombapopulációkra, elősegítve a rezisztens törzsek kisselektálódását és terjedését (Wiederhold és mtsai. 2017). A rezisztencia terjedése különösen súlyos következményekkel jár az invazív candidiasisok esetében, mivel a késlekedő vagy nem megfelelő terápia a mortalitás emelkedésével, a kórházi tartózkodás meghosszabbodásával és az egészségügyi költségek növekedésével társul (Wiederhold és mtsai. 2017). A gombák klinikai jelentőségét tovább fokozza, hogy a globális felmelegedés és az antropogén környezeti hatások olyan új, korábban ritkán észlelt vagy aluldiagnosztizált kórokozók megjelenésével hozhatók összefüggésbe, amelyek gyakran csökkent antifungális érzékenységet és/vagy több gyógyszercsoporttal szembeni rezisztenciát mutatnak (Lockhart és mtsai. 2023). Az utóbbi években a klinikai gyakorlatban egyre nagyobb figyelmet kaptak az olyan kórokozók, mint a *Candida auris*, az azol rezisztens *Aspergillus* fajok vagy a *Lomentospora prolificans*, amelyek új járványügyi és terápiás kihívásokat okoznak a klinikumban (Friedman és mtsai. 2019). Érdemes kiemelni, hogy a *C. auris* nemcsak multirezisztenciája miatt jelent fenyegetést, hanem azért is, mert kivételesen jól adaptálódik a kórházi környezethez, hosszú ideig perzisztál a felületeken, és nozokomiális járványok kialakítására képes (Lockhart és mtsai. 2023).

A gombák patogenitásának egyik alapvető eleme a fenotípusos és morfológiai plaszticitás. Számos faj képes élesztő formából fonalas vagy pszeudohifás formába történő átalakulásra, amely gyakran együtt jár a biofilmképződéssel. A morfológiai váltás és a biofilmek kialakulása a virulencia meghatározó komponensei. Elősegítik a gazdaszövetek kolonizációját és invázióját, növelik a környezeti

stressztűrést, és számottevően hozzájárulnak az antifungális szerekkel szembeni rezisztenciához (De Barros és mtsai. 2020).

A biofilmhez kötődő fertőzések különösen nehezen kezelhetők, mivel a biofilm extracelluláris mátrixa csökkenti a gyógyszerek penetrációját, a sejtek metabolikus heterogenitása pedig mérsékli a célpontot jelentő biológiai folyamatok sérülékenységét. Ennek következtében a klinikai gyakorlatban gyakran szükségessé válik az invazív eszközök eltávolítása, kombinációs kezelések alkalmazása, illetve a terápiás stratégia akár innovatív módosítása (Ramage és mtsai. 2006; Massey és mtsai. 2023).

Mindezen tényezők rámutatnak arra, hogy az invazív candidiasisok és az újonnan megjelenő multirezisztens *Candida* fajok elleni küzdelemben a jelenlegi terápiás repertoár korlátai egyre nyilvánvalóbbá válnak. Bár az elmúlt években több ígéretes fejlesztés indult, a gombaellenes gyógyszerek száma továbbra is korlátozott, és a hatásmechanizmusok diverzitása elmarad a bakteriális infekciók kezelésében megszokott lehetőségektől. A legígéretesebb új antifungális szerek közé sorolható az ibrexafungerp, a rezafungin, új típusú itraconazol molekula, valamint a VT-1161, amelyek részben új farmakológiai tulajdonságokkal, részben kedvezőbb alkalmazhatósággal és egyes esetekben szélesebb hatásspektrummal rendelkezhetnek (Massey és mtsai. 2023). Ezzel párhuzamosan vizsgálat tárgyát képezik alternatív terápiás megközelítések is, beleértve a meglévő antifungális szerek nagy dózisú alkalmazását, az antifungális lock terápiát, illetve különböző kombinációs stratégiákat, amelyek célja a szinergizmus kihasználása és a biofilmekhez köthető rezisztencia csökkentése (Li és mtsai. 2020; Ramage és mtsai. 2012).

A rezisztencia és a biofilmhez köthető perzisztencia klinikai jelentősége indokoltá teszi olyan új szemléletű beavatkozások vizsgálatát is, amelyek nem kizárólag a gombasejtek növekedésének gátlását célozzák, hanem a virulenciafaktorok modulálásán keresztül csökkentik a kórokozó megbetegítő képességét. Ebbe a koncepcióba illeszkedik a quorum sensing jelátvitel, valamint a gombaeredetű quorum sensing molekulák (pl.: farnesol, tyrosol) vizsgálata, amelyek több *Candida* fajban képesek befolyásolni a morfogenezist, a biofilmképződést és bizonyos körülmények között az antifungális szerekkel szembeni válaszkészséget. A szuprafiziológiás koncentrációban alkalmazott quorum sensing molekulák potenciálisan hozzájárulhatnak a biofilm-asszociált infekciók kezelésének fejlesztéséhez, különösen olyan kórokozók esetében, amelyeknél a jelenlegi első vonalbeli terápiák hatékonysága korlátozott vagy gyors rezisztenciakialakulás veszélye áll fenn (Kovács és mtsai. 2020).

Összességében az invazív candidiasisok növekvő terhe, a non-*albicans* fajok előretörése, a multirezisztens kórokozók (különösen a *C. auris*) terjedése, valamint a biofilmhez kapcsolódó terápiás nehézségek együttesen indokolják új antifungális stratégiák és alternatív, virulenciát célzó megközelítések részletes vizsgálatát. Jelen disszertáció ennek megfelelően a *C. auris* alternatív terápiás sajátosságaira, valamint a quorum sensing rendszer és a kapcsolódó molekulák (farnesol és a tyrosol)

antifungális potenciáljára fókuszál, kiemelve ezen tényezők lehetséges szerepét a jövőbeni terápiás innovációkban.

Célkitűzés

A jelen munka célja a *C. auris* gombaeredetű quorum sensing molekulákra (farnesolra és a tyrosolra) adott molekuláris és élettani válaszának átfogó vizsgálata volt. Kutatásunk elsődleges célkitűzése annak feltárása volt, hogy ezen molekulák expozícióját követően milyen globális géntranszkripciós változások következnek be a *C. auris*-ban, és ezek miként járulnak hozzá a megfigyelt antifungális, növekedésgátló és virulenciacsökkentő hatásokhoz.

Fő célok:

- a teljes transzkriptom szintű változások azonosítása farnesol- és tyrosol-expozíciót követően,
- az oxidatív stresszválaszban részt vevő gének és enzimaktivitások elemzése, valamint az intracelluláris mikroelemek (vas, cink, mangán, réz) koncentrációváltozásainak vizsgálata,
- az anyagcsere kulcsútvonalainak – különösen a zsírsav- és ergoszterol-bioszintézis, β -oxidáció, valamint a nukleinsav-szintézis – transzkripciós szintű módosulásainak feltérképezése,
- a virulenciával, adhézióval, biofilmképződéssel és gyógyszer-efflux pumpákkal kapcsolatos gének transzkripciós mintázatának meghatározása

Anyagok és módszerek

A Candida auris izolátum eredete és tenyésztési körülményei

Vizsgálatainkhoz a kutatócsoportunk által korábban teljes genomszinten szekvenált *C. auris* izolátumot (NCPF 8973; hozzáférési szám: JANPVY000000000) használtuk, amelyet az Egyesült Királyságban működő bristoli Nemzeti Mikológiai Referencialaboratóriumtól szereztünk be. A törzs a dél-ázsiai/indiai kládba tartozik, és nem aggregálódó fenotípust mutat (Borman és mtsai. 2017). A kísérletek során alkalmazott izolátumot 20% glicerolt tartalmazó folyékony Bouillon tápközegben, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A vizsgálatok megkezdésekor a *Candida* izolátumot YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) táptalajon tenyésztettük és tartottuk fenn (1% élesztőkivonat [Alfa Aesar, USA], 2% mikológiai pepton [Oxoid, Egyesült Királyság], 2% glükóz [VWR International LLC, Magyarország], 2% agar hozzáadásával vagy anélkül, attól függően, hogy szilárd vagy folyékony tápközegről beszélünk; pH 5,6).

A Candida auris növekedésének vizsgálata

A növekedési kísérletekhez a *C. auris* előtenyészeteket standard YPD folyékony tápközegben inkubáltuk $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, 2,3 Hz rázatási frekvencia mellett, 18 órán keresztül. Ezt követően a sejtszuspenziót YPD-vel 0,1 optikai sűrűsége (OD_{640}) hígítottuk, amely megközelítőleg $2,5 \pm 0,5 \times 10^6$ CFU/ml sejtszámnak felel meg. A tenyészeteket ezt követően $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, 2,3 Hz-es rázás mellett inkubáltuk tovább.

A tyrosol hatásának vizsgálatához a tenyészeteket 4 órás előinkubációt követően 15 mM végkoncentrációjú tyrosollal kezeltük. A felhasznált tyrosolt (2-(4-hidroxifenil)-etanol; Merck, Magyarország) 0,1M koncentrációjú törzsoldatként standard YPD tápközegben oldottuk fel, majd ebből a törzsoldatból kiindulva kalkuláltuk ki a 15 mM-os végkoncentrációval működő kísérleti rendszert. A növekedés változását ezt követően óránként követtük nyomon az OD_{640} és a CFU/ml értékek meghatározásával. Az alkalmazott tyrosol koncentráció biztonságosnak tekinthető, és korábbi vizsgálataink alapján különböző humán sejtvonalak is jól tolerálják (Jakab és mtsai. 2019). A méréseket hat független kísérletben végeztük; az eredményeket átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg. A statisztikai elemzést párosított Student-féle t-próbával végeztük a GraphPad Prism 6.05 szoftver (GraphPad Software, LLC, Boston, USA) alkalmazásával. A tyrosollal kezelt és a kezeletlen kontrollminták közötti különbségeket $p < 0,05$ esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

A farnesol transzkripciós válaszra gyakorolt hatásának vizsgálata során a fenti tenyésztési protokollt alkalmaztuk kisebb módosításokkal. Az előtenyészeteket 5 ml YPD táptalajban inkubáltuk 30 °C-on, 2,3 Hz-es rázás mellett 18 órán keresztül, majd 0,1 OD₆₄₀ értékre hígítottuk, és 37 °C-on inkubáltuk tovább. A 4. órában a tenyészetekhez 75 µM végkoncentrációt beállítva adtunk farnesolt. A farnesolt (Merck, Magyarország) 3M koncentrációjú törzsoldat formájában szereztük be, majd 100%-os metanolban 30mM koncentrációjú munkatörzsoldatra hígítottuk, majd ebből a törzsoldatból kiindulva kalkuláltuk ki a 75µM -os végkoncentrációval működő kísérleti rendszert. A növekedést az OD₆₄₀ és a CFU/ml értékek időbeli változásának meghatározásával követtük nyomon (Nagy és mtsai. 2020). A kísérleteket szintén hat független ismételtsben végeztük; az adatokat átlag ± szórás formájában adtuk meg. A statisztikai kiértékelést itt is párosított Student-féle t-próbával végeztük, és a farnesollal kezelt, illetve kontroll sejtek közötti különbségeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

Mikroszkópos vizsgálat a farnesol expozíciót követően

A farnesol által indukált morfológiai és életképességbeli változásokat 75 µM koncentráció alkalmazásával vizsgáltuk 0, 4 és 6 órás, 37 °C-on történő inkubációt követően. Ezt követően 999 µl tenyészethez 1 µl 20mM koncentrációjú propidium-jodidot (Thermo Fisher Scientific, USA) adtunk. A fluoreszcensen festett sejteket további 30 percig inkubáltuk 37 °C-on, majd 10 µl szuszpenziót tárgylemezre vittünk, és Zeiss Axioskop 2 mot fénymikroszkóppal, Zeiss AxioCam HRc kamerával vizsgáltuk. A sejt-morfológia értékelését fáziskontraszt-technikával, míg az életképtelen sejtek arányának meghatározását fluoreszcens mikroszkópiával végeztük. A képek további elemzését és az elhalt sejtek százalékos arányának kiszámítását ImageJ szoftverrel (2.1.0/1.53c verzió; Fiji, ImageJ; Wayne Rasband, National Institutes of Health) végeztük.

RNS izolálás

A teljes RNS-t kezeletlen kontroll *C. auris* sejtekből, valamint quorum sensing molekulával kezelt tenyészetekből izoláltuk három egymástól független biológiai ismételtsben. A kezelések során a sejtekhez 75 µM végkoncentrációban farnesolt, illetve 15 mM végkoncentrációban tyrosolt adtunk a kísérleti rendszerünktől függően. A farnesol- és tyrosol expozíciót követően a sejteket a kezelés utáni 2. órában gyűjtöttük be centrifugálással (5 perc, 4 000 g relatív

centrifugális erőn, 4 °C-on). A sejteket három alkalommal foszfátpufferes sóoldattal (PBS) mostuk, majd –70 °C-on tároltuk a további feldolgozásig.

Mind a farnesollal, mind a tyrosollal kezelt, illetve a kontroll minták esetében a sejttömeget fagyasztva szárítottuk (CHRIST Alpha 1-2 LDplus liofilizátor, Osterode, Németország). A teljes RNS izolálását TRIzol/TRISOL reagens (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific) alkalmazásával végeztük. A végső RNS-koncentráció és -minőség meghatározására a mintákat Agilent BioAnalyzer készüléken elemeztük az Eukaryotic Total RNA Nano kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) alkalmazásával, a gyártó protokollja szerint. A könyvtárkészítési lépésekhez kizárólag azokat a mintákat használtuk fel, amelyek RNS-integritási száma (RIN) meghaladta a 7 értéket.

Teljes transzkriptom analízis (RNS-seq)

A transzkriptom adatok meghatározásához nagy áteresztőképességű mRNS szekvenálást végeztünk. Az RNS-Seq könyvtárakat teljes RNS-ből készítettük a NEBNext Ultra II RNA Sample Preparation Kit (New England Biolabs, Ipswich, USA) alkalmazásával a gyártó utasításai szerint. A könyvtárkészítést és a szekvenálást a Debreceni Egyetem Genomikai Medicina és Bioinformatikai laboratóriuma végezte. A szekvenálást Illumina NextSeq500 platformon végeztük, 75 bázispár hosszúságú single-end olvasatok generálásával. Mintánként megközelítőleg 18–22 millió read keletkezett. A nyers szekvenálási readeket a *C. auris* referencia genomhoz illesztettük (genome: https://fungi.ensembl.org/_candida_auris_gca_002759435/Info/Index; features: http://www.candidagenome.org/download/gff/C_auris_B8441/archive/C_auris_B8441_version_s01-m01-r11_features_with_chromosome_sequences.gff.gz). Az illesztett read-ek aránya mintánként 90-95% között változott. A normalizált géntranszkripciók értékek meghatározásához a DESeq algoritmust (StrandNGS szoftver) alkalmaztuk. A kezelt (75 µM farnesollal vagy 15 mM tyrosollal) és kezeletlen kontroll minták közötti transzkripciók különbségeket moderált t-próbával hasonlítottuk össze. A többszörös tesztelésből eredő hibák korrigálására a Benjamini–Hochberg-féle hamis felfedezési arány (FDR) módszert alkalmaztuk. A korrigált $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Differenciálisan átíródó génnek azokat a géneket tekintettük, amelyek transzkripciója legalább 1,5-szeres változást mutatott (felülszabályozódás esetén $FC > 1,5$, alulszabályozódás esetén $FC < -1,5$). A fold change (FC) értékeket a normalizált transzkripciók adatokból számítottuk. Az

RNS-Seq vizsgálatokat mindkét kezelés esetében három egymástól független biológiai ismétlésből származó mintákon végeztük.

Reverz transzkriptáz-kvantitatív polimeráz láncreakciós (RT-qPCR) vizsgálatok

Az RNS-Seq eredmények megerősítésére reverz transzkriptáz-kvantitatív polimeráz láncreakciós (RT-qPCR) vizsgálatokat végeztünk. A tyrosol-kezelés esetében hat felülszabályzott, öt alulszabályzott, valamint öt, szignifikáns transzkripció változást nem mutató gént választottunk ki további analízisre. A farnesol-kezelés során öt felülszabályzott, öt alulszabályzott, valamint öt, szignifikáns transzkripció változást nem mutató génnek transzkripció változásait validáltuk. A tyrosol-vizsgálat során az RT-qPCR reakciókat Xceed qPCR SG 1-step 2× Mix Lo-ROX kittel (Institute of Applied Biotechnologies, Prague, Czech Republic) végeztük a gyártó utasításai szerint, reakciónként 500 ng DNáz kezelten (Merck, Magyarország) előkészített teljes RNS felhasználásával. A farnesol-vizsgálat esetében a reakciókat Luna Universal One-Step RT-qPCR kittel (New England Biolabs, USA) végeztük a gyártó protokollja alapján, reakciónként szintén 500 ng DNáz-kezelt (Sigma, Budapest, Magyarország) teljes RNS alkalmazásával. Az oligonukleotid primereket az OligoExplorer (version 1.1.) és OligoAnalyzer (version 1.0.2.) szoftverek segítségével terveztük, majd az Integrated DNA Technologies cégtől szereztük be. A tyrosol-kezelés esetében a méréseket LightCycler® 480 II real-time PCR készüléken (Roche, Switzerland), míg a farnesol-kezelés során LightCycler® 96 real-time PCR készüléken (Roche, Switzerland) végeztük. Mindkét vizsgálatban mintánként három párhuzamos technikai ismétlést alkalmaztunk, és az analízisek három független biológiai ismétlésből származó mintákon történtek. A relatív géntranszkripció szinteket ($\Delta\Delta CP$) az alábbi módon számítottuk ki. $\Delta\Delta CP = \Delta CP_{\text{kezelt minta}} - \Delta CP_{\text{kezeletlen minta}}$, ahol $\Delta CP = CP_{\text{referencia gén}} - CP_{\text{vizsgált gén}}$, és CP az a ciklusszám, amelynél a minta átlépi a PCR termék kimutatását jelző fluoreszcencia küszöböt. A referencia gén az *ACT1* (B9J08_000486) volt. A $\Delta\Delta CP$ értékeket átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg, három egymástól független biológiai ismétlés alapján. A statisztikai különbségeket Student-féle t-próbával értékeltük, és a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. A nullától szignifikánsan eltérő (pozitív vagy negatív) $\Delta\Delta CP$ értékeket differenciális génexpressziónak tekintettük.

Gén ontológiai analízis

A szignifikáns génontológiai (GO) kategóriák azonosítását a Candida Genome Database Gene Ontology Term Finder eszközzel végeztük (<http://www.candidagenome.org/cgi-bin/GO/goTermFinder>), a „function”, „process” és „component” GO-kategóriák felhasználásával. Az értékelés során kizárólag a $p < 0,05$ értékű találatokat vettük figyelembe. A GO-analízisen túl további, funkcionálisan rokon géncsoportokat is létrehoztunk a Candida Genome Database (<http://www.candidagenome.org>) adatainak felhasználásával, illetve irodalmi források alapján. Az egyes géncsoportokba tartozó *C. auris* gének fel- és le-szabályozott génhalmazokban történő dúsulását Fisher-féle egzakt próbával vizsgáltuk ($p < 0,05$). A statisztikai számításokat R platform segítségével végeztük (www.R-project.org/).

(ii) Virulenciával összefüggő gének

A virulenciához kapcsolódó géncsoport a *C. albicans* virulenciájának genetikai szabályozásában szerepet játszó gének alapján került összeállításra, valamint a korábban publikált génlisták alapján. A kategória magában foglalta az adhézióval, biofilmképződéssel, morfogenezissel és stresszválasszal összefüggő géneket.

(ii) Anyagcsereútvonalakhoz kapcsolódó gének

Ebbe a csoportba a szénhidrát-, ergoszterol- és zsírsav-anyagcsere biokémiai útvonalaihoz tartozó gének kerültek besorolásra a Candida Pathway Database alapján: <http://pathway.candidagenome.org/>

(iii) Oxidatív stresszhez és antioxidáns védekezéshez kapcsolódó gének

A kategória tartalmazta a funkcionálisan igazolt vagy feltételezett antioxidáns enzimeket kódoló géneket, beleértve: katalázok (GOID: 4096), szuperoxid-dizmutázok (GOID: 4784), glutation- és glutaredoxin-rendszer (GOID: 6749), tioredoxinok (GOID: 8379 és 51920), peroxidázok (GOID: 4601), valamint az oxidatív stresszválasz szabályozásában részt vevő géneket.

(iv) Vasanyagcseréhez kapcsolódó gének

A vasfelvételben és vas-homeosztázisban szerepet játszó géneket a korábban publikált génlisták felhasználásával állítottuk össze. Ide tartoztak a reduktív vasfelvételi rendszer, sziderofór-transzport és hemoglobin-hasznosítás elemei.

(v) Cink-, mangán- és réz-homeosztázissal kapcsolatos gének

A cink-, mangán- és rézfelvételben, illetve -homeosztázisban szerepet játszó géneket Gerwien és mtsai. (2018), valamint Jakab és mtsai. (2021) munkái alapján gyűjtöttük össze. A kategória tartalmazta a transzportereket, szabályozó faktorokat és a fémion-anyagcsere kulcsenzimjeit.

A *Candida auris* sejtek mikroelem-tartalmának vizsgálata farnesol és tyrosol expozíciót követően

A *C. auris* előtenyészeteket a korábban ismertetett módszer szerint tenyésztettük, majd a sejteket különböző körülmények között, tyrosol- vagy farnesol-expozíciót követően 2 órán keresztül inkubáltuk. A sejtek begyűjtése centrifugálással történt (5 perc, 4 000 g, 4 °C-on). Ezt követően a száraz sejttömeget (DCM) fagyasztva szárítással határoztuk meg Jakab és munkatársai módszere alapján (Jakab és mtsai. 2021).

A kapott száraz biomasszából meghatároztuk a sejten belüli vas-, cink-, mangán- és réztartalmat induktívan csatolt plazma optikai emissziós spektrometriával (ICP-OES; 5110 Agilent Technologies, USA). A mérést megelőzően a mintákat légköri nyomáson végzett savas feltárásnak vetettük alá, 3 ml 65%-os salétromsav (HNO_3) és 1 ml 30%-os hidrogén-peroxid (H_2O_2) felhasználásával, steril üvegedényekben.

Az elemzéseket három független biológiai ismételtsben végeztük el. Az eredményeket száraz sejttömeg-alapú egységekben (mg/kg DCM) fejeztük ki, és átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg (Jakab és mtsai. 2021). A kezelések hatására bekövetkező fémiontartalom változások statisztikai értékelését Student-féle t-próbával végeztük. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Oxidatív stresszhez köthető paraméterek mérése

A reaktív oxigénszármazékok (ROS) felszabadulásának és az antioxidáns enzimek aktivitásának meghatározásához az előtenyészeteket YPD folyékony tápközegben 0,1 OD₆₄₀ értékre hígítottuk, majd 37 °C-on 4 órán keresztül inkubáltuk. Ezt követően a tápközeget 15 mM végkoncentrációjú tyrosollal egészítettük ki, és a *C. auris* sejteket a 2 órás tyrosol-kezelés végén centrifugálással gyűjtöttük be (5 perc, 4 000 g relatív centrifugális erő, 4 °C). A reaktív oxigénszármazékok mennyiségi meghatározását tyrosollal kezelt és kezeletlen mintákban egy olyan reakció segítségével végeztük, amely során a 2',7'-diklór-fluoreszcein-diacetát (Merck, Magyarország) 2',7'-diklór-fluoreszceinné (DCF) alakul. A keletkező DCF mennyisége közvetlenül arányos a jelen lévő reaktív oxigénszármazékok koncentrációjával.

A sejtek redukált és oxidált glutationtartalmát (GSH és GSSG) az 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoésav) (DTNB; GR assay) alkalmazásával határoztuk meg Jakab és munkatársai (2015) módszere szerint. Az oxidatív stresszparaméterek közül a szuperoxid-dizmutáz (SOD), a kataláz, a glutation-reduktáz (GR) és a glutation-peroxidáz (GPx) aktivitását szintén a korábban publikált módszer alapján mértük.

A reaktív oxigénszármazékok mennyiségét és az enzimek aktivitását három független biológiai ismétlésben határoztuk meg, az eredményeket átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg. A tyrosollal kezelt és kezeletlen minták közötti különbségek statisztikai értékelését párosított Student-féle t-próbával végeztük a GraphPad Prism 6.05 szoftver (GraphPad Software, LLC, USA) alkalmazásával. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

A quorum sensing molekulák hatása a *Candida auris* növekedésére

A *Candida auris* sejtjeinek növekedését és patogénitási tulajdonságait a különböző quorum sensing molekulák, így a farnesol és a tyrosol jelenlétében vizsgáltuk. A farnesollal végzett kísérletekben (75 μ M, YPD táptalaj) az előinkubált sejtekhez történő hozzáadás után markáns növekedésgátlás volt kimutatható, amely már a kezelés utáni 2. órától megjelent. Ezt az abszorbancia értékek (OD_{640}) és a telepképző egységek száma (CFU) egyaránt megerősítette. A gátló hatás már 2 órán belül szignifikánsan érvényesült, amelyet a CFU szám csökkenése (kontroll: $5,8 \times 10^7 \pm 1,1 \times 10^7$ CFU/ml; farnesollal kezelt sejtek: $1,1 \times 10^7 \pm 0,3 \times 10^7$ CFU/ml; $p < 0,001$), illetve az optikai denzitás mérhető különbsége (kontroll: $1,28 \pm 0,04$; kezelt: $0,72 \pm 0,04$ OD_{640} ; $p < 0,001$) is alátámasztott. Tizenkét órás inkubáció után a kontroll mintákban $5,5 \pm 0,2$ g/l, míg a farnesollal kezelt sejtekben mindössze $1,3 \pm 0,1$ g/l volt ($p < 0,001$). Az életképtelen sejtek aránya $3,3\% \pm 1,2\%$, $1\% \pm 0\%$, $1,7\% \pm 0,6\%$, illetve $3,6\% \pm 0,6\%$ volt a 0 órás, 4 órás, 6 órás kezeletlen, valamint a 6 órás farnesol kezelt sejtek (2 órás farnesol expozíció) esetében.

A tyrosollal végzett kezelések (15 mM, YPD táptalaj) szintén szignifikáns növekedéscsökkenést eredményeztek már 2 órán belül, amelyet a CFU szám (kontroll: $5,6 \times 10^7 \pm 1,2 \times 10^7$ CFU/ml; kezelt: $2,5 \times 10^7 \pm 0,6 \times 10^7$ CFU/ml; $p < 0,001$) és az abszorbancia adatok (kontroll: $1,25 \pm 0,09$; kezelt: $1,06 \pm 0,04$ OD_{640} ; $p < 0,001$) igazoltak.

Összességében elmondható, hogy míg a farnesol és a tyrosol egyaránt gátolta a *C. auris* növekedését rövid időn belül. A farnesol viszont markánsabb hatást gyakorolt a biomassza-csökkenésre, ami potenciális antifungális jelentőségére utalhat.

Transzkriptomikai elemzés farnesol- és tyrosol-kezelés hatására

A *C. auris* farnesol- és tyrosol-kezelésre adott transzkripciós válaszána részletes vizsgálata során a transzkriptomikai elemzést végeztünk, amelyet főkomponens analízissel (PCA) egészítettük ki a minták közötti hasonlóságok vizuális ábrázolása érdekében. A főkomponens-analízis (PCA) egy többváltozós statisztikai módszer, amely lehetővé teszi a minták közötti globális transzkriptomikai különbségek vizualizálását és a kezelési csoportok elkülönülésének értékelését. Az eredmények alapján a farnesollal és tyrosollal kezelt sejtek jól elkülönültek a kezeletlen kontroll mintáktól, miközben az azonos kísérleti feltételekhez tartozó biológiai ismétlések szorosan csoportosultak. Ez azt mutatta, hogy a biológiai ismétlések között magas

szintű korreláció áll fenn, ugyanakkor a farnesol-expozíció jelentős transzkriptomikai változásokat idézett elő.

RNS-Seq elemzés során összesen 1766 differenciálisan expresszáldó gén azonosítható a farnesol-kezelés hatására, ebből 447 gén fel-, míg 304 gén leszabályzódott a kontrollhoz képest. Ezzel szemben a tyrosol kezelés 615 differenciálisan expresszáldó gént eredményezett ezek közül 142 fel-, míg 108 leszabályozott volt.

A farnesolra érzékeny gének funkcionális csoportosítását GO elemzéssel végeztük. A virulenciához kapcsolódó, leszabályozott géncsoportban csökkent a biofilmérésben (*RBT1*, *HWP1*, *BCR1*, *EFG1*, *DSE1*, *BRG1*, *UME6*, *ZAP1*, *RLM1*) és a biofilm disszperzióban (*NRG1*, *UME6*) szerepet játszó gének, valamint a morfogenezishez kapcsolódó gének (*EFG1*, *HWP1*, *HGC1*, *WAL1*, *VRP1*) transzkripciója. Az *RBT1* és *NRG1* gének alulszabályozódását RT-qPCR vizsgálatokkal is megerősítettük. Az oxidatív stresszhez kapcsolódó, felülszabályzott gének közé tartoztak a *CCP1*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD6*, *GPX1*, *DOT5*, *PRX1* és *AHP1*, továbbá a *HSP21*, *YPD1* és *HOG1*. A kataláz (*CAT1*) fokozott transzkripcióját szintén RT-qPCR-rel igazoltuk.

A metabolikus útvonalak elemzése során megállapítottuk, hogy a farnesol gátolta a glükoneogenezis kulcsenzimeit kódoló *PCK1* és *FBP1* gének transzkripcióját, ugyanakkor nem befolyásolta a glikolízis és a citrátkör génjeinek átírását. A glioxilátciklus (*ACO2*, *ICL1*, *MDH1–3*) és a zsírsav- β -oxidáció (*POX1*, *ECI1*, *FAT1*, *FAA21*, *POT1*) génjei felülszabályozódtak míg az inozitol-1-foszfát-szintáz kódoló *INO1* expressziója csökkent.

Az ionhomeosztázishoz kapcsolódó gének – így a reduktív vasfelvétel elemei (*FRE10*, *FET31*, *SMF12*, *FTR1*), a sziderofortranszportban részt vevő *SIT1*, a hemoglobinhasznosításban szerepet játszó *RBT5*, valamint a mangán- (*SMF1*), réz- (*CRP1*) és cinkmetabolizmushoz (*CSR1*) kötődő gének – a leszabályozott csoportba tartoztak. A *POT1* felregulációját RT-qPCR-rel is megerősítettük (Jakab és mtsai. 2021). A transzmembrán transzporttal összefüggő gének közül farnesol kezelés hatására 60 gén átírása fokozódott, köztük öt feltételezett gyógyszer transzporter (*MDR1*, *CDR1*, *CDR4*, *HOL3*, *YOR1*), több szénhidrát transzporter (*HGT2*, *HGT17*, *HGT19*, *HXT5*), aminosav transzporterek, valamint foszfát és szulfát transzporterek (*PHO84*, *PHO89*, *GIT1*, *SUL2*). A *CDR1*, *MDR1* és *HGT2* felülszabályozódását RT-qPCR vizsgálatok is igazolták (Jakab és mtsai. 2021).

A tyrosol kezelés hatására a virulenciával kapcsolatos gének közül felülszabályozódott az adhéziót elősegítő *ALS4*, *ALS9*, *IFF4*, a lipázszekréciót kódoló *LIP4*, a biofilmérésben szerepet játszó *RBT1* és *XOG1*, valamint a morfogenezishez kapcsolódó *HYR1*. Emellett a

stresszválaszhoz kötődő *HSF1*, *HSP21*, *HSP78* és *HSP104* transzkripciója is nőtt, míg a *BCR1*, *NRG1*, *WAL1* és *VRP1* gének átírása csökkent.

Metabolikus szinten a tyrosol csökkentette a redukív vaskészletet (CFL4, FRE9, FRE10, FTR1, FTR2), a hemoglobin felhasználáshoz (RBT5, HMX1, CSA2) és a zsírsav bioszintézishez (FAS1, FAS2) kapcsolódó gének transzkripcióját, miközben a szénhidrát- és ergoszterol metabolizmus génjeit nem befolyásolta. A DNS replikációhoz kapcsolódó gének, valamint az MCM-komplex alegységei csökkent transzkripciót mutattak.

Oxidatív stresszhez kapcsolódóan a katalázt (*CAT1*), a szuperoxid-diszmutázt (*SOD1*), a glutation-peroxidázt (*GPX1*), továbbá a *YCP4*, *CAP1* és *CIP1* géneket felülszabályozottnak találtuk, míg a *SOD4* transzkripciója csökkent (11. ábra B és 12. ábra). E változásokat RT-qPCR vizsgálatok is alátámasztották.

A farnesol és a tyrosol hatásainak összehasonlítása során megállapítottuk, hogy a farnesol lényegesen kifejezettebb transzkriptomikai változásokat idézett elő. Farnesol kezelés hatására 447 gén felülszabályozódott, míg 304 gén leszabályozódott; ezzel szemben tyrosol kezelés esetén 142 gén transzkripciója nőtt szignifikánsan, míg 108 géné csökkent. Jelentős átfedés mutatkozott a két kezelés között: 66 gén mutatott közös felülszabályozódást, míg 46 gén leszabályozódott. Érdekes módon több, a DNS replikációhoz kapcsolódó gén kizárólag tyrosol hatására mutatott csökkent transzkripciót, míg a farnesol kifejezetten fokozta a transzmembrán transzportban, a zsírsav anyagcserében, a zsírsav- β -oxidációban és a szulfátasszimilációban részt vevő gének átírását.

A farnesol és tyrosol-expozíció hogyan befolyásolja a *Candida auris* sejtek oxidatív stressz folyamatait és fémion-tartalmát.

A farnesol- és tyrosol-expozíció egyaránt jelentős hatást gyakorolt a *C. auris* sejtek intracelluláris fémiontartalmára, azonban a változások mértéke és iránya eltérő volt. A farnesol kezelés hatására az intracelluláris vas-, mangán- és cinktartalom szignifikánsan csökkent a kezeletlen kontrollsejtekhez képest (–24%, –73% és –69%), míg a réztartalom ezzel szemben drámai mértékben, 302%-kal emelkedett, ami arra utal, hogy a farnesol alapvetően átrendezi a sejtek fémion-homeosztázisát (vas: $152,2 \pm 21,1$ mg/kg vs. $116,0 \pm 10,0$ mg/kg; mangán: $67,9 \pm 5,1$ mg/kg vs. $18,6 \pm 1,8$ mg/kg; cink: $787,8 \pm 22,2$ mg/kg vs. $245,8 \pm 34,4$ mg/kg; réz: $274,6 \pm 15,7$ mg/kg vs. $828,8 \pm 106,4$ mg/kg; $p < 0,05$ – $0,001$).

Ezzel szemben a tyrosol kezelés mérsékeltebb, de szintén szignifikáns változásokat eredményezett: az intracelluláris vas-, mangán-, cink- és réztartalom 25%, 37%, 34% és 55%-kal csökkent a kontrollhoz viszonyítva (vas: $155,7 \pm 17,9$ mg/kg vs. $114,3 \pm 16,2$ mg/kg; mangán: $69,3 \pm 4,2$ mg/kg vs. $42,6 \pm 1,14$ mg/kg; cink: $735,4 \pm 18,5$ mg/kg vs. $516,5 \pm 22,1$ mg/kg; réz: $259,9 \pm 16,1$ mg/kg vs. $123,5 \pm 9,8$ mg/kg; $p < 0,05$ – $0,001$).

Összességében mindkét kezelés jelentősen módosította a sejtek fémion-ellátottságát, ami potenciálisan befolyásolhatja a metabolikus folyamatokat és az oxidatív stresszválaszt.

Diszkusszió

A quorum sensing megzavarására fókuszáló alternatív kezelési stratégiák az utóbbi időben egyre vonzóbb terápiás eszközzé váltak, különösen a nehezen kezelhető, multirezisztens kórokozók ellen, mint például a *C. auris* (Grainha és mtsai. 2018; Fong és mtsai. 2018, Kovács és mtsai. 2020). Korábbi vizsgálatok arról számoltak be, hogy a gombaeredetű quorum sensing molekulák kifejezett gombaellenes hatással bírhatnak, illetve a hagyományos antifungális szerekkel kombinációban erős adjuváns hatást fejthetnek ki különösen szuprafiziológiás koncentrációban (Nagy és mtsai. 2020, Nagy és mtsai. 2020/2, Kovács és mtsai. 2016, Bozó és mtsai. 2016, Katragkou és mtsai. 2015). Nagy és mtsai. (2020) kimutatták, hogy a szuprafiziológiás farnesol-expozíció jelentős mértékben csökkenti a *C. auris* planktonikus sejtjeinek növekedési ütemét, illetve a biofilmek metabolikus aktivitását (Nagy és mtsai. 2020/2). Ezen felül 75 μ M farnesol kezelés szignifikánsan csökkentette a veséből kinőtt élő gombasejtek számát immunszuppresszált szisztémásan fertőzött egérmódelben (Nagy és mtsai. 2020/2).

Az RNS-Seq alapú teljes transzkriptom analízis fontos módszer lehet ezen molekulák által kiváltott antifungális hatás háttérében álló mechanizmusok teljes körű megértéséhez. A *C. albicans* esetében kimutatták, hogy a szuprafiziológiás koncentrációban alkalmazott farnesol több gén transzkripció szintjét is befolyásolja. Cao és mtsai. (2005) beszámoltak arról, hogy farnesol-expozíció hatására nőtt a *TUP1* (morfológiával összefüggő), az *FCR1* (gyógyszerrezisztenciával kapcsolatos), az *FTR2* (vastranszporttal kapcsolatos), valamint a *CHT2* és *CHT3* (kitináz) gének expressziója. Ezzel szemben a *CSH1* (a sejtfelszín hidrofobicitásával összefüggő) gén lefelé szabályozódott farnesol jelenlétében, hasonlóan a *HSP70*, *HSP90* és *SSA2* (hő sokkfehérjéket kódoló), a *PDR16* (gyógyszerrezisztenciával kapcsolatos), továbbá a *CRK1* és *PDE2* (morfológiához kapcsolódó) génekhez (Rodrigues és mtsai. 2020, Cao és mtsai. 2005).

Korábbi vizsgálatok alapján a farnesol dózisfüggő módon indukál reaktív oxigéngyök termelést *C. albicans*-ban (Davis-Hanna és mtsai. 2008; Deveau és mtsai. 2010). Emellett a farnesol befolyásolja a *CAT1*, *SOD1* és *SOD2* gének transzkripcióját, amelyek az oxidatív stresszválaszhoz kapcsolódnak *C. albicans*-ban (Rodrigues és mtsai. 2020). Ezek az eredmények összhangban állnak Nagy és mtsai. (2020) *C. auris*-szal kapcsolatos megfigyeléseivel. Vizsgálatukban több, feltételezhetően oxidatív stresszre reagáló gén (*CAT1*, *GPX1*, *SOD1*, *SOD2* és *SOD6*) felülszabályozódott farnesol-expozíciót követően. Figyelemre méltó, hogy a farnesol fokozta a *HOG1* transzkripcióját is, amely a gombák oxidatív

stresszválaszának kulcseleme, tovább erősítve a farnesol által kiváltott oxidatív stressz szerepét *C. auris*-ban (Dantas és mtsai. 2015). Ezt támasztja alá a DCF szint és a szuperoxid-diszmutáz aktivitás emelkedése is farnesollal kezelt tenyészetekben (Nagy és mtsai. 2020/2).

Friss transzkriptomikai adatok kimutatták, hogy a farnesol-kezelés befolyásolta a vas-homeosztázissal kapcsolatos gének transzkripcióját, valamint a *C. auris* vas-, cink-, mangán- és réztartalmát is. A vasfelvételben szerepet játszó gének alulszabályozódása összefüggést mutatott a farnesolnak kitett sejtekben mért szignifikánsan csökkent vas-szinttel. Hasonlóképpen, a menadion-nátrium-biszulfit által kiváltott oxidatív stressz is befolyásolta a vas-homeosztázis génjeinek transzkripcióját és a *C. albicans* sejtek vastartalmát (Jakab és mtsai. 2021). Feltételezhető, hogy a vas csökkenéséhez kapcsolódó válasz egy általános védekező mechanizmus része, amely a farnesol és a menadion által kiváltott károsodás minimalizálását célozza a kétértékű vasionok által közvetített oxidatív reakciók mérséklésével.

Korábbi tanulmányok szerint az emelkedett szabad intracelluláris vasszint elősegíti a reaktív oxigén gyökök képződését, és vasfüggő sejthalált közvetít *S. cerevisiae*-ben (Jakab és mtsai. 2021; Dixon és mtsai. 2014). Hasonló vasfüggő oxidatív stressz- és sejthalál-folyamatokat más gombákban is leírtak. *Candida albicans*-ban például a vas-homeosztázis zavara fokozta a ROS-szintet és csökkentette a sejtek stressztűrését, különösen antioxidáns rendszerek (pl. SOD, kataláz, glutation) kimerülése esetén (Chen és mtsai. 2011). Ez az összefüggés alátámaszthatja a jelen vizsgálatban megfigyelt oxidatív stressz és a megváltozott vasháztartás közötti kapcsolatot. A *CSR1* gén, amely egy, a cink-homeosztázist stabilizáló fő transzkripciós faktort kódol, és cinkfüggő védelmet biztosít a sejtek számára a farnesol-indukálta oxidatív stresszel szemben, csökkent transzkripciója összefüggött a megfigyelt intracelluláris cinkszint csökkenéssel. A cink esszenciális fém az oxidatív stressz elleni védekezésben, mivel szerkezeti alkotóeleme a szuperoxid-diszmutáznak, amely kulcsenzim a szuperoxidok semlegesítésében (Gerwien és mtsai. 2018). A legtöbb fémmel ellentétben a mangán magas koncentrációban inkább antioxidánsként viselkedik, mintsem reaktív oxigén gyökök képződését elősegítő elemként (Gerwien és mtsai. 2018). A farnesol azonban gátolta a *SMF1* gén transzkripcióját, amely az intracelluláris mangánszint fenntartásáért felelős az antioxidáns védekezés érdekében (Gerwien és mtsai. 2018). Ezenkívül a *PMR1* gén, amely $\text{Ca}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$ ATPáz transzporter, és a Golgi ionhomeosztázisában vesz részt transzkripciója szintén gátlódott, ami a gombasejtek virulenciájának csökkenéséhez vezetett (Bates és mtsai. 2005). Ez összhangban áll korábbi eredményeinkkel, amelyek szerint a napi farnesol kezelés szignifikánsan csökkentette a *C. auris* virulenciáját (Nagy és mtsai. 2020). A *CRP1* és *CCC2* alulszabályozódása összefüggött a farnesollal kezelt sejtekben mért jelentősen megnövekedett réztartalommal és a markáns

növekedésgátlással. A réz számos sejtes folyamat szabályozásában vesz részt a patogén gombákban. Túlzott mennyiségben a jelenléte a Fenton-reakción keresztül reaktív oxigén gyökök képződéséhez vezet, valamint károsítja a vas–kén klasztereket, tovább csökkentve a sejtek életképességét (Gerwien és mtsai. 2018; Weissman és mtsai. 2020; Ding és mtsai. 2014; Mackie és mtsai. 2016). A farnesolnak kitett sejtekben emelkedett szabad rézsztint hozzájárulhat a DCF-termeléssel mért fokozott redox-egyensúly-zavarhoz (Gerwien és mtsai. 2018), amelyet a szuperoxid-dizmutáz specifikus aktivitásának növekedése kísért (Gerwien és mtsai. 2018).

Érdemes kiemelni, hogy a farnesol-expozíció több zsírsav- β -oxidációval kapcsolatos gén (*POX1*, *ECI1*, *FAT1*, *FAA21*, *POT1*) szignifikáns felülszabályozását eredményezte. A sérült vagy oxidálódott membránlipidek lebontása, valamint a zsírsav-metabolizmus fokozódása hozzájárulhat a membrán lipidösszetételének homeosztázisához és a megfelelő membránfluiditás fenntartásához (Fradin és mtsai. 2003). Jabra-Rizk és mtsai. (2006), valamint Rossignol és mtsai. (2007) kimutatták, hogy a farnesol befolyásolja a membrán permeabilitását non-*albicans* fajokban, például *C. dubliniensis* és a *C. parapsilosis* esetében. A fokozott zsírsav-oxidációs aktivitás magyarázhatja a membránhoz kapcsolódó farnesol-hatást, amely összefüggésbe hozható a korábban megfigyelt antifungális hatással (Nagy és mtsai. 2020/2).

Az antifungális hatás további lehetséges magyarázata az ergosterol-bioszintézishez kapcsolódó gének transzkripciójának csökkenése, amely megváltoztatja a membrán permeabilitását és fluiditását (Dizova és mtsai. 2018). Dižová és munkatársai kimutatták, hogy 200 μ M farnesol jelenlétében az *ERG20*, *ERG11* és *ERG9* gének transzkripciója csökkent *C. albicans*-ban (Dižová és mtsai. 2018). Az *ERG11* és *ERG9* gének csökkent expressziója várhatóan mérsékli az ergosterol bioszintézisét, amely a gombasejtmembrán egyik legfontosabb strukturális komponense. Az ergosterolszint csökkenése megváltoztathatja a membrán fluiditását és permeabilitását, ami fokozhatja egyes antifungális szerek intracelluláris felhalmozódását. Vizsgálatunkban az *ERG6* gén expressziója is csökkent farnesol-expozíciót követően, ami fokozhatja a farnesol passzív diffúzióját a membránon keresztül; emellett a csökkent *Erg6*-szint megerősítheti a *C. auris* sejtek fokozott érzékenységét az oxidatív stresszel szemben (Oliveira és mtsai. 2020; Jensen-Pergakes és mtsai. 1998). Oliveira és mtsai. (2020) kimutatták, hogy az *ERG6* mutáns *Cryptococcus neoformans* csökkent hőtoleranciát és fokozott oxidatív stresszérzékenységet, valamint nagyobb antifungális-érzékenységet mutat, ami magyarázatot adhat az azokkal megfigyelt korábbi szinergista interakcióra (Nagy és mtsai. 2020/2; Oliveira és mtsai. 2020). Továbbá az *ERG6* mutáns *C. neoformans* teljesen avirulens volt gerinctelen állatmodellben, ami magyarázhatja a *C. auris* csökkent virulenciáját napi farnesol-kezelés után (Nagy és mtsai. 2020/2; Oliveira és mtsai. 2020). Az *ERG6* mellett

az INO1 gén is down-regulálódott farnesol expozíció hatására. Ez a gén az inozitol-1-foszfát-szintáz kódozza, amely kulcsenzim az inozitol és a foszfatidil-inozitol szintézisében. Az INO1 gén csökkent transzkripciója mérsékelheti az inozitol- és foszfatidilinozitol-szintézist, ami a membrán lipidösszetételének megváltozásához vezethet. Ez hozzájárulhat a membránfunkciók módosulásához, és elősegítheti az azokkal megfigyelt szinergista hatást. Ennek megfelelően az INO1 csökkent transzkripciója tovább magyarázhatja a farnesol és az azolok közötti szinergista hatást *C. auris* esetében (Nagy és mtsai. 2020/2), mivel az INO1 jelentősen felülszabályozott a rezisztens *Candida* izolátumokban (Cao és mtsai. 2005). Az aktív efflux pumpákkal kapcsolatos gének tekintetében a farnesol-expozíció szignifikáns transzkripció növekedést idézett elő a *CDR1*, *CDR4*, *MDR1*, *HOL3* és *YOR1* gének esetében, míg a *SNQ2* transzkripció szintje csökkent. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy ezek a transzporterek szerepet játszanak a *C. auris* gyógyszerrezisztenciájában (Munoz és mtsai. 2018; Kean és mtsai. 2018). Srivastava és Ahmad azt találták, hogy a *CDR1*, *CDR2*, *MDR1*, *MDR2* és *SNQ2* gének jelentősen alulszabályozódtak a farnesol jelenlétében (Srivastava és mtsai. 2020). Fontos megjegyezni, hogy mintegy ezerszeres különbség volt a transzkripció növekedést kiváltó farnesol koncentráció és a vizsgálatunkban alkalmazott dózis között. Eredményeink mindazonáltal alátámasztják azt a hipotézist, hogy alacsonyabb koncentrációban a farnesol potenciális szubsztrátja lehet a felülszabályozott transzportfehérjéknek, lehetővé téve a sejtek számára a védelmet a farnesol által indukált oxidatív stresszel szemben.

Vizsgálataink második részében a tyrosol hatását vizsgáltuk és hasonlítottuk össze a farnesolnál megfigyelt hatásokkal. Két órás expozíciót követően a tyrosol szignifikánsan gátolta a *C. auris* sejtek növekedési ütemét. Hasonló mintázatot korábban *C. parapsilosis* esetében is megfigyeltek, ahol a gátló hatás a riboszóma-bioszintézissel kapcsolatos gének alulszabályozásával állt összefüggésben (Jakab és mtsai. 2019). Érdekes módon 15 mM tyrosol-expozíció *C. auris* esetében nem eredményezett szignifikáns változást a riboszóma-bioszintézis gének transzkripciójában. Ezzel szemben több DNS-replikációhoz kapcsolódó gén alulszabályozódott, ami magyarázatot adhat a megfigyelt növekedésgátlás molekuláris hátterére. Hasonló növekedésgátló hatásról számoltak be Cordeiro és mtsai. (2015) 2,5–5,0 mM koncentrációtartományban más non-*albicans* fajok, például *C. tropicalis* és *C. glabrata* esetében. Adampour és mtsai. (2022) kimutatták, hogy tyrosollal kezelt planktonikus *C. glabrata* sejtekben jelentős károsodás következett be a sejtfalban, sejtmembránban, citoplazmában, sejtmagban és mitokondriumokban. Egyéb gombafajok esetében (*Coccidioides posadasii*, *Histoplasma capsulatum*) a tyrosol csökkentette a sejtmembrán ergoszteroltartalmát,

valamint jelentős permeabilitás fokozódást idézett elő a sejtmembránon (Brilhante és mtsai. 2016). Hasonló gátló hatást figyeltek meg *Sporothrix* fajok esetében is, mind a fonalas, mind az élesztő forma esetében (Brilhante és mtsai. 2020).

A csökkent növekedési ütem részben a tyrosol jelenlétében megemelkedett reaktív oxigén gyökök szintjével is magyarázható. Korábbi tanulmányok igazolták, hogy a gombaeredetű quorum sensing molekulák szuprafiziológiás koncentrációban oxidatív stresszt generálnak. Emellett különbségek mutatkoznak a farnesol és a tyrosol oxidatív stresszre gyakorolt hatásai között a különböző *Candida* fajokban (Jakab és mtsai. 2019; Nagy és mtsai. 2020/b). A *C. auris* egyedi stresszrezisztencia-profillal rendelkezik más *Candida* fajokkal összehasonlítva (Day és mtsai. 2018). Jelen vizsgálatban a fokozott oxidatív stressz a kataláz, SOD és GPx aktivitásának emelkedésével járt együtt. Ugyanakkor az antioxidáns védekezéshez kapcsolódó felülszabályozott gének száma lényegesen alacsonyabb volt, mint *C. parapsilosis* esetében a tyrosol kezelést követően (6 vs. 18 gén) (Jakab és mtsai. 2019). Figyelemre méltó, hogy a *SOD4* szignifikánsan alulszabályozódott. Ez a gén kulcsfontosságú a detoxifikációs folyamatokban a *C. albicans*-ban (Dantas és mtsai. 2015; Jakab és mtsai. 2019; Allert és mtsai. 2022). Ez magyarázhatja a napi tyrosol-kezelés mellett *in vivo* megfigyelt csökkent virulenciát (Jakab és mtsai. 2019). Jelen vizsgálatban a *CAT1* gén felülszabályozódott *C. auris*-ban tyrosol-expozíció hatására, hasonlóan *C. parapsilosis*-hoz (Dantas és mtsai. 2015; Jakab és mtsai. 2019). Korábbi tanulmányok alapján erős korreláció figyelhető meg a *CAT1* transzkripció szintje és a hidrogén-peroxiddal szembeni rezisztencia között *C. albicans*-ban farnesol-expozíció után, ami arra utal, hogy a kataláz-indukció az oxidatív stresszel szembeni ellenállás növekedésével jár együtt, és a *CAT1* jó markernek tekinthető az oxidatív stressz-rezisztencia esetén. Valószínűsíthető tehát, hogy a tyrosol által indukált *CAT1* felülszabályozás megelőző mechanizmusok aktiválását jelzi az oxidatív stresszel szemben (Deveau és mtsai. 2010).

Az oxidatív stressz antifungális hatásban betöltött szerepét tovább erősíti az intracelluláris vas, mangán-, réz- és cinktartalom szignifikáns csökkenése, amelyek kulcsszerepet játszanak az oxidatív stresszel szembeni védekezésben. A vaskészletben részt vevő gének (*CFL4*, *FRE9*, *FRE10*, *FTR1*, *FTR2*) down-regulációja csökkent vastartalmat eredményezett, ami a kétértékű vasionok káros hatásainak mérséklését célzó általános védekezési stratégia részét képezheti a farnesol hatáshoz hasonlóan (Dixon és mtsai. 2014). A mangán kulcsfontosságú antioxidáns elem *Candida* fajokban, míg a csökkent cink- és rézsint akadályozza a szuperoxid-dizmutáz megfelelő működését (Ballou és Wilson 2016; Gerwien és mtsai. 2018). Emellett a *Candida* fajok adaptív válaszai nagymértékben függenek a cink- és rézkoncentrációtól, különösen a

kommenzális, környezeti és infekciós állapotok közötti átmenetek során (Ballou és Wilson 2016).

A virulencia szempontjából általánosságban a különböző virulenciafaktorokat kódoló gének markáns down-regulációja volt megfigyelhető. Monteiro és mtsai. (2015) beszámoltak arról, hogy a tyrosol negatívan befolyásolja az adhéziót. Teljes metabolikus aktivitás profil analízis alapján a tyrosol-kezelés 22–51%-os csökkenést eredményezett *C. albicans* esetében (Monteiro és mtsai. 2015). Meglepő módon jelen vizsgálatban az adhézióban szerepet játszó gének (*ALS4*, *ALS9*, *IFF4*) szignifikánsan felülszabályozódtak. *C. albicans*-ban az *IFF4* *in vitro* és *in vivo* adhézióban vesz részt; transzkripciós vizsgálatok alapján expressziója a biofilm-képződés késői szakaszában fokozódik (Fox és mtsai. 2015). Az *Iff4Δ* null mutáns sejtek csökkent adhéziót mutatnak a biofilm kialakulás korai fázisában (Kempf és mtsai. 2009; Kean és mtsai. 2018). A tyrosol kulcsszerepet játszik a *C. albicans* morfogenezisében és biofilm-képződésében; szerepe azonban *C. auris* biofilm képzésében még tisztázásra vár (Alem és mtsai. 2006). Ebben a vizsgálatban a tyrosol-kezelés csak kisebb változásokat eredményezett a biofilmhez kapcsolódó gének expressziójában, és az eredmények alapján inkább a biofilm későbbi eseményeit befolyásolhatja. A biofilmképződést elősegítő *RBT1* gén transzkripciója emelkedett tyrosol-expozíció hatására; ugyanakkor regulátorának, a *BCR1* transzkripciós faktornak az ortológia szignifikánsan down-regulálódott, ami eltért a *C. parapsilosis*-ban megfigyelt válaszreakciótól (Ding és mtsai. 2007; Jakab és mtsai. 2019). További jelentős különbség volt, hogy az *NRG1* (a hifafejlődés represszora) down-regulálódott, ami serkentheti a filamentózus elemek kialakulását. Ez együtt járt az *ALS4* (GPI-horgonyzott adhezin) felülszabályozásával, amely pszeudohifákat mutató *C. auris* sejtekben fokozott expressziót mutat (Yue és mtsai. 2018).

Az RNS-Seq analízis kimutatta, hogy két fő zsírsav-bioszintézishez kapcsolódó gén (*FAS1*, *FAS2*) down-regulálódott; ezek csökkent patogenitással és virulenciával hozhatók összefüggésbe (Begum és mtsai., 2022). Korábbi vizsgálatunkban a tyrosol-kezelés csökkentette a delta12-zsírsav-deszaturázt (*FAD2*) és az omega-3 zsírsav-deszaturázt (*FAD3*) kódoló gének expresszióját *C. parapsilosis*-ban, ami a faj általános fitneszének csökkenését eredményezte (Jakab és mtsai. 2019). Mindezek alapján a tyrosol általános, zsírsav anyagszerét befolyásoló hatással rendelkezhet, amely potenciálisan kihasználható új, ezen metabolikus útvonalat célzó antifungális stratégiák fejlesztésében (DeJarnette és mtsai. 2021).

A disszertáció alapjául szolgáló kísérletes munka az első olyan átfogó vizsgálat, amely a *C. auris* transzkripciós profiljának globális változásait elemezte quorum sensing molekulák - farnesol és tyrosol - expozícióját követően, és ezáltal új betekintést nyújtott e vegyületek antifungális hatásmechanizmusába. A transzkripciós válaszok elemzése rámutatott, hogy

mindkét molekula jelentősen fokozza az oxidatív stresszválaszt szuprafiziológiás koncentrációban alkalmazva, amely együtt jár bizonyos intracelluláris mikroelemek (különösen vas, cink és mangán) koncentrációjának csökkenésével, valamint a sejtes redox-egyensúly felborulásával. Emellett jelentős változások figyelhetők meg a zsírsav-anyagcsere (különösen a β -oxidáció), az ergoszterol- és zsírsav-bioszintézis, a nukleinsav-szintézis, az adhézio, valamint a gyógyszer-efflux pumpák transzkripciója terén is. Ezek az eredmények együttesen magyarázatot adhatnak a megfigyelt növekedésgátló és virulenciacsökkentő hatásokra, és rávilágítanak arra, hogy a quorum sensing molekulák komplex, több támadásponton ható mechanizmusokon keresztül fejtik ki antifungális aktivitásukat. A feltárt molekuláris összefüggések nemcsak a *C. auris* stresszadaptációjának és patogenitásának mélyebb megértéséhez járulnak hozzá, hanem megalapozhatják új, innovatív terápiás stratégiák kidolgozását is ennek a multirezisztens kórokozónak a hatékonyabb kezelésére.

Új megállapítások

- A farnesol szignifikánsan gátolta a *C. auris* növekedését, amely rövid expozíciós idő után is kimutatható volt, és a gombasejtek metabolikus aktivitásának csökkenésével járt.
- A transzkriptomikai elemzés alapján a farnesol kezelés csökkentette a biofilmképződéshez, morfogenezishez és virulenciához kapcsolódó gének transzkripcióját, ami a patogenitás mérséklődésére utal.
- A farnesol jelentős oxidatív stresszválaszt indukált *C. auris*-ban, amelyet antioxidáns enzimekhez és stresszadaptációhoz kapcsolódó gének fokozott transzkripciója és az antioxidáns enzimek aktivitásának növekedése kísért
- A farnesol expozíció jelentősen módosította a *C. auris* intracelluláris fémion homeosztázisát, amely a vas, mangán és cinktartalom csökkenésével, valamint a rézkoncentráció növekedésével járt.
- A tyrosol szintén gátolta a *C. auris* növekedését, azonban hatása elsősorban a sejtciklushoz és a DNS-replikációhoz kapcsolódó gének transzkripciójának csökkenésével függött össze.
- A quorum sensing molekulák hatására jelentős változások figyelhetők meg a lipidanyagcserében: A farnesol fokozta a zsírsav β -oxidációhoz kapcsolódó gének transzkripcióját, míg a tyrosol csökkentette a zsírsav bioszintézishez köthető gének transzkripcióját, ami a sejtmembrán szerkezetének és működésének átrendeződésére utal.

Összefoglalás

A *Candida auris* az elmúlt évtized egyik legjelentősebb multirezisztens opportunistagombakórokozója, amely világszerte súlyos nozokomiális járványok kialakulásáért felelős. Kiemelkedő klinikai jelentőségét multidrog-rezisztenciája, környezeti perzisztenciája, biofilmképző képessége, valamint magas mortalitási aránnyal járó invazív fertőzései adják. A jelenlegi terápiás lehetőségek korlátozottak, ezért sürgető igény mutatkozik új, alternatív antifungális stratégiák feltárására. A quorum sensing molekulák – különösen a farnesol és a tyrosol – az utóbbi években ígéretes, virulenciát befolyásoló és potenciálisan antifungális hatású vegyületekként kerültek a kutatások fókuszába.

Jelen munka célja a *C. auris* farnesol- és tyrosol-expozíciót követő globális géntranszkripciósváltozásainak vizsgálata volt. Eredményeink alapján mind a farnesol, mind a tyrosol jelentős mértékben fokozta az oxidatív stresszválaszt, amit az antioxidáns enzimek (például kataláz, szuperoxid-diszmutáz, glutation-peroxidáz) aktivitásának növekedése, valamint több oxidatív stresszhez kapcsolódó gén felülszabályozása kísért. Ez együtt járt a redox-homeosztázis felborulásával és bizonyos intracelluláris mikroelemek – különösen a vas, cink és mangán – koncentrációjának csökkenésével, ami hozzájárulhat a sejtek sérülékenységeinek növekedéséhez. Jelentős változások voltak megfigyelhetők a lipidanyagcserében is. A farnesol-expozíció fokozta a β -oxidációhoz kapcsolódó gének expresszióját, míg mindkét molekula befolyásolta az ergosterol- és zsírsav-bioszintézishez kötődő útvonalakat. Ezek a változások a sejtmembrán összetételének és fluiditásának módosulásához vezethetnek, ami részben magyarázatot adhat a megfigyelt növekedésgátló hatásra és az antifungális szerekkel szembeni érzékenység változására. Emellett tyrosol-kezelést követően a DNS-replikációval és nukleinsav-szintézissel összefüggő gének down-regulációja volt észlelhető, ami molekuláris magyarázatot szolgáltat a csökkent proliferációs képességre.

Számos, adhézióban és biofilmképződésben szerepet játszó gén transzkripciója módosult, ami arra utal, hogy a quorum sensing molekulák komplex módon befolyásolják a *C. auris* patogenitását. Bizonyos virulenciafaktorok csökkent expressziója összhangban áll a korábban leírt *in vivo* virulenciacsökkenéssel. Összességében eredményeink azt mutatják, hogy a farnesol és a tyrosol több támadásponton, egymással összefüggő molekuláris mechanizmusokon keresztül fejtik ki hatásukat *C. auris*-ban. Az oxidatív stressz indukciója, a mikroelem-homeosztázis megváltozása, a lipid- és nukleinsav-anyagcsere módosulása, valamint a virulenciával kapcsolatos gének szabályozása együttesen járulhat hozzá az antifungális és virulenciacsökkentő hatásokhoz.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni őszinte köszönetemet mindazoknak, akik támogatásukkal, szakmai tanácsaikkal és biztatásukkal hozzájárultak disszertációm elkészítéséhez.

Elsősorban hálával tartozom témavezetőmnek, Dr. Kovács Renátónak, aki szakmai útmutatásával, értékes észrevételeivel és folyamatos támogatásával hozzájárult ahhoz, hogy a dolgozatom a lehető legjobb formában elkészüljön.

Köszönetemet szeretném kifejezni Prof. Dr. Kónya József intézetigazgatónak, aki lehetővé tette számomra, hogy az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben végezhessem PhD tanulmányaimat.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Majoros Lászlónak, a mikológiai laboratórium vezetőjének iránymutatásáért és szakmai javaslataiért.

Szeretném kifejezni hálámat Dr. Jakab Ágnesnek szakmai támogatásáért és értékes tanácsaiért. Útmutatása és építő észrevételei nagyban hozzájárultak a kutatás sikeres megvalósításához.

Köszönettel tartozom Ragyák Ágotának és Sajtos Zsófinak, akikkel közösen végeztük a *C. auris* sejtek ICP-OES méréseit. Nagyra értékelem a szakmai segítségüket és az együttműködésüket a kutatás során.

Köszönetemet szeretném még kifejezni Andrew M. Borman-nak, aki rendelkezésünkre bocsátotta a törzsgyűjteményünkben megtalálható *Candida auris* izolátumokat.

Köszönettel tartozom az Orvosi Mikrobiológiai Intézet valamennyi dolgozójának a támogatásukért, segítségükért és a kutatásom során nyújtott együttműködésükért.

Köszönetemet szeretném kifejezni az Innovációs és Technológiai Minisztérium Új Nemzeti Kiválósági Programjának (ÚNKP-23-3), a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap forrásaiból nyújtott támogatásért, amely lehetővé tette a kutatómunka elvégzését.

Végezetül hálás köszönettel tartozom családomnak és barátaimnak a türelmükért és a folyamatos biztatásukért. Támogatásuk és szeretetük nélkülözhetetlen háttérrel biztosított a munkám befejezéséhez.



Nyilvántartási szám: DEENK/108/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Balla Noémi
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Balla, N.**, Jakab, Á., Kovács, F., Ragyák, Á., Tóth, Z., Balázs, D., Forgács, L., Bozó, A., Al Refai, F., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: Total transcriptome analysis of *Candida auris* planktonic cells exposed to tyrosol.
AMB Express. 13 (1), 1-10, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-023-01586-z>
IF: 3.5
2. Jakab, Á., **Balla, N.**, Ragyák, Á., Nagy, F., Kovács, F., Sajtos, Z., Tóth, Z., Borman, A. M., Pócsi, I., Baranyai, E., Majoros, L., Kovács, R. L.: Transcriptional profiling of the *Candida auris* response to exogenous farnesol exposure.
mSphere. 6 (5), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00710-21>
IF: 5.029

További közlemények

3. Kovács, F., Jakab, Á., **Balla, N.**, Tóth, Z., Balázs, D., Forgács, L., Harmath, A., Bozó, A., Ragyák, Á., Majoros, L., Kovács, R. L.: A comprehensive analysis of the effect of quorum-sensing molecule 3-oxo-C12-homoserine lactone on *Candida auris* and *Candida albicans*.
Biofilm. 9, 1-12, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biofilm.2025.100259>
IF: 4.9 (2024)
4. **Balla, N.**, Kovács, F., Tóth, Z., Harmath, A., Bozó, A., Majoros, L., Kovács, R. L., Jakab, Á.: Isolate Specific Transcriptome Changes Exerted by Isavuconazole Treatment in *Candida auris*.
Mycopathologia. 190 (1), 1-11, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-024-00919-1>
IF: 2.9 (2024)





5. Jakab, Á., Kovács, F., **Balla, N.**, Nagy-Köteles, C., Ragyák, Á., Nagy, F., Borman, A. M., Majoros, L., Kovács, R. L.: Comparative transcriptional analysis of *Candida auris* biofilms following farnesol and tyrosol treatment.
Microbiol. Spectr. 12 (4), 1-12, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.02278-23>
IF: 3.8
6. Kovács, F., **Balla, N.**, Bozó, A., Harmath, A., Jakab, Á., Tóth, Z., Nagy, F., Majoros, L., Kovács, R. L.: Epidemiology, clinical characteristics, outcome and biofilm forming properties in candidaemia: a single-centre retrospective 4-year analysis from Hungary.
Mycoses. 67 (4), 1-12, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/myc.13727>
IF: 3.1
7. Balázs, D., Tóth, Z., Locke, J. B., Borman, A. M., Forgács, L., **Balla, N.**, Kovács, F., Kovács, R. L., Amano, C., Baran, T. I., Majoros, L.: In Vivo Efficacy of Rezafungin, Anidulafungin, Caspofungin, and Micafungin against Four *Candida auris* Clades in a Neutropenic Mouse Bloodstream Infection Model.
J. Fungi. 10 (9), 1-14, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jof10090617>
IF: 4
8. Demeter, F., Török, P., Kiss, A., Kovácsnai-Oláh, R., Máthéné Szigeti, Z., Baksa, V., Kovács, F., **Balla, N.**, Fenyvesi, F., Váradi, J., Borbás, A., Herczeg, M.: First Synthesis of DBU-Conjugated Cationic Carbohydrate Derivatives and Investigation of Their Antibacterial and Antifungal Activity.
Int. J. Mol. Sci. 24 (4), 1-20, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24043550>
IF: 4.9
9. Kovács, R. L., Erdélyi, L. J., Fenyvesi, F., **Balla, N.**, Kovács, F., Vámosi, G., Klusóczki, Á., Gyöngyösi, A., Bácskay, I., Vecsernyés, M., Váradi, J.: Concentration-Dependent Antibacterial Activity of Chitosan on *Lactobacillus plantarum*.
Pharmaceutics. 15 (1), 1-11, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics15010018>
IF: 5.4
10. Jakab, Á., Kovács, F., **Balla, N.**, Tóth, Z., Ragyák, Á., Sajtos, Z., Csillag, K., Nagy-Köteles, C., Nemes, D., Bácskay, I., Pócsi, I., Majoros, L., Kovács, Á. T., Kovács, R. L.: Physiological and transcriptional profiling of surfactin exerted antifungal effect against *Candida albicans*.
Biomed. Pharmacother. 152, 1-10, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113220>
IF: 7.5





11. **Balla, N.**, Kovács, F., Balázs, B., Borman, A. M., Bozó, A., Jakab, Á., Tóth, Z., Kobaissi, O., Majoros, L., Kovács, R. L.: Synergistic Interaction of Caspofungin Combined with Posaconazole against FKS Wild-Type and Mutant *Candida auris* Planktonic Cells and Biofilms.
Antibiotics-Basel. 11 (11), 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics11111601>
IF: 4.8
12. Nagy, L., Rauch, B., **Balla, N.**, Ujlaki, G., Kis, G., Omar, A. R., Kristóf, E., Sipos, A., Antal, M., Tóth, A., Debreceni, T., Horváth, A., Maros, T. M., Csizmadia, P., Szeráfin, T., Bai, P.: Olaparib induces browning of in vitro cultures of human primary white adipocytes.
Biochem. Pharmacol. 167, 76-85, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2019.06.022>
IF: 4.96

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 54,789

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
8,529**

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2026.03.10.

