

MTA Doktori értekezés tézisei

Jelátviteli zavaroktól az onkometabolizmusig – daganatsejtek bionergetikai alkalmazkodása

Sebestyén Anna



Budapest, 2020

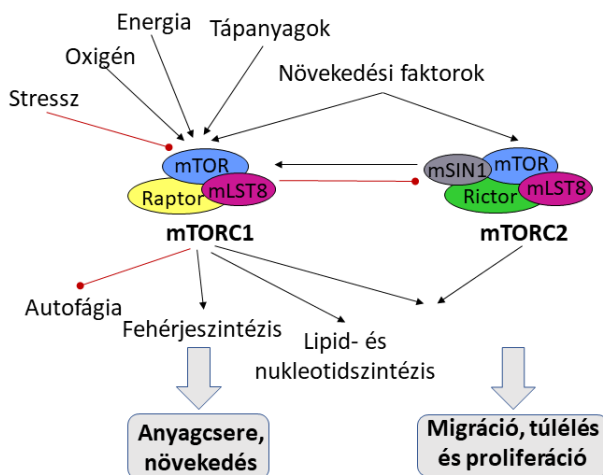
Semmelweis Egyetem,

I. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

I. Bevezetés – Irodalmi háttér

A 2000-es évek elején Hanahan és Weinberg rendszerezte és foglalta össze elsőként, majd 2011-ben további négygyel egészítette ki a daganatok legfontosabb tulajdonságait. Munkámban az előbbieket közül többel is foglalkozhattam. Az *apoptózis-rezisztenciával* kapcsolatban a transzformáló növekedési faktor béta (TGF β) szabályozó hatásának elvesztésével, annak összetett daganatbiológiai szerepével kezdtem posztdoktori kutatómunkámat. Ezzel összefüggésben a jelátviteli hálózat zavarairaival foglalkozva számos daganattípus emelkedett mTOR aktivitását írtuk le, majd az mTOR bioenergetikai szabályozásban mára már közismertté váló daganatbiológiai szerepével kapcsolatban egyes daganatok metabolikus változásainak, *in situ* metabolikus heterogenitásának jellemzését és jelentőségének vizsgálatát kezdtük meg.

A TGF β és Notch jelátviteli útvonalak működés zavara számos betegség, köztük a daganatok kialakulásának és növekedésének is egyik fontos tényezőjeként vált ismertté az évezred elejére, tumortípustól függően. Nem véletlen, hogy előbbi szabályozási zavarok tanulmányozása közben, ezek *mTOR hiperaktivitással* összefüggő folyamatait figyelhettük meg. Az mTOR kináz C1 és C2 komplexe a jelátviteli hálózatban csomóponti szabályozóként összegzi a sejt állapotáról és környezetéből érkező információkat (sejtek energia- és tápanyag-ellátottságát, a növekedési és környezeti faktor receptorok útvonalainak aktivitását), majd ezeknek megfelelően szabályozza a sejtproliferációt, a fehérjeszintézist, a túlélés folyamatait (1.ábra).



1. ábra Az mTOR komplexek központi szabályozó hatásai a jelátviteli hálózatban

Miután a kétezres évek elején igen korszerű biokémiai, sejtbiológiai és génmanipulációs vizsgálatokkal nemcsak élesztőben, hanem humán vizsgálatokban is alátámasztották az mTORC1 és C2 komplexek előfordulását, újabb és újabb targetfehérjéken keresztül, számos

celluláris folyamatban igazolódott a két komplex szerepe. Párhuzamosan ezekkel az mTOR komplexek szabályozási folyamatait és az mTOR jelátviteli útvonal negatív/pozitív *feedback* mechanizmusait is jellemezték.

A különböző tumorokban megfigyelt kóros mTOR hiperaktivitáson túl számos betegség kialakulásában, progressziójában írták le az mTOR aktivitás zavarát.

Daganatokban az mTOR hiperaktivitása alapvetően háromféle mTOR szignálváltozással hozható összefüggésbe: a. mTOR kináz génmutációk, b. az mTOR komplexet, illetve elemeit és aktivitásukat direkt módon szabályozófehérjék mutációi, c. a jelátviteli hálózatban bekövetkező változások – elsősorban onkogén illetve tumorszupresszor génmutációk –, amelyek az mTOR kináz aktivitását is fokozzák. A szolid daganatok közel 5%-a hordoz mTOR kináz aktiváló mutációkat, emellett az mTOR komplex elemek közül a Rictor amplifikáció és fokozott expresszió jelentőségét emlődaganatokban, kissejtes tüdődaganatokban, fejnyaki daganatokban és gyomor adenocarcinomákban írták le. Munkacsoportunk is több daganattípus fokozott Rictor expresszióját és mTORC2 aktivitását jellemezte. Egyéb a jelátviteli út hiperaktivitását okozó mutációk az előbbieknél azonban gyakoribbak (pl. PI3K α , Akt1, PTEN, TSC1, TSC2, LKB1, Ras/Raf mutációk). Nem szabad megfeledkezni azokról a növekedési faktor receptor mutációkkal (pl. *EGFR*, *HER2*) összefüggő közvetett mTOR hiperaktivitásokról sem, amelyek az adott daganattípusoknál jelenlegi célzott terápiás jelentőségük miatt sem kérdőjelezhetők meg. Mindezekkel összefüggésben vagy egyes esetekben még ismeretlen okból a rosszindulatú daganatok több mint 50-70 %-ában konstitutív mTOR kináz aktivitást figyelhetünk meg.

Az elmúlt évtized legtöbb, a daganatok mTOR hiperaktivitását és a legkülönbözőbb daganatos betegségek prognózisát érintő vizsgálatában, a magas mTOR aktivitás és a terápia rezisztencia, rosszabb túlélési adatok között szignifikáns összefüggés mutatható ki. Így az mTOR kináz aktivitása ideális terápiás target lehet, igaz a jelenleg elérhető gátlók mellékhatásainak kezelése sok beteg esetében nem kis kihívást jelent. A rapalógok (első generációs mTOR inhibitorok) mellett folyamatosan jelennek meg az újgenerációs, mTORC1-et és mTORC2-t is gátló kettős inhibitorok (pl. vistusertib), illetve egyéb duál inhibitorok (pl. dactolisib). Ezek különböző klinikai fázisvizsgálatokban vagy egyes esetekben egyedi engedélyezésekkel érhetőek még csak el.

Az mTOR aktivitás egyik fontos szerepe a sejtek növekedésszabályozása közben, a növekedéshez szükséges bioenergetikai háttér biztosításának „felügyelete”, a sejt katabolikus és anabolikus egyensúlyának biztosítása. Ennek érdekében a *metabolikus alkalmazkodásban* adott *anyagcsereútvonalak átprogramozása* valósulhat meg. Talán pont ezért, ma már az mTOR aktivitás változások daganatbiológiai szerepének vizsgálata elképzelhetetlen a daganatok

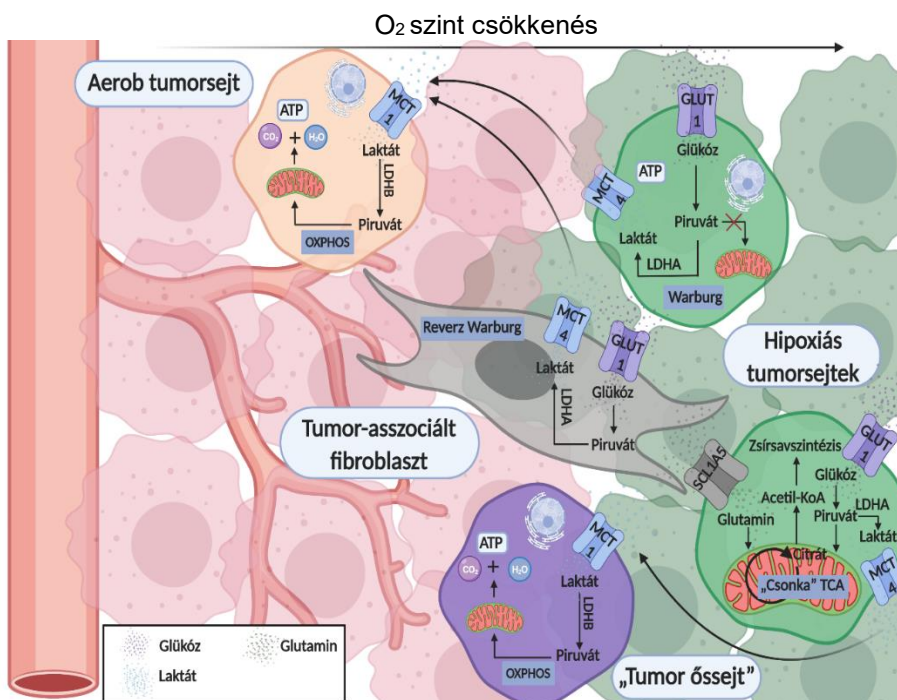
metabolikus alkalmazkodásának vizsgálata nélkül. A daganatok jellegzeteségei közé tartoznak az anyagcsereútvonalak átrendeződései; a tumorszövetben, a tumor sejtjeiben a metabolikus folyamatok aktivitása, azok aránya különböző lehet.

Otto Warburg a metabolikus alkalmazkodás egyik elemét már a múlt század húszas éveiben felismerte (fokozott mértékű tejsavas glikolízis – Warburg-effektus). Az ezzel összefüggő PET-CT vizsgálatok felhasználásának korlátai is kiemelik azonban a daganatok metabolikus alkalmazkodásának többféle lehetőségét.

A Warburg-effektust mint a *glikolitikus fenotípust* a daganatok domináns anyagcsere jellegzetességének tartják még ma is sokan, és a mitokondriális változásokkal, károsodással hozzák összefüggésbe. Igazolódott azonban, hogy a tumorsejtek többsége bioenergetikai szempontból ép mitokondriumokkal rendelkezik, tehát oxidatív foszforilációra képes (OXPHOS). Intenzív növekedéskor a sejtek és így a daganatsejtek többségére a glikolitikus fenotípus jellemző, de a tumorszövetben a sejtek egy része – és ezek lehetnek a legveszélyesebbek és legagresszívebbek – gyakorlatilag nemcsak intenzív Warburg glikolízist folytat, hanem az oxidatív foszforilációban párhuzamosan sok ATP-t is termel, ún. *hibrid fenotípussal* rendelkezik. A tumorszövet alkalmazkodásában ezek a hibrid sejtek teremtik meg az extrém metabolikus plaszticitást, forrásai lehetnek a terápiarezisztens és a metasztázisképző sejteknek. Előbbi intracelluláris metabolikus átrendeződés a legújabb ismereteink szerint számos jól ismert onkogén szabályozási zavarral is összefüggésben áll. A glikolízis intermediereinek hasznosítása szintetikus folyamatok építőköveit (pl. glükóz-6-foszfát, ribulóz-5-foszfát, dihidroxi-aceton) és megfelelő ATP szintet is biztosít, ebben azonban többféle citrátköri feltöltő mechanizmusnak is juthat támogató szerep. Ilyen pl. a glutaminolízis, ami nemcsak ATP forrás, hanem az α -ketoglutarát (aKG) izocitrát-citrát átalakulás – reverz útvonal – segítségével zsírsav- és a lipidszintézis forrása is lehet. A glutaminolízis azonban számos egyéb hatásával is hozzájárul a tumorszövet növekedésének biztosításához: fontos intermediereket nyújt a fehérje- és nukleotidszintézishez, az N- és O-glikolizációhoz, az antioxidáns glutation képződésén keresztül segíti az oxidatív stresszhatások kivédését, illetve bioenergetikai és transzamináz szubsztrát is lehet. A bioenergetikai folyamatokban a fehérjebontásból származó aminosavak, köztük a glutamin, a szervezet 10-15%-ának energiaellátását is pótolhatja; és ismert az is, hogy egyes aminosavak esszenciálisak lehetnek bizonyos tumorsejtek növekedésében. Energiaínségben a zsírsavak és ketontestek redukív

karboxilációja, oxidációja is nagy jelentőségű, és a reverz Warburg-effektus laktát visszaforgatásával is nyújt bioenergetikai szubsztrát kapacitás forrást a metabolikus alkalmazkodásra képes sejteknek. Előbbiek mellett az anyagsereffolyamatok epigenetikai szabályozási zavarokban játszott tumorbiológiai jelentőségét mutatják azok az eredmények, amelyek a treonin, a metionin, az S-adenozil metionin (SAM) szint fenntartásának hiszton- és DNS-metilációban játszott szerepét emelik ki eredményeikben. Természetesen az oxidációs folyamatokban a TCA ciklusba lépő különböző intermedierek, a mitokondrium mátrixban $\text{NADH}^+ + \text{H}^+$ -t és FADH_2 -t termelnek, ami az elektrontranszportláncban, a terminális oxidációban ATP-t nyújt elsősorban az *OXPHOS* fenotípusú sejteknek. A fent említett citrátciklust feltöltő mechanizmusok, a glutaminolízis és lipidbontás termékei vagy a fehérjék, aminosavak bontása más intermediereken keresztül is bekapcsolódhatnak az oxidációs, bioenergetikai folyamatokba.

Egyes hipotézisek szerint, a hibrid metabolikus fenotípust a megfelelő folyamatok gyors re- és inaktivációjaként kell elképzelni, ami szerint előbbi inkább a tumorszövet, illetve a *szöveti metabolikus szimbiózis* eredménye (2.ábra). A metabolikus fenotípusok áttekintése közben a nyugvó sejtek – pl. az ún. „daganat őssejt” – alacsonyabb metabolikus aktivitását is meg kell említenünk. A munkák többsége az ő- és a nyugvó sejtek *OXPHOS* bioenergetikai hátterét hangsúlyozza, az ilyen *OXPHOS* metabolikus jellegzetességű tumor őssejtet, „dormant” sejteket, a terápia rezisztencia kialakulásában játszott szerepüket egyre több tumortípusban vizsgálják jelenleg.



2. ábra Szöveti környezetben megfigyelhető metabolikus szimbiózis. A hipoxiás vagy pseudohipoxiás tumorsejtek termeltek laktát a jobban oxigenizált területeken optimálisan felhasználható (oxidáció), illetve egyéb szubsztrátok citrátciklus feltöltő mechanizmusai is segítik a bioenergetikai egyensúly szöveti fenntartását.

Bár a legújabb eredmények kizárólagos, csak a tumorokra jellemző metabolikus jellegzetességeket ugyan nem mutatnak, a tumorsejtek, a daganatszövet metabolikus átprogramozásának vizsgálatával és megismerésével olyan változásokat tárhatunk fel, amelyek nemcsak a diagnosztikában, a terápiás eredmények követésében mint markerek, de a daganatok kezelésében is új célpontokként jelenhetnek meg.

A metabolikus változások következményeként a sejtek intracelluláris metabolit-koncentráció viszonyai is megváltoznak, ezek a jellegzetes változások pedig akár extracellulárisan és/vagy extracelluláris vezikulákban is megjelenhetnek (pl. laktát). Bizonyos funkcióvesztő vagy nyerő enzimmutációk a citrátciklust és az oxidatív folyamatokat jelentősen károsíthatják, eredményként egyes citrátköri metabolitok kóros mennyiségben halmozódhatnak fel. A fumarát, a szukcinát mennyiségének emelkedése és a D-2-hidroxi-glutarát (2HG) megjelenése olyan génszabályozási változásokhoz, zavarokhoz (metiláció, acetiláció), illetve HIF1 stabilizációhoz vezetnek, amelyek a laktát hatásaihoz hasonló növekedési előnyt biztosítanak a daganatsejteknek. Ezeket az anyagcsere köztes termékeket (metabolitokat), amelyek mennyiségükben vagy szerkezetükben megváltozva segítik a tumornövekedést, *onkometabolitoknak* tekintjük. A már említett onkometabolitok ritkább daganatok és adott anyagcsere-enzim mutációk megjelenésével függnek össze.

IDH funkciónyerő mutáció – 2HG szint emelkedés – ~70-80% gyakoriságot mutat astrocytomákban, oligodendrogliomákban, szekunder glioblastomákban, de a felnőttkori akut myeloid leukémiák (AML) 15-20%-ára is jellemző, míg a chondrosarcomák ~50%-ában jelenhet meg; a pajzsmirigy-, colorectalis- és cholangiocarcinomában pedig ritkább. Az SDH, ill. FH funkcióvesztő mutáció miatt szukcinát, fumarát halmozódik fel más ritka daganatokban. Nemcsak az említett onkometabolitok és a laktát, hanem adott tumorszövetek metabolit-koncentráció viszonyainak elemzése is fontos információt adhat a daganatszövet metabolikus állapotáról, jellegzetes metabolikus útvonalainak aktivitásáról. A legújabb vizsgálatok, így saját eredményeink alapján is a metabolitok mennyiségi változásainak segítségével is jellemezhetők a daganatok. A metabolikus jellemzések adott daganatszövet kiindulási vagy az alkalmazott terápia esetén várható anyagcsere-változásait mutathatják meg, amelyeket gátolva, metabolikus katasztrófát előidézve hozzájárulhatunk a terápiák hatékonyságának javításához a jövőben.

Az egyik legnagyobb érdeklődés a *glikolízisgátlókra* irányult, 2016-ban azonban minden glikolízisgátló fázisvizsgálatot leállítottak a súlyos

mellékhatások miatt, így jelenleg a laktát- és piruvát-transzport, a monokarboxilát transzporterek (MCT-k) gátlása, illetve más kezelések ismert bystander hatása (pl. mTOR gátlók) használható ki glikolitikus fenotípusú tumorsejtekben. A *mitokondrium bioenergetikai funkció gátlása* a légzési lánc oxidációs folyamatának, illetve a mitokondrium proteinszintézisének gátlásával is megvalósulhat. A metformin/phenformin légzési lánc komplex I gátló hatásai például preklinikai vizsgálatokban mutattak tumornövekedés gátló hatásokat, így több fázisvizsgálat is folyik jelenleg. A *glutamináz gátlókkal* a citrátciklus anaplerózisát akadályozhatják meg. Előbbiekkel ellentétben a lipidszintézis gátlók tumornövekedést befolyásoló hatásai kevésbé egyértelműek. Kedvező mellékhatásprofilú az etomoxir és hatásai ígéretesek lehetnek, de az autofágia tumorsejtek túlélését befolyásoló hatásai is nagy figyelmet kapnak a jelenleg zajló kísérletekben. Az eredmények arra utalnak, hogy a komplex metabolikus szabályozási rendszerben a tumorok egyedi metabolikus jellegzetességeitől függően, a *lipid anyagcserét és az autofágia folyamatait gátló és fokozó kezelések* is szerepet kaphatnak a jövőben. *Egyéb metabolikus hatású gátlószer* kezelések közé sorolhatók a mutáns IDH enzim funkciót gátló kezelések, az enasidenib az AML relapszusának kezelésében kapott FDA engedélyt 2017-ben. További metabolikus gátlószer közé sorolható még számos kináz gátló kezelés is széles biológiai hatását tekintve, pl. a PI3K/Akt/mTOR gátló kezelések.

Az elmúlt évtizedben indult újra fejlődésnek a daganatok metabolikus változásainak vizsgálata, ami a genomikai és transzkriptomikai adatok mellett végre metabolomikai, biokémiai és *in situ* metabolikus karakterizálás komplex eredményeivel egészíti ki tumorbiológiai ismereteinket, így esély nyílt új terápiák tervezésére, a daganatok metabolikus szabályozásának támadására a közeljövőben.

II. Célkitűzések

Vizsgálataink kezdetén a jelátviteli útvonalak bonyolult szabályozási hálózatai még nagyrészt ismeretlenek voltak. Rezisztencia mechanizmusokban, a TGF β és Notch útvonalak szabályozásai zavarainak vizsgálata közben az mTOR jelátviteli hálózati csomópont vizsgálatainkban több tumortípusban elsőként jellemeztük az mTORC1 és C2 komplexek aktivitásait, daganatbiológiai szerepét. Ezek jelentőségét adott daganattípusok bioenergetikai változásaiban is jellemeztük. A tumorsejtbiológiai kérdések gyakorlati jelentőségét vizsgálva kísérletes daganat patológiai, metabolikus vizsgálatainkat, szinte minden esetben adott humán tumortípusok jellemzésével, illetve lehetőség szerint a megfelelő célzott kezelések *in vitro* és *in vivo* kísérleteivel is kiegészítettük.

Az előbbiekhöz kapcsolódva a disszertációban összefoglalt eredmények célkitűzései a következők voltak:

1. Mevastatin, illetve immunszuppresszív kezelések indukálta apoptózis mechanizmusának vizsgálata lymphoma és leukémia sejtvonalakban
2. Az immunszuppresszió és a tumorigenezis összefüggéseinek vizsgálata
3. A Notch expresszió és aktivitás változás szerepének vizsgálata leukémia és lymphoma sejtek proliferációjában, túlélésében
4. TGF β indukált apoptózis, TGF β rezisztencia hátterének, érzékenyítés lehetőségének vizsgálata leukémia és lymphoma sejtekben
5. Az mTOR aktivitás változások proliferációs és tumornövekedést segítő daganatbiológiai szerepének vizsgálata
 - mTOR aktivitás vizsgálata különböző lymphoma típusokban és a gyermekkori akut lymphoid leukémiákban
 - mTOR aktivitás, mint potenciális target jellemzése szolid daganatokban
 - mTOR aktivitással összefüggő bioenergetikai szubsztrát hasznosítás és metabolikus változások vizsgálata *in vitro* és *in vivo*
6. Az mTOR aktivitás és a szöveti metabolikus adaptáció szerepének térképezése egyes szolid daganatok progressziójában
7. A bioenergetikai alkalmazkodás, metabolikus plaszticitás gátlásának vizsgálata mTOR és metabolikus gátlószer kombinációk *in vitro* és *in vivo* hatásaiban
8. *In vitro* és *in vivo* metabolikus különbségek vizsgálata, olyan *in vitro* rendszerek fejlesztése és összehasonlító vizsgálata, amelyek a 3D szövettenyésztésre és bionyomtatásra alapozva segítik az *in situ* helyzetek modellezését

III. Módszerek

In vitro sejtvonalak, izolált primer sejtek tenyésztése és kezelésekor közel 40 különböző szuszpenziós és adherens humán sejtvonalat, illetve izolált primer leukémia sejteket használtunk. Kezeléseinkben növekedési faktorokat, ligandokat, specifikus kináz gátlókat és egyéb metabolikus hatású anyagokat is alkalmaztunk jól ismert kemoterápiás vagy célzott kezelések mellett. Majd a hatásokat többféle proliferációs teszttel, apoptózis, enzim aktivitás esszéivel illetve áramlási citometriai elemzéssel is vizsgáltuk. Munkáinkban különböző 3D tenyészetekkel és a 3D Bionyomató egységben élősejtekkel nyomtatható *in vitro* tenyészthető raftokkal, in vivo xenograftokkal (PEI/001/2457-6/2015, PEI/001/1733-2/2015, PE/EA/801-7/2020 számú állategészségügyi engedélyek). is dolgoztunk.

A rezisztencia problémák hátterében onkogének mutációját vizsgáltuk direkt Sanger szekvenálás mellett új generációs szekvenálással is (intézetünk Molekuláris Onkohematológia laboratóriuma, illetve korábban az Oncompass Medicine segítségével). A RICTOR amplifikációt RICTOR fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) segítségével mutattuk ki, bizonytalan esetek értékeléséhez droplet digital PCR technikát állítottunk be. RNS illetve miRNS izolálást követően RT- illetve Real Time PCR expresszió vizsgálatokat végeztünk. Smad4 gén expresszió csendesítéséhez szintetikus siRNS-t alkalmaztunk, a transzfekció hatásfokát áramlási citometriával, Smad4 mRNS expressziót RT-PCR-rel, Western blottal és TIEG mRNS expresszió követésével ellenőriztük.

A fehérje expressziós változásokat *in situ* immuncitokémia, fluoreszcens immuncitokémia, Duolink, hagyományos és tissue microarray immunhisztokémiai festésekkel is meghatároztuk. Adott patológiai értékelések többségében H-score értékelést használtunk, hogy a klinikai és túlélési adatok összefüggéseinek statisztikai elemzését elvégezhessünk. Sejt- vagy fagyasztott szövet lízátumokban a fehérjék és foszfo-proteinek mennyiségét Western blot vagy Wes Simple kapilláris Western készülékkel vizsgáltuk (összesen közel 50 különböző fehérje).

Tumormetabolizmus kísérleteinkben a tumorsejtek szubsztrát oxidációját jelölt (radioaktív és stabil izotóp) glükóz, glutamin, acetát segítségével is vizsgáltuk. Metabolit koncentráció méréseinket LC-MS-el az MTA TTK Műszer Centrumában, illetve az MTA-SE Molekuláris Endokrinológiai Lendület Munkacsoport Laboratóriumában végeztük. Oxigénfogyasztás és extracelluláris acidifikáció méréseinket a Semmelweis Egyetem Biokémia Intézet Seahorse készülékén készíthettük el.

Humán szövetek (emlő-, colon carcinomák, illetve és tüdődaganat-, lymphoma- és rhabdomyosarcoma esetek) és leukémiás (CLL és ALL) minták vizsgálatához tudományos etikai illetve a Mayo Klinikán végzett vizsgálataink esetében az adott Klinika etikai engedélyeivel rendelkezünk (TUKEB 7/2006., 118/1999, 510/2013, 86/2015, 99/2018., EKUB 14383-2/2017, IRB#: 18-001887, IRB#: 15-000406)

IV. Eredmények és Megbeszélés

Napjainkban számos nem onkológiai kezelés esetében ismerjük fel azok potenciális anti-tumorális hatását. Az elmúlt évtized jelentős eredményeinek sorát nyitottuk meg saját, a mevastatin és rapalógok hatásait érintő munkáink adataival még a kétezres évek elején.

Jellemeztük a mevastatin apoptózis indukáló hatásait myeloma sejtekben in vitro. Azóta a statinok számos antitumorális hatását írták le további daganatok, pl. melanomák, emlőcarcinomák, hasnyálmirigy daganatok, fibrosarcomák, gliomák, neuroblastomák és más lymphomák esetében is. A legújabb adatok szerint a statinok a daganatok mTOR hiperaktivitásával is összefüggő, lipid szintetikus változások megzavarásával fejtik ki anti-tumorális hatásaikat. Potenciális szenzitívítási markerek validálása még klinikai vizsgálatokban szükséges ugyan, az elmúlt évtized eredményei alátámasztják azonban, hogy a statinok alkalmazása egyes daganatok, így az általunk is vizsgált myelomák esetében is, potenciális, addicionális alternatív terápiais készítmények lehetnek.

Érdekes kettősség, hogy az immunuszuppresszív állapotok emelik a daganat incidenciát, de egyes *immunuszuppresszív kezelések között a mycophenolat mofetil (mycophenolsav), illetve az mTOR gátló rapamycin lymphoma és egyéb daganatnövekedés gátló hatású.* A mycophenolsav esetében is kimutattuk a mycophenolsav kezelés lymphoma növekedést gátló hatásait, ebben a folyamatban az indukált apoptotikus folyamatok szerepét. A lymphoma sejtekben általunk is igazolt hatások mellett az elmúlt időszakban közismertté vált a kezelés hatékonysága nemcsak lymphoid, hanem számos egyéb malignitás esetében is. Az immunuszuppresszív kezelések tumor incidenciát emelő hatásait a hazai vesetranszplantációs esetek között jellemezve, poszttranszplantációs vesedaganatokban az mTOR aktivitás eltérő, magasabb mértékét írtuk le a de novo daganatokhoz képest. Nemcsak szövettani, hanem *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokban is igazoltuk, hogy az *mTOR* aktivitás változásoknak, *mTORC2* aktivitás emelkedéseknek jelentős szerepe lehet a *CNI* terápia mellett a donor vesében kialakuló daganatok kialakulása esetében. Mindez hangsúlyozza azon jelenlegi transzplantációs immunuszuppressziós trendek jelentőségét, amelyekben a rapalóg konverziót vagy mTOR gátló mielőbbi adását javasolják.

A daganatok mTOR aktivitásának jellemzésében jelentős szerepet vállalt munkacsoportunk az elmúlt évtizedben. Az mTOR hiperaktivitás fontos és számos tumortípus esetében jól targetálható változását több daganat esetében írtuk le (1. Táblázat). Számos esetben elsők között szolgáltatunk adatokat a két komplex aktivitásáról, így az mTORC2 komplex hiperaktivitás jellemzéséről és annak prognosztikai összefüggéseiről.

Saját eredményeink alátámasztották, nemcsak a magas mTOR aktivitás, hanem ezen belül az *mTORC2 komplex hiperaktivitás prognosztikai jelentőségét*. Szinte valamennyi vizsgált daganattípus esetében megfigyelhettük és kimutattuk az mTORC2 aktivitás megjelenésének prognosztikai kockázatát. Egyértelműen igazoltuk lymphomák, DLBCL-ek, coloncanceromák, különböző tüdődaganatok vagy egyes ritka daganatok mint az rhabdomyosarcomák esetében is az mTORC2 aktivitás és a rossz prognózis összefüggéseit.

Mindezen munkáink közben egy olyan immunhisztokémia vizsgálati marker panelt és megfelelő H-score értékelést állítottunk be, amelyek segítségével az mTOR aktivitás *in situ* szöveti jellegzetességei meghatározhatók biopsziás mintákban. Ennek segítségével az mTOR kináz targetáláshoz az inhibitorok kiválasztásához is segítséget tudunk nyújtani.

1. Táblázat Munkacsoportunk közreműködésével jellemzett mTOR aktivitás különbségek a különböző daganattípusokban

daganattípus	mTOR hiperaktivitási adat	közlemény
emlőcarcinoma	p-S6 (mTORC1 hiperaktivitás) szignifikánsan összefügg a rosszabb prognóziással	Petővári Cancers 2020
rhabdomyosarcoma	az esetek 80%-ban magas mTORC2 aktivitás	Felkai Cancers 2020
kissejtes tüdődaganatok	Rictor amplifikáció és mTORC2 aktivitás összefüggése	Krencz Human Pathol 2019.
lymphangioliomyomatosis tüdő adenocarcinoma	mTORC1 és mTORC2 komplex hiperaktivitás mTORC2 aktivitás emelkedés és az agyi metasztázisok összefüggése	Krencz Human Pathol 2018. Krencz Human Pathol 2017.
humán glioma	vad IDH, jelentősebb mTORC2 aktivitás	Petővári Cancer Cell Int 2018.
fibrosarcoma	mTORC1 aktivitás szerepe az onkometaolitermelésben	Hujber Exp Clin Cancer Res 2017
coloncancerinoma	mTORC2 hiperaktivitás – rossz prognózis, mTOR gátlás EGFRI és ciszplatin szenzitizáló hatásai	Sticz J Clin Pathol 2017.; Pathol Onco Res 2019
primer központi idegrendszeri lymphoma	mTOR aktivitás független és PASK függő p-S6 expresszió	Marosvári J Neuropathol Exp Neurol 2018
akut lymphoid leukémia	mTOR hiperaktivitás prognosztikai jelző értéke	Nemes PLOSONe 2013
lymphomák, HL	mTOR aktivitás, mTORC1 aktivitás	Márk BMC Cancer 2013
GIST	mTOR hiperaktivitás	Sápi Diagn Mol Pathol 2011
medulloblastoma	mTOR hiperaktivitás	Pócza Pathol Oncol Res 2014
DLBCL	mTORC2 hiperaktivitás	Sebestyén Modern Pathol 2012; Rajnai Virchows 2014

Lymphomák széleskörű vizsgálataiban a normál szabályozókkal, így a *TGFβ apoptotikus hatásaival szemben kialakuló rezisztencia molekuláris mechanizmusait* feltárva egyértelműen kimutattuk, hogy az mTOR hiperaktivitásnak fontosabb szerepe van a rezisztencia mechanizmusban, mint a TGFβ receptor Smad útvonal elemek egyes daganatok esetében bekövetkező kiesésének (Smad silencing kísérletek). Az mTOR gátló kezelés számos rezisztencia mechanizmust függesztett fel különböző lymphoma vagy leukémia sejtekben. Kimutattuk a TGFβ indukált apoptózisban a foszfatázok szerepét,

illetve egyértelműen igazoltuk a TGF β indukált apoptózis rezisztenciában az alternatív jelátviteli útvonal és mTOR hiperaktivitás jelentőségét. Ezekkel összefüggésben tudtuk kimutatni a *rapamycin TGF β érzékenyítő* hatásait, illetve más szabályozó hatások pl. egyes daganatok esetében szintén fontos onkogén hatású *Notch hiperaktiváció mTOR gátlással felfüggeszthető* hatásait.

A *rapalógok többféle szenzitizáló hatását* nemcsak lymphomákban, hanem más pl. colon-, tüdő- és emlőcarcinomák vagy akár gliomák EGFR inhibitor, illetve kemoterápia szenzitizálásában is jellemeztük. Ezeknek az eredményeknek jelentőségét ma már az egyre több esetben megismert epigenetikai szabályozási zavarok is megerősítik, amelyek közül az mTOR aktivitással kapcsolatosan néhány miR expresszió változását írtuk le gyermekkori ALL-ekben. Az mTOR hiperaktivitással összefüggésben több esetben vizsgáltuk különböző mTOR inhibitorok hatásait. Ezek alapján a jelenleg zajló újgenerációs inhibitorok alkalmazása hatásosabb lehet az általunk is vizsgált Rictor amplifikált mTORC2 pozitív tüdődaganatok, mTORC2 hiperaktivitást mutató LAM és ER+ terápia rezisztens emlődaganatok esetében is. Kimutattuk az mTOR gátló kezelések ciszplatin, EGFR inhibitor, illetve a temozolomide érzékenyítő hatásait. Eredményeink és mások hasonló vizsgálatai is hozzájárultak, ahhoz, hogy jelenleg több esetben (pl. colon-, tüdőcarcinomák és gliomák) zajlanak mTOR inhibitor kombinációs fázis vizsgálatok az előbbi kemoterápiás szerekekkel.

Az mTOR aktivitás változásokkal összefüggésben egyre több eredmény, köztük saját eredményeink is mutatták, hogy a metabolikus jellegzetességekkel, azok változásaival összefüggő a tumorok mTOR aktivitás emelkedése. Ebben az évtizedben egyre több közleményben jelent meg, hogy nemcsak a jelátviteli szabályozási zavarok, hanem a tápanyag és mikrokörnyezeti stresszhatások kivédésében, a *metabolikus adaptációban is szerepe lehet az mTOR aktivitásnak*. Az mTOR – mint egy központi szabályozó elem a jelátviteli hálózatban – a sejt aktuális állapotának megfelelően segíti a metabolikus átrendeződéseket, a lebontó és felépítő folyamatok egyensúlyát a sejt túlélése érdekében. Vizsgálataink legújabb eredményei ezen hatásokkal és jelentőségükkel vannak összefüggésben.

Metabolikus vizsgálataink kezdetén nagyon sok új módszert állítottunk be. Vizsgálataink egyik legérdekesebb eredményeit azokkal a metabolikus mérésekkel mutattuk ki, amelyekben adott tumorsejtek tápanyaghasznosítási különbségeit elemeztük. Az IDH mutáns gliomák esetében a 2-HG termelés forrásait azonosítva kimutattuk, hogy *glutamin mellett az acetát, illetve a lipidanyagcsere változások mint források hozzájárulhatnak a gliomák bioenergetikai egyensúlyának megteremtéséhez*. Ennek kapcsán figyeltünk fel elsőként gliomák esetében a potenciálisan emelkedett *GABA oxidáció glioma sejtek proliferációját támogató szerepére*, illetve ennek következményeként a humán gliomák jellegzetes *SSADH overexpressziójára*. Utóbbiak adataink szerint

akár metabolikus targetek is lehetnek ebben az igen rossz prognózisú daganattípusban. Ezeknek az eredményeinknek felhasználása, illetve a glioma sejtek metabolikus alkalmazkodásában a különböző szubsztrátok szerepének vizsgálata a jövőbeni terápiás próbálkozásokban új lehetőségeket jelentenek és egyre nagyobb érdeklődésre számíthatnak.

Az *onkometabolitok LC-MS mérésének* beállításával jelenleg nemcsak a laktát, de a 2-HG, illetve akár a fumarát-, szukcinátszint emelkedését is ki tudjuk mutatni humán szérumban, liquorban, extracelluláris vezikulákban és műtéti szövetekben is. Ez segíthet az onkometabolit termeléssel összefüggő mutáns tumorsejtek mennyiségének követésében, valamint a recidív tumorok megjelenésének kimutatásában is (pl. IDH mutáns AML, glioma, SDH mutáns paragangliomák). Onkometabolitok termelése kapcsán *elsőként igazoltuk az mTOR aktivitás szerepét a laktát és a 2-HG termelésben*, amiben elsősorban az mTOR aktivitásfüggő GLS és LDHA termelésnek van jelentősége. Azóta nemcsak a laktát és 2-HG, hanem más onkometabolitok termelésében is igazolták az mTOR aktivitás jelentőségét, illetve több közleményben beszámolnak eredményeinket megerősítő, az mTOR gátlók onkometabolit-termelést csökkentő direkt hatásairól is. Mindez az mTOR gátlók egyéb terápiás hatásai között, a metabolikus adaptáció mechanizmusok összehangoló szerepét sugallja.

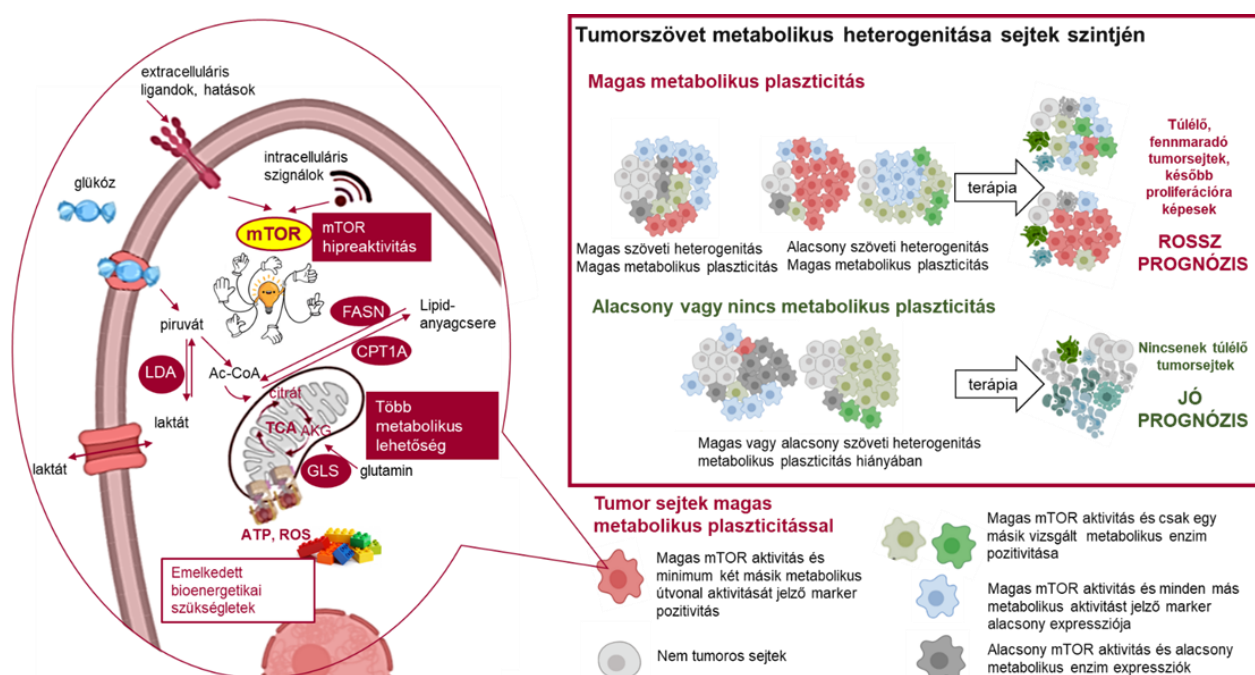
Azt, hogy az mTOR hiperaktivitással összefüggésben szöveti szinten a legkülönbözőbb metabolikus útvonalak elérhetők adott tumorszövetekben, többféle daganat esetében is sikerült igazolnunk (elsőként a ritka LAM-ban, majd gliomák, rhabdomyosarcomák és emlődaganatok esetében is). Ezekben az esetekben az mTOR aktivitás *in situ* vizsgálatával párhuzamosan alapvető metabolikus folyamatok enzimeinek expresszió vizsgálatát végeztük el. A markerek kiválasztásánál igyekeztünk *in vitro* vizsgálataink eredményeit is felhasználva minél többféle metabolikus folyamat markereit kiválasztani és elemezni. Általában folyamatonként legalább 2-3 marker tesztelése után 10-nél kevesebb markert igyekeztünk választani. Adott tumortípusok elemzését ezek segítségével végeztük el; a legmegfelelőbb mTOR aktivitás (pl. p-mTOR, p-S6, Rictor és p-Ser473), glikolízis (GLUT1, HK2, PFK, valamint az LDHA, ami a Warburg-glikolízis markere) és glutaminolízis markert (GLS), illetve egyéb, szubsztrát-felhasználás támogatóként az MCT1-et, az ACSS2-t, az SSADH-t, illetve a lipid anyagcsere jellemzésére a CPT1A-t, a FASN-t, a p-Acly-t vagy az oxidációs kapacitás markereként a β -F1-ATP-*áz*t *in situ* rendszeresen vizsgáljuk.

A *rhabdomyosarcomás* esetek metabolikus jellemzésekor az mTOR aktivitás karakterizálását elvégezve a primer mintáink több mint 50%-ában magas p-mTOR, illetve fokozott Rictor expressziót (primer minták 82 %-a) mutattunk ki a fúzió pozitív mintákban. Eredményeink jelentőségére utal, hogy a legújabb vizsgálatainkban kimutatott Rictor overexpresszió, az mTORC2 komplex

emelkedett mennyisége magyarázatot adhat a korábban egyedi engedélyeztetéssel rapalóg terápiában részesült rhabdomyosarcomák terápiás válaszána elmaradására. Eredményeink előbbie mellett az *mTORC2 komplex aktivitásával összefüggésben, a metabolikus adaptációban fontos egyéb enzimek mennyiségének változásait* és jelentőségét is megmutatták. Egyértelmű korreláció igazolódott az mTOR kináz aktivitás fokozódása és az LDHA expresszió, fokozott glükózhasznosítási képesség között. Ezzel fordított összefüggést mutatva a β -F1-ATPáz alacsony mennyisége az oxidatív foszforiláció elhanyagolható szerepét mutatta RMS sejtek anyagcseréjében. Míg a kimutatott mTOR aktivitással összefüggő glutaminolízis enzim szint emelkedésnek fontos szerepe lehet az intenzív proliferáció mellett megjelenő reaktív oxigén gyökök semlegesítésében is. Nem véletlen, hogy más vizsgálatok is mutattak glutaminfüggőséget RMS sejt vonalak esetében. Ezek a terápiás fejlesztésekkel kapcsolatos eredmények, a vizsgálatainkban leírt enzimexpresszió-változások fényében, új terápiás célpontokat nyújthatnak a RMS-ban a jövőben.

A legérdekesebb, a tumorok metabolikus szimbiózisát és a progresszióban a metabolikus plaszticitás jelentőségét igazoló eredményeinket egyik utolsó vizsgálatunkban írtuk le. Az emlődaganatok szubtypus független, igen magas mTOR aktivitását és ezzel párhuzamosan egyes metabolikus útvonalak potenciális elérhetőségét jellemeztük a betegek progressziójával összefüggésben. Elemzésünk rávilágított például a Warburg-effektus és mTOR hiperaktivitás összefüggéseire és prognosztikai szerepére. A magas mTORC1 aktivitás (p-S6) és a rosszabb prognózis, a rövidebb túlélés között mutattunk ki összefüggéseket. Hangsúlyozni kell, hogy hasonlóan a sarcomákhoz, az emlődaganatok esetében is megfelelő biomarkerek kiválasztása szükséges az mTOR gátlók alkalmazásában. A rapalógok különféle metabolikus hatásait, az *in vitro* vizsgálatainkban is megfigyelt mTOR aktivitás metabolikus adaptációban játszott szerepét, más metabolikus gátlószerek kombinált alkalmazását érdemes megfontolni a jövőben. Ezt a lehetőséget alátámasztják azok az eredmények, amelyek más rosszindulatú daganatokban, gliomákban és hepatocelluláris daganatokban az OXPHOS/mitokondriális biogenezis vagy glikolitikus gátlók fokozott daganatellenes hatását mutatták a rapalógokkal kombinációban. A lipid metabolizmus adaptációs mechanizmusainak szerepét hangsúlyozzák azok a saját eredményeink, amelyekben a vizsgált emlődaganatos esetek 2/3-ban a CPT1A és a FASN fehérjék nagy mennyiségét szimultán mutattuk ki ugyanazokban a sejtekben, ugyanazon tumor területeken (mintázat egyezés). Ezek az új eredményeink és a festések kombinált értékelése, az úgynevezett magas

metabolikus plaszticitás megállapítását segítették, a szövetek metabolikus és mTOR aktivitásának átfogó szöveti vizsgálatában. Eredményeink egyértelműen alátámasztották, hogy a metabolikus plaszticitás, a metabolikus hibrid fenotípus jelenléte kulcsszerepet játszhat a terápiarezisztencia kialakulásában. Munkánk legnagyobb újdonsága, hogy több anyagcsere folyamatot és ezek szöveti heterogenitását egyszerre elemeztük. Összefoglalva a kapott statisztikai elemzéseket: emlődaganatokban a metabolikus átrendeződés lehetősége mTOR hiperaktivitással társulva a rossz prognózis rizikóját veti fel. (3.ábra)



3. ábra Metabolikus plaszticitás értékelése és potenciális prognosztikai szerepe. A magas metabolikus plaszticitás (ami magas mTOR aktivitást és a vizsgált metabolikus enzimek közül legalább két független tényező szintén magas expresszióját jelenti) nagyfokú alkalmazkodást tesz lehetővé a legkülönbözőbb stressz hatásokkal, akár a terápiás kezelésekkel szemben, így biztosítja egyes tumorsejtek túlélését majd a későbbi recidívák, metasztázisok kialakulását, ami a betegek rosszabb prognózisával függ össze.

Az elmúlt évtizedek daganatbiológiai és klinikai kutatásai a régi és új eredmények átgondolására készítetnek minden a tumorok kialakulásával, progressziójával foglalkozó kutatót. A tumor szuppresszorokat és onkogéneket érintő, már egyre jobban célozhatóvá vált genetikai változások megismerését követően napjainkban a daganatok heterogenitásának, a tumor dinamikus változásának megértése jelenti a legnagyobb kihívást. Számos *in vitro* és *in vivo* kísérleti bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy az *mTOR* kombinált gátlása nemcsak a hagyományos vagy célzott kezelésekkel, hanem akár más metabolikus

kezelésekkel kombinációban meggátolhatja a daganatok növekedését. Legérdekesebbek azok a kombinációk, amelyek egymást kiegészítő metabolikus hatásokkal gyakorlatilag elvágják az alkalmazkodás útvonalait, így *metabolikus katasztrófát* indíthatnak el a tumorsejtekben. Az egyik leghatékonyabb metabolikus kombinációs kezelésben pl. az mTOR gátlókkal anti-mitokondriális hatású antibiotikum kombinációk hatásait vizsgáltuk. Nemcsak gliomák, hanem emlődaganatsejtek és számos egyéb tumortípus modelljében mutattuk ki, hogy a *rapamycin + doxycyclin* kombináció vagy más metabolikus gátlószer kombinációk a jelenlegi terápiás kezelőszerekkel, illetve egymással jelentős tumornövekedés gátló hatással rendelkezhetnek. Eredményeink azt is mutatják azonban, hogy ezeknek a metabolikus folyamatoknak az eredményei a jelenlegi kísérleti modellekben csak óvatosan értékelhetők, hiszen a 2D sejtvonalak vagy a jelenlegi xenograft modellek is számos metabolikus mechanizmusokat is érintő korláttal rendelkezhetnek. Megkezdtük azokat a vizsgálatainkat, amelyekben a legkülönbözőbb metabolikus katasztrófák indukcióját 3D modellekben, illetve 3D bionyomatott daganatszövet-szerű struktúrákban tesztelhetjük. Ezekben vizsgáljuk a jövőben azokat a doxycycline + rapamycin, illetve rapamycin + egyéb metabolikus inhibitor kombinációkat, amelyek vizsgálataink szerint igen sikeresek.

A dolgozatban bemutatott eredmények, és azok a vizsgálatok, amelyek a metabolikus támadáspontú kezelések potenciális tumorellenes hatásaira mutattak példákat jól szemléltetik azt a nézetet, amely szerint a daganatok heterogenitását, a nem daganatos és daganatos sejtek sokszintű szimbiózisát és szabályozott rendszerét megzavarva hogyan támogatható a jelenlegi kezelések sikere.

V. Eredeti megfigyelések, eredmények összefoglalása

1. *Mevastatin és immunszuppresszív (mycophenosav és rapalóg) kezelések apoptotikus, proliferáció gátló hatásainak jellemezése lymphoma, leukémia sejtekben*

- Elsőként igazoltuk és jellemeztük a mevastatin myeloma sejtek proliferációját gátló és apoptózis indukáló hatásait.
- Mycophenolsav (mycophenolát mofetil) dózis- és időfüggő proliferáció gátló és apoptózis indukáló hatását jellemeztük lymphomákban *in vitro* és *in vivo*.
- A rapalógok hatásait tesztelve a legszélesebb körben, a legkülönbözőbb daganatsejtvonalakban, xenograftokban jellemeztük a rapalógok, mTOR kináz gátlók pozitív, terápiás érzékenyítő hatásait (pl. EGRF inhibitor, ciszplatin vagy temozolomide érzékenyítő hatások)

2. *Az immunszuppresszió tumorigenikus hatásának megerősítése hazai esetek vizsgálatával*

- A hazai vesetranszplantáció első 35 évének budapesti tapasztalatait összegyűjtve elemeztük vesetranszplantációkat követően kialakult különböző tumorerőviszálását és incidenciáját.
- Igazoltuk az mTORC2 hiperaktivitás emelkedését és szignifikánsan magasabb mértékét poszttranszplantációs vesedaganatokban. Ezzel összefüggésben a tacrolimus mTOR és mTORC2 aktivitás fokozó hatásait igazoltuk *in vitro* és *in vivo* ischaemiás modellekben, illetve ennek vesecarcinoma sejtek potenciális proliferáció fokozó hatásait támasztottuk alá.

3. *A Notch expresszió és aktivitás változás jelentősége leukémia és lymphoma sejtek proliferációjában, túlélésében*

- NHL és CLL sejtek esetében ugyan nem, de humán Hodgkin lymphomákban jelentős konstitutív NOTCH1 szignálaktivitást igazoltunk, mint potenciális rapamycin + gamma-szekretáz inhibitor (DAPT) target.

4. *TGF β indukált apoptózis, TGF β rezisztencia háttere és TGF β érzékenyítés lehetőségének vizsgálata leukémia és lymphoma sejtekben*

- A TGF β indukált apoptózis mechanizmusában elsőként igazoltuk az alternatív, Smad független jelátviteli útvonal, azon belül a PP2A aktiváció és ezzel összefüggésben a MAPK kináz útvonal, illetve a PI3K/Akt/mTOR útvonal gátlásának szerepét.

- Jellemeztük az mTOR aktivitás gátlás, a rapamycin TGF β szenzitizáló hatását lymphomákban. Utóbbi a rapamycin lymphomák növekedését negatívan befolyásoló hatásaira, a normál negatív szabályozó hatások helyreállításának lehetőségére hívta fel a figyelmet.

5. Az mTOR aktivitás változások tumornövekedést segítő daganatbiológiai szerepének igazolása

- Lymphomák és leukémiák mTOR aktivitásának jellemzésében egyértelműen igazoltuk, hogy:
 - A mitotikus sejtekben a riboszómális S6 kináz és a riboszómális S6 fehérje foszfoprotein szintje is jelentősen megnő.
 - A különböző lymphoma típusok és a gyermekkori akut lymphoid leukémiák mTOR aktivitásában a magasabb mTOR aktivitás, illetve mTORC2 aktivitás rossz prognózissal függ össze.
 - A rosszabb prognózisú nem centrum germinatívum (non GC) diffúz nagy B sejt lymphomák magas mTORC2 aktivitása, illetve a jobb prognózisú HL-ák mTORC1 aktivitása jellemző és a sejtek mTOR inhibitor érzékenységgel is összefügg.
 - A diagnóziskor várható progresszió megítélésében az mTOR aktivitás mértéke, illetve azzal összefüggésben egyes miRNS-ek expressziós különbségei (pl. miR128b) is felhasználhatók gyermekkori akut lymphoid leukémiákban.
- Számos szolid daganattípusban a Rictor (mTORC2 komplex vázfehérje), illetve az emelkedett p-Ser473-Akt fehérje mennyisége (mTORC1 target fehérje) összefüggést mutatott a rossz prognózissal, metasztázisok vagy akár agyi metasztázisok megjelenésével a tumorok típusától függően:
 - mTORC2 komplex aktivitás, Rictor overexpresszió szignifikáns összefüggését igazoltuk a rossz prognózissal humán colonicarcinomák esetében.
 - Kimutattuk, hogy primer tüdő adenocarcinomák és agyi metasztázisaik esetében a magas p-mTOR H-score, illetve magas Rictor H-score (azaz mTORC2 aktivitás) az agyi metasztázisokra jellemzőbb, illetve a később metasztázist adó primer daganatokban is szignifikánsan magasabb.
 - A Rictor amplifikáció kissejtes tüdődaganatokban jó összefüggést mutatott az esetek magas mTORC2 aktivitását jelző, in situ emelkedett Rictor és p-Ser473-Akt expresszióval

- A ritka malignus tüdő elváltozásokban, a lymphangioliomyomatosisokban az esetek közel felében igazoltuk az mTORC2 aktivitás megjelenését, ez összefügghet a betegség progressziójával, a rapalóg rezisztenciával.
- További daganatokban (emlődaganatok, sarcomák, gliomák, medulloblastomák, GIST-ek, stb.) is kimutattuk az mTOR aktivitás változásokat, így az emelkedett mTORC2 aktivitás progressziós jelentőségét.
- mTOR aktivitás változásokkal összefüggésben számos daganattípusban egyes jellegzetes metabolikus változásokat mutattunk ki:
 - Igazoltuk a LAM sejtek mTORC2 aktivitással összefüggő glutamin- és acetáthasznosítási lehetőségét
 - Az IDH mutáció metabolikus következményeinek vizsgálata közben igazoltuk az mTOR aktivitás szerepét nemcsak a laktát, hanem a 2-HG onkometabolit termelésben
 - Elsőként jellemeztük a gliomák speciális glutamin és GABA oxidációs képességeit ezzel összefüggő emelkedett SSADH expresszióját, illetve a GABA hasznosítás proliferáció fokozó hatásait

6. Az mTOR aktivitás és a szöveti metabolikus adaptáció térképezése gliomákban és emlődaganatokban, illetve más tumorszövetekben (LAM, rhabdomyosarcoma)

- Humán gliomák metabolikus plaszticitásának vizsgálatában:
 - A temozolomide rezisztencia, egyes metabolikus gátlószerek, így pl. mTOR gátlók jellegzetes metabolikus változásait jellemeztük glioma sejtvonalakban.
 - Többféle metabolikus gátlószer + temozolomide és/vagy rapamycin kombinációinak proliferáció gátló hatásait tesztelve kimutattuk, hogy a metabolikus alkalmazkodás gátlása hatásos tumor növekedés gátló glioma sejtekben.
- Gyermekkori rhabdomyosarcomákban igazoltuk az in situ magas mTORC2 aktivitás jelenlétét és ezzel párhuzamosan a Warburg-effektus, illetve alternatív metabolikus szubsztrát hasznosítás elemeként a potenciális glutaminhasznosítás szerepét.
- Emlőcarcinomákban meghatároztuk azokat a szöveti markereket (p-S6, Rictor, p-mTOR, LDHA, GLS, CPT1A, FASN), amelyekkel nemcsak a szövetek in situ mTOR aktivitása, hanem a metabolikus adaptációban szerephez jutó metabolikus folyamatok elérhetősége, az in situ metabolikus

heterogenitás is jellemezhető. Előbbiekkel jellemezve az emlődaganatokat egyértelműen igazoltuk, hogy:

- A Warburg fenotípus inkább a HR- daganatok, illetve a rosszabb prognózisú Her2+ és TN daganatok jellemzője.
- A lipid anyagcsere CPT1A és FASN enzimeit gyakran párhuzamosan magasán expresszálódhatnak a daganatsejtekben, ami gyors alkalmazkodásra ad lehetőséget a lipidoxidáció és a zsírsav szintézis váltásában.
- A magas p-S6 expresszió, mTORC1 aktivitás és a magas metabolikus plaszticitás (magas mTOR aktivitás mellett még további két metabolikus marker expressziójának emelkedése) összefügg a rosszabb prognózissal

7. Gliomákban, emlőcarcinoma illetve egyéb más sejtvonalakban a bioenergetikai alkalmazkodást gátló kezelések tumornövekedés gátló hatását igazoltuk

- Gliomák esetében igazoltuk az mTOR inhibitorok, illetve egyéb metabolikus gátlók között a doxycycline temozolimide érzékenyítő hatásait; elsőként mutattuk ki, hogy a rapamycin+doxycycline, illetve a doxycycline+temozolimide szignifikánsan csökkenti a túlélését, gátolja a proliferációját a glioma sejteknek *in vitro*.
- Adataink alapján a rapamycin+doxycycline kezelés a vizsgált több mint 20 különböző tumorsejtvonal 2/3-ában legalább 50%-kal csökkentette a tumornövekedést.
- Doxorubicinnel összehasonlítva, a rapamycin és doxycycline kombinációk is rendkívül hatásosnak bizonyultak különböző emlőcarcinoma sejtvonal modellekben *in vitro* és *in vivo*.

8. Élő sejtek nyomtatására alkalmas, megfelelő infrastruktúra és szövettenyésztési körülmények kialakítása

- Emlőcarcinoma biotinta recepteket, nyomtatási és tenyésztési protokollokat dolgoztunk ki; az első nyomtatott struktúrák *in vivo* tumorképző képességét xenograft modellekben igazoltuk. Előbbiek segítségével a hagyományos 2D és 3D spheroid tenyészetek metabolikus összehasonlító vizsgálatait – a xenograft modell vizsgálatok mellett – nyomtatott szövetszerű raftok *in vitro* vizsgálatával egészíthetjük ki a jövőben.

VI. Értekezés alapjául szolgáló közlemények

VI.1. A legfontosabb az értekezéshez csatolt nemzetközi közlemények

1. Petővári, G ; Dankó, T ; Tőkés, AM ; Vetlényi, E ; Krencz, I ; Raffay, R ; Hajdu, M ; Sztankovics, D ; Németh, K ; Vellai-Takács, K; Jeney A; Kulka, J ; **Sebestyén A:** In Situ Metabolic Characterisation of Breast Cancer and Its Potential Impact on Therapy
CANCERS 12 : (9) Paper: e2492 (2020) **IF: 6.126** **
2. Felkai, L ; Krencz, I ; Kiss, Dorottya J ; Nagy, N ; Petővári, G ; Dankó, T ; Micsik, T ; Khor, A ; Tornóczky, T ; Sági, Z; **Sebestyén, A#** ; Csóka, M#: Characterization of mTOR Activity and Metabolic Profile in Pediatric Rhabdomyosarcoma
CANCERS 12 : (7) Paper: 1947 , 17 p. (2020) # megosztott levelező szerző **IF: 6.126** **
3. Krencz, I ; **Sebestyén, A** ; Pápay, J ; Lou, Y ; Lutz, G F ; Majewicz, T L ; Khor, A: Correlation between immunohistochemistry and RICTOR fluorescence in situ hybridization amplification in small cell lung carcinoma.
HUMAN PATHOLOGY 93 pp. 74-80. , 7 p. (2019) **IF: 2.735** * Független idéző: 1 Független idéző: 3 Összesen: 4
4. Krencz, I## ; **Sebestyén, A##** ; Pápay, J ; Jeney, A ; Hujber, Z ; Burger, C D ; Keller, C A ; Khor, A: In situ analysis of mTORC1/2 and cellular metabolism–related proteins in human Lymphangioliomyomatosis
HUMAN PATHOLOGY 79 pp. 199-207. , 9 p. (2018) ##megosztott elsőszerzők **IF: 2.74**
Független idéző: 2 Független idéző: 4 Összesen: 6
5. Hujber, Z; Horváth, G ; Petővári, G ; Krencz, I ; Dankó, T ; Mészáros, K ; Rajnai, H; Szoboszlai, N ;Leenders, WPJ ; Jeney, A ; **Sebestyén A:** GABA, glutamine, glutamate oxidation and succinic semialdehyde dehydrogenase expression in human gliomas
JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL CANCER RESEARCH 37 : (1) Paper: 271 , 12 p. (2018) **IF: 5.646** Független idéző: 3 Összesen: 3
6. Petővári, G. ; Hujber, Z. ; Krencz, I. ; Dankó, T. ; Nagy, N. ; Tóth, F. ; Raffay, R. ; Mészáros, K. ; Rajnai, H. ; Vetlényi, E. ; Takács-Vellai K ;Jeney, A ; **Sebestyén , A:** Targeting cellular metabolism using rapamycin and/or doxycycline enhances anti-tumour effects in human glioma cells
CANCER CELL INTERNATIONAL 18 : (1) Paper: 211 , 17 p. (2018) **IF: 3.439** Független idéző: 3 Független idéző: 1 Összesen: 4
7. Sticz, T ; Molnár, A ; Márk, Á ; Hajdu, M ; Nagy, N ; Végső, G ; Micsik, T ; Kopper, L ; **Sebestyén, A:** mTOR activity and its prognostic significance in human colorectal carcinoma depending on C1 and C2 complex-related protein expression.
JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY 70 : (5) pp. 410-416. , 7 p. (2017) **IF: 2.894**
Független idéző: 11 Független idéző: 3 Összesen: 14
8. Hujber, Z ; Petővári, G ; Szoboszlai, N; Dankó, T; Nagy, N; Kriston, C; Krencz, I ; Paku, S ; Ozohanics, O ; Drahos, Jeney. A ; **Sebestyén A:** Rapamycin (mTORC1 inhibitor) reduces the production of lactate and 2-hydroxyglutarate oncometabolites in IDH1 mutant fibrosarcoma cells

JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL CANCER RESEARCH 36 : (1) Paper: 74 , 12 p. (2017) **IF: 6.217** Független idéző: 4 Független idéző: 3 Összesen: 7

9.Krencz, I ; **Sebestyén, A** ; Fábrián, K ; Márk, Á ; Moldvay, J ; Khor, A ; Kopper, L ; Pápay, J: Expression of mTORC1/2-related proteins in primary and brain metastatic lung adenocarcinoma.

HUMAN PATHOLOGY 62 pp. 66-73. , 8 p. (2017) **IF: 3.125** Független idéző: 7 Független idéző: 6 Összesen: 13

10.Nagy, N ; Hajdu, M ; Márk, Á ; Király, PA ; Tóth, M ; Dankó, T ; Csóka, M ; **Sebestyén, A**: Growth inhibitory effect of rapamycin in Hodgkin-lymphoma cell lines characterized by constitutive NOTCH1 activation

TUMOR BIOLOGY 37 : (10) pp. 13695-13704. , 10 p. (2016) **IF: 3.65** Független idéző: 1 Független idéző: 1 Összesen: 2

11.Jeney, A ; Hujber, Z; Szoboszlai, N; Fullár, A ; Oláh, J ; Pap, É; Márk, Á; Kriston, C; Kralovánzsky, J ; Kovalszky, Vékey K, **Sebestyén, A**: Characterisation of bioenergetic pathways and related regulators by multiple assays in human tumour cells

CANCER CELL INTERNATIONAL 16 : (1) Paper: 4 , 10 p. (2016) **IF: 2.74** Független idéző: 1 Független idéző: 3 Összesen: 4

12.**Sebestyén, A** ; Márk, A ; Hajdu, M ; Nagy, N ; Molnár, A ; Végső, G ; Barna, G ; Kopper, L: Rapamycin can restore the negative regulatory function of transforming growth factor beta 1 in high grade lymphomas

CYTOKINE 73 : (2) pp. 219-224. , 6 p. (2015) **IF: 2.94** Független idéző: 6 Független idéző: 3 Összesen: 9

13.Nemes, K ; Csóka, M ; Nagy, N ; Márk, Á ; Váradi, Zs; Dankó T ; Kovács , G ; Kopper , L; **Sebestyén, A**: Expression of certain leukemia/lymphoma related microRNAs and its correlation with prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 21 : (3) pp. 597-604. , 8 p. (2015) **IF: 1.94** Független idéző: 28 Független idéző: 1 Összesen: 29

14.Márk, Á ; Hajdu, M ; Váradi, Z ; Sticz, TB ; Nagy, N ; Csomor, J ; Berczi, L ; Varga, V ; Csóka, M ; Kopper, L, **Sebestyén, A**: Characteristic mTOR activity in Hodgkin-lymphomas offers a potential therapeutic target in high risk disease - a combined tissue microarray, in vitro and in vivo study.

BMC CANCER 13 Paper: 250 , 12 p. (2013) **IF: 3.319** Független idéző: 19 Független idéző: 3 Összesen: 22

15.Nemes, K## ; **Sebestyén, A##** ; Márk, Á ; Hajdu, M ; Kenessey, I ; Sticz, T ; Nagy, E ; Barna, G ; Váradi, Z ; Kovács, G; Csóka, M.: Mammalian target of rapamycin (mTOR) activity dependent phospho-protein expression in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL).

PLOS ONE 8 : (4) Paper: e59335 , 11 p. (2013) ##megosztott elsőszerzők **IF: 3.534** Független idéző: 15 Független idéző: 2 Összesen: 17

16.**Sebestyén, A**; Sticz, TB ; Márk, Á ; Hajdu, M ; Timár, B ; Nemes, K ; Nagy, N ; Váradi, Z ; Kopper, L: Activity and complexes of mTOR in diffuse large B-cell lymphomas-a tissue microarray study.

MODERN PATHOLOGY 25 : (12) pp. 1623-1628. , 6 p. (2012) **IF: 5.253** Független idéző: 7
Függő idéző: 8 Összesen: 15

17.Egervári, G ; Márk, Á ; Hajdu, M ; Barna, G ; Sápi, Z ; Krenács, T ; Kopper, L ;
Sebestyén, A: Mitotic lymphoma cells are characterized by high expression of
phosphorylated ribosomal S6 protein

HISTOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY 135 : (4) pp. 409-417. , 9 p. (2011) **IF: 2.588**
Független idéző: 4 Függő idéző: 1 Összesen: 5

18.Végső, G ; Hajdu, M ; **Sebestyén, A:** Lymphoproliferative Disorders After Solid Organ
Transplantation-Classification, Incidence, Risk Factors, Early Detection and Treatment
Options

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 17 : (3) pp. 443-454. , 12 p. (2011) **IF:**
1.366 Független idéző: 75 Összesen: 75

19.Végső, G ; **Sebestyén, A**#; Paku, S ; Barna, G ; Hajdu, M ; Tóth, M ; Járay, J ; Kopper, L:
Antiproliferative and apoptotic effects of mycophenolic acid in human B-cell non-Hodgkin
lymphomas.

LEUKEMIA RESEARCH 31 : (7) pp. 1003-1008. , 6 p. (2007) #levelező szerző **IF: 2.561**
Független idéző: 37 Függő idéző: 3 Összesen: 40

20.Hajdu, M ; **Sebestyén, A** ; Barna, G ; Reiniger, L ; Jánosi, J ; Sréter, L ; Várkonyi, J ;
Demeter, J ; Kopper, L: Activity of the notch-signaling pathway in circulating human chronic
lymphocytic leukemia cells

SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY 65 : (3) pp. 271-275. , 5 p. (2007) **IF:**
1.928 Független idéző: 14 Függő idéző: 1 Összesen: 15

21.**Sebestyén, A** ; Hajdu, M ; Kiss, L ; Barna, G ; Kopper, L: Smad4-independent, PP2A-
dependent apoptotic effect of exogenous transforming growth factor beta 1 in lymphoma cells
EXPERIMENTAL CELL RESEARCH 313 : (15) pp. 3167-3174. , 8 p. (2007) **IF: 3.695**
Független idéző: 10 Függő idéző: 1 Összesen: 11

22.**Sebestyén, A**; Barna, G ; Nagy, K ; Jánosi, J ; Paku, S ; Kohut, E ; Bercezi, L ; Mihalik, R ;
Kopper, L: Smad signal and TGF beta induced apoptosis in human lymphoma cells
CYTOKINE 30 : (5) pp. 228-235. , 8 p. (2005) **IF: 2.012** Független idéző: 20 Függő idéző: 3
Összesen: 23

23.Jánosi, J ; **Sebestyén, A** ; Bocsi, J ; Barna, G ; Nagy, K ; Vályi, Nagy I ; Kopper, L:
Mevastatin-induced apoptosis and growth suppression in U266 myeloma cells

ANTICANCER RESEARCH 24 : (3A) pp. 1817-1822. , 6 p. (2004) **IF: 1.395** Független
idéző: 23 Összesen: 23

24.Tóth, A ; **Sebestyén, A** ; Barna, G ; Nagy, K ; Göndör, A ; Bocsi, J ; Mihalik, R ; Peták, I
; Houghton, J ; Kopper, L: TGF beta 1 induces caspase-dependent but death-receptor
independent apoptosis in lymphoid cells

ANTICANCER RESEARCH 21 : (2A) pp. 1207-1212. , 6 p. (2001) **IF: 1.416** Független
idéző: 14 Függő idéző: 7 Összesen: 21

***Fenti közlemények összesített impakt faktora 79,385 összesített idézettsége 362
Független idézettsége 305***

VI.2. Az értekezéshez témájához kapcsolódó egyéb, nem csatolt fontos nemzetközi közlemények

Sarkadi, B ; Mészáros, K ; Krencz, I ; Canu, L ; Krokker, L ; Zakarias, S ; Barna, G ; **Sebestyén, A** ; Pápay, J ; Hujber, Z ; Butz, H ; Darvasi, O ; Igaz, P ; Chinopoulos, C ; Patócs, A: Glutaminases as a Novel Target for SDHB-Associated Pheochromocytomas

/Paragangliomas

CANCERS 12 : (3) Paper: 599 , 25 p. (2020) **IF: 6.126** **

Saskó, É ; Hujber, Z ; Nyíró, G ; Likó, I ; Mátyási, B ; Petővári, G ; Mészáros, K ; Kovács, A ; Patthy, L ; Supekar, S ; Fan, H ; Sváb, G ; Tretter, L ; **Sebestyén, A** ; Patócs, A ; Mehta, A ; Vellai-Takács K: The SDHB Arg230His mutation causing familial paraganglioma alters glycolysis in a new Caenorhabditis elegans model

DISEASE MODELS & MECHANISMS 13 : (10) Paper: dmm0444925 (2020) **IF: 4.651** **

Petővári, G ; Dankó, T ; Krencz, I ; Hujber, Z ; Rajnai, H ; Vetlényi, E ; Raffay, R ; Pápay, J ; Jeney, A ; **Sebestyén, A**: Inhibition of Metabolic Shift can Decrease Therapy Resistance in Human High-Grade Glioma Cells.

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 26 : (1) pp. 23-33. , 11 p. (2020) **IF: 2.826**

** Független idéző: 3 Fügő idéző: 1 Összesen: 4

Misra, S ; Moro, C F ; Del Chiaro, M ; Pouso, S ; **Sebestyén, A** ; Löhr, M ; Björnstedt, M ; Verbeke, C S: Ex vivo organotypic culture system of precision-cut slices of human pancreatic ductal adenocarcinoma.

SCIENTIFIC REPORTS 9 : (1) p. 2133 (2019) **IF: 3.998** * Független idéző: 11 Fügő idéző: 1 Összesen: 12

Sticz, T ; Molnár, A ; Dankó, T ; Hujber, Z ; Petővári, G ; Nagy, N ; Végső, G ; Kopper, L ; Sebestyén, A: The Effects of Different mTOR Inhibitors in EGFR Inhibitor Resistant Colon Carcinoma Cells

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 25 : (4) pp. 1379-1386. , 8 p. (2019) **IF: 2.826** * Független idéző: 2 Fügő idéző: 1 Összesen: 3

Valcz, G ; Buzás, E I ; Kittel, Á ; Krenács, T ; Visnovitz, T ; Spisák, S ; Török, Gy ; Homolya, L ; Zsigrai, S ; Kiszler, G ; Antalffy, G ; Pálóczi, K ; Szállási, Z ; Szabó, V ; **Sebestyén, A** ; Solymosi, N ; Kalmár, A ; Dede, K ; Lőrincz, P ; Tulassay, Z ; Igaz, P ; Molnár, B: En bloc release of MVB-like small extracellular vesicle clusters by colorectal carcinoma cells

JOURNAL OF EXTRACELLULAR VESICLES 8 : (1) Paper: 1596668 , 9 p. (2019) **IF: 14.976** * Független idéző: 3 Fügő idéző: 1 Összesen: 4

Marosvári, D ; Nagy, N ; Kriston, C ; Deák, B ; Hajdu, M ; Bödör, C ; Csala, I ; Bagó, AG ; Szállási, Z ; **Sebestyén, A** ; Reiniger, L: Discrepancy Between Low Levels of mTOR Activity and High Levels of P-S6 in Primary Central Nervous System Lymphoma May Be Explained by PASDomain-Containing Serine/Threonine-Protein Kinase-Mediated Phosphorylation.

JOURNAL OF NEUROPATHOLOGY AND EXPERIMENTAL NEUROLOGY 77 : (4) pp. 268-273. , 6 p. (2018) **IF: 3.46** Független idéző: 1 Fügő idéző: 1 Összesen: 2

Mikó, E ; Vida, A ; Kovács, T ; Ujlaki, Gy ; Trencsényi, Gy ; Márton, J ; Sári, Zs ; Kovács, P ; Boratkó, A ; Hujber, Z ; Csonka, T ; Antal-Szalmási, P ; Watanabe, M ; Gombos, I ; Csóka, B ;

Kiss B; Víg L; Szabó J; Méhes G, **Sebestyén A**; Goedert JJ, Bai P.: Lithocholic acid, a bacterial metabolite reduces breast cancer cell proliferation and aggressiveness
 BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-BIOENERGETICS 1859 : (9) pp. 958-974. , 17 p.
 (2018) **IF: 4.441** Független idéző: 17 Fügő idéző: 13 Összesen: 30

Nagy, AM ; Fekete, R ; Horváth, G ; Koncsos, G ; Kriston, C ; **Sebestyén, A** ; Giricz, Z ; Környei, Z ; Madarász, E ; Tretter, L: Versatility of microglial bioenergetic machinery under starving conditions
 BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-BIOENERGETICS 1859 : (3) pp. 201-214. , 14 p.
 (2018) **IF: 4.441** Független idéző: 8 Fügő idéző: 2 Összesen: 10

Rajnai, H ; Heyning, FH ; Koens, L ; **Sebestyén, A** ; Andrikovics, H ; Hogendoorn, PCW ; Matolcsy, A ; Szepesi, Á: The density of CD8+ T-cell infiltration and expression of BCL2 predicts outcome of primary diffuse large B-cell lymphoma of bone
 VIRCHOWS ARCHIV 464 : (2) pp. 229-239. , 11 p. (2014) **IF: 2.651** Független idéző: 9 Fügő idéző: 3 Összesen: 12

Pócza, T ; **Sebestyén, A** ; Turányi, E ; Krenács, T ; Márk, Á ; Sticz, TB ; Jakab, Z ; Hauser, P: mTOR Pathway As a Potential Target In a Subset of Human Medulloblastoma.
 PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 20 : (4) pp. 893-900. , 8 p. (2014) **IF: 1.855**
 Független idéző: 7 Összesen: 7

Sápi, Z ; Füle, T ; Hajdu, M ; Matolcsy, A ; Moskovszky, L ; Márk, Á ; **Sebestyén, A** ; Bodoky, G : The activated targets of mTOR signaling pathway are characteristic for PDGFRA mutant and wild-type rather than KIT mutant GISTs.
 DIAGNOSTIC MOLECULAR PATHOLOGY 20 : (1) pp. 22-33. , 12 p. (2011) **IF: 2.257**
 Független idéző: 22 Fügő idéző: 1 Összesen: 23

Kohut, E ; Hajdu, M ; Gergely, P ; Gopcsa, L ; Kilián, K ; Pálóczi, K ; Kopper, L ; **Sebestyén, A**: Expression of TGF beta 1 and Its Signaling Components by Peripheral Lymphocytes in Systemic Lupus Erythematosus
 PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 15 : (2) pp. 251-256. , 6 p. (2009) **IF: 1.152**
 Független idéző: 12 Összesen: 12

Hajdu, M ; Kopper, L ; **Sebestyén, A**: Notch-Regulation upon Dll4-Stimulation of TGFb-Induced Apoptosis and Gene Expression in Human B-Cell Non-Hodgkin Lymphomas
 SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY 71 : (1) pp. 29-37. , 9 p. (2010) **IF: 1.935**
 Független idéző: 7 Összesen: 7

Barna, G ; **Sebestyén, A** ; Chinopoulos, CC ; Nagy, K ; Mihalik, R ; Paku, S ; Kopper, L: TGF beta 1 kills lymphoma cells using mitochondrial apoptotic pathway with the help of caspase-8
 ANTICANCER RESEARCH 22 : (6) pp. 3867-3872. , 6 p. (2002) **IF: 1.447** Független idéző: 11 Fügő idéző: 4 Összesen: 15

Peták, I ; Mihalik, R* ; Bauer, PI ; Süli-Vargha, H ; **Sebestyén, A** ; Kopper, L: BCNU is a caspase-mediated inhibitor of drug-induced apoptosis
 CANCER RESEARCH 58 : (4) pp. 614-618. , 5 p. (1998) **IF: 8.37** Független idéző: 23 Fügő idéző: 8 Összesen: 31

VI.3. Az értekezés témájához kapcsolódó, nem csatolt egyéb összefoglaló és magyarnyelvű közlemények, könyvfejezetek

Valcz, G; Buzás, E I.; **Sebestyén, A**; Krenács, T ; Szállási, Z ; Igaz, P ; Molnár, B:
Extracellular Vesicle-Based Communication May Contribute to the Co-Evolution of Cancer Stem Cells and Cancer-Associated Fibroblasts in Anti-Cancer Therapy
CANCERS 12 : (8) Paper: 2324 , 16 p. (2020) **IF: 6.126** ** Független idéző: 1 Összesen: 1

Krencz, I; **Sebestyén, A** ; Khor, A: mTOR in Lung Neoplasms.
PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 26: (1) pp. 35-48., 14 p. (2020) **IF: 2.826****

Timár, J; Lapis, K ; Dudás, J ; **Sebestyén, A** ; Kopper, L ; Kovalszky, I: Proteoglycans and tumor progression: Janus-faced molecules with contradictory functions in cancer
SEMINARS IN CANCER BIOLOGY 12 : (3) pp. 173-186. , 14 p. (2002) **IF: 5.685**
Független idéző: 88 Független idéző: 11 Összesen: 99

Mátyási, B ; Farkas, Zs ; Kopper, L ; **Sebestyén, A** ; Boissan, M ; Mehta, A ; Takács-Vellai, K : The Function of NM23-H1/NME1 and Its Homologs in Major Processes Linked to Metastasis
PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 26 : (1) pp. 49-61. , 13 p. (2020) **IF: 2.826**
** Független idéző: 3 Összesen: 3

Sebestyén, A ; Kopper, L: A mammalian target of rapamycin (mTOR) és gátlóinak szabályozó szerepe, mellékhatásaik
ORVOSTOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE 21 : (Augusztusi különszám) pp. 5-13. , 9 p. (2014)

Sebestyén, A ; Hujber, Z ; Jeney, A ; Kopper, L: Tumormetabolizmus
KLINIKAI ONKOLÓGIA 3 : (2) pp. 127-134. , 8 p. (2016)

Végső, Gy; **Sebestyén, A** ; Járay, J ; Kopper, L: Rosszindulatú daganatok a szervátültetést követő immunszupprimált állapotban. Malignant tumors in the immunocompromised state following organ transplantation
ORVOSKÉPZÉS 81 : (3) pp. 235-242. , 8 p. (2006)
Független idéző: 1 Összesen: 1

Kopper, L ; **Sebestyén, A**: Rezisztencia és/vagy progresszió - csőd vagy csak megtorpanás?
KLINIKAI ONKOLÓGIA 1 : (1) pp. 41-47. , 7 p. (2014)

Hujber, Z ; Jeney, A ; Oláh, J ; Szoboszlai, N ; Baranyai, L ; Környei, J ; Petővári, G ; **Sebestyén, A**: A bioenergetikai profil vizsgálata 14C-glükóz és 14C-acetát oxidációjának összehasonlításával tumorsejtekben és tumoros szervezetben
MAGYAR ONKOLÓGIA 59 : (4) pp. 292-301. , 10 p. (2015)

Jánosi, J; **Sebestyén, A** ; Mikala, G ; Pető, M ; Jákó, J ; Domján, Gy ; Németh, J ; Kis, Z ; Kopper, L ; Vályi-Nagy, I: Szolúbilis syndecan-1-(CD 138)-koncentráció plazmasejt-dyscrasiákban. Soluble syndecan-1 levels in different plasma cell dyscrasias
ORVOSI HETILAP 146 : (4) pp. 165-168. , 4 p. (2005) Független idéző: 2 Összesen: 2

Jánosi, J ; **Sebestyén, A** ; Bocsi, J ; Barna, G ; Nagy, K ; Vályi-Nagy, I ; Kopper, L: Apoptózis indukálása mevastatinnal humán U266 myeloma sejtvonalon
MAGYAR ONKOLÓGIA 48 : (4) pp. 333-337. , 5 p. (2004) Független idéző: 2 Összesen: 2

könyvfejezetek

Sebestyén, A

Metabolizmus - metabolom

In: Kopper, L; Tímár, J; Becságh, P; Nagy, Z (szerk.) Célzott diagnosztika és célzott terápia az onkológiában 4. [4. átd., bőv. kiad.]

Budapest, Magyarország : Semmelweis Kiadó, (2015) pp. 62-63. , 2 p.

Sebestyén, A ; Dankó, T

A sejttenyésztés alapjai, lehetőségei és kihívásai

In: Krenács, Tibor; Bödör, Csaba; Matolcsy, András (szerk.) Patológiai és molekuláris onkodiagnosztikai módszerek : Kézikönyv patológusoknak, kutatóknak, analitikusoknak, asszisztenseknek és a társszakmák képviselőinek

Budapest, Magyarország : Medicina Könyvkiadó Zrt., (2021) pp. 253-263. , 11 p.

Sebestyén, A ; Sipos, M ; Krenács, T

Speciális, in situ fehérjekimutatási módszerek

In: Krenács, Tibor; Bödör, Csaba; Matolcsy, András (szerk.) Patológiai és molekuláris onkodiagnosztikai módszerek : Kézikönyv patológusoknak, kutatóknak, analitikusoknak, asszisztenseknek és a társszakmák képviselőinek

Budapest, Magyarország : Medicina Könyvkiadó Zrt., (2021) pp. 219-226. , 8 p.

Sebestyén Anna

B-sejtek és az apoptózis

In: Kopper, L; Fésűs, L (szerk.) Apoptózis

Budapest, Magyarország : Medicina Könyvkiadó Zrt., (2002) pp. 207-237. , 31 p.

Könyvrészlet/Szaktanulmány/Tudományos

VII Tudományometriai adatok az MTMT2 alapján

Sebestyén Anna tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2020.11.25)

Tudományos és oktatási közlemények	Szám		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Folyóiratcikk²	84	---	---	---
szakcikk nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	60	592	707
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	0	0	0
szakcikk, magyar nyelvű	---	10	6	6
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként ³	---	0	0	0
összefoglaló közlemény	---	12	172	185
rövid közlemény	---	2	56	60
II. Könyv	0	---	---	---
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
III. Könyvrészlet	4	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	4	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	0	0	0
IV. Konferenciaközlemény⁴	0	---	0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)	---	0	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV.)	---	88	826	958
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	88	---	826	958
V. További tudományos művek	1	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkek és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkek is	---	0	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	1	6	7
Ótalmak, szabadalmak	---	0	0	0
VI. Hivatkozott absztraktok⁵	0	---	0	0
Összes hivatkozás¹	---	---	832	965
Hirsch index⁶	19	---	---	---
g index⁶	28	---	---	---
Speciális tudományometriai adatok	Száma	Összes hivatkozás		
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	16	208		
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	21	210		
A tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (1998) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	75	856		
Az utolsó 10 év (2010 - 2020) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	47	402		
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	99	10,26%		
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	---	20		
Jelentés, guideline	0	0		
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	0	0		

VIII. A tézisek rövid összefoglalása

A legkülönbözőbb daganatokban jelent problémát a terápia sikertelensége, a rezisztencia megjelenése, amelynek fontos tényezője a jelátviteli hálózatok folyamataiban bekövetkező aktivitásváltozások sorozata. A legtöbb daganat esetében kimutatható, hogy jelátviteli zavarok, driver mutációk következményeként PI3K/Akt/mTOR hiperaktivitás jelenik meg.

Munkacsoportunk a két elemeiben és inhibitor érzékenységében is különböző mTOR komplex aktivitás különbségeinek karakterizálásában végzett úttörő munkát; az általunk beállított immunhisztokémiai festésekkel végzik ezt a karakterizálást mára a legtöbb helyen. Az mTOR hiperaktivitás különbségek nemcsak az mTOR inhibitor érzékenység, hanem a daganatok progressziója szempontjából is fontosak. Adott tumorokban az esetek között megfigyelhető magasabb mTOR aktivitás, illetve az mTORC2 komplex jelenléte és aktivitása a rosszabb prognózis jele. Ezeket az összefüggéseket lymphomák, leukémiák, coloncanceromák, egyes tüdődaganatok, emlőcarcinomák, gliomák, vesedaganatok és rhabdomyosarcomák esetében is elsők között igazoltuk. Felhívtuk a figyelmet arra is, hogy az mTOR aktivitás gátlása a normál negatív szabályozók hatásaival szemben újra érzékennyé teheti a daganatsejteket (TGF β és Notch inhibitor érzékenyítés). Kombinált mTOR inhibitorok alkalmazásával pedig felfüggeszthetővé válhatnak a rezisztencia mechanizmusok célzott (pl. az EGFR inhibitor) vagy kemoterápiás kezelésekben (pl. ciszplatin, temozolomide). Az inhibitorok megválasztásában azonban figyelembe kell venni az adott daganattípus mTOR aktivitás profilját, mivel a rapalógok mTORC2 hiperaktivitás mellett hatástalanok lehetnek.

Az mTOR kináz szabályozó szerepének metabolikus hatásait vizsgálva, a daganatszövetek mTOR hiperaktivitásával összefüggésben olyan metabolikus jellegzetességek megjelenését is igazoltuk szöveti szinten, amelyek a daganatsejtek túlélését, kezelésekkal szembeni rezisztenciájának kialakulását segítik. Ezek között számos bioenergetikai, szubsztráthasznosítással, alternatív metabolikus útvonalak aktiválódásával kapcsolatos folyamatot azonosítottunk (mTOR függő onkometabolit termelés; gliomák esetében a GABA hasznosítás és az SSADH overexpresszió; a glutaminhasznosítás, a lipidanyagcsere folyamatok újrendeződésének lehetősége). Eredményeink szerint a különböző metabolikus fenotípusú daganatsejtek nemcsak gliomák, hanem pl. LAM-ok, rhabdomyosarcomák és emlőcarcinomák esetében is fontos metabolikus alkalmazkodási lehetőséget teremtenek a daganatprogresszió során. A legkülönbözőbb daganatokat érintő vizsgálatainkban igazoltuk, hogy a. jellemezhető a metabolikus plaszticitás, a tumorszövet metabolikus heterogenitása; b. a magas mTOR aktivitás, illetve amellett a metabolikus plaszticitás is rossz prognózissal függ össze (pl. emlődaganatokban); c. egyes nem onkológiai készítmények, pl. metabolikus hatású gátlószerke (statinok, etomoxir, antibiotikumok, metformin, stb.), illetve a rapamycin származékok vagy akár más immunszuppresszív kezelések mint mycophenolat mofetil daganatnövekedés gátló hatásúak is lehetnek. Eredményeink között az egyik legérdekesebb terápiás jelentőségű vizsgálatsorozatunk azt is alátámasztotta, hogy eltérő hatású anti-metabolikus kezelések kombinációja (pl. a rapamycin+doxycycline) a legkülönbözőbb daganatok esetében, metabolikus katasztrófát előidézve hatásos tumornövekedést gátló kezelés lehet.

Mindezek alapján az mTOR aktivitások és a metabolikus plaszticitás meghatározása, a metabolikus adaptáció folyamatainak megismerése az adott betegek tumora esetében egyénre szabott kezelési lehetőségeket vethet fel a kialakuló rezisztencia problémák függvényében.

VIII. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Matolcsy András, Kopper László, Szende Béla és Lapis Károly *intézetvezető professzoroknak*, hogy támogatták kutató munkámat.

Korábbi témavezetőmtől és mentoromtól *Kopper László* professzortól, aki végtelen türelemmel és kritikus atyai gondoskodással követi jelenleg is munkámat, tanultam a legtöbbet. Hálásan köszönöm, hogy jó tanácsaival sokáig terelgette érdeklődésemet és mindig külön figyelmet fordított új ötleteinkre.

Köszönöm *Kovalszky Ilona* professzor asszonynak, hogy a molekuláris biológiai módszerekbe és az extracelluláris mátrix biológia kutatásaiba bevezetett és mindig számíthatok támogatására, segítségére. Hálával tartozom *Jeney András* professzor úrnak, aki segítette útkeresésünket a metabolizmus biokémiai útvesztőjében; ötleteivel most is ösztönöz mindennapi kutatási kérdésekben.

Külön köszönettel tartozom *Buzás Edit, Kulka Janina, Tretter László, és Patócs Attila* professzoroknak, illetve *Vellainé-Takács Krisztina és Csóka Mónika* tanárnőknek, hogy együttműködéseinkben, tudományos kérdésekben nyújtottak hozzáértő szakmai segítséget és járultak hozzá ötleteikkel terveinkhez. Hálás vagyok az inspiráló együttműködésért tumormetabolizmus vizsgálatainkban *Michael P. Lisanti és Federica Sotgia* professzoroknak és *Ozsvári Bélának*.

Köszönöm segítségét mindazoknak a patológus és kutató kollégáknak – *Sápi Zoltán, Drahos László, Berczi Lajos, Krenács Tibor, Pápay Judit, Tőkés Annamária, Barna Gábor, Végső Gyula, Szoboszlai Norbert, Mészáros Katalin, Arató Gabriella, Tímár Botond, Rajnai Hajnalka, Micsik Tamás, Fekete Andrea, Bödör Csaba, Mihalik Rudolf* –, akik a különböző daganatok vizsgálataiban segítettek, megteremtve a professzionális patodiagnosztikai kutatási háttérrel és kísérleti/mérési lehetőségeket.

Sosem tudom eléggé megköszönni a mindennapi munkában kapott segítséget és azt a légkört, amit közvetlen kollégáim és a velünk dolgozó PhD és TDK hallgatók teremtenek. Külön hálával gondolok a mindennapi munkában nyújtott támogatására *Bagi Györgyinek és Csorba Gézáné Maricának*, nekik rengeteget köszönhetek. Kiemelném még azokat a hallgatókat, kollégákat akikkel nap mint nap dolgozunk, dolgoztunk fáradhatatlanul munkacsoportunkban, és akiknek nagyon sok odaadó munkát köszönhetek: *Hajdu Melinda, Dankó Titanilla, Petővári Gábor, Krencz Ildikó, Raffay Regina, Márk Ágnes, Nagy Noémi, Felkai Luca, Sztankovics Dániel, Moldvai Dorottya, illetve Sticz Tamás, Hujber Zoltán, Nemes Karolina, Kiss Lilla, Egervári Gábor, Molnár Anna, Tóth Fanni, Sipos Krisztina, Kis Dorottya*. Köszönöm továbbá *Laczik Ceciliának, Tamási Annának, Paulusz Mónikának, Kaminszky Zsuzsának, Oláh Júliának, Kurucz Csillának, Sztodola Andrásnak, Cserneky Máriának, Sándor Alíznek és az intézet valamennyi munkatársának a mindennapi ügyekben nyújtott segítséget.*

És végül, de egyáltalán nem utolsósorban nagy hálával tartozom *férjemnek, édesanyámnak, négy gyermekemnek és apósomnak*, hogy ők is rengeteg áldozatot hoztak, támogattak a mindennapi küzdelmekben és biztosították a nyüzsgő, de mindig biztos családi háttérrel vagy éppen elviselték, hogy nálunk egy kicsit másképp történik minden...

A munkához nyújtott anyagi támogatásért köszönettel tartozom a Magyar Tudományos Akadémia pályázatainak, támogatásainak; az NKFIH-nak és a Semmelweis Egyetemnek is.