

# 1

## MTOR KOMPLEX ÉS METABOLIKUS ENZIM EXPRESSZIÓ KÜLÖNBSÉGEK PROGNOSZTIKAI JELENTŐSÉGÉNEK VIZSGÁLATA HUMÁN EMLŐDAGANATOKBAN

**Petővári Gábor**<sup>1</sup>, Dankó Titanilla<sup>1</sup>, Raffay Regina<sup>1</sup>, Moldvai Dorottya<sup>1</sup>, Sztankovics Dániel<sup>1</sup>,  
Krencz Ildikó<sup>1</sup>, Tőkés Anna Mária<sup>2</sup>, Kulka Janina<sup>2</sup>, Sebestyén Anna<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

<sup>2</sup> Semmelweis Egyetem, Igazságügyi és Biztosítás-orvostani Intézet, Budapest

Az emlődaganatok kezelése sokat fejlődött, a relapszusok és a rossz prognózisú esetek előfordulása azonban új terápiás megközelítéseket igényel. A primer és metasztatikus daganatsejtek fontos jellemzője a metabolikus folyamataik átrendeződése, ezt befolyásolják a genetikai, mikrokörnyezeti változások és a tumorszövet heterogenitás is. A bioenergetikai változások szabályozásában az mTOR aktivitás szerepe jól ismert. Az mTOR és más metabolikus útvonalakat jellemző fehérjék expressziós mintázatát tanulmányoztuk tíz humán emlő carcinoma sejtvonalon és közel száz szövetmintán (Western blot, immunhisztokémia). A sejtvonalakban metabolikus (3BP, BPTES, etomoxir, BMS) és mTOR inhibitorok (rapamycin, PP242, GDC) hatásait is vizsgáltuk. A szövetminták elemzésekor kapott eredményeket és klinikai adatok összefüggéseit is összevetettük. Eredményeink alapján a metabolikus és mTOR gátló monoterápiák szubtípus független mérsékelt antiproliferatív hatást mutattak, mutatva a tumorsejtek metabolikus alkalmazkodását. A sejtvonalakat mTOR aktivitás szerint osztályoztuk (Az SKBR3, MDA MB453 és HS578T - mTORC1; T47D, ZR75.1 és BT474 - mTORC2 aktivitás, a többi esetben kiegyensúlyozott mTOR aktivitás volt jellemző). A humán szövetmintákban a Warburg fenotípusra utaló fehérje expressziós mintázat jellemezte a HER2+ és tripla negatív szubtípusú emlődaganatokat. A szubtípusoktól független összefüggést találtunk a magas mTOR aktivitás és egyszerre több metabolikus út aktivitására utaló (Warburg fenotípus, lipid szintézis és/vagy lebontás, glutaminolízis, OXPHOS) enzimek együttes megjelenése és az emlődaganatos betegek rossz prognózisa között. Munkánkban igazoltuk, hogy az emlődaganatokat jelentős metabolikus intra- és intertumorális heterogenitás jellemzi, amely az antimetabolikus kezelések és a legújabb terápiák kombinálásával célozható meg. Adott betegek esetében a potenciális metabolikuscélpontok kiválasztását segíthetik azok a beállított immunhisztokémiai protokollok, amelyekkel vizsgálatunkban a metabolikus plaszticitást és ennek összefüggését a rosszprognózissal értékeltük.

Támogatás: NKFIH-FK128404, NTP-NFTÖ-21-B-0126

Rövidítések: mTOR - mammalian target of rapamycin, OXPHOS - Oxidative phosphorylation,<sup>3</sup>

BP - 3-bromopyruvate, BPTES - Bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide, BMS - BMS309403, GDC - GDC-0068

**PENTAPEPTID HORDOZÓRENDSZER VIZSGÁLATA BIOLÓGIAI  
GÁTRENDSZEREK TENYÉSZETES MODELLJEIN**

**Gróf Ilona<sup>1</sup>**

Bocsik Alexandra<sup>1</sup>, Szabó Enikő<sup>2</sup>, Imre Norbert<sup>3</sup>, Hegyi Anna<sup>1</sup>, Monostori Éva<sup>2</sup>, Martinek Tamás<sup>3</sup>, Deli Mária<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Szeged

<sup>2</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Szeged

<sup>3</sup>Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, Szeged

A biológiai gátrendszerek számos betegség kezelését megnehezítik, mivel megakadályozzák nagyméretű biofarmakonok terápiás koncentrációban történő bejutását. Ezért a fehérje típusú hatóanyagok célzott bejuttatása az intracelluláris térbe és átvitelük a biológiai gátrendszereken egy aktívan kutatott terület. Kutatócsoportunk korábban kimutatta, hogy a galektin-1-eredetű WYKYW pentapeptid nanomoláris koncentrációban kötődik a sejtek felszínén található GM1 gangliozidhoz, és képes nagyméretű fehérjéket bejuttatni az intracelluláris térbe lipid-raft mediált/ caveoláris endocitózison keresztül, anélkül, hogy a lizoszómákban csapdázódna (Imre és mtsai, 2020). A WYKYW peptid kisméretű, nem károsítja a sejteket, ezáltal megfelelő fehérje hatóanyag hordozó lehet különböző betegségek kezelésében. Mivel nem állnak rendelkezésre adatok arról, hogy a WYKYW alkalmas-e nagyméretű fehérjék sejtekbe juttatására vagy sejtrégeken keresztüli átvitelére, ezért célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a peptid-fehérje komplex bejutását különböző sejtekbe, valamint átjutását a vér-agy gát és különböző epiteliális gátrendszerek tenyészetes modelljein. Kimutattuk, hogy a peptid kezelés nem változtatta meg sem az epitelsejtek, sem az endotelsejtek szoros sejtközötti kapcsolatainak festődési mintázatát, ami arra utal, hogy nem sérült a barrierék szorossága. Mind a peptid-fehérje komplex, mind az önálló fehérje időben növekvő átjutást mutatott minden sejtvonal esetén. Kimutattuk, hogy nem volt különbség a peptid-fehérje komplex és az önálló fehérje sejtrégeken keresztüli átjutásában. Megfigyeltük, hogy a peptid-protein komplex bejutott mind az epitél-, mind az endotelsejtekbe és ott a citoplazmában lokalizálódott. Továbbá igazoltuk, hogy a peptid-fehérje komplex nem kolokalizálódott a lizoszómával és az ER-rel egyik barrier sejtben sem. Eredményeink arra utalnak, hogy a WYKYW pentapeptid alkalmas nagyméretű fehérjék sejtekbe való bejuttatására specifikus endocitotikus útvonalon keresztül, azonban nem fokozza a fehérjék transzcelluláris átjutását.

ER: endoplazmatikus retikulum

### ABCB1 ÉS ABCG2: HASONLÓK VAGY KÜLÖNBÖZŐEK?

Gyöngy Zsuzsanna<sup>1,2</sup>, Tarapcsák Szabolcs<sup>1</sup>, Bársony Orsolya<sup>1</sup>, Szalóki Gábor<sup>1</sup>, Ritter Zsuzsanna<sup>1,2</sup>, Homolya László<sup>3</sup>, Orbán Tamás I.<sup>3</sup>, Szakács Gergely<sup>3,4</sup> és **Goda Katalin**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskola, Debrecen

<sup>3</sup>Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológia Intézet, Budapest

<sup>4</sup>Medical University of Vienna, Institute of Cancer Research, Vienna, Austria

Az ABCB1 és az ABCG2 az ABC fehérjék nagy családjába tartozó elsődlegesen aktív membrán transzporterek, melyek számos gyógyszer farmakokinetikáját befolyásolják, valamint fontos szereplői a daganatok kemoterápia rezisztenciájának. Röntgen krisztallográfiás és krio-EM vizsgálatok alapján a két transzporter fontos szerkezeti különbségeket mutat, mely transzport mechanizmusuk különbözőségét is maga után vonhatja. A membrán transzporterek működését általánosságban leíró "alternating access" modell alapján a transzporterek két alapvető állapot között fluktuálnak: a citoplazma felé nyitott állapotban a szubsztrát kötőhely csak az intracelluláris tér és a membrán belső lemeze felől érhető el a szubsztrátok számára, míg az extracelluláris tér felé nyitott konformációban a szubsztrátok az extracelluláris tér irányába hagyhatják el a kötőhelyet. Szerkezeti vizsgálatok alapján feltételezhető, hogy a transzport folyamat során az ABCB1 esetében ugyanazon szubsztrát kötőhely elérhetősége és szubsztrátok iránti affinitása változik meg, míg az ABCG2 perisztaltikus pumpaként működve préseli át szubsztrátjait az intracelluláris oldalról elérhető kötőzsebből egy másik az extracelluláris oldal felé nyitott alacsony szubsztrát affinitású kötőzsebbe.

Kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy az intracelluláris és az extracelluláris tér felé nyitott konformációs állapotok közötti átmenetek, hogyan kapcsolódnak a nukleotid kötőhelyeken végbemenő ATP kötés és hidrolízis folyamataihoz. A transzporterek konformáció változásait konformáció érzékeny antitestek segítségével vizsgáltuk, míg a fluoreszcens szubsztrátok transzporterekhez való kötődését konfokális mikroszkópos kolokalizációs vizsgálatok és fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia segítségével tanulmányoztuk.

Eredményeink alátámasztják, hogy a két transzporter alapvető szerkezeti különbségei ellenére az intracelluláris tér felé nyitott szubsztrát kötő és az extracelluláris tér felé nyitott kis szubsztrát affinitású konformációk közötti átmenet ATP kötés hatására megy végbe, míg az ATP hidrolízisre a szubsztrát kötő konformáció visszaállításához van szükség.

# 4

## A VÉR-AGY GÁT TRANSPORTEREK SZEREPE AZ AGYI GYÓGYSZERBEJUTÁSBAN

Mészáros Mária<sup>1</sup>, Porkoláb Gergő<sup>1</sup>, Szecskó Anikó<sup>1</sup>, Veszélka Szilvia<sup>1</sup>, **Deli Mária<sup>1</sup>**

1 Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Szeged

Számos neurofarmakon bejuttatása az agyba máig megoldatlan orvosbiológiai kihívást jelent. Az agyi hajszálerek endotélsejtjei több mint negyvenféle Slc szállítófehérje segítségével látják el a központi idegrendszert tápanyagokkal, vitaminokkal, nyomelemekkel és metabolitokkal. Ezeket a karriereket azonban eddig nem aknázták ki célzott agyi gyógyszerbevitelre. Feltártuk a gyógyszerek transzportja szempontjából kulcsfontosságú Slc fehérjék génexpressziós mintázatát izolált agyi mikroerekben és tenyészetes vér-agy gát modellekben. Mivel az Slc transzporterek jelentős mértékben és egyedi mintázatban fejeződnek ki a vér-agy gáton, az Slc transzportfehérjék ligandjainak kombinációjával ellátott szilárd és vezikuláris nanorészecskéket terveztünk, és vizsgáltunk tenyészetes modelleken és állakísérletekben. Kimutattuk, hogy glükóz-analógok, aminosavak, glutation tripeptid, és C-vitamin célzó molekulák megfelelő kettős és hármas kombinációja fokozza a nanorészecskék sejtbejutását, valamint a vér-agy gáton való keresztüljutását in vitro és in vivo. Megállapítottuk, hogy a vezikuláris nanorészecskék esetében a sejtbejutás aktív, metabolikusan gátolható folyamat, ami részben endocitózis, részben pedig membránfúzió révén jön létre. Igazoltuk, hogy az agyi endotélsejt-membrán felszíni negatív töltésének módosítása befolyásolja a nanorészecskék sejtbevételét. Interdiszciplináris együttműködésben kifejlesztettünk egy új eljárást, amivel kimértük a glutation peptid és élő agyi endotélsejtek felszíne közötti erőhatást lézercsipesz és mikromanipulátorok segítségével. Feltártuk, hogy az agyi endotélsejtek mellett a célzott nanorészecskék a neurovaszkuláris egység más sejtjeibe, agyi pericitákba, gliasejtbe, idegsejtbe, valamint humán őssejtből létrehozott agyi organoidokba is bejutnak. Kísérletes eredményeink arra utalnak, hogy a vér-agy gát szállítórendszereinek célzása ígéretes lehet agyi gyógyszerbeviteli platformok kifejlesztése szempontjából.

Slc: solute carrier

## COVID-19 GYÓGYSZEREK ÉS MEMBRÁNTRANSPORTEREK

Sarkadi Balázs<sup>1</sup>, Telbisz Ágnes<sup>1</sup>, Laczka Csilla<sup>1</sup>, Bakos Éva<sup>1</sup>, Ambrus Csilla<sup>2</sup>,

<sup>1</sup> Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest

<sup>2</sup> SOLVO Biotechnológia, Budapest

A COVID-19 betegség megjelenése óta számos kismolekulájú gyógyszer került gyorsított ütemben klinikai kipróbálásra és alkalmazásra. Ezek többsége részben remélt vírusellenes, részben a súlyos, sejtpusztulással és/vagy immunológiai komplikációkkal járó betegség enyhítését szolgáló hatása révén került bevetésre. Ugyanakkor az új célra alkalmazott gyógyszerek jelentős része nem esett át olyan részletes preklinikai vizsgálatokon, amelyek a hatékony és biztonságos alkalmazás alapvető feltételei. Ilyen, ma már széleskörben előírt vizsgálat a farmakológiailag jelentős membrán-transporterekkel történő kölcsönhatások *in vitro* elemzése.

Munkáinkban elsősorban a COVID-19 ellen alkalmazott gyógyszerek felszívódását, metabolizmusát, barrieréken történő átjutását és kiürülését befolyásoló ABC (ATP Binding Cassette) típusú és SLC (Solute Carrier) típusú membrántransporterek *in vitro* gyógyszerkölcsönhatásait vizsgáltuk. Így részletesen elemeztük a feltételezett anti-CoV-2 vírusellenes hatású klorokin és hidroxiklorokin, a féregellenes ivermectin, valamint a ritonavir, lopinavir, favipiravir, remdesivir, mulnupiravir és a jelenleg engedélyezés alatt álló paxlovid kölcsönhatásait a fő ABC multidrog transporterekkel, az ABCB1/Pgp, ABCC1/MRP1 és az ABCG2/BCRP fehérjével, valamint a májban kulcsfontosságú ABCB11/BSEP, ABCC2/MRP2, ABCC3/MRP3, és ABCC4/MRP4 transporterekkel. Az SLC típusú transporterek közül az OATP (organikus anion transzporter) típusú, az OCT1 (organikus kation transzporter), a MATE1 (multidrog és toxin transzporter) és az NTCP (nátrium és taurokolát transzporter peptid) transporterekkel történő kölcsönhatások vizsgálatára fókuszáltunk.

Az eredmények felhívják a figyelmet a különösen erős gyógyszer-transzporter kölcsönhatásokra, amelyek jelentősen befolyásolhatják az alkalmazott szerek toxicitását, valamint a más gyógyszerekkel történő kölcsönhatásokat. Mivel a COVID-19 betegség gyakran a társbetegségekben (cukorbetegség, magasvérnyomás stb.) szenvedőknél, és az esetenként több gyógyszerrel is kezelt betegeknek jelentkezik súlyos formában, a transporterekkel történő többszörös gyógyszerkölcsönhatások elemzése klinikailag is jelentős információkat szolgáltat és elősegíti a toxikus kölcsönhatások elkerülését.

A munkát az OTKA (FK 128751, K-128011), a KFI\_16-1-2017-0232, a FIEK 16-1-2016-0005, és a VEKOP-2.1.1-15-2016-00117 és az MTA Postcovid grant támogatta.

# 6

## GYÓGYSZERTRANSPORTEREK VIZSGÁLATA FLUORESZCENS MÓDSZEREKKEL

**Laczka Csilla<sup>1</sup>**

Ungvári Orsolya<sup>1</sup>, Patik Izabel<sup>1</sup>, Székely Virág<sup>1</sup>, Bakos Éva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Enzimológiai Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, ELKH

Az Organikus anion transzporter polipeptidek (OATP-k) a sejtmembrán transzporterei, amelyek nagyméretű, szerves molekulák sejtbeli felvételét segítik. Az OATP-k endogén szubsztrátjai epesók, bilirubin, tiroid- és szteroid hormonok. Ugyanakkor a 11 tagot számláló humán OATP fehérjecsald több, multispecifikus tagja gyógyszer-molekulákat (például sztatinokat, antivirális és kemoterápiás szereket) is felismer, és befolyásolja ezek felszívódását, eloszlását és eliminációját. Az OATP-k működését gyógyszer-gyógyszer és élelmiszer-gyógyszer kölcsönhatások befolyásolhatják, ami megváltozott farmakokinetikát eredményezhet, ezért a nemzetközi szabályozó hatóságok (FDA, EMA) útmutatói alapján a máj OATP fehérjéinek (OATP1B1 és OATP1B3) vizsgálata a gyógyszerfejlesztés során ajánlott.

Munkánk során több fluoreszcens módszert fejlesztettünk, amelyek alkalmasak: 1.) a multispecifikus OATP fehérjéket (OATP1A2, OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1) termelő sejtek kiválogatására és dúsítására, 2.) a multispecifikus OATP-k funkció alapú megkülönböztetésére, 3.) kettős próbaként az OATP1B1 és az ABC (ATP Binding Cassette) efflux transzporter MRP2 vizsgálatára, 4.) OATP szubsztrátok és inhibitorok egyszerű elkülönítésére, vagy 5.) az OATP-k működésének valós idejű vizsgálatára. A létrehozott eszköztár lehetővé teszi a gyógyszertranszporter OATP-k nagy áteresztőképességű tesztelését.

Rövidítések: ABC: ATP Binding Cassette, EMA: European Medicines Agency, FDA: US Food and Drug Administration, OATP: Organikus anion transzporter polipeptid, MRP: multidrog rezisztencia asszociált fehérje.

*Támogatás: Köszönjük az NKFIH (OTKA FK 128751, OTKA K 138518) és az MTA (Bolyai János Kutatási Ösztöndíj) által nyújtott támogatást!*

# 7

## EGY TRANSPORTER, EGY NUKLEÁZ ES EGY METABOLIT: A TRIO, AMELYIK A MESZESEDES KOTTÁJÁBÓL JÁTSZIK

**Váradai András,**

TTK Enzimológiai Intézet, Budapest

A számos szervünket, szövetünket érintő patológiás meszesedési folyamat (ektopikus kalcifikáció) súlyos keringési betegségeket okoz. A meszesedés endogén inhibitora egy *metabolit*, a pirofoszfát (PPi). A PPi fő forrása a máj, a hepatocitákból egy *transporter*, az ABCC6 ATP-t juttat a keringésbe. Az ATP-t egy *nukleáz*, az ENPP1 pirofoszfáttá és AMP-vé hasítja.

A PPi gyógyszerként való felhasználása azonban sokáig nem jött szóba, általános volt az a nézet, hogy szájon át adva nem szívódik fel, mert az emésztőcsatornában lévő különféle nukleázok és foszfatazok elhasítják.

Mi 2017-ben felfedeztük, hogy ez a dogma nem állja ki a kísérletek próbáját: két különböző meszesedési betegséget reprezentáló modelt, génkiütött egértörzseket (Abcc6<sup>-/-</sup> és Enpp1<sup>-/-</sup>) használva, bebizonyítottuk, hogy az ivóvízbe kevert PPi nagymértékben képes megakadályozni a bőrben, az artériákban, a vesében és a szívizomban kialakuló meszesedést. Kimutattuk, hogy a PPi emberben is felszívódik, megtaláltuk az optimális sóformát, dózist és formulát (zselatin kapszula). Eredményeink alapján Franciaországban és Hollandiában klinikai kipróbálás indul a szájon át bejuttatott PPi kezelés vizsgálatára a pseudoxanthoma elasticum örökös meszesedési betegségben, Magyarországon pedig a systemic sclerosis (scleroderma) meszesedési tüneteinek csökkentésére.



## KIKAPCSOLNI A GYÓGYSZERREZISZTENCIÁT

**Füredi András<sup>1</sup>**

Szebényi Kornélia<sup>1</sup>, Tóth Szilárd<sup>1</sup>, Szakács Gergely<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológia Intézet, Budapest;

<sup>2</sup> Medical University of Vienna, Institute of Cancer Research, Vienna

A rosszindulatú daganatok sikeres kezelése a klinikai gyakorlat egyik legjelentősebb kihívása. A tumor sejtek a gyógyszer rezisztencia mechanizmusok széles tárházához férnek hozzá, ezzel csökkentve a kezelések hatékonyságát. Többek között növelhetik a hatóanyagok metabolizmusát és a DNS javítás mértékét, szabályozhatják a gyógyszer molekulák felvételét vagy akár gátat szabhatnak az apoptózisnak is. Az egyik legismertebb ilyen mechanizmus az ABCB1 transzporter fokozott kifejezése a daganat sejtek membránjában. Ez a fehérje képes felismerni és az extracelluláris térbe juttatni több, eltérő szerkezettel és hatásmechanizmussal rendelkező citotoxikus vegyületet is, ezzel kialakítva a multidrog rezisztenciát (MDR). Csoportunk korábban olyan vegyületek azonosított ('MDR-szelektív vegyületek'), melyek képesek célzottan elpusztítani az ABCB1-pozitív sejteket egy eddig nem ismert mechanizmuson keresztül. Bemutatjuk, hogy a tumor sejtekben egyetlen magas dózisú MDR-szelektív kezelés után az ABCB1 expresszió kikapcsolható és az eredeti gyógyszer érzékenység helyreállítható. Meglepő módon, annak ellenére, hogy az ABCB1-negatív fenotípus évekig stabilnak bizonyult, egy egyszeri, alacsony dózisú kemoterápiás kezelés teljesen visszaállította az MDR-t az ABCB1 kifejeződésének újraindításával ezekben a sejtekben. Ez arra utal, hogy a daganat sejtek egy „epigenetikai kapcsoló” segítségével szabályozhatják bizonyos rezisztencia mechanizmusokat kódoló gének kifejezését és hogy ennek a kapcsolónak a farmakológiai gátlásával jelentősen növelhető lenne a kemoterápiás kezelések hatékonysága.



## NEURODEGENERATÍV BETEGSÉGEK VIZSGÁLATA ORGANOIDOKKAL

**Szebényi Kornélia<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológia Intézet, Budapest

Az amiotrófiás laterális szklerózis (ALS) egy végzetes és jelenleg gyógyíthatatlan neurodegeneratív betegség, amelyet gyors bénulás és átlagban 3-5 éven belül bekövetkező halál jellemez. A korai sejtszintű patológiás elváltozások feltárása központi szerepet játszhatna a terápiás célpontok azonosításában, de a központi idegrendszert érintő betegségek esetében a betegség korai, illetve tünetmentes fázisából általában nem nyerhető minta.

A C9ORF72 gén mutációja által okozott ALS korai sejtpatológiás vizsgálata érdekében létrehoztunk olyan cerebrális organoidokat, amelyek az agy betegség által leginkább érintett területére jellemző sejtípusokat tartalmaznak és reprodukálják a klasszikus kortikális rétegek struktúráját is. Ezen organoidok ALS betegekől visszaprogramozott humán indukált pluripotens őssejtekből (hiPSC) hozhatók létre, amelyekből 50 napos korokban szelettenyészeteket készítünk, annak érdekében, hogy hosszú távon is fenntarthatók legyenek. Ez a hosszútávú tenyésztés teszi lehetővé a megfelelő sejtdiverzitás kialakulását és a sejtek érettebbé válását is. 150 napos korokra a szelettenyészetek elérik egy 23-26 hetes embrió sejteinek érettségi szintjét és tartalmaznak már olyan asztroglia sejteket is, amelyekről az utóbbi időben derült csak ki, hogy számos neurodegeneratív betegségben érintettek. Az scRNS-seq és a biológiai vizsgálatok kombinációját alkalmazva feltártunk transzkripciós, proteosztázis és DNS-javítási zavarokat asztrogliaiban és neuronokban egyaránt. A neuronok DNS-károsodásának és a megnövekedett nukleáris piknózis mértékének csökkentésével a szelettenyészetek farmakológiai tesztelésre való alkalmasságát is bizonyítottuk.

Így a betegség-specifikus szelettenyészetek reprodukálható transzlációs platformot jelentenek a preklinikai ALS mechanizmusok, valamint az új terápiás megközelítések vizsgálatához.

**MATEMATIKAI ALAPÚ  
TUMORMODELLEZÉS ÉS TERÁPIAGENERÁLÁS**

**Dr. Drexler Dániel András<sup>1</sup>**

Czakó Bence<sup>1</sup>, Dr. Füredi András<sup>2</sup>, Gergics Borbála<sup>1</sup>, Gombos Balázs<sup>2</sup>, Dr. Kovács Levente<sup>1</sup>,  
Nagy Erzsébet<sup>1</sup>, Puskás Melánia<sup>1</sup>, Siket Máté<sup>1</sup>, Dr. Szakács Gergely<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup>Élettani Szabályozások Kutatóközpont, Egyetemi Kutató és Innovációs Központ, Óbudai  
Egyetem, Budapest)

(<sup>2</sup>Gyógyszerrezisztencia Kutatócsoport, Természettudományi Kutatóközpont, Eötvös Loránd  
Kutatási Hálózat, Budapest)

(<sup>3</sup>Institute for Cancer Research, Department of Medicine, Medical University of Vienna, Bécs)

A mérnöki és matematikai tudományok alkalmazása az orvostudományban számos előnnyel járt a diagnosztikában. Nagy potenciál rejlik a hasonló megközelítésben a kezelések optimalizálásában, ilyen létező megközelítés például a vércukorszint szabályozása (mesterséges hasnyálmirigy). A Természettudományi Kutatóközpont Gyógyszerrezisztencia Csoportjának munkatársaival a kemoterápia optimalizálásán dolgozunk hasonló elvek mentén.

A munka alapja egy matematikai modell létrehozása, amely alapján a terápia hatása nagy pontossággal jósolható, és a terápia generáló algoritmusok alkalmazhatók. A kutatómunka három fázisból áll.

Első lépés a matematikai modell struktúrájának, azaz az egyenleteknek a meghatározása. A modellezés során a domináns élettani folyamatokat vesszük figyelembe, és ezek alapján írjuk fel a viselkedést leíró differenciálegyenleteket. A modellezés egy intermedier fázisaként formális reakciókinetikát használva az egyenleteket egy közérthető, előzetes formában írjuk fel, ami segíti a konzultációt azokkal a szakemberekkel, akik nem dolgoznak differenciálegyenletekkel. A matematikai modell bővíthető, azonban meg kell találni az egyensúlyt a bonyolultság és a magyarázó erő között.

A második lépés az egyénre jellemző paraméterek meghatározása. Ehhez számos, az adott egyedből származó mérésre van szükség. A paraméterek meghatározásakor kritikus, hogy különböző dimenziójú változókat mérjünk, a mérések elég sűrűn történjenek, illetve a beadott injekciók elegendő varianciát mutassanak.

A harmadik lépés a matematikai modell és az egyénre jellemző paraméterek alapján a terápia legenerálása. Kétfajta megközelítést alkalmazunk, az egyik a modell alapján előre jósolja a kezelés hatását és optimalizáló algoritmusokkal keresi azt a kezelést, ami egy előírt feltétel alapján a legjobb. A másik megközelítés azokat a dózisoskat adja meg, amik a gyógyszer szintet egy előírt érték felett tartják, ezt az előírt értéket pedig különböző heurisztikák és előírások alapján határozzuk meg.

## A TERÁPIA REZISZTENCIA EVOLÚCIÓJA TRIPLA NEGATÍV EMLŐDAGANATOKBAN

### Szakács Gergely

<sup>1</sup> Center for Cancer Research, Medical University of Vienna

<sup>2</sup> ELKH TTK Enzิมológiai Intézet

Az emlőrák a leggyakoribb női daganattípus. Évente 1.67 millió új esetet diagnosztizálnak világszerte, és több mint 500 ezer nő hal meg a betegség következtében minden évben. A tripla-negatív emlőrák (TNBC) az összes emlőrákos eset körülbelül 20 százalékáért felel. Mivel a ráksejtek felszínéről hiányoznak az ösztrogén és progesteron receptorok és nincs HER2-receptor fehérje túlermelés, a kezelés elsősorban neoadjuváns kemoterápián alapul. A kemoterápiát követő műtét során az esetek körülbelül 80%-ában reziduális tumor igazolható, mely sajnos hamar rezisztenssé válhat az adjuváns terápiában használt harmadik generációs kemoterápiás szerekkel szemben.

Új terápiás alternatívák kifejlesztéséhez elsősorban meg kell ismernünk a terápia kudarcához vezető molekuláris mechanizmusokat. Csoportunkban a terápia rezisztens tumorsejtek evolúcióját  $Brca1^{-/-};p53^{-/-}$  egérmodellben tanulmányozzuk, mely jól reprodukálja az invazív duktális karcinómákra jellemző molekuláris, hisztopatológiai és morfológiai tulajdonságokat. A spontán kialakuló tumorokból sejtvonalakat és organoid kultúrákat hozunk létre, az ortotopikus beültetést követően az egereket klinikailag releváns kemoterápiás protokollok szerint kezeljük. A tumorok kezdetben érzékenyek mutatkoznak, a relapszust követő kezelési ciklusok során azonban rendre rezisztencia alakul ki. Célunk a tumorsejtek kezdeti érzékenységének, a kezelést túlélő drog-toleráns perziszter sejtek adaptációjának, valamint a rezisztenciát biztosító mechanizmusoknak megismerése.

**VEGYI ANYAGOK LINE1 RETROTRANSPONON RENDSZEREN KERESZTÜL  
KÖZVETÍTETT GENOTOXIKUS HATÁSA, MINT A TUMORINDUKCIÓ  
ALTERNATÍV MECHANIZMUSA**

**Mátés Lajos**<sup>1</sup>

Karkas Réka<sup>1,2</sup>, Khaldoon Sadiq Ahmed Abdullah<sup>1,2</sup>, Nagy Andrea<sup>1</sup>, Kopasz Anna Georgina<sup>1</sup>,  
Imre Gergely<sup>1,3</sup>, Sükösd Farkas<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetika Intézet, Tumor Genom Kutatócsoport,

<sup>2</sup> Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola,

<sup>3</sup> Szegedi Tudományegyetem, TTIK, Biológia Doktori Iskola,

<sup>4</sup> Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Patológiai Intézet

A rákos megbetegedések előfordulása az elmúlt években nőtt az Európai Unióban az előregedő népesség és más, részben ismert tényezők, többek között a környezetben lévő vegyi anyagokból eredő kockázat növekedése miatt. Az ismert genotoxikus vegyi anyagok DNS-károsodást okoznak, ami egy szomatikus sejtben mutációkat eredményezhet, ezek felszaporodása pedig rosszindulatú transzformációhoz vezethet. A rák sporadikus előfordulása azonban gyakran nem magyarázható az ismert genotoxikus anyagoknak való kitettséggel (például genotoxinoknak való munkahelyi kitettség, dohányfüst stb.).

Egy új kutatási irány alapul azon a felismerésen, hogy a genotoxikus hatások az endogén LINE1 retrotranszpononokon keresztül is közvetíthetők. Tudomásunk szerint a LINE1 retrotranszpononok a mobilis genetikai elemek egyetlen jelenleg aktív csoportja a humán genomban. Sokáig úgy gondolták, hogy a LINE1 elemek csak a csíravonalban és a korai embrióban aktívak. Alacsony csíravonalbeli aktivitásuk felgyorsítja az emlős genom evolúcióját. Aktivitásuk később az embrionális fejlődés korai szakaszában teljesen megszűnik, és a legtöbb normális szomatikus szövetben nem is kimutatható, a szomatikus LINE1-aktivitás ellen védő, részben feltárt számos sejt szintű mechanizmusnak köszönhetően. Azonban bármilyen környezeti hatás vagy a szervezetbe kerülő vegyi anyag elvileg megzavarhatja e védekező mechanizmusok némelyikét. Az így megnövekedett LINE1-aktivitás pedig rák "driver" mutációkat hozhat létre az adott szövetben, elősegítve ezzel a tumorfejlődést. Ezzel összhangban különböző tumortípusokban mára már számos olyan driver mutációt mutattak ki, amelyeket új szomatikus LINE1 integrációs események okoztak.

Az általunk kifejlesztett eljárás célja, hogy lehetőséget biztosítsunk kemikáliák ilyen nem szokványos genotoxikus hatásának felmérésére egerek szomatikus sejtjeiben. Technológiánk a toxikológia területén volna alkalmazható, támogatva a vegyi anyagok kockázatértékelését olyan toxikológiai végpontok irányába, amelyekre még nem terjednek ki az ismert/szabványosított módszerek.

Rövidítések:

LINE1: *Long interspersed nuclear element 1*

**KIMÉRA ANTIGÉN RECEPTOROK (CAR), AVAGY MITŐL DÖGLIK A ... TUMOR.**

**Vereb György**

Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A célzott daganatellenes immunterápia ígéretes új módszere a beteg genetikailag módosított T sejtjeinek adoptív transzfere. A kiméra antigén receptorral (CAR) történő módosítást nemrég engedélyezték egyes hematológiai malignitások kezelésére: a Kymriah és a Yescarta készítmények T sejtjeiben a CAR a CD19-et célzó scFv és a CD3z effektor domén mellett 41BB, ill. CD28 kostimulációs domént tartalmaz. Számos hasonló konstrukció került preklinikai és klinikai kipróbálásra szolid (szervi) tumorok ellen, azonban az optimális megoldás egyelőre várat magára. A HER2, mely az első humanizált antitest terápia célpontja volt szolid tumorokban, az egészséges szövetekben mutatott csekély kifejeződése miatt ideális CAR target, így a HER2 pozitív tumorok alkalmasak olyan szisztematikus összehasonlító vizsgálatokra, melyek feltárhatják az egyes CAR komponensek szerepét a T sejtek hatékonyságában, expansiójában és hosszútávú túlélésében. HER2 pozitív modellrendszerben a szolid tumorok CAR T sejt terápiájának optimalizálásához a következő adalékok nyerhetők:

Az aktívan mozgó CAR T-sejtek hatékonyan áthatolnak a terápia antitestek bejutását gátló tumor extracelluláris mátrixon, így alkalmasak az antigén terápia rezisztens szervi daganatok kezelésére is.

A szolid tumorokra jellemző immunszuppresszív mikrokörnyezet legyőzéséhez gyorsan differenciálódó CAR T sejtek nagyobb citolitikus aktivitása és a helper T-sejtek nagyobb aránya szükséges.

A CD28 kostimuláció erőteljesebb citokinfelszabadulást és a szolid tumorok hatékonyabb elpusztítását eredményezi, míg a 41BB kostimuláció hosszú távú perzisztenciát és az újraképződő tumorok elleni védelmet biztosít. A CD28 és a 41BB egyesítése egy 3. generációs CAR-ban csak a kezdeti terápia sikerességét javítja, az újabb tumorra adott választ nem. Ezzel szemben a CD28 és 41BB domént külön-külön kifejező CAR T-sejtek 1:1 arányban történő együttes alkalmazása optimális mind a primer tumorok eliminálásában, mind a kiújulás megelőzésében.

A kutatásokat az OTKA K119690, valamint GINOP-2.3.2-15-2016-00044 és -00050 pályázatok támogatták.

**PHOTOSYNTHETIC PROTEIN INTERACTIONS IN  
RECONSTITUTED MEMBRANES**

**Lambrev Petar H<sup>1</sup>, Akhtar Parveen<sup>1</sup>, Lingvay Mónika<sup>1</sup>, Biswas Avratanu<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Temesvári krt. 62, Szeged 6726

The light reactions of photosynthesis occur in the thylakoid membranes where the major photosynthetic protein complexes are embedded – the two photosystems with their membrane antenna complexes, cytochrome *b<sub>6</sub>f* and the ATP-synthase. The lipid bilayer is not only a barrier for maintaining proton-motive force but an integral part of a structurally complex machinery where the protein contacts and interactions are essential for the photophysical and photochemical functions. Extracting the complexes and supercomplexes outside of their lipidic environment can impair their structural and functional integrity. Reconstituted membranes, or proteoliposomes, can represent a viable approach to study the photosynthetic membrane proteins in a native-like environment but it is not without challenges and limitations. Several recent applications of reconstituted membranes to study interactions and energy exchange between different photosynthetic pigment-protein complexes, including light-harvesting antenna complexes and photosystems I and II, will be summarized.

## ÚJ MÉRÉSI TECHNIKÁK A DIPÓLPOTENCIÁL VIZSGÁLATÁBAN

**Kovács Tamás<sup>1</sup>**

Szabó Máté<sup>1</sup>, Vigh Barbara<sup>1</sup>, Varga Zoltán<sup>1</sup>, Panyi György<sup>1</sup>, Nagy Péter<sup>1</sup>, Zákány Florina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

A lipidek aktív módon befolyásolják a transzmembrán fehérjék működését közvetlen kötődés vagy a membrán biofizikai paramétereinek módosítása útján kiváltott indirekt hatások révén. Utóbbiak közül a legkevésbé ismert a dipólpotenciál (DP), amely a membrán-víz határfelületen elhelyezkedő molekuláris dipólusok preferenciális térbeli elrendeződéséből származó  $\sim +300$  mV-os intramembrán potenciál. Feltételezett biológiai jelentősége ellenére a DP jórészt ismeretlen, amelynek hátterében elsősorban a megfelelő mérési módszerek és a változtatására alkalmas fiziológias vegyületek hiánya áll. Értékét főleg a membrán lipidösszetétele határozza meg, ezért várható, hogy nagysága eltérő a különböző membránösszetétellel rendelkező intracelluláris organelumokban, valamint olyan betegségeken, amelyekre jellemző a membránlipidek szintjének jelentős megváltozása, így hiperkoleszterinémiában vagy Gaucher-kórban. A DP eltéréseit azonban még nem vizsgálták sem betegségekből származó klinikai mintákban, sem ezen betegségek modellrendszereiben.

Munkánk során kidolgozunk és optimalizáltunk egy F66 feszültségszenzitív fluorofórt alkalmazó emissziós aránymérésen alapuló nagy áteresztőképességű áramlási citométeres technikát, amely használható nagy mennyiségű élő sejt DP-jának gyors, egyszerű és megbízható mérésére és klinikai minták vizsgálatára. Módszerünkkel kimutattuk a koleszterin DP-t növelő hatását a hiperkoleszterinémia biofizikai modellrendszerében, valamint hatékony fiziológias DP-t csökkentő vegyületként azonosítottuk az  $\alpha$ -linolénsavat, egy többszörösen telítetlen  $\omega$ -3 zsírsavat. Emellett kifejlesztettünk egy konfokális mikroszkópia, F66 és organelumokra specifikus markerek használatán alapuló mérési technikát, amellyel intracelluláris kompartmentek egyedi *in situ* vizsgálata válik lehetővé élő sejtekben. A technikával kimutattuk a DP növekedését Gaucher-fenotípusú neuronok különböző organelumaiban, elsősorban a lizoszómákban.

Az általunk kidolgozott és optimalizált módszerek kombinációjával lehetővé válhat egy alapvető biológiai jelentőséggel bíró, ugyanakkor jelentősen elhanyagolt és ismeretlen membránbiofizikai paraméter, a DP részletes tanulmányozása és jobb megértése klinikai mintákban és betegségek modellrendszereiben.

ÚNKP-21-4-II-DE-137, ÚNKP-21-4-II-DE-138, ÚNKP-21-3-I-DE-316

Rövidítések: DP: dipólpotenciál, F66: N-[3-(4'-dihexilamino-3-hidroxi-flavonil-6-oxi)-propil]-N,N-dimetil-N-(3-szulfopropil)-ammónium, belső só

„EGYSEJT” LIPIDOMIKA

Péter Mária<sup>1</sup>, Varga-Zsíros Vanda<sup>1,2</sup>, Migh Ede<sup>1</sup>, Marton Annamária<sup>1</sup>, Gombos Imre<sup>1</sup>, Zoltán Kóta<sup>3</sup>, Vizler Csaba<sup>1</sup>, Tizslavicz László<sup>4</sup>, Horváth Péter<sup>1</sup>, Török Zsolt<sup>1</sup>, Vígh László<sup>1</sup>, **Balogh Gábor**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged

<sup>2</sup> Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Biológia Doktori Iskola, Szeged

<sup>3</sup> Hungarian Centre of Excellence for Molecular Medicine-BRC Single-cell Omics Advanced Core Facility

<sup>4</sup> Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Patológiai Intézet, Szeged

Máig is nagyrészt megfejtésre vár, hogy a különféle szervek, valamint a szerveken belüli sejttípusok miért tartanak fent egymástól jelentősen különböző membránlipid összetételt.

A szervezetben a sejtek a táplálékból, ill. a vérkeringésből felvett lipidekből szintetizálják membránjaikat. Ezzel szemben a rákos sejtek képesek újraaktiválni a *de novo* lipogenezist, és a változó tumor-mikrokörnyezetben a túlélésükhöz adaptált membránokat hoznak létre. Ahhoz, hogy a szervek vagy a tumorok sejtszintű membránlipid heterogenitását feltérképezhessük és szerepét megérthessük, a makroszkópikus szövetdaraboknál nagyobb térfelbontásra van szükség. A nagy térfelbontású tömegspektrometriai képképző technikák azonban csak szelektív és kvalitatív információt szolgáltatnak a szövetek lipidösszetételéről.

Az általunk kifejlesztett, lézerdisszekcióval kombinált shotgun mikrolipidomikai módszer közel egysejt szinten képes több mint húsz lipidosztály és több száz molekulaspeciesz kvantitatív analízisére. A kulcsot a rendkívül érzékeny tömegspektrometriai módszer és a néhány mikroliter mintát injektálni képes mintaadagoló robot adta a kezünkbe. Párhuzamos natív és festett metszeteket készítünk szferoidokból, szervekből vagy tumormintákból. A festett és autofluoreszcens képek koregisztrációját követően az előre definiált régiók (legalább 10-20 sejt) lézeres kivágását, mikroextrakcióját, majd tömegspektrometriai analízisét végezzük el.

Módszerünk hatékonyságát mutatja, hogy feltérképeztük a 3D szferoid tumormodell lipid molekulaspeciesz szintű radiális heterogenitását. Ez a gradiens kapcsolatban van a tápanyag (cukor, zsírsav), illetve az oxigén limitált diffúziójával. Egér, ill. humán tumorokban előzetes eredményeink ígéretes különbségekre mutattak rá az invazív és *in situ* tumorsejtek, valamint a sztróma régiók lipidomikai mintázatában.

A szöveteken belüli egyedi sejttípusok meglepő és gyönyörködtető lipidváltozatosságát egéragy hippokampusz metszetén mutatjuk be. Ezen eredményeink megalapozhatják bizonyos neurodegeneratív betegségek (például az Alzheimer-kór) lipidmembránokat érintő kórfolyamatainak feltárását.



## KVANTITATÍV DSTORM LOKALIZÁCIÓS MIKROSKÓPIA

### Erdélyi Miklós

Szegedi Tudományegyetem, Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék, Szeged, Dóm tér 9

Az optikai mikroszkópok térbeli feloldását a fény diffrakciója korlátozza, ezért hagyományos módszerekkel a diffrakciós küszöbnél kisebb struktúrákról nem tudunk képet alkotni. A lokalizációs mikroszkópia egy olyan eljárás, amely során az egyedi fluoreszcens molekulákat térben és időben szétválasztva detektáljuk és nagy pontossággal ( $<10\text{nm}$ ) határozzuk meg a pozíciójukat. A lokalizált molekulák koordinátáinak együttese adja a szuperfeloldású végső képet. Az előadásban egy saját fejlesztésű lokalizációs mikroszkóp működését, alkalmazási és fejlesztési lehetőségeit mutatjuk be. Célunk olyan eljárások kidolgozása, amelyek a fluoreszcens molekulák 3D, polarizáció érzékeny, többszínű detektálását teszi lehetővé. A felvett képek kvantitatív kiértékelése jelentheti a struktúrák geometriai méretének, illetve a jelölt molekulák számának és térbeli eloszlásának meghatározását. Az előadásban mindkét megközelítést példán keresztül mutatjuk be: szarkomerben közel harminc fehérjét jelöltünk meg és határoztuk meg a relatív helyzetüket  $<5\text{nm}$ -es pontossággal. A nagy térbeli feloldás lehetőséget ad a szerkezet molekuláris szintű rendezettségének vizsgálatához, modellezéséhez. A röntgensugárzás hatására bekövetkező DNS kettőtörési fókuszok méretének, számának és sűrűségének meghatározásához a lokalizációs koordinátákon klaszteranalízist végeztünk. Statisztikus módszerekkel meghatároztuk a jelölt hisztonok számát és eloszlását, vizsgáltuk a dózistól és a kezelés után eltelt időtől való függését.

## SEJTMEMBRÁN ASSZOCIÁLT KÓRÉLETTANI JELENSÉGEK AZ ISZKÉMIÁS STROKE AKUT FÁZISÁBAN

**Menyhárt Ákos**<sup>1,2</sup>

Bari Ferenc<sup>3</sup>, Farkas Eszter<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem HCEMM-USZ Agyi Keringés és Metabolizmus Kutatócsoport, Szeged

<sup>2</sup>Szegedi Tudományegyetem, Sejtbiológia és Molekuláris Medicina Tanszék, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Természettudományi és Informatikai Kar, Szeged

<sup>3</sup>Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Természettudományi és Informatikai Kar, Szeged

**Bevezetés:** Az iszkémiás stroke akut fázisában a neuron és glia-sejtek membránkonduktanciájának teljes megbomlását figyelhetjük meg a sérült agyterületen. A lokális ionháztartásbeli katasztrófa pontszerű fókuszból alakul ki és lassú depolarizációs hullámként (2-6 mm/perc) terjed végig az agykérgen. Ez a jelenség a terjedő depolarizáció (SD), melynek kórélettani jelentősége a primer léziók kiterjedésének fokozásában rejlik, ezért a stroke kimenetelének biomarkereként tartjuk számon.

**Módszerek:** Kísérleteinket izofluránnal (0,6-1%) altatott egereken és túlélő agyszelet preparátumon végeztük. Az iszkémiás stroke-ot arteria carotis communis okklúzióval és in vitro oxigén megvonással modelleztük. Az SD-k megjelenését extracelluláris elektrofiziológiával, multifoton mikroszkópiával, fluorescens festék alapú, invazív optikai képalkotással, amperometriával és transzkraniális non-invazív multimodális képalkotással monitoroztuk. Az asztrociták BK csatornáit paxillinnel (0,5  $\mu$ M), térfogatszenzitív glutamát ürítését DCPIB-vel (20  $\mu$ M), az SD-k blokkolását az NMDA receptor gátló MK801-el (0,3 mg/ttkg) végeztük.

**Eredmények:** Kutatásaink során jellemeztük az SD-k legfontosabb ionháztartásbeli és metabolikus következményeit az agyban. Leírtuk az SD-vel járó markáns extracelluláris kálium akkumuláció (>40 mM) vazokonstriktív hatását és kalciumfüggő mechanizmusát. Megfigyeltük, hogy az asztrocita sejtek térfogatszenzitív glutamát kibocsátása (>20  $\mu$ M) fokozza az iszkémiás léziók kiterjedését. Végezetül bizonyítottuk az SD-k kórélettani szerepét az iszkémiás stroke terápiájában gyakran megfigyelhető reperfüziós sérülés kialakulásában (rekanalizáció SD után vs. rekanalizáció; 52,11 $\pm$ 14,1 vs. 89,45 $\pm$ 5,64%)

**Diszkusszió:** Adataink az SD-ket a stroke akut fázisában fellépő legfontosabb, a kialakuló infarktus érését okozó jelenségeként azonosítják. Eredményeink hangsúlyozzák az SD-k farmakológiai gátlásának fontosságát az akut iszkémiás stroke terápiában.

### Rövidítések:

**SD:** spreading depolarization, terjedő depolarizáció

**BK csatorna:** nagy konduktanciájú kalciumfüggő kalium csatorna

**DCPIB:** 4-[(2-Butyl-6,7-dichloro-2-cyclopentyl-2,3-dihydro-1-oxo-1H-inden-5-yl)oxy]butanoic acid

**NMDA receptor:** N-methyl-D-aspartate receptor

**MK801:** dizocilpine

**PORFIRINKÖTÖTT MEMBRÁNRENDSZER FÉNYINDUKÁLT SZERKEZETI ÉS  
MECHANIKAI VÁLTOZÁSAI**

**Zolcsák Ádám**

Bozó Tamás, Kiss Bálint, Somkuti Judit, Kellermayer Miklós, Herényi Levente

Semmelweis Egyetem Biofizika és Sugárbiológiai Intézet

A fényérzékenyítés, mint terápiás lehetőség sok különböző elváltozás esetében sikeresen alkalmazott módszer. A terápia azon alapszik, hogy bizonyos festékek, általában porfirineknek a bevilágítása során ROS keletkezik. A ROS rövid életideje miatt a sejtben kialakuló károsodások nagyrészt ott jelentkezhetnek, ahol feldúsul az alkalmazott fényérzékenyítő a sejteken belül. Mivel a fényérzékenyítők nagy része a lipofil membrán környezetben dúsul fel, ezért a membránokat nagyobb részt alkotó foszfolipidekre kifejtett károsító hatások tanulmányozása nagyban elősegítheti a ROS indukált károsító hatások megértését patológias és terápiás körülmények között egyaránt. Célul tűztük ki, hogy megismerjük a fényérzékenyített membránokban létrejövő topológiai és nanomechanikai változások feltérképezését, illetve az ennek hátterét biztosító kémiai változások nyomkövetését. A felületasszociált kettősrétegek topográfiájának felderítéséhez AFM-mel alkottunk képet a vizsgált felszínről. A membrán mechanikai tulajdonságainak feltárásához erőspektroszkópiás méréseket végeztünk. A kémiai változásokat FTIR-rel követtük nyomon. A DPPC-DOPC tartalmú membránokon bevilágítás hatására nanoméretű pórusok keletkeztek, amelyek egyértelmű jelei a membránintegritás megbomlásának. Az erő spektroszkópiás mérések során a membrán átszakadásához szükséges erőket regisztráltuk, amik a membránok állapotának mintegy ujjlenyomatául szolgálnak. Az átszakadási erők a bevilágítás hatására a nagyobb erők felé tolódtak el, a membrán rigidebbé válásáról árulkodva. A kémiai átalakulást fényérzékenyített DOPC liposzomákon vizsgáltuk, 1740 inverzcentiméternél tapasztaltunk számottevő csúcsméretnövekedést, illetve az 1230 inverzcentiméternél található csúcs növekedése és eltolódása voltak megfigyelhetők. Az alábbi jelenségek a kontroll mintaként alkalmazott DPPC mintában nem voltak tapasztalhatóak. A fényhatására bekövetkező membránkárosodás lyukak képződését eredményezi melyhez a membránok nanomechanikai tulajdonságainak megváltozása is társul. Méréseink tovább hangsúlyozzák a telítetlen lipidek érzékenységét a ROS káros hatásaival szemben.

ROS reaktív oxigén származékok

AFM atomi erő mikroszkópia

FTIR Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia

DPPC dipalmitoil-foszfatidilkolin

DOPC dioleil-foszfatidilkolin

## A HLA-I-EXPRESSZIÓ PREDIKTÍV ÉRTÉKE ÉS VÁLTOZÁSA IPILIMUMABBAL KEZELT MELANÓMÁS BETEGEKBEN

**Ladányi Andrea**<sup>1</sup>, Hegyi Barbara<sup>1</sup>, Balatoni Tímea<sup>1</sup>, Mohos Anita<sup>2</sup>, Papp Eszter<sup>1</sup>, Liskay Gabriella<sup>1</sup>, Oláh Judit<sup>3</sup>, Varga Anita<sup>3</sup>, Lengyel Zsuzsanna<sup>4</sup>, Emri Gabriella<sup>5</sup>, Raphael Rohregger<sup>6</sup>, Christoph Waldnig<sup>6</sup>, Soldano Ferrone<sup>7</sup>, Dudás József<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Országos Onkológiai Intézet, <sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Budapest; <sup>3</sup>Szegedi Tudományegyetem, Szeged; <sup>4</sup>Pécsi Tudományegyetem, Pécs; <sup>5</sup>Debreceni Egyetem, Debrecen; <sup>6</sup>Medical University of Innsbruck, Innsbruck, Ausztria; <sup>7</sup>Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Az immunellenőrző pontokat célzó ellenanyagok tartós klinikai választ idéznek elő az előrehaladott daganatos betegek egy részében, a betegek többsége azonban nem reagál a kezelésre, vagy a kezdeti kedvező reakciót követően rezisztencia alakul ki. A primer és szerzett rezisztencia kialakulásáért felelős mechanizmusok még kevésbé ismertek. Minthogy a HLA-I molekulák kulcsfontosságúak a citotoxikus T-limfociták antigénfelismerésében, vizsgálatunk célja a tumorsejtek HLA-I-expressziója potenciális biomarkerként való alkalmazhatóságának feltárása volt metasztatikus melanómás betegek ipilimumabterápiára adott válaszában és túlélésének megjóslásában. Emellett longitudinális vizsgálatot is végeztünk néhány beteg kezelés előtt és azt követően operált áttéteinek összehasonlításával. Kezelés előtti sebészi tumormintákban (30 betegből 50 nyirokcsomó- és 35 bőr-, ill. szubkután áttét) immunhisztokémiai módszerrel tanulmányoztuk a tumorsejtek HLA-I-expressziójának összefüggését a betegség kimenetelével, valamint egyes immunsejt-típusok (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup>, FOXP3<sup>+</sup>, PD-1<sup>+</sup>) infiltrációjának intenzitásával. A HLA-I-expresszió longitudinális vizsgálatához hat beteg 29 metasztázisa (18 kezelés előtti, 11 kezelés utáni) állt rendelkezésre. A melanómasejtek HLA-I-expressziója a nyirokcsomóáttétekben szignifikáns korrelációt mutatott a CD8<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> és PD-1<sup>+</sup> limfociták denzitásával, valamint a terápiás válasszal és a túléléssel; a bőr/sc. áttétek vizsgálatakor nem találtunk hasonló összefüggéseket. Az ipilimumabkezelés megkezdése előtt operált áttétekhez viszonyítva szignifikánsan alacsonyabb HLA-I-expressziós szintet detektáltunk a terápia után operált metasztázisokban; a csökkenés a kezelésre nem reagáló betegek progrediáló áttéteiben volt megfigyelhető. Vizsgálataink alapján a nyirokcsomóáttétekben a daganatsejtek HLA-I-expressziója potenciális biomarker az ipilimumabterápia hatásának megjóslására. Eredményeink szerint a tumorsejtek HLA-I-expressziójának összefüggése a betegség kimenetelével (hasonlóan az immunsejt-infiltráció prediktív értékével kapcsolatos korábbi megfigyelésünkhöz) a tanulmányozott áttétek lokalizációja szerint eltérő lehet. Vizsgálataink eredménye továbbá felhívja a figyelmet a csökkent HLA-I-expresszió szerepére az immunellenőrzőpont-gátlók alkalmazásakor megfigyelhető rezisztencia lehetséges mechanizmusaként.

Támogatás: NKFIH ANN 128524, K105132. Rövidítések: HLA: humán leukocita antigén, CD: cluster of differentiation

## A KISSEJTES TÜDŐRÁK MOLEKULÁRIS ALTÍPUSAINAK VIZSGÁLATA

**Döme Balázs**<sup>1,2,3</sup>

László Viktória<sup>2,3</sup>, Lantos András<sup>2</sup>, Valkó Zsuzsanna<sup>2,3</sup>, Bárány Nándor<sup>2,3,4</sup>, Pipek Orsolya<sup>5</sup>, Lang Christian<sup>3</sup>, Szeitz Beáta<sup>6</sup>, Szász Attila Marcell<sup>6,7</sup>, Schwendenwein Anna<sup>3</sup>, Bugyik Edina<sup>2</sup>, Paku Sándor<sup>4</sup>, Ferencz Bence<sup>1,2</sup>, Fillinger János<sup>2</sup>, Lohinai Zoltán<sup>2</sup>, Nicole Woldmar<sup>8,9</sup>, Moldvay Judit<sup>2</sup>, Gálffy Gabriella<sup>10</sup>, Rezeli Melinda<sup>8</sup>, Markó-Varga György<sup>8</sup>, Horvatovich Péter<sup>11</sup>, Bogos Krisztina<sup>2</sup>, Rényi-Vámos Ferenc<sup>1,2</sup>, Schelch Karin<sup>3</sup>, Megyesfalvi Zsolt<sup>1,2,3</sup>

- 1- Országos Onkológiai Intézet – Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország
- 2- Országos Korányi Pulmonológiai Intézet, Budapest, Magyarország
- 3- Bécsi Orvostudományi Egyetem, Bécs, Ausztria
- 4- Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest, Magyarország
- 5- Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest, Magyarország
- 6- Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország
- 7- Bioinformatika Tanszék, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország
- 8- Lundi Egyetem, Lund, Svédország
- 9- Rio de Janeirói Szövetségi Egyetem, Rio de Janeiro, Brazília
- 10- Tüdőgyógyintézet Törökbálint, Törökbálint
- 11- Groningeni Egyetem, Groningen, Hollandia

**Célkitűzés:** A kissejtes tüdőrák (SCLC) szisztémás kezelésében nem történt előrelépés az elmúlt három évtizedben. Az SCLC közelmúltban leírt molekuláris altípusainak vizsgálata új személyre szabott kezelések kifejlesztéséhez vezethet.

**Anyag és módszer:** A különböző alcsoportok klinikai relevanciájának és prognosztikai értékének vizsgálatához összesen 388, műtétileg kezelt SCLC beteg klinikopatológiai adatait és szövettani mintáit elemeztük immunhisztokémiai vizsgálatokkal. Továbbá, új altípus-specifikus terápiás célpontok és diagnosztikus markerek azonosítása céljából tanulmányoztuk 26 SCLC sejtvonal felülúszó frakciójának és sejtjelének fehérjeexpressziós mintázatát proteomikai módszerekkel.

**Eredmények:** Igazoltuk az SCLC-A, SCLC-N, és SCLC-P alcsoportok jelenlétét műtéti mintákon, valamint kimutattunk egy negyedik – SCLC-AN – és egy ötödik – négyszeresen negatív – alcsoportot. A magas ASCL1 expresszió rossz, míg a magas POU2F3 expresszió jó prognózissal társult univariáns modellünkben. A többváltozós Cox-regressziós modell alapján a magas ASCL1 expresszió független negatív prognosztikai tényezőnek is bizonyult ( $p=0,03$ ). Proteomikai elemzéseink során több mint 8500 fehérjét azonosítottunk sejtvonalanként. A fehérjeexpressziós mintázatuk alapján a négy molekuláris alcsoport egyértelműen elkülöníthető volt egymástól és ezen alcsoportok különböző neuroendokrin, illetve epithélialis-mezenchimális jellegzetességekkel rendelkeztek. Összesen 367 altípus-specifikus fehérjét észleltünk, melyek alul- vagy felülexpresszáltak voltak egy-egy altípusban. A magas POU2F3 fehérjeexpresszióval rendelkező sejtvonalak érzékenyek bizonyultak a platina-alapú kemoterápiás szerekkel szemben, míg az emelkedett YAP1 fehérjeexpresszió platina-rezisztenciával társult. A szubtípus-specifikus fehérjék szintje befolyásolta a célzott terápiás ágensekkel szembeni érzékenységet is.

**Következtetések:** Az SCLC különböző altípusokba sorolható az ASCL1, a NEUROD1, valamint a POU2F3 expressziós profiljának függvényében. Egyes altípus-specifikus markerek prognosztikai értékkel is bírnak, valamint fehérje-szintű expressziójuk összefügg bizonyos kemoterápiás- és a célzott terápiás szerek *in vitro* hatékonyságával.

## A RAS JELÁTVITEL A CÉLKERESZTBE: A SEJTMEMBRÁNTÓL AZ ÁTTÉTKÉPZÉSIG

**Hegedűs Balázs<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Semmelweis Egyetem, II. Patológiai Intézet, Budapest

<sup>2</sup> Universität Duisburg-Essen, Ruhrlandklinik, Essen, Németország

A RAS jelpálya kiemelkedő onkológiai jelentőségének legjobb bizonyítéka, hogy a leggyakoribb és legrosszabb prognózisú daganatokban számos onkogén mutáció fordul elő vagy magukban a Ras fehérjékben vagy a működésüket szabályozó molekulákban (epidermális növekedési faktor, neurofibromin) vagy a RAS által szabályozott fehérjékben (BRAF, MEK). A jelen összefoglalóban bemutatjuk a KRAS és EGFR mutációk szubtypusainak klinikai jelentőségét a tüdő adenokarcinómákban. Emellett kitérünk a RAS és más kis G-fehérjék membrán lokalizációját befolyásoló kezelések hatására mind preklinikai és klinikai vizsgálatainkban. Végül pedig bemutatjuk a jelpálya onkogén mutációinak a direkt gátlását és az a priori vagy szerzett rezisztencia kiküszöbölésére tett erőfeszítéseket.

## AZ EGF RECEPTOR VÁLTOZATAINAK MEGJELENÉSE ÉS AZOK HATÁSA A CÉLZOTT TERÁPIÁKRA FEJ-NYAKI DAGANATOKBAN

**Tóvári József**

Kísérletes Farmakológiai Osztály, Országos Onkológiai Intézet, Budapest

A fej-nyaki laphámsejtes karcinóma (HNSCC) hazánkban a 3. leggyakoribb malignus daganat férfiakban. Etiológiájában szerepet játszik a dohányzás, az alkoholfogyasztás és a HPV infekció. A daganatokban expresszálódó epidermális növekedési faktor receptornak (EGFR) kitüntetett szerepet tulajdonítanak a progresszióban és terápiában. Azonban a célzott EGFR-ellenes kezelések gyakran hatástalanok, amelyek hátterében többféle ok is sejthető: expressziós különbségek, valamint genetikai eltérések a receptorban.

Ezért munkánk során célul tűztük ki az EGFR expressziójának és genetikai variációinak vizsgálatát, valamint ezek lehetséges hatásait az anti-EGFR terápiákban sejtes- és kísérletes daganatmodellekben, valamint klinikai mintákban.

Vizsgálatainkba HNSCC sejtvonalakat, különböző lokalizációjú daganatmintákat, valamint 117 EPF (Erbitux-Platinum-5FU) terápiában részerült beteg patológiai mintáit vontuk be. Meghatároztuk az EGFR fehérje expresszióját, vizsgáltuk a tirozin-kináz (TK) domain, valamint az R521K és az EGFRvIII variánsok megjelenését. *In vitro* és *in vivo* teszteltünk különböző EGFR-, vagy annak szignálútjában található molekula ellenes vegyületet. *In vitro* vizsgáltuk az antitest-függő citotoxicitás (ADCC) lehetséges szerepét a cetuximab terápiában, valamint a klinikai anyagban is meghatároztuk az ADCC-ben szerepet játszó immunsejtek eloszlását.

A lokalizáció függvényében az EGFR-expresszió nagyfokú heterogenitást mutat, amely korrelál a prognózissal. HPV jelenlétét az orális régióban, génamplifikáció túlnyomórészt a hypopharynxban volt kimutatható. TK domain- és vIII mutáció elvétve fordult elő, és nem találtunk RAS mutációt sem a mintákban. Egyedül az R521K polimorfizmus megjelenése volt számottevő, amely expressziója a kísérletes daganatokban korrelált a tumorok cetuximab rezisztenciájával és az ADCC-vel, de a klinikai mintákban ezt nem lehetett kimutatni. Ugyanakkor kísérletesen a cetuximab-rezisztens tumor TK-inhibítorral és cMET gátlóval kezelhető volt.

Eredményeink felvetik az EGFR-R521K polimorfizmus jelentőségét, ami akár markere is lehetne a cetuximab terápia tervezésének.

A fenti eredmények az NKFIH K116295 sz. kutatási pályázat támogatásával készültek.

## MYELOMA MULTIPLEX PROGRESSZIÓJA ÉS DISSZEMINÁCIÓJA A CITOTOXIKUS IMMUNVÁLASZ KÁROSODÁSÁVAL JÁR EGÉR BEN

### Kellermayer Zoltán<sup>1</sup>

Natalie Papazian<sup>1</sup>, Madelon M. E. de Jong<sup>1</sup>, Cathelijne Fokkema<sup>1</sup>, Sabrin Tahri<sup>1</sup>, Chelsea Den Hollander<sup>1</sup>, Pieter Sonneveld<sup>1</sup>, Tom Cupedo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands

### Bevezetés

Myeloma multiplex (MM) egy gyógyíthatatlan plazma sejt tumor. A tumor progresszióját és relapszusát befolyásoló tényezők pontos ismerete elengedhetetlen az új célzott terápiák kialakításához. Ennek ellenére nem ismert részleteiben, hogy melyek a hatékony myeloma-ellenes immunválasz kialakításában fontos szerepet játszó sejt és molekuláris elemek. Munkánkban egy egér tumor-transzfer MM modellben vizsgáltuk az immunválasz szerepét myeloma kialakulásában és progressziójában.

### Eredmények

C57Bl/6 egereknek  $10^6$  5TGM1-GFP egér myeloma sejtet adtunk intravénásan. A tumor kialakulását heti szérum M-protein méréssel követtük. 21 nappal a tumorsejtek transzfere után az egerek 61%-ában alakult ki tumor. A tumoros állatok 73%-ában kisméretű ("mérsékelt") tumor, 27%-ában pedig nagymértékű tumort észleltünk. Lép érintettség 18%-ban fordult elő. Hosszabb követési idő során változatlan tumor előfordulás (59%) mellett alacsonyabb mérsékelt tumor (29%) és magasabb nagymértékű tumor (71%) arányokat észleltünk.

Egy-sejt RNS szekvenálással és áramlási citometriával a mérsékelt tumorra rendelkező állatokban egy aktívabb NK sejt és citotoxikus T sejt profilt észleltünk, és mindkét sejttípus fokozott  $IFN\gamma$  szignalizációt mutatott. Nagyméretű tumorra rendelkező egerekben alacsonyabb volt az aktivált NK sejtek száma, míg a citotoxikus T sejtek csökkenését a lép érintettsége esetén észleltük.  $IFN\gamma$  neutralizálás hatására emelkedett a tumor előfordulása (82%), a nagyméretű tumor aránya (56%), és a lép érintettség is (56%).

### Megbeszélés

Jelen eredményeink arra utalnak, hogy MM progressziója során egy kísérleti modellben mind a veleszületett, mind az adaptív immunválasz károsodik. A tumor beadása egy kezdeti hatékony citoxikus immunválaszt indukál, mely idővel károsodhat és így a tumor terjedését teszi lehetővé. A jövőben ezzel az állatmodellel vizsgálhatjuk, hogy milyen mechanizmussal károsodik myelomában a hatékony immunválasz.

### Rövidítések

GFP	zöld fluoreszcens protein
$IFN\gamma$	interferon gamma
MM	myeloma multiplex





MULTIPLEX IMMUNOPHENOTYPING BY SINGLE-CELL MASS CYTOMETRY IN  
CHRONIC INFLAMMATORY CONDITIONS

**Gabor J. Szebeni**<sup>1,2,3</sup>, József Á. Balog<sup>1,4</sup>, Patrícia Neuperger<sup>1,4</sup>, Nikolett Gémes<sup>1,4</sup>, Enikő Szabó<sup>1</sup>, Edit Kotogány<sup>1,4</sup>, Klára Szalontai<sup>4,5</sup>, Benedek Rónaszéki<sup>6,7</sup>, László Tiszlavicz<sup>8</sup>, József Furák<sup>9</sup>, Attila Balog<sup>10</sup>, László Kovács<sup>10</sup>, László G. Puskás<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biological Research Centre, Szeged

<sup>2</sup> Department of Physiology, Anatomy and Neuroscience, Faculty of Science and Informatics, University of Szeged, Szeged

<sup>3</sup> Cs-Smartlab Devices Ltd, Kozármisleny

<sup>4</sup> PhD School in Biology, University of Szeged, Szeged

<sup>5</sup> Csongrád County Hospital of Chest Diseases, Deszk

<sup>6</sup> PhD Program of the Advanced Therapies and Experimental Pharmacology University of Ferrara, Italy

<sup>7</sup> 2nd Department of Medicine and Cardiology Center, University of Szeged, Szeged

<sup>8</sup> Department of Pathology, University of Szeged, Szeged

<sup>9</sup> Department of Surgery, University of Szeged, Szeged

<sup>10</sup> Department of Rheumatology and Immunology, Faculty of Medicine, Albert Szent-Györgyi Health Centre, University of Szeged, Szeged

High resolution measurement characterizing the large number of cellular features is in the focus of recent cell biological research. To achieve these goals single cell mass cytometry (SCMC) combines advantages of the single cell resolution of fluorescence-based flow cytometry with the multiplexicity of inductively coupled plasma-mass spectrometry. Extensive mapping of signaling networks in single cells, surface receptor quantification is achieved by SCMC. Our group applies SCMC to monitor chronic inflammatory conditions from the spectra of immunoregulatory diseases from tolerance (cancer) to systemic autoimmune diseases.

Among the first groups we have developed SCMC panel for adenocarcinoma cells and showed the advantages of three-dimensional cultures or revealed intratumor heterogeneity with the first report on the expression of TMEM45A in human lung adenocarcinoma. We adopted mass cytometry to analyze the single cell drug response of primary acute myeloid leukemia to our patented imidazole pyrazole carboxamide. Using SCMC, we have shown the immunomodulatory role of low-dose cisplatin in a murine model of breast cancer. Our group was the first to develop SCMC panel for *Drosophila* hemocytes. Our results revealed SCMC profile of innate immune cells with tumor suppressor deficiency or cancer driver mutation relevant for human genes. We developed custom SCMC panel for the multiple comparison of rheumatoid arthritis, systemic scleroderma and systemic lupus erythematosus-derived PBMCs.

Molecular profiling and integration of multi-omics data prospectively is a novel approach to stratify patients with clinically heterogeneous diseases. Our approach could identify novel candidates of the molecular basis of the disbalance in the regulation of immune homeostasis.

Funding: 2020-1.1.6-JÖVŐ-2021-00003



**SPATIAL BIOLOGY IN DIFFERENTIAL TUMOR DIAGNOSTICS AND THE ROLE OF 3D BIOPRINTING**

**Judit E Pongracz**

Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, University of Pecs, Pecs, Hungary

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is frequently diagnosed at an advanced disease stage resulting in limited treatment options, poor prognosis, and unacceptably high mortality. Despite modern treatment modalities, palliative chemotherapy is recommended to patients from disease stages IIIA or above. Although regularly improved international guidelines exist, the individual decision is important and is based on the patient's overall health status, tumor parameters and the potential risk/benefit of the selected therapy. The individual therapy response, however, remains hard to predict.

Meticulous collection of clinical data and tumor information accumulated by spatial biology techniques as well as 3D tissue cultures started to reveal a more accurate picture identifying markers for personalized clinical decision making.

### 3D SZÖVETNYOMTATÁS A PRE-KLINIKAI KUTATÁSOKBAN ÉS A DIAGNOSZTIKÁBAN

**Veréb Zoltán<sup>1</sup>**

Szegedi Tudományegyetem, Regeneratív Medicina és Celluláris Farmakológiai Kutató Laboratórium, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

A gyógyszer kutatás-fejlesztés egyik legfontosabb eleme, hogy a potenciális hatóanyag, gyógyszermolekula hatékonyságát, esetleges toxikológiai tulajdonságait még a klinikai vizsgálatok előtt meghatározzák. Ez egyre inkább előtérbe kerül, az állatkísérletekre vonatkozó jogi és etikai szabályozások változásával, ugyanakkor nagy kihívás elé néz az *in vitro-in vivo* korrelációk javítására megjelenő igények és új technológiák miatt.

A konvencionális sejtkultúrákon végzett vizsgálatok nem modellezik pontosan az *in vivo* körülményeket, a gyógyszerek metabolizmusa, hatásmechanizmusa és toxicitása megváltozhat a sejtek biokémiai tulajdonságaival egyetemben. Különösen igaz ez a tumorsejtek esetében. Erre nyújthat megoldást a háromdimenziós rendszerek használata, mint a hidrogél-sejtkultúrák, spheroid rendszerek és a (3D) szövetnyomtatás, mely utóbbi alkalmas olyan szövet és szerv modellek létrehozására, melyek megközelítik az eredeti szövetek térbeli szerkezetét és biokémiai tulajdonságait is. Az így előállított mesterséges szövetek az eddigi vizsgálatok alapján jobb és az *in vivo* körülményeket megközelítő eredményeket produkáltak összehasonlítva a hagyományos 2D rendszerekkel. A tumorsejtek életképessége növelhető, felhasználhatók a pre-klinikai vizsgálatokban, modern high-throughput mérésekben, lab on a chip, organ on a chip rendszerekben is.

Az években megjelentek a 3D nyomtatott bőr, vese, szív, tüdő, tumor modellek és meg kell említenünk a bizonyos betegségtípusra jellemző sejteket tartalmazó „betegségmodell szöveteket” is. Fontos kiemelni, hogy a mesterséges szövetek létrehozása még nem standardizált folyamat, a szövet struktúrája nagyban függ a nyomtatás technológiájától, a szövetben található sejttípusoktól és az alkalmazott bioscaffoldoktól is. A 3D nyomtatás azonban bizonyosan forradalmasítja a gyógyszerkutatás és a diagnosztika területét, hiszen az első mesterséges szöveteket már klinikai vizsgálatokban is tesztelték és évek óta forgalomban vannak már a 3D nyomtatással előállított gyógyszerek is.

## 3D BIOPRINTED TUMOR MODELS IN METABOLIC ADAPTATION STUDIES

**Anna Sebestyén**, Titanilla Dankó, Dániel Sztankovics, Dorottya Moldvai, Regina Raffay, Gábor Petővári

Semmelweis University, Pathology and Experimental Cancer Research

Studying tumor progression including alterations related to the developing therapy resistance is not simple, especially in in vitro model systems. Dynamic changes in tumor microenvironment and tumor heterogeneity influence tumor evolution, it is difficult to model these phenomena in traditional 2D cell culture and even in in vivo experiments. Our research group studies the metabolic heterogeneity of tumor tissue, the metabolic plasticity of tumor cells and their targetable options in in vitro and in vivo, as well. For these works 3D bioprinting of tumor cells and bioprinted long-living tissue models have been established in our laboratory.

Adapting different bioinks and methods tumor cell growth (in vitro proliferation assays), morphological changes (tissue blocks, pathomorphology studies and confocal microscopy), biochemical and bioenergetic alterations (MS and protein expression studies) were studied in bioprinted tissue mimetic in vitro cultured structures, traditional 2D cell, hanging drop, spheroid gel cultures. The metabolic enzyme expression profile (Western blot, WeS Simple, immunostainings) and the drug sensitivity and long-term treatment possibilities were also analyzed. Additionally, the results especially 3D bioprinted model characteristics, were compared to in vivo xenograft models.

The 3D bioprinted rafts can grow cell-type dependently (breast, kidney, lung, colon carcinoma cell lines and glioma cell were tested) for 2-3 weeks, therefore, these cultures are suitable to test long-term treatments with metabolic and other growth inhibitors, as well. Based on our in vivo metabolic expression and doxorubicin/cisplatin sensitivity studies, 3D bioprinted models represent a better the in vivo situation. Accordingly these are comparable with the in vivo expression changes and toxicity results.

Regarding to these observations, 3D bioprinted models can be suggested in future tumor progression and drug sensitivity tests, antitumor substance preselection and toxicity experiments.

Supports: NKFIH-FK128404; ED\_17-1-2017-0009

Abbreviations: 2D – two dimensional, 3D – three dimensional, MS – mass spectrometry