

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A kadaverin és litokólsav- két bakteriális metabolit- melyek
csökkentik az emlődaganatok agresszivitását**

Kovács Tünde

Témavezető: Dr. Bay Péter



DEBRECENI EGYETEM

Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

Debrecen, 2019

**A kadaverin és litokólsav- két bakteriális metabolit- melyek csökkentik az
emlődagaganatok agresszivitását**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
Az Elméleti Orvostudományok tudományágban*

Írta: Kovács Tünde okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudomány doktori iskolája
(Jelátviteli folyamatok sejt- és molekuláris biológiája programja) keretében

Témavezető: Dr. Bay Péter, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Csernoch László, az MTA doktora
tagok: Dr. Mádi András, PhD
Dr. Sipeki Szabolcs, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Élettani Intézet könyvtára
2019. június 13. 11:00 óra

Az értekezés bírálói: Prof. Dr. Nagy Péter, az MTA doktora
Dr. Pankotai Tibor, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Csernoch László, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Nagy Péter, az MTA doktora
Dr. Mádi András, PhD
Dr. Pankotai Tibor, PhD
Dr. Sipeki Szabolcs, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2019. június 13. 13:00 óra

BEVEZETÉS

Emlődaganatos megbetegedések világszerte

Az utóbbi évtizedekben az emlődaganat előfordulása példátlan magasságokba emelkedett, ezáltal a harmadik leggyakoribb betegségnek tekinthető világszerte. Manapság az emlőrák a nők leggyakoribb daganat típusa, és az ötödik leggyakoribb halálozási ok világszerte. 2008 és 2012 között az emlődaganat előfordulása 20 %-kal, halálozási aránya pedig 14 %-kal emelkedett a korábbi évekhez képest. Az emlődaganatos megbetegedések száma 0.5-1 %-kal növekszik minden évben, előfordulása földrajzi és gazdasági megoszlást mutat.

Habár az emlődaganatok csaknem 70 %-ának oka tisztázatlan marad, számos tanulmány szerint fő kockázati faktorai a nem, a kor (35 és 65 év között magasabb rizikó) és a genetikai háttér. A genetikai, epigenetikai és környezeti faktorok jól körülhatárolt kockázati faktoroknak számítanak, pl. a BRCA1/2 gén örökletes elvesztése, magas IGF-1 kifejeződés, *in situ* carcinoma jelenléte, magas zsírtartalmú ételek és alkoholfogyasztás, sugárveszély vagy az elhízás. További fő kockázati faktor a hosszú ideig tartó hormon expozíció, pl. hormonális fogamzásgátlók szedése, hormon terápia, serdülőkor, terhesség és menopauza. Ezzel ellentétben a korai gyermekvállalás (18 év előtti szülés), szoptatás, rendszeres mozgás, a káros szenvedélyek kerülése és a rostban gazdag élelmiszer fogyasztása csökkentheti a fogékonytárat az emlődaganatra.

Az emésztőrendszeri mikrobiom és kapcsolata az emlődaganattal

Az ember emésztőrendszerében számos baktériumfaj ($\sim 10^{14}$ baktérium) él. A baktériumok együttes genomja 150-szer több gént tartalmaz, mint az ember saját genomja. Egy átfogó tanulmány 9.9 millió mikrobiális gént azonosított az emberi székletből. Ezért az emberi bél mikrobiomja optimális modell a gazdaszervezet-mikrobiom-betegség kapcsolatok vizsgálatára és tanulmányozására.

Az ember emésztőrendszerében élő mikroorganizmusok segítenek az emésztésben, az anyagcserében, és fontos szerepet játszanak a szervezet egészségének fenntartásában. Meghatározó szerepük van a szervezet érésének folyamatában, immunreakciókban, patogén baktériumok elleni védekezésben,

fenntartják a belek barrier funkcióját, befolyásolják a sejtek szaporodását és az érzékdződést, szabályozzák a belek endokrin funkcióját, az idegrendszer jelátviteli folyamatait, csontsűrűséget, segítik az energiatermelést, vitaminokat és neurotranszmittereket szintetizál, epesavakat mozgósít, gyógyszereket és drogokat módosítanak, valamint hatástalanítják a külső eredetű mérgeanyagokat.

Mindemellett, számos külső és belső tényező befolyásolja a mikrobiomot, ilyenek a kor, étrend, genetikai jellemzők, a baktériumok kolonizációja, higiénia, antibiotikumok és xenobiotikumok szedése, stressz és utazás. Az emésztőrendszeri mikrobiom diszbiózisa – a mikrobiom szerepének változása vagy összetételének eltolódása – számos betegséggel hozható kapcsolatba. Habár a közvetlenül daganatkeltő baktériumok száma rendkívül alacsony (néhány 10 baktérium faj), a mikrobiom diszbiózisa összefüggést mutat különböző bőr-, bél-, húgyúti-, méhnyak-, tüdő-, prosztata-, nyirokrendszeri- és elődaganatokkal. Még tisztázatlan, hogy a mikrobiomban bekövetkező változások következményei vagy kiváltó okai bizonyos krónikus megbetegedéseknek. Néhány tanulmány azonban azt mutatja, hogy egyes baktériumfajok jelenléte, vagy más baktériumfajok mennyiségének megváltozása patogén következményeket von maga után, segítve a betegség kialakulását/fejlődését.

Az emberi bél-mikrobiom és emlődaganat közötti összefüggést számos esettanulmány vizsgálja, habár ezen tanulmányok száma eléggé korlátozott. Néhány publikáció szerint emlőrákban az immunrendszer gyengesége mellett a mikrobiom metabolikus képességének nagymértékű csökkenése figyelhető meg. Egy esettanulmány, mely egészséges és emlődaganatos páciensek székletének mikrobiomját hasonlítja össze, jelentősen megváltozott mikrobiom összetételt és kisebb fajgazdagságú mikrobiomot ír le az emlődaganatos páciensek esetében. Mi több, csökkent fajgazdagság mutatható ki elhízott emberek mikrobiomjában is, az elhízás pedig az emlőrák egyik jól ismert kockázati tényezője. Számos tanulmány mutatja, hogy a baktériumok számában és összetételében bekövetkező változások nem csak egészséges és emlődaganatos emberek között figyelhetők meg, hanem egyes emlődaganat stádiumok között is.

Epiteliális-mezenchimális tranzíció (EMT)

Általánosságban az EMT egy olyan folyamat, melynek során az epiteliális sejtek mezenchimális jellegűvé válnak, elveszítik apikális-bazális polaritásukat, a sejt-sejt kapcsolatokat és invazív tulajdonságúvá válnak. Az EMT befolyásolja a sejtek mozgásképességét megváltoztatva a sejt-sejt kapcsolatot és a sejt-extracelluláris mátrix adhéziót szabályzó molekulákat. EMT során az epiteliális jellegű citokeratin-alapú intermedier filamentum hálózat vimentinnel (VIM) helyettesítődik, aktin stressz filamentumok alakulnak kis, a sejtek orsó alakúvá válnak, miközben a mezenchimális N-kadherin fehérje expressziója fokozódik, ellenben az epiteliális E-kadherin expressziós szintje csökken.

Az onkogén EMT tumorsejtekben figyelhető meg, a tumor fejlődését és metasztázis képzését szabályozza, irányítja a sejtek bazális membránon történő áttörését és a keringési rendszerbe történő bejutását. Az onkogén EMT számos emlőtumor modellben megfigyelhető, fontos szerepet játszik a sejtek inváziójában és metasztázis képzésében. Az EMT szabályozók (génmutációk, jelátviteli molekulák, transzkripciós faktorok) elősegítik a távoli metasztázisok képződését – többnyire a májba, agyba, csontokba és tüdőbe – rossz prognózist eredményezve. A távoli áttétek általában epiteliális jellegűek, és nagyobb fokú differenciáltság jellemzi, mint az elsődleges (primer) tumorokat, ami azt sugallja, hogy az EMT után a fordított mechanizmus (MET) is lejátszódott.

A mellrák őssejtek központi szerepet játszanak a tumornövekedésben, a metasztázis képzésben (EMT), a kezeléssel szembeni ellenállásban és a betegség kiújulásában. Az őssejtek aránya minden emlődaganat típusban különböző. Általában kis számban vannak jelen (pl. 4T1 egér emlőcarcinoma), míg bizonyos sejtípusoknál akár a 25%-ot is elérhetik (pl. SKBR-3 humán emlőtumor). Az emlőrák őssejtek invazív gén expressziós profilt mutatnak, melyhez megnövekedett áttétképző képesség és gyenge túlélési esély társul. A mellrák őssejtek önmegújító képességgel rendelkeznek, és vagy szimmetrikusan osztódnak további őssejteket létrehozva, vagy aszimmetrikus osztódással progenitor sejteket generálnak, melyek más tumor sejt típusokká tudnak differenciálódni. A mellrák őssejteket megnövekedett proliferációs ráta jellemzi, mi több, ellenállnak az apoptotikus szignáloknak, ezáltal csökkentik a sebészeti eljárások, a sugárterápia és a kemoterápia hatékonyságát. Az őssejtek különböző mikro környezeti stimulusok hatására különböző biokémiai változásokon mennek keresztül. Az aerob

glikolízis (Warburg mechanizmus) mellett az őssejtek, ha szükséges képesek fokozni az oxidatív foszforilációt, a zsírsav lebontást vagy a glutamin lebontást.

Összességben tehát az EMT különböző módokon képes elősegíteni a tumorképződést: A) támogatja az invazív és apoptózisgátló mechanizmusokat, így segítve a metasztázisok kialakulását, B) szerkezeti és biokémiai változásokat indukál a tumor mikrokörnyezetben, és C) EMT szabályzók által elősegíti az őssejt jellegű sejtek képződését.

A bélrendszer mikrobiális metabolitjai

Habár a tumorok többsége olyan szerveket érint, melyek közvetlen kapcsolatban állnak a mikrobákkal, a legújabb kutatások szerint a baktériumok távoli szervekben is kifejthetik hatásukat bakteriális metabolitok által. Ezek a metabolitok, melyeket a mikrobiom termel, felszívódnak és belépnek a keringési rendszerbe, a vérkeringés által eljutnak távoli szervekhez, ahol kifejtik a hatásukat.

Dekonjugált ösztrogén származékok, lipopoliszaharidok, másodlagos epesavak és rövid szénláncú zsírsavak részt vesznek a tumorsejtek proliferációjában és transzformációjában, habár a mechanizmus, melyen keresztül ezek a metabolitok kifejtik hatásaikat még javarészt ismeretlen. Számos metabolitot azonosítottak a baktériumok saját metabolitjaiként (pl. rövid szénláncú zsírsavak), míg mások a gazdaszervezet módosított anyagcsere termékei (pl. másodlagos epesavak, aminosav származékok). Néhány esetben mind a mikrobiom mind a gazdaszervezet képes előállítani ugyanazt az anyagot (pl. biológiailag aktív aminok). Feltételezzük, hogy ezek a bakteriális metabolitok – melyek a bélrendszerben keletkeznek – a véráram útján eljutnak az emberi test távoli részeiben elhelyezkedő tumorsejtekhez. Ezek a biológiailag aktív metabolitok képesek megváltoztatni a tumorsejtek gén expressziós profilját vagy a jelátviteli folyamatait, ezáltal befolyásolják a tumorsejtek jellemvonásait.

A kadaverin szerepe emlődagatokban

A biológiailag aktív aminok az aminosavak lebontási termékei. A poliaminok, mint a kadaverin, putrescin, spermin, spermidin tartoznak ebbe a csoportba. A poliaminok mennyisége és összetétele fajok között nagymértékben eltér, például a kadaverin jól

meghatározott növényekben és baktériumokban, viszont alacsony mennyiségben van jelen minden más fajban, ellenben a sperminnel, spermidinnel és putreszcinnel. A sejten belüli poliamin szint szigorúan szabályozott a szintézis, transzport és lebontás által. A poliaminok elsősorban a metionin, ornitin és lizin lebontásából származnak, a lebontó enzim az aminosav dekarboxiláz.

A kevésbé gyakori biogén amin, a kadaverin az L-lizin nevű aminosav direkt dekarboxilálásával keletkezik, melyet a lizin dekarboxiláz (LDC) katalizál. A kadaverin szérum koncentrációja normális esetben 0.1 - 0.8 μM . A kadaverin jelentős szerepet játszik a sejt túlélésében savas körülmények között, jelátvitelben, stresszválaszban, a sejtek növekedésében és fejlődésében, proliferációban és tumorképződésben. Mi több, a kadaverin a sejtfal nélkülözhetetlen összetevője, baktériumokban fontos szerepet játszik a külső membrán és a peptidoglikán réteg közötti szerkezeti kapcsolat kialakításában.

A LDC széles körben elterjedt mind prokarióták mind eukarióták körében. *Escherichia Coliban* 2 fajta LDC-t azonosítottak: konstitutívan termelő LdcC-t és savindukált CadA-t. A két dekarboxiláz szekvenciálisan konzervált, 69%-os azonosságot mutat, habár az optimális pH tartományuk, stabilitásuk és dekarboxiláz aktivitásuk eltér egymástól. *E. coliban* az optimális kadaverin koncentráció a kadaverin-szabályozórendszer által van fenntartva, melynek 2 fő komponense: a cadBA operon – ami a lizin decarboxilázt (CadA) és a lizin/kadaverin antiportert (CadB) kódolja – és a szabályzó belső membrán proteint (CadC) kódoló pH érzékelő.

Legújabb tanulmányok szerint trace-amin kapcsolt receptorok (TAAR) ismerik fel a biogén aminokat. Először, zebrahalakban azonosították a TAAR13c-t, mint kadaverin érzékelő receptort. Minden TAAR (kivéve a TAAR1) szaglóhám receptorként működik rágcsőkbán, főemlősökben és halakban, és erős evolúciós kapcsolatot mutatnak a biogén amin G-fehérje kapcsolt receptorokkal (GPCR). Emlősökben a TAAR13c hiányzik, ezért a szerepét más TAAR-ek veszik át. Ebben az esetben más TAAR-okat azonosítottak szekvenciálisan, melyek képesek a kadaverin felismerésére. A TAAR13c-nek két fő jellemzője van, ami alkalmassá teszi a kadaverin megkötésére: egy negatívan töltött Asp_{3,32} – ami az amin felismerését szolgálja – és egy második aszpartát az 5.42-es vagy az 5.43-as pozícióban. Ezekben a molekuláris tulajdonságokon alapuló tanulmányok hasonló TAAR-okat azonosítottak az emberben (TAAR6 és TAAR8),

egérben (TAAR6 and TAAR8b) és patkányban (TAAR6 and TAAR8a), melyek reagálhatnak a kadaverinre. Emberben a TAAR1 leginkább az agyban fejeződik ki, és – a TAAR2-vel együtt – fontos szerepet játszik az amin-indukált leukocita válaszok szabályozásában. A TAAR3, TAAR4 és TAAR7 pszeudogének, a TAAR5 nagy érzékenyséű szaglőreceptor, a TAAR6 skizofréniával és bipoláris betegségekkel hozható összefüggésbe, míg a TAAR8 gyakran TAAR1 agonistákat és downstream jelátviteli utakat befolyásol. A TAAR9 a humán populáció nagyrészében funkcionális receptorként működik, habár a TAAR-ek által befolyásolt feladatok és jelátviteli utak nagyrészt ismeretlenek. Habár a TAAR család más GPCR-ekhez képest kevésbé tanulmányozott, egy legutóbbi tanulmány rávilágít a kapcsolatra a TAAR1 overexpresszió és az emlődagyanatos betegek túlélési esélye között, ami azt sugallja, hogy a TAAR családnak fontos szerepe lehet az emlődagyanat patológiájában.

Epesav biotranszformáció és a litokólsav (LCA)

Az epesavak a máj hepatocitáiban szintetizálódnak koleszterinből. A két fő elsődleges epesav – a kólsav (CA) és a kenodezoxikólsav (CDCA) – az emberi májban képződnek, majd taurinnal vagy glicinnel konjugálódnak. Az ionizált epesav sók ezt követően az epehólyagba jutnak, ahol koncentráálódnak. Az epesavak hatékony detergenssek, étkezés után kiválasztódnak a vékonybélbe, ahol elősegítik a zsírok és zsírolékony vitaminok bontását, emésztését és felszívódását. Az epesavak több mint 95%-a felszívódik a vékonybélből, és visszajut a májba, ahol újrahasznosul. Ezt a folyamatot „enterohepatikus körforgás” -nak nevezzük, amely naponta 4-20 alkalommal megy végbe. Habár az epesavak felszívódása nagyon hatékony (95%), mégis 200-600 mg epesav só hagyja el naponta az enterohepatikus körforgást és válik bakteriális átalakítás szubsztrátjává a bélben. Az epesavak átalakítását epesav hidroláz (BSH) és hidroxiszteroid dehidrogenáz (HSDH) enzimek végzik, melyeket a baktériumok állítanak elő. A másodlagos epesavak – dezoxikólsav (DCA) és LCA – a CA és a CDCA bakteriális 7 α / β -dehidroxilációjával (7 α / β -HSDH) keletkeznek.

A legfontosabb bakteriális epesav biotranszformáció a bélben a 7 α -dehidroxiláció, habár néhány anaerob bélbaktérium képes 7 α -és 7 β -dehidroxilációra egyaránt. Az LCA egy hidrofób másodlagos epesav, mely a CDCA 7 α -dehidroxilációjával vagy az urzodezoxikólsav (UDCA) 7 β -dehidroxilációjával keletkezik a mikrobiom által. A

dekonjugált LCA nagyrésze távozik a széklettel, ezért humán székletmintákban nagymértékben fordul elő.

Az epesav-indukált (bai) operon egy nagyfokú konzerváltságot mutató összetett gén organizációs rendszer, amelyben a baiH kódolja az LCA előállításért felelős enzimet (3-dehidro-4-7 β -oxidoreduktáz). Az LCA különböző receptorokon keresztül fejti ki hatását (farnesoid X receptor, liver X receptor, pregnane X receptor, constitutive androstane receptor, D vitamin receptor vagy G fehérje-kapcsolt epesav receptor). Ezek a receptorok keresztül az LCA számos hatást kifejthet. Aktiválhat különböző jelátviteli utakat (sejthalál vagy túlélés), befolyásolja az energia háztartást, a gyulladásos válaszreakciókat és megvédi a bélrendszer nyálkahártyáját a bakteriális fertőzésektől (antimikrobiális tulajdonság).

A másodlagos epesavak - melyeket a bélflóra termel – megjelenik a perifériás szövetekben, mint pl. a májban, vesében, szívben, ahol hormonszerű hatásokat vált ki. A legfrissebb tanulmányok szerint számos ráktípussal, epekőképződéssel, krónikus gyulladásos betegségekkel állhat kapcsolatban. Az LCA szérumban lévő referencia tartománya 30-50 nM, habár a mellszövetben magasabb LCA koncentrációt (~1 μ M) állapítottak meg.

CÉLKITŰZÉS

A bél mikrobiom által termelt bakteriális metabolitok (köztük az LCA és a kadaverin) jelentős szerepet játszik a gazdaszervezet anyagcseréjében és energia háztartásának szabályozásában, miközben számos külső és belső tényezőt keresztül (étrend, higiénia, immunrendszer stb.) a gazdaszervezet szintén képes szabályozni a mikrobiomot. Ezek a metabolitok – a véráram útján – képesek eljutni és hatást gyakorolni olyan tumorsejtekre, melyek az emberi szervezet távoli részein helyezkednek el. Értekezésemben a mikrobiom-gazdaszervezet-emplődaganat közötti kapcsolatokat vizsgáltam.

Céljaink voltak:

- Különböző típusú emplődaganatos sejtvonalakon tanulmányozni az LCA és a kadaverin hatását.
- Azonosítani a folyamatot, mely során ezek a bakteriális metabolitok kifejtik hatásaikat.
- Egérkísérletben vizsgálni a fent említett metabolitok biológiai hatásait, valamint vizsgálni a tumor jellemzőiben bekövetkező változásokat.
- Megmérni az LCA szintjét emplődaganatban.
- Megvizsgálni a metabolitokat termelő enzimek/baktériumok mennyiségét emplődaganatos mintákban.

EREDMÉNYEK

A KADAVERIN HATÁSAI EMLŐDAGANATBAN

A kadaverin kezelés egerekben csökkenti a metasztázis képződést

Első lépésként vizsgáltuk 4T1-oltott (200000 sejt/egér) BALB/c egerekben a kadaverin szájon át történő adagolásának hatásait. A kadaverin etetés (500 nmol/kg p.o. q.d.) nem befolyásolta az primer tumorok számát, de kisebb volt azok tömege, valamint mind a metasztázisok számában mind pedig tömegében csökkenés volt megfigyelhető a kadaverin-kezelt egerekben a kontroll egerekhez (sterilizált csapvíz adagolás) képest.

A kadaverin kezelés továbbá csökkentette a primer tumorok invazivitását, beszűrődését a környező szövetekbe. A primer tumorok szövettani elemzése rávilágított, hogy a kadaverin kezelés csökkenti az osztódó sejtek arányát és a sejtmag alakjának változatosságát.

A kadaverin kezelés nem befolyásolja az emlőtumor sejtek proliferációját

Vizsgáltuk, hogy a kadaverin kezelés megváltoztatja-e a tenyésztett emlőtumor sejtek proliferációs képességét. Öt különböző típusú emlőtumor sejtvonalat használtunk kísérleteinkhez, melyből 4 humán eredetű ((MD-MBA-231, SKBR3, ZR-75-1 és MCF7), míg a 4T1 egér eredetű sejtvonal. Az alkalmazott kadaverin koncentrációk megfelelnek a kadaverin referencia szérum koncentrációjának (0.1-0.8 μ M). A kadaverin kezelés kissé csökkentette a 4T1, MDA-MB-231 és SKBR-3 sejtek proliferációját és kolóniaformáló képességét, habár a változás nem tekinthető szignifikánsnak. Fontos azonban megemlíteni, hogy a kadaverin kezelés nem volt hatással a nem-transzformált humán fibroblaszt sejtek proliferációs képességére. Az apoptózis vizsgálatával megállapítottuk továbbá, hogy a kadaverin kezelés nem növelte az apoptotikus sejtek arányát a populációban, tehát a hatását nem toxicitás útján érte el.

A kadaverin visszafordítja az EMT folyamatát, és csökkenti a sejtek inváziós képességet

Tanulmányoztuk, hogy a kadaverin kezelés át tudja-e programozni a mezenchimális jellegű sejteket epiteliális jellegűvé. Először ECIS kísérlettel vizsgáltuk a

sejt-sejt és sejt-felszín kapcsolatokat. Kísérleteinkben a kadaverin kezelés növelte az ellenállást, szorosabban kapcsolódó sejteket eredményezve. Eredményeink megerősítése érdekében az aktin hálózat elrendeződésében bekövetkező változásokat vizsgáltuk fluorescens festék segítségével. A kadaverin kezelés megváltoztatta a 4T1 sejtek alakját fibroblaszt-szerűről macskakő-szerűre, mely epiteliális jellegre utal. Mi több, hasonló változásokat figyeltünk meg MDA-MB-231 sejtek kadaverin kezelése során is.

Hogy betekintést nyerjünk a MET molekuláris mechanizmusába RT-qPCR segítségével EMT assay-t végeztünk mindazon géneken, melyek vezérik ezt a folyamatot. A kezelés hatására csökkenést figyeltünk meg a sejtmozgásokat (MMP2, MMP3, MMP9), proliferációt (Tgfb3, FgFbp1, Erbb3, Er1) és sejt adhéziót (Krt14, Notch1, CDH1, IgFbp4, Spp1) irányító gének expressziójában. Mi több, inváziós (Boyden-kamra), sebzáródási és immuncitokémiai kísérletünkben kimutattuk, hogy a kadaverin kezelés lassította a tenyésztett sejtek migrációs képességeit és a 4T1, MDA-MB-231 és SKBR-3 sejtekben csökkentette az MMP9 fehérje expresszióját.

Seahorse XF96 készülékkel meghatároztuk továbbá a 4T1 sejtekben bekövetkező energetikai változásokat kadaverin kezelés hatására. A kezelés csökkentette a sejtek oxigénfogyasztását, ami az emlőtumor sztróma sejtjeinek egyik jellegzetessége. Ezért aldefuor assay segítségével vizsgáltuk a sejtek „őssejt-szerűségét”, vagyis az ALDH-1 pozitív sejtek arányát a populációban. Mind 4T1 mind MDA-MB-231 sejtek esetében kevesebb „őssejt-szerű” sejt volt jelen a kadaverin kezelt populációban a nem kezelt sejtekhez viszonyítva.

A kadaverin TAAR receptorokon keresztül fejt ki hatásait

A trace amin-kapcsolt receptor család felelős a kadaverin hatásaiért. Habár a legtöbb TAAR tanulmány szaglással kapcsolatos, léteznek tanulmányok, melyek összekapcsolják a TAAR1-et emlődaganattal, illetve jelzik, hogy a magasabb TAAR1, TAAR2, TAAR5, TAAR8 and TAAR9 expresszió emlődaganatos betegekben magasabb túlélési rátával társul.

Mivel a TAAR receptorok G-fehérje kapcsolt receptorok, ezért először megvizsgáltuk a TAAR-ok közreműködését a kadaverin hatásban. 4T1 sejteket kezeltünk egy NF449 nevű G-fehérje gátlóval. A kezelés kísérleteinkben visszafordította a kadaverin MET-szerű hatásást. Ezt követően MDA-MB-231 sejteket csendesítettünk

TAAR1, TAAR8 és TAAR9 si RNS-ekkel. Mindhárom TAAR csendesítése kivédte a kadaverin MET-szerű hatásást, a kadaverin kezelt sejtek csökkent MMP9 expresszióját pedig a TAAR8 és TAAR9 csendesítése volt képes ellensúlyozni.

Elérhető adatbázisokban kerestük az összefüggést TAAR-ok és ez emlődaganat között. A TAAR1 és TAAR9 nem mutatott kapcsolatot, viszont a TAAR8 expresszió csökkent értéket mutatott HELU (hyperplastic enlarged lobular unit) esetében összehasonlítva TDLU-val (terminal ductal lobular unit). A TAAR8 kifejeződés emlőrákos betegekben csökkent, és eltérés mutatkozott az egyes szövettani típusok esetében is: a TAAR8 expresszió alacsonyabb volt tripla-negatív emlődaganatokban, mint a nem tripla-negatív emlőcarcinoma esetében. Trendszerű TAAR8 expresszió csökkenés figyelhető meg ductális in situ karcinómában, mi több, mind ductális invazív-, mind lobuláris invazív carcinoma esetében csökkent a TAAR8 kifejeződés összehasonlítva az egészséges emlőcsatornákkal. Összefoglalva úgy tűnik, hogy korai emlődaganatban TAAR8 expresszió csökken, és ez a csökkenés a tripla-negatív emlődaganatokban a legkifejezettebb.

A kadaverin bioszintézis emlődaganatban lecsökken

Vizsgáltuk továbbá az LdcC-t és CadA-t kódoló DNS mennyiségét humán székletmintákban, annak érdekében, hogy kiderítsük, változik-e a kadaverin bioszintézisének mértéke emlőtumorban. Összehasonlítva egészséges önkéntesek mintáit emlőtumoros betegek mintáival, trendszerű csökkenést figyeltünk meg az *E. Coli*, *Enterobacter cloacae* és *Hafnia alvei* baktériumfajok lizin dekarboxilázt kódoló génjének mennyiségében, habár e változások nem voltak jelentősek. A csökkenés a 0. klinikai stádiumban volt a legszembetűnőbb.

Ezt követően megvizsgáltuk az *E. coli* LdcC fehérje szintjét kontroll és 1. stádiumú betegekből származó székletmintákban. 1. stádiumú betegek székletmintájában csökkent LdcC fehérje expresszió volt megfigyelhető összehasonlítva az egészséges önkéntesek mintáival. Ez az eredmény erős összefüggést mutat a korábban bemutatott DNS mennyiség csökkenéssel.

GEO adatbázisban kerestük a kapcsolatot az LDC expresszió és a humán emlődaganat között, melynek eredménye arra enged következtetni, hogy az LDC mRNS expressziójában nincs különbség tumoros és kontroll egyének között, habár, az LDC

kifejeződése csökkent értéket mutat bazális típusú emlődaganatokban egészséges emlőszövethez képest.

Végül kmpit.com adatbázisban vizsgáltuk, hogyan hat a LDC expressziós szintje a tumoros betegek túlélésére. Az LDC szint változása befolyásolja a tumoros betegek túlélését, 1-es grádusú betegekben a magasabb LDC expresszió hosszabb túléléssel hozható kapcsolatba. Érdekes módon az LDC expresszió változása nem befolyásolta az ER⁻ PR⁻ páciensek túlélését, viszont a magasabb LDC kifejeződés hosszabb túlélést mutatott az ER⁺ PR⁺ csoportban.

AZ LCA HATÁSAI EMLŐRÁKBAN

Az LCA egerekben csökkenti az emlőcarcinoma agresszivitását

4T1-oltott BALB/c egereken teszteltük az LCA hatását. Az LCA-kezelt csoport 15 nmol LCA-t kapott szájon át minden nap, míg a kontroll csoport sterilizált csapvizet hasonló módon. Eredményeink azt mutatják, hogy az LCA kezelés csökkentette a primer tumorok beszűrődését a környező szövetekbe, valamint az áttétek száma is kevesebb volt az LCA-kezelt csoportban.

Az LCA bioszintézise csökken korai emlődaganatban

A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy az LCA és az epesav metabolizmus hogyan változik emlődaganatos állapotban. Az LCA a CDCA dekonjugálásával, majd a 7. szénatom dehidroxilációjával keletkezik 7-HSDH enzim segítségével. A legtöbb baktériumfajban a 7-HSDH-t egy komplex génorganizációs operon, a bai operon kódolja.

Kísérleteink azt mutatják, hogy minden epesav – közöttük a CDCA és LCA is – csökkent mennyiségben van jelen emlődaganatos emberek szérumban, összehasonlítva azokat egészséges önkéntesek mintáival. Mivel mind az elsődleges, mind a másodlagos epesavak szintje csökkenést mutatott emlődaganatos szérumban, ezért megvizsgáltuk a CDCA (az LCA szubsztrátja) és LCA arányát is humán szérumokban. Az LCA/CDCA arány szintén csökkenést mutatott emlődaganatos mintákban, ez a csökkenés az 1-es stádiumú betegek mintáiban volt a legmarkánsabb, míg a későbbi stádiumokban ez az érték visszatért a normális szintre, a 3. stádiumban sokszor meghaladva azt.

Annak tisztázása érdekében, hogy az LCA bioszintézis hogyan változik meg emlődaganatban, cohort 1. humán széklet DNS mintákban vizsgáltuk a baiH ORF (felelős az LCA előállításáért) mennyiségét. Kísérleteinkben qPCR segítségével azonosítottuk és mértük a baiH ORF szintjét anaerob, Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumfajokban. Eredményeink azt mutatják, hogy a *Clostridium sordelli*, *Staphylococcus haemolyticus*, *E. coli* és *Pseudomonas putida* fajok baiH ORF-jének mennyisége lecsökken emlődaganatos mintákban (összehasonlítva emlődaganatos mintákat kontroll mintákkal) és a csökkenés a *Pseudomonas putida* esetében volt a legjelentősebb. Ez az eredmény összefügg az alacsonyabb LCA és LCA/CDCA szinttel emlőcarcinoma esetében. Az emlődaganatos mintákon belül a legkifejezőbb baiH csökkenés a 0-s és 1-es stádiumú emlődaganatos mintákban volt felfedezhető, ahol a baiH ORF mennyisége *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Clostridium sordelli*, *Staphylococcus haemolyticus*, *E. coli* és *Pseudomonas putida* fajokban szignifikáns csökkenést mutatott.

MEGBESZÉLÉS

Napjainkig nem mutattak ki közvetlen, ok-okozati kapcsolatot a mikrobiom és az emlődaganatok között, habár számos esettanulmány számol be bizonyos kapcsolatról közöttük. Goedert és munkatársai – összehasonlítva emlődaganatos betegek mikrobiomját egészséges önkéntesekével – jelentősen különböző mikrobiom összetételt és kevésbé fajgazdag bélfloórát találtak az emlődaganatos mintákban. Mi több, emlődaganatban változások mutatkoznak az emlőszövetet kolonizáló baktériumok összetételében is. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy az LCA és a kadaverin talán az emlő saját mikrobiomja által is keletkezhet, nem csak a bél mikrobiomja által, habár, a források megoszlása még tisztázatlan. Az emlődaganat és a mikrobiom közötti kapcsolatot tovább erősíti az, hogy antibiotikum kezeléssel hozták kapcsolatba az emlődaganat kialakulását/kiújulását, és ez az összefüggés férfiak esetében is fennáll. Mindezen eredmények alátámasztják a hipotézisünket a mikrobiom megváltozása és az emlődaganat kialakulása közötti kapcsolatról.

A kadaverin hatásai emlődaganatban

Egyéb biogén aminokkal ellentétben (spermin, spermidin, putrescin), a kadaverin kevésbé tanulmányozott. Irodalmi adatok alapján a diamino koncentrációja a szérumban magasabb daganatos betegekben, mint egészséges önkéntesekben, valamint a tumorok sebészi úton történő eltávolítása normalizálja a szérumban a diamino szintjét. A megnövekedett putrescin szint pozitív összefüggést mutat a tumorképződéssel, habár a poliaminok közreműködése a daganatok fejlődésében nem bizonyított. A kadaverin szintje sokkal változatosabb: egyes tanulmányok növekedésről, mások trendszerű csökkenésről számolnak be különböző daganattípusokban, ám napjainkig emlődaganatos betegekben nem vizsgálták.

Tanulmányunkban arra kerestük a választ, hogyan hat a kadaverin különböző emlőcarcinoma sejtek viselkedésére. Vizsgáltuk a kadaverin-vezérelt hatásokat különböző (egér és humán) emlőtumor sejtekben. Eredményeink azt mutatják, hogy a normál szérumban koncentrációhoz közeli tartományban alkalmazott kadaverin emlőtumorgátló hatást fejt ki. A kadaverin kezelés megváltoztatta a sejtek

proliferációjában, adhéziójában és mozgásában szerepet játszó gének működését, ilyen módon gátolva az EMT-t. Továbbá sejtes és egérmodellben gátolta a sejtek invázióját és metasztázis képzését.

Szintén jelentős változást találtunk a kadaverin kezelt sejtek oxigén fogyasztásában, így arra következtettünk, hogy a kezelés talán eltolja a sejtek metabolikus profilját a „fordított Warburg hatás” irányába, mely az „őssejt-szerű” jellemzők csökkenésével jár együtt.

A tanulmányhoz – mely kapcsolatba hozza a TAAR1-et emlődaganatos páciensek túlélésével – hasonlóan, a mi kísérleteink is azt mutatják, hogy a TAAR család (TAAR1, TAAR2, TAAR5, TAAR8 és TAAR9) szerepet játszhat a kadaverin antitumor hatásainak közvetítésében. Ezen feltevés megerősítése érdekében vizsgáltuk a TAAR1, TAAR8 és TAAR9 részvételét a kadaverin hatásában. Úgy tűnik, hogy mindhárom receptor részt vesz a MET szabályozásában, de csak a TAAR8 és TAAR9 játszik szerepet az MMP9 fehérje expressziós szintjeinek változásában. Irodalmi adatok szerint a TAAR8 mennyisége lecsökken 0. stádiumú emlőrákban, és a betegség rosszabbodásával együtt tovább csökken. A rendelkezésünkre álló limitált mennyiségű reagens és kísérleti minta miatt nem zárhatjuk ki, hogy – azok mellett, amelyeket vizsgáltunk – más TAAR-ok kisebb-nagyobb mértékben közreműködhetnek a kadaverin hatásainak közvetítésében.

Eredményeink azt mutatják, hogy korai emlőrákban a kadaverin bioszintézis gátolt. Ez az eredmény sugallja, hogy korai emlődaganatban a bél mikrobiom leegyszerűsödése/csökkent fajgazdagsága csökkent mennyiségű antiproliferatív bakteriális metabolit (pl. kadaverin) előállításához vezet. A legdrasztikusabb mikrobiom változás 1-es stádiumú emlődaganatban volt megfigyelhető, a későbbi stádiumokban a kadaverin szintje visszaállt a normál értékre. A TAAR8 *in silico* adatai azt mutatják, hogy tumorokban a mikrobiom diszbiózisa vagy egyszerűsödése mellett a kadaverin-érzékeli rendszer expressziója is valószínűleg csökken.

A bélrendszeren kívül humán sejtek és a mell saját szövete is előállít kadaverint, habár a források (emlőszövet, tumor, bélrendszer, gazdaszervezet) megoszlása még nem tisztázott. Eredményeink és túlélési analízisek (kmplot.com) azt mutatják, hogy a magas humán LDC expresszió emlődaganatos egyénekben hosszabb túléléssel társul. Ezen eredmények tovább erősítik a kadaverin antitumor hatásáról alkotott képünket.

Az LCA hatásai emlődaganatban

Az LCA a bélrendszerben élő baktériumok által keletkezik, majd a vérkeringés útján az emlőbe jut, ahol fontos szerepet játszhat egy citosztatikus mikro környezet kialakításában. Az LCA köztudottan sejthalált indukál neuroblasztómában, prosztata rákban és MCF7 emlőtumor sejtekben. Mint azt korábban jeleztük, az általunk alkalmazott LCA koncentráció (1 μ M) közel áll a tumorszövetben található LCA mennyiségéhez. Habár a források aránya még nem teljesen tisztázott, valószínű, hogy az LCA nem csak a bélrendszerben, hanem az emlő saját mikroflórája által is kialakul. *In vitro* egérkísérleteink rámutattak, hogy az LCA – a kadaverinhez hasonlóan – jelentősen csökkentette a primer tumorok beszűrődését a környező szövetekbe, valamint a tumor áttétképző képességét.

Értekezésemben arra is kerestük a választ, hogy mely baktérium fajok lehetnek fontosak az LCA-vezérelt hatások kialakításában. Goedert és munkatársai kimutatták, hogy emlődaganatban a mikrobiom α és β diverzitása is változik, míg Ridlon csapatának kísérletei azt mutatták, hogy az anaerobmikrobák rendkívül fontosak a másodlagos epesav termelésben, köztük az LCA termelésében is. Kísérleteink során mind az anaerob, mind az aerob baktériumok populációjában csökkenést tapasztaltunk az emlődaganatos minták esetében, kontroll mintákhoz viszonyítva. Mi több, mind az elsődleges, mind a másodlagos epesavak szintje lecsökkent az emlőtumoros mintákban, valamint az LCA/CDCA aránya is csökkent, amely a legjelentősebb az 1-es stádiumban volt, szintje a későbbi stádiumokban normalizálódott. Ezek az eredmények jól összefüggnek Tang és munkatársai eredményeivel, amely csökkent glikolitikólsav-szulfát szintet mutat emlődaganatos mintákban. Összefoglalva, ezen eredmények felvetik mind az anaerob mind az aerob flóra közreműködését a másodlagos epesav termelésben, valamint a mikrobiom széles körű változását bizonyítja emlődaganatban.

ÖSSZEFOGLALÁS

A mikrobiom és a gazdaszervezet között erős kapcsolat áll fenn. A baktériumok – melyek az emberi szervezet különböző testüregeiben élnek – számos metabolitot termelnek (köztük kadaverint és litokólsavat), amelyek hatással vannak a gazdaszervezet anyagcseréjére és energia háztartására. Külső és belső tényezők (étrend, személyes higiénia, genetika, kor) segítségével a gazdaszervezet is befolyásolja a mikrobiom összetételét és működését. Számos betegség, köztük az emlődaganat is összefüggésbe hozható a mikrobiom összetételében és működésében bekövetkező változásokkal.

A kadaverin – egy biológiailag aktív diamin – L-lizin aminosavból keletkezik a mikrobiom lizin dekarboxiláz nevű enzime által. A véráramon keresztül a kadaverin eljut a test különböző részeiben elhelyezkedő tumorsejtekhez. Habár kísérleteinkben a kadaverin csak kissé csökkentette a 4T1 sejtek proliferációját és kolónia formáló képességét, képes volt a mezenchimális jellegű sejteket epiteliális jellegűvé alakítani. Hogy a sejtek elnyerjék epitheliális jellegüket, mezenchimális-epiteliális tranzíció (MET) esnek át csökkentve azon gének kifejeződését, melyek szerepet játszanak a sejtproliferációban, sejtmozgásban és invázióban. A kadaverin kezelés a 4T1 sejtek "őssejt szerűségét" is csökkentette. Mi több, a kadaverin erősítette a sejt-sejt közötti, illetve a sejt-felszín közötti kapcsolatokat, ezáltal gátolva a migrációt. Ezek az eredmények további megerősítést nyertek azáltal, hogy 4T1 emlőtumorral beoltott egerekben kadaverin etetés hatására csökkent az elsődleges tumor beszűrődése a környező szövetekbe, csökkent a tumorok tömege és az áttétek száma is. Az elsődleges tumorok hisztológiai elemzése rávilágított, hogy a kadaverin csökkenti a tumoros sejtek osztódásának ütemét, illetve a sejtmagok heterogenitását. Eredményeink azt mutatják, hogy a trace amin-kapcsolt receptorok (TAAR1, TAAR8, TAAR9) lehetnek a felelősek a kadaverin hatásáért. Ezen receptorok genetikai csendesítése kivédte a kadaverinnek mind az epiteliális-mezenchimális tranzícióban (EMT), mind a matrix-metalloproteináz-9 (MMP9) kifejeződésben bekövetkezett hatását. Metaadat-analízis azt mutatta, hogy a TAAR8 csökkent szintjét mutatja korai emlődaganatban, ami a betegség előrehaladtával tovább csökken. Továbbá kmpplot.com adatbázisban kerestük a human lizin-dekarboxiláz

(LDC) és az emlődaganat összefüggéseit. Azt találtuk, hogy 1-es grádusú emlődaganatban a magasabb LDC szint hosszabb túléléssel korrelál. Hogy megerősítsük ezen összefüggéseket, megvizsgáltuk az LDC szintjét emlődaganatos páciensek és egészséges önkéntesek székletmintáiban. Az enzim DNS és fehérje szintje is csökkenést mutatott korai emlődaganatos mintákban, összehasonlítva az egészséges önkéntesek mintáival.

Megvizsgáltuk továbbá, hogy egy másik bakteriális metabolit, a litokólsav (LCA, másodlagos epesav) szintje hogyan változik egészséges önkéntesek és emlődaganatos páciensek szérum mintáiban. Szerettünk volna választ kapni arra a kérdésre is, hogy mely baktériumfajok vesznek részt az LCA termelésében. Más tanulmányokkal ellentétben úgy tűnik, hogy mind az aerob, mind az anaerob flóra részt vesz az LCA szintézisben. Méréseink azt mutatják, hogy a baiH ORF (mely az LCA termelésért felelős) korai stádiumú emlőrákban szignifikáns csökkenést mutat, összehasonlítva kontroll mintákkal. A vizsgált human szérum minták epesav összetétele rávilágított, hogy az LCA szintjén kívül a teljes epesav szint és az LCA/CDCA arány is csökkent tumoros betegekben, valamint a csökkenés az 1-es stádiumú betegekben volt a legszembetűnőbb.

Jelen disszertáció megerősíti a felvetést, hogy a kadaverin és az LCA képes megváltoztatni az emlőtumor sejtek tulajdonságait, ezáltal a kadaverin és az LCA felkerül az olyan bakteriális metabolitok listájára, melyek képesek befolyásolni a tumorképződést. Mindezen megfigyelések alátámasztják a feltevést, miszerint a bakteriális metabolitok képesek befolyásolni a tumorképződést/növekedést olyan szervekben is, melyek az emésztőrendszerrel távol helyezkednek el, habár ez a terület további kutatásokat igényel, hogy teljességében megértsük a kapcsolatot a mikrobiom és az emésztőrendszeren kívül elhelyezkedő tumrok között.

TÁRGYSZAVAK

kadaverin, litokólsav, mikrobiom, emlőcarcinoma, őssejt, EMT, MET, invázió, metasztázis, trace amin-kapcsolt receptor, lizin dekarboxiláz, baiH



Nyilvántartási szám: DEENK/36/2019.PL
Tárgy: PHD Publikációs Lista

Jelölt: Kovács Tünde
Neptun kód: V3U2C8
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kovács, T.**, Mikó, E., Vida, A., Sebő, É., Tóth, J., Csonka, T., Boratkó, A., Ujlaki, G., Lente, G., Kovács, P., Tóth, D., Árkossy, P., Kiss, B. K., Méhes, G., Goedert, J. J., Bai, P.: Cadaverine, a metabolite of the microbiome, reduces breast cancer aggressiveness through trace amino acid receptors.
Sci Rep. 9 (1), 1-14, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-37664-7>
IF: 4.122 (2017)
2. Mikó, E., Vida, A., **Kovács, T.**, Ujlaki, G., Trencsényi, G., Márton, J., Sári, Z., Kovács, P., Boratkó, A., Hujber, Z., Csonka, T., Antal-Szalmás, P., Watanabe, M., Gombos, I., Csóka, B., Kiss, B. K., Vigh, L., Szabó, J., Méhes, G., Sebestyén, A., Goedert, J. J., Bai, P.: Lithocholic acid, a bacterial metabolite reduces breast cancer cell proliferation and aggressiveness.
Biochim. Biophys. Acta Bioenerg. 1859 (9), 958-974, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.04.002>
IF: 4.28 (2017)





További közlemények

3. Vida, A., Kardos, G., **Kovács, T.**, Bodrogi, B., Bai, P.: Deletion of poly(ADP-ribose) polymerase-1 changes the composition of the microbiome in the gut.
Mol. Med. Rep. 18 (5), 4335-4341, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2018.9474>
IF: 1.922 (2017)
4. Trencsényi, G., Dénes, N., Nagy, G., Kis, A., Vida, A., Farkas, F., Péli-Szabó, J., **Kovács, T.**, Berényi, E., Garai, I., Bai, P., Hunyadi, J., Kertész, I.: Comparative preclinical evaluation of 68Ga-NODAGA and 68Ga-HBED-CC conjugated procainamide in melanoma imaging.
J. Pharmaceut. Biomed. Anal. 139, 54-64, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.02.049>
IF: 2.831
5. Kertész, I., Vida, A., Nagy, G., Emri, M., Farkas, A., Kis, A., Angyal, J., Dénes, N., Péli-Szabó, J., **Kovács, T.**, Bai, P., Trencsényi, G.: In Vivo Imaging of Experimental Melanoma Tumors Using The Novel Radiotracer 68Ga-NODAGA-Procainamide (PCA).
J. Cancer. 8 (5), 774-785, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7150/jca.17550>
IF: 3.249
6. Mikó, E., **Kovács, T.**, Fodor, T., Bai, P.: Methods to assess to role of poly(ADP-ribose) polymerases in regulating mitochondrial oxidation.
Methods Mol. Biol. 1608, 185-200, 2017.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 16,404

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 8,402

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



Debrecen, 2019.02.19.

KONFERENCIA ELŐADÁSOK ÉS POSZTEREK

Konferencia előadások:

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Újlaki G, Sebő É, Toth J, Trencsényi G, Márton J, Sári Z, Kovács P, Boratkó A, Hujber Z, Csonka T, Antal-Szalmás P, Watanabe M, Gombos I, Vigh L, Szabó J, Méhes G, Sebestyén S, Goedert JJ, Bai P (2018) *Interactions between the microbiome and human breast cancer*. FEBS3+ Siófok, 2018.

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Újlaki G, Sári Z, Bai P (2018) *How to throw a stone into a pond? Connections between breast cancer and the microbiome (Hogyan dobjunk követ a tóba? Az emlőrák és a mikrobiom kapcsolata)*. Biannual Conference of the Pro Scientia Gold Medal Laureates, Budapest, Hungary

G Trencsenyi; G Nagy; A Vida; J Angyal; N Denes; JP Szabo; **T Kovacs**; I Garai; P Bai; I Kertesz *Investigation of experimental melanoma tumors using the novel melanin specific radiotracer Ga-68-NODAGA-Procaïnamide (PCA)* (2017) Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine. Barcelona, Spanyolország: 2016.10.15 - 2016.10.19, Megjelenés: Spanyolország

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Újlaki G, Trencsényi G, Márton J, Sári Z, Boratkó A, Hujber Z, Csonka T, Watanabe M, Kiss M, Antal-Szalmás P, Kovács P, Lovas B, Goedert JJ, Szabó J, Méhes G, Sebestyén A, Bai P (2017) *Microbiome – tumor relations, a new aspect of tumorigenesis*. HunLifeSci Eger, Hungary

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Újlaki Gy, Trencsényi Gy, Márton J, Sári Zs, Kovács P, Boratkó A, Hujber Z, Csonka T, Antal-Szalmás P, Mitsuhiro W, Szabó J, Méhes G, Sebestyén A, Goedert JJ, Bai P (2017) *The role of lithocholic acid in the pathology of breast cancer (A litokólsav szerepe az emlőtumor patológiájában)*. Conference of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Újlaki Gy, Kovács P, Lovas B, Sári Zs, Jankó L, Márton J, Nagy L, Bai P (2016) *Diverse ideas around the mitochondria*. Biotechnology days at the University of Debrecen

Mikó E, Vida A, Fodor T, **Kovács T**, Újlaki Gy, Kovács P, Lovas B, Hujber Z, Trencsényi Gy, Sebestyén A, Bai P (2016) *In search for natural small molecule modulators of breast cancer*. Annual meeting of the Hungarian Biochemical Society, Szeged, Hungary

Mikó E, Vida A, Fodor T, **Kovács T**, Újlaki Gy, Kovács P, Lovas B, Bai P (2016) *When mitochondria do the inverse*. Membrane transport conference Sümeg, Hungary

Fodor T, Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Abdul-Rahman O, Nagy L, Trencsényi Gy, Bai P (2015) *New ways to revert Warburg-type metabolism*. FEBS3+ meeting, Protoroz, Slovenia

Konferencia poszterek:

Kovács T, Mikó E, Vida A, Sebő É, Toth J, Csonka T, Boratkó A, Ujlaki Gy, Lente G, Kovács P, Tóth D, Árkosy P, Kiss B, Méhes G, Goedert JJ, Bai P (2018) *Cadaverine, a microbial diamine, reduces breast cancer aggressiveness*. EMBO Conference on the Microbiome, Heidelberg, Germany

Kovács T, Mikó E, Vida A, Sebő É, Toth J, Csonka T, Boratkó A, Ujlaki Gy, Lente G, Kovács P, Tóth D, Árkosy P, Kiss B, Méhes G, Goedert JJ, Bai P (2018) *Cadaverine reduces breast cancer aggressiveness*. Cell Symposia: Metabolites as Signalling Molecules, Seattle, USA

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Ujlaki Gy, Trencsényi Gy, Márton J, Sári Zs, Kovács P, Boratkó A, Hujber Z, Csonka T, Antal-Szalmás P, Watanabe M, Gombos I, Csoka B, Kiss B, Víg L, Szabó J, Méhes G, Sebestyén A, Goedert JJ, Bai P (2018) *Lithocholic acid, a bacterial metabolite modulates the behavior of breast cancer*. EMBO Conference on the Microbiome, Heidelberg, Germany

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Ujlaki Gy, Trencsényi Gy, Márton J, Sári Zs, Kovács P, Boratkó A, Hujber Z, Csonka T, Antal-Szalmás P, Watanabe M, Gombos I, Csoka B, Kiss B, Víg L, Szabó J, Méhes G, Sebestyén A, Goedert JJ, Bai P (2018) *Bioenergetic changes in breast cancer cells by lithocholic acid*. European Bioenergetics Conference, Budapest, Hungary

Kovács Tünde, Mikó Edit, Vida ANdrás, Boratkó Anita, James J.Goedert, Bay Péter (2017) *Biogén aminosavak hatása emlőtumor sejtvonalakra* MÉT-MFT Conference Debrecen

Mikó E, **Kovács T**, Vida A, Csonka T, Sebő É, Tóth J, Sebestyén A, Méhes G, Goedert JJ, Bai P (2018) *Cytostatic bacterial metabolites are reduced in early stage breast cancer - Bacterial metabolites in breast cancer initiation*. Cell Symposia: Metabolites as Signalling Molecules, Seattle, USA

Vida A, **Kovács T**, Lente G, Kovacs P, Bai P (2017) *A Horizontal and Longitudinal Study of the Gastrointestinal Tract Microbiome in PARP1 Knockout Mice*. PARP2017, Budapest, Hungary

Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Újlaki Gy, Trencsényi Gy, Márton J, Sári Zs, Boratkó A, Hujber Z, Csonka T, Watanabe M, Kiss M, Antal-Szalmás P, Kovács P, Lovas B, Goedert JJ, Szabó J, Méhes G, Sebestyén A, Bai P (2017) *Microbiome – tumor relations, identifying a novel set of tumor metabolites?* Oncometabolism, Figuera de la Foz, Portugal

Újlaki Gy, Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Sári Zs, Kovács P, Bai P (2017) *The effects of secondary bile acids on the metabolism of A2780 ovarian carcinoma cells (A másodlagos epesavak hatása az A2780 ovárium karcinóma sejtek metabolizmusára)*. Conference of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary

Kovács T, Mikó E, Vida A, Boratkó A, Goedert JJ, Bai P (2017) *Effects of biogenic amines on breast cancer cells (Biogén aminok hatása emlőtumor sejtekre)*. Conference of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary

Kovács P, Mikó E, Vida A, **Kovács T**, Sári Zs, Újlaki Gy, Bai P (2017) *The effects of LCA on oxidative stress in breast cancer cells (Az LCA hatása az oxidatív stressz folyamataira emlőtumor sejtekben)*. Conference of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary

A publikáció/prezentáció/poster elkészítését a GINOP-2.3.2-15-2016-00006 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg.