

**Telítetlen zsírsavak és sugarazás hatása humán
glióma sejtekre: morfológiai, biokémiai és gén
expresszió elemzés**

Ph.D. értekezés tézisei

Szerző: Antal Otilia Tamara

Témavezető: Dr. László Puskás

Biológia Doktori Iskola
Szegedi Tudományegyetem

SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONT, AZ EURÓPAI
ÚNÍÓ KIVÁLÓSÁGI KÖZPONTJA – FUNKCIONÁLIS
GENOMIKA LABORATÓRIUM

2015

Tudományos publikációk listája

MTMT azonosító: 10047278

A disszertáció a következő tudományos cikkeken alapszik:

Otilia Antal, Mária Péter, László Hackler Jr., Imola Mán, Gábor Szebeni, Ferhan Ayaydin, Katalin Hideghéty, László Vígh, Klára Kitajka, Gábor Balogh, László G Puskás (2015): Lipidomic Analysis Reveals a Radiosensitizing Role of Gamma-Linolenic Acid in Glióma Cells. *Biochim Biophys Acta*. 1851(9):1271-1282. (IF:4.66)

Otilia Antal, László Hackler, Junhui Shen, Imola Mán, Katalin Hideghéty, Klára Kitajka, László G Puskás (2014): Combination of unsaturated fatty acids and ionizing radiation on human glióma cells: cellular, biochemical and gene expression analysis. *Lipids in Health and Disease*, 13:142. (IF:2.31).

További tudományos publikációk:

Rita Gombos, Ede Migh, **Otilia Antal**, Anindita Mukherjee, Andreas Jenny, József Mihály (2015): The Formin DAAM Functions as Molecular Effector of the Planar Cell Polarity Pathway during Axonal Development in Drosophila. *The Journal of Neuroscience*, 35(28):10154-10167. (IF:6.75).

Otilia Antal, Mariann Kariszt-Gácsi, Anna Farkas, Attila Kovács, András Ács, Norbert Törő, Gyula Kiss, Martin L. Saker, János Győri, Gáspár Bánfalvi, Ágnes Vehovszky (2011): Screening the toxic potential of *Cylindrospermopsis raciborskii* strains isolated from Lake Balaton, Hungary, *Toxicon*, 57(6): 831-840. (IF: 2.58)

Mariann Gácsi, **Otilia Antal**, Gábor Vasas, Csaba Mathé, György Borbély, Martin L. Saker, János Győri, Anna Farkas, Ágnes Vehovszky, Gáspár Bánfalvi (2009): Comparative study of cyanotoxins affecting cytoskeletal and chromatin structures in CHO-K1 cells, *Toxicology in Vitro*, 23(4):710-718. (IF: 3.21)

1. Bevezetés

A glióma egy halálos betegség, melyet kemoterápiával vagy sugarazással kezelnek. A sugarazás számos esetben nem hatékony terápiás módszer.

Annak ellenére, hogy számos jelátviteli utat leellenőriztek, a pontos molekuláris mechanizmusok melyek a glióma lefolyását befolyásolják még mindig ismeretlenek. Ezek képezhetik az új terápiás módszerek alapjait. Számos genetikai változást mutattak ki amelyek a glióma sejtek differenciációjához kötődnek (Soni és mtsai, 2005). Ezeknek egy része direkt terápiás vonatkozással rendelkezik (Fan és mtsai, 2010, Wang és mtsai, 2010).

A többszörösen telítetlen zsírsavakat (PUFA) az állati eredetű sejtek nem tudják szintetizálni, az állatok és az ember a diéta révén veszi fel őket. Alapvető szereppel bírnak a membrán integritásban, receptorok jelátvitelében, gyulladásban és sejt stressz szabályozásban; emellett rákellenes hatásuk van azáltal, hogy lipid peroxidációt és oxidatív stresszt idéznek elő, kulcs fontosságú jelátviteli utakat változtatnak meg, géne expressziót és lipid homeosztázist szabályoznak (Cowing és Saker, 2001; Kitajka és mtsai, 2004; Puskás és mtsai, 2010; Ntambi és Bené 2001; Vartak és mtsai, 1997).

Kimutatták, hogy a PUFA-k a rákos sejtek sugarazásra való érzékenységét is megváltoztatják, és védik a normális sejteket a sugarazás káros hatásaitól (Dupertuis és mtsai, 2007). A PUFA-k által előidézett sugarazásra való érzékenységnek köze lehet a prosztanoid szintézishez, de az ide tartozó mechanizmusok ismeretlenek (Vartak és mtsai, 1998).

A rákos sejtek számára a zsírsavszintézis konstitutív aktiválása szelektív előnyt jelent. Számos génnek mely zsírsavszintézisért felelős fehérjéket kódol köze van a

kancerogenezishez. A zsírsavszintézis gátlása a rákos sejtek apoptózisát idézi elő (Igal, 2010). A szelektív zsírsav szintézis inhibitorok mellett a PUFAk szintén lecsökkentik a kulcs lipid bioszintetikus gének aktivitását (Pucer és mtsai, 2013; Vessby és mtsai, 2002).

A gamma-linolénsavat (GLA) már klinikai fázisban tesztelték, és hatásosnak bizonyult a GLA kezelésére (Das, 2004; Das, 2007). A sugarazás önmagában nem hatásos az alacsonyabb rangú gliómák ellen, sajnos nem befolyásolja az átlag túlélési rátát (Sandrone és mtsai, 2014). Ezért, a tanulmányaink során a PUFA-k hatását vizsgáltuk mint sugarazás mellett alkalmazott adjuvánsok, különböző morfológiai, biokémiai és gén expressziós vizsgálatok révén.

2. Célkitűzések

Az általam bemutatott kísérletek során a következő célkitűzéseink voltak:

1. Biokémiai és kinetikai módszerekkel megállapítani U-87 MG sejtvonalon, hogy az öt általunk vizsgált UFA (OA, EPA, AA, DHA, GLA) közül melyek hatnak szinergisztikusan a sugárkezeléssel (5 Gy és 10 Gy).
2. Biokémiai és kinetikai vizsgálatok során kiválasztani azokat az UFA-kat és azokat a koncentrációkat, amellyel az alkalmazott UFA-kat érdemes további kísérletek során vizsgálni.
3. Megfigyelni, hogy a kiválasztott UFA-k milyen hatással vannak az U-87 MG sejtek morfológiájára.
4. Terápiás célpontok, stresszhez köthető gének, zsírsavbioszintézishez köthető géneknek, lipidcseppecskötő fehérje génjének, hősokkfehérjék génjeinek expresszióját vizsgálni PUFA-kal (bizonyos esetekben csak

GLA-val, szakirodalmi adatokra alapozva) való kezelést és/vagy sugárkezelést (10 Gy; bizonyos esetekben 5 Gy is) követően U-87 MG sejtvonalon.

5. Irodalmi adatok alapján kiválasztott miRNS-ek expressziójának tanulmányozása PUFA-kal való kezelést és/vagy sugárkezelést (10 Gy) követően.
6. A lipidcseppecskék (LD) akkumulációjának felmérése GLA kezelést, sugárkezelést (5 Gy és 10 Gy), vagy együttes GLA kezelés és sugárkezelést (5 Gy és 10 Gy) követően.
7. A génexpressziós mérések kiegészítése fluoreszcencia aktivált sejtválogatás (fluorescence activated cell sorting, FACS) mérésekkel. Apoptózis mértékének meghatározása U-87 MG sejteken, az 5 Gy-el vagy 10 Gy-el történő sugárkezelés, és/ vagy PUFA kezelés hatására.

3. Módszerek

a. Sejt kultúra és kezelés

24 órával sejtkitevést követően az U-87 MG (ATCC HTB-14TM számmal rendelkező glioblasztóma sejtvonal) sejteket arachidonsavval (AA), dokozahexaénsavval (DHA), GLA-val, eikozapentaénsavval (EPA) vagy olajsavval (OA) kezeltük. Egy órán belül a sejteket 5 Gy-el vagy 10 Gy-el sugaraztuk egy Teragam K-01 kobalt egységgel. Ezt követően a sejteket 24, 48 vagy 72 órát inkubáltuk.

b. Kinetikai és biokémiai mérések

Az LDH (laktát dehidrogenáz) és MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboximetoxi-fenil)-2-(4-szulfofenil)-2H-tetrazolium) aktivitást 72 órával kezelés után mértük. Kétmintájú, egyenlőtlen varianciájú Student féle t-próbát (kétirányú eloszlás) alkalmaztunk a szignifikáns hatás kimutatására. A sejtek

normalizált sejt indexét mértük 72 órán keresztül az ellenállásalapú valós idejű sejt elektronikus érzékelő (RT-CES) készülékkel. Az RT-CES készülék a sejteket tartalmazó lyukak ellenállását méri. A normalizált sejt indexet határozza meg, ami a sejtszám, proliferáció, életképesség és sejt növekedés mutatója (Kürti és mtsai, 2012, Ózsvári és mtsai, 2010). Vagyis, lehetővé teszi, hogy a különböző vegyületekkel kezelt sejtek növekedésének a kinetikáját kövessük.

c. Az apoptózis rátájának vizsgálata

Az apoptózis rátájának vizsgálata miatt a sejteket Annexin-V-Alexa Fluor 488-al és propidium jodiddal festettük, majd BD FACSCalibur Flow Cytometer-el vizsgáltuk őket. Szignifikanciát kétmintájú, egyenlő varianciájú Student féle t-próbával (kétirányú eloszlás) számoltunk.

d. Gén expresszió elemzés

24 és 48 órás inkubációs idő után ribonukleinsavat (RNS) izoláltunk amit kiegészítő dezoxiribonukleinsavvá (cDNS) írtunk át. A szakirodalom alapján kiválasztott gének expresszióját valós idejű reverz transzkripció polimeráz láncreakcióval (QRT-PCR) vizsgáltuk. A szignifikancia szintet kétmintájú, egyenlőtlen varianciájú Student féle t-próbával (kétirányú eloszlás) állapítottuk meg.

e. miRNS expresszió elemzés

48 órás kezelést követően mikroRNS-t (miRNS-t) izoláltunk. Hét miRNS expresszióját vizsgáltuk QRT-PCR-el. A szignifikanciát kétmintájú, egyenlőtlen varianciájú Student féle t-próbával (kétirányú eloszlás) állapítottuk meg.

f. A sejtek morfológiai vizsgálata

24 és 48 órával kezelést követően (a kontroll sejtek esetén a kezelés időpontjában is) holografikus fotókat készítettünk a HoloMonitor™ M3-al. Legalább három reprezentatív képet készítettünk a mintákról. A készülék szoftverével sejtszámot és konfluenciát mértünk, valamint minden sejt esetén átlag sejt szabálytalanságot és átlag sejt vastagságot becsültünk. A mintákat kétmintájú, Student féle t-próbával (kétirányú eloszlás) hasonlítottuk össze.

g. A lipidcseppecske (lipid droplet) akkumulációjának felmérése

Az U-87 MG sejtekben található lipidcseppecskéket (LD) AC-202-vel festettük 48 órával kezelést követően. A lipidcseppecskéket Olympus Fluoview konfokális lézer szkennelő mikroszkóppal tettük láthatóvá. A képeket az ImageJ és az Olympus Fluoview szoftverekkel elemeztük. A minták közötti szignifikáns különbséget kétmintájú, egyenlő varianciájú Student féle t-próbával (kétirányú eloszlás) állapítottuk meg. A mintákat egy Spitzer és mtsai (2014) (<http://boxplot.tyerslab.com/>) által készített internetes alkalmazás segítségével is ábrázoltuk.

4. Eredmények

a. Sejtes és biokémiai mérések

Az RT-CES méréseknek megfelelően 25-75 μM AA, 25-75 μM DHA, 50 μM GLA, 400 μM OA megnövelte a sugarazás hatását és szignifikánsan csökkentette a normalizált sejt indexet azokhoz a sejtekhez képest melyek csak sugarazva voltak. A normalizált sejt index a sejt proliferáció egyik mutatója. Az OA-val való kezelés érdekes hatással volt az U-87 MG sejtekre: 100-

200 μM megnövelte a sejt proliferációt a kontroll sejtekhez képest.

LDH aktivitás mérések esetén minden dózis (5 Gy ; 10 Gy) és AA koncentráció (25 μM ; 50 μM ; 75 μM AA) és ezek kombinációja szignifikáns hatással volt a sejtekre a kontrollhoz képest. Az MTS mérések esetén 75 μM AA és 10 Gy-nek szinergisztikus hatása volt.

Az LDH aktivitás mérések során amikor a sejteket 25 μM DHA-val és 10 Gy-el vagy 50 μM -al és 5 Gy-el kezeltük szinergisztikus hatást mutathattunk ki. Életképesség mérések során szignifikáns hatást mutathattunk ki minden dózis (5 Gy ; 10 Gy) és minden koncentráció (25 μM ; 50 μM ; 75 μM DHA) valamint ezek kombinációja esetén.

Minden egyes dózis (5 Gy és 10 Gy) valamint minden egyes GLA koncentráció (50 μM ; 75 μM és 100 μM) valamint ezek kombinációja esetén szignifikáns hatást tudtunk kimutatni a kontroll sejtek és a kezelt sejtek LDH aktivitása között. 50 és 75 μM GLA nem befolyásolja szignifikánsan az U-87 MG sejtek életképességét. 50-100 μM GLA hozzáadása a már sugarazott sejtekhez (5 Gy-el és 10 Gy-el) nem befolyásolja szignifikánsan az U-87 MG sejtek életképességét.

Az LDH aktivitás esetén 100 μM OA és 10 Gy szinergisztikus hatással rendelkezett. 400 μM OA 20 % alá csökkentette a sejtek LDH aktivitását és életképességét. Az MTS mérések esetén 400 μM OA és 10 Gy szinergisztikus hatással rendelkezett.

Az LDH aktivitás mérések során szinergisztikus hatást mutattunk ki amikor 75 μM (5 Gy-el) és 100 μM (5 Gy-el és 10 Gy-el) EPA-t alkalmaztunk sugarazással. Sejt életképesség vizsgálatok során szinergisztikus hatást figyeltünk meg 50 μM EPA és 10 Gy-el történő kezelés során.

100 μM OA és 50-100 μM EPA nem befolyásolta a sejtek életképességét és az U-87 MG sejtek LDH aktivitását.

A biokémiai méréseink alapján az AA, DHA és GLA volt a leghatásosabb zsírsav, ezért a további morfológiai és gén expressziós vizsgálataink folyamán ezeket alkalmaztuk. AA és DHA-t 25 μM -os, míg a GLA-t 50 μM -os koncentrációban alkalmaztuk.

b. Morfológiai vizsgálatok holografikus képfeldolgozási technikával PUFA kezelést és/vagy sugarazást követően

A holografikus képfeldolgozás lehetővé teszi, hogy az élő sejteket az invazív festékek alkalmazása nélkül vizsgálhassuk. Egy integrált szoftver lehetővé teszi, hogy a sejtek több mint 40 paraméterét vizsgáljuk, ami a citotoxicitásra vonatkozó információt szolgáltat (Madácsi és mtsai, 2013).

A PUFA kezelés nem változtatta meg a sejt számot, konfluenciát, az átlag sejt vastagságot és átlag sejt szabálytalanságot 24 órás kezelést követően.

Az AA és sugarazás együttes alkalmazása megváltoztatta a sejt számot, a konfluenciát, az átlag sejt vastagságot és átlag sejt szabálytalanságot a kontroll sejtekhez képest 48 órás kezelés után. A PUFA-k és 10 Gy 48 óra után szignifikánsan megváltoztatta mind a négy paramétert, kivéve az átlag sejt szabálytalanságot, amikor a DHA a 10 Gy-el sugarazott sejteken volt alkalmazva.

c. Az apoptózis mérése PUFA kezelést és/vagy sugarazást követően FACS-al (Fluoreszcencia aktivált sejt válogatás)

Az 5 Gy-el ellentétben; egy 10 Gy-es dózis szignifikánsan megnövelte az apoptotikus sejtek rátáját. 25 μM AA és 25 μM DHA nem befolyásolta az apoptózis mértékét. 50 μM GLA szignifikánsan megnövelte az apoptotikus sejtek számát. Amikor 25 μM AA-t vagy 25 μM DHA-t 5 Gy-el kombináltunk

szignifikánsan megnőtt az apoptotikus sejtek száma. Hasonló hatást észleltünk amikor 25 μ M AA-t alkalmaztunk 10 Gy-el.

d. A PUFA és/vagy sugarazással kezelt glióma sejtek gén expressziós elemzése

Az oxidatív stresszhez köthető gének esetén (*TRXR1*, *GCLM*, *SRXN1*, *GSR*, *GSTO1*, *HMOX1*, *AKR1C1*, *NQO1*, *DDIT3* és *EGR1*) 24 órát követően csekély változások voltak kimutathatók. Ezért további vizsgálatokat hajtottunk végre 48 óras kezelést követően.

Az *SRXN1* expressziót az AA és DHA, míg a *GCLM* expressziót a DHA kezelés növelte. A *HMOX1* expresszió megnőtt 10 Gy-el való sugarazást követően, míg az *AKR1C1* és *NQO1* nem. Az AA és DHA kezelés megnövelte a *HMOX1* expressziót, egy PUFA sem befolyásolta az *AKR1C1*-et, az *NQO1* expressziót csak a DHA változtatta meg. Az utóbb említett három gén expressziója megnőtt amikor a sejteket egy időben 10 Gy-el és PUFA-al kezeltük, ahhoz az esethez képest amikor a sejtek csak 10 Gy-nek voltak kitéve.

A sugarazás megnövelte az expresszióját a négy korai válaszadó génnek (*EGR1*, a *TNF- α* , a *FOSL1* and *C-FOS*).

Az *EGR1* expressziója mindhárom PUFA hatására megnőtt. AA alkalmazása sugarazás mellett szignifikánsan lecsökkentette a sugarazás okozta expresszióbeli emelkedést, a *GLA* pedig szignifikánsan megemelte. Mindhárom PUFA esetén a sugarazás és PUFA kezelés szignifikánsan nagyobb expressziót okozott mint az önnálló PUFA kezelés.

A PUFA-k nem változtatják meg a *TNF- α* és *C-FOS* expressziót. A PUFA-k és 10 Gy együttes alkalmazása szignifikánsan megemeli a *TNF- α* és *C-FOS* expressziót. A *TNF- α* és *C-FOS* expresszió szignifikánsan alacsonyabb a csak

sugarazott sejtekhez képest a sugarazott és AA-val kezelt sejtekben.

Amikor a PUFA-kat és a 10 Gy-es dózist ugyanazon a mintán alkalmaztuk a *FOSL1* expresszió szignifikánsan megnőtt a kontroll sejtekhez képest. Az AA és GLA szignifikánsan megemelte a *FOSL1* expressziót.

A *NOTCH1* expresszió szignifikánsan megnőtt amikor a sejteket GLA-val, 10 Gy-el kezeltük vagy amikor 10 Gy-t kombináltunk AA-val vagy DHA-val. A GLA és 10 Gy együttes alkalmazása szignifikánsan alacsonyabb expressziót eredményezett a csak sugarazott sejtekhez képest.

Az AA-val vagy 10 Gy-el való kezelés szignifikánsan megemelte a *GADD45A* expressziót. Az AA vagy DHA 10 Gy-el való kombinációja szintén megemelte a *GADD45A* hírvivő RNS (mRNS) szintet.

Csak a 10 Gy-es dózis emelte meg szignifikánsan a *TP53* expressziót, a PUFA kezelés vagy ennek kombinálása 10 Gy-el nem okozott semmilyen változást a *TP53* mRNS szintben.

AA alkalmazása és a 10 Gy-es dózis megnövelte a *C-MYC* expressziót. Mindegyik PUFA kombinálása sugarazással szignifikánsan megemelte a *C-MYC* expressziót.

A PUFA kezelés, 10 Gy vagy a kettő együttes alkalmazása nem volt hatással az *MMP14*, *SIRT1*, *TGFBI*, *TIMP3* expresszióra.

e. A miRNS expresszió változásának vizsgálata PUFA és/vagy 10 Gy-el való kezelés esetén

A miR34a, miR96, miR148a, miR148b és miR152 expressziója nem változott 48 órával kezelést követően. A miR146a expressziója megnőtt DHA valamint kombinált 10 Gy és GLA kezelés hatására. miR146 expresszió GLA hatására csökkent. A miR181a szintje nőtt DHA kezelés következtében.

f. Zsírsv szintézisért felelős gének, a *PLIN3* és a hőssokkfehérjék expressziójának változása PUFA kezelést és/vagy sugarazást követően

24 órás kezelést követően a 10 Gy és GLA kezelés szignifikánsan csökkentette az *SCD1*, *SCD5* expressziót és növelte a *FADS1* mRNS szintet. A DHA, GLA, 10 Gy önmagában és kombinálva szignifikánsan csökkentette a *FADS2* expressziót. GLA kezelés vagy a 10 Gy és PUFA kombináció a *FASN* expressziót szignifikáns módon csökkentette.

48 órás kezelést követően a *FASN*, *SCD1*, *SCD5*, *FADS1*, *FADS2* expresszió szignifikánsan csökkent a GLA kezelésnek köszönhetően. A *FASN* expressziója nőtt a sugarazásnak köszönhetően. A *FADS3*, *ELOVL1*, *ELOVL2*, *ELOVL5*, *HSPB2* expressziója nem változott sem a GLA kezelésnek, sem a sugarazásnak sem a kettő kombinációjának köszönhetően. A *PLIN3* expressziója megnőtt sugarazás hatására. A GLA kezelés szignifikánsan megemelte a *HSP90AA1* mRNS szintet. 10 Gy, GLA, 5 Gy és GLA valamint 10 Gy és GLA szignifikánsan megnövelte a *HSPB1* expressziót.

g. Lipidcsepecske akkumuláció GLA kezelést és/vagy sugarazást követően

A sugarazás szignifikánsan lecsökkentette a glioma sejtek LD tartalmát. A GLA kezelés szignifikánsan megnövelte a sugarazott U-87 MG sejtekben található LD mennyiséget.

5. Következtetések, új tudományos eredmények

1. Glióma sejteken még nem végeztek LDH és MTS mérést, kinetikai módszerrel kombinálva; az UFA-k és/vagy sugarzás (5 és 10 Gy) hatásának felmérése céljából. Mind az öt általunk vizsgált UFA (AA, DHA, GLA, OA és EPA) esetén sikerült 10

Gy-el szinergisztikus hatást kimutatnunk LDH vagy MTS mérésekkel.

2. LDH, MTS és kinetikai méréseink alapján 25 μ M AA, 25 μ M DHA, 50 μ M GLA bizonyult alkalmasnak további vizsgálatokra.

3. A sugárzás és a PUFA-k együttes hatását U-87 MG sejtek morfológiájára ezidáig még nem vizsgálták. A sugárzással (10 Gy) kombinált PUFA kezelés jelentősen befolyásolta a sejtek morfológiáját 48 órás kezelést követően.

4. Az eredmények alapján a génexpresszióban bekövetkező változások PUFA és sugárzás specifikusak. Az eredmények és szakirodalom alapján, a mért hatások szövetspecifikusak. A sugárzást követő PUFA kezelés hatását glióma sejtek génexpressziójára még nem tanulmányozták. Az inkubációs idő fontos befolyásoló tényező génexpresszió vizsgálatok esetén. AA, DHA és GLA specifikusan befolyásolta bizonyos gének expresszióját. A PUFA-k a sugárzás (10 Gy) hatását sok tekintetben felerősítették vagy kedvező módon módosították.

5. A tudományra nézve új megfigyelések a sugárzást követő PUFA kezelés által előidézett miRNS expresszió változás mérések glióma sejtvonalon. Csak a miR146a esetén tapasztaltunk kismértékű változást. miR181a esetén csak az önálló DHA kezelés volt hatásos. A miR34a, miR96, miR148a, miR148b és miR152 esetén az általunk alkalmazott kezelések okoztak kimutatható expresszióbeli változást.

6. A GLA kezelés nem idézett elő LD akkumulációt. Ez új megállapítás, a szakirodalomban nem találtuk ezirányú adatot. U-87 MG sejteken még nem vizsgálták a GLA kezelés hatását a lipid cseppecskék akkumulációjára. A sugárzás (5 és 10 Gy) a LD-k mennyiségének csökkenését idézte elő, U-87 MG sejteken, amit eddig még nem írtak le. Az LD-k akkumulációját még nem vizsgálták GLA kezelt és sugarazott glióma sejteken.

Ha GLA-t alkalmaztunk sugárkezelés (5 és 10 Gy) mellett, a LD mennyiség szignifikánsan nagyobb volt, mint a csak sugarazott sejtekben.

7. A szakirodalomban részletes leírás található a PUFA-k és/vagy sugárzás citotoxicitásáról rákos sejteken. Ennek ellenére, a gén- és miRNS expresszió méréseket ajánlatos volt kiegészíteni az apoptotikus hatásról szóló információval ugyanazon a modell rendszeren, ugyanolyan körülmények között, mint ahogyan a génextpressziós változás meghatározása történt. A PUFA-k önmagukban is hatásosak lehetnek, mint rákellenes hatóanyagok. 25 μ M AA és 25 μ M DHA nem növelte meg az apoptotikus indexet, míg 50 μ M GLA igen. Az AA vagy DHA és a sugárzás (5 Gy) között szinergisztikus hatást mutattunk ki az apoptózis mértékét tekintve.

A PUFA-k önálló vagy sugárkezeléssel való alkalmazásának pontos sejten belüli hatásának megértéséhez további vizsgálatokra lesz szükség.

6. Irodalomjegyzék

Cowing BE, Saker KE (2001): Polyunsaturated fatty acids and epidermal growth factor receptor/mitogen-activated protein kinase signaling in mammary cancer. *J. Nutr* 131(4):1125-8.

Das UN (2004): From bench to the clinic: gamma-linolenic acid therapy of human gliomas. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 70(6):539-52.

Das UN (2007): Gamma-linolenic acid therapy of human glioma-a review of in vitro, in vivo, and clinical studies. *Med Sci Monit*. 13:7.

Dupertuis YM, Mequid MM, Pichard C (2007): Colon cancer therapy: new perspectives of nutritional manipulations using polyunsaturated fatty acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10(4):427-32.

Fan X, Khaki L, Zhu TS, Soules ME, Talsma CE, Gul N, Kuoh C, Zhang J, Li YM, Maiaczyk J, Nikkhah G, Dimeco F, Piccirillo S, Vescovi AI, Eberhart CG (2010): NOTCH pathway blockade depletes CD133-positive glioblastoma cells and inhibits growth of tumor neurospheres and xenografts. *Stem Cells* 28(1):5-16.

Igal RA (2010): Stearoyl-CoA desaturase-1: a novel key player in the mechanisms of cell proliferation, programmed cell death and transformation to cancer. *Carcinogenesis* 31(9):1509-15.

Kitajka K, Sinclair AJ, Weisinger RS, Weisinger HS, Mathai M, Jayasooriya AP, Halver JE, Puskás LG (2004): Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on brain gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101(30):10931-6.

Kürti L, Veszélka S, Bocsik A, Dung NT, Ozsvári B, Puskás LG, Kittel A, Szabó-Révész P, Deli MA (2012): The effect of sucrose esters on a culture model of the nasal barrier. *Toxicol In Vitro* 26(3):445-54.

Madácsi R, Kanizsai I, Fehér LZ, Gyuris M, Ozsvári B, Erdélyi A, Wölfling J, Puskás LG (2013): Aromatic sulfonamides containing a condensed piperidine moiety as potential oxidative stress-inducing anticancer agents. *Med Chem* 9:7.

Ntambi JM, Bené H (2001): Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *J Mol Neurosci* 16(2-3):273-8.

Ózsvári B, Puskás LG, Nagy LI, Kanizsai I, Gyuris M, Madácsi R, Fehér LZ, Gerő D, Szabó C (2010): A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds. *Int J Mol Med* 25:4.

Pucer A, Brglez V, Payré C, Pungertar J, Lameau G, Petan T (2013): Group X secreted phospholipase A2 induces lipid droplet formation and prolongs breast cancer cell survival. *Mol Cancer* 12(1):111

Puskás LG, Fehér LZ, Vizler C, Ayaydin F, Rásó E, Molnár E, Magyary I, Kanizsai I, Gyuris M, Madácsi R, Fábián G, Farkas K, Hegyi P, Baska F, Ozsvári B, Kitajka K (2010): Polyunsaturated fatty acids synergize

with lipid droplet binding thalidomide analogs to induce oxidative stress in cancer cells. *Lipids Health Dis.* 9:56.

Sandrone SS, Repossi G, Candolfi M, Eynard AR (2014): Polyunsaturated fatty acids and gliomas: A critical review of experimental, clinical, and epidemiologic data. *Nutrition*, S0899-9007:00075-00076.

Soni D, King JA, Kaye AH, Hovens CM (2005): Genetics of glioblastoma multiforme: mitogenic signaling and cell cycle pathways converge. *J Clin Neurosci.* 12(1):1-5.

Spitzer M, Wildenhain J, Rappsilber J, Tyers M (2014): BoxPlotR: a web tool for generation of box plots. *Nat Methods.* 11(2):121-2

Vartak S, Robbins ME, Spector AA (1997): Polyunsaturated fatty acids increase the sensitivity of 36B10 rat astrocytoma cells to radiation-induced cell kill. *Lipids.* 32(3):283-92.

Vartak S, McCaw R, Davis CS, Robbins ME, Spector AA (1998): Gamma-linolenic acid (GLA) is cytotoxic to 36B10 malignant rat astrocytoma cells but not to 'normal' rat astrocytes. *Br J Cancer* 77(10):1612-20.

Vessby B, Gustafsson IB, Tengblad S, Boberg M, Andersson A (2002): Desaturation and elongation of fatty acids and insulin action. *Ann N Y Acad Sci* 967:183-95.

Wang J, Wakeman TP, Lathia JD, Hjelmeland AB, Wang XF, White RR, Rich JN, Sullenger BA (2010): Notch promotes radioresistance of glioma stem cells. *Stem Cells.* 28(1):17-28.