

**Talidomid analógok hatásának vizsgálata jelölésmentes szűrőrendszeren és  
a hepatocelluláris karcinóma egér modelljén**

**Nagy Lajos István**

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Témavezető: Dr. Puskás László  
Tudományos tanácsadó

Biológiai Doktori Iskola

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM  
Természettudományi és Informatikai Kar



2015

Szeged



## Tudományos közlemények listája

Nagy Lajos (MTMT azonosító: 10030910)

### Tézis alapjául szolgáló közlemények

**Nagy L.I., Molnar E., Kanizsai I., Madacsi R., Ozsvari B., Feher L.Z., Fabian G., Marton A., Vizler C., Ayaydin F., Kitajka K., Hackler L. Jr., Mates L., Deak F., Kiss I., Puskas L.G.:** Lipid droplet binding thalidomide analogs activate endoplasmic reticulum stress and suppress hepatocellular carcinoma in a chemically induced transgenic mouse model. *LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE* 12:(1) Paper 175. 11 p. (2013)

**Fabian G., Farago N., Feher L.Z., Nagy L.I., Kulin S., Kitajka K., Bito T., Tubak V., Katona R.L., Tiszlavicz L., Puskas L.G.:** High-Density Real-Time PCR-Based in Vivo Toxicogenomic Screen to Predict Organ-Specific Toxicity. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES* 12:(9) pp. 6116-6134. (2011)

**Ozsvari B., Puskas L.G., Nagy L.I., Kanizsai I., Gyuris M., Madacsi R., Feher L.Z., Gero D., Szabo C.:** A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE* 25:(4) pp. 525-530. (2010)

## BEVEZETÉS

Doktori értekezésemben újonnan szintetizált talidomid analógok átfogó vizsgálatát mutatom be a hepatocelluláris karcinóma (HCC) *in vitro* és *in vivo* modelljein. A potenciális gyógyszer-jelölt molekuláinkat hatékonyan vizsgáltunk meg először a HCC sejtes modellrendszerén toxikogenomikai és jelölést nem igénylő módszerekkel, majd *in vivo* hatásvizsgálatot végeztünk a humán betegség Matn2<sup>-/-</sup> egérmodelljén is.

A HCC az ötödik legelterjedtebb rákfajta a férfiak körében, míg a nők esetében a kilencedik helyet foglalja el világviszonylatban, illetve az egyik vezető halálok a rákos megbetegedések közül [1,2]. A kialakulása egy több lépcsős folyamat eredménye, melynek során a krónikus gyulladást okozó környezeti faktorok hozzájárulnak a máj mezenchimális és epiteliális eredetű sejtjeinek a transzformációjához. A folyamatos sérülések és regenerálódások, melyeknek hátterében sokszor közvetve vagy közvetlenül az oxidatív stressz állhat, olyan károsodásokat okozhatnak a májsejtek genetikai állományában, amelyek különböző onkogéneket (Ras útvonal tagjai, PI3K-Akt kináz szignalizáció, mTOR, Wnt jelátviteli út) aktiválnak és/vagy tumorszupresszor (PTEN, p53) géneket inaktiválnak [3-5].

A metasztázis képzés a különböző rákoknak, így a hepatocelluláris karcinómának is, olyan alapvető tulajdonsága, melynek során lokális áttéteket vagy a véráramba belépve és más szervekbe eljutva távoli áttéteket képeznek a tumor progresszió késői fázisában. A HCC sejtekre kiváltképp jellemző a fokozott motilitás és metsztázis képzés [6-7].

A reaktív oxigén és egyéb gyököknek (ROS) meghatározó szerepük lehet különböző patológiás folyamatok kialakulásában, így például a karcinogenezisben is. A reaktív oxigénszármazékok károsíthatják a lipideket, fehérjéket és a DNS-t. A reaktív oxigéngyökök kis stabilitásuk ellenére is kölcsön tudnak hatni a DNS molekulával, amiben bázismódosításokat, töréseket, a dezoxiribóz cukorvázat illetve a DNS javító mechanizmusokat is károsíthatják [8]. Emellett az endoplazmatikus retikulum (ER) működésének zavara is hozzájárul a HCC kialakulásához. Az ER stressz során valamilyen sejten belüli vagy kívüli hatás megzavarja a fehérjék felcsavarodását az ER belül és így a helytelen konformációjú fehérjék felhalmozódhatnak. Az evolúció során olyan mechanizmusok alakultak ki, melyek eltávolítják a helytelenül feltekeredett fehérjéket illetve megkísérlik visszaállítani az endoplazmatikus retikulum homeosztázisát. Amikor az ER stressz tartósan fennáll illetve az újonnan termelődött fehérjék mennyisége jelentősen meghaladja az endoplazmatikus retikulum kapacitását, a sejt működésében zavar lép fel és akár a sejt halálát is okozhatja. Ha az UPR (unfolded protein response) mechanizmus nem

tudja megszüntetni az ER stresszt, abban az esetben aktiválódik az apoptózis belső (intrinsic) és külső (extrinsic) útvonala [9]. A rákos sejtekben, megfigyelték, hogy az UPR mechanizmus jelentős citoprotektív szerephez jut [9], így az olyan kismolekulákkal való kezelés, mely hozzájárulnak az ER stressz kialakulásához vagy az UPR mechanizmus működését gátolják, jó stratégiát jelenthetnek a rákos sejtek elpusztításában.

A HCC állatokban történő tesztelésére több olyan állatmodellt is kialakítottak, mellyel jól tanulmányozható a karcinogenezis kialakulásának lépései és megfelelő modellt jelenthet különböző rákellenes hatóanyag vizsgálatra. Munkánk során a kémiai tumorigenezissel kialakított modellt alkalmaztuk, melynek során az állatokat olyan kémiai ágenssel kezeljük, melyet a máj enzimek biológiailag aktív, karcinogén formává alakít, ami már képes a máj sejtjeit károsítani, DNS adduktokat képezni vagy enzimműködést befolyásolni. Ilyen vegyületek a szén-tetraklorid ( $\text{CCl}_4$ ) vagy dietilnitrozaminnal (DEN) [10-49]. Kísérleteinkhez a DEN indukálta modellt alkalmaztuk, egy olyan transzgenikus modellel, amelyben a Matrillin-2 génje mesterségesen ki van ütvé. Ennek a modellnek a kombinálása egy karcinogén tulajdonsággal rendelkező vegyülettel (DEN) való kezeléssel megfelelő kísérletes modellt jelent a HCC tanulmányozására. A 2 hetes állatoknak intraperitoneálisan beadott DEN a 8. hónapra tumorokat alakít ki a májban [11]. A DEN-nek önmagában nincs karcinogén hatása, a májban a citokróm-P450 enzim alakítja át aktív formává, ami már képes tumorigenezisre. Az aktív formája DNS adduktokat képez a májsejtekben, amely alkiláción megy keresztül és preneoplasztikus régió kialakulásához vezet [12].

## CÉLKITŰZÉS

Doktoranduszi munkám során célul tűztük ki újonnan szintetizált talidomid analógok hatástani vizsgálatát a HCC különböző modelljein. A végpontmérésen alapuló biokémiai tesztekkel kiszűrt, hatásosnak bizonyuló molekulák kinetikáját egy valósidejű mérést lehetővé tevő citotoxicitási panelen (RTCA SP, Real-time Cell Analyzer; Roche) is tesztelni kívántuk. Majd végül a leghatásosabb molekulákat *in vivo*, egér tumor modellen is terveztük megvizsgálni.

### Célkitűzéseink a következők voltak:

- Újonnan szintetizált talidomid analóg vegyületek szűrése végpontmérésen alapuló biokémiai tesztekkel
- Hatásos talidomid analógok vizsgálata valós idejű, jelölésmentes mérési technikával (RT-CES)
- Ac-915 talidomid analóg hatástani vizsgálata toxikogenomikai módszerrel
- Talidomid analógok intracelluláris lokalizációjának és kölcsönható partnereinek vizsgálata
- Talidomid analógok *in vivo* hatásának vizsgálata hepatocelluláris karcinóma Matn2<sup>-/-</sup> egér modellen

## ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

- Talidomid analógok szűrése MTS alapú kolorimetriás végpont esszé segítségével
- HCC sejtek életképességének (RTCA-SP) és migrációs képességének (RTCA-DP) mérése valós időben
- RNS izolálása toxikogenomikai vizsgálatokhoz
- Génexpressziós profil vizsgálat nagy áteresztőképességű nanokapilláris QRT-PCR módszerrel
- A talidomid analógok molekuláris kölcsönható partnereinek mérése hullámhossz rezonancia eltolódáson alapuló bioszenzor technika segítségével
- Reaktív oxigén gyökök (ROS) meghatározása FACS módszerrel
- A HCC sejtek glutation tartalmának mérése GSH-Glo assay segítségével
- Talidomid analógok intracelluláris lokalizációjának vizsgálata konfokális lézer szkennning elektronmikroszkópos technikával
- Talidomid analógok tumorelles hatásának vizsgálata a HCC *in vivo* Matn2<sup>-/-</sup> egér modelljén

## EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Munkánk során beállítottunk egy olyan valós idejű mérésen alapuló technikát a citotoxikus talidomid analóg anyagok hatásának szűrésére, amely a sejtek vezetőképességének mérésén keresztül ad információt a sejtek kezelésre adott válaszáról. Az így kapott eredmények jól korrelálnak a standard, végpontmérésen alapuló technikák eredményeivel. Összefoglalásként elmondható, hogy a valós idejű sejt életképesség méréssel sikeresen vizsgáltuk tovább a biokémiai vizsgálati rendszerrel előszűrt talidomid analógok hatásait. Az anyaghatás időbeli kinetikájának vizsgálatával úgy találtuk, hogy a vizsgált molekulák 10  $\mu\text{M}$  feletti koncentrációban rövid időn belül a sejtek halálát okozza, amelyet biokémiai paraméterek és a mikroelektronikai ellenállás változás mérésén keresztül is tapasztaltunk. Ezzel szemben az alacsonyabb koncentrációk esetében a mért ellenállás értékekben nem történt drasztikus csökkenés, ám feltételezzük, hogy a sejtekben morfológiai változások következtek be, felkerekedtek, a lemez alján elfoglalt fajlagos területük lecsökkent, ám a felülettől nem váltak el. Ebből arra következtethetünk, hogy az anyagkezelés hatására hosszabbtávú események indulnak el, melynek végpontja többek között a programozott sejthalál is lehet. Az előszűrési kísérleteink során két olyan analóg molekulát, az Ac-915-öt és Ac-2010-et, sikerült azonosítanunk, melyek hatása jelentősen kimagaslott a többi molekulák közül. Az Ac-2010 talidomid analógnak a sejtek migrációjára kifejtett hatását az RTCA-DP sejt migrációs mérés technikával mértük, amely szintén a mikroelektronikai paraméterek mérése alapján ad információt a sejt migráció üteméről. Az Ac-2010 már olyan koncentrációban (250 nM) is csökkentette a sejt migráció ütemét a HepG2 sejtek esetében, amely előzetes mérések alapján nem találtuk toxikusnak [13].

Toxikogenomikai vizsgálataink során arra a következtetésre jutottunk, hogy az Ac-915 talidomid analóggal való kezelés hatására jelentősen kevesebb gén aktiválódott összehasonlítva a referencia molekulákként alkalmazott ciszplatinnal és doxorubicinnel, melyek mellékhatásai közismertek. A két kemoterápiás szer több létfontosságú szervben is jelentősen megváltoztatta a gén kifejeződési mintázatot. Ezzel szemben az Ac-915 hatása inkább a máj és emellett a szív szövetre koncentrálódott [14].

Jelen tanulmányunkban megvizsgáltuk az Ac-915 és Ac-2010 kapcsolatát különböző dajka-fehérjékkel. Azt találtuk, hogy a talidomid analógjaink a citotoxikus hatásukat dajkafehérjékkel való kölcsönhatáson keresztül, reaktív oxigén gyökök termelésével és az intracelluláris glutation szint csökkentésével érik el. Hullámhossz rezonancia eltolódás mérésén alapuló technikával közvetlen kölcsönhatást tudtunk kimutatni a HSP70 és HSP90



fehérjék illetve a két vizsgált talidomid analógunk között. A talidomid analógjaink relatív szöveti eloszlásának vizsgálata során célszervekként főleg a májat és a vesét azonosítottuk, mely jól korrelált a toxikogenomikai méréseink eredményével, mivel a legjelentősebb génkifejeződésbeli változásokat főképp a májban és másodsorban a vesében tapasztaltuk. A leghosszabb ideig tartó dúsulás a májban volt kimutatható. A szívben, agyban és izomszövetben nem vagy csak minimális dúsulást találtunk, amely gyorsan le is csengett [13].

Az *in vivo* hatástanulmányainkhoz Matn2<sup>-/-</sup> egereket alkalmaztunk, melyekben 15 napos korukban egyszeri dózis DEN adásával máj tumor képződést indukáltunk, majd az indukció után 4 hónappal Ac-915-tel 3 hónapig vagy Ac-2010-zel 1 hónapig kezeltünk intraperitoneálisan. A kísérlet kiértékelése során szignifikánsan kevesebb daganatot találtunk a kezelt csoportban a kezeletlen kontroll csoporthoz viszonyítva. A kezelt csoportokban nemcsak a tumorok száma volt alacsonyabb, de a tumor méret is kisebb volt, mely a változásokat a májsúly index számításával is alá tudtuk támasztani [13].

Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a talidomid analógjaink a májszövetben a lipid cseppecskékben felhalmozódva serkentik az oxidatív és endoplazmatikus stressz kialakulását, mely a hepatocelluláris karcinóma egér modelljében hozzájárul a tumor méret és tumor szám jelentős csökkenéséhez.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A jelenlegi munka megvalósításához az anyagi háttérét részben a Jedlik Ányos „Avinomid”, az NKTH „Glinolid” és az Asbóth Oszkár program, illetve a GOP-1.3.1-10/B-2010-0016, GOP-1.1.1-11-2011-0003 és GOP-1.1.1-11-2012-0015 pályázatok biztosították.

Köszönetemet szeretném kifejezni a doktori munkám elkészítésével kapcsolatban:

- Témavezetőmnek, **Dr. Puskás Lászlónak**, aki mindvégig messzemenően támogatott és mind a kutatás, mind az eredmények publikálása során folyamatos segítséget nyújtott.
- **Dr. Ózsvári Bélának** a sejtes és a RTCA-CES rendszeren végzett munkákban nyújtott segítségét, valamint, hogy munkám során nemcsak szakmailag, de barátilag is mindvégig támogatott.
- **Dr. Faragó Nórának**, aki a nagy áteresztőképességű nanokapilláris QRT-PCR vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítsége mellett barátilag is támogatott.
- **Dr. Fehér Liliánának**, aki szakmai segítséget nyújtott az *in vitro* MTS esszék kivitelezése során.
- **Dr. Hackler Lászlónak** az Enspire rendszeren végzett munkámhoz nyújtott tanácsaiért és segítségéért.
- **Lehócz Istvánné** asszisztensnek a sejtenyésztési munkákban nyújtott segítségét.
- **Juhász Judit** asszisztensnek a kísérleti állatokkal végzett lelkiismeretes és odaadó munkáját.
- **Marton Annamáriának**, aki áldozatos munkájával segítette az állatkísérletek elvégzését.
- **Dr. Mátés Lajosnak**, **Dr. Kiss Ibolyának** és **Dr. Deák Ferencnek**, akik áldozatos munkával sikeresen létrehozták a Matn2 KO egértörzseket.
- **Dr. Ferhan Ayaydinnak**, aki szaktudásával hozzájárult a dolgozatomban bemutatott mikroszkópos képek elkészítéséhez.
- **Az Avidin Kft vegyészeinek.**
- **Dr. Lénárt Nikolettnek**, **Gyimesi Mónikának**, **Mán Imolának**, **Bognár Juditnak** és **Alföldi Róbertnek**, hogy munkám során barátilag támogattak.
- **Az Avidin Kft.** valamennyi munkatársának közreműködését, támogatását.
- Végül, de nem utolsó sorban köszönet illeti **családomat** munkám során nyújtott támogatásukért, türelmükért és biztatásukért.

## FELHASZNÁLT IRODALOM

1. Trevisani F., Cantarini M.C., Wands J.R.; 2008. Recent advances in the natural history of hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*; 29:1299–1305.
2. El-Serag H.B.; 2011. Hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med.*; 365:1118–1127.
3. Aravalli R.N., Steer C.J., Cressman, E. N.; 2008. Molecular mechanisms of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*; 48: 2047–2063.
4. Arzumanyan A., Reis H.M., Feitelson M.A.; 2013. Pathogenic mechanisms in HBV- and HCV-associated hepatocellular carcinoma. *Nat. Rev. Cancer*; 13: 123–135.
5. Roberts L.R., Gores G.J.; 2005. Hepatocellular carcinoma: molecular pathways and new therapeutic targets. *Semin. Liver Dis.*; 25: 212–225.
6. Hu L., Lau S.H., Tzang C.H., Wen J.M. et al.; 2004. Association of Vimentin overexpression and hepatocellular carcinoma metastasis; *Oncogene*; 23: 298–302.
7. Li Y., Tian B., Yang J., Zhao L. et al.; 2004. Stepwise metastatic human hepatocellular carcinoma cell model system with multiple metastatic potentials established through consecutive in vivo selection and studies on metastatic characteristics. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*; 130: 460–468.
8. Halliwell B., Gutteridge J M.; 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Third edition. *Oxford University Press, Midsomer Norton, Avon, England*.
9. Sano R., Reed J.C.; 2013. ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta.*; 1833 (12):3460-70.
10. Heindryckx F., Colle I., Van Vlierberghe H.; 2009. Experimental mouse models for hepatocellular carcinoma research. *Int. J. Exp. Pathol.*; 90 (4): 367–386.
11. Goldfarb S., Pugh T.D., Koen H., He Y.Z.; 1983. Preneoplastic and neoplastic progression during hepatocarcinogenesis in mice injected with diethylnitrosamine in infancy. *Environ. Health Perspect.*; 50: 149–161.
12. Verna L., Whysner J., Williams G.M.; 1996. N-nitrosodiethylamine mechanistic data and risk assessment: bioactivation, DNA-adduct formation, mutagenicity, and tumor initiation. *Pharmacol Ther.*; 71: 57–81.

13. **Nagy L.I.**, Molnar E., Kanizsai I., Madacsi R., Ozsvari B., Feher L.Z., Fabian G., Marton A., Vizler C., Ayaydin F., Kitajka K., Hackler L. Jr., Mates L., Deak F., Kiss I., **Puskas L.G.**: Lipid droplet binding thalidomide analogs activate endoplasmic reticulum stress and suppress hepatocellular carcinoma in a chemically induced transgenic mouse model. *LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE* 12:(1) Paper 175. 11 p. (2013)
14. Fabian G., Farago N., Feher L.Z., **Nagy L.I.**, Kulin S., Kitajka K., Bito T., Tubak V., **Katona R.L.**, Tizslavicz L., **Puskas L.G.**: High-Density Real-Time PCR-Based in Vivo Toxicogenomic Screen to Predict Organ-Specific Toxicity. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES* 12:(9) pp. 6116-6134. (2011)

**Jelölt neve:** Nagy Lajos István

**Doktori iskola:** SZTE TTIK, Biológiai Doktori Iskola

**Közlemény címe:** Lipid droplet binding thalidomide analogs activate endoplasmic reticulum stress and suppress hepatocellular carcinoma in a chemically induced transgenic mouse model

**Szerzői:** Nagy Lajos István, Dr. Molnár Eszter, Dr. Kanizsai Iván, Madácsi Ramóna, Dr. Ózsvári Béla, Dr. Fehér Liliána, Dr. Fábián Gabriella, Marton Annamária, Dr. Vizler Csaba, Dr. Ferhan Ayaydin, Dr. Kitajka Klára, ifj. Dr. Hackler László, Dr. Mátés Lajos, Dr. Deák Ferenc, Dr. Kiss Ibolya, Dr. Puskás László

**Megjelenés helye, ideje:** *LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE 12:(1) Paper 175. 11 p.; 2013*

#### Társszerzői nyilatkozat

Alulírott társszerzők kijelentjük, hogy a fenti közlemény eredményeinek elérésében a jelölt szerepe meghatározó fontosságú. A jelölt által a Szegedi Tudományegyetem Biológiai Doktori Iskolájához benyújtott tézisében és az értekezésben szereplő, valamint a közösen publikált eredmények eddig nem szerepeltek más Ph.D. értekezés eredményei között. Tudomásul vesszük, hogy az értekezés tudományos eredményei a jövőben nem használhatóak fel más tudományos fokozat megszerzésére indított eljárás során.

Nagy Lajos István (jelölt)

Dr. Molnár Eszter

Dr. Kanizsai Iván

Madácsi Ramóna

Dr. Ózsvári Béla

Dr. Fehér Liliána

Dr. Fábián Gabriella

Marton Annamária

Dr. Vizler Csaba

Dr. Ferhan Ayaydin

Dr. Kitajka Klára

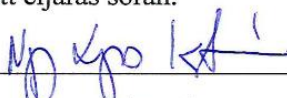
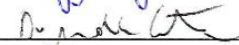




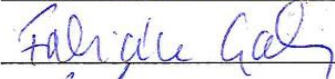









ifj. Dr. Hackler László

Dr. Mátés Lajos

Dr. Deák Ferenc

Dr. Kiss Ibolya

Dr. Puskás László

**Jelölt neve:** Nagy Lajos István

**Doktori iskola:** SZTE TTIK, Biológiai Doktori Iskola

**Közlemény címe:** A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds


**Szerzői:** Dr. Ózsvári Béla, Dr. Puskás László, Nagy Lajos István, Dr. Kanizsai Iván, Dr. Gyuris Márió, Madácsi Ramóna, Dr. Fehér Liliána Zsuzsanna, Dr. Gerő Domokos, Dr. Szabó Csaba

**Megjelenés helye, ideje:** *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE* 25:(4) pp. 525-530.; 2010


#### Társszerzői nyilatkozat

Alulírott társszerzők kijelentjük, hogy a fenti közlemény eredményeinek elérésében a jelölt szerepe meghatározó fontosságú. A jelölt által a Szegedi Tudományegyetem Biológiai Doktori Iskolájához benyújtott tézisében és az értekezésben szereplő, valamint a közösen publikált eredmények eddig nem szerepeltek más Ph.D. értekezés eredményei között. Tudomásul vesszük, hogy az értekezés tudományos eredményei a jövőben nem használhatóak fel más tudományos fokozat megszerzésére indított eljárás során.

Dr. Ózsvári Béla



Dr. Puskás László




Nagy Lajos István (jelölt)




Dr. Kanizsai Iván



Dr. Gyuris Márió



Madácsi Ramóna



Dr. Fehér Liliána



Dr. Gerő Domokos



Dr. Szabó Csaba



**Jelölt neve:** Nagy Lajos István

**Doktori iskola:** SZTE TTIK, Biológiai Doktori Iskola

**Közlemény címe:** A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds

**Szerzői:** Dr. Ózsvári Béla, Dr. Puskás László, Nagy Lajos István, Dr. Kanizsai Iván, Dr. Gyuris Márió, Madácsi Ramóna, Dr. Fehér Liliána Zsuzsanna, Dr. Gerő Domokos, Dr. Szabó Csaba

**Megjelenés helye, ideje:** *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE* 25:(4) pp. 525-530.; 2010

#### **Társszerzői nyilatkozat**

Alulírott társszerzők kijelentjük, hogy a fenti közlemény eredményeinek elérésében a jelölt szerepe meghatározó fontosságú. A jelölt által a Szegedi Tudományegyetem Biológiai Doktori Iskolájához benyújtott tézisében és az értekezésben szereplő, valamint a közösen publikált eredmények eddig nem szerepeltek más Ph.D. értekezés eredményei között. Tudomásul vesszük, hogy az értekezés tudományos eredményei a jövőben nem használhatóak fel más tudományos fokozat megszerzésére indított eljárás során.

Dr. Ózsvári Béla

---

Dr. Puskás László

---

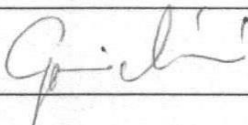
Nagy Lajos István (jelölt)

---

Dr. Kanizsai Iván

---

Dr. Gyuris Márió



---

Madácsi Ramóna

---

Dr. Fehér Liliána

---

Dr. Gerő Domokos

---

Dr. Szabó Csaba

---



**Jelölt neve:** Nagy Lajos István

**Doktori iskola:** SZTE TTIK, Biológiai Doktori Iskola

**Közlemény címe:** A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds

**Szerzői:** Dr. Ózsvári Béla, Dr. Puskás László, Nagy Lajos István, Dr. Kanizsai Iván, Dr. Gyuris Márió, Madácsi Ramóna, Dr. Fehér Liliána Zsuzsanna, Dr. Gerő Domokos, Dr. Szabó Csaba

**Megjelenés helye, ideje:** *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE* 25:(4) pp. 525-530.; 2010

### **Társszerzői nyilatkozat**

Alulírott társszerzők kijelentjük, hogy a fenti közlemény eredményeinek elérésében a jelölt szerepe meghatározó fontosságú. A jelölt által a Szegedi Tudományegyetem Biológiai Doktori Iskolájához benyújtott tézisében és az értekezésben szereplő, valamint a közösen publikált eredmények eddig nem szerepeltek más Ph.D. értekezés eredményei között. Tudomásul vesszük, hogy az értekezés tudományos eredményei a jövőben nem használhatóak fel más tudományos fokozat megszerzésére indított eljárás során.

Dr. Ózsvári Béla

---

Dr. Puskás László

---

Nagy Lajos István (jelölt)

---

Dr. Kanizsai Iván

---

Dr. Gyuris Márió

---

Madácsi Ramóna

---

Dr. Fehér Liliána

---

Dr. Gerő Domokos



Dr. Szabó Csaba

---



**Jelölt neve:** Nagy Lajos István

**Doktori iskola:** SZTE TTIK, Biológiai Doktori Iskola

**Közlemény címe:** High-Density Real-Time PCR-Based in Vivo Toxicogenomic Screen to Predict Organ-Specific Toxicity

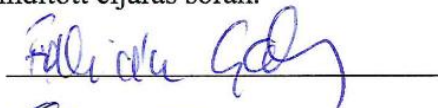
**Szerzői:** Dr. Fábián Gabriella, Dr. Faragó Nóra, Dr. Fehér Liliána Zsuzsanna, Nagy Lajos István, Dr. Kulin Sándor, Dr. Kitajka Klára, Dr. Bitó Tamás, Dr. Tubak Vilmos, Dr. Katona Róbert, Dr. Tiszlavicz László, Dr. Puskas László

**Megjelenés helye, ideje:** *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES* 12:(9) pp. 6116-6134.; 2011

#### Társszerzői nyilatkozat

Alulírott társszerzők kijelentjük, hogy a fenti közlemény eredményeinek elérésében a jelölt szerepe meghatározó fontosságú. A jelölt által a Szegedi Tudományegyetem Biológiai Doktori Iskolájához benyújtott tézisében és az értekezésben szereplő, valamint a közösen publikált eredmények eddig nem szerepeltek más Ph.D. értekezés eredményei között. Tudomásul vesszük, hogy az értekezés tudományos eredményei a jövőben nem használhatóak fel más tudományos fokozat megszerzésére indított eljárás során.


Dr. Fábián Gabriella



Dr. Faragó Nóra



Dr. Fehér Liliána



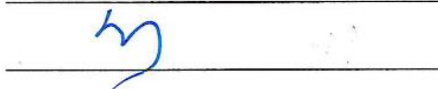
Nagy Lajos István (jelölt)



Dr. Kulin Sándor



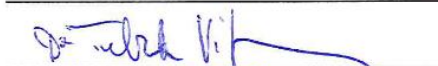
Dr. Kitajka Klára



Dr. Bitó Tamás



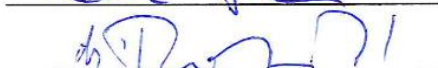
Dr. Tubak Vilmos



Dr. Katona Róbert



Dr. Tiszlavicz László



Dr. Puskás László



**Jelölt neve:** Nagy Lajos István

**Doktori iskola:** SZTE TTIK, Biológiai Doktori Iskola

**Közlemények címei:**

- Lipid droplet binding thalidomide analogs activate endoplasmic reticulum stress and suppress hepatocellular carcinoma in a chemically induced transgenic mouse model; *LIPIDS IN HEALTH AND DISEASE* 12:(1) Paper 175. 11 p.; 2013
- High-Density Real-Time PCR-Based in Vivo Toxicogenomic Screen to Predict Organ-Specific Toxicity; *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES* 12:(9) pp. 6116-6134.; 2011
- A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds; *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE* 25:(4) pp. 525-530.; 2010

**Társszerzői nyilatkozat**

Alulírott Dr. Puskás László, mint témavezető kijelentem, hogy Nagy Lajos István, doktorjelölt, a fentebb felsorolt közleményekben közzétett eredmények elérésében a meghatározó munkát végzett. Valamint igazolom, hogy a jelölt által a Szegedi Tudományegyetem Biológiai Doktori Iskolájához benyújtott tézisében és az értekezésben szereplő eredmények eddig nem szerepeltek más Ph.D. értekezés között és a többi társszerző a jövőben nem kívánja felhasználni doktori eljárás kezdeményezésére.



Dr. Puskás László

