

## **Hevítetlen és hevített napraforgó étolaj karcinogenezisben betöltött szerepének vizsgálata állatkísérletes tesztrendszerben**

**Koczka Viktor<sup>1</sup>, Szabó Zoltán<sup>1</sup>, Raposa László Bence<sup>1</sup>, Varjas Tímea<sup>2</sup>, Gerencsér Gellért<sup>2</sup>, Varga Veronika<sup>3</sup>, Figler Mária<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar,  
Táplálkozástudományi és Dietetikai Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar,  
Orvosi Népegészségtani Intézet

<sup>3</sup>Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Kar,  
Fizioterápiás és Sporttudományi Intézet

### **Összefoglalás**

Az étkezési olajok és zsiradékok fontos szerepet töltenek be a humán táplálkozásban, napjainkban újrafelhasználásuk bevált gyakorlat. Irodalmi adatok szerint a hevített, illetve többszörösen hevített zsiradékok potenciálisan egészségkárosítóak, rizikótényezői lehetnek több, nem fertőző krónikus betegségnek is.

Vizsgálatunk során csoportonként 6-6 db, 12 hetes korú CD-1 egeret használtunk. Az állatokat 4 csoportra osztottuk fel (n=24). A csoportokban a nemek megoszlása egyenlő volt. Az egerek napraforgó étolajat (NÉ) kaptak 1 cm<sup>3</sup>-t, 90 napon át, heti két alkalommal, gyomorszondán keresztül, délután, hevítetlen, 1x hevített vagy 10x hevített formában, a kontroll csoport vizet kapott. A felsoroltakon kívül vizet és standard rágcsálótápot ad libitum fogyasztottak.

A 90. napon cervicalis dislocatiót követően a kísérleti állatok szerveit kiemeltük, biopsziát követően, Trizol protokoll szerint total RNS-t izoláltunk. Az állatok máj- és vastagbélszövetéből Q-RT-PCR-el határoztuk meg a ciklooxygenáz-2, lipoxigenáz-5 és a lipoxigenáz-12 enzimeket kódoló gének mRNS expresszióját.

A statisztikai elemzést SPSS 22.0 programmal végeztük, ANOVA tesztet és post-hoc elemzéseit alkalmazva.

A génexpressziós mintázatokban mindkét szerv szöveteinek esetében találtunk eltérést a kontroll csoporthoz képest. A ciklooxygenáz-2 génexpressziója szignifikáns eltérést mutatott a vastagbélben a NÉ hevítetlen (p<0,05), valamint az NÉ 1x és NÉ 10x (p<0,001) csoportokban, míg a májban a NÉ 1x (p<0,001) és NÉ 10x (p<0,05) csoportokban. A lipoxigenase-5 génexpressziója szignifikáns eltérést mutatott a vastagbélben a NÉ hevítetlen (p<0,001), a NÉ 1x (p<0,05; p<0,001) és a NÉ 10x (p<0,001), míg a májban a NÉ 1x (p<0,001) csoportokban. A lipoxigenase-12 génexpressziója szignifikáns eltérést mutatott a vastagbélben a NÉ hevítetlen, NÉ 1x (p<0,05), valamint NÉ 10x (p<0,001) csoportokban, míg a májban a NÉ hevítetlen (p<0,001) és a NÉ 1x (p<0,05) csoportokban is.

A napraforgó étolaj újrahevített formában, de bizonyos esetekben már hevítetlen állapotban is növelte az egerek májában és vastagbélében olyan géntermékek expresszióját, amelyek szintje számos daganatos megbetegedésben szignifikánsan emelkedett értéket mutat.

**Kulcsszavak:** újrahevítés, génexpresszió, ciklooxygenáz, lipoxigenáz

## Examination of unheated and heated sunflower oil effect on carcinogenesis in animal test system

### Summary

Edible oils and fats plays an important role in human nutrition, and these oils reuse is a good practice nowadays. According to literature data, heated and multiply-heated fats are potentially health-damaging and these fats are also risk factors for many non-infectious chronic diseases.

The study included 6-6 12-week-old CD-1 mice per group. The animals were divided into 4 groups (n=24). The gender distribution was equal in the groups. The groups received 1 cm<sup>3</sup> of sunflower oil (SO) for 90 days, twice a week, through stomach-tube. The first group received in non-heated form, the second group received in 1x heated, the third get in 10x heated form, and the control group received water.

On the 90th day, after cervical dislocation, the organs were excised from the experimental animals, after bopsia, Trizol protocol, total RNA was isolated. The mRNA expression of cyclooxygenase-2, lipoxygenase-5 and lipoxygenase-12 enzymes was determined by Q-RT-PCR from the liver and colon tissues of animals.

The statistical analysis was performed using SPSS 22.0, ANOVA test and post-hoc analysis.

In the gene expression patterns, we found differences in the tissues of both organs compared to the control group. The gene expression of cyclooxygenase-2 showed significant differences in the colon according to the non-heated SO form ( $p < 0,05$ ), and also in the 1x heated and 10x heated SO ( $p < 0,001$ ) groups, while the difference in the liver were 1x heated SO ( $p < 0,001$ ) and the 10x heated ( $p < 0,05$ ). The gene expression of lipoxygenase-5 showed significant differences in the colon according to the non-heated SO form ( $p < 0,001$ ), and also in the 1x heated ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) and 10x heated SO ( $p < 0,001$ ) groups, while the difference in the liver were 1x heated SO ( $p < 0,001$ ). The gene expression of lipoxygenase-12 showed significant differences in the colon according to the non-heated and the 1x heated SO form ( $p < 0,05$ ) and 10x heated SO ( $p < 0,001$ ) groups, while the difference in the liver were in the non-heated form ( $p < 0,001$ ), and the 1x heated SO ( $p < 0,05$ ).

Sunflower oil in re-utilized, or in non-heated form has increased the expression of gene products in the liver and the colon of mice to a higher level, which has increased significantly in many tumor cases.

**Keywords:** reheating, gene expression, cyclooxygenase, lipoxygenase

**Irodalom**

1. C. Y. Ng et al. Heated vegetable oils and cardiovascular disease factors. *Vasc Pharmacol* **2014**; 61:1-9
2. X. F. Leong, M. R. Mustafa, S. Das, K. Jaarin. Association of elevated blood pressure and impaired vasorelaxation in experimental Sprague-Dawley rats fed with heated vegetable oil. *Lipids Health Dis.* **2010**; 9:66
3. K. Narasimhamurthy, P. L. Raina. Long term feeding effects of heated and fried oils on lipids and lipoproteins in rats. *Mol Cell Biochem.* **1999**; 195:143-153
4. X. F. Leong, J. Salimon, M. R. Mustafa, K. Jaarin. Effect of repeatedly heated palm olein on blood pressure-regulating enzymes activity and lipid peroxidation in rats. *Malays J Med Sci.* **2012**; 19 (1) 20-29
5. C. Chacko, T. Rajamohan. Repeatedly heated cooking oils alter platelet functions in cholesterol fed Sprague-Dawley rats. *Int J Biol Med Res.* **2011**; 2 (4): 991-997
6. X. F. Leong, C. Y. Ng, K. Jaarin, M. R. Mustafa. Effects of repeated heating of cooking oils on antioxidant content and endothelial function. *Austin J Pharmacol Ther.* **2015**; 3 (2). 1068.
7. W. J. Blot, R. E. Tarone. Doll and Peto's quantitative estimates of cancer risks: Holding generally true for 35 years. *J Natl Can Inst.* **2015**; 107 (4): djv044
8. Doll R., Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Can Inst.* **1981**; 66 (6): 1191-308
9. P. Anand et al. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes; *Pharm Res.* **2008**; 25 (9): 2097-2116
10. R. A. Othman. Dietary lipids and cancer. *Libyan J Med.* **2007**; 2 (4): 180-184
11. R. A. Woutersen, M. J. Appel, A. Garderen-Hoetmer, M. V.W. Wijnands. Dietary fat and carcinogenesis. *Mutat Res.* **1999**; 443, 111-127
12. S. Siristava et al. Genotoxic and carcinogenic risks associated with the consumption of repeatedly boiled sunflower oil. *J Agric Food Chem.* **2010**; 58(20):11179-86
13. B. L. Halvorsen, R. Blomhoff. Determination of lipid oxidation products in vegetable oils and marine omega-3 supplements. *Food Nutr Res.* **2011**; 55:10
14. Masi LN. et al. Sunflower oil supplementation has proinflammatory effects and does not reverse insulin resistance in obesity induced by high-fat diet in C57BL/6 mice. *J Biomed Biotechnol.* **2012**; 2012:945131
15. Esmailzadeh A., Azadbakht L. Home use of vegetable oils, markers of systemic inflammation, and endothelial dysfunction among women. *Am J Clin Nutr.* **2008**; 88(4):913-21
16. Thies F. et al. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomised controlled trial. *Lancet.* **2003**; 361(9356): 477-85
17. Comhaird TM. et al. Dietary cholesterol, female gender and n-3 fatty acid deficiency are more important factors in the development of non-alcoholic fatty liver disease than the saturation index of the fat. *Nutr Metab (Lond).* **2011**; 8:4
18. S. Bhardwaj et al. Effect of heating/reheating of fats/oils, as used by Asian Indians, on trans fatty acid formation. *Food Chem.* **2016**; 212: 663-670
19. S. Purushothama, H. D. Ramachandran, K. Narasimhamurthy, P. L. Raina. Long-term feeding effect of heated and fried oils on hepatic antioxidant enzymes, absorption and excretion of fats in rats. *Mol Cell Biochem.* **2003**; 247: 95-99
20. S. Siristava et al. Genotoxic and carcinogenic risks associated with the dietary consumption of repeatedly heated coconut oil. *Br J Nutr.* **2010**; 104: 1343-1352

21. L. D. Banks et al. Olive oil prevents benzo(a)pyrene [B(a)P]-induced colon carcinogenesis through B(a)P metabolism and decreased oxidative damage in Apc mouse model; *J Nutr Biochem.* **2016**; 28: 37-50
22. T. Fujise et al. Long-term feeding of various fat diets modulates azoxymethane-induced colon carcinogenesis through Wnt/B-catenin signaling in rats. *A J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* **2007**; 292 (4): G1150-G1156
23. C. Somnuk, B. Innawong, C. Tirawattanawanich. Citotoxicity of used frying oil recovered by different adsorbents. *Kasetsart Journal – Natural Science.* **2013**; 47(6): 874-884
24. R. P. Venkata, R. Subramanyam. Evaluation of the deleterious health effects of consumption of repeatedly heated vegetable oil. *Toxicology Reports.* **2016**; 3: 636-643
25. H. Mernitz et al. Fish oil supplementation inhibits NNK-induced lung carcinogenesis in the A/J mouse. *Nutr Cancer.* **2009**; 61(5): 663-669
26. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1533002816302067> (Pécs, 2017.03.25)
27. J. S. Saldivar et al. COX-2 overexpression as a biomarker of early cervical carcinogenesis: A pilot study. *Gynecol Oncol.* **2007**; 107: 155-162
28. Y. Zhao et al. Lipid metabolism enzyme 5-LOX and its metabolite LTB4 are capable of activating transcription factor NF- $\kappa$ B in hepatoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* **2012**; 418: 647-651
29. A. K. Singh et al. Evaluation of human LOX-12 as a serum marker for breast cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* **2011**; 414: 304-308
30. M. Kandouz et al. Platelet-type 12-lipoxygenase activates NF- $\kappa$ B in prostate cancer cells; *Prostaglandins Other Lipid Med.* **2003**; 71: 189-204
31. <http://www.eufic.org/en/healthy-living/article/how-to-choose-your-culinary-oil> (Pécs, 2017.03.25)
32. S. Reagan-Shaw, M. Nihal, N. Ahmad. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB Journal.* **2007**; 22: 659-661
33. <https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank> (Pécs, 2017.03.25)