

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**  
**Budapest**

**A butirát epigenetikus és a mikroszomális  
méregtelenít enzimekre gyakorolt hatásának  
vizsgálata a csirke májában**

**PhD értekezés tézisei**

**Dr. Mátis Gábor**

**2013**

Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola  
Budapest

Témavezetők és témabizottsági tagok:

*Dr. Neogrády Zsuzsanna, CSc*  
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar  
Élettani és Biokémiai Tanszék  
témavezető

*Dr. Csikó György, CSc*  
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar  
Gyógyszertani és Méregtani Tanszék  
társ-témavezető

*Dr. Korinna Huber, Univ.-Prof.*  
Hannoveri Állatorvosi Egyetem  
Élettani Intézet  
témabizottsági tag

*Dr. Jemnitz Katalin, PhD*  
MTA Természettudományi Kutatóközpont  
Molekuláris Farmakológiai Intézet  
témabizottsági tag

*Dr. Székér Krisztina, PhD*  
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar  
Gyógyszertani és Méregtani Tanszék  
témabizottsági tag

# 1. Bevezetés

A butirát mint illó zsírsav az egyik legfontosabb végterméke a kér dz k el gyomraiban és a monogastricus eml sök, a madarak, valamint az ember vastagbelében zajló anaerob mikrobiális szénhidrátbontásnak. A butirát ugyanakkor széles körben, els sorban a baromfi- és a sertéstartásban alternatív hozamfokozóként alkalmazott takarmánykiegészít , köszönhet en az állatok növekedésére kifejtett jótékony hatásainak. Ez különösen nagy jelent séggel bír, amióta a hagyományos, hozamfokozó antibiotikumokat betiltották az Európai Unióban.

A butirát a gyomor- és bélrendszer nyálkahártyájának egyik legfontosabb energiaforrása, valamint kiemelked szerepet játszik a hámsejtek proliferációjában, differenciálódásában és daganatellenes hatással is rendelkezik. A legtöbb enterális patogén kórokozóval szemben szelektív antimikrobiális hatással bír, jelent sen javítva ezzel a bél mikroflórájának összetételét. Habár a bél hámsejtjei hatékonyan metabolizálják a butirátot, annak egy része felszívódik és a portális keringéssel elérni a májat. A butirát mint a - oxidáció kiindulási anyaga a májsejteknek is fontos energiaforrása, de az intracelluláris anyagcsereutak hatékony effektorának is tekinthet . Számos biokémiai hatással rendelkezik, befolyásolhatja a vérplazma inzulinkoncentrációját és növelheti különböz szövetek inzulinérzékenységét.

A butirát több különböz , máig sem teljesen tisztázott úton képes az anyagcsére gyakorolt hatását kifejteni. Ezen utak egyike, hogy a molekula hiszton-deacetiláz (HDAC) gátlóként ismert, *in vitro* modellben igazoltan hiszton-hiperacetilációt eredményez és így jelent s szerepet játszhat a génexpresszió és ezzel a sejt m kódésének epigenetikus szabályozásában. A hisztonok poszttranszlációs módosítása folyamán a hiszton-acetiltransferáz és a HDAC enzimek aktivitásainak egyensúlya meghatározza a hisztonok acetiláltságának mértékét. Ha a butirát gátolja a HDAC-t, ez hiszton hiperacetilációt okoz a hisztonok N-terminális végein, amely módosult kromatinszerkezetet eredményez, befolyásolva egyes gének transzkripciós mintázatát. A butirát által indukált hisztonmódosulások komoly szerepet játszhatnak a butirát tumorelles és antibakteriális, illetve metabolikus hatásaiban is.

Ismert, hogy a butirát a H3 és H4 hisztonok hiperacetilációját okozza a legtöbb eddig vizsgált sejtvonalon, míg néhány, patkányból nyert sejttypusnál a H2A és H2B hisztonok acetilációját is befolyásolja. Az *in vitro* eredmények széles skálájával ellentétben csupán rendkívül kevés irodalmi adat áll rendelkezésre a butirát *in vivo* hiszton acetilációra gyakorolt hatására vonatkozóan, csirkében pedig ugyanezt még egyáltalán nem vizsgálták. PhD munkám során feltételeztem, hogy a szájon át adagolt butirát *in vivo* is a kromatinszerkezet módosulását okozhatja fiatal csirkék májsejtjeiben.

A máj eredet mikroszomális citokróm P450 (CYP) enzimek a hemoproteinek szupercsaládját alkotják és számos endogén, valamint exogén vegyület oxidatív lebontásában vesznek részt. Kiemelkedő szerepet játszanak a xenobiotikumok biotranszformációjának részét képező első fázisú reakciókban és a szteroidok anyagcseréjében. Tudjuk, hogy több, a gyógyszerlebontásban szereplő mikroszomális CYP enzim expressziójára hatással lehet a hiszton-modifikáció, megváltoztatva a kromatinszerkezetet és néhány transzkripció faktor affinitását a CYP gének promóter régiójához. Ezekre a megfigyelésekre alapul, hogy a mikrobák által termelt vagy a szájon át adagolt, farmakoepigenetikusan aktív butirát is képes lehet a CYP enzimek aktivitásának megváltoztatására, befolyásolva ezzel a máj méregtelenítő képességét és a gyógyszerlebontást. Ugyanakkor a butirát mikroszomális CYP enzimekre gyakorolt ezirányú lehetséges hatásait még nem vizsgálták.

A makrolid antibiotikumok, mint az eritromicin, szintén hatékony effektorai a CYP enzimeknek. Az eritromicin többféleképpen is hathat a különböző mikroszomális CYP-ekre, módosítva ezzel más xenobiotikumok lebontását, ami egyes gyógyszerek közötti interakciókhoz vezethet. Mindazonáltal az eritromicin csirkék CYP génexpressziójára gyakorolt hatásait még nem tanulmányozták. Az eritromicin a baromfi kezelésében általánosan használt antibiotikum, ezért a máj CYP enzimjeire gyakorolt hatásának és a butiráttal történő együttes alkalmazás esetén fellépő lehetséges metabolikus interakciójának a vizsgálata csirkében nagy jelentőséggel bírhat.

Annak ellenére, hogy a butirát számos biológiai hatását leírták, epigenetikus, trofikus és metabolikus hatásai, különösen *in vivo*, a butirát szájon keresztül történő adagolását követően nem teljes mértékben ismertek. A butirátot széles körben alkalmazzák a baromfi-takarmányozásban, ugyanakkor a csirke nem csupán célállatfajként szerepel kísérleteimben, hanem a molekula hatásainak vizsgálatánál modellként is szolgál.

A PhD munka során két különböző, szájon át történő butirátkezelést alkalmaztam. A brojler csirkék a butirátot felvehették takarmánykiegészítő és napi bolus formájában. Az utóbbi kezelés rövid idő alatt jelentős mennyiségű butirát hatásának tette ki a májat, ezért lehet vé tette a molekula *in vivo* epigenetikus és metabolikus hatásainak célzott vizsgálatát.

Jelen PhD munka legfőbb célkitűzései az alábbi pontokban foglalhatók össze:

#### **Ad 1**

(1a) A szájon át adagolt butirát vékonybélhámra gyakorolt hisztomorfológiai hatásainak vizsgálata, valamint a kapott adatok összehasonlítása csirkében és patkányban (utóbbi a monogastricus emlősök modelljeként szolgál).

(1b) Primer májsejttenyészetek butirátfelvételének, valamint a butirát biológiai hasznosulásának tanulmányozása csirkében és patkányban.

**Ad 2**

A brojlersirkéknek szájon át, takarmánykiegészít ként vagy bolus formájában adott butirát *in vivo* epigenetikus hatásainak vizsgálata, a hisztonok butirát által kiváltott hiperacetilációjának tanulmányozása.

**Ad 3**

A butirát hepatikus mikroszomális CYP enzimek génexpressziójára gyakorolt hatásának vizsgálata *in vitro* primer májsejtenyészeteken, továbbá *in vivo*, butirát szájon át történő adagolását követően csirkében. Végezetül a CYP enzimek aktivitásának mérése annak megállapítása érdekében, hogy a butirát befolyásolja-e a máj méregtelenítőképességét, illetve a xenobiotikumok biotranszformációját.

**Ad 4**

A butirát és az eritromicin közötti, a CYP génexpresszió befolyásolásában megnyilvánuló lehetséges *in vitro* farmakoepigenetikus interakció tanulmányozása csirke primer májsejtenyészeteken. Ezen felül brojlersirkéknek takarmánykiegészít ként adott butirát hatásának vizsgálata az eritromicin farmakokinetikai paramétereire.

## 2. Anyag és módszer

### 2.1. Primer májsejttenyészeteken végzett *in vitro* kísérletek

#### 2.1.1. Csirke és patkány primer májsejttenyészetek butirátfelvétele

A csirke és a patkány májból izolált sejtekből 24 óra inkubációt követően egybefüggően, egyrétegű sejttényészeteket nyertem, amelyeket a glutamináz enzim immunhisztokémiai kimutatásával jellemeztem. A sejteket 24 órán keresztül nátrium-butirát különböző koncentrációival (0, 1, 5 és 10 mM) kezeltem. A tápfolyadék butirátkoncentrációjának gázkromatográfiás mérésére a 24 órás kezelési periódus végén került sor, Nukol szilikaoszlop segítségével.

#### 2.1.2. Csirke primer májsejttenyészetek CYP génexpressziója

A csirke primer májsejttenyészeteket 24 órán át kezeltem a következő protokoll szerint: a tápfolyadék a nátrium-butirát 6 különböző koncentrációját tartalmazta (0, 1, 2,5, 5, 7,5, 10 mM), és ezek mindegyikét az eritromicin következő koncentrációival kombináltam: 0, 10, 50 és 100  $\mu$ M. A sejteket az inkubációs idő elteltével TRIzol reagenssel lizáltam. RNS-izolálást és reverz transzkripciót követően qRT-PCR vizsgálattal határoztam meg a CYP1A, CYP2H1 és CYP3A37 enzimek relatív génexpresszióját.

#### 2.1.3. Csirke primer májsejttenyészetek eritromicin-felvétele

A csirke primer májsejttenyészeteket a 2.1.2. pontban leírtak szerint nátrium-butirát és eritromicin különböző koncentrációival kezeltem. A 24 órás kezelést követően a tenyészetek tápfolyadékainak eritromicin-koncentrációját validált HPLC módszerrel határoztam meg, melyhez Nucleosil C18 5  $\mu$ m 25x0.46 oszloppal kombinált Merck-Hitachi LaCrom Elite HPLC rendszert használtam.

### 2.2. *In vivo* kísérletek

#### 2.2.1. A takarmánykiegészítéként alkalmazott butirát hatása csirkében

A kísérlet kezdetén napos korú brojlercsirkék 21 napon keresztül alaptakarmányt vagy nátrium-butiráttal kiegészített takarmányt kaptak (1,5 g/takarmány kg). A kísérlet utolsó napján vérmintát vettem a szárnyvénából a vérplazma butiráttartalmának gázkromatográfiás meghatározásához. A 21. napon a kísérleti állatok levágását követően bélmintákat nyertem a jejunum proximális szakaszából, melyeket hisztometriai vizsgálatoknak vettem alá. A májat a *v. portae* perfúziójával vértelenítettem, majd májmintákat vettem a CYP génexpresszió mértékének meghatározásához (qRT-PCR) és a sejtorganellumok izolálásához, melyhez többlépéses differenciáló centrifugálást alkalmaztam. A máj hisztonjainak acetiláltságát a sejtmagok western blot módszerrel történő vizsgálatával tanulmányoztam, míg a CYP enzimek aktivitását specifikus enzimkinetikai tesztekkel (aminopirin-N-demetiláció, anilin-

hidroxiláció és tesztoszteron-6 -hidroxiláció) vizsgáltam. Intracoelomalisán adott fenobarbitál (PB) kezelést (80 mg/ttkg) alkalmaztam a CYP aktivitás mérése során pozitív kontrollként.

Összehasonlító vizsgálatokat is végeztem választás utáni patkányokkal, melyek nátrium-butiráttal kiegészített takarmányt kaptak (1,5 g/takarmány kg). Az állatokat a kísérlet 21. napján leöltem, majd meghatároztam a vérplazma butirátkoncentrációját, hisztometriai mérések során vizsgáltam a vékonybél mikromorfológiáját és a mikroszomális CYP enzimaktivitást is tanulmányoztam.

#### **2.2.2. A bolusként alkalmazott butirát hatása csirkében**

Fiatal brojlercsirkéket kezeltem éjszakai takarmánymegvonást követően, naponta egyszer, szájon át adott nátrium-butirát bolus két különböző mennyiségével (0,25 vagy 1,25 g/ttkg) 5 napon keresztül. Az alacsonyabb dózis megközelít leg az előző kísérletben takarmánykiegészítésként naponta felvett nátrium-butirát mennyiségének felelt meg. Vágás és mintagyűjtés után meghatároztam a vérplazma butirátkoncentrációját, a hepatikus hisztion-acetiláció mértékét és a mikroszomális CYP aktivitást a 2.2.1. pontban leírtaknak megfelelően.

#### **2.2.3. A butirát és a fenobarbitál együttes hatása csirkében**

Az egyidejűleg adott butirát és PB hepatikus mikroszomális CYP aktivitásra kifejtett hatását vizsgáltam brojlercsirkékben, melyek napi bolusban *per os* 0,25 g/ttkg nátrium-butirátot és intracoelomalisán 80 mg/ttkg PB-t kaptak. A CYP aktivitás mérését a máj mikroszómafrakciójából a 2.2.1. pontban leírtak szerint végeztem el.

#### **2.2.4. A butirát hatása az eritromicin farmakokinetikájára csirkében**

Brojlercsirkéket nátrium-butiráttal kiegészített (1,5 g/takarmány kg) vagy kontroll takarmánnyal etettem, a 6 hetes etetési időszak végén az állatok egyszeri intramuscularis eritromicin injekciót kaptak (30 mg eritromicin bázis/ttkg). A vérmintákat 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 8 és 12 órával a kezelés után nyertem, majd a vérplazma eritromicin-koncentrációját validált HPLC módszerrel határoztam meg. Az eritromicin farmakokinetikai paramétereit Kinetica 4.4.1. szoftver segítségével számoltam ki.

### **2.3. Statisztikai elemzés**

Az adatok statisztikai elemzését R 2.14.0 szoftverrel végeztem. Egyutas ANOVA-t vagy ANCOVA-t és Student-féle t-próbát alkalmaztam a kezelt és a kontroll csoport értékeinek összehasonlítására normál eloszlásnál, míg nemparaméteres Mann-Whitney-féle tesztet a nem normál eloszlásoknál. A szignifikanciahatárt  $P < 0,05$ -nek tekintettem.

### **3. Eredmények és megbeszélés**

#### **3.1. A szájon át alkalmazott butirát hatásai a vékonybél hisztomorfológiájára**

A butirát hozamfokozó hatása részben a vékonybél nyálkahártyájának morfológiai változásain alapul: a butirát mindkét fajban növelte a Lieberkühn-mirigyek mélységét, továbbá a molekula mérhető trofikus hatást fejtett ki a csirkék bélhámsejtjeire, patkányban azonban ez utóbbi jelenség nem volt megfigyelhető. A takarmány butirátkiegészítését követően a bélhámsejtek megnövekedett hossza felhívja a figyelmet arra, hogy a butirát nem csupán a sejtosztódás hatékony szabályozója, hanem direkt trofikus hatása révén a gyomor- és bélrendszer hámsejtjeinek hipertrófiáját is okozza. A fent említett morfológiai változások a vékonybél felszívófelületének megnövekedéséhez és következményesen a tápanyagok hatékonyabb felszívásához vezetnek, mely jótékonyan el segíti az állatok növekedését. Ugyanakkor nyilvánvaló, hogy a növekedési erély fokozódása számtalan egyéb hatásnak is köszönhető, mint a bélflóra egyensúlyának biztosítása és az immunkészség növelése.

#### **3.2. Tenyésztett májsejtek butirátfelvétele és a szájon át felvett butirát biológiai hasznosulása**

Az *in vitro* kísérleteket figyelembe véve a tenyésztett májsejtek nagy mennyiségben vették fel a butirátot a tápfolyadékából, ugyanakkor csirke esetében magasabb butirátkoncentrációknál a felvétel mértéke elért egy felső határt, mely fölött az már nem emelkedett. Ezzel szemben patkány primer májsejtenyészetekben még az alkalmazott legmagasabb, 10 mM kezdeti butirátkoncentráció esetén is növekedett a butirátfelvétel mértéke. A két vizsgált állatfaj butirátfelvételében talált különbség háttérében feltételezhetően különböző transzportfolyamatok állhatnak.

Eredményeim szerint, annak ellenére, hogy a máj a butirát egy részét metabolizálja, egy bizonyos mennyiség a szisztémás keringésbe is eljut, a butirát plazmakoncentrációjának megemelkedését okozva csirkében és patkányban szájon át történő butirátadagolást követően, függetlenül az adagolás módjától (takarmánykiegészítő vagy csirke esetében bolus). Az adagolás utóbbi formájában a plazma butirátkoncentrációjának jelentős dóziszfüggése figyelhető meg. Eredményeim alapján kijelenthető, hogy a takarmányban adott butirát elérte az extrahepatikus szöveteket is, ahol biológiailag aktív molekulaként viselkedhet.



### **3.3. Szájon át adagolt butirát hiszton-acetilációra gyakorolt epigenetikus hatása a májban**

A szájon át adagolt butirát takarmánykiegészít és bolus formájában egyaránt jelentős hatással bírt a brojlercsirkék májsejtjeinek kromatinszerkezetére *in vivo*. Adagolástól és dózistól függetlenül a butirát a H2A hiszton hiperacetilációját okozta, de nem találtam szignifikáns különbséget a H2B acetiláltsági fokában. Intenzív, közel 18-szoros hiperacetilációt tapasztaltam a H3 hiszton esetében a bolus magasabb dózisánál, míg az alacsonyabb dózis sem bolusban, sem pedig takarmánykiegészítként nem változtatta meg azt. A H4 acetiláltságának mértékét rendszeresen az alacsonyabb dózisú butirát bolus fokozta, de nem történt változás magasabb dózis vagy takarmánykiegészítként való alkalmazás esetén.

Összefoglalva eredményeimet, a szájon át takarmánykiegészítként és bolusban adott butirát egyaránt befolyásolta a hepatikus hiszton-acetilációt *in vivo*, de a kiváltott acetilációs mintázat részben függött az alkalmazás módjától és a dózistól. Mivel a butirát módosította a kromatinszerkezetet, a génexpresszió fontos epigenetikus effektorának tekinthet májsejtekben.

### **3.4. A butirát hepatikus CYP génexpresszióra és enzimaktivitásra gyakorolt hatása *in vitro* és *in vivo***

A butirát hatást gyakorolt a vizsgált CYP gének expressziójára *in vitro* és *in vivo* egyaránt. A CYP2H1 gén expressziója növekedett mind májsejttenyésztésben, mind a butiráttal etetett csirkék májában. Továbbá a CYP3A37 gén expressziója csökkent az *in vitro* butirátkezelésnek köszönhetően, ugyanakkor ez a csökkenés mérséklődött *in vivo*. A CYP1A gén szupressziója volt megfigyelhető butirát hatására tenyésztett májsejtekben, ezzel szemben *in vivo* a génexpresszió növekedett a butiráttal kezelt állatokban a kontrollhoz képest.

A hiszton-acetilációban és a CYP génexpresszióban tapasztalt *in vivo* változások ellenére a hepatikus mikroszomális CYP2H és CYP3A37 enzimek aktivitásában nem történt olyan változás egyik alkalmazási mód és állatfaj esetében sem, mely specifikus enzimkinetikai tesztekkel kimutatható lett volna. Ebből az következtetés vonható le, hogy a butirát által indukált, a vizsgált CYP gének transzkripciójában bekövetkező változások végül nem fejeződnek ki az enzimaktivitás szintjén. Ugyanakkor a bolusban adott butirát mérsékelte az egyidejűleg adagolt PB CYP2H és CYP3A37 enzimeket stimuláló hatását, valószínűleg a CYP génexpressziót szabályozó, részben azonos jelátviteli utakon keresztül.

### **3.5. A butirát és az eritromicin interakciója *in vitro* és *in vivo***

Az eritromicin additív hatást fejtett ki az egyidejűleg alkalmazott butirátkezeléssel a CYP2H1 gén expressziójára, de antagonizálta a butirát hatását a CYP3A37 gén expressziója esetében csirke primer májsejtenyészeten. A butirátkoncentráció befolyásolta a médiumban mérhető eritromicin-fogyás mértékét.

Az *in vivo* kísérletben az eritromicin tekintetében hosszabb felszívódási felezési idő és  $T_{max}$ , valamint rövidebb eliminációs felezési idő volt megfigyelhető a csirkék azon csoportjánál, melyek butirátkezelést kaptak. A  $C_{max}$  értékeket alapul véve a két csoport nem bizonyult bioekvivalensnek. Az eritromicin néhány farmakokinetikai jellemzőjének általánosan mért változásai szerint azonban a butirát feltételezhetően nem befolyásolja számottevő mértékben az eritromicin terápiás aktivitását, sem végleges kiürülését csirkében.

Eredményeim alapján megállapítható, hogy a szájon át adagolt butirát epigenetikusan aktív molekulaként fokozza a máj hisztonjainak acetiláltsági fokát és befolyásolja a hepatikus CYP génexpressziót csirkében *in vitro* és *in vivo* egyaránt. Ugyanakkor ezek a változások nem jutnak érvényre a máj mikroszomális CYP aktivitásának szintjén, így a butirát eritromicinnel való együttes alkalmazása feltehetően nem okoz jelentős metabolikus interakciót csirkében. Ezek alapján a butirát mint takarmánykiegészítőt mind farmakoterápiás, mind élelmiszerbiztonsági szempontból feltételezhetően biztonságosan adagolható a baromfi-takarmányozásban.

## 4. Új tudományos eredmények

### Ad 1

Kimutattam, hogy a takarmánykiegészítésként alkalmazott butirát (1,5 g/takarmány kg dózisban) trofikus hatása révén növeli a bélhámsejtek hosszát fiatal brojlercsirkék jejunumában.

### Ad 2

Igazoltam, hogy a szájon át adagolt butirát jelentős epigenetikus hatással bír *in vivo* csirkék májsejtjeinek hiszton-acetilációjára. A takarmány 1,5 g/kg dózisú butirátkiegészítése a hepatikus H2A hiszton hiperacetilálódását okozza, míg más hisztonok acetiláltságának mértékét nem módosítja. A butirát 1,25 g/ttkg-os bolusban 5 napon keresztül alkalmazva növeli a H2A és a H3 hisztonok acetiláltsági fokát, de a H2B és a H4 esetében nem figyelhető meg szignifikáns változás.

### Ad 3

Megállapítottam, hogy a butirát befolyásolja egyes hepatikus citokróm P450 (CYP) enzimek génextpresszióját *in vitro* csirke primer májsejttenyészetben (1-10 mM koncentrációban), hasonlóan, mint *in vivo*, takarmánykiegészítésként adagolva (1,5 g/takarmány kg). A butirát növeli a CYP2H1 gén expresszióját *in vitro* és *in vivo* egyaránt. Ugyanakkor a CYP3A37 gén expressziója csökken az *in vitro* butirátkezelést követően, míg ez a hatás *in vivo* nem kimutatható. A butirát szuppresszálja a CYP1A gént primer májsejttenyészetben, ezzel szemben a butiráttal etetett állatokban a gén expressziójának fokozódása tapasztalható. A szájon át akár takarmánykiegészítésként (1,5 g/takarmány kg), akár bolusban (0,25 vagy 1,25 g/ttkg) adagolt butirát nem befolyásolja a hepatikus mikroszomális CYP2H és CYP3A37 enzimek aktivitását csirkék májában, sem aminopirin-N-demetilációs (CYP2H/CYP3A37), sem anilin-hidroxilációs (CYP2H), sem pedig tesztoszteron-6-hidroxilációs (CYP3A37) teszttel vizsgálva. Ugyanakkor a butirát bolus mérsékli az egyidejűleg alkalmazott fenobarbitál CYP2H és CYP3A37 enzimekre gyakorolt serkentő hatását.

### Ad 4

Kimutattam, hogy az eritromicin (10-100 µM koncentrációban) növeli a CYP2H1 gén expresszióját csirke primer májsejttenyészetben, mely additív hatást mutat az egyidejű butirátkezeléssel (1-10 mM koncentrációban). Az eritromicin ugyanakkor mérsékli a butirát CYP3A37 génnel kifejtett szuppresszív hatását. A takarmányba kevert butirát (1,5 g/takarmány kg) módosítja az egyidejűleg adott eritromicin (30 mg/ttkg) farmakokinetikai jellemzőit csirkében, megnövekedett felszívódási felezési idő  $t$  és  $T_{max}$ -ot, valamint csökkent eliminációs felezési idő  $t$  eredményezve. Ugyanakkor ezek a változások nem befolyásolják jelentősen az eritromicin terápiás hatékonyságát.

## 5. Saját tudományos publikációk

### 5.1. Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk

Lektorált folyóiratokban megjelent közlemények:

**Mátis, G.**, Neogrády, Zs., Csikó, Gy., Kulcsár, A., Kenéz, Á. and Huber, K.: **Effects of orally applied butyrate bolus on histone acetylation and cytochrome P450 enzyme activity in the liver of chicken – a randomized controlled trial**, *Nutr. Metab.*, 10. 12, 2013. (IF: 2.89)

**Mátis, G.**, Neogrády, Zs., Csikó, Gy., Gálfi, P., Fébel, H., Jemnitz, K., Veres, Zs., Kulcsár, A., Kenéz, Á. and Huber, K.: **Epigenetic effects of dietary butyrate on hepatic histone acetylation and enzymes of biotransformation in chicken**, *Acta Vet. Hung.*, 61. (4), 2013. (DOI: 10.1556/AVet.2013.033) (utolsó ismert IF: 0.642)

Csikó, Gy., Nagy, G., **Mátis, G.**, Neogrády, Zs., Kulcsár, A., Jerzsele, Á., Szekér, K. and Gálfi, P.: **Possible effects of dietary n-butyrate on hepatic biotransformation and pharmacokinetic behaviour of drugs in chicken**, *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, [submitted] (utolsó ismert IF: 1.181)

**Mátis, G.**, Csikó, Gy., Jemnitz, K., Veres, Zs., Fébel, H., Kulcsár, A., Petrilla, J. and Neogrády, Zs.: **A takarmányba kevert butirát citokróm P450 enzimekre gyakorolt hatásának vizsgálata patkány májban (Investigation of the effect of butyrate supplementation of the diet on hepatic cytochrome P450 enzymes in rats)**, *Magy. Állatorv. Lapja*, 135. 109-116, 2013. (utolsó ismert IF: 0.3)

Eladások nemzetközi konferenciákon:

Csikó, Gy., Nagy, G., **Mátis, G.**, Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **The effect of dietary sodium butyrate on the pharmacokinetics of erythromycin in broiler chickens**, 12th International Conference of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, Utrecht, The Netherlands, 2012.

**Mátis, G.**, Kulcsár, A., Petrilla, J., Kenéz, Á., Csikó, Gy., Neogrády, Zs. and Huber, K.: **Epigenetic consequences of oral butyrate application in chicken**, GfE Conference, Göttingen, Germany, 2013.

Poszter prezentációk nemzetközi konferenciákon:

**Mátis, G.**, Kenéz, Á., Kulcsár, A., Csikó, Gy., Neogrády, Zs. and Huber, K.: **Trophic and epigenetic effects of dietary butyrate supplementation in chicken**, GfE Conference, Göttingen, Germany, 2012.

**Mátis, G.**, Csikó, Gy., Jemnitz, K., Veres, Zs., Szabó, M., Kulcsár, A., Kenéz, Á., Gálfi, P. and Neogrády, Zs.: **Effects of dietary butyrate supplementation on hepatic microsomal cytochrome P450 activity in chicken and rat**, FEBS3+ Conference, Opatija, Croatia, 2012.

**EI adások hazai konferenciákon:**

**Mátis, G.**, Csikó, Gy., Annus, K., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **A nátrium-n-butirát metabolizmusa patkány és csirke primer májsejtenyészetben**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2010.

**Mátis, G.**, Neogrády, Zs., Csikó, Gy. and Annus, K.: **A butirát hatásának vizsgálata májsejtenyészetben: a primer tenyészet jellemzése immunhisztokémia és western blot segítségével**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2011.

**Mátis, G.**, Csikó, Gy., Fébel, H. and Neogrády, Zs.: **A takarmánykiegészítként adott butirát növekedési teljesítményre és egyes vérparaméterekre gyakorolt hatásának vizsgálata brojlercsirkében és patkányban**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2012.

**Mátis, G.**, Kenéz, Á., Kulcsár, A., Csikó, Gy., Neogrády, Zs. and Huber, K.: **A takarmánykiegészítként adott butirát epigenetikus hatásának vizsgálata brojlercsirkében**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2012.

**Mátis, G.**, Csikó, Gy., Kulcsár, A., Kenéz, Á., Jemnitz, K., Veres, Zs., Szabó, M. and Neogrády, Zs.: **A takarmánykiegészítként adott butirát máj citokróm P450 izoenzimekre gyakorolt hatásának vizsgálata brojlercsirkében és patkányban**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2012.

**Mátis, G.**, Kenéz, Á., Kulcsár, A., Csikó, Gy., Neogrády, Zs. and Huber, K.: **A bolusban adott butirát májsejtek hiszton-acetilációjára gyakorolt hatásának vizsgálata brojlercsirkében**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2013.

**Mátis, G.**, Csikó, Gy., Kulcsár, A., Petrilla, J., Pleva, D., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **Máj citokróm P450 enzimek aktivitásának vizsgálata bolusban adott butirátkezelést követően brojlercsirkében**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2013.

## **5.2. Az értekezés témájához nem kapcsolódó publikációk**

**Lektorált folyóiratokban megjelent közlemények:**

Domokos, M., Ígyártó, B., Glávits, R., Pécsi, A., **Mátis, G.**, Földi, J., Kulcsár, M., Huszenicza, Gy., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **Az apoptotikus sejt arányának csökkenése hyperketonaemiás tehenek endometriumában az involúció korai időszakában**

**(Decreasing the proportion of apoptotic cells in the endometrium in early period of involution in hyperketonaemic cows)**, *Magy. Állatorv. Lapja*, 132. 641-646, 2010. (IF: 0.3)

Pászt-Gere, E., **Mátis, G.**, Farkas, O., Kulcsár, A., Palócz, O., Csikó, Gy., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **The effects of intestinal LPS exposure on inflammatory responses in porcine enterohepatic co-culture system**, *Inflammation*, [submitted] (last known IF: 1.747)

**EI adások hazai konferenciákon:**

**Mátis, G.**, Mitze, S., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **Bakteriális lipopoliszacharidok által kiváltott interleukin-6 termelés bend hámsejteken**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2009.

**Mátis, G.**, Mitze, S., Vonza, É., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **Bend nyálkahártya hám- és köt szöveti eredet sejtjeinek bakteriális lipopoliszacharidok által kiváltott interleukin-6 termelése**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2010.

**Mátis, G.**, Csikó, Gy., Kulcsár, A., Petrilla, J., Farkas, O., Palócz, O., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **Bakteriális lipopoliszacharidok által kiváltott oxidatív stressz hatása sertés primer májsejttenyésztésre**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2013.

Farkas, O., Palócz, O., Csikó, Gy., Pászt-Gere, E., **Mátis, G.**, Kulcsár, A., Petrilla, J., Neogrády, Zs. and Gálfi, P.: **Oxidatív stressz és gyulladás hatásának vizsgálata in vitro bélhám és májsejt ko-kultúra modellen**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2013.

Kulcsár, A., Molnár, A., **Mátis, G.**, Petrilla, J., Pál, L., Jerzsele, Á., Neogrády, Zs. and Dublec, K.: **A különböző koncentrációban adott butirát gátló hatásának in vitro vizsgálata *Campylobacter jejuni* törzsekre**, MTA Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2013.

## 6. Köszönetnyilvánítás

Szeretném kifejezni szinte hálámat témavezetőmnek, **Neogrády Zsuzsannának** a sok bátorításért és erőfeszítéseimért, mellyel a munkámat segítette. Folyamatos támogatása és szeretete révén sokkal többet jelentett számomra, mint csupán egy témavezető. Külön köszönettel tartozom **Csikó Györgynek**, társ-témavezetőmnek folyamatos nagylelkű segítségéért, tanácsaiért és azért, hogy általa bepillantást nyerhettem a farmakológiai kutatások világába. Rendkívül hálás vagyok **Korinna Huber** professzor asszonynak, hogy lehetőséget biztosított arra, hogy munkám jelentős részét a hannoveri Állatorvosi Egyetemen végezhessem. Szeretném megköszönni **Frenyó László** professzor úrnak a lehetőséget, hogy PhD munkámat az Élettani és Biokémiai Tanszék rendkívül motiváló csapatában végezhettem. Különösen hálás vagyok **Gálfi Péter** professzor úrnak a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék iránt, hasznos tanácsaiért és támogatásáért.

Szomorú, de hálával telt szívvel emlékezem néhai TDK témavezetőmre, **Domokos Mónikára**, aki először vezetett be a laboratóriumba és megmutatta számomra, milyen is a tudományos munka. Ezt a PhD dolgozatot az emlékének ajánlom.

Nagyon köszönöm az Élettani és Biokémiai Tanszéken dolgozó kollégáim – **Kenéz Ákos, Kulcsár Anna, Petrilla Janka, Benedek Tünde, Annus Kata, Nyáry Daniella** és **Pleva Dániel** – munkáját, mely nélkülözhetetlen volt ehhez a PhD munkához. Öröm volt számomra ebben a fantasztikus csapatban dolgozni, ahol a labormunka nem csak precíz feladatokat, hanem mindig sok közös örömet is jelentett.

Hálás vagyok **Jemnitz Katalinnak** és **Veres Zsuzsannának**, akik megismertették velem a májsejtizolálás módszerét és akikkel együtt dolgozhattunk a mikroszómális CYP enzimeket érintő vizsgálatok folyamán. Külön köszönet illeti **Fébel Hedviget** az étetési kísérletekben és a gázkromatográfiás vizsgálatok során nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért és tanácsaiért. Köszönettel tartozom **Nagy Gábornak** az eritromicin-meghatározásokhoz szükséges HPLC vizsgálatok elvégzéséért. Ugyancsak sok köszönet illeti **Szekér Krisztinát**, a témabizottság tagját folyamatos segítségéért és tanácsaiért. Hálás köszönet **Kaján Györgynek**, **Fejes Évának** és **Wagner Zsoltnak**, akik az ultracentrifugával történő munka során nyújtottak nélkülözhetetlen segítséget.

Végül, de nem utolsó sorban különösen hálás vagyok **családomnak** és **barátaimnak** lelkes támogatásukért. Külön szeretnék köszönetet mondani szüleimnek és nagyszüleimnek szeretetükért és azért, mert mindig mellettem álltak, amikor szükségem volt rá. Mint tanárok, megmutatták nekem, melyik utat kövessem és mindig megtettek minden tőlük telhetőt, hogy segítsenek elérni az álmaimat. Testvéremnek, Zsoltinak pedig külön hálás vagyok azért, mert mellettem állt a mintavételezések és a labormunka során is.