

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**TAKARMÁNY-KIEGÉSZÍTŐ SZEREK
KIPRÓBÁLÁSA ÉS AZ ANTIBIOTIKUM
HELYETTESÍTÉS LEHETŐSÉGEI
HASZONÁLLATOKBAN**

Palócz Orsolya

Témavezető: Dr. Csikó György



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2020.

.....
Témavezető: Dr. Csikó György

Egyetemi docens

Állatorvostudományi Egyetem

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

.....
Palócz Orsolya

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

Az élelmiszer célú állattenyésztés javítása a folyamatosan növekvő kereslet miatt alapvetően fontos, továbbá, az elmúlt évtizedekben rendkívül megnőtt az igény az egészséges, káros adalékanyagoktól mentes húskészítmények iránt. Mindemellett az antimikrobás gyógyszerek hozamfokozó célú alkalmazásának betiltása is a gyógyszermentes állati termék előállítását segíti elő. További, hatóság által előírt megszorítások várhatóak az állatállományok gyógyszeres, elsősorban antimikrobiális gyógyszerrel való kezelésében. Egyik lehetőség a gyógyszerhasználat csökkentésére a jótékony hatású, takarmányban alkalmazható szerek felhasználása. Számos nem gyógyszer hatóanyag van egészségmegőrző és növekedést elősegítő hatása, ezen takarmány-adalékanyagok immunmoduláló hatással rendelkeznek vagy kedvező hatással lehetnek a gazdaszervezet mikrobiota összetételére. Nagyszámú nem gyógyszerhatóanyag kedvező hatását megfigyelték és leírták, azonban részletes hatásmechanizmusuk és lehetséges mellékhatásaik kevésbé ismertek. Részletesebb ismeretek célzottabb alkalmazást és hatékonyabb felhasználást tennének lehetővé. Számos takarmánykiegészítő hatóanyag elérhető, melyek közül kutatásaink során a fulvosav, szangvinarin tartalmú készítmény, ivóvíz savanyító, probiotikumok metabolitjainak, valamint béta-glükán hatásait vizsgáltuk.

Jelen doktori értekezés célkitűzéseit az alábbiakban foglaltam össze.

- Célunk két probiotikum és négy kereskedelmi forgalomban kapható takarmánykiegészítő védő hatásának vizsgálata endotoxin-kiváltotta gyulladásban sertés bélhámsejteken. Továbbá, a sertés takarmánykiegészítők hatásának meghatározása a sertés citokróm P450 gének expressziójára.
- Humán citokróm P450 enzimek meghatározására kifejlesztett CYP izoenzim specifikus lumineszcens szubsztrátok adaptálása nyúl (*Oryctolagus cuniculus*) citokróm P450 enzimaktivitásának méréséhez.

- A tanulmány célja négy takarmánykiegészítő anyag - a β -glükán, ivóvíz savanyító, szangvinarint tartalmazó készítmény és fulvosav - hatásainak vizsgálata a csirkék (*Gallus gallus domesticus*) hepatikus citokróm P450 génjeinek kifejeződésére.
- Vizsgálataink további célja a máj citokróm P450 enzimaktivitásának mérése a fent említett adalékanyagok és egy baromfi-probiotikum; a *Bacillus licheniformis* anyagcseretermékével történő kezelést követően, valamint annak meghatározása, hogy kimutatható-e kölcsönhatás a takarmány-adalékanyagok és egy ismert CYP enzim gátló, modellvegyületként alkalmazott antibiotikum, a tiamulin között.
- Jelen tanulmány további célja két, a kereskedelemben beszerezhető takarmánykiegészítő - a fulvosav és egy szangvinarin-tartalmú termék - hatásainak vizsgálata a nyulak gyógyszermetabolizmusában. A gyógyszerek lebontásában fontos citokróm P450 enzimekre, a CYP2C-re és CYP3A6-ra gyakorolt hatást *ex vivo* vizsgáljuk. A tilozin antibiotikumot citokróm enzimgátló modell vegyületként használjuk, hogy figyelemmel kísérjük van-e takarmány-gyógyszer kölcsönhatás a CYP enzimeken.
- Végül, tanulmányunk célja, annak meghatározása, hogy a négy takarmánykiegészítő; az (1-3), (1-6) β -glükán, a fulvosav, egy szangvinarin-tartalmú készítmény és egy itatóvíz savanyító, termék itatása csirkével, hatással van-e a *Pasteurella multocida* oltás kiváltotta specifikus, keringő ellenanyag titer szintjére.

2. Az értekezés új tudományos eredményei

I. Fertőzésre, gyulladásos folyamatokra gyakorolt lehetséges hatások

1. Az összes vizsgált takarmány-adalékanyag (Wellmune WGP[®], Sangrovit[®] WS, Immunofort[®], and Fulvix pulvis[®]) gátló hatásának bizonyult endotoxin által kiváltott gyulladásban sertés bélhámsejttenyészetben. Az egyidejű LPS és takarmánykiegészítővel végzett kezelés után csökkent a Hsp70 és a TNF-alfa mRNS szint.
2. A béta-glükán és a fulvosav immunmoduláló aktivitását LPS által kiváltott gyulladásban mutattuk ki IPEC-J2 sejtekben; az IL-8 génexpresszió növekedett, míg a TNF-alfa génexpresszió csökkent, miután a sejt kultúrákon a takarmány-kiegészítőket LPS-sel egyidejűleg alkalmaztuk.
3. Az ivóvízben adott béta-glükán a *Pasteurella multocida* vakcinával együtt alkalmazva csirkékben, nem befolyásolta a képződött *Pasteurella multocida* specifikus szérum immunglobulin mennyiségét.
4. A fulvosav, az ivóvíz savanyítószer vagy a szangvinarint tartalmazó termék használata a *Pasteurella multocida* vakcinázást megelőzően és azt követően nagyobb keringő, specifikus antitestszintet eredményez a csirkeállományban.

II. A gyógyszermetabolizmusra gyakorolt hatások

1. A sertés CYP3A29 mRNS szintjét egyik vizsgált takarmány-adalék sem befolyásolta; Wellmune WGP[®], Sangrovit[®] WS, Immunofort[®], és Fulvix pulvis[®].
2. A savas tulajdonságú takarmány-kiegészítők fokozták a sertés bélhám CYP1A1 és CYP1A2 génexpresszióját, különösen nagyobb dózisok alkalmazásakor.

3. Az adaptált citokróom P450 lumineszcens módszer gyors, biztonságos, egyszerű és érzékeny eszköz a hatóanyagok nyúl citokróom P450 rendszerére gyakorolt hatásának tesztelésére.
4. A nyúl CYP450 kifejeződési mintázata *in vitro* és *in vivo* nagymértékben megegyezett, igazolva ezzel a rövid távú primer hepatocita sejtenyésztési módszer alkalmasságát a xenobiotikus anyagcsere vizsgálatokban.
5. Az önmagában vagy tilozin-tartaráttal együtt alkalmazott takarmánykiegészítők nem okoztak eltérést a nyúlmáj mikroszomális CYP enzimaktivitásának szintjében, *ex vivo*.
6. Az *in vivo* alkalmazott vízben oldott takarmánykiegészítők nem okoztak klinikailag jelentős változásokat a madár CYP2C alcsalád esetén; sem a génexpresszió, sem az enzimaktivitás szintjén
7. A vizsgált takarmány-adalékanyagoknak az tiamulinnal történő együttes alkalmazása *ex vivo* nem befolyásolta a vizsgált enzimek, a CYP1A és a CYP2C, aktivitását csirkékben.

3. A jelöltnek az értekezés témájában született publikációinak a Könyvtár által hitelesített listája, azok összes szerzőjének feltüntetésével

Impakt faktorral rendelkező, referált folyóiratban megjelent publikációk:

Palócz Orsolya, Csikó György: Az antibiotikumok túlzott mértékű használatának csökkentését célzó szerek az állattenyésztési és klinikai gyakorlatban: Irodalmi áttekintés: Reduction of the excessive use of antibiotics in animal husbandry and in clinical practice, Literature review, MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA 136:(3) pp. 177-183. (2014), IF 0,185

Palocz O, Gal J, Clayton P, Dinya Z, Somogyi Z, Juhasz Cs, Csiko Gy: Alternative treatment of serious and mild *Pasteurella multocida* infection in New Zealand White rabbits, BMC VETERINARY RESEARCH 10:(1) p. 276. (2014), IF 1,777

Somogyi Zoltán, Palócz Orsolya, Gál János, Csikó György: Az *Echinacea purpurea* hatékonyságának vizsgálata nyulak *P. multocida* fertőzésében: Investigation of the activity of *Echinacea purpurea* in *P. multocida* infection of rabbits, MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA 138:(3) pp. 169-176. (2016), IF 0,189

Palocz O, Paszti-Gere E, Galfi P, Farkas O: Chlorogenic Acid Combined with *Lactobacillus plantarum* 2142 Reduced LPS-Induced Intestinal Inflammation and Oxidative Stress in IPEC-J2 Cells, PLOS ONE 11:(11) Paper e0166642. (2016), IF 2,806

Palócz Orsolya, Farkas Orsolya, Clayton Paul, Csikó György: Changes in cytochrome P450 gene expression and enzyme activity induced by xenobiotics in rabbits *in vivo* and *in vitro*, WORLD RABBIT SCIENCE 25:(2) pp. 173-180. (2017), IF 0,661

Palócz O, Szita G, Csikó Gy: Alteration in Inflammatory Responses and Cytochrome P450 Expression of Porcine Jejunal Cells by Drinking Water Supplements, *MEDIATORS OF INFLAMMATION* 2019: Article ID 5420381, pp. 1-6. (2019), IF 3,545

Palócz O, Szita G, Csikó Gy: Alteration of avian hepatic cytochrome P450 gene expression and activity by certain feed additives, *ACTA VETERINARIA HUNGARICA* 67:(3) pp. 418-429 (2019), IF 1,059

Konferenciaközlemények jegyzéke:

Palócz Orsolya, Farkas Orsolya, Szentmiklósi Diána és Csikó György: A citokróm P450 enzimrendszer vizsgálata házinyúl eredetű májsejtkultúrán, 41. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2015. január

Somogyi Zoltán, Palócz Orsolya, Gál János és Csikó György: Antibiotikum helyettesítő szerek nyúl pasteurellosis megelőzésére és kezelésére, 41. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2015. január

Farkas O, Palócz O, Pászti-Gere E, Gálfi P: Role of chlorogenic acid combined with *Lactobacillus plantarum* in treatment LPS-induced intestinal inflammation, In: Edeas Marvin (szerk.), 9th World Congress on Polyphenols Applications. Konferencia helye, ideje: St. Julian's, Málta, 2015.06.03-2015.06.05. International Society of Antioxidants, 2015. p. 60.

Palócz Orsolya, Farkas Orsolya, Szentmiklósi Diána, Nagy Tamás és Csikó György: Xenobiotikumok hatása házinyúl eredetű citokróm P450 enzimrendszerre *in vivo vs. in vitro*, 42. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2016. január

Somogyi Zoltán, Palócz Orsolya, Csikó György: Baromfikolera vakcina védőhatásának támogatása béta-glükánnal, 42. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2016. január

Farkas Orsolya, Kovács Dóra, Karancsi Zita, Csikó György, Palócz Orsolya: Effect of flavonoids on cytochrome P450 activity in the gut—an *in vitro* food-drug interaction study, JOURNAL OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF ANTIOXIDANTS IN NUTRITION & HEALTH (JISANH) 3:(4) Paper doi 10.18143/JISANH_v3i4_1325. (2016), 10th World Congress on Polyphenols. Porto, Portugália: 2016.06.29 -2016.07.01.

Palócz Orsolya, Farkas Orsolya, Csikó György: *In vitro* modellrendszer kialakítása házinyúl gyógyszer-metabolizmusának vizsgálatára, Tavaszi Szél Konferencia 2016. április 15-17. Óbudai Egyetem, Budapest

Palócz Orsolya, Rózsa László, Csikó György: Takarmány-kiegészítők hatása házityúk gyógyszermetabolizáló enzimjeire, 43. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2017. január

Palócz Orsolya, Rózsa László, Csikó György: *Pasteurella multocida* elleni vakcina védőhatásának erősítése takarmány-kiegészítők alkalmazásával brojlercsirkékben, 43. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2017. január

Csikó György, Palócz Orsolya: Enhancing the efficiency of immunization via drinking water supplementation in broiler chickens, In: M Francesch, D Torrallardona, J Brufau (szerk.), Proceedings of the 21st European Symposium on Poultry Nutrition. 308 p., Konferencia helye, ideje: Vila-seca, Spanyolország, 2017.05.08-2017.05.11., 2017. p. 202.

Palócz Orsolya, Csikó György: Impact of drinking water additives on activity of drug metabolizing CYP450 enzymes in chickens, In: M Francesch, D Torrallardona, J Brufau (szerk.), Proceedings of the 21st European Symposium on Poultry Nutrition. 308 p., Konferencia helye, ideje: Vila-seca, Spanyolország, 2017.05.08-2017.05.11., 2017. p. 214.

Farkas O., Palócz O., Pásztiné Gere E., Gálfi P.: Anti-inflammatory effect of probiotics – a complex *in vitro* intestinal model, International Scientific Conference of Probiotics and Prebiotics (IPC 2017) Budapest, 2017. június 20-22.

Palócz Orsolya, Csikó György: Takarmányadalék-gyógyszer kölcsönhatás *ex vivo* vizsgálata házinyúl eredetű citokróom P450 enzimrendszeren, 44. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2018. január

Palócz Orsolya, Csikó György: Cytochrome P450 gene expression of porcine jejunal cells exposed to feed additives, JOURNAL OF VETERINARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS 41: Suppl 1, 14th Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology in Wrocław, Poland, 2018.06.23-2018.06.27.

Csikó György, Palócz Orsolya: Examination of the interspecies differences in microsomal drug metabolism in chickens and rabbits, JOURNAL OF VETERINARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS 41: Suppl 1, 14th Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology in Wrocław, Poland, 2018.06.23-2018.06.27.

Palócz Orsolya, Csikó György: Antibiotikum-probiotikum kölcsönhatás ex vivo vizsgálata házi tyúk eredetű citokróm P450 enzimrendszeren, 45. Állatorvostudományi Akadémiai Beszámolók, 2019. január