

# Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

## Matriptáz modulátorok vizsgálata

*in vitro*

Dr. Barna Réka Fanni

Témavezetők: Dr. Jerzsele Ákos  
Dr. Mátis Gábor



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM  
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2022.

**Témavezetők:**

.....

*Dr. Jerzsele Ákos, PhD*

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

Témavezető

.....

*Dr. Mátis Gábor, PhD*

Élettani és Biokémiai Tanszék, Biokémiai Osztály

Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

Témavezető

.....

*Dr. Barna Réka Fanni*

# Bevezetés

A szerin-proteázok az egyik legősibb és legnagyobb enzimcsalád a proteázok közül. Tagjai számos élettani és patológiás folyamatban vesznek részt, mint például az emésztés, véralvadás, sebgyógyulás, vérnyomás szabályozása vagy a vírus-sejt interakció. A kettes típusú szerin-proteázok (TTSP) ugyancsak sokféle élettani és patológiás folyamatban töltenek be fontos szerepet. Az N-terminális plazmamembránhoz kötött rész miatt a sejt felszínén helyezkednek el, így sokuk feladata a sejt és az extracelluláris környezet közötti jelátvitel közvetítése, a különféle sejtválaszok szabályozása, a szövetek morfogenezise, barrier funkció kialakítása, illetve víz és ion transzport. Mivel a TTSP család számos tagját az elmúlt években igen széleskörűen tanulmányozták, azonban olyan szerteágazó és sokrétű hatásuk lehetséges, hogy vizsgálataink során az eddig nem kutatott területek közül választottunk ki néhányat. Jelen doktori munka a TTSP család két tagja, a matriptáz-1 és matriptáz-2 működését befolyásoló aktivátor, ill. inhibitorcsoport különféle sejttípusokra kifejlesztett hatásának tanulmányozásával foglalkozik, ezzel remélhetőleg hozzájárulva a vizsgált modulátorok később gyógyszer-hatóanyagként történő alkalmazásához.

A matriptáz-1, a sejtkapcsoló struktúrák szabályozása révén szükséges a posztnatális túléléshez, megnövekedett aktivitása azonban elősegíti bizonyos epiteliális eredetű daganatok áttétképzését. Részt vesz az ízületi porc bontásában oszteoarthritisz esetén, szerepe van a tüdőfibrozis kialakulásában és segíti az influenzavírusok sejtbe jutását is. A matriptáz-2 a vasanyagcsere szabályozásában tölt be központi szerepet, illetve ezzel összefüggésben jelentőséggel bír az elhízás, inzulinrezisztencia, kettes típusú diabétesz kialakulásában is. Számos daganat esetében csökkenő mennyisége rosszabb kórjóslatot von maga után. Ezért funkciójuknak pontos megismerése sokféle patomechanizmus tisztázásában segíthet, szabályozásuk pedig a gyógyszerkutatás fejlesztés célpontja is lehet.

Kutatásainkkal több irányba is szeretnénk bővíteni a matriptáz enzimekről elérhető információkat. Kísérleteink során egy ismert matriptáz-1 aktivátort, a szfingozin-1-foszfátot (S1P), illetve egy inhibitor családot, a 3-amidinofenilalanin (3-APhA) alapvázú gátlószereket teszteltünk *in vitro*. A 3-APhA alapvázú vegyületek már számos kutatásban *in vitro* és *in vivo* is hatékonyan bizonyultak az enzimek gátlásában, viszont a sejtekre gyakorolt egyéb hatásaikról kevés adat állt rendelkezésünkre. Mivel az eddigi kutatások főleg emlős eredetű sejteken, ill. egyedeken történtek, így más rendszertani kategóriába tartozó gerinces fajokról alig vannak ismereteink. A nagyon sokféle hatás, és a már létező, ill. a jövőben kifejlesztésre kerülő modulátor molekulák miatt is szükség van egy jól áttekinthető, *in vitro* tesztrendszerre, ahol az egyes fajokban és szervekben kialakuló, különféle aktiváló és gátló hatások jól összehasonlíthatók lehetnének majd a jövőben. Ezért célunk volt faj- és szervspecifikus, *in vitro* vizsgálati rendszert kialakítani e molekulák hatásának és alkalmazhatóságának tesztelése érdekében.

# Célkitűzés

Kutatásunk során több irányba szeretnénk volna bővíteni a matriptáz-1 és matriptáz-2 aktiválásáról és gátlószereiről rendelkezésre álló ismereteinket, így a különböző kísérleteinknél eltérő célokat tűztünk ki:

**1.** Az első vizsgálat során a korábban matriptáz-1 aktivátornak leírt S1P-t vizsgáltuk. Célunk az volt, hogy kiderítsük, az S1P képes-e hatni a májsejtek hepcidinintermelésére, és így hepcidinkoncentráció-csökkenést előidézni, feltételezhetően a matriptáz-2 enzim serkentése révén. A kísérlet fontos részét képezte, hogy az általunk választott S1P koncentrációk befolyásolják-e a sejtek életképességét, kiváltanak-e oxidatív stresszválaszt. Kísérletünkhöz patkány primer májsejt mono-kultúrát választottunk, hogy minél jobban tudjuk modellezni a fiziológiás *in vivo* körülményeket.

**2.** A második vizsgálat esetében két, már több *in vitro* kísérletben matriptáz-1 és matriptáz-2 gátlásra is tesztelt inhibitorot használtunk. Mivel az MI432 és MI460 inhibitorot eddig emlős sejtvonalakon és primer sejt kultúrákon vizsgálták, kutatásunkat madár, jelen esetben csirke primer hepatikus sejtmodellekre terveztük. Mivel ezek a vegyületek a szakirodalom alapján a későbbiekben felmerülhetnek, mint gyógyszerjelölt vegyületek, ezért a kísérletünkben az esetleges gyulladással, ill. oxidatív stresszválaszra gyakorolt hatásukat vizsgáltuk májmodelleken. Külön teszteltük egészséges májat modellező hepatocita mono-kultúrán, és enyhébb gyulladást modellező hepatocita – nem-parenchimális (NP) sejt ko-kultúrán is. Kutatásunk során a különböző gyulladással- és oxidatív stresszmarkereket, valamint a sejt oxidatív védekezőrendszerének egyes elemeit vizsgáltuk.

**3.** A harmadik vizsgálatban korábban sejtenyészetekben még nem alkalmazott matriptáz-1 inhibitorok vizsgálatát már jól működő modellrendszerben, sertés vékonybél eredetű IPEC-J2 sejtvonalon végeztük. Céljaink között szerepelt annak felderítése, hogy az általunk tesztelt inhibitorok hogyan befolyásolják a sejtek életképességét, csökkentik-e a sejtréteg integritását a matriptáz-1 gátláson keresztül, okoznak-e oxidatív stresszválaszt a bélhámsejtekénél.

**4.** A meghatározott gátló vagy aktiváló molekula hatásának vizsgálatán felül célunk volt továbbá, hogy olyan *in vitro*, faj- és szervspecifikus modellrendszereket alakítsunk ki, amelyek majd alkalmasak lesznek a különféle aktiváló és gátlószerek hatásainak összevetésére a jövőben.

# Anyag és módszer

## **Matriptáz aktivátor vizsgálata patkány primer hepatocita mono-kultúrán (1. vizsgálat)**

A kísérlet során egy természetes matriptáz-1 aktivátort, S1P-t tanulmányoztuk, képes-e aktiválni a matriptáz-2 enzimet is. Vizsgáltuk, hogyan hat az S1P a patkány primer májsejtek életképességére (MTS), az extracelluláris hidrogén-peroxid termelésre (Amplex Red Hydrogen Peroxidase Assay Kit), illetve a hepcidin szintre (szendvics ELISA). A sejtek életképességének nyomon követéséhez a sejteket 96-lyukú tenyésztőlemezre, a mintagyűjtéshez 6-lyukú inzertre ültettük 3 párhuzamos kezelésnek megfelelő mennyiségben, a kezelés a sejtek lerakása után 6 órával kezdődött. 72 órán át 50, 200, 1000 ng/ml koncentrációban adagoltuk az S1P-t a mono-kultúra apikális térrészéhez, az apikális felülűszóból 24, 48 és 72 óra inkubációt követően mintavétel történt. Életképesség vizsgálatot 24 és 72 óra elteltével végeztünk.

## **Matriptázinhibitorok vizsgálata csirke primer hepatikus mono- és ko-kultúrán (2. vizsgálat)**

Korábban leírt matriptáz-1 és -2 inhibitorokat teszteltünk csirke primer hepatocita mono-kultúrán és hepatocita – NP sejt ko-kultúrán. A primer sejtenyészetek kialakításához 3 hetes, Ross-308 típusú brojlercsirkéket használtunk. A máj perfúzióját kollagenáz enzimet tartalmazó pufferrel történő emésztés követte, mely után az egyes sejtfrakciók elkülönítése céljából több lépésben centrifugáltuk a sejtuszuspenziókat. A sejtizolálást követően hepatocita mono-kultúra és hepatocita – NP sejt ko-kultúrák kialakítására került sor. Az alkalmazott sejtenyészetek munkacsoportunk korábbi vizsgálatai alapján megfelelő modellnek tekinthető a madarak hepatocelluláris gyulladással és stresszorokra adott válaszreakcióinak vizsgálatára. A NP sejtfrakció főleg makrofágokat, elsősorban Kupffer-sejteket tartalmaz, a jelenleg alkalmazott ko-kultúra 6: 1 sejtaránnyal (hepatocita: NP sejtek) az enyhe fokú, mérsékelt makrofág infiltrációval járó májgyulladás modelljeként szolgálhat. A kísérlet során a vizsgálatok az inhibitorok esetleges gyulladáskeltő vagy oxidatív stresszt kiváltó hatásainak feltérképezésére irányultak. Minden mintavételt 4 és 24 óra inkubáció után végeztünk el, az inhibitorokat 10, 25 és 50  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban alkalmaztuk, 3 párhuzamossal (kontroll tenyészeteknél 6 párhuzamossal). A sejtek metabolikus aktivitását Cell Counting Kit-8 (CCK-8) teszttel ellenőriztük. A felülűszóból IL-6 és IL-8 ELISA, malondialdehid (Lipid Peroxidation MDA Assay Kit) és  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Amplex Red Hydrogen Peroxidase Assay Kit) mennyiségi meghatározása történt. A 24 órás mintavétel után a sejteket speciális puffer (M-PER) segítségével lizáltuk. Az eredmények standardizálása céljából a sejtizátumok összfehérje-koncentrációját Pierce Bicinchoninic Acid (BCA) Protein Assay segítségével határoztuk meg. Végezetül a sejtizátumból glutation-peroxidáz (Glutathione Peroxidase Cellular Activity Assay Kit) aktivitás mérésére került sor. A CCK-8

vizsgálatot 96-lyukú sejttenyésztő lemezen végeztük, míg a mintavétel 6-lyukú sejttenyésztő edényekre kiültetett tenyészetekből történt.

### **Matriptázinhibitorok vizsgálata sertés IPEC-J2 bélhámsejtvonalon (3. vizsgálat)**

A vizsgálat során az MI439 és MI476 sorszámú inhibitorokat teszteltük IPEC-J2 nem daganatos, újszülött sertés jejunalis bélhámsejtvonalon. Korábbi kísérletek alapján kíváncsiak voltunk, hogy az inhibitorok *in vitro* hogyan befolyásolják a sejtek életképességét (MTS), a sejtek közötti kapcsolatok integritását (TER) és az extracelluláris redox státuszt (Amplex Red Hydrogen Peroxidase Assay Kit). A vizsgálatokat 24 óra inkubációt követően végeztük, 10, 25, 50  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban. Az életképesség vizsgálatához a sejteket 96-lyukú tenyésztőedényre ültettük, minden más kísérlethez 6-lyukú membrán inzertet használtunk. Az apikális és bazolaterális térrészből is tápfolyadék-mintavételre került sor.

### **Statisztika**

A normál eloszlású minták esetén a vizsgált csoportok közötti különbségek megállapítására egytényezős varianciaanalízist (one-way ANOVA) és post-hoc Tukey tesztet, illetve Spearman-féle korrelációt végeztünk el. A kísérletek során mért adatokat átlag  $\pm$  standard hiba (SEM) formában adtuk meg. A különbségeket  $p < 0,05$  szintnél tekintettük szignifikánsnak.

# Eredmények és diszkusszió

## **Matriptáz aktivátor vizsgálata patkány primer hepatocita mono-kultúrán (1. vizsgálat)**

A matriptáz-2 a membránhoz kötött hemojuvelin hasításával képes megakadályozni a hepcidin transzkripcióját. Ha a matriptáz-2-t kódoló TMPRSS6 gén hibás vagy a matriptáz-2 proteolitikusan nem aktív, akkor a vér extrém magas hepcidinkoncentrációja és a bélhámsejtek következményesen csökkent ferroportin expressziója révén vashiányos vérszegénység alakul ki. Ezek alapján a matriptáz-2 aktiváció alternatív terápiás lehetőséget jelenthet krónikus gyulladások esetén kialakuló vashiányos, nemregeneratív anémia esetén.

Korábban bizonyításra került, hogy az S1P extracelluláris szabályozóként és intracelluláris másodlagos hírvivőként is képes nanomólos mennyiségben aktiválni a matriptáz-1 enzimet. Mivel a matriptáz-1 és matriptáz-2 szerkezetileg nagyon hasonlóak, az S1P pedig mindenhol megtalálható a szervezetben, ahol sokféle szabályozó feladatot lát el, így felmerült a kérdés, hogy a matriptáz-1 enzimen kívül képes-e a matriptáz-2 aktiválására is.

Jelen kutatásban az S1P matriptáz-2 enzimre gyakorolt hatását indirekt módon vizsgáltuk, a hepcidin mennyiségi változását nyomon követve. A matriptáz-2 túlnyomórészt a májban termelődik, így kutatásunkat hepatocita mono-kultúrára terveztük. Eredményeink alapján az S1P expozíció hatására csökkent hepcidinszintet találtunk 24, 48 és 72 óra után is. A kezelés hatására tehát csökkent a hepcidinkoncentráció a sejtek felülűszójában, amely feltehetően a matriptáz-2 aktiválása révén következhetett be. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy az S1P a matriptáz-2 aktivátoraként a májban is szabályozó szereppel bír, ugyanis a hepcidinszint változtatásán át a vasanyagcserére is hatást gyakorolhat.

A kísérlet során a választott 50, 200, 1000 ng/ml koncentrációban alkalmazott S1P biztonságosan alkalmazható patkány primer májsejt mono-kultúrán 72 óra inkubációs időt használva, mivel nem befolyásolta sem a sejtek metabolikus aktivitását, sem életképességét, sem a sejtek extracelluláris redox státuszát.

## **Matriptázinhibitorok vizsgálata csirke primer hepatikus mono- és ko-kultúrán (2. vizsgálat)**

A kutatómunka keretében a matriptázgátlás hatásait vizsgáltuk csirke eredetű egészséges és gyulladással járó májsejtmodelleken, kiemelten tanulmányozva a matriptáz a sejtek metabolikus, gyulladással és redox folyamataiban betöltött potenciális szabályozó szerepét.

A különböző állatfajok matriptáz-1 és matriptáz-2 enzimjeiről korlátozott mennyiségű információ áll rendelkezésünkre. A matriptáz-1 ortológját számos állatfaj genomjából

sikerült már kimutatni, a kísérletekben használt csirkénél is, de a különböző állatfajok fehérjeszerkezetéről nem elérhetőek információk. Az emlőssejteken végzett kutatásokból nyert adatok és a jelen, csirke májsejttenyészetben végzett kísérletek eredményei közötti különbségek rávilágítanak a matriptázaktivitás fajfüggő különbségeinek fontosságára.

A vizsgálat eredményei alapján mind az MI432, mind az MI460 inhibitorok bizonyos koncentrációi mérsékelten csökkentették mindkét típusú sejttenyészet aerob katabolikus aktivitását a 4 órás kezelési idő esetében. A redukció mértéke azonban azt mutatta, hogy az inhibitorok nem voltak citotoxikusak. A hosszabb, 24 órás inkubációt követően a kontroll és a matriptázinhibitorokkal kezelt sejtek között már nem volt szignifikáns különbség, ami arra utal, hogy a májsejtek metabolikusan gyorsan alkalmazkodnak a használt inhibitorokhoz.

Eredményeink alapján az MI432 által kiváltott matriptázgátlás jelentős IL-6 és IL-8 gyulladáskeltő citokintermelést váltott ki, amely nem járt együtt fokozott oxidatív stresszel és lipidperoxidációval (amelyeket a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> és MDA mérése támasztott alá). Az MI432 inhibitorral ellentétben az MI460 nem bizonyult gyulladáskeltő hatásúnak az IL-6 és IL-8 koncentrációk alapján. Annak ellenére, hogy az MI432 és az MI460 egyaránt hasonló struktúrájú 3-APhA alapvázú inhibitorok, eredményeink megerősítik, hogy nagyban eltérő hatást gyakorolhatnak a sejtek működésére, valószínűleg eltérő Ki értékeik miatt. Ezek az eredmények arra utalhatnak, hogy a fiziológiás matriptázaktivitásnak kulcsfontosságú szerepe lehet a máj metabolikus és gyulladáshoz kapcsolódó homeosztázisának megőrzésében csirkemájban, anélkül, hogy a hepatocelluláris redox állapot fő szabályozója lenne.

Az általunk használt matriptáz inhibitorok által kiváltott változások tekintetében nem találtunk számottevő eltérést a hepatocita mono-kultúra és hepatocita – NP sejt ko-kultúra között. Ez a megállapítás arra utalhat, hogy a máj NP sejtjeinek jelenléte nem kritikus tényező a matriptáz-gátlás hatásainak meghatározásában. A 3-APhA alapvázú matriptázinhibitorok hasonlóan működhetnek fiziológiás és enyhén gyulladt körülmények között a csirke eredetű májsejteken.

Eredményeink alapján feltételezhető, hogy ezek az inhibitorok nem befolyásolják nagymértékben a csirke eredetű májsejtek oxidatív állapotát, így biztonságosan alkalmazhatók anélkül, hogy oxidatív stresszt és lipidperoxidációt okoznának.

## **Matriptázinhibitorok vizsgálata sertés IPEC-J2 bélhámsejtvonalon (3. vizsgálat)**

A matriptáz-1 és matriptáz-2 gátlását intenzíven kutatják a potenciális terápiás felhasználásra összpontosítva. Ugyanakkor jelenleg csak meglehetősen korlátozott számú adat áll rendelkezésre a 3-APhA alapvázú inhibitorokról arra vonatkozóan, hogy milyen hatással vannak a sejtek redox státuszára, az oxidatív stresszválaszra és a sejtréteg integritására. A harmadik vizsgálat során olyan inhibitorokat használtunk, amelyeket még korábban nem teszteltünk sejtteszt közegben. Jelen kísérletben IPEC-J2 nem tumoros sertés



jejunum eredetű bélhámsejtvonalat alkalmaztunk, mivel sokkal jobban hasonlít a fiziológiás bélhámhoz, mint bármely daganatos eredetű sejtvonal.

Eredményeink alapján az MI439 és MI476 nem volt hatással a sejtek életképességére a vizsgált 24 óra inkubációs idő alatt, megerősítve, hogy ezek az inhibitorok biztonságosan alkalmazhatóak 50  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban 24 órán át IPEC-J2 bélhámsejteken. Ez összhangban áll a korábban tesztelt más inhibitoroknál tapasztaltakkal.

A 3. vizsgálatunk során azt tapasztaltuk, hogy az MI439 és az MI476 is szignifikánsan csökkentette a TER értéket 25 és 50  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban 24 óra kezelési időt alkalmazva. Ezzel összhangban más, IPEC-J2 sejteken végzett kutatások során az MI432 10, 25 és 50  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban 48 órás alkalmazás esetén csökkentette a TER értékeket, arra utalva, hogy a matriptázinhibitorok befolyásolhatják a sertések bélintegritását.

Az IPEC-J2 sejteken végzett jelen vizsgálatban az MI439 és az MI476 egyaránt képesek voltak szignifikánsan csökkenteni az extracelluláris  $\text{H}_2\text{O}_2$  mennyiséget. Ezek az adatok a matriptázgátlás új jótékony hatására mutathatnak rá a bélhám redox állapotának javításával. A 3. vizsgálat eredménye arra utal, hogy bizonyos matriptázgátlók antioxidatív képességgel is rendelkezhetnek, így csökkenthetik a bélhámsejtekből az extracelluláris térbe történő ROS-felszabadulását, hozzájárulva ezáltal a bél egészségéhez. Mivel az oxidatív stressz sokrétű hatásmód révén kulcsszerepet játszik számos bélbetegség patogenezisében, az alkalmazott 3-APhA-gátlók (MI439 és MI476) feltételezett potenciálja a bél ROS-képződésének enyhítésében nagy jelentőséggel bírhat a gasztrointesztinális rendellenességeket célzó új terápiákban.

Mindent összegezve, a vizsgált 3-APhA típusú MI439 és MI476 inhibitor is ígéretes jelölteknek tekinthetők a redox homeosztázis és a bél egészségének kialakításában és fenntartásában. A jelen eredmények, a korábbi vizsgálatokkal összefüggésben kiemelik a matriptáz-1 enzim kulcsfontosságú funkcióját a bélbarrier funkció szabályozásában, és arra is utalnak, hogy a megfelelő matriptázgátlás hasznos eszköz lehet a bél egészségének javításában a fiziológiás oxidatív egyensúly fenntartása révén.

## Konklúzió

Mindhárom vizsgálat eredményeinket összegezve, a kutatómunkánk során felhasznált sejttenyészetek megfelelő faj- és szervspecifikus modellnek bizonyultak a matriptáz modulátorok hatásainak vizsgálatára. A vizsgált aktiváló és gátló hatású vegyületek különböző állatfajok máj és bél eredetű sejt kultúráiban kifejtett sejtszintű hatásainak leírása hozzájárulhat a kezelőanyagok esetleges jövőbeli farmakológiai irányú fejlesztéséhez, tekintettel a felmerülő terápiás célokra, valamint az alkalmazás biztonságosságára is.

# Új tudományos eredmények

## **Ad 1,**

A szfingozin-1-foszfát matriptáz-2 aktivátorként csökkenti az extracelluláris hepcidinkoncentrációt patkány primer hepatocita mono-kultúrán, ezáltal vélhetően részt vesz a vasanyagcsere szabályozásában.

## **Ad 2,**

Elsőként teszteltünk 3-APhA alapvázú matriptázinhibitorokat (MI432, MI460) csirke primer hepaticus mono- és ko-kultúrán, vizsgálva a matriptáz metabolikus, gyulladássos és redox folyamatokban betöltött szerepét. Az MI432 ugyan jelentős gyulladáskeltő citokintermelődést váltott ki, de ez nem járt együtt oxidatív stresszel és lipidperoxidációval, és egyik inhibitor sem csökkentette a sejtek metabolikus aktivitását. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a fiziológias matriptázaktivitás fontos szerepet tölt be a máj metabolikus és gyulladássos homeosztázisának fenntartásában madarakban.

## **Ad 3,**

Sejtkultúrán még nem tesztelt matriptáz inhibitorok (MI439, MI476) új hatásait írtuk le sertés IPEC-J2 bélhámsejt-tenyészetben. Az MI439 és MI476 inhibitorok a sejtek életképességét nem csökkentették, magasabb koncentrációkban azonban TER csökkentő hatás volt megfigyelhető, illetve az extracelluláris H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mennyisége is csökkent. Ezen eredmények alapján a bélbarrier befolyásolásán kívül bizonyos matriptázgátlók antioxidáns képességgel is rendelkezhetnek, így mérsékelve a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bélhámsejtekből történő felszabadulását, hozzájárulva ezáltal a bél egészségéhez.

# Saját tudományos közlemények

## Az értekezés témájában megjelent tudományos közlemények

Barna, R.F., Mackei, M., Pásztí-Gere, E., Neogrády, Zs., Jerzsele, Á., Mátis, G.: **The effects of matriptase inhibition on the inflammatory and redox homeostasis of chicken hepatic cell culture models.** *Biomedicines*, 9(5), 450, 2021. **Impact factor: 5,612**

Barna, R.F., Pomothy, J.M., Pásztiné Gere, E., Mátis, G., Jerzsele, Á.: **A matriptáz enzimek élettani és patológiás szerepe.** *Magyar Állatorvosok Lapja*, 142(11), 673-680, 2020. **Impact factor: 0,12**

Barna, R.F., Pomothy, J.M., Paréj, Zs., Pásztiné Gere, E.: **Investigation of sphingosin-1-phosphate-triggered matriptase activation using a rat primary hepatocyte model.** *Acta Veterinaria Hungarica* 67(4), 578-587, 2019. **Impact factor: 0,955**

Pásztiné Gere, E., Barna, R.F., Szombath, G., Rokonál, P., Gálfi, P.: **A vasanyagcsere-zavarok kezelésének lehetőségei, új perspektívák.** *Magyar Állatorvosok Lapja* 138(10), 559-564, 2016. **Impact factor: 0,12**

## Magyarországi konferencián történő részvétel (előadás vagy poszter)

Pomothy Judit Mercédesz, Barna Réka Fanni, Pásztiné Gere Erzsébet:

**Matriptáz enzim aktivátor és inhibitor tesztelése humán és patkány primer májsejt modelleken,**

Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2020.

Barna Réka Fanni, Pomothy Judit Mercédesz, Pásztiné Gere Erzsébet:

**Matriptáz modulátorok hatásának vizsgálata az extracelluláris hidrogén-peroxid-szintre primer májsejtmodellen,**

Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusa: Program és összefoglalók, Szeged, 2019.

Barna Réka Fanni, Pomothy Judit Mercédesz, Pásztiné Gere Erzsébet:

**Matriptáz inhibitor tesztelése primer májsejteken és bélhámsejtvonalon,**

49. Membrán-transzport Konferencia, Sümeg, 2019.

Barna Réka Fanni, Pomothy Judit Mercédesz, Pásztiné Gere Erzsébet:

**Bélhámsejteken tesztelt új matriptáz inhibitorok jellemzése,**

Akadémiai beszámolók, Budapest, 2019.

Pomothy Judit Mercédesz, Barna Réka Fanni, Pásztiné Gere Erzsébet:

**Matriptáz enzim aktivátor és inhibitor tesztelése patkány és humán primer májsejt modelleken**

49. Membrán-transzport Konferencia, Sümeg, 2019.

Barna Réka Fanni, Pomothy Judit Mercédesz, Pásztiné Gere Erzsébet:

**Szelektív matriptáz inhibitorok biztonságos alkalmazásának vizsgálata IPEC-J2 bélhámsejteken**

TOX'2018 Tudományos Konferencia Program, Lillafüred, 2018.

Barna Réka Fanni, Pomothy Judit Mercédesz, Rokonál Patrik, Szombath Gergely, Pásztiné Gere Erzsébet:

**Matriptáz modulátorok vizsgálata in vitro primer májsejteken**, MTA Akadémiai beszámoló: Élettan és Biokémia Patológia Gyógyszertan és Toxikológia Morfológia, Budapest, 2018.

## **Az értekezés témájához szorosan nem kapcsolódó tudományos közlemények**

Pomothy J.M., Barna R.F., Pászti E.A., Babiczky Á., Szóládi Á., Jerzsele Á., Pásztiné Gere E.: **Beneficial Effects of Rosmarinic Acid on IPEC-J2 Cells Exposed to the Combination of Deoxynivalenol and T-2 Toxin**. *Mediators of Inflammation*, 2020. **Impact factor: 4,711**

Pomothy J.M., Barna R.F., Czimmermann Á.E., Szóládi Á., Pásztiné Gere E.: **A deoxinivalenol mikotoxin toxikus hatásai a gazdasági haszonállatokra**, *Magyar Állatorvosok Lapja*, 142(2), 117-127, 2020. **Impact factor: 0,12**

Pomothy J.M., Pászti-Gere E., Barna R.F., Prokoly D., Jerzsele Á.: **The Impact of Fermented Wheat Germ Extract on Porcine Epithelial Cell Line Exposed to Deoxynivalenol and T-2 Mycotoxins**, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. **Impact factor: 6,543**

Pomothy J.M., Barna R.F., Szóládi Á., Pásztiné, Gere E.: **The beneficial effects of rosmarinic acid on a non-tumorigenic epithelial cell line**, *GRADUS*, 7(1), 79-83, 2020.

Pászti-Gere E., Barna R.F., Ujhelyi G., Steinmetzer T.: **Interaction exists between matriptase inhibitors and intestinal epithelial cells**, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 31(5), 736-741, 2016. **Impact factor: 5,051**

Pászti-Gere E., Barna R.F., Kovago C., Szauder I., Ujhelyi G., Jakab C., Meggyesházi N., Szekacs A.: **Changes in the distribution of type II transmembrane serine protease, TMPRSS2 and in paracellular permeability in IPEC-J2 cells exposed to oxidative stress**, *Inflammation*. 38. 775-783, 2015. **Impact factor:4,092**

# Köszönetnyilvánítás

Hálásan köszönöm Dr. Mátis Gábor és Dr. Jerzsele Ákos témavezetőimnek, hogy az utolsó évemben elfogadtak témavezetettnek, és mindenben segítettek a disszertációm megvalósulását. Köszönöm a rengeteg bátorítást, türelmet, biztatást, amivel segítettek munkám megvalósítását. Köszönöm volt témavezetőmnek, Dr. Pásztiné Dr. Gere Erzsébetnek, a motivációt, segítséget, lelkesítést, hogy elindított a tudományos pályámon.

Nagyon köszönöm mindenkinek a Biokémiai Osztályon, hogy befogadtak, támogattak a közös munka alatt. Külön hálás vagyok Dr. Neogrády Zsuzsannának, akihez bármikor fordulhattam segítségért, útmutatásért, biztatásért. Köszönöm Dr. Mackei Máténak, hogy mindig lehetett rá számítani, Vörösházi Júliának, aki a legjobb támogató szobatárs volt, valamint Seprődi Júliának és Petrovics Gabriellának a kedves asszisztenciáért. Köszönöm Hámori Fanni szakdolgozómnak a kísérletekben való lelkes segítséget.

Köszönöm Pomothy Judit PhD hallgatótársamnak, hogy végig támogattott a kísérletek, oktatás, komplex vizsga, publikációk alatt, nélküle nem valósult volna meg ez a disszertáció. Köszönöm a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék minden munkatársának is, hogy mindenben segítettek munkám létrejöttét, kiemelten Dr. Gálfi Péternek, Dr. Farkas Orsolyának, Dr. Karancsi Zitának és Dr. Kővágó Csabának.

Köszönöm a családomnak, páromnak, barátaimnak, az Exopet csapatának a türelmüket és támogatásukat, amivel elengedhetetlenül hozzájárultak dolgozatom létrejöttéhez.