



**Állatorvostudományi Egyetem**  
**Élettani és Biokémiai Tanszék**  
**Biokémiai Osztály**  
**Belgyógyászati Tanszék és Klinika**

**Laktulóz és útifű maghéj kiegészítés hatása egészséges  
kutyák bélsarának illó zsírsav tartalmára**

**Készítette:** Talabér Rebeka Réka

**Témavezetők:**

Dr. Neogrády Zsuzsanna

egyetemi docens

Dr. Sterczer Ágnes

egyetemi docens

Budapest, 2020

## Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke .....	3
1. Bevezetés .....	4
2. Irodalmi áttekintés .....	5
2.1 A kutya bél mikrobiom összetétele .....	5
2.2 Illó zsírsavak .....	7
2.2.1 Ecetsav .....	8
2.2.2 Propionsav .....	9
2.2.3 Vajsav .....	9
2.2.4 Laktulóz .....	10
2.2.5 Útifű magháj .....	11
3. Célkitűzés .....	12
4. Anyag és módszer .....	13
4.1 Kísérleti állatok .....	13
4.2 A kísérlet menete .....	16
4.3 Állatkísérlet végzésére szóló engedély .....	16
4.4 Vérvizsgálat .....	18
4.4.1 Vérvétel .....	18
4.4.2 A vér laboratóriumi vizsgálata .....	18
4.5 A kezeléshez alkalmazott anyagok .....	19
4.6 A kezelések és mintavételek ideje .....	19
4.7 Bélsárminta vétele .....	20
4.8 A bélsárminták laboratóriumi feldolgozása .....	20
4.7.1 Minták előkészítése .....	20
4.8.2 Illó zsírsav koncentrációk meghatározása .....	21
4.9 Statisztikai számítások .....	21
5. Eredmények .....	22
5.1 A vér laboratóriumi eredményei .....	22
5.2 Az illó zsírsavak koncentrációja .....	24
5.2.1 Az összes VFA koncentráció .....	24
5.2.2 Az acetát koncentráció .....	26
5.2.3 A propionát koncentráció .....	27
5.2.4 A butirát koncentráció .....	28

5.2.5 Az illó zsírsavak megoszlása.....	29
6. Megbeszélés .....	30
7. Összefoglalás.....	35
8. Summary .....	36
9. Köszönetnyilvánítás.....	37
10. Irodalomjegyzék .....	38

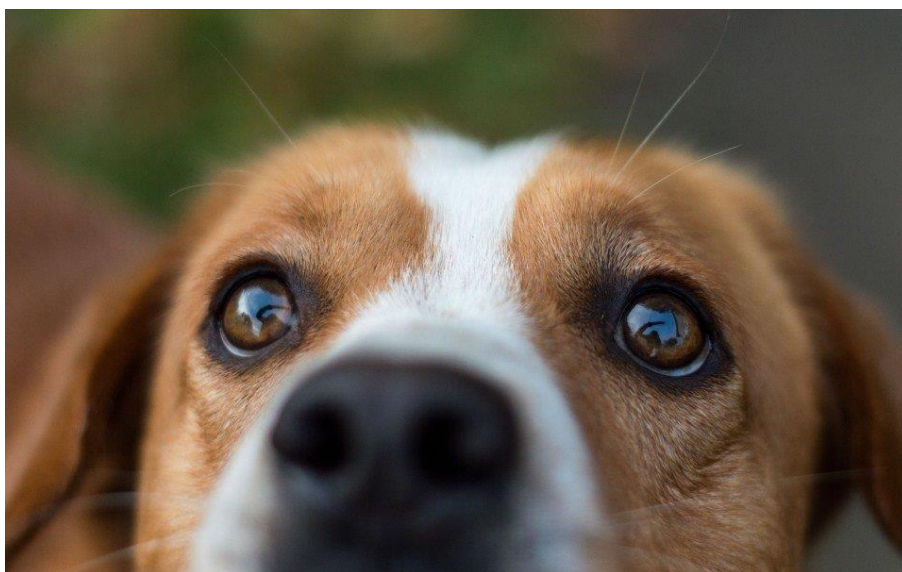
### Rövidítések jegyzéke

ALB= albumin	MCH= vörösvérsejtek átlagos hemoglobin tartalma
ALT= alanin-aminotranszferáz	MCV= vörösvérsejtek átlagos térfogata
BASO= basophyl granulocyta	MON= monocyta
CREA= kreatinin	NEU= neutrophyl granulocyta
EO= eosinophyl granulocyta	NSP= nem-keményítő poliszacharid
FFC= fluerescenzs áramlási citometria	PLT= vérlemezke
GALT= bél asszociált lymphoid szövet	PSS= portoszisztémás sönt
GC-MS= gázkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometria	RBC= vörösvérsejt
GGT= gamma-glutamil-transzferáz	RS= rezisztens keményítő
HCT= hematokrit	SCFA = rövid szénláncú zsírsavak
HGB= hemoglobin	TG= triglicerid
ISE= ionszelektív elektróda	TPROT= totál protein
LIP= lipáz	VFA= illó zsírsavak
LYM= lymphocita	WBC= fehérvérsejt

## 1. Bevezetés

A pre- és probiotikumok alkalmazása a humán gyakorlatban több évtizedes múltra tekint vissza, azonban állatoknál a faji és takarmányozási különbségek, valamint az ehhez adaptálódott eltérő baktériumflóra következtében számos megválaszolatlan kérdés vetődik fel még napjainkban is. Kutatásunkban a laktulóz és útifű maghéj kutyák vastagbél-fermentációjára kifejtett hatását kívántuk vizsgálni. Mindkét anyag prebiotikum, ami azt jelenti, hogy ezeket a gazdaállat emésztőenzimeit nem képesek elbontani, ez csak a vastagbél mikrobiális fermentációja során történik meg. Ennek eredményeként a prebiotikumok a mikrobák számára életfontosságú szubsztrátok, melyek bontásának végtermékeként olyan rövid szénláncú, vagy más néven illó zsírsavak keletkeznek, melyek hatást gyakorolnak más baktériumok növekedésére, a gasztointesztinális hámra, és felszívódva a máj és további szervek anyagcseréjét is befolyásolhatják. Mivel a mikrobiális fermentáció során a legnagyobb mennyiségben keletkező biológiailag aktív anyagok a rövid szénláncú zsírsavak, ezért munkánk során a három legjelentősebb zsírsav, az acetát, a propionát és az n-butirát koncentrációját kívántuk meghatározni a prebiotikumok adagolása esetén a kutyák bélrendszerében a kezelés kezdetétől eltelt idő függvényében.

Az utóbbi évek kutatási eredményeinek köszönhetően ismereteink folyamatosan bővülnek az állatorvosi céllal alkalmazott prebiotikumokról, és reméljük, hogy munkánk új, közvetlen gyakorlati jelentőséggel bíró információkat adhat arról, hogyan járulnak hozzá a vizsgált anyagok kutyában a vastagbél fermentációs folyamataihoz, a bélcsatorna egészségéhez és az állat szervezetének élettani működéséhez.



**1. ábra: Munkánk során a kutyák vastagbélének fermentációs folyamatait vizsgáltuk.**

Forrás: [thesprucepets.com](https://thesprucepets.com)

## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1 A kutya bél mikrobiom összetétele

A kutyák, mint általában az emlősök születésükkor steril gyomor-bél traktussal rendelkeznek, azonban ez az állapot néhány órán belül megszűnik és a szülőútból, anyatejből és környezetből származó számos baktériumfaj összessége kialakítja az ekkor rájuk jellemző mikroflórát (Buddington, 2003). Áttérve az anyatejéről szilárd táplálékra, az emésztőcsatorna ökoszisztémája ismét módosul, viszont ez az átalakulás az egyedek között is jelentős eltérést mutat (Schaible and Kaufmann, 2005). Arról, hogy a későbbiek során milyen tényezők befolyásolják a kutya bélrendszerében élő baktériumok tulajdonságait, számos tanulmány készült. Az életkor, az étrend, a földrajzi helyeződés és sok más környezeti tényező jelentős szerepet játszhat az egészséges mikrobiom fenntartásában. Már azt is tudjuk, hogy az emésztőcsatorna más mikrobiológiai összetétellel rendelkezik, mint a bélsár (Suchodolski et al., 2005). Suchodolski tanulmányai szerint (Pilla and Suchodolski, 2020; Suchodolski et al., 2012, 2009, 2005) a gasztrointesztinális rendszer egyes részeit különböző baktériumpopulációk népesítik be. A szomszédos bélszakaszokon, mint a duodenum, jejunum, ileum, hasonló baktériumflóra él, azonban ez eltér a colon és rectum flórájától. Azonos körülmények között és azonos étrenden tartott kutyáknál a bélrendszer mikrobiom összetételében fajon belül is voltak különbségek (Beloshapka et al., 2013). Ma már a hagyományos tenyésztési módszereken túl a baktériumok izolálására és azonosítására molekuláris eljárások is rendelkezésünkre állnak. Ezek a technikák lehetővé tették a kutya gasztrointesztinális traktusában lévő nem tenyésztethető baktériumok azonosítását is. Az életképes mikroorganizmusok teljes száma kutyában becslések szerint  $10^{12}$  és  $10^{14}$  között mozog, ami a gazdaszervezetben jelen lévő sejtek számának körülbelül tízszerese (Suchodolski, 2011). A molekuláris módszereknek köszönhetően számos tanulmány (Beloshapka et al., 2013; Handl et al., 2011; Middelbos et al., 2010; Suchodolski, 2011; Suchodolski et al., 2009) sikeresen azonosított több száz baktériumfajt a kutya emésztőrendszerében. Az itt található baktériumok 99%-a *Bacteroides*, *phyla Firmicutes*, *Proteobacterium*, *Actinobacterium*, *Fusobacterium* fajokhoz tartozott, azonban azonosítottak *Tenericutes*, *phyla Spirochaetes*, *Cyanobacteria*, *Verruco-microbia* és *Chloroflexi* fajokat is (Pilla and Suchodolski, 2020; Pinna and Biagi, 2014). Nyers hús alapú étrend esetén azonban az arányok megváltoztak és az uralkodó baktérium nemzetségek a *Cetobacterium*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* és *Clostridium* voltak (Beloshapka et al., 2013). Ebben, a több száz baktériumfajból álló gasztrointesztinális mikrobiomban, előfordulnak a gazdaszervezet

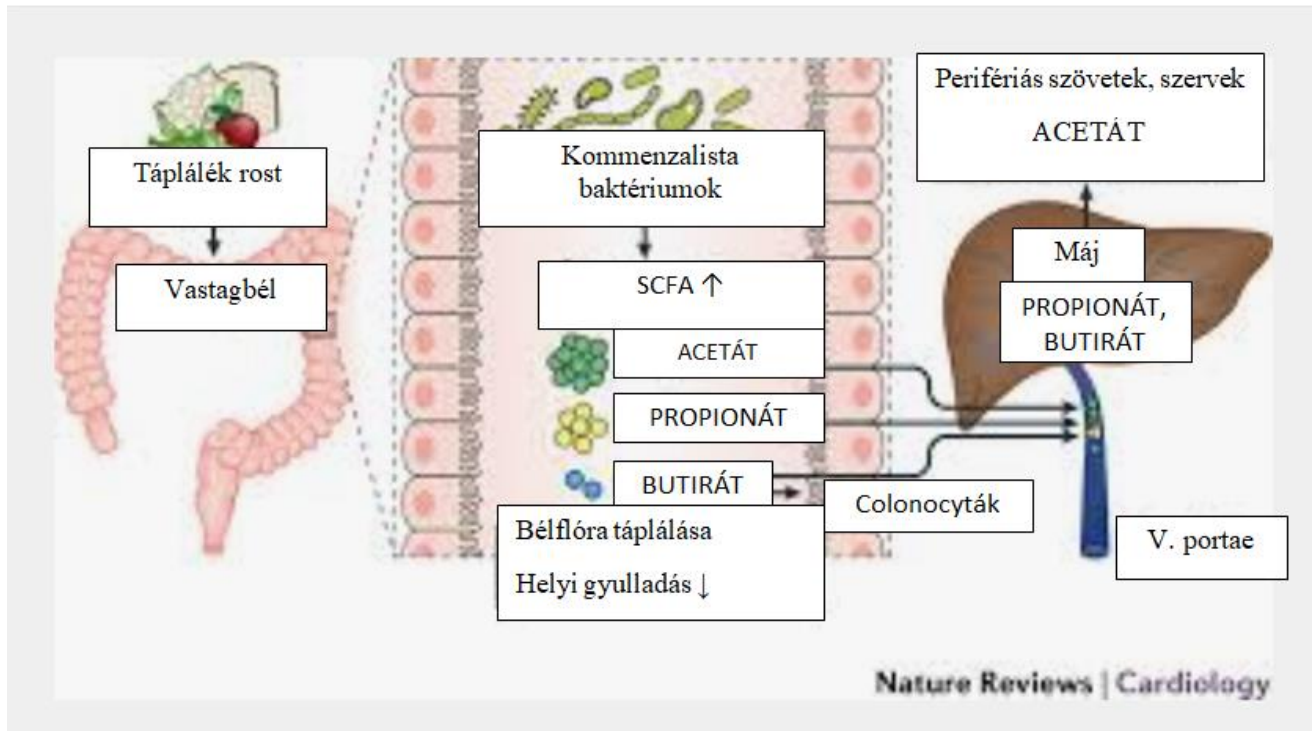
számára potenciálisan patogén és hasznos baktériumfajok is (Roberfroid et al., 2009) valamint nem baktérium mikroorganizmusok, mint gombák (az összes szekvencia 0,01%-a) és vírusok (az összes szekvencia 1%-a) (Swanson et al., 2011). A táplálék minősége mellett fontos az állatok életkora (Benno et al., 1992; Mitsuoka, 1992) és fajtája (Simpson et al., 2002), mert többek között ezek is a bél-traktus baktériumflórájának változékonyságát befolyásoló tényezők. Idősebb állatoknál megfigyelték, hogy a bélsárban magasabb koncentrációban fordultak elő lecitináz-pozitív Clostridia és Bacilli osztályba tartozó baktériumok, mint a bifidobaktériumok, lactobacillusok, peptostreptococcusok (Benno et al., 1992; Mitsuoka, 1992). Kutyák esetén a bélgyulladás, legyen az krónikus vagy akut, jelentős különbségeket eredményezhet a bél mikrobiom összetételében. A bél dysbiosis során funkcionális változások történnek bizonyos mikrobiális gének kifejeződésében. Ezek a változások leggyakrabban olyan metabolitok keletkezését érintik, mint a rövid szénláncú zsírsavak és az aminosavak, beleértve a triptofánt és annak katabolitjait. A közelmúltban kifejlesztett, „Dysbiosis Index” elnevezésű PCR-alapú algoritmus egy olyan eszköz, amely lehetővé teszi az állatorvosok számára a bél dysbiosisának számszerűsítését, és felhasználható a betegség lefolyásának és kezelésének nyomon követésére (Pilla and Suchodolski, 2020).

A bélrendszer baktériumpopulációi közül a colon flóráját alkotó jótékony baktériumok hatása a legjelentősebb a gazdaszervezet számára. Ezek a mikroorganizmusok különböző hatásmechanizmusok révén befolyásolják a bél-traktus működését és egészségi állapotát, hozzájárulva a gazdaszervezet anyagcseréjéhez. Gátló hatást fejtenek ki a potenciálisan kórokozó baktériumokkal szemben azáltal, hogy megakadályozzák a bélnyárkahártyához való tapadásukat (Macfarlane et al., 2008) és szelektív hatású antimikrobiális anyagokat termelnek (Liévin-Le Moal and Servin, 2006). Fehérjésintézisükhöz felhasználják nitrogénforrásként a bélrendszerbe jutó ammóniát és aminosav felesleget, így azok nem szívódnak fel (Howard et al., 2000). Dinamikus kölcsönhatásba lépnek a gazdaszervezet immunrendszerével és befolyásolják a gyulladásgátló és szabályozó mechanizmusok egyensúlyát (Cerf-Bensusan and Gaboriau-Routhiau, 2010). Bioszintézisük során az élelmiszer eredetű tejsavbaktériumok és a bifidobaktériumok B-vitaminokat állítanak elő, biztosítva ezzel a gazdaszervezet számára az utánpótlást (LeBlanc et al., 2012). Tanulmányunk szempontjából azonban a legfontosabb tulajdonságuk, hogy a szénhidrátok fermentációja során úgynevezett rövid szénláncú zsírsavakat (Short Chain Fatty Acids, SCFA), vagy másik elnevezésüket használva, illó zsírsavakat (VFA) állítanak elő.

## 2.2 Illó zsírsavak

A colon ökoszisztémáját alkotó mikrobák által termelt illó zsírsavak központi szerepet játszanak a bél egészségének és működésének fenntartásában (Cummings and Englyst, 1987; Szylit and Andrieux, 1993). Termelődésük a kérődző állatok mikroorganizmusainak bendőfermentációja során a legjelentősebb, azonban a húsevő kutya vastagbelében is kimutatható (Bergman, 1990). A VFA, vagy másik elnevezésüket használva SCFA olyan, csoportonként 1-7 szénatomot tartalmazó, egyenes vagy elágazó láncú vegyületek, melyeknek csak sav formái illékonyak. Az anaerob mikrobiális erjedési folyamatok termékeként, főleg növényi anyagok, tehát cellulóz, rostok, rezisztens-keményítő (RS), nem-keményítő poliszaharidokat (NSP) és egyes oligoszacharidok bontásával keletkeznek, kis mennyiségben képződő egyéb vegyületekkel együtt, mint a metán, tejsav, szén-dioxid, alkohol (Bergman, 1990). Meghatározó három alakjuk az ecetsav, a propionsav és n-vajsav (anionjaik: acetát, propionát, n-butirát). A továbbiakban az n-vajsavat vajsav, a n-butirátot butirát névvel jelöljük. Ezek a szerves savak teszik ki a VFA tartalom több mint 95%-át (Cummings and Englyst, 1987). Mivel az állati szervezetek nem termelnek olyan enzimeket, melyek képesek lennének a fent említett cellulóz, rostok, RS, NSP és egyes oligoszacharidok lebontására, ezért az intesztinális anaerob mikrobiális fermentáció és illó zsírsav-termelés nagy jelentőséggel bír számukra. A vastagbél epitheliális sejtjei (colonocyták) a vajsavat használják energiaszubsztrátként, míg a májsejtek a propionsavat és vajsavat, a perifériás szövetek pedig főként az ecetsavat metabolizálják (Cummings and Englyst, 1987) (**2. ábra**). A mikrobiális fermentációkból származó energia, becslések szerint, egy felnőtt kutya fenntartási energiaigényének 2-7%-át képes fedezni (Da et al., 1981; Stevens and Hume, 1998). Emellett az illó zsírsavak gyulladáscsökkentő hatásúak, mert a gyulladásgátló citokinek (pl. IL-10 és TGF $\beta$ ) termelését fokozzák, ezzel szemben a gyulladást előidéző citokinek (pl. IL-6, IL-8 és TNF $\alpha$ ) és az aktiváló transzkripciós faktor (Foxp3), mely a gyulladás szabályozásában játszik szerepet, termelését pedig csökkentik (Smith et al., 2013). Az is bizonyított, hogy ezek a szerves savak szelektív antibakteriális tulajdonságokkal is rendelkeznek (Knarreborg et al., 2002). Nem csak a gazdaszervezet, de az őket termelő mikrobiom számára is előnyös jelenlétük, mivel termelésük savas környezetet biztosít a bél lumenében, meggátolva ezzel a pH-érzékeny kórokozó baktériumok (pl. *Enterobacteriaceae* és *Clostridia* családba tartozó mikrobák) túlszaporodását (Sun and O’Riordan, 2013). Ez a pH csökkenés továbbá hatással van bizonyos nem kívánatos anyagok bélben történő felszívódására is. Amennyiben a szervezet nem jut megfelelő mennyiségű szénhidráthoz, úgy az energiát mikrobiális fehérjebontás során próbálja fedezni, ez a folyamat azonban toxikus anyagok képződéséhez

vezet, mint például ammónia és egyes aminosavak (Russell et al., 1983). Az illó zsírsavak savas karakteréből adódó pH csökkenés során azonban az ammónia ammónium-ionná alakul, ami ilyen formában sokkal lassabban szívódik fel (McQuaid, 2005). Attól függően, hogy melyik VFA-ról beszélünk, ezek a fermentációs termékek különféle metabolikus folyamatokba léphetnek be és különböző hatásokat fejthetnek ki a gazdaszervezetre.



**2. ábra: Illó zsírsavak termelődése a vastagbélben és anyagcseréje az egyes szervekben.**

(Marques, Mackay, Kaye, 2017 nyomán)

### 2.2.1 Ecetsav

Az ecetsav anion formáját, az acetátot, eltérően a butiráttól és propionáttól, melyeket elsősorban a colonocyták és hepatocyták használják fel, főleg a perifériás szövetek, szervek metabolizálják. Ebből következik, hogy míg a butirát és propionát alacsony szinten találhatóak a perifériás keringésben, a két szénatomból álló acetát azonban viszonylag nagy mennyiségben éri el azt, s így a periférián levő szövetek hasznosíthatják (Cummings and Englyst, 1987). Az acetát a vastagbélben előforduló illó zsírsavak közül a leggyakoribb és a bélsárban kimutatott összes VFA több mint felét teszi ki (Louis et al., 2007). A legtöbb enterális baktérium termeli a szénhidrátok fermentációjának eredményeként. Antimikrobiális és gyulladáscsökkentő hatása a propionáttal és butiráttal összehasonlítva elhanyagolható



(Minamoto et al., 2019). A keringéssel egyes szervekhez eljutva, belép a sejtekbe, majd a mitokondriális mátrixba, ahol a citrát körben acetyl-CoA-ként energiát adó szubsztrát. A gazdaszervezet anyagcseréjétől és a szervtől függően részt vehet a zsírok szintézisében is.

### 2.2.2 Propionsav

A propionsav-termelő baktériumok a három szénatomot tartalmazó propionsavat hexózokból állítják elő. Antimikrobiális hatása miatt élelmiszer tartósítószerként is alkalmazzák. Jelentős továbbá a baromfitartásban is, mert hatékonyan csökkenti a *Salmonella* és *Campylobacter* fajok számát (González-Fandos et al., 2015; Ormsby et al., 2020). A propionsav erős immunmoduláló hatású, ezért terápiás kiegészítőként alkalmazva egérmodellekben, csökkentette a vastagbél-gyulladás súlyosságát (Smith et al., 2013). A propionsav gyulladáscsökkentő hatásának, s a mechanizmus tisztázásának vizsgálata az utóbbi évek kutatásainak fontos témája. A propionát, mint a glükoneogenezis kiinduló anyaga a kérődzőkben és szigorúan vett húsevőkben, mint a macska, jól ismert, de kutyáknál is megfigyelték ezt a hatást (Tirosch et al., 2019). Az ecetsavnak és a propionsavnak a glükoneogenezis szabályozásában is szerepe lehet (Cummings and Englyst, 1987).

### 2.2.3 Vajsav

A lineáris, négy szénatomból álló n-vajsav (továbbiakban vajsav) anion formája a n-butirát (továbbiakban butirát), közvetlen, génszintű hatást fejthet ki eukariota sejtekben: hiszton hiperacetilációt okoz, s ez által befolyásolhatja különféle gének expresszióját (Tran et al., 1998). Ez úgy történik, hogy a bélhámsejtek által le nem bontott n-butirát a portális keringéssel a májba juthat, és ott a hepatocyták  $\beta$ -oxidációjába, illetve a ketogenezisbe kapcsolódhat be. A májsejtek metabolizálják a butirát egy részét, azonban más, az anyagcsere során nem lebontott része epigenetikus hatást fejthet ki. Képes ugyanis megváltoztatni a kromatinállomány szerkezetét, azáltal, hogy megváltoztatja a hisztonfehérjék acetilációjának mértékét és módosítja a DNS metiláltságát, vagyis egyes gének expresszióját (Guilloteau et al., 2010). A butirátot elterjedten használják alternatív hozamfokozó szerként főleg az üzemi állattartásban, a súlygyarapodására és takarmányértékesítésre gyakorolt pozitív hatásai miatt (Galfi and Bokori, 1990). A butirát szükséges továbbá a GALT (gut associated lymphoid tissue) megfelelő fejlődéséhez (Friedman and Bar-Shira, 2005), mert fokozza az úgynevezett tight junction fehérjék (okkludin, cingulin) expresszióját, amik a sejtek összekapcsolódásáért felelősek, így a bél barrier funkciója javul (Bordin et al., 2004). Ismert a butirát szelektív antimikrobiális hatása is, melynek során az emelkedő butirátkoncentrációra érzékeny

baktériumfajok, mint az enterotoxikus *E.coli* törzsek, illetve *Salmonella* és *Clostridium* fajok kiszelektálódnak, miközben a „jótékony” flóra nem károsodik (Fernández-Rubio et al., 2009; Immerseel et al., 2006).

#### 2.2.4 Laktulóz

Kísérletünkben azt szeretnénk volna megvizsgálni, hogy a kutyák bélsarának illó zsírsav tartalma milyen mértékben növelhető vagy csökkenthető olyan szubsztrátok adagolásával, melyek feltételezhetően hatással vannak a vastagbél mikroflórájának illó zsírsav termelésére. Prebiotikumként két, az ember és állatgyógyászatban egyaránt használatos szubsztrátot választottunk: a laktulózt és az útifű maghéjt. Ahhoz, hogy egy prebiotikum hatékonyan tudja befolyásolni a vastagbél flóráját emésztetlen állapotban kell oda jutnia. A laktulóz a laktóz izomer formája, melyben egy galaktóz molekula  $\beta$ -1,4-es kötéssel kapcsolódik egy fruktóz molekulához. Ezt a diszacharid molekulát normális esetben csak a vastagbélben lévő bélbaktériumok emésztik tejsav, ecetsav, metán és hidrogén képződése közben.

A laktulózt már 1966 óta alkalmazzák a humán orvosi klinikumban (Elkington et al., 1969). Fő hatásmechanizmusa az ammónia bélbeli termelésének és felszívódásának csökkentése, melyet három úton tud elérni. Először a szénhidrátok vastagbél metabolizmusa hashajtóhatást vált ki az intraluminális gázképződés és az ozmolalitás növekedése révén, ami a tranzit idő és az intraluminális pH csökkenéséhez vezet. Ezután a laktulóz elősegíti a vastagbélben lévő baktériumok fokozott ammóniafelvételét, amelyek a csapdában lévő vastagbél-ammóniát használják nitrogénforrásként a fehérjeszintézisükhöz. A bél pH-értékének csökkentése megkönnyíti ezt a folyamatot, amely elősegíti a bélbaktériumok által termelt ammónia ( $\text{NH}_3$ ) átalakulását ammóniumionná ( $\text{NH}_4^+$ ), a molekula ionizált formájává, amelynek bélből való felszívódása igen kismértékű (Aldridge et al., 2015). Végül a laktulóz az ammónia bélbeli termelésének csökkenését is okozza. A savas pH elpusztítja az ammónia termelésében részt vevő ureáztermelő baktériumokat. Ezt a hatásmechanizmust McQuaid (McQuaid, 2005) is leírta tanulmányában, ahol a kutyák portoszisztémás sönt (PSS) kezelési lehetőségeit vizsgálta. A laktulóz használatos tehát a PSS okozta encephalopathiák megelőzésére és kezelésére. Megfelelő adagolás mellett székrekedés esetén is alkalmazható, mert puhává teszi a bélsarat, azonban vízszerű hasmenés jelentkezésekor csökkenteni kell adagját.

### 2.2.5 Útifű maghéj

Az útifű maghéj (*Psyllium husk*) elnyújtott, de nagy mennyiségű illó zsírsav keletkezéséhez vezető bakteriális bontását *in vitro* körülmények között igazolták (Calabrò et al., 2013), de a kutyák vastagbelében *in vivo* kifejtett hatásáról pontos irodalmi adat - a laktulózhhoz hasonlóan- nem áll rendelkezésünkre. A *Plantago ovata* magjaiból származó útifű maghéj, *Psyllium husk* (továbbiakban *psyllium*) erősen elágazó és gélképző arabinoxilánból áll, amely arabinózokban és xilózokban gazdag polimer. Mivel a proximális bélszakasokban történő bontása korlátozott, ezért a *psyllium* prebiotikus potenciállal rendelkezik. A humán és állatorvoslásban is alkalmazott útifű maghéjről ismert, hogy megváltoztatja a bélben a tranzit időt, a széklet víztartalmát és az VFA-koncentrációt. Ebből adódóan a *psyllium* széles körben használt gyógyszeres kezelések kiegészítőjeként. A benne lévő flavonoidok és fenolok antioxidáns hatással bírnak, míg az esszenciális zsírsavak (omega-3 és omega-6), valamint a kéntartalmú aminosavak és bioaktív aminok ígéretes ételmiszer- és takarmány-kiegészítővé teszik. A feldolgozott ételmiszerekben használják súlykontroll elősegítésére, a cukorbetegség glükózkontrolljának szabályozására és a szérum lipidszintjének csökkentésére hiperlipidémiában.

### 3. Célkitűzés

Tanulmányunk célja az volt, hogy a kisállatpraxisban elterjedten alkalmazott laktulóz és útifű maghéj hatását vizsgáljuk a kutyák bélcsatornájában élő baktériumok fermentációs folyamataira. Ezek a szájon át adagolt prebiotikumok a kutya bélmikrobiom számára előnyös szubsztrátok lehetnek, melyek bakteriális bontásával illó zsírsavak képződhetnek. Ez a folyamat így elősegítheti a bélflóra egyensúlyának fenntartását, a gazdaszervezet számára előnyös bélbaktériumok szaporodását, valamint a keletkező illó zsírsavak számos kedvező élettani hatást fejthetnek ki a bélhámra és felszívódva az extraintesztinális szövetekre is. Azért szerettük volna kutyáknál a laktulóz és az útifű maghéj-örlemény (Psyllium) adását követően a keletkezett összes és az egyes illó zsírsavak mennyiségét meghatározni, hogy lássuk, vajon a tapasztalt pozitív élettani hatások direkt vagy indirekt módon összefüggésben lehetnek-e a bélben képződött illó zsírsavak mennyiségével. Munkánk tervezésekor szem előtt tartottuk, hogy a vizsgálatba bevont állatok számát a minimálisra csökkentjük, így a kezelést megelőzően vett minták szolgáltak kontrollként, s nem volt szükséges további állatok kísérletbe állítása. Az illó zsírsavak koncentrációjának mérésére alkalmazott gázkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometria (GC-MS) módszere korszerű, megbízható mérést tesz lehetővé az illó zsírsavak kvantitatív meghatározására.

Kutatómunkánk során ezért célul tűztük ki, hogy 30 egészséges, beagle fajtájú kutyán vizsgáljuk 15 napig a laktulóz és psyllium bélflórára gyakorolt hatását. Ennek során bélsár mintákat veszünk a 0. (kontroll mintavétel), 5. 10. és 15. napon, majd ezekből GC-MS módszer segítségével meghatározzuk a prebiotikumok adagolása során termelődő illó zsírsavak koncentrációbeli egymáshoz viszonyított arányának változásait.

Jelen TDK munka azért is jelentős, mert az antibiotikum használat csökkentésére irányuló tendenciáknak köszönhetően egyre népszerűbbek az állatgyógyászatban is gyakran alkalmazott prebiotikumok. Vizsgálatunk eredményeitől azt várjuk, hogy tovább erősítik a laktulóz és psyllium jótékony hatásait igazoló tanulmányokat ez által a klinikumban való alkalmazásukat. Természetesen ahhoz, hogy az összes és egyes illó zsírsavak mennyiségi változásai és a tapasztalt pozitív élettani hatások közötti ok-okozati összefüggéseket egészen pontosan tisztázzuk, további kísérletek, vizsgálatok szükségesek a jövőben.

## 4. Anyag és módszer

### 4.1 Kísérleti állatok

A vizsgálat megvalósításának fontos kiindulási pontja volt, hogy megfelelő állatokat és állattartó telepet találjunk. Dr. Müller Linda az ATRC Aurigon Toxikológiai Kutatóközpont Kft. (Dunakeszi) ellátó állatorvosa lehetőséget biztosított nekünk arra, hogy 30, azonos körülmények között tartott, egészséges beagle fajtájú kutyán végezzük el vizsgálatainkat. A kísérlet megkezdése előtt egy héttel a kutyáktól vért vettünk, majd a nyert vérplazma hematológiai és kémiai vizsgálata során ellenőriztük az állatok egészségi állapotát. A kiválasztott kutyák vérparaméterei az egészséges állatok számára meghatározott referencia értékektől nem, vagy nem jelentős mértékben tértek el. Nagyban megkönnyítette munkánkat, hogy ezeket a kutyákat standard diétán tartják (Ecopet Natural, Farmina Pet Foods), így a kísérletbe bevont kutyák táplálásában nem volt különbség. Az állatok részére ivóvizet *ad libitum* biztosítottunk és napi egyszer, a reggeli órákban kaptak kimérve szárasztápot. Az etetett kutyatáp beltartalmi értékeit az **1. táblázatban** foglaltam össze.

Fontos kritérium volt a kísérletben való részvételhez, hogy egyik állat se álljon olyan gyógyszeres kezelés alatt, ami megváltoztathatja a bélflóra állapotát. Továbbá figyelembe vettük a kutyák életkorát és nemét, ennek megfelelően 1 évesnél idősebb, „fiatal felnőtt” állatokat választottunk 2:1 kan és szuka ivararányban. A kutyák csoportba történő felosztásakor hasonló testsúllyal rendelkező állatokat válogattunk össze, azonban a nemek közti eltérésekből adódóan egy-egy állat testtömege között a legnagyobb különbség 6,9 kg volt. A kan kutyák (n=20) testtömege 10,9-19 kg átlag=15,2 kg, a szuka csoport (n=10) testtömege 12-17,8 kg átlag=14,6 kg volt. (**2. táblázat**).

Az állatokat állatszobában, összenyitott 4,8 m<sup>2</sup> alapterületű boxokban helyeztük el párosával (**3. ábra**). Az állatházban a hőmérsékletet 15–25 °C közötti tartományra állítottuk, a légcseré 8-10-szeres volt, ami azt jelenti, hogy a helyiségben lévő levegő óránként 8-10 alkalommal cserélődött ki. A hőmérsékletet és páratartalmat folyamatosan ellenőriztük és dokumentáltuk. Mesterséges megvilágítást alkalmaztunk, napi 12-12 óra sötét és világos ciklussal. A környezetgazdagítás érdekében labdát kaptak az állatok, illetve nagyon fontosnak tekintettük a lehető legtöbb kontaktust a gondozókkal. Az adott vizsgálat esetében a táplálékkiegészítők adagolását pozitív ingerekkel tudtuk összekapcsolni, hiszen jutalmazás formájában történt a kezelés mivel egyik anyag sem kellemetlen ízű. Az állatok gondozását megfelelő képzéssel és gyakorlattal rendelkező személyek végezték. A kutyák tartási helyét a gondozók naponta takarították. Az állatok minőségi, a fajuk és élettani igényeiknek

megfelelő összetételű tápot (Ecopet Natural, Farmina Pet Foods) kaptak, valamint bevizsgált minőségű ivóvíz ellátásuk folyamatosan biztosított volt. Az állatok egészségi és jóléti állapotát napi rendszerességgel hozzáértő személy ellenőrizte.



**3. ábra : Az ATRC Aurigon Toxikológiai Kutatóközpont Kft. (Dunakeszi) gondozásában lévő állatokat kettesével helyeztük el egyedi boxokban. Minden állat számára biztosított volt fejenként egy alvó kosár és ivóvíz *ad libitum*. (saját felvételek).**

<b>Ecopet Natural Adult medium száraztáp összetétele:</b>
kukorica, dehidrált csirkehús (-22%-), búzaliszt, csirkezsír, rizs, szárított cukorrépa, nátrium-klorid, szárított sörélesztő, cikória gyökér kivonat (-0,4%-), mannóz alapú oligoszacharidok (Saccharomyces Cerevisiae kivonatból) (-0,4%)*
<b>Vitamin és ásványianyag kiegészítés (takarmány kg):</b>
A vitamin 10000 IU
D3 vitamin 1000 IU
E vitamin (alfa-tokoferol 91%) 100 mg
C vitamin 100 mg;
niacin 25 mg
pantoténsav 10 mg
B2 vitamin 5 mg
B6 vitamin 4 mg
B1 vitamin 3 mg
K3 vitamin (M.S. B. 53%) 1 mg
H vitamin 0,25 mg
folsav 0,30 mg
B12 vitamin 0,04 mg
kolin- klorid 1500 mg
cink-oxid 108 mg
cink-szulfát monohidrát 120 mg
mangán-szulfát monohidrát 150 mg
vas-szulfát monohidrát 44 mg
vas-karbonát 60 mg
réz-szulfát pentahidrát 50 mg
kalciumjodátanhydrát 2,4 mg
nátrium-szelenit 0,22 mg
DL-metionin 1500 mg
<b>Analitikai alkotórészek (%):</b>
nedvességtartalom 9,00%
nyersfehérje 24,00%
nyers zsírok és olajok 12,00%
nyersrost 3,00%
nyershamu 8,5%

**1.táblázat: A száraztáp összetétele és beltartalmi értékei.** Vizsgálataink teljes ideje alatt a kutyák az Ecopet Natural Adult medium breed (Farmina Pet Foods) tápot fogyasztották, naponta egyszer 20 g/ttkg mennyiségben. \*Ezekhez az összetevőkhöz pontosabb értéket nem bocsájtott rendelkezésre a gyártó.

## 4.2 A kísérlet menete

Kísérletünk 15 napig tartott, melynek során 30 kutya bélsarából a 0., 5. 10. és 15. napon, összesen 4 alkalommal vettünk mintát a későbbi illó zsírsav koncentráció meghatározása céljából. A kísérlet megkezdése előtt egy héttel vett vérminták vizsgálatának eredményeit elemezve választottuk ki a kísérletben résztvevő 30 állatot, melyeknek a 0. napon megmértük a testtömegét, és csoportokba rendeztük azokat. A kísérleti állatcsoportok pontos leírását, az állatok számozását a **2. táblázatban** foglalom össze. Az első csoportba 15 kutyát helyeztünk, melyek a következő két hétben napi egyszer, meghatározott időpontban laktulóz kiegészítésben részesültek. A második csoport állatai, szintén 15 kutya, naponta egyszer, ugyanabban az időpontban, mint amikor a laktulóz kezelés történt, útifű maghéj (Psyllium husk), a továbbiakban psyllium kiegészítést kaptak. A pontos napi kezelési adagok a **2. táblázatban** olvashatók. Miután kialakítottuk a kezelési csoportokat, színjelekkel láttuk el a különböző csoportokba tartozó állatok kennelre kiakasztott fűlszám tábláját. Ezután az összes állatból, a kontroll értékek meghatározása céljából, bélsármintát vettünk (0. napos minták).

## 4.3 Állatkísérlet végzésére szóló engedély

Munkánkat a hatályos állatvédelmi jogszabályok betartásával, a Pest megyei Kormányhivatal, Élelmiszerlánc-biztonsági, Állategészségügyi, Növény és Talajvédelmi Főosztály által kiadott, PE/EA/558-5/2019 számú projektengedély alapján végeztük. A kísérleti tevékenységben részt vevő munkatársak végzettsége, ill. gyakorlata a 40/2013 (II. 14.) Kormányrendelet 35.§-ban meghatározott követelményeinek megfelelt.



Állatok sorszáma	Fülszám	Ivar	Testtömeg	Laktulóz vagy Psyllium mennyiség/állat/nap
<b>LAKTULÓZ</b>				
1	7538	kan	17,2 kg	17 ml
2	7554	kan	15,5 kg	16 ml
3	8158	kan	17,3 kg	17 ml
4	8261	kan	16,0 kg	16 ml
5	8253	kan	16,8 kg	17 ml
6	8240	kan	15,2 kg	15 ml
7	7292	kan	16,5 kg	17 ml
8	8081	kan	19,0 kg	19 ml
9	7534	kan	15,5 kg	16 ml
10	HBBT68	kan	15,6 kg	16 ml
21	7264	szuka	17,0 kg	17 ml
22	7282	szuka	14,3 kg	14 ml
23	8293	szuka	13,8 kg	14 ml
24	8244	szuka	14,1 kg	14 ml
25	8292	szuka	12,9 kg	13 ml
<b>PSYLLIUM</b>				
11	7520	kan	16,5 kg	3 g
12	H1BR45	kan	14,4 kg	3 g
13	H2BK45	kan	15,2 kg	3 g
14	H1BT83	kan	11,5 kg	3 g
15	H2BT81	kan	15,9 kg	3 g
16	H3BT66	kan	12,8 kg	3 g
17	7583	kan	14,4 kg	3 g
18	47BJ81	kan	14,5 kg	3 g
19	H4BT83	kan	10,9 kg	3 g
20	7252	kan	13,5 kg	3 g
26	7400	szuka	17,8 kg	3 g
27	7228	szuka	15,8 kg	3 g
28	7298	szuka	15,9 kg	3 g
29	7341	szuka	13,0 kg	3 g
30	7284	szuka	12,0 kg	3 g

**2. táblázat: A kísérleti állatcsoportok kialakítása, valamint a laktulóz vagy psyllium kezelések mennyiségi alakulása. Az állatok fülszámát használva azonosításra, meghatároztuk ivarukat, megmértük testtömegüket és kísérleti sorszámmal láttuk el azokat.**

#### 4.4 Vérvizsgálat

Mivel a vérvizsgálatot a kísérlet megkezdése előtt végeztük el annak érdekében, hogy csak egészséges állatokat vonjunk be etetési kísérletünkbe, ezért a vérvizsgálat menetét a kísérleti kezeléstől elkülönítve ismertetem az alábbiakban. A vérvizsgálat eredményeit az Eredmények fejezetben mutatom be.

##### 4.4.1 Vérvétel

A vérvétel a *v. cephalica antebrachii* vagy *v. saphena* megszurásával történt Dr. Müller Linda állatorvos segítségével az ATRC Aurigon Toxikológiai Kutatóközpont Kft. telephelyén, a kísérlet megkezdése előtt egy héttel. A szúrást megelőzően a beszúrási hely felett megtörtént a szőr eltávolítása, a terület fertőtlenítése. Egy állat esetén maximum 4 ml vérmintára volt szükségünk. A mintát két különböző csőbe vettük. Egyik csőben gyűjtöttük az EDTA-val alvadásában gátolt vért a hematológiai, a másikban a vér alvadását nem gátoltuk, és a szérumból biokémiai paramétereket határoztunk meg. A mintákat a helyszínen lévő laboratóriumba (Clinical Pathology Laboratory Dunakeszi) szállítottuk, ahol a vérvizsgálatok történtek. A mintákat ezután -20 °C-on tároltuk.

##### 4.4.2 A vér laboratóriumi vizsgálata

A hematológiai eredmények meghatározásához Symex XT-2000i analizátort, a biokémiai eredmények méréséhez Konelab 60i kémiai analizátort alkalmaztunk. Az XT-2000i hematológiai analizátor az egyedi fluoreszcencia áramlási citometriás (FFC) technológiát alkalmazza. Az FFC az RNS/DNS tartalmat, a sejt méretét és a belső sejtkomplexitást figyeli. A Konelab analizátor ionszelektív elektródákkal (ISE) végzi az elektrolit méréseket, a mérőcellának több része van, ionszelektív elektródák és egy referenciaelektród. A mérőműszerek az ATRC Aurigon Toxikológiai Kutatóközpont Kft (Dunakeszi) telephelyén lévő laboratóriumban (Clinical Pathology Laboratory Dunakeszi) működnek, így a minták hosszabb ideig való tárolására nem volt szükség.

A hematológiai méréseknél vizsgáltuk a fehérvérsejt számot (WBC, áramlási citometria), a vörösvérsejt számot (RBC, hidrodinamikusan fókuszálás), hemoglobin koncentrációt (HGB, Cíán-mentes SLS-hemoglobin), hematokrit értéket (HTC, vörösvérsejtek összterfogatata/teljes vér térfogatata), a vörösvérsejtek átlagos térfogatát (MCV, RBC hisztogram), a vörösvérsejtek átlagos hemoglobin tartalmát (MCH, spektrofotometria), a vérlemezkék számát (PLT, hidrodinamikusan fókuszálás). Valamint citometriás eljárással meghatároztuk a lymphocytá (LYM), monocytá (MON) és a neutrophil (NEU), eosinophil (EO), basophil (BASO) granulocytá számot.

A következő biokémiai paramétereket vizsgáltuk: mértük az alanin-aminotranszferáz (ALT, spektrofotometria), a lipáz (LIP, spektrofotometria) és a gamma-glutamil-transzferáz (GGT, spektrofotometria) enzimek aktivitását. Meghatároztuk a kreatinin (CREA, szarkozin oxidáz) a triglicerid (TG, spektrofotometria), az albumin (ALB, brómkrezol-zöld) és összfehérje koncentrációt (TPROT, Biuret-EDTA).

#### 4.5 A kezeléshez alkalmazott anyagok

A laktulózt gyógyszerházból szereztük be Laevolac-Laktulóz 670 mg/ml szirup formájában 1000 ml-es kiszerelesben. A laktulóz kiegészítés 1ml/ttkg adagban történt Vörös Károly: Állatorvosi Belgyógyászat, 2019 szerint (Vörös, n.d.) szájon át, naponta egy alkalommal, a reggel 8 órakeri etetés megkezdése előtt. A kezelési adagok meghatározása során az állatok testtömegének megfelelően 0,5 tizedesjegytől felfelé kerekítve számítottuk ki a laktulóz mennyiségét. (2. táblázat).

Az útifű maghéj őrlemény (Psyllium husk) 500 g-os kiszerelesét bioboltban vásároltuk meg. Az adagok meghatározásánál ugyancsak Vörös Károly: Állatorvosi Belgyógyászat 2019 (Vörös, n.d.) könyvének ajánlását vettük alapul: 1,5 teáskanál = kb. 2g/10 ttkg, szájon át, naponta egyszer. Itt átlagoltuk az állatok testtömegének megfelelő dózisokat és kialakítottunk egy egységes adagot, mely minden állat esetében 3 g volt. A psyllium fizikai tulajdonságait figyelembe véve 2 ml vizet adtunk 3 g tiszta psylliumhoz. A psyllium-őrlemény felszívta a hozzáadott vizet és golyót formáztunk belőle. (4. ábra).



4. ábra: A psyllium golyó elkészítése. (saját felvételek)

#### 4.6 A kezelések és mintavételek ideje

A kezelések laktulóz és psyllium esetében is 0-14. nap között, minden nap reggel 8 órai etetés előtt történtek. A bélsárminta vételeket a 0. 5. 10. és 15. napon, a kezelések előtt végeztük el. Ezután az állatok, a reggeli etetést megelőzően szívesen fogadták (tekintve, hogy éhesek voltak) mind a laktulózt mind a psylliumot. A laktulózt az egyedi adagoknak

megfelelően műanyag fecskendőbe szívtuk fel és úgy adtuk be szájon át az állatoknak. A psyllium beadása szintén szájon át, az általunk készített golyó formában történt. Az állatoknál enyhe hasmenés jelentkezett a laktulóz adagolása során, azonban a mintavétel 12 órával ezt követően történt, amikor a bélsár már szilárd állagú volt.

#### 4.7 Bélsárminta vétele

A bélsárminta vétele manuálisan történt, steril kesztyű használatával az *ampulla recti* áttapintásával (5. ábra). Ügyeltünk rá, hogy az állatoknak semmilyen fájdalmat, sérülést a mintavétel során ne okozzunk. Abban az esetben, ha az állat frissen ürített, akkor azt a mintát használtuk fel. A bélsár elhelyezése műanyag csövekben történt, amelyeket rögtön ezután száraz jégbe állítottuk, s ezt követően a mintákat a legrövidebb időn belül eljuttattuk az illózsírsav meghatározást végző laboratóriumba.



**5. ábra: Bélsárminta vétele:** az ampulla recti óvatos digitális áttapintásával a kísérlet kezdetén (0. nap, kontroll minta), valamint a kísérlet 5., 10. és 15. napján, azaz összesen 4 alkalommal. A mintákat műanyag csövekbe tettük, melyeken jelöltük a mintavétel napját és az állatok sorszámát. Ezután a műanyag csöveket száraz jégbe állítottuk és ilyen formában szállítottuk a laboratóriumba. (saját felvételek)

#### 4.8 A bélsárminták laboratóriumi feldolgozása

##### 4.7.1 Minták előkészítése

A mintavételt követően a műanyag csövekbe helyezett bélsár mintákat szárazjégbe állítottuk és elszállítottuk a NAIK Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet Élettani Osztályára, ahol Dr. Fébel Hedvig vezetésével elvégezték a minták előkészítését és mérését. A bemérés 0,8 g bélsárból történt (négy tizedes pontossággal) majd ehhez adtunk hozzá 8 ml desztillált vizet, 0,135 ml 0,2 M nátriumhidroxid (NaOH) oldatot és 0,7 ml 2-etil-vajsav oldatot (200,4 mg/100 ml koncentrációjú belső standardként). A bemért anyagokat homogenizáltuk, majd centrifugáltuk. Az így nyert felülúszóból 2,1 ml-t kémcsőbe

pipettáztunk, melyhez 0,25 ml metafoszforsav ( $\text{HPO}_3$  oldatot (8 g metafoszforsav + 20 ml víz, 28,57m/m%-os) adtunk, majd vortexeltük, végül 1:1 arányban hígítottuk 4,25m/m%-os metafoszforsav oldattal.

#### 4.8.2 Illó zsírsav koncentrációk meghatározása

Az illó zsírsavakat gázkromatográfiás módszerrel választottuk szét, majd meghatároztuk azok koncentrációját. A gázkromatográfia bomlás nélkül gázzá alakítható vegyületek elválasztására alkalmas. A gázkromatográfia mozgó fázisa a vívőgáz, az álló fázisa: vagy felületen (legtöbbször kolonna=oszlop belső felületen) kötött folyadék, vagy szilárd anyag. A mintát, mely ebben az esetben folyadék volt, gázhalmazállapotban juttattuk a kolonnára, tehát a mintát elpárologtattuk. A vívőgáz a mintát áthajtja az oszlopon, így a minta eljut a detektorhoz, ami kijelzi a szétválasztott komponenseket. Az adott mérési körülmények között a detektor által előállított jelek alkalmasak a szétválasztott összetevők mennyiségi és minőségi meghatározására.

Az illó zsírsav tartalom meghatározásához GCMS-QP2010 SE (Shimadzu Co., Japán) készüléket használtunk. A hőfokprogram:  $75^\circ\text{C}$ - $175^\circ\text{C}$ -ig  $11^\circ\text{C}/\text{perc}$  felfűtési sebesség,  $175^\circ\text{C}$ -on 1 perc volt. Az oszlop: Zebron ZB-WAX 30m x 0,25mm x 0,25 $\mu\text{m}$  (Phenomenex USA). Injektált térfogat: 0,5  $\mu\text{l}$ . Injektálási hőmérséklet:  $235^\circ\text{C}$ . Az injektálás módja: Splitless. Az áramlás kontroll módjához lineáris áramlást állítottunk be 119,9 Kpa nyomáson. A totális áramlás: 77,1 ml/perc, ehhez az oszlopáramlás: 1,81 ml/perc volt a lineáris sebesség pedig 49,4 cm/s. A purge áramlást 3 ml/perc-re állítottuk.

#### **4.9 Statisztikai számítások**

A kapott mérési eredmények kiértékelését az R 2.14.0 statisztikai szoftver segítségével végeztük. Az eredmények összehasonlítására páros t-próbát alkalmaztunk, az egyes kezelési csoportokat a kontrollhoz viszonyítottuk. Szignifikáns különbséget állapítottunk meg, amennyiben  $P < 0,05$ .

## 5. Eredmények

### 5.1 A vér laboratóriumi eredményei

A hematológiai (3. táblázat) és biokémiai (4. táblázat) vérvizsgálat a kísérlet kezdetét megelőzően az állatok egészségi állapotának felmérésére történt. Az értékek a referencia tartománytól nem, vagy nem jelentős mértékben tértek el, így nem kellett egyetlen kijelölt állatot sem kizárni a kísérletből.

Állatok sorszám	WBC	NEU	LYM	MON	EO	BASO	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	PLT
	[10 <sup>9</sup> /L]	[10 <sup>9</sup> /L]	[10 <sup>9</sup> /L]	[10 <sup>9</sup> /L]	[10 <sup>9</sup> /L]	[10 <sup>9</sup> /L]	[10 <sup>12</sup> /L]	[g/L]	[L/L]	[fL]	[pg]	[10 <sup>9</sup> /L]
Ref.	7,2-21,9	3,8-14,2	1,9-6,3	0,4-2,1	<2,45	<0,09	5,53-8,20	127-190	0,37-0,53	60,1-71,6	21,7-24,4	156-582
1	17,37	8,34	4,74	1,63	2,61	0,05	7,06	154	0,419	59,3	21,8	396
2	10,85	6,11	3,63	0,77	0,32	0,02	7,40	175	0,487	65,8	23,6	259
3	11,45	5,60	4,45	0,54	0,85	0,01	7,94	191	0,518	65,2	24,1	243
4	11,00	5,86	3,56	0,82	0,74	0,02	7,74	173	0,468	60,5	22,4	298
5	12,29	7,40	3,12	0,81	0,93	0,03	7,37	174	0,475	64,5	23,6	298
6	11,43	6,10	4,30	0,58	0,42	0,03	7,97	189	0,503	63,1	23,7	324
7	10,46	5,92	2,96	0,89	0,68	0,01	6,72	156	0,437	65,0	23,2	411
8	10,01	4,99	4,01	0,74	0,25	0,02	7,68	187	0,493	64,2	24,3	283
9	11,27	7,13	3,01	0,77	0,33	0,03	7,08	168	0,456	64,4	23,7	345
10	14,93	9,67	4,05	0,60	0,59	0,02	7,17	170	0,462	64,4	23,7	397
11	9,21	5,39	2,55	0,52	0,73	0,02	7,79	189	0,506	65,0	24,3	195
12	10,86	7,79	2,07	0,55	0,44	0,01	6,60	158	0,433	65,6	23,9	360
13	19,46	12,63	4,06	1,40	1,33	0,04	6,24	148	0,403	64,6	23,7	469
14	12,78	6,61	3,25	0,96	1,93	0,03	7,05	166	0,441	62,6	23,5	304
15	12,95	8,84	2,70	0,75	0,64	0,02	6,55	168	0,462	70,5	25,6	377
16	12,55	7,73	2,47	0,55	1,77	0,03	7,77	181	0,477	61,4	23,3	336
17	18,40	14,15	2,87	0,84	0,53	0,01	7,13	174	0,464	65,1	24,4	445
18	15,36	11,28	2,81	1,06	0,19	0,02	7,82	181	0,476	60,9	23,1	432
19	11,72	7,70	2,75	0,81	0,40	0,06	7,01	166	0,445	63,5	23,7	437
20	10,35	6,05	2,52	0,79	0,94	0,05	7,06	168	0,472	66,9	23,8	554
21	12,47	7,46	3,85	0,67	0,48	0,01	7,05	157	0,432	61,3	22,3	491
22	11,41	6,31	4,24	0,65	0,18	0,03	8,60	193	0,509	59,2	22,4	407
23	11,62	6,69	4,01	0,59	0,30	0,03	7,19	170	0,458	63,7	23,6	302
24	15,42	7,28	4,76	0,86	2,49	0,03	7,00	164	0,443	63,3	23,4	438
25	14,70	8,02	3,29	0,54	2,83	0,02	7,62	175	0,477	62,6	23,0	325
26	9,88	5,90	2,42	0,57	0,98	0,01	7,11	168	0,461	64,8	23,6	314
27	9,33	6,44	2,07	0,40	0,41	0,01	8,41	197	0,537	63,9	23,4	432
28	9,51	5,76	1,82	0,42	1,50	0,01	8,78	210	0,574	65,4	23,9	260
29	8,01	5,36	1,93	0,30	0,41	0,01	6,64	153	0,415	62,5	23,0	458
30	11,39	6,83	3,13	0,64	0,77	0,02	7,11	163	0,437	61,5	22,9	441

**3. táblázat: A hematológiai vizsgálat eredményei.** A legfelső számsorban az egészséges állatokra jellemző referencia értékek láthatók. A táblázatban használt rövidítések:

WBC= fehérvérsejt, NEU= neutrophil granulocyt, LYM= lymphocyt, MON= monocyt, EO= eosinophil granulocyt, BASO= basophil granulocyt, RBC= vörösvérsejt, HGB= hemoglobin, HCT= hematokrit, MCV= vörösvérsejtek átlagos térfogata, MCH= vörösvérsejtek átlagos hemoglobin tartalma, PLT= vérlemezke

Állatok sorszám	ALT	LIP	GGT	TG	CREA	ALB	TPROT
	[NE/L]	[NE/L]	[NE/L]	[mmol/L]	[ $\mu$ mol/L]	[g/L]	[g/L]
<b>Ref.</b>	23-147	<150	2,3-9,1	0,18-0,89	33,5-76,3	27-35	50-65
1	23,4	70	4,0	0,48	70,0	27,6	57,8
2	33,9	154	5,3	0,84	48,0	30,6	60,7
3	51,6	26	4,0	0,77	81,5	32,6	61,5
4	43,4	41	4,4	0,68	61,1	32,9	59,6
5	64,5	42	3,0	0,70	53,5	33,0	60,2
6	42,1	65	4,6	0,75	64,5	31,1	58,9
7	39,0	30	3,6	0,83	59,4	28,6	66,7
8	45,1	71	6,1	0,78	65,8	33,7	58,6
9	35,3	121	4,6	0,61	48,2	30,4	57,4
10	33,0	76	4,5	0,42	66,4	31,2	57,5
11	132,6	37	3,5	0,43	65,7	33,3	61,6
12	54,6	54	4,6	0,64	57,7	29,9	57,2
13	164,5	46	3,3	0,50	53,8	30,7	56,2
14	48,9	93	4,8	0,31	51,7	31,1	58,3
15	51,0	26	3,4	0,41	68,2	32,6	60,9
16	99,0	58	3,8	0,49	61,1	32,5	63,1
17	63,8	32	2,4	0,41	40,2	33,3	62,0
18	52,0	36	2,6	0,47	57,1	33,1	60,5
19	31,2	46	5,1	0,44	59,9	32,3	56,3
20	61,7	69	2,5	0,50	49,0	30,8	59,1
21	25,6	111	4,7	0,76	46,8	32,7	60,0
22	38,4	141	4,0	0,63	43,9	33,9	66,0
23	36,1	93	3,3	0,55	39,8	33,8	60,0
24	62,6	97	4,3	0,54	47,4	31,6	57,8
25	34,9	52	3,8	0,56	53,9	32,4	56,2
26	44,5	82	5,2	0,62	48,8	29,7	61,7
27	80,6	52	5,7	0,83	56,7	34,0	66,0
28	84,0	127	3,2	0,48	41,9	31,8	62,4
29	56,0	59	2,9	0,58	57,2	32,0	61,3
30	70,5	95	2,9	0,77	50,4	31,7	63,4

**4. táblázat: A biokémiai vérvizsgálat eredményei.** A legfelső számsorban az egészséges állatokra jellemző referencia értékek láthatók. A táblázatban használt rövidítések: ALT= alanin-aminotranszferáz, LIP= lipáz, GGT= gamma-glutamil-transzferáz, TG= triglicerid, CREA= kreatinin, ALB= albumin, TPROT= totál protein

## 5.2 Az illó zsírsavak koncentrációja

Az illó zsírsavak szétválasztását, majd koncentrációjuk meghatározását gázkromatográfiás módszerrel (GC-MS) végeztük. A gázkromatográfiás szétválasztás után a kapott koncentrációkat a műszer mmol/kg mértékegységben határozta meg. Ezek segítségével megállapítottuk, hogy az egyes kezelési napokon, milyen mértékű volt a koncentráció-változás. A módszer lehetővé tette, hogy kiszámoljuk az egyes illó zsírsavak mennyiségének egymáshoz viszonyított arányát is, mely értékeket mol%-ban ismertetjük.

Munkánk során összehasonlítottuk az összes illó zsírsav tartalom (összes VFA), az acetát, propionát és butirát koncentráció változását, a kísérlet minden mintavételi napján, mind a laktulóz, mind az útifű maghéj (psyllium) esetén. Vizsgálatunk során a mért koncentrációkat az 5., 10. és 15. napon a kísérlet 0. napján vett minták (kontroll csoport) koncentrációjával vetettük össze.

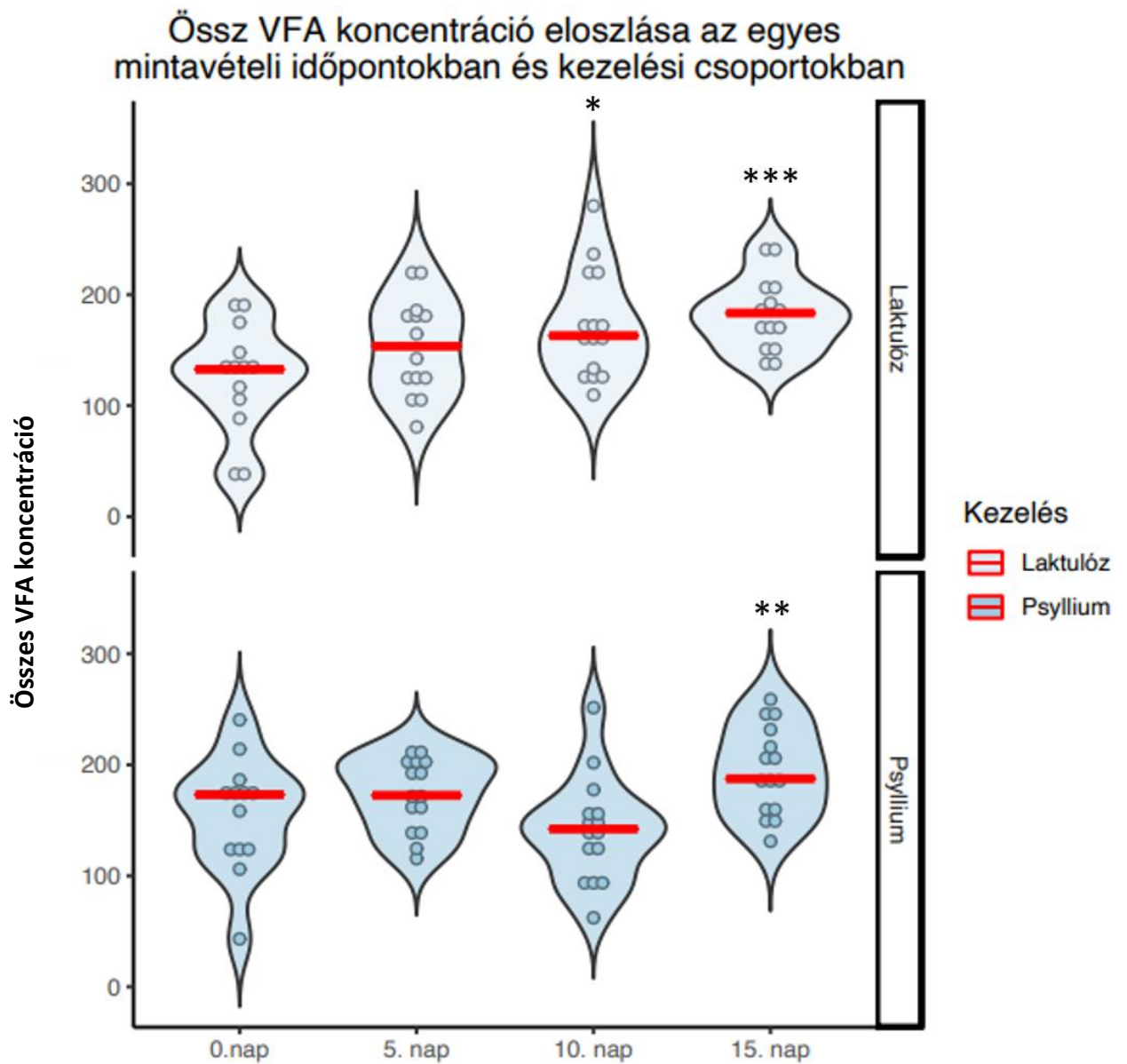
A továbbiakban bemutatásra kerülő violin plot ábrákon a mintavételi időpontoknak megfelelően az egyes illó zsírsavak koncentráció eloszlását ábrázoltuk (x-tengely a mintavétel időpontja, y-tengely a koncentráció). A mintapontok azokon a szakaszokon helyezkednek el, ahol az adott mért koncentráció található volt. Ezekből a pontábrákból készítettünk egy olyan változatot, ahol a valószínűségi sűrűségfüggvényt is ábrázoltuk, ami gyakorlatilag az adott változó eloszlása. Az így kapott violin plotok könnyebben értelmezhetővé teszik vizuálisan a mintapontokat. Az ábrákon a piros vonal a mediánt jelöli.

Az egyes illó zsírsavak egymáshoz viszonyított arányát kördiagram formában mutatjuk be.

### 5.2.1 Az összes VFA koncentráció

Eredményeink szerint a laktulóz adagolása a kísérlet 5. napján a bélsár összes VFA mennyiségében nem okozott szignifikáns változást ( $P=0,096$ ). Ez a megállapítás a psyllium adása esetén is igaz volt, az összes VFA koncentráció itt sem növekedett szignifikáns mennyiségben ( $P=0,213$ ). A kísérlet 10. napján a laktulóz adagolása szignifikánsan megemelte az összes VFA mennyiségét ( $P=0,035$ ). A psyllium adása esetén a kísérlet 10. napján nem volt szignifikáns emelkedés az összes VFA esetében ( $P=0,636$ ). A kísérlet 15. napján a laktulóz ( $P=0,0006$ ) és a psyllium ( $P=0,0034$ ) adása is szignifikáns mértékben megnövelte a bélsár össz. VFA koncentrációját (**6. ábra**).

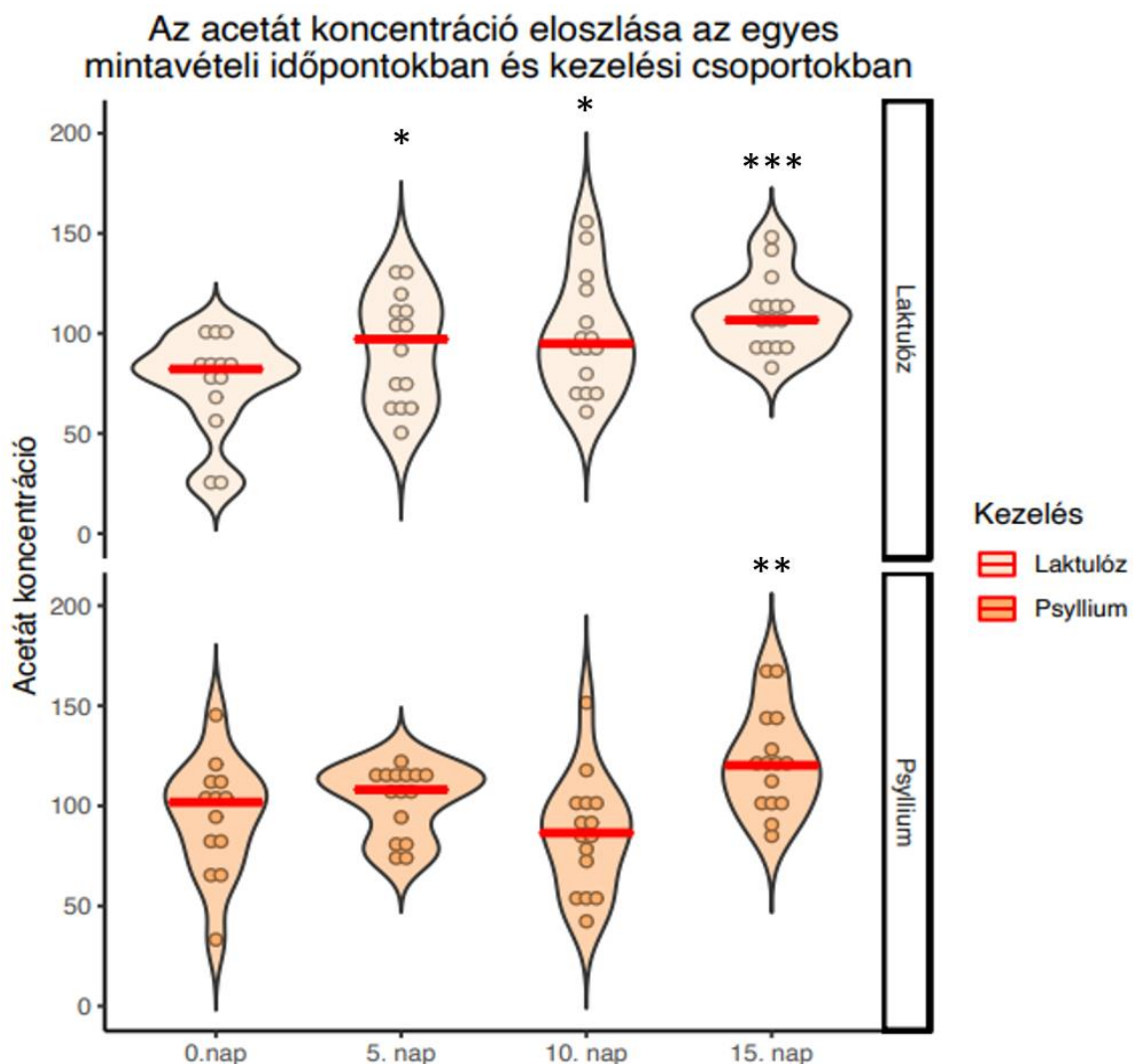




**6. ábra: A kutyák bélsár-mintáinak összes VFA koncentrációja (mmol/kg):** a kísérlet 0. (kontroll), 5., 10. és 15. napján ún. violin plot segítségével ábrázolva (a piros vonal a mediánt jelöli). Szignifikáns különbségek: \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ , minden esetben a 0. naphoz (kontroll időpont) viszonyítva.

### 5.2.2 Az acetát koncentráció

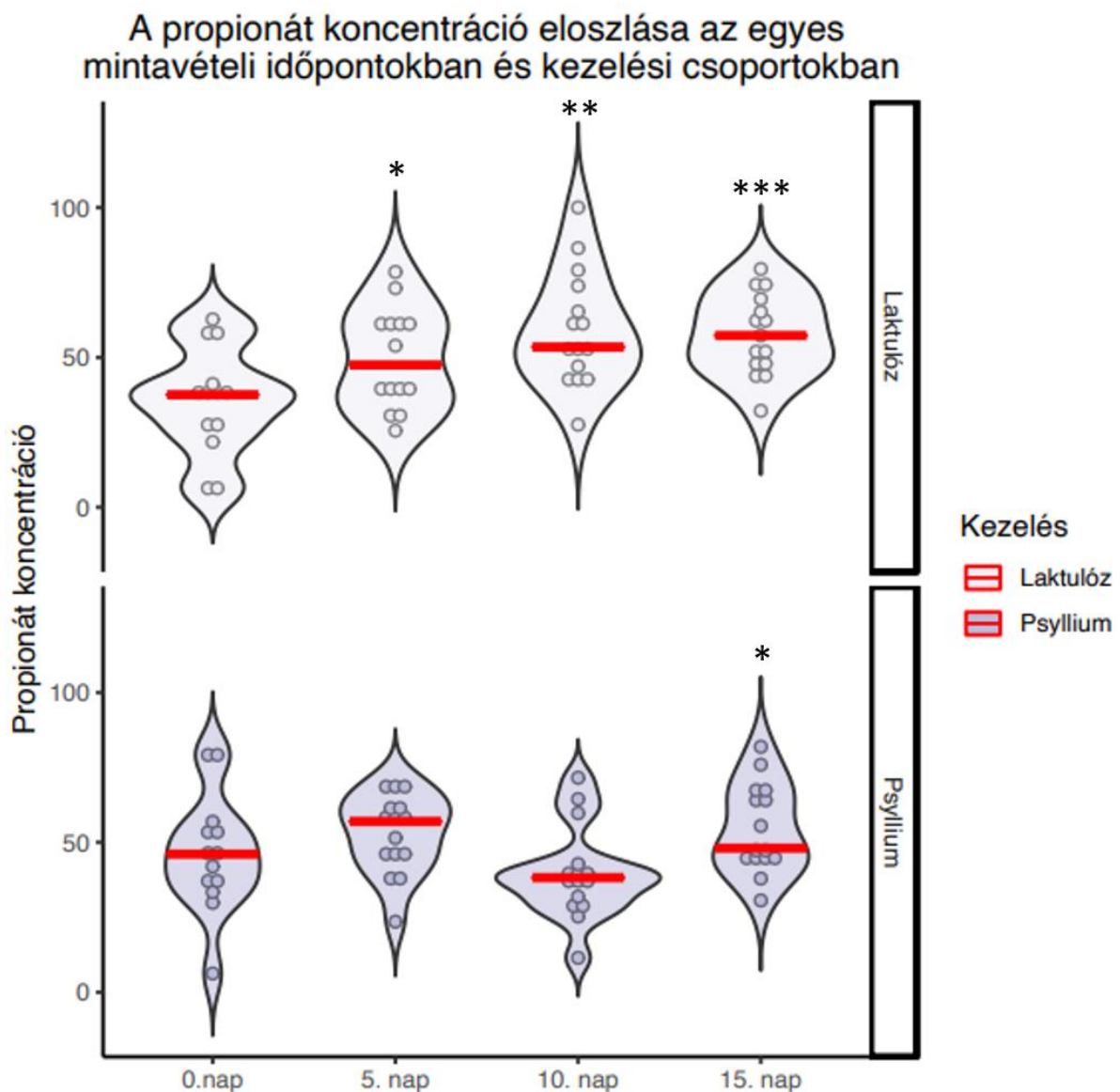
Az acetát mennyisége a laktulóz adagolása során a kísérlet 5. napon szignifikáns mértékben megnőtt ( $P=0,044$ ). A psyllium adása esetén azonban nem tapasztaltunk szignifikáns emelkedést az acetát koncentrációjában ( $P=0,257$ ). A kísérlet 10. napján a laktulóz adagolása szignifikánsan megnövelte az acetát mennyiségét ( $P=0,056$ ). A psyllium adása a 10. napon sem eredményezett szignifikáns változást ( $P=0,706$ ). Kísérletünk 15. napján az acetát mennyisége a 0. napi mintákhoz képest szignifikáns mértékben megemelkedett a laktulóz ( $P=0,0005$ ) és a psyllium ( $P=0,0019$ ) adagolása során egyaránt (7. ábra).



**7. ábra: A kutyák bélsár-mintáinak acetátkoncentrációja (mmol/kg):** a kísérlet 0. (kontroll), 5., 10. és 15. napján ún. violin plot segítségével ábrázolva (a piros vonal a mediánt jelöli). Szignifikáns különbségek: \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ , minden esetben a 0. naphoz (kontroll időpont) viszonyítva.

### 5.2.3 A propionát koncentráció

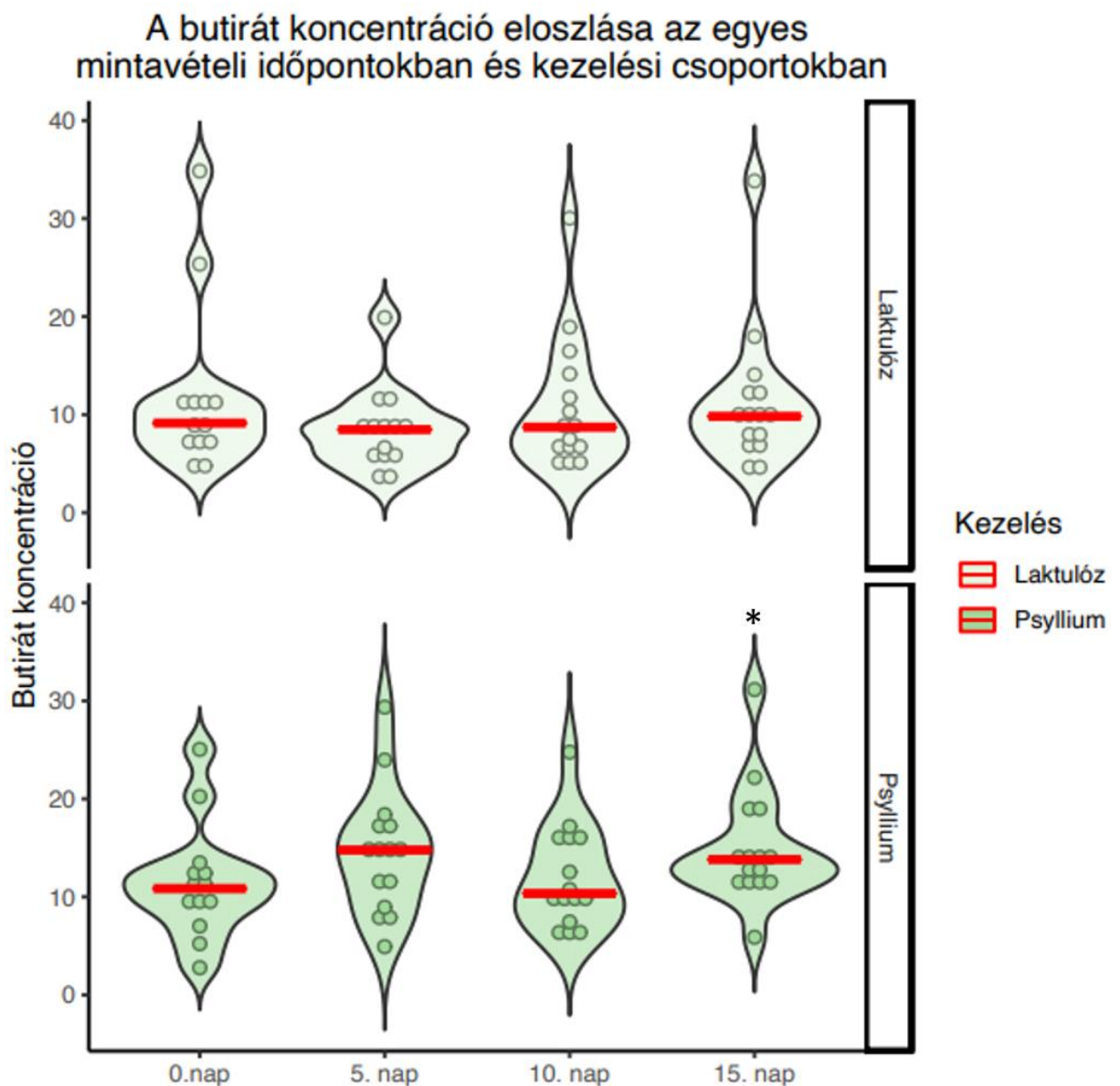
A propionát mennyisége a laktulóz adagolása során az 5. napon szignifikánsan magasabb volt ( $P=0,041$ ). A psyllium azonban ebben az esetben sem okozott szignifikáns változást a propionát koncentrációjában ( $P=0,338$ ). A kísérlet 10. napján a laktulóz adagolása során a propionát koncentrációja szignifikánsan megnőtt ( $P=0,008$ ). A psyllium adása a kísérlet 10. napján nem okozott szignifikáns változást a propionát koncentrációjában ( $P=0,366$ ). A 15. napon a laktulóz ( $P=0,0006$ ) és psyllium ( $P=0,0553$ ) adagolása is szignifikáns növekedést eredményezett a propionát koncentrációjában (8. ábra).



**8. ábra: A kutyák bélsár-mintáinak propionátkoncentrációja (mmol/kg): a kísérlet 0. (kontroll), 5., 10. és 15. napján ún. violin plot segítségével ábrázolva (a piros vonal a mediánt jelöli). Szignifikáns különbségek: \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ , minden esetben a 0. naphoz (kontroll időpont) viszonyítva.**

### 5.2.4 A butirát koncentráció

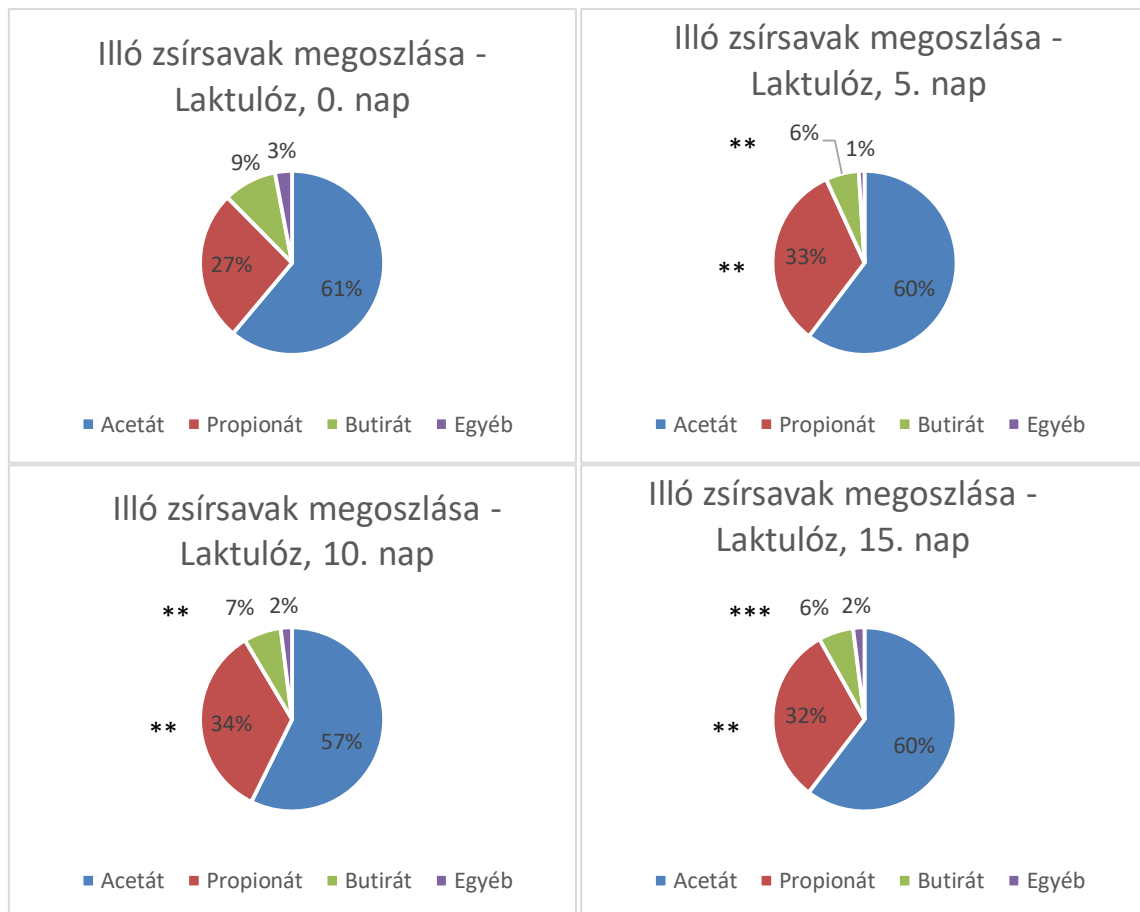
A butirát koncentrációja a laktulóz adagolása során az 5. napon csökkenő tendenciát mutatott ( $P=0,052$ ). A psyllium adása esetén az 5. napon a butirát koncentrációja nem mutatott szignifikáns változást ( $P=0,188$ ). A kísérlet 10. napján se a laktulóz ( $P=0,354$ ), se a psyllium ( $P=0,545$ ) adása nem eredményezett szignifikáns változást a butirát mennyiségében. A kísérlet 15. napján a laktulóz nem emelte szignifikáns mértékben a butirát koncentrációját ( $P=0,464$ ), azonban a psyllium adagolása szignifikáns emelkedést eredményezett ( $P=0,010$ ) (9. ábra).



**9. ábra: A kutyák bélsár-mintáinak butirátkoncentrációja (mmol/kg):** a kísérlet 0. (kontroll), 5., 10. és 15. napján ún. violin plot segítségével ábrázolva (a piros vonal a mediánt jelöli). Szignifikáns különbségek: \* $P < 0,05$  minden esetben a 0. naphoz (kontroll időpont) viszonyítva.

### 5.2.5 Az illó zsírsavak megoszlása

Az egyes illó zsírsavak mennyiségének egymáshoz viszonyított arányát mol%-os értékben fejeztük ki. Az eredményekből megállapítható, hogy az egyes koncentrációk milyen arányban nőttek vagy csökkentek egymáshoz képest. Ezeket egyszerű kördiagram segítségével ábrázoltuk. A psyllium adása során nem találtunk szignifikáns változást a mol%-os eredményekben, így azok közlésétől eltekintettünk.



10. ábra: Az egyes illó zsírsavak mol%-os megoszlása: a 0., 5., 10 és 15. napon \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001 a 0. naphoz (kontroll időpont) viszonyítva.

Az **5. napon** a laktulóz adagolása során csak a propionát mol%-os eredményei (P=0,008) esetében volt szignifikáns növekedés. A butirát mol%-os értéke (P=0,001), a laktulóz adása során szignifikáns mértékben csökkent. A **10. napon** szintén csak a propionát mol%-os eredményeinél (P=0,002) volt szignifikáns emelkedés. A butirát mol%-os eredménye (P=0,016) a 0. naphoz képest szignifikáns mértékben csökkent. A **15. napon** csak a propionát mol%-os eredményeinél (P=0,009) volt szignifikáns emelkedés. A butirát mol%-os értéke (P=0,0001), a laktulóz adása során is szignifikáns mértékben csökkent.

## 6. Megbeszélés

Napjainkban a prebiotikus anyagok kutyákon végzett számos kutatás tárgyát képezik, mivel javíthatják a kutya bél mikrobiotájának összetételét, csökkentve a kórokozók és toxinok jelenlétét. Mindezekon felül a prebiotikumok fokozott immunfunkciót eredményezhetnek, valamint biztonságosan alkalmazhatóak olyan betegségek másodlagos kezelésére, mint például egyes bakteriális bélfertőzések, székrekedés, továbbá egyes máj- és vesebetegségek ((Pinna and Biagi, 2014). Mindezek alapján érthető, hogy egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik a rostok és prebiotikumok állati eledekben való felhasználására. A közelmúltban számos tanulmány kimutatta, hogy a rövid szénláncú zsírsavak, melyek a szénhidrátok mikrobiális fermentációjából származnak, olyan energiaforrást jelentenek, amely a gazdaszervezet számára előnyös. A bél mikrobiotájának prebiotikus anyagok általi pozitív módosításával feltételezhetően ezeknek a rövid szénláncú zsírsavaknak a koncentrációja is növelhető. Ahhoz, hogy vizsgálni tudjuk a VFA élettani hatásait, először olyan szubsztrátok alkalmazására van szükség, melyek bizonyítottan megnövelik bélbeli koncentrációjukat.

Munkánk során két, prebiotikumként is használt szubsztrát, a laktulóz és útifű maghéj adagolásával vizsgáltuk a VFA bélbeli koncentráció változását kutya bélsár mintákból. Az összes és az egyes rövid szénláncú zsírsavak mennyiségi változásait hasonlítottuk össze a kísérlet 5., 10. és 15. napján.

Eredményeink szerint az összes VFA koncentráció növekedése a laktulóz esetén már a 10. napon megfigyelhető volt. Míg ugyanez a psyllium esetében csak a kísérlet 15. napján volt megállapítható, vagyis a 10. napon csak a laktulóz esetében mutattunk ki szignifikáns mennyiségi emelkedést az összes illó zsírsav koncentrációjában. Ez a psyllium esetén is elmondható volt a kísérlet 15. napján, azonban a laktulóz még jelentősebb mértékben növelte meg a VFA-t a kontrollhoz képest. Az összes illó zsírsav tartalom (VFA) növekedése mindkét szubsztrát esetén kimutatható volt, így elmondható, hogy a laktulóz és psyllium is alkalmas bélbeli koncentrációjuk fokozására.

Azonban az egyes illó zsírsavak más metabolikus folyamatokban vehetnek részt és ezáltal eltérő biológiai aktivitással rendelkeznek. Kutatásunk során ezért külön is megvizsgáltuk az illó zsírsavak három legfontosabb képviselőjének, az acetátnak, a propionátnak és butirátnak a mennyiségbeli változását az egyes mintavételi napokon.

Az acetátot főleg a perifériás szervek és szövetek metabolizálják, így az viszonylag nagy mennyiségben van jelen a perifériás keringésben (Cummings and Englyst, 1987). A keringéssel egyes szervekhez eljutva a citrát körben acetyl-CoA-ként energiát adó szubsztrát vagy a gazdaszervezet anyagcseréjétől és a szervtől függően részt vehet a zsírok szintézisében

is. Mivel az acetát a vastagbélben előforduló illó zsírsavak közül a leggyakoribb és a bélsárban kimutatott összes illó zsírsav tartalom több mint felét teszi ki (Louis et al., 2007), ezért mennyiségbeli változása jelző értékű volt. Az acetát koncentrációját a laktulóz már a kísérlet 5. napján szignifikáns mértékben megnövelte, amit a 10. és 15. napon is megállapítottunk, ezzel szemben a psyllium adagolása csak a kísérlet 15. napján okozott szignifikáns emelkedést. Elmondható tehát, hogy az acetát koncentrációjának emelésére a laktulóz alkalmasabb volt, abban a tekintetben is, hogy már öt nap után szignifikáns növekedést eredményezett, valamint a kísérlet teljes időtartama alatt adásával nőtt az acetát mennyisége. A psyllium csak 15 nap elteltével eredményezett szignifikáns változást, vagyis a kísérlet teljes időtartamát nézve a psyllium csak rövidebb ideig eredményezett acetátkoncentráció emelkedést.

A propionsav erős immunmoduláló és gyulladáscsökkentő (Smith et al., 2013), gyakran alkalmazott szer a baromfitartásban szelektív antimikrobiális hatása miatt (González-Fandos et al., 2015; Ormsby et al., 2020). A májsejtek metabolizálják, így számukra energia forrásként szolgáló szubsztrát. A kísérlet 5. napján a laktulóz adása szignifikáns mértékben megnövelte a propionát koncentrációját. A kísérlet további mintavételi napjain, tehát a 10. és 15. napon is növekvő tendenciát mutatott a propionát koncentrációja. A laktulóz tehát minden esetben szignifikáns mennyiségbeli növekedést eredményezett a propionát koncentrációjában, a psyllium adása során csak a kísérlet 15. napján állapíthattuk meg a propionát szint szignifikáns emelkedését. Eredményeink szerint tehát a laktulóz és psyllium is alkalmas volt a propionát koncentrációjának megemelésére, azonban a laktulóz esetében rövidebb idő elegendő volt ahhoz, hogy a propionát termelést fokozni tudja. Azt, hogy a laktulóz csak energiát adó szubsztrátként fejt ki hatását, gyorsítva az acetát- és propionát-termelő baktériumok szaporodását és/vagy metabolizmusát, vagy esetlegesen más reguláló szereppel is bírhat e a molekula vagy annak metabolitja, azt csak további kísérletek, vizsgálatok dönthetik el.

A butirát egy részét a májsejtek metabolizálják, azonban más, az anyagcsere során nem lebontott része epigenetikus hatást fejthet ki. Képes ugyanis megváltoztatni a kromatinállomány szerkezetét, azáltal, hogy megváltoztatja a hisztonfehérjék acetilációjának mértékét és módosítja a DNS metiláltságát, vagyis egyes gének expresszióját (Guilloteau et al., 2010). Ebből adódóan az egyes illó zsírsavak közül a butirát rendelkezik a legnagyobb biológiai aktivitással. Kutatásunk során az 5. napon a laktulóz tendenciaszerűen csökkentette a butirát koncentrációját, de a psyllium esetében nem tapasztaltunk ugyanekkor szignifikáns

változást. A kísérlet 10. napján se a laktulóz, se a psyllium nem növelte szignifikáns mértékben a butirát koncentrációját. Az utolsó mintavételi napon a psyllium szignifikáns koncentrációnövekedést eredményezett a butirát mennyiségében, azonban a laktulóz a 15. napon se okozott szignifikáns változást. Megállapítható tehát, hogy kísérletünk szerint a butirát koncentrációjának megemelésére csak a psyllium volt alkalmas., mely nem elhanyagolható tényező, abból a szempontból, hogy epigenetikus hatása, biológiai aktivitása miatt a butirát termelődése bír a legnagyobb jelentőséggel.

Vizsgálataink során összehasonlítottuk az egyes mintavételi napok eredményeit az illó zsírsavak mol%-os értékeinek tekintetében is. Így meg tudtuk állapítani, hogy az egyes illó zsírsav koncentrációk milyen arányban nőttek vagy csökkentek egymáshoz képest, esetleg volt-e olyan szubsztrát, ami egyáltalán nem okozott szignifikáns eltérést.

Eredményeink szerint csak a laktulóz adása során történt szignifikáns változás az egyes illó zsírsavak egymáshoz viszonyított arányában. A kísérlet 5. napján a laktulóz szignifikánsan megemelte a propionát mennyiségét a többi illó zsírsavhoz képest, azonban a butirát koncentrációját szignifikáns mértékben csökkentette. A bélsár mintában legnagyobb mennyiségben megtalálható acetát koncentrációja az 5. napon csökkent kezdeti koncentrációjához képest, azonban ez a változás nem volt szignifikáns mértékű.

A kísérlet 10. napján a laktulóz adása szignifikánsan tovább növelte a propionát arányát a többi illó zsírsavhoz képest. A 10. napon a bélsár mintában található illó zsírsav tartalom több mint felét, még mindig az acetát tette ki. Azonban kezdeti koncentrációjához képest már csökkent az aránya. Ezek a mennyiségbeli változások azonban nem voltak szignifikáns mértékűek. A butirát 5. napi mol% értékéhez viszonyítva a 10. napon emelkedett, azonban kezdeti koncentrációjához képest még így is alacsonyabb arányban volt jelen a bélsár mintában. Ez a mol% csökkenés 0. napi koncentrációjához képest szignifikáns mértékű volt.

Kutatásunk utolsó napján a laktulóz szignifikáns mértékben tovább növelte a propionát koncentrációját a többi illó zsírsav koncentrációjához képest. Ez a változás szignifikáns mértékű volt. 0. napi mennyiségéhez viszonyítva nőtt, azonban 5. és 10. napi koncentrációjához képest csökkent a mennyisége. Ebből az eredményből megállapítható, hogy a laktulóz a kísérlet 10. napján növelte meg a legnagyobb mértékben a propionát mennyiségét a többi illó zsírsav mennyiségéhez képest. A 10. nap után ez az emelkedés még mindig szignifikáns volt, azonban már alacsonyabb mértékű. A 15. napon még mindig az acetát fordult elő a legnagyobb mennyiségben az illó zsírsavak közül, azonban kezdeti mol%-hoz képest koncentrációjához képest ezek a változások viszont nem voltak szignifikáns



mértékűek. A butirát koncentrációjának aránya a 15. napon csökkent a bélsár mintában a 0 napos kontrollhoz képest. Ez a csökkenés szignifikáns mértékű volt. A 10. nap eredményeihez képest is tovább csökkent mennyiségének aránya. Mindezek alapján úgy tűnik, hogy mivel az acetát és az egyéb zsírsavak aránya nem változott jelentős mértékben, a propionát mennyiségének növekedése, és ez által arányának növekedése, a butirát koncentráció csökkenése nélkül, mégis százalékos arányának csökkenését okozta.

Mivel a psyllium esetében a propionát koncentrációja csak a 15 napon emelkedett, de ugyanakkor a butirát koncentrációja is növekedett, ez az arányeltlódás nem következett be. A psyllium adása során nem állapítottunk meg szignifikáns változásokat az egyes illó zsírsavak mennyiségének egymáshoz viszonyított emelkedésében vagy csökkenésében.

Összefoglalva tehát a laktulóz már az 5. napon növelte a propionát arányát az egyes illó zsírsavak arányához viszonyítva és a legnagyobb mértékű növekedést a 10. napon eredményezte. Az acetát a kísérlet teljes ideje alatt, változatlanul a legnagyobb mennyiségben fordult elő az egyes illó zsírsavak között, azonban se a laktulóz se a psyllium nem változtatta meg szignifikáns mértékben arányát. A laktulóz adása a kísérlet teljes ideje alatt csökkentette a butirát mennyiségének arányát a többi illó zsírsavhoz képest.

Ezeket az eredményeket összevetve az illó zsírsavak koncentrációváltozásaival az egyes mintavételi napokat figyelembe véve, koncentrációjukat a 0. naphoz viszonyítva, azt a megállapítást tehetjük, hogy a laktulóz és psyllium is növeli az összes illó zsírsav tartalmát, a laktulóz az acetát és propionát koncentrációt, míg a psyllium a butirát koncentrációt emeli, emellett azonban az illó zsírsavak egymáshoz viszonyított arányát eltérően módosítják.

Kutatásunk eredményei szerint a laktulózzal megállapítható, hogy már az adását követő 10. napon szignifikáns mértékben megemeli az összes illó zsírsav tartalmát (VFA). Ennek feltehetően az lehet az oka, hogy a laktulóz mint diszacharid bontásához egyetlen enzim indukciója szükséges, szemben a psyllium összetett oligo- és poliszacharid összetevőivel, mely esetben a bontáshoz több enzim összehangolt működésének indukciója történik. Ennek megfelelően a mikrobiális adaptációhoz is feltehetően több időre, összehangoltabb stimulációra van szükség a psyllium fermentációja során, ami megnyilvánulhat az általunk észlelt időbeli eltolódásban, melynek következtében ebben a csoportban csak a 15. napos mintákban mértünk emelkedett VFA koncentrációkat. Az egyes illó zsírsavak megoszlását tekintve kifejezetten a propionát koncentrációjának növelésére alkalmas. Ezt, a szignifikáns mértékű emelkedést a propionát mennyiségében a 10. napon éri el maximális mértékben. Azonban gyulladásgátló hatásának pontos mechanizmusa még nem

tisztázott, napjainkban is fontos kutatási téma. Emellett az acetátnak és a propionátnak a glükogenezis szabályozásában is szerepe lehet, valamint a propionát a glükoneogenezis kiinduló vegyülete sok esetben, így ezeknek a hatásoknak a tisztázása az egyes prebiotikumok adását követően, még további vizsgálatok elvégzését teszi szükségessé.

Minamoto cikke (Minamoto et al., 2019) szerint is kutyáknál a krónikus enteritisz az összes illó zsírsav, az acetát és a propionát koncentrációjának medián értékét csökkentette szignifikánsan az egészséges kontroll állatokhoz képest. Mivel mi is hasonló eredményt kaptunk a laktulóz prebiotikum adását követően az összes illó zsírsav, az acetát és a propionát koncentrációjának medián értéke növekedését mérve a nem kezelt kontroll állatokhoz képest, ez arra utalhat, hogy ezek a paraméterek változnak jellemzően a kutyák baktériumflórájának adaptációja során, akár negatív, akár pozitív irányba változik is az állat egészsége.

A psylliumról kutatásunk eredményei alapján azt a megállapítást tudjuk tenni, hogy adását követően csak a 15. napon növeli meg az összes illó zsírsav tartalom (VFA) mennyiségét szignifikáns mértékben. Tehát hatásának eléréséhez hosszabb alkalmazási időre van szükség, ellentétben a laktulózzal. A laktulózhhoz viszonyítva kevésbé szignifikáns mértékű változásokat eredményezett az egyes illó zsírsavak koncentrációjában és arányukat se módosította szignifikáns mértékben. Azonban a laktulózzal ellentétben csak a psyllium volt alkalmas a biológiailag legaktívabb butirát koncentrációjának megemelésére a kísérlet kezdetétől eltelt 15. napon. Ezt az eredményt figyelembe véve, elmondható, hogy további vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy eldöntsük, mely élettani vagy kóros esetekben előnyösebb hatású a laktulóz adagolása, s mely esetben a psylliumé. Ez felhívja arra is a figyelmet, hogy nem csak a probiotikumok, de a prebiotikumok esetében is jelentős különbségek lehetnek a kialakuló hatást illetően, s ezért egyre inkább törekednünk kell a tudatos, célzott hatású prebiotikummal történő táplálék- vagy takarmánykiegészítők alkalmazására.

A prebiotikumok a humán gyógyászatban évek óta széles körben alkalmazott készítmények és a közelmúltban egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik az állatgyógyászatban is ezek használatára. Jelenleg kevés bizonyíték áll rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy a prebiotikumok hasznosak lehetnek-e olyan kutya betegségek kiegészítő kezelésére, mint például a béltraktus fertőzései, székrekedés, valamint bizonyos kóroktanú máj- és veseelégtelenség. További kutatásokat kell végezni a prebiotikumok kutya betegségben játszott lehetséges szerepének feltárására valamint a bél mikrobiotájában a prebiotikumok által kiváltott változások és a jelentős élettani eredmények összekapcsolására.

## 7. Összefoglalás

A kutyák bélflórájának összetételét számos faktor befolyásolhatja. Ezek közül kiemelkedő jelentőséggel bírnak bizonyos takarmányozási tényezők, így a nem-keményítő típusú poliszacharidok, valamint egyes oligo- és diszacharidok, melyek emésztésére a kutya szervezetében termelődő enzimek nem képesek, így ezek csak a bélbeli anaerob mikrobiális fermentáció során a bakteriális enzimek hatására metabolizálódnak. Ennek eredményeként különféle rövid szénláncú zsírsavak (más néven illó zsírsavak) keletkeznek. Az illó zsírsavak három fő képviselője az ecetsav, a propionsav és az n-vajsav, melyek központi szerepet játszanak a bélflóra egyensúlyának fenntartásában, valamint különböző metabolikus folyamatok révén a gazdaszervezet egészségét is befolyásolhatják.

Munkánk során azt tanulmányoztuk, hogy a kisállatpraxisban elterjedten alkalmazott laktulóz és útifűmaghéj (*Psyllium husk*, továbbiakban psyllium), milyen mértékben képesek befolyásolni a kutya bélmikrobiom illó zsírsav-termelését. Vizsgálatainkban 30, standard diétán tartott, egészséges beagle fajtájú kutyát vizsgáltunk 15 napon keresztül, mely idő alatt 15 állat napi egy alkalommal, szájon át adagolt laktulóz (Laevolac 670 mg/ml szirup, 1 ml/ttkg) kezelésben részesült, míg a másik 15 állatnak útifűmaghéj-őrleményt (0,2 g/ttkg) adtunk. A kísérlet kezdetén (0. nap, kontroll mintavétel), valamint a kísérlet 5., 10. és 15. napján, összesen négy alkalommal bélsármintát vettünk az állatok végbeléből, majd a mintákban GC-MS módszer segítségével meghatároztuk az egyes illó zsírsavak koncentrációját.

Eredményeink szerint a laktulóz adagolás a kísérlet 10. és 15. napján a bélsár összes illó zsírsav-mennyiségének szignifikáns emelkedését okozta a kontroll értékhez képest, a psyllium kiegészítés esetén azonban az összes illó zsírsav mennyisége csak a kísérlet 15. napján emelkedett szignifikánsan. Az egyes illó zsírsavak koncentrációját vizsgálva, a laktulóz adagolásakor az acetát és a propionát mennyisége a kísérlet 5., 10. és 15. napján is szignifikánsan növekedett, a butirát koncentrációja viszont az 5. napon szignifikánsan csökkent, a többi időpontban pedig nem változott. A psyllium adása során az acetát és propionát mennyiségének szignifikáns emelkedése csak a kísérlet 15. napján volt megfigyelhető, s ugyanekkor a termelődött butirát mennyisége is szignifikánsan megnőtt.

Mindezek alapján megállapítható, hogy a laktulóz és psyllium egyaránt alkalmas a kutyák bélbeli illó zsírsav-termelésének fokozására. Az acetát és propionát mennyisége mindkét kiegészítés esetében növekedett, azonban a legnagyobb biológiai aktivitással bíró butirát termelésének fokozódása csak a psyllium adását követően volt megfigyelhető, mely

alapján kutyákban a psyllium adagolása, a laktulózzal összehasonlítva még előnyösebb hatásúnak tekinthető.

## 8. Summary

The composition of the intestinal microbiome of dogs can be influenced by a number of factors. Of these, certain feeding factors are very important, such as non-starch polysaccharides, certain oligo- and disaccharides, which cannot be digested by enzymes produced by the dog, they are only decomposed by bacterial enzymes during intestinal anaerobic microbial fermentation. This results in the formation of various short chain fatty acids (also known as volatile fatty acids). The 3 major forms of volatile fatty acids are acetic acid, propionic acid and n-butyric acid, playing a central role in maintaining the balance of the intestinal flora and affecting the health of the host through various metabolic processes.

In our work, we studied the extent to which lactulose and plantain bark (*Psyllium husk*, hereinafter psyllium), widely used in pet practice, are able to influence the production of volatile fatty acids by the canine intestinal microbiome. Thirty healthy beagle dogs were kept on a standard diet for 15 days, during which time 15 animals received oral lactulose (Laevolac 670 mg / ml syrup, 1 ml / kg) once a day, while the other 15 animals received psyllium supplemented diet (0.2 g / kg). At the beginning of the experiment (day 0, control sampling) and on days 5, 10 and 15, faeces were sampled from the rectum of the animals, and the concentration of each volatile fatty acid was determined by GC-MS.

Our results showed that lactulose administration on days 10 and 15 of the experiment caused a significant increase in the amount of total volatile fatty acids in the faeces compared to the control value; however, in case of psyllium supplementation the total amount of volatile fatty acids showed a significant increase only on day 15. Examining the concentration of each volatile fatty acid, the amount of acetate and propionate increased significantly on day 5, 10 and 15 of the experiment, and the concentration of butyrate decreased significantly on day 5. During psyllium administration, a significant increase in the amount of acetate and propionate was observed only on day 15 of the experiment, and at the same time the amount of butyrate also increased significantly.

Based on all this, it can be concluded that both lactulose and psyllium are suitable for increasing the production of volatile fatty acids in the intestines of dogs. There was an increase in acetate and propionate following the administration of both supplements; however,

an increase in butyrate production with the highest biological activity was observed only after psyllium treatment, suggesting that psyllium may be more beneficial in dogs.

## **9. Köszönetnyilvánítás**

Elsőként szeretném megköszönni a nélkülözhetetlen segítséget témavezetőimnek, Dr. Neogrády Zsuzsannának a Biokémiai Osztály vezetőjének és Dr. Sterczer Ágnesnek a Belgyógyászati Tanszék tanszékvezető-helyettesének, akik a kísérlet megvalósítása és a dolgozat megírása alatt végig segítettek és lelkesítettek. Hozzáértő tanácsaik és észrevételeik nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre. Hálás köszönettel tartozom továbbá Dr. Müller Lindának, az ATRC Aurigon Toxikológiai Kutatóközpont ellátó állatorvosának, aki lehetőséget biztosított nekünk kutatásunk megvalósítására. Valamint az ATRC Aurigon Toxikológiai Kutatóközpont összes munkatársának szeretnék köszönetet mondani a kísérlet megvalósításában nyújtott segítségükért és kedvességükért.

Szeretném még kifejezni őszinte köszönetemet Dr. Fébel Hedvignek, az Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet munkatársának, aki időt és energiát nem sajnálva segített nekünk a bélsár minták feldolgozásában és illó zsírsav tartalmuk kimutatásában. Hálás köszönettel tartozom továbbá Dr. Mátis Gábornak, a kísérlet kivitelezésében nyújtott segítségéért, kiváló ötleteiért és a dolgozat megírásában való közreműködéséért. Ezen kívül szeretném megköszönni a segítséget Dr. Papp Mártonnak, aki statisztikai ismeretei nélkül eredményeinket nem tudtuk volna ilyen gondosan ábrázolni.

Hatalmas köszönettel tartozom továbbá hallgató társaimnak, Börcsök Márknak, Berta Annának, Fehér Sárának, Gémesi Anettnak, Csomor Jankának, Méri Nikolettnek, Kónya Rékának, Matuska Reginának, Sulyok Dóranak, Lajos Andreának, Anker Mártonnak, Paul Róbertnek, Szóládi Áronnak, Birinyi Bellának, hogy segítettek megvalósítani a kísérletet és idejüket nem sajnálva megküzdöttek velem együtt a 30 beagle kutyus kezelésével és a mintavételekkel egyaránt.

Végül szeretném megköszönni családomnak és barátaimnak, legfőképp páromnak Dr. Gulyás Miklósnak, a szüleimnek Dr. Talabér Gyulának és Dr. Talabérné Fok Gyöngyinek, hogy mindig mindenben támogattak és biztattak.

## 10. Irodalomjegyzék

1. Aldridge, D.R., Tranah, E.J., Shawcross, D.L., 2015. Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy: Role of Ammonia and Systemic Inflammation. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 5, S7–S20. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.06.004>
2. Beloshapka, A.N., Dowd, S.E., Suchodolski, J.S., Steiner, J.M., Duclos, L., Swanson, K.S., 2013. Fecal microbial communities of healthy adult dogs fed raw meat-based diets with or without inulin or yeast cell wall extracts as assessed by 454 pyrosequencing. *FEMS Microbiol. Ecol.* 84, 532–541. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12081>
3. Benno, Y., Nakao, H., Uchida, K., Mitsuoka, T., 1992. Impact of the Advances in Age on the Gastrointestinal Microflora of Beagle Dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 703–706. <https://doi.org/10.1292/jvms.54.703>
4. Bergman, E.N., 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70, 567–590. <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.2.567>
5. Bordin, M., D'Atri, F., Guillemot, L., Citi, S., 2004. Histone Deacetylase Inhibitors Up-Regulate the Expression of Tight Junction Proteins. *Mol Cancer Res* 11.
6. Buddington, R.K., 2003. Postnatal changes in bacterial populations in the gastrointestinal tract of dogs. *Am. J. Vet. Res.* 64, 646–651. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2003.64.646>
7. Calabrò, S., Carciofi, A.C., Musco, N., Tudisco, R., Gomes, M.O.S., Cutrignelli, M.I., 2013. Fermentation Characteristics of Several Carbohydrate Sources for Dog Diets Using the *In Vitro* Gas Production Technique. *Ital. J. Anim. Sci.* 12, e4. <https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e4>
8. Cerf-Bensussan, N., Gaboriau-Routhiau, V., 2010. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat. Rev. Immunol.* 10, 735–744. <https://doi.org/10.1038/nri2850>
9. Cummings, J.H., Englyst, H.N., 1987. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am. J. Clin. Nutr.* 45, 1243–1255. <https://doi.org/10.1093/ajcn/45.5.1243>
10. Da, H., Ra, A., M, S., Ce, S., 1981. Absorption of volatile fatty acid, Na, and H<sub>2</sub>O by the colon of the dog. *Am. J. Vet. Res.* 42, 1118–1124.
11. Elkington, S.G., Floch, M.H., Conn, H.O., 1969. Lactulose in the Treatment of Chronic Portal-Systemic Encephalopathy: A Double-Blind Clinical Trial. *N. Engl. J. Med.* 281, 408–412. <https://doi.org/10.1056/NEJM196908212810803>
12. Fernández-Rubio, C., Ordóñez, C., Abad-González, J., Garcia-Gallego, A., Honrubia, M.P., Mallo, J.J., Balaña-Fouce, R., 2009. Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from Salmonella Enteritidis infection. *Poult. Sci.* 88, 943–948. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00484>
13. Friedman, A., Bar-Shira, E., 2005. Effects of nutrition on development of immune competence in chicken's gut-associated lymphoid system. *Proc. 15th Eur. Symp. Poult. Nutr. Balatonfüred Hung.* 25-29 Sept. 2005 247–255.
14. Galfi, P., Bokori, J., 1990. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. *Acta Vet. Hung.* 38, 3–17.
15. González-Fandos, E., Maya, N., Pérez-Arnedo, I., 2015. Effect of propionic acid on *Campylobacter jejuni* attached to chicken skin during refrigerated storage. *Int. Microbiol.* 171–175. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.247>
16. Guilloteau, P., Martin, L., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Zabielski, R., Van Immerseel, F., 2010. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. *Nutr. Res. Rev.* 23, 366–384. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000247>
17. Handl, S., Dowd, S.E., Garcia-Mazcorro, J.F., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S., 2011. Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. *FEMS Microbiol. Ecol.* 76, 301–310. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01058.x>

18. Howard, M.D., Kerley, M.S., Sunvold, G.D., Reinhart, G.A., 2000. Source of dietary fiber fed to dogs affects nitrogen and energy metabolism and intestinal microflora populations. *Nutr. Res.* 20, 1473–1484. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)80028-7](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)80028-7)
19. Immerseel, F., Methner, U., Rychlik, I., Nagy, B., Velge, P., Martin, G., Foster, N., Ducatelle, R., Barrow, P., 2006. Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: Exploitation of innate immunity and microbial activity. *Epidemiol. Infect.* 133, 959–78. <https://doi.org/10.1017/S0950268805004711>
20. Knarreborg, A., Miquel, N., Granli, T., Jensen, B.B., 2002. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 99, 131–140. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(02\)00069-X](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00069-X)
21. LeBlanc, J.G., Milani, C., Savoy, G., Sesma, F., Van Sinderen, D., Ventura, M., 2012. Bacteria as vitamin suppliers to their host: A gut microbiota perspective. *Curr. Opin. Biotechnol.* 24. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>
22. Liévin-Le Moal, V., Servin, A.L., 2006. The Front Line of Enteric Host Defense against Unwelcome Intrusion of Harmful Microorganisms: Mucins, Antimicrobial Peptides, and Microbiota. *Clin. Microbiol. Rev.* 19, 315–337. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.315-337.2006>
23. Louis, P., Scott, K.P., Duncan, S.H., Flint, H.J., 2007. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. *J. Appl. Microbiol.* 102, 1197–1208. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03322.x>
24. Macfarlane, G.T., Steed, H., Macfarlane, S., 2008. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *J. Appl. Microbiol.* 104, 305–344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03520.x>
25. McQuaid, T.S., 2005. Medical management of a patent ductus venosus in a dog. *Can. Vet. J.* 46, 352–356.
26. Middelbos, I.S., Boler, B.M.V., Qu, A., White, B.A., Swanson, K.S., Jr, G.C.F., 2010. Phylogenetic Characterization of Fecal Microbial Communities of Dogs Fed Diets with or without Supplemental Dietary Fiber Using 454 Pyrosequencing. *PLOS ONE* 5, e9768. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009768>
27. Minamoto, Y., Minamoto, T., Isaiah, A., Sattasathuchana, P., Buono, A., Rangachari, V.R., McNeely, I.H., Lidbury, J., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S., 2019. Fecal short-chain fatty acid concentrations and dysbiosis in dogs with chronic enteropathy. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 1608–1618. <https://doi.org/10.1111/jvim.15520>
28. Mitsuoka, T., 1992. Intestinal flora and aging. *Nutr. Rev.* 50, 438–446. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1992.tb02499.x>
29. Ormsby, M.J., Johnson, S.A., Carpena, N., Meikle, L.M., Goldstone, R.J., McIntosh, A., Wessel, H.M., Hulme, H.E., McConnachie, C.C., Connolly, J.P.R., Roe, A.J., Hasson, C., Boyd, J., Fitzgerald, E., Gerasimidis, K., Morrison, D., Hold, G.L., Hansen, R., Walker, D., Smith, D.G.E., Wall, D.M., 2020. Propionic Acid Promotes the Virulent Phenotype of Crohn's Disease-Associated Adherent-Invasive *Escherichia coli*. *Cell Rep.* 30, 2297-2305.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.078>
30. Pilla, R., Suchodolski, J.S., 2020. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. *Front. Vet. Sci.* 6. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00498>
31. Pinna, C., Biagi, G., 2014. The Utilisation of Prebiotics and Synbiotics in Dogs. *Ital. J. Anim. Sci.* 13, 3107. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3107>
32. Roberfroid, M.B., Bornet, F., Bouley, C., Cummings, J.H., 2009. Colonic Microflora: Nutrition and Health0. Summary and Conclusions of an International Life Sciences Institute (ILSI) [Europe] Workshop held in Barcelona, Spain. *Nutr. Rev.* 53, 127–130. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1995.tb01535.x>
33. Russell, J.B., Sniffen, C.J., Van Soest, P.J., 1983. Effect of Carbohydrate Limitation on Degradation and Utilization of Casein by Mixed Rumen Bacteria. *J. Dairy Sci.* 66, 763–775. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81856-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81856-6)

34. Schaible, U.E., Kaufmann, S.H.E., 2005. A nutritive view on the host–pathogen interplay. *Trends Microbiol.* 13, 373–380. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.06.009>
35. Simpson, J.M., Martineau, B., Jones, W.E., Ballam, J.M., Mackie, R.I., 2002. Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed and dietary fiber. *Microb. Ecol.* 44, 186–197. <https://doi.org/10.1007/s00248-002-0001-z>
36. Smith, P.M., Howitt, M.R., Panikov, N., Michaud, M., Gallini, C.A., Bohlooly-Y, M., Glickman, J.N., Garrett, W.S., 2013. The Microbial Metabolites, Short-Chain Fatty Acids, Regulate Colonic Treg Cell Homeostasis. *Science* 341, 569–573. <https://doi.org/10.1126/science.1241165>
37. Stevens, C.E., Hume, I.D., 1998. Contributions of Microbes in Vertebrate Gastrointestinal Tract to Production and Conservation of Nutrients. *Physiol. Rev.* 78, 393–427. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.2.393>
38. Suchodolski, J.S., 2011. COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats 1. *J. Anim. Sci.* 89, 1520–1530. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3377>
39. Suchodolski, J.S., Dowd, S.E., Westermarck, E., Steiner, J.M., Wolcott, R.D., Spillmann, T., Harmoinen, J.A., 2009. The effect of the macrolide antibiotic tylosin on microbial diversity in the canine small intestine as demonstrated by massive parallel 16S rRNA gene sequencing. *BMC Microbiol.* 9, 210. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-210>
40. Suchodolski, J.S., Markel, M.E., Garcia-Mazcorro, J.F., Unterer, S., Heilmann, R.M., Dowd, S.E., Kachroo, P., Ivanov, I., Minamoto, Y., Dillman, E.M., Steiner, J.M., Cook, A.K., Toresson, L., 2012. The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *PLoS ONE* 7, e51907. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051907>
41. Suchodolski, J.S., Ruaux, C.G., Steiner, J.M., Fetz, K., Williams, D.A., 2005. Assessment of the qualitative variation in bacterial microflora among compartments of the intestinal tract of dogs by use of a molecular fingerprinting technique. *Am. J. Vet. Res.* 66, 1556–1562. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1556>
42. Sun, Y., O’Riordan, M.X.D., 2013. Regulation of Bacterial Pathogenesis by Intestinal Short-Chain Fatty Acids, in: *Advances in Applied Microbiology*. Elsevier, pp. 93–118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407672-3.00003-4>
43. Swanson, K.S., Dowd, S.E., Suchodolski, J.S., Middelbos, I.S., Vester, B.M., Barry, K.A., Nelson, K.E., Torralba, M., Henrissat, B., Coutinho, P.M., Cann, I.K., White, B.A., Fahey, G.C., 2011. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME J.* 5, 639–649. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.162>
44. Szylił, O., Andrieux, C., 1993. Physiological and Pathophysiological Effects of Carbohydrate Fermentation, in: Simopoulos, A.P., Corring, T., Rørat, A. (Eds.), *World Review of Nutrition and Dietetics*. S. Karger AG, pp. 88–122. <https://doi.org/10.1159/000422603>
45. Tirosh, A., Calay, E.S., Tuncman, G., Claiborn, K.C., Inouye, K.E., Eguchi, K., Alcalá, M., Rathaus, M., Hollander, K.S., Ron, I., Livne, R., Heianza, Y., Qi, L., Shai, I., Garg, R., Hotamisligil, G.S., 2019. The short-chain fatty acid propionate increases glucagon and FABP4 production, impairing insulin action in mice and humans. *Sci. Transl. Med.* 11. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav0120>
46. Tran, C.P., Familiari, M., Parker, L.M., Whitehead, R.H., Giraud, A.S., 1998. Short-chain fatty acids inhibit intestinal trefoil factor gene expression in colon cancer cells. *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.* 275, G85–G94. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1998.275.1.G85>
47. Vörös, K., n.d. *Állatorvosi Belgyógyászat*, 2019th ed.



**HuVetA**  
**ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT\***

Név: TALABÉR REBEKA RÉKA  
Elérhetőség (e-mail cím): talaber.rebeza.reka@gmail.com  
A feltöltendő mű címe: LAKTUKÓZ ÉS ÚTIFŰ MAGMÉF  
KIEGÉSZÍTÉS HATA'SA EGÉSZSÉGES KUTYÁK BÉLSZÁRANAK ILLÓ ZSÍRSAV  
A mű megjelenési adatai: 2020. 10. 25 TARTALMARA  
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel)**:

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2020 év október...hó ...25...nap

aláírás  
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

*A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archivum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyont elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

*A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén*

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyónak koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

## Témavezetői nyilatkozat

Alulírott Dr. Neogrády Zsuzsanna, mint témavezető nyilatkozom, hogy Talabér Rebeka Réka állatorvostan-hallgató „Laktulóz és útifű maghéj kiegészítés hatása egészséges kutyák bélsarának illó zsírsav tartalmára” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2020. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2020. október 22.

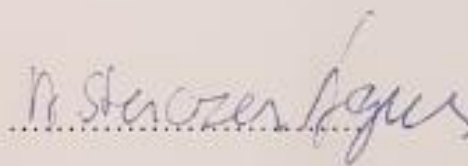


témavezető

## Témavezetői nyilatkozat

Alulírott Dr. Sterczler Ágnes, egyetemi docens., mint témavezető nyilatkozom, hogy Talabér Rebeka állatorvostan-hallgató „Laktulóz és útifű maghéj kiegészítés hatása egészséges kutyák bélsarának illó zsírsav tartalmára” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 20xx. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 20xx hó nap.



témavezető