

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
SZENT ISTVÁN EGYETEM
ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK

KLINIKUMOK, GYÓGYSZERTAN, TOXIKOLÓGIA

2009. évi 36. füzet
(beszámolók: 2010. január 25-28.)

ELŐSZÓ

Kedves Kolleganők és Kollegák !

Budapest, 2010. január

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája 2010. január 25-28 között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló, immár 36. „akadémiai beszámoló” ülésorozatot, melyen a PhD hallgatók szereplését külön is elvárjuk.

Az egyes szekciók üléseinek helyét és idejét a mellékelt beosztásban tüntettük fel.
Az előadások és azt követő megvitatás időtartama legfeljebb: 10 + 5 perc.
Kérjük, hogy a megadott maximális időtartamot senki ne lépje túl !

Az előadások összefoglalóit – ezen szekciófüzetekbe csoportosítva – elektronikus úton adjuk közre.
Kérjük, hogy az összefoglalók anyagát minden esetben - megvitatásra alkalmas formában – előadni szíveskedjenek.

Ami a vitát illeti, a résztvevőket, különösen pedig a bizottsági tagokat és az üléselnököket kérjük arra, hogy, kérdéseikkel, hozzáfűzött megjegyzéseikkel, javaslataikkal, szíveskedjenek az előadottak részletesebb megismerését, értékelését és a beszámoló csoportok további munkáját segíteni. Mivel sokan úgy véljük, hogy a tudományos előrehaladás és a fiatalok tudományos fórumokhoz való szoktatása szempontjából a vita majdnem olyan fontos mint maga az előadás, ezért a hasznos és előrevivő vitához szükséges „műhely légkör” kialakítását és fenntartását valamennyi résztvevőtől de különösen a bizottsági tagoktól és az elnököktől ez úton is tisztelettel kérjük.

Az egyes szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióüléstről február végéig készítsenek és juttassanak el hozzám egy-egy rövid, közérthető formában megírt, s a szekció elnökkel (elnökökkel) egyeztetett tájékoztatót (a Magyar Állatorvosok Lapja részére), mely tartalmazza az elhangzott legfontosabb megállapításokat.

A szekció ülések anyagait az MGSZH Központ Állatgyógyászati Termékek Igazgatósága (Dr. Soós Tibor bizottsági titkár úr) irányítása alatt rendezte füzetekbe és küldte meg az egyes intézeteknek, illetve személyeknek. Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagból továbbítsanak ill. kellő példányszámban másoltassanak munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is. Kérjük, továbbá, hogy munkatársaikat segítsék az üléseken való aktív és sikeres részvételben.

Előre is köszönjük a szekció elnökök, a titkárok, a bizottsági tagok és valamennyi előadó munkáját, s külön is köszönjük az összefoglaló füzeteket előállító munkacsoport (Németh Veronika és dr. Vinczer Péterné) nélkülözhetetlen segítségét.

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája nevében,
Sikeres, Boldog Új esztendőt kívánva,

Dr. Nagy Béla,
elnök s.k.
MTA Áo-tud. Bizottsága

Dr. Huszenicza Gyula, egyetemi tanár
elnök
SzIE Áo-tud. Dokt. Isk. Tanácsa

Az akadémiai beszámolók beosztása és szekcióbizottságai (2010. január 25-28)

A szekció megnevezése	A szekcióülés ideje	A szekcióülés helye	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
Élettan Biokémia Kórélettan Morfológia	I. 25 hétfő 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Frenyó V. László Dr. Sótonyi Péter Dr. Veresegyházi Tamás	Dr. Bartha Tibor	Dr. Kutas Ferenc Dr. Halasy Katalin Dr. Vajdovich Péter
Élelmiszerhigiénia	I. 25 hétfő, 13.00 -tól	Továbbképzés tanterem	Dr. Laczay Péter Dr. Sas Barnabás	Dr. Székely Körmöczy Péter	Dr. Bíró Géza Dr. Lombai György Dr. Szita Géza Dr. Kovács Sándor
Virologia, Immunológia, Bakteriológia	I. 26. kedd, 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Harrach Balázs Dr. Soós Tibor Dr. Nagy Béla Dr. Fodor László Dr. Bernáth Sándor	Dr. Benkő Mária Dr. Jánosi Szilárd	Dr. Rusvai Miklós Dr. Pálfi Vilmos DR. Tekes Lajos Dr. Drén Csaba Dr. Makrai László Dr. Magyar Tibor Dr. Tóth István
Állathigiénia Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	I. 27. szerda, 8.30-tól	Továbbképzés tanterem	Dr. Szabó József Dr. Brydl Endre	Dr. Bersényi András	Dr. Fekete Sándor Dr. Rafai Pál Dr. Zöldág László Dr. Kovács Melinda Dr. Jakab László
Parazitológia Állattan Halkórtan	I. 27. szerda 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Kassai Tibor Dr. Molnár Kálmán Dr. Hornung Erzsébet	Dr. Baska Ferenc	Dr. Békési László Dr. Csaba György Dr. Farkas Róbert Dr. Varga István
Klinikumok Gyógyszertan Toxicológia	I. 28. csütörtök 8.30-tól	Belgyógyászat tanterem	Dr. Gálfi Péter Dr. Vörös Károly Dr. Szenci Ottó Dr. Hevesi Ákos	Dr. Sterczler Ágnes Dr. Németh Tibor	Dr. Sályi Gábor Dr. Semjén Gábor Dr. Várnagy László Dr. Zöldág László

TARTALOMJEGYZÉK

A MÉH BELSŐ NYOMÁSVISZONYAI HIPOKALCÉMIÁS TEHENEKBN AZ INVOLÚCIÓ KEZDETÉN

(*INTRAUTERINE PRESSURE IN HYPOCALCEMIC COWS DURING EARLY INVOLUTION*)

Bajcsy Árpád Csaba, Szabó-Ari Krisztina, Taverne, Marcel, Doornenbal, Arie, van der Weijden, Bert, Kovács Rezső, Mádl István, Tibold János, Szenci Ottó

VEMHESÉGI ULTRAHANGVIZSGÁLATOK KIÉRTÉKELÉSE EGY TEJELŐ SZARVAS-MARHA ÁLLOMÁNYBAN

Kovács Levente, Szelényi Zoltán, Tózsér János és Szenci Ottó

A NEM SZOKVÁNYOS LUTEIN KÉPLETEK (NLK) ELTÁVOLÍTÁSÁNAK TERÁPIÁS LEHETŐSÉGEI ÉS EREDMÉNYESSÉGE TEJTERMELŐ TEHENÉSZETEKBN

Hatvani Csilla, Balogh Orsolya Gabriella, Holló István, Gábor György

A ZSÍRSZÖVET SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA KUTYÁK SZAPORODÁSBIOLOGIAI MŰKÖDÉSÉNEK HÁTTERÉBN.

Müller Linda, Kollár Eszter, Thuróczy Julianna

INTRATESZTIKULÁRIS ÉS SZÉRUM TESZTOSZTERON KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSA MACSKÁBAN

Kollár Eszter, Gyécsek Nikoletta, Müller Linda, Thuróczy Julianna

A DILATATIÓS CARDIOMYOPATHIÁS KUTYÁK TÚLÉLÉSÉNEK RETROSPEKTÍV VIZSGÁLATA

Zsámbéki Eszter, Kiss Gergely, Manczur Ferenc

HAGYOMÁNYOS ÉS ELEKTRONIKUS FONENDOSZKÓPOK ÖSSZEHAONLÍTÁSA KUTYÁK SZÍVZÖREJEINEK VIZSGÁLATA SORÁN

Vörös Károly, Reiczigel Jenő, Anna Bonnevie

A SZÍVFREKVENCIA-VARIANCIA – TÖRTÉNETE, MÓDSZERTANA, KIAKNÁZATLAN LEHETŐSÉGEI AZ ÁLLATORVOSLÁSBAN

Kővágó Csaba, Andocs Gábor és Szász András

A SZÍVFREKVENCIA-VARIANCIA VÁLTOZÁSAI LIDOCAIN ADAGOLÁS HATÁSÁRA EGÉR ÁLLATMODELLBN

Váczy Borbála, Kővágó Csaba, Lehel József és Szász András

CLAUDIN-7 ÚJ IMMUNHISZTOKÉMIA MARKER A KUTYÁK CHOLANGIOCARCINOMÁJÁNAK ÉS HEPATOCELLULARIS CARCINOMÁJÁNAK DIFFERENCIÁL DIAGNOSZTIKÁJÁBAN

Jakab Csaba, Kiss András, Schaff Zsuzsa, Szabó Zoltán, Rusvai Miklós, Gálfi Péter, Szabára Ágnes, Sterczter Ágnes és Kulka Janina

MACSKÁK SZÁJÜREGÉBEN JELENTKEZŐ GYULLADÁSOS FOLYAMATOK
FERTŐZŐ EREDETÉNEK OKTANI VIZSGÁLATA: RÉSZEREDMÉNYEK

*Sterczler Ágnes, Dunay Miklós, Demeter Zoltán, Jakab Csaba, Fridél Zoltán, Végh
Borbála, Rusvai Miklós*

C-REACTIVE PROTEIN ÉS A THYROXIN PROGNOZTIKAI ÉRTÉKE AKUT
PANCREATITISBEN MEGBETEGEDETT KUTYÁKBAN

*Pápa Kinga, Máthé Ákos¹, Psáder Roland, Abonyi Tóth Zsolt, Szenes Krisztina, Vörös
Károly, Sterczler Ágnes*

REDOX PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA VESEBETEG KUTYÁK VÉRPLAZMÁJÁBAN

*Pétsch Márta, Gaál Tibor, Ribiczeyné Sz. Piroksa., Szabó Bernadett, Tretter Olga,
Balogh Krisztián, Mézes Miklós, Jakus Judit*

A BELSŐ RECTUS HÜVELYBŐL KÉPZETT VÉNÁS AUTOGRAFTOK KÍSÉRLETES
VIZSGÁLATA KUTYÁBAN

Csébi Péter

METILGLIOXÁL KEZELÉS HATÁSA A NUDE EGEREKBE KIFEJLŐDÖTT HUMÁN
VASTAGBÉL KARCINÓMA EREDETŰ TUMOROKRA

Perényi Zsolt, Jakab Csaba, Csizinszky Rita és Gálfi Péter

A BÉLHÁMSEJTEK OXIDATÍV STRESSZ OKOZTA GYULLADÁSÁNAK GÁTLÁSA
PROBIOTIKUS TEJSAVBAKTÉRIUMOKKAL

Csizinszky Rita, Szekér Krisztina, Csibrikné Németh Edina és Gálfi Péter

A NÁTRIUM-N-BUTIRÁT HATÁSA A CYP450 ENZIMEK GÉNEXPRESSZIÓJÁRA
HÁZITYÚKBÓL IZOLÁLT PRIMER MÁJSEJTEKEN

Csikó György, Fekete Tímea, Szekér Krisztina, Jerzsele Ákos és Csizinszky Rita

ALTERNATÍV HOZAMFOKOZÓK ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSÁNAK
MEGHATÁROZÁSA

Szekér Krisztina, Csizinszky Rita és Juanjo Mallo

AZ ENROFLOXACIN ÉS COLISTIN KOMBINÁCIÓ SZINERGISTA HATÁSÁNAK
VIZSGÁLATA BAROMFIBÓL IZOLÁLT *E. COLI* ÉS *S. ENTERICA* TÖRZSEKEN

Jerzsele Ákos, Bánhidi György

AZ ERITROMICIN HATÁSA A CYP450 ENZIMEK NÁTRIUM-N-BUTIRÁT OKOZTA
GÉNEXPRESSZIÓ VÁLTOZÁSÁIRA HÁZITYÚKBÓL IZOLÁLT PRIMER
MÁJSEJTEKEN

Csikó György, Csizinszky Rita, Nagy Gábor, Szekér Krisztina és Jerzsele Ákos

ERITROMICIN MEGHATÁROZÁSA SEJTNYÉSZTŐ TÁPOLDAT MINTÁKBÓL
NAGYHATÉKONYSÁGÚ FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS MÓDSZERREL

Nagy Gábor és Csikó György

MODELL KÍSÉRLETEK *LACTOBACILLUS CASEI* 01 TÖRZS METRITISBŐL IZOLÁLT
ESCHERICHIA COLI ÉS *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* TÖRZSEK
SZAPORODÁSÁRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK KIMUTATÁSÁRA

*Szekér Krisztina¹, Csizinszky Rita¹, Földi József², Kulcsár Margit³, Huszenicza Gyula³,
Gálfi Péter¹*

A T-2 TOXIN, AZ OCHRATOXIN A és B SEJTOSZTÓDÁSRA GYAKOROLT
HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA *IN VITRO* CITOTOXICITÁSI TESZTTEL

Gálfi Péter Fekete Sándor György és Kővágó Csaba

A MÉH BELSŐ NYOMÁSVISZONYAI HIPOKALCÉMIÁS TEHENEKBN AZ INVOLÚCIO KEZDETÉN
(*INTRAUTERINE PRESSURE IN HYPOCALCEMIC COWS DURING EARLY INVOLUTION*)

Bajcsy Árpád Csaba¹, Szabó-Ari Krisztina¹, Taverne, Marcel², Doornenbal, Arie², van der Weijden, Bert², Kovács Rezső¹, Mádl, István³, Tibold János³, Szenci Ottó¹

A tejhasznú tehenek egyik legjelentősebb anyagcsere-rendellenessége az ellést közvetlenül követő időszakban a hipokalcémia, melynek klinikai manifesztációja az ellési bénulás. A betegség hátterében a vér kalciumion-koncentrációjának megfogyása áll.

A belső méhnyomást (intrauterine pressure, IUP) 14 frissen ellett Holstein-fríz tehenen mértük egy nagyüzemi tejelő tehenészetben. Közülük 6 esetben a mérések előtt levett vénás vér Ca^{2+} -koncentrációja nem érte el az 1,06 mmol/l-t, így ezek alkották a szubklinikai hipokalcémiás (HC) csoportot, a többi 8 állat pedig a normokalcémiás kontrollt (K). Bár valamennyi egyed szabályosan ellett, a HC-sok fele és a K-ok közül 5 az első méréskor magzatburok-visszamaradásos volt. A kis csoportlétszámok miatt azonban ezt a tényezőt ezúttal nem vettük figyelembe, azért, hogy csak a Ca^{2+} -szint eltéréseit elemezhessük.

Az IUP-t 4 Hz-es mintavételi gyakorisággal egy digitális rendszer segítségével mértük úgy, hogy az első méréseket 14-17 órával ellést követően kezdtük. A nem invazív eljárás során nyitott végű katétert használtunk, és folyamatos, 4 óra időtartamú felvételt készítettünk, majd a kezdéstől számított 12 órás időközökben ezt még további két, 1-1 órás mérés követte. Az egyidejűleg gyűjtött vérmintákból azok Ca^{2+} -koncentrációját, sav-bázis és vérgáz-értékeit hordozható vérgáz-analizátor (ABL 77, Radiometer) segítségével határoztuk meg.

Az IUP-görbéket a Labview-program segítségével, egy három lépéses egyedi görbeelemzéses módszerrel elemeztük, melynek során a felvételeket 1-1 órás időintervallumokra tagolva értékeltük, és ezen eredményeket az egyes paraméterekre (összehúzódások gyakorisága: *FREQ*; intenzitása vagy amplitúdója: *AMP*; hossza vagy időtartama: *DUR*; átlagos görbe alatti területe: *AUC*; időegység alatti összegzett görbe alatti területe, a méh által időegység alatt kifejtett teljes munka: *TAUC*) ismételt méréseken alapuló varianciaanalízissel, szignifikáns különbségek esetén Tukey-tesztel, míg a csoportosítás alapját képező Ca^{2+} -koncentrációk átlagát kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze.

A kiindulási Ca^{2+} -koncentrációk a két csoportban szignifikánsan eltértek ($P < 0,001$). Az IUP-paraméterek közül az *AMP*-ban az időbeli változások ($P < 0,001$) elsősorban a 24., 36. órai csökkenésre vezethetők vissza, míg ez az *AUC* és a *TAUC* esetében csak a 36. órára érvényes. Ugyanakkor mind az *AUC*, mind a *TAUC* esetében szignifikáns csoport-különbségeket is kaptunk ($P < 0,05$). A többi paraméternél, így a *FREQ* esetében is tapasztalt tendenciózus időbeli csökkenés ellenére sem kaptunk szignifikáns eltéréseket, sem az eszerinti, sem a csoportok közötti összehasonlításban. Ugyanakkor a HC-s teheneknél a csoportátlagok mindig alacsonyabbak voltak a kontrollokéinál, ami alól csak a *DUR* volt kivétel, ahol ez két időpontban fordítva jelentkezett.

Megállapítható, hogy a HC-s tehenek méhtevekenysége a korai postpartum időszakban általában renyhébb volt, ezt az *AUC* és a *TAUC* változásai jelezték leginkább. Adatfelvevő rendszerünk korszerűsítése egy új típusú analóg jelerősítő kifejlesztését eredményezte. A továbbiakban indokolt lenne kiegészíteni a csoportokat, hogy a magzatburok-visszamaradás hatását együtt elemezhessük a fennálló HC esetén. Az eredmények a méhkontraktilitás változásainak követésével a hipokalcémia következményeinek becsléséhez járulnak hozzá.

(*Bajcsy Árpád Csaba NKB 15930/2009 sz. kutatási témájának zárójelentése, kiegészítő forrás az OMFB-00173/2006 téma volt.*)

SzIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattenyésztés-tudományi Intézet, Gödöllő¹

Klinikumok

Nagyállat Klinika, Üllő²

VEMHESSÉGI ULTRAHANGVIZSGÁLATOK KIÉRTÉKELÉSE EGY TEJELŐ SZARVAS-MARHA ÁLLOMÁNYBAN

Kovács Levente¹, Szelényi Zoltán², Tózsér János¹ és Szenci Ottó²

Bevezetés: A téves vemhességi diagnózisok a vizsgáló módszer helytelen alkalmazásán túl nagyrészt az embrionális mortalitásra vezethetők vissza. A termékenyítést követő 35-42. nap között végzett vemhességvizsgálat az esetleges késői embrionális mortalitás megállapítása céljából ezért kiemelkedő jelentőségű. A vehem elvesztésének minél korábbi felismerése és az állatok PGF2 α vagy OvSynch-kezeléshez kötött ismételt termékenyítése révén csökkenthető a két ellés közötti időszak hossza.

Cél: Kutatásunk célja volt, hogy értékeljük az ultrahangvizsgálat alkalmazhatóságát a termékenyítést követő 29-35. és 36-42. napok közötti vemhesség, illetve embrionális- és magzati mortalitás megállapítására. Továbbá vizsgáltuk a vemhesség első három hónapjában bekövetkező késői embrionális és korai magzati veszteségek környezeti eredetű okait.

Módszer: Ultrahangvizsgálatainkat 2007 februárja és 2008 decembere között kéthetes időközönként végeztük 8 MHz frekvenciájú lineáris rektális vizsgálófej alkalmazásával tejelő holstein-fríz állományban (átlagos laktációs szám: 2,48). A vizsgálatra kerülő állatokon helyszíni kondícióbírálatot végeztünk (1-5, USA pontozás). Összesen 1800 vemhességvizsgálati adatot értékeltünk. Az állatokat két csoportra osztottuk, így vizsgálva a vemhesség megmaradását az embrió 29-35 (A csoport), illetve 36-42 (B csoport) napos kora között. A módszer alkalmazhatóságának értékeléséhez a Smith-féle 2 \times 2-es táblázatot használtuk, a kondíciók statisztikai értékelését Kh²-próbával végeztük.

Eredmény: Módszerünk érzékenysége 100 %-nak, a specifikussága 89,5 %-nak bizonyult, míg a pozitív előrejelző érték 83,2 %, a negatív előrejelző érték 100 % volt. Amennyiben a vemhességvizsgálat későbbi időszakában (36-42. nap) vizsgáltuk állatainkat, a specifikusság és pozitív előrejelző érték tekintetében jobb eredményeket kaptunk. Az állományban a biztosan embriót, illetve magzatot elvesztő állatok aránya 16,8 % volt. A kondíciók statisztikai értékelése nem adott szignifikáns eredményt (P>0,05). A legnagyobb arányú embrionális és magzati elhalást összhangban az irodalmi adatokkal a 3. laktációban lévő tehenek között találtuk.

Következtetés: A vizsgálati protokoll a vemhesség korai megállapítására a gyakorlati munka során jól alkalmazható. Kijelenthető, hogy módszerünk az embrió/magzat elvesztésének időpontjának meghatározására nem alkalmazható. Ugyanakkor a magzatvesztés előfordulása igen magas arányú (16,8 %) ezért a vemhesség gondozása során további ellenőrző vizsgálatokat kell beiktatni. Az állatok kondíciója nem befolyásolta a magzat elvesztésének mértékét. A 3. laktációban tapasztalt nagyobb mértékű elhalási arány az ebben az időszakban a fajtára jellemző, és a dolgozatban is megállapított magasabb tejtermeléssel magyarázható. Ismertek olyan – a vizsgálatban nem szereplő – tényezők is (pl. hőstressz), amelyek fokozhatják a vehem elvesztésének mértékét. Amennyiben több hátrányos tényező is fennáll a vemhesség során, gyakoribb vizsgálatokra van szükség.

Bácsalmási Agráripari Rt.¹

Klinikumok és gyógyszeratan

A NEM SZOKVÁNYOS LUTEIN KÉPLETEK (NLK) ELTÁVOLÍTÁSÁNAK TERÁPIÁS LEHETŐSÉGEI ÉS EREDMÉNYESSÉGE TEJTERMELŐ TEHENÉSZETEKBEN

Hatvani Csilla¹, Balogh Orsolya Gabriella², Holló István³, Gábor György²

Tejtermelő szarvasmarha állományokban gyakori a nem szokványos lutein képletek megjelenése a petefészkeken. Ezek kihatással vannak a tehenek egészségére és szaporaságára, sőt - a két ellés közti idő elhúzódását okozva - a tejtermelés gazdaságosságát is befolyásolják. A különböző típusú képletek kezelése irodalmi adatok szerint eltérő hatóanyagokkal és hatékonysággal történhet. Munkánk során 2008 januárja és 2009 októbere között két magyarországi tejtermelő szarvasmarha telepen hasonlítottuk össze az egyszeri prosztoglandin (PG) kezelés ill. manuális eltávolítást követő PG kezelés együttes hatását a NLK eltávolítására és a tehenek újra-vmehesülésére. Mindkét telepen hetente egyszer rektális ultrahang (UH) vizsgálattal ellenőriztük a petefészek képleteket. Sárgatest (CL) és üreges sárgatest (CLÜ) esetén egyszeri PG (2 ml Estrumate inj., Schering, i.m.) kezelést alkalmaztunk, lutein- (LC) és sárgatest ciszta (CLC) esetén random válogatással csak PG, vagy manuális eltávolítást követő PG kezelésben részesítettük az állatokat. A kezeléseket hatékonyak tekintettük, ha a következő vizsgálat alkalmával a NLK már nem volt látható a petefészken. A fertilitásra gyakorolt hatást a vemhesülés arányával értékeltük.

A rektális ultrahang vizsgálatok során 217 esetben sárgatestet, 352 esetben pedig NLK-t (CLÜ – 171, LC – 123, CLC – 58) diagnosztizáltunk. CL esetén a képlet a PG kezelés hatására 80,7 %-ban eltűnt, és az állatok 72,8 %-a termékenyítésre került (43,7 % vemhesült). CLÜ diagnózis esetén, a PG kezelt állatok 84,2 %-nál a képlet már nem volt látható a következő vizsgálatkor, és az állatok 64,3 %-a termékenyítésre került (31,8 % vemhesült). A CLC csoportban az egyszeri PG injekcióval kezelt állatok 75 %-nál sikerült a képletet eltávolítani a petefészekről, majd az állatok 50 %-a került termékenyítésre (66,7 % vemhesült). A CLC manuális eltávolítását majd azt követő PG kezelését követően 91,3%-ban a következő vizsgálat alkalmával már nem volt detektálható a képlet a petefészken, az állatok 47,8 %-át termékenyítettük, és ezek 40,9 %-a vemhesült. A LC diagnózis alapján egyszeri PG kezeléssel a tehenek 66,7 %-nál a képlet a következő vizsgálatkor már nem volt látható a petefészken, az így kezelt állatok 50 %-a termékenyítésre került, 66,7 % vemhesült. Az LC manuális eltávolítását követően PG kezelt csoportban a tehenek 76,2 %-nál sikerült a képletet eliminálni, az így kezelt tehenek 40 %-a termékenyítve lett, 40,5 % vemhesült.

Az eredmények alapján elmondható, hogy *üreges sárgatest* esetében a PG egyszeri im. alkalmazása hatékony kezelésnek minősíthető, de a termékenyítést követően a vemhesülés némileg alacsonyabb, mint a normál sárgatest kezelése után. CLC esetén a manuális eltávolítás PG kezeléssel kombinálva hatékony módszere a képlet eltávolításának, azonban a vemhesülés kevésbé eredményes, mint csak PG kezelés esetén. A LC eltávolítás mindkét kezelési módszerrel hasonló hatékonyságú volt, azonban a vemhesülés az egyszeri PG kezelést követően lényegesen magasabb volt. Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy CLC és LC esetében a jobb fertilitás érdekében inkább az egyszeri PG kezelés javasolt. A NLK kialakulásának pontos háttere még nem tisztázott, elképzelhető, hogy kialakulásuk során olyan szöveti elváltozások (pl. kötőszövet megszorodása a petefészekben) ill. metabolikus és/vagy endokrinológiai hatások játszanak szerepet, amik a vemhesülés elmaradásáért is felelősek lehetnek. Ezen kívül a NLK manuális eltávolítása során kiszabaduló folyadék a petefészek körül irritációt okozva, a petefészek és esetleg a petevezető funkcióját is hátrányosan befolyásolhatja.

Köszönetnyilvánítás: A munkát az OTKA 73805 pályázat támogatásával végeztük.

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

Klinikumok és Gyógyszertan

A ZSÍRSZÖVET SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA KUTYÁK SZAPORODÁSBIOLOGIAI MŰKÖDÉSÉNEK HÁTTERÉBEN.

Müller Linda, Kollár Eszter, Thuróczy Julianna

A tápláltsági állapot hatása a nemi mirigyek funkciójára a humán gyógyászatban már hosszú ideje részletesen vizsgált kérdés. Ezzel szemben társállatokban a fertilis egyedek elhízásának endokrinológiai és szaporodásbiológiai összefüggései nem ismertek. A humán kutatási eredmények, mind a reprodukcióra gyakorolt hatás, mind pedig a daganatok emelkedett kockázata kapcsán a *visceralis* elhízás jelentőségét hangsúlyozzák a perifériással szemben. A legújabb kutatások szerint a hipertrófiás elhízás nagyobb eséllyel vezethet egyes metabolikus diszfunkciók kialakulásához, mint a zsírsejtek számának növekedésével járó hiperpláziás obezitás. Az elhízás metabolikus következményei a hipotalamusz-hipofízis-nemiszervek alkotta tengely minden szintjén megjelennek mind a hormon koncentráció, mind a receptorkifejeződés változásaiban.

A Szülészeti Klinikán hasi műtéten átesett állatok adatait és a kórelőzményt előre elkészített kérdőív szempontjai alapján rögzítettük. A betegekből a műtét megkezdése előtt alvadásban nem gátolt vérmintát gyűjtöttünk, amelyet 1500/perc fordulatszámon centrifugáltunk, majd a szérumot -20 °C-on a hormon meghatározásig tároltuk. A műtét során eltávolított petefészekből és méhből, illetve a lig. falciforme hepatis és a subcutis zsírszövetéből későbbi immunhisztokémiai vizsgálatra és zsírsejtméret meghatározásra gyűjtöttünk kb. 1-1 cm³ mintát. A natív elnyomati és hematoxilinnal-eozinnal festett minták vizsgálatkor okulármikrométer, illetve számítógépes software segítségével határozzuk meg a zsírsejtek méretét. Az emésztéses vizsgálat során a mintákat (200-600 mg), 37 °C-on, rázókeverőben 20-30 percig kollagenázt tartalmazó HEPES-puffer oldatban emésztettük, majd centrifugálás után a felső rétegből vett mintát metilénkéket tartalmazó oldatban fénymikroszkóppal vizsgáltuk, és számítógépes software segítségével elvégezzük a zsírsejtek méretének meghatározását.

Az újszerű natív preparátum készítése révén, a zsírsejtméret meghatározás jól működő és gyors módszeréhez jutottunk. A vizsgált állatok nagyobb hányada esetében szignifikáns különbség volt kimutatható a *visceralis* valamint a *subcutan* zsírraktárakat alkotó zsírsejtek mérete között. Emellett lényeges különbségeket mutattunk ki az egyes egyedek átlagos zsírsejtméretei között is. Az emésztéses módszer klinikai körülmények közötti használhatósága megkérdőjelezhetőnek bizonyult. A depóspecifikus különbségek okának vizsgálata immunhisztokémiai módszerekkel, valamint a vérminták elemzésének segítségével jelenleg is folyik.

INTRATESZTIKULÁRIS ÉS SZÉRUM TESZTOSZTERON KONCENTRÁCIÓ MEGHATÁROZÁSA MACSKÁBAN

Kollár Eszter¹, Gyécsek Nikoletta², Müller Linda¹, Thuróczy Julianna¹

A herék intrauterin, majd postnatalis fejlődése meghatározó fontosságú a felnőtt hímek szaporodó képességének kialakulásában. A herék tesztoszteron termelésének mérése közelebbi információt ad a szerv működéséről. Vizsgálataink célja szteroid hormonok kimutatására irányuló laboratóriumi vizsgálati módszerek kidolgozása, melyek segítségével a szöveti koncentrációk, a különböző szteroid metabolitok egymáshoz viszonyított aránya és a biológiailag aktív hormonok mennyisége meghatározható.

Különböző korú egészséges kandúrok heréit eltávolítottuk, majd a bal heréket -20 fokon, a jobb heréket 8%-os pufferolt formalinban tároltuk feldolgozásig. Az ivartalanítás előtt alvadásban nem gátolt vérmintát vettünk minden egyedből, melyeket 1500/perces fordulatszámom 12 percig centrifugáltuk, majd a szérumot -20 fokon tároltuk a mérésig. A fagyasztott herék feldolgozása során a herék decapsularizációját követően tetszőleges mennyiségű parenchyma kimetszése után, a here mintákat három tizedes pontosságú analitikai mérlegen megmértük, majd a homogenizálás előtt PBS oldatot adtunk a mintákhoz úgy, hogy a homogenizátum 0,1 g hereszövet/ml tartalmú legyen. A homogenizálást szobahőmérsékleten, szövet homogenizátorral (Janke & Kummel Ika-Werk UltraA-Turrax) végeztük. A homogenizátumokat 4000/perces fordulatszámom 20 percig centrifugáltuk, majd a felüliszót eppendorf csövekben -20 fokon tároltuk a vizsgálatig. A szérum és here minták tesztoszteron koncentrációját Testosterone ELISA (DRG EIA-1559, DRG Instruments GmbH D-35039, Marburg) kittel mértük meg. A heréből előkészített mintákból tízszeres, majd négy hígításból álló, futó hígítási sort készítettünk (1:10, 1:20, 1:40, 1:80). A formalinos mintákból hematoxilin-eosinnal festett szövettani metszetek készültek a Kórbonctani Tanszék laboratóriumában. A metszetekben száz kanyarulat csatornácska átmérőjét megmértük, majd az adatokat statisztikai programmal (Anova) dolgoztuk fel.

Eredményeink szerint a hereszövet homogenizátum nyolcvanszoros hígítása szükséges a szöveti tesztoszteron méréséhez. A szérum és egy gramm hereszövet tesztoszteron tartalmának összehasonlítása során, várakozásainknak megfelelően magas szérum értékek mellett magas szöveti koncentrációt mértünk. A teljes herére vonatkoztatott értékek közül érdekes módon a kisebb tömegű herékhez magasabb, míg a nagyobb tömegű herékhez alacsonyabb tesztoszteron értékek tartoznak. Az egész herére számított tesztoszteron értékek emiatt igen változatosak, az előzetes vizsgálatok alapján a szérum hormon tartalmával nem mutattak szoros összefüggést. A herecsatornácskák átmérőjének vizsgálata során, magasabb szérum tesztoszteron szintekhez nagyobb átmérők tartoznak, ami az intratesztikuláris hormon koncentrációkban is kimutatható volt, bár ebben az esetben az egyedi eltérések jelentősek. Az egyes herékhez tartozó csatornaátmérők egymástól szignifikáns különbséget mutatnak.

A herék hormon tartalma a szérum koncentráció több százszorosa is lehet macska fajban. A szérum, hereszövet hormonszintjei között összefüggés feltételezhető, ennek statisztikai igazolásához nagyobb mintaszámra van szükség. A jövőben kutya, macska fajban még nem vizsgált faktorok jelenlétének immunhisztokémiai vizsgálatát (InsI3, AMH), és tervezzük a hereszövet hormonszintjével korreláló szérumban mérhető metabolitok kimutatását is. A kidolgozott laboratóriumi módszerek a nemi fejlődés és differenciálódás nyomon követésére, illetve a klinikai gyakorlatban egyaránt felhasználhatók lesznek.

A DILATATIÓS CARDIOMYOPATHIÁS KUTYÁK TÚLÉLÉSÉNEK RETROSPEKTÍV VIZSGÁLATA

Zsámbéki Eszter, Kiss Gergely², Manczur Ferenc¹

A dilatációs cardiomyopathia (DCM) a kutyák második leggyakoribb szívbetegsége. Elsősorban középkorú nagytestű kanokban és cocker spánielekben fordul elő. A betegséget az egyik vagy mindkét kamra fokozatos kitágulása és a szívizom szisztolés és diasztolés funkciójának egyre súlyosbodó romlása jellemzi. A DCM pontos etiológiája nem ismert, azonban mind több fajtában igazolták annak örökletes voltát. Mivel a genetikai háttér még nem tisztázott, a DCM fenotípusos megjelenése alapján gyakran megkülönböztethetetlen a toxikus, takarmányozási vagy fertőző eredetű szívizom károsodástól. A valódi DCM kimondottan rossz prognózisú, az érintett kutyák többsége az első tünetek jelentkezését követő évben elpusztul. Egyes fajtákban gyakori a ritmuszavarok miatti hirtelen szívhalál előfordulása.

Retrospektív elemzésünkben egy négy és fél éves időszakban (2004-2008) vizsgáltuk a SZIE ÁOTK Belgyógyászati Tanszékén DCM-el diagnosztizált kutyák adatait. Az adatok feldolgozása során leíró statisztikát és a túlélést meghatározó tényezők vizsgálatára többváltozós Cox regresszió analízist használtunk. A vizsgált változók a következők voltak: kutyák fajtája, neme, kora és a pitvarremegés előfordulása, továbbá a digoxin, pimobendán, carvedilol kezelés hatása.

A vizsgált időszakban összesen 83 kutyában diagnosztizáltunk DCM-et. Ezek közül 56 esetben tudtuk az egyes változók túlélésre gyakorolt hatását vizsgálni. A DCM különösen Dobermanokban és Cocker spánielekben fordult elő gyakrabban. A kutyák átlagosan 8 évesek voltak a betegség diagnosztizálásakor, többségük (84,4%) kan volt. Hatvannégy százalékuk szenvedett pitvarremegésben. A medián túlélés 137 napnak adódott. A Cox regresszió analízis nem tudott szignifikáns összefüggést kimutatni a vizsgált változók és a túlélés között. A digoxin, pimobendán és carvedilol kezelés kissé növelte az állatok túlélését, míg a fiatal életkor, a pitvarremegés megléte és a német juhász fajta a prognózist rontó tényezőnek tűnt adataink alapján.

HAGYOMÁNYOS ÉS ELEKTRONIKUS FONENDOSZKÓPOK ÖSSZEHALONLÍTÁSA KUTYÁK SZÍVZÖREJEINEK VIZSGÁLATA SORÁN

Vörös Károly¹, Reiczigel Jenő², Anna Bonnevie¹ állatorvostan-hallgató

Vizsgálataink fő céljaként tanulmányoztuk a hagyományos (Littmann, Rappaport-Prague) és az elektronikus szenzorral ellátott (Welch Allyn – Meditron) fonendoszkópok érzékenységét és diagnosztikai alkalmasságát a kutyák szívzörejeinek felismerését illetően, a kapott leleteket összehasonlítva a diagnosztikai standardként figyelembe vett echokardiográfiás vizsgálatok eredményeivel. Ennek keretében összevetettük a kétféle fonendoszkóppal kapott hallgatózási leleteket azokban az esetekben, amikor az előzetes vizsgálatok (kórelőzmény, mások szívhallgatózási lelete) alapján szívzörejek voltak hallhatók, illetve feltételezhetők. Kutatásunk másik célja annak megállapítása volt, hogy van-e különbség a hagyományos és az elektronikus fonendoszkóp diagnosztikai hasznossága között, eltérő kardiológiai vizsgálati tapasztalatokkal bíró vizsgáló személyek esetén.

Összesen 21 olyan kutyát választottunk ki a SZIE ÁOTK Kisállatklinikájának beteganyagából, amelyek feltételezhetően szívzorejvel rendelkeztek, vagy annak kizárására volt szükség, a beküldő állatorvos, illetve a betegfelvételt végző klinikai állatorvos előzetes fizikális vizsgálati lelete alapján. A kutyákat egymástól függetlenül megvizsgálta – mindkét típusú fonendoszkóppal – a szerzők közül AB, mint kezdeti kardiológiai vizsgálati tapasztalatokkal bíró személy, valamint VK, aki e tekintetben több évtizedes gyakorlattal rendelkezik. A 21 kutya közül 6 egyedben két szívzorej fordult elő, így összesen 27 szívzorej/feltételezett szívzorej esetében végeztük el a vizsgálatokat. A hallgatózásos vizsgálatok és az echokardiográfiás leletek alapján felállított diagnózisok eredményeit statisztikai számításokkal is összevetettük.

A szívzorejek meglétét, illetve hiányát illetően AB 20 esetben állított fel helyes diagnózist a hagyományos fonendoszkóppal, az összesen 27 eset vizsgálatakor ($p = 0.30$, $kappa = 0.2$), míg az elektronikus fonendoszkóppal 25 szívzorej/feltételezett szívzorej esetében jutott helyes diagnózishoz az echokardiográfia eredményeihez képest ($p = 0.0013$, $kappa = 0.75$).

VK helyesen állapította meg a szívzorej meglétét vagy hiányát a hagyományos fonendoszkóppal 25 esetben, a 27 közül ($p = 0.0013$, $kappa = 0.75$), míg az elektronikus fonendoszkóppal mind a 27 esetben helyes diagnózishoz jutott ($p = 0.00012$, $kappa = 1$). A szívzorejeknek az I – VI/ VI-os erősségi skála szerinti osztályozásakor a besorolási eredmények szignifikánsan hasonlóak voltak, AB és VK saját vizsgálatain belül, a hagyományos és az elektronikus fonendoszkóppal kapott leletek összehasonlítását illetően (AB: $p = 6.9 \times 10^{-8}$, $kappa = 0.79$; VK: $p = 5.2 \times 10^{-11}$, $kappa = 0.92$). AB és VK e tekintetben egymással összevetett eredményei szignifikánsan hasonlóak voltak (a szívzorejek erősség szerinti besorolásakor) a hagyományos fonendoszkóp tekintetében is $p = 2.9 \times 10^{-7}$, $kappa = 0.79$), de a hasonlóság szignifikancia-szintje még kifejezettebb volt az elektronikus fonendoszkóp alkalmazásakor $p = 1.1 \times 10^{-11}$, $kappa = 0.92$).

A vizsgálatokhoz igénybe vett elektronikus fonendoszkóp érzékenyebb és nagyobb diagnosztikai pontossággal használható a kutyák szívzorejeinek felismerésekor és azok erősség szerinti besorolásakor, a hagyományos fonendoszkópokhoz képest. Ez különösen AB, mint kezdeti tapasztalatokkal rendelkező vizsgáló tekintetében mutatkozott meg. Mindazonáltal a hagyományos és az elektronikus fonendoszkópok együttes igénybevételét javasoljuk annak érdekében, hogy ezek sajátosságos előnyei egyaránt felhasználhatók legyenek a kardiológiai diagnosztikai munka során.

A SZÍVFREKVENCIA-VARIANCIA – TÖRTÉNETE, MÓDSZERTANA, KIAKNÁZATLAN LEHETŐSÉGEI AZ ÁLLATORVOSLÁSBAN

Kővágó Csaba¹, Andocs Gábor³ és Szász András²

A szívfrekvencia-variancia (Heart Rate Variability, HRV) meghatározása az elmúlt évtizedekben gyakran volt a humán vizsgálatok tárgya. A HRV önmagában nem más, mint az egymást követő szívütések között eltelt idő változékonysága az időben. A kiindulási információ egy EKG görbe, - praktikusán Einthoven 2-es vagy ezzel egyenértékű elvezetéssel felvéve, hiszen ebben az esetben lehet az R hullámokat a lehető legjobban kiemelni – melyből számítógépes program segítségével meghatározzák a az R csúcsok között eltelt időt, így a HRV-t, mely ezután rendszerint egy grafikonon kerül ábrázolásra az idő függvényében. Természetesen nem csupán ezt az egyféle grafikus megjelenítésű eredmény tanulmányozható a vizsgálat során, hanem számos idő és frekvencia alapú paraméter származtatható a nyert adatsorból.

Az idő alapú paraméterek közé tartoznak mindazok az értékek, melyek a HRV időbeni lefolyását, átlagértékeit, szórásértékeit fejezik ki. Ilyenek például az RR távolságok átlaga és szórása, a szívfrekvencia átlaga és szórása, az összes mért RR távolság gyakorisági diagramja (hisztogramja).

Amennyiben a HRV diagrammon megjelenített adatsort egy időben változó jelnek tekintjük, akkor vizsgálhatjuk a jel felépítésében részt vevő különböző frekvenciájú és amplitúdójú komponenseket. Így állnak elő a *frekvencia alapú paraméterek*, melyeket gyors Fourier-transzformáció (FFT) vagy Autoregresszív-spektrum (AR) analízis segítségével vonhatjuk ki a HRV jelsorozatból. Mivel az emlős szervezet legtöbb szabályozó mechanizmusa (autonóm idegrendszer, renin-angiotenzin rendszer, hőszabályozás, stb) nem folyamatosan küld impulzusokat, hanem szakaszosan, saját frekvencia szerint, így a *frekvencia alapú paraméterek* segítségével vizsgálható a szervezet különböző regulátor rendszereinek aktivitása.

Külön említést érdemel a módszer azon tulajdonsága, hogy képes vizsgálni a szív működés rövid- és hosszútávú önhasonlósági, fraktális viszonyait. Bár az ilyen vizsgálatok biológiai értéke még kutatások tárgya, az eddigi eredmények arra mutatnak, hogy a szervezet mint komplex rendszer akkor működik tökéletesen, ha valamilyen fraktálszimmetriát mutat.

Előadásunkban a mérhető és származtatható paraméterek bemutatása mellett igyekszünk rámutatni a módszer eddigi humán és állatorvosi alkalmazásaira, illetve a további lehetőségekre. Fontosnak tartjuk megemlíteni, hogy ez a fajta vizsgáló eljárás nem kizárólag a szív működést veszi górcső alá, hanem a szervezet működésének egészét rendszerszinten igyekszik feltérképezni. Bár sok tekintetben további vizsgálatok szükségesek a HRV eljárások diagnosztikai munkába való bevezetéséhez, mindenképpen érdemes számításba venni a módszerben rejlő lehetőségeket.

A SZÍVFREKVENCIA-VARIANCIA VÁLTOZÁSAI LIDOCAIN ADAGOLÁS HATÁSÁRA EGÉR ÁLLATMODELLBEN

Váczy Borbála, Kóvágó Csaba¹, Lehel József¹ és Szász András²

Az elektrokardiográfia elterjedt módszer a szív állapotában bekövetkező, egy-egy eseményhez köthető, kiugró változások vizsgálatára. Ezzel szemben az RR-intervallumok időbeli változásán alapuló szívfrekvencia-variancia (HRV) analízis egy új, és leginkább még csak humán pácienseken alkalmazott eljárás, amely az esetleges kiugró eltéréseket figyelmen kívül hagyja, inkább a szisztematikusan mutatkozó tendenciákra koncentrálnak. Sokkal több információ lelhető fel ebben a jelsorozatokban – mind a szívre, mind a szervezet egészére vonatkozóan –, mint amennyit az orvos- és állatorvos-tudomány jelenleg kiaknáz. Bár biológiai jelentésük még nem teljesen tisztázott, számos idő- és frekvencia alapú módszer létezik, amelyeket a szívfrekvencia-variancia vizsgálatára használnak.

A szívfrekvencia-variancia is olyan élettani folyamat, amely a fraktáldinamika szerint alakul, vagyis statisztikailag önhasonló alegységekből és al-alegységekből épül föl a szívverések jelsorozata. Ha ez a komplexitás megbomlik, és akár a túlzott rendezettség, akár a véletlenszerűség irányába tolódik, az valamilyen életkorral járó vagy patológiás folyamatra utal.

Kísérleteinkben a lidocain, mint közismerten antiarrhythmias hatóanyag HRV-re gyakorolt hatásait vizsgáltuk 3, 9, 30, illetve 60 mg/ttkg dózisban alkalmazva (1-4. csoport), csoportonként 10-10 – illetve a 4. csoportban 6 –, a BALB-C törzsbe tartozó egéren, amelyeket ivarilag elkülönített ötös csoportokban tartottunk. Az értékelés során az egyes egyedek kezelés előtti értékeit hasonlítottuk a lidocainnal történt kezelést követőekhez. Ehhez felhasználtuk az EKG alapján számított szívfrekvenciát, az RR-intervallumok szórását és a trianguláris indexet. A rögzített jelet a Poincaré plot és a gyors Fourier transzformáció (FFT) segítségével is vizsgáltuk. Az összes kapott értéket statisztikailag elemeztük. Tapasztalataink szerint a Poincaré plottal számított két szórásérték közül a rövidtávú variációt leíró SD1 nő az 1. és a 2., míg csökken a 4. csoportnál, a hosszútávú variációt szemléltető SD2 pedig a 2. és 4. csoportban csökken, a 3. csoportban viszont nő a kezelés hatására. Az FFT-vel nyert, és a sympathicus-parasympathicus egyensúlyt jellemző LF/HF hányados a 2. és 3. csoportnál nő, a 4-esnél ugyanakkor csökken. Az RR intervallumok szórása, illetve az RR-intervallumok hosszának eloszlását (és így a variancia mértékét) tükröző trianguláris index az 1. csoportnál még stabilan növekszik, a 4-esnél azonban már csökken. A mérési adatok alapján az első három csoportban lidocain hatására csökken a szívfrekvencia.

A kapott eredményekből arra következtettünk, hogy az alacsonyabb dózisok esetén a lidocain növeli a rövidtávú variabilitást és csökkenti a szívfrekvenciát (antiarrhythmias hatás), nagy dózison azonban ezek a hatások már nem érvényesülnek, továbbá, hogy alacsonyabb dózisu lidocain hatására az autonóm egyensúly a sympathicotonia felé tolódik, a nagy dózis ezt a tendenciát megfordítja.

SZIE - ÁOTK, Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszék¹
SOTE II. számú Pathologiai Intézet. Üllői út 93. H-1091 Budapest²
SZIE - ÁOTK Gyógyszertani és Méregtani Tanszék³
SZIE – ÁOTK Belgyógyászati Tanszék és Klinika⁴

Klinikum

CLAUDIN-7 ÚJ IMMUNHISZTOKÉMIA MARKER A KUTYÁK CHOLANGIOCARCINOMÁJÁNAK ÉS HEPATOCELLULARIS CARCINOMÁJÁNAK DIFFERENCIÁL DIAGNOSZTIKÁJÁBAN

Jakab Csaba¹, Kiss András², Schaff Zsuzsa², Szabó Zoltán⁴, Rusvai Miklós¹, Gálfí Péter³
Szabára Ágnes¹, Sterczler Ágnes⁴ és Kulka Janina²

Bevezetés: A claudin molekulák a paracellularis dinamikus transzport folyamatokat befolyásoló tight junction fehérjék, melyek számos egyéb strukturális és funkcionális szerepet játszanak az intercellularis kapcsolatokban.

Cél: Munkánk során célul tűztük ki, hogy a kutyák epeúti és a májsejtekből kiinduló daganatos elváltozásainak elkülönítésére alkalmas claudin molekulát találjunk.

Módszer: A szerzők a SZIE-ÁOTK Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszékének necropsiás eredetű, paraffinba ágyazott, tumorarchívumából szelektált mintákat dolgoztak fel. Munkájuk során 108 db tumort: 15 db *intact májszövetet*, 10 db *hepatocellularis nodularis hyperplasiát*, 6 db *hepatocellularis adenomát*, 15 db *differenciált hepatocellularis carcinomát (cHCC)*, 6 db *rosszul differenciált cHCC-t*, továbbá 6 db *cholangiocellularis hyperplasiát* (cirrhoticus máj), 10 db *cholangiocellularis adenomát*, 15 db *differenciált cholangiocellularis carcinomát (cCCC-t)*, 6 db *differenciálatlan cCCC-t*, 6 db *intact extrahepaticus epeutat*, 8 db *intact epehólyagot* és 5 db *cysticus mucinosus epehólyag nyálkahártya hyperplasiát* vizsgáltak meg. A standard körülmények között konzervált tumorminták immunhisztokémiai vizsgálata során, a SOTE II. számú Pathologiai Intézetében, anti-claudin-7 antitestet használták fel.

Eredmény: Vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy a claudin-7 molekula egyértelműen detektálható, intenzív membrán pozitivitást mutatott az intact epeutak hámsejtjeiben, a jóindulatú epeúti proliferációkban, az intrahepaticus cCCC-ákban, továbbá az extrahepaticus epeutak és az epehólyag nyálkahártyáját bevonó hámsejtjeiben. Ezzel szemben az ép hepatocyták, a benignus és malignus intrahepaticus májsejttumorsejtjeiben egyértelmű claudin-7 negativitást mutattak.

Következtetés: A szerzők a vizsgálati eredményeik alapján a kutyák benignus és malignus epeúti, ill. hepatocellularis daganatainak immunhisztokémiai differenciálásában biztos markerként javasolják a claudin-7 molekulát.

MACSKÁK SZÁJÜREGÉBEN JELENTKEZŐ GYULLADÁSOS FOLYAMATOK FERTŐZŐ EREDETÉNEK OKTANI VIZSGÁLATA: RÉSZEREDMÉNYEK

Sterczer Ágnes¹, Dunay Miklós², Demeter Zoltán³, Jakab Csaba³, Fridél Zoltán⁴, Végh Borbála³, Rusvai Miklós³

A macskák szájüregében jelentkező elváltozásokat gyakran hozzák összefüggésbe különböző fertőző ágensekkel, mint például vírusokkal és baktériumokkal. Korábbi felmérések keretén belül a stomatitises macskákban a macska leukémia vírusát (FeLV), a macska fertőző immunhiány vírusát (FIV), macska calicivírust (FCV), macska 1-es típusú herpesvírust (FHV1), a baktériumok közül pedig a *Chlamydomphila psittaci*-t és a *Bordetella bronchiseptica*-t sikerült kimutatni. Munkánk keretében eddig 11 stomatitises macska esetében vizsgáltuk a korábban említett kórokozók jelenlétét. Fizikális vizsgálattal a macskákat - a tünetek súlyossága alapján - 4 kategóriába soroltuk, majd vért vettünk haematológiai, biokémiai paraméterekre (alanin-aminotranszferáz, gamma-glutamiltranszferát, kreatinin, albumin, total protein) valamint virológiai vizsgálatokra. A FeLV és FIV meghatározást ELISA módszerrel is elvégeztük. A szájüregi elváltozásokból altatásban tampon és bioptátum mintát vettünk. A kórokozók kimutatását a klinikai mintákban (peripheriás vérből szeparált leukocyták, szájüreg-tamponok és biopsziák) polimeráz láncreakció (PCR) alapú eljárások segítségével kíséreltük meg. Mindegyik kórokozót külön reakcióban vizsgáltuk pozitív és negatív kontrollok felhasználása mellett. A reakciók során keletkezett amplikonok méretét standard 50 bp molekulatömeg marker segítségével határoztuk meg. A sebészeti beavatkozás során nyert biopsziákat pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk 24 órán keresztül, majd a rutin kórszövettani technikák alkalmazásával a kapott szövetmetszeteket hematoxilinnal és eozinnal, illetve Giemsa-módszerrel festettük és fénymikroszkóp segítségével vizsgáltuk. PCR-alapú vizsgálataink során az eddig vizsgált 11 állatból származó vérminták közül néhány esetben sikerült kimutatni FIV provírust, viszont a többi kórokozó esetében negatív eredményt kaptunk. A szájüreg-tampon minták közül egyben igazoltuk az FCV genom jelenlétét. Az ELISA módszerrel végzett FIV tesztek mind a 11 állatnál negatívak voltak, és 1 esetben volt pozitív a FeLV teszt eredménye. A kórszövettani vizsgálat során főleg nem specifikus, idült, lymphoplasmasejtes stomatitist figyeltünk meg. Az eddig vizsgált kórszövettani minták közül csupán egyben állapítottunk meg eosinophilsejtes granuloma komplexre jellemző elváltozásokat.

A kapott eredmények azt sugallják, hogy a magyarországi, stomatitis klinikai jeleit mutató macskapopulációban a FIV fertőzés gyakori. Ugyanakkor a többi, a szakirodalomban a stomatitissel gyakran összefüggésbe hozott kórokozók előfordulása minimális, mivel az általunk vizsgált mintákban a FIV-en kívül csupán 1 FCV pozitív esetről tudunk beszámolni, míg az FHV1, FeLV, *Chlamydomphila psittaci*, FPLV jelenlétét nem sikerült kimutatni. Vizsgálataink részeredményei arra engednek következtetni, hogy az egyes kórokozók magyarországi előfordulásának gyakorisága jelentősen eltér a hasonló jellegű, de más országokban végzett felmérések eredményeitől. Ugyanakkor az egyes kórokozók egzakt oktani szerepének megállapításához mindenképp nagyobb számú minta feldolgozása indokolt, akár hasonló számú negatív kontrollok felhasználása mellett.

Az elvégzett vizsgálatok anyagi háttérét az NKB 15946 fedezte. A szerzők köszönettel tartoznak a Rhone Vet Kft. által nyújtott segítségért.

C-REACTIVE PROTEIN ÉS A THYROXIN PROGNOZTIKAI ÉRTÉKE AKUT PANCREATITISBEN MEGBETEGEDET KUTYÁKBAN

Pápa Kinga doktorandusz¹, Máthé Ákos PhD¹, Psáder Roland doktorandusz¹, Abonyi Tóth Zsolt doktorandusz², Szenes Krisztina³, Vörös Károly¹, Sterczer Ágnes¹

Az akut pancreatitis gyakori megbetegedés kutyákban. A betegség súlyosságának korai megállapítása valamint az életet veszélyeztető komplikációk kialakulásának időben történő előrejelzése elengedhetetlen a prognózis felállításához és a megfelelő terápiás beavatkozás elvégzéséhez. A humán gyakorlathoz hasonlóan az állatorvosi praxisban is nagyon hasznos lehet egy prognosztikai index alkalmazása, mely számos klinikai és laboratóriumi paramétert is magába foglalva segíti a hasnyálmirigy-gyulladás súlyosságának megítélését.

Vizsgálataink célja pancreatitiszes kutyák vérérumában mérhető akut fázis fehérje, a C-reactive protein (CRP) valamint a thyroxin prognosztikai értékének felmérése volt.

Retrospektív kutatásunkat a Belgyógyászati Tanszéken 2006 és 2009 között heveny hasnyálmirigy-gyulladással kezelt 15 kutya bevonásával végeztük. Kizárólag azokat az eseteket vizsgáltuk, ahol az akut pancreatitis diagnózisát a tüneteken kívül a legjobb diagnosztikai értékű tesztnek tartott cPLI (canine Pancreas Lipase Immunoreactivity) kórosan megemelkedett értéke is alátámasztotta.

Statisztikai számításainkat Fisher egzakt teszttel végeztük. A 15 betegből 6 (40%) elpusztult és 9 (60%) felépült. Mind a 15 egyedben a CRP értéke a referencia tartomány (CRP < 10 mg/l) felett volt. Valamennyi elhullott kutya vérérumának CRP szintje 30 mg/l felett volt, míg a 9 javult betegnél a CRP 6 esetben 30 mg/l alatt és 3 esetben 30 mg/l felett volt mérhető. Szignifikáns különbség (P=0,0278) volt a javult és az elhullott állatok CRP értékében a magas (> 30 mg/l) értéktartományban.

Pajzsmirigyhormon szintet (T4) 15-ből 14 esetben vizsgáltunk. A thyroxin szint 11 állatban volt kórosan alacsony (referencia: 17-54 nmol/l). Szignifikáns különbség volt tapasztalható az állatok felépülésében annak alapján, hogy a thyroxin szint a legkisebb mérhető tartomány (6,4 nmol/l) alatt volt vagy e fölötti értéket mutatott, függetlenül attól, hogy hypo- vagy euthyreoid volt-e az állat (P=0,0097).

Előzetes eredményeink rámutatnak arra, hogy a CRP valamint a thyroxin szint mérése prognosztikai értékű lehet akut pancreatitisben megbetegedett kutyák esetében, ezért a korábban felállított prognosztikai modelleket érdemes kiegészíteni a két utóbbi laboratóriumi paraméter vizsgálatával.

A kutatás anyagi fedezetét részben az 15946-os számú NKB pályázat biztosította..

REDOX PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA VESEBETEG KUTYÁK VÉRPLAZMÁJÁBAN

Pétsch Márta¹, Gaál Tibor¹ CSc, Ribiczeyné Sz. Piroska.¹, Szabó Bernadett², Tretter Olga hallgató¹, Balogh Krisztián³, Mézes Miklós³, Jakus Judit²

Bevezetés: kutyák egyik leggyakoribb betegsége a veseelégtelenség, ami idült esetben fokozatosan, heveny esetben hirtelen a vesefunkció beszűküléséhez és a veseműködés leállításához vezethet. Krónikus esetekben a tünetek a vesebetegség kezdete után hónapokkal, évekkel később jelentkeznek, rutin laboratóriumi vizsgálatokkal ez csak akkor állapítható meg, amikor a vese 66-75 %-a már nem működik. Sok idős kutyában megállapítható a vese valamilyen mértékű károsodása, amit időben megkezdett terápiával lehetne lassítani. A helyes diagnózis és terápia beállításához azonban ismerni kell a veseelégtelenség kialakulásának mechanizmusát, illetve a jellemző paramétereket, amelyek befolyásolásával eredményes lehet az állapot kezelése. Sok egyéb laboratóriumi paraméter mellett a redox molekulák vizsgálata vesebeteg kutyákban még eléggé kezdetleges stádiumban van, ezek feltérképezése indokolt.

Cél: irodalmi adatok alapján olyan redox paramétereket találni, amelyek hasznosak lehetnek a terápia szempontjából.

Módszerek: 39 élettani és 45 emelkedett vérkreatininű kutya (vérplazma kreatinin koncentrációja >140 µmol/L) véréből mértünk különböző redox és rutin laboratóriumi összetevőket. Az oxidatív paraméterek között a teljes vér stacioner szabadgyök koncentrációját elektron spin rezonancia (ESR) spektroszkópiával, míg a lipidek oxidációját malondialdehid és hidroxinonenál, a fehérjék oxidációját pedig karbonilációs termékek meghatározásával állapítottuk meg. Ugyanakkor mértünk néhány, a vesebetegség szempontjából lényeges antioxidáns paramétert is: glutation arányt, SOD enzimaktivitást, FRAP, TAS értéket.

Eredmények: (i) A teljes vérben mért összgyök mennyisége szignifikánsan nagyobb volt a vesebeteg kutyákból vett mintákban, mint az egészségesekben. (ii) A malondialdehid magában nem mutatott eltérést, de a hidroxinonenállal kiegészítve a lipidperoxidációs markerek egészében jelentős eltérést mutattak a kontrollhoz képest. (iii) A protein – karboniláció jelentősen emelkedett a vesebeteg állatok plazmájában. (iv) Az általunk mért antioxidánsok közül a SOD aktivitása volt nagyobb a vesebetegekben, illetve mind a TAS, mind a FRAP módszerrel mért antioxidáns kapacitás magasabbnak mutatkozott a beteg kutyák vérplazmájában.

Következtetések: a vesebeteg kutyák vérmintáiban kimutatható az oxidatív stressz jelenléte, a lipidperoxidáció fokozódása. Kérdés, hogy az antioxidánsokat tartalmazó diéta ajánlása mellett mivel tudnánk még hozzájárulni a súlyosan vesebeteg állatok túléléséhez, illetve az életminőségük javításához?

A vizsgálatokat az OTKA 61566 és 49753 pályázatok támogatták.

A BELSŐ RECTUS HÜVELYBŐL KÉPZETT VÉNÁS AUTOGRAFTOK KÍSÉRLETES VIZSGÁLATA KUTYÁBAN

Csébi Péter

Irodalmi áttekintés

Az érsebészeti autograftokat jelenleg perifériás érszakaszok felhasználásával biztosítják a gyakorlatban. A kutatási témánk jelentőségét az adja, hogy a belső rectushüvelyből képzett autograftok felhasználhatósága esetén bizonyos esetekben megkímélhetőek lennének perifériás érszakaszok. A belső rectus hüvelyből képzett érautograftok felhasználása során kedvező eredmények születtek az arteria femoralis esetében. A beültetett tubularis interpositumok jól funkcionáltak és beépültek az arteria szerkezetébe. A vénás rendszerben való felhasználhatóságukat ezideig még nem vizsgálták.

Anyag és módszer

Kísérleti beagle kutyákon végeztük a vizsgálatokat. A belső rectushüvelyből vénás „falt” (patch) graftokat készítettünk mesterségesen ejtett kb. 1 cm hosszú vénasebek fedésére. Az érkirekesztővel izolált vénaszakaszra 6/0-ás érsebészeti varróanyaggal rögzítettük graftot, úgy, hogy a peritoneum nézett az ér lumene felé. A műtétet mindkét oldali vena jugularison és mindkét vena iliaca communison elvégeztük. A műtétet követően két hétig naponta 2x200 NE/ttkg Heparint adtunk véralvadástgátlóként. A graftok funkcióképességét rendszeres időközönként végzett doppler-ultrahang vizsgálattal és egy alkalommal CT angiographiával ellenőriztük. A vena jugularis graftok esetében 3 hónapos, a vena iliaca communis graftok esetében 6 hónapos utánkövetés után a graftokat tartalmazó érszakaszokat eltávolítottuk és a rutin hisztopatológiai valamint immunhisztokémiai (caludin 5, CD 31) vizsgálatokat végeztünk.

Eredmények

Összesen 4 kutyán végeztük el a falt graftok vena jugularisba és vena iliaca communisba való beültetését. Így összesen 8 vena iliaca communis és 7 vena jugularis graftot alakítottunk ki. A doppler ultrahangos és a CT angiographiás ellenőrző vizsgálatok nem mutattak morfológiai vagy véráramlási rendellenességet a graftok területén. A szövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok igazolták, hogy a rectushüvelyből képzett graftok beépültek a vénafalba, és lumenüket endothel réteg fedte be. Gyulladásos vagy rejekciós jeleket nem lehetett látni. Mindezek alapján a belső rectushüvely alkalmas autolog vénás faltgraftként történő felhasználásra.

METILGLIOXÁL KEZELÉS HATÁSA A NUDE EGEREKBEN KIFEJLŐDÖTT HUMÁN VASTAGBÉL KARCINÓMA EREDETŰ TUMOROKRA

Perényi Zsolt¹, Jakab Csaba², Csizinszky Rita¹ és Gálfi Péter¹

A daganatterápia számára potenciális lehetőséget jelent olyan vegyületek alkalmazása, melyek a tumorok, megváltozott, egészséges sejtektől eltérő energiatermelő rendszerét célozzák meg. Ilyen vegyület a metilglioxál (MGO) amely az élő szervezetben főleg a glikolízis folyamán szabadul fel, kisebb mértékben pedig a threonin anyagcsere illetve lipidperoxidáció során keletkezik. Az MGO fő támadáspontja a sejtlegzésben fontos szerepet betöltő mitochondriális elektrontranszport, valamint számos glikolízisben kulcsszerepet betöltő enzim (glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz, kisebb mértékben glükóz-6-foszfát dehidrogenáz). Az MGO fenti molekuláris célpontokon kifejtett gátló hatása szelektív, kizárólag a tumorsejtek ATP szintézise károsodik, míg az egészséges sejtek energiatermelő folyamatai nem szenvednek zavart. Vizsgálatunk során az MGO hatását kívántuk tanulmányozni a nude egerekben kifejlődő humán vastagbél karcinóma (HT-29) eredetű daganatokon.

A tripszinezett, centrifugált és PBS-el $1,5 \times 10^6$ /ml sejtszámra beállított szuszpenzióból 0,1 ml-t injektáltunk 20db 8 hetes BALBc nude egér (10 hím, 10 nőstény) jobb ill. bal combjának bőre alá. Az állatokat randomizáltuk ill. csoportokba soroltuk (kontroll csoport: 5 hím, 5 nőstény, MGO-val itatott csoport: 5 hím, 5 nőstény). A tumorsejtek transzplantációját követő 10. naptól az MGO-t ivóvízben oldva itatással juttattuk az állatok szervezetébe. A kezelést megelőző időszak vízfogyasztását figyelembe véve állapítottuk meg az MGO koncentrációját az ivóvízben, úgy hogy az ne idézzen elő megfigyelhető toxikus tüneteket illetve testtömegcsökkenést. A tumorok tömegét (W) hetente két alkalommal azok haránt (a), illetve hosszanti (b) kiterjedésének mérése révén határoztuk meg az alábbi összefüggés felhasználásával: $W = a^2 \times b / 2$.

Eredményeink szerint, 500 mg/ttkg dózisban az MGO testtömeg csökkenést idéz elő nude egereken, míg ilyen hatás 250 mg/ttkg dózisban nem volt megfigyelhető, így a vizsgálat hátralevő részében az állatok 250 mg/ttkg dózisnak megfelelő koncentrációban kapták az MGO-t ivóvizükbe adagolva. A mortalitási adatok hasonlóak voltak a kontroll és az MGO kezelt nőstények esetén: 2 állat hullott el a megfigyelési időszak alatt mindkét vizsgálati csoportban. MGO kezelt hím egereken nagyobb mortalitást (3/5) észleltünk a kontrollcsoportban mérthez képest (0/5). MGO kezelt nőstény nude egereken a tumorok tömege valamennyi megfigyelési időpontban elmaradt a kontroll nőstényeken meghatározott tumor tömegektől. Hím nude egerek esetén az MGO-val kezelt állatokon paradox módon nagyobb tumor tömeget határoztunk meg a kontrollokéhoz képest.

In vivo vizsgálataink eredménye alapján megállapíthatjuk, hogy a vizsgált dózisban nőstény nude egereken az MGO daganatellenes hatása dominál, míg hím állatokon a daganatok erre a dózissal paradox módon reagálnak. Az MGO kezelt hím állatokon megfigyelt nagyobb mértékű mortalitás valószínűleg az MGO toxicitásával, illetve a hím állatok nagyfokú érzékenységevel függ össze.

A BÉLHÁMSEJTEK OXIDATÍV STRESSZ OKOZTA GYULLADÁSÁNAK GÁTLÁSA PROBIOTIKUS TEJSAVBAKTÉRIUMOKKAL

Csizinszky Rita, Szekér Krisztina, Csibrikné Németh Edina és Gálfi Péter

ATTENUATION OF OXIDATIVE STRESS-INDUCED INFLAMMATION BY PROBIOTIC LACTOBACILLI IN INTESTINAL EPITHELIAL CELLS

Rita Csizinszky, Krisztina Szekér, Edina Csibrikné Németh and Péter Gálfi
Galfi.Peter@aotk.szie.hu

Az elmúlt években a kis-dózisú antibiotikumok hozamfokozóként való felhasználását az Európai Közösség betiltotta, mivel bizonyos antibiotikumokkal szemben egyes kórokozó baktériumokban rezisztencia alakult ki. Ebből adódóan egyre növekszik az igény arra vonatkozólag, hogy a kis-dózisú antibiotikumokat különféle természetes anyagok, pl. probiotikumok váltsák fel. A probiotikumok pozitív hatásait már számos esetben igazolták a bélrendszer fertőzéseinek, rendellenességeinek illetve betegségeinek megelőzésében és/vagy kezelésében, azonban a jelenségek mögött húzódó mechanizmusok még sok esetben tisztázásra várnak. Vizsgálataink során probiotikus baktériumok és anyagszere termékeik hatását kívánjuk tanulmányozni oxidatív stressz okozta citokin-termelés mérséklésére.

A kísérletekben *in vitro* bélhámsejt vonalakat alkalmazunk modellként (korábbi nemzetközi és hazai vizsgálatok alapján), melyekben az oxidatív stresszt reaktív oxigén specieszekkel (H_2O_2) idézzük elő. Az oxidatív stressz okozta citokin-termelés (interleukin-8, IL-8) alakulását *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* baktériumokkal és anyagszere termékeikkel befolyásoljuk.

Jelenlegi munkánk során a H_2O_2 -vel és a probiotikus baktériummal történő kezelés körülményeit pontosítottuk, hogy modellünk megfelelő legyen a további vizsgálatokhoz. Az előkísérletekben használt humán vastagbél adenokarcinoma sejtvonal (CaCo-2) hasonlóan spontán módon differenciálódik (transzepithelialis rezisztencia (TER) emelkedés), mint a további kísérletekhez tervbe vett IPEC-J2 sertés jejunum sejtvonal. Vizsgáltuk a tenyésztés (tenyésztőedény felületén, vagy membránon szaporított sejtek), a H_2O_2 kezelés (koncentráció és időtartam) és a probiotikum sejtmentes szűrletével történő kezelés (H_2O_2 kezelés előtt, együtt, vagy után) körülményeit.

Eredményeink szerint az oxidatív-stressz által előidézett sejthalál (nekrózis) a tenyésztőedény felületén szaporított sejtek esetén könnyebben kialakul (1 mM/l H_2O_2), mint a membránon tenyésztetteknél (10 mM/l). Az IL-8 koncentráció emelkedése dózis és időfüggő, mind a tenyésztőedény felületén, mind membránon tenyésztett sejtek esetében, bár membránon az apikális H_2O_2 kezelést követően az IL-8 mennyisége apikálisan magasabb, mint bazolaterálisan. A probiotikus baktérium szűrletével történő kezelés legjobban a H_2O_2 kezeléssel együtt alkalmazva csökkentette az IL-8 szekréciót tenyésztőedény felületén szaporított sejtek esetén.

Előkísérleteink alapján az IPEC-J2 sejtvonallal tervezett vizsgálataink során az oxidatív stressz okozta gyulladós folyamatok tanulmányozására a sejteket membránon szaporítjuk, mivel jobban modellezi az *in vivo* viszonyokat (apikális és bazolaterális kompartmentek kialakulása, ami a TER növekedésével ellenőrizhető), a H_2O_2 kezelés megfelelő koncentrációja 1mM/l, az IL-8 szekréció mérésére a 24 órás inkubáció, az apikális és bazolaterális mintavétel alkalmazható. Továbbá a probiotikus baktériumok szűrletét célszerű a H_2O_2 kezeléssel együtt alkalmazni.

A kutatás az OTKA 76133 pályázat támogatásával készült.

A NÁTRIUM-N-BUTIRÁT HATÁSA A CYP450 ENZIMEK GÉNEXPRESSZIÓJÁRA HÁZITYÚKBÓL IZOLÁLT PRIMER MÁJSEJTEKEN

Csikó György, Fekete Tímea, Székér Krisztina, Jerzsele Ákos és Csizinszky Rita

EFFECT OF SODIUM-N-BUTYRATE ON THE GENE EXPRESSION OF CYP450 ENZYMES IN PRIMARY CULTURE OF CHICKEN LIVER CELLS

György Csikó, Tímea Fekete, Krisztina Székér, Ákos Jerzsele and Rita Csizinszky
Csiko.Gyorgy@aotk.szie.hu

Az antibiotikumokat egyes állatfajoknál, így baromfifajoknál is, a gyógykezelés mellett hozamfokozásra szintén használhatták. Ez utóbbi indikáció azonban jelentősen hozzájárult az antibiotikum-rezisztencia terjedéséhez. Ezért az antibiotikumok hozamfokozás céljára történő alkalmazását az Európai Unióban betiltották. Helyüket egyéb alternatív hozamfokozó hatású szerek veszik át.

Az antibiotikum-tartalmú hozamfokozók lehetséges alternatívái lehetnek - többek között - az illó zsírsavak, így a vajsav, illetve sói, a butirátok. A vajsav a baktériumokba jutva disszociál, amely gátolja kijutását a sejtből, így abban felhalmozódva baktericid hatást fejt ki. Számos kísérlet igazolta a baromfitakarmányhoz kevert butirát (0,05-0,2%) káros baktériumok (salmonellák) ellenes és hozamfokozó hatását.

A takarmányban alkalmazott butirát felszívódva azonban megváltoztathatja a szövetekben zajló metabolikus folyamatokat, mivel hiszton-deacetyláz gátló aktivitással rendelkezik. Ezáltal befolyásolhatja egyes enzimek expresszióját, így a máj citokróm (CYP450) enzimekét is. Kísérleteink célja ezért az volt, hogy *in vitro* körülmények között, csirkéből izolált májsejtek primer tenyészetén megvizsgáljuk, milyen hatást gyakorol a butirát egyes CYP450 enzimek expressziójára.

A csirke májsejteket három lépésből álló perfúzióval nyertük, majd centrifugálással történő mosást követően a sejteket tápfolyadékban szuszpendáltuk. Ezt követően kollagénnel bevont tenyésztőedényekben, a 24 órán át előinkubált sejteket nátrium-n-butirát különböző koncentrációival (0 mM/l /kontroll/, 1,0, 2,5, 5,0, 7,5 és 10,0 mM/l) további 24 órán keresztül kezeltük. A kezelési idő eltelte után, a sejtekből kivontuk az RNS-t, majd az így nyert mintákból az adott citokróm aloszaládok (CYP1A1, CYP2H1, CYP3A37) expresszióját kvantitatív real-time PCR módszer segítségével határoztuk meg.

Eredményeink szerint a CYP2H1 expressziót az 1,0 mM/l butirát koncentráció nem befolyásolta, viszont a 2,5 mM/l butirát kb. háromszoros (szignifikáns) míg az 5,0, 7,5 és 10,0 mM/l butirát kezelés közel tízszeres (szignifikáns) expresszió-növekedést okozott. Ezzel ellentétben a CYP3A37 és CYP1A1 expresszió butirát jelenlétében szignifikánsan csökkent. A csökkenés a CYP3A37 esetében 40-60%-os, míg CYP1A1 esetében 50-90%-os volt a vizsgált butirát koncentrációknál.

A kísérleti eredmények alapján feltételezzük, hogy a butirát folyamatos adása *in vivo* is befolyásolhatja a máj citokróm enzimjeinek expresszióját, ezáltal hatást gyakorolhat mind az endogén szubsztrátok, mind a xenobiotikumok metabolizmusára.

A kutatás az NKB-15936 pályázat támogatásával készült.

ALTERNATÍV HOZAMFOKOZÓK ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA

Szekér Krisztina¹, Csizinszky Rita¹ és Juanjo Mallo²

DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF DIFFERENT ALTERNATIVE GROWTH PROMOTERS

Krisztina Szekér, Rita Csizinszky and Juanjo Mallo
Szeker.Krisztina@aotk.szie.hu

Az antibiotikum hozamfokozók használata jelentősen hozzájárul a kórokozó baktériumokban az antibiotikum-rezisztencia kifejlődéséhez; ennek megfékezése, illetve megelőzése érdekében az Európai Unió 2006. január 1.-től betiltotta az ilyen típusú készítmények használatát. A betiltott készítmények helyettesítése érdekében alternatív megoldásokra van szükség. Az alternatív hozamfokozók fontos csoportja az ún. „savanyítóké”, melyek egyszerű monokarbonsavak és sóik. Hatásukat úgy érik el, hogy felhalmozódva a patogén baktériumokban csökkentik azok szaporodását. Ugyancsak jelentős antibakteriális hatással bírnak egyes monogliceridek, a zsírsavak glicerollal képzett monoészterei is. Feltételezett hatásmechanizmusuk, hogy beépülnek a baktériumok lipid membránjába, ez által megváltoztatják annak permeabilitását, ami megzavarja a baktériumsejt transzport folyamatait és végül a sejt pusztulásához vezet. Az alternatív hozamfokozók egy igen jelentős csoportját képezik a probiotikumok. Ezek olyan mikroorganizmusok, amelyek jótékony hatással vannak a gazdaszervezet egészségi állapotára, többek között azért, hogy gátolják a szervezetbe bekerülő kórokozó baktériumok megtelepedését és elszaporodását részben a kötőhelyek térbeli gátlása, részben antibakteriális hatású metabolitok termelése révén.

Munkánk során három alternatív hozamfokozó: (i) Na-n-butirát (savanyító), (ii) glicerol-monolaurát (monoglicerid) és (iii) *Bacillus amyloliquefaciens* (probiotikum) antibakteriális hatását vizsgáltuk egyedileg és kombinációban hét patogén baktérium törzsről.

A vizsgált kórokozó baktériumokat (*Salmonella enterica* Enteritidis SE11 Nal, *Salmonella enterica* Typhimurium, *Escherichia coli* HNCMB30292, *Escherichia coli* HNCMB30037, *Campylobacter jejuni* 2903, *Clostridium perfringens* HNCMB105019, *Clostridium perfringens* 5/2) a megfelelő tápközegekben és körülmények között felszaporítottuk, majd a baktérium szuszpenziókat optikai denzitásuk alapján 10^7 /ml koncentrációjúra állítottuk be. A patogén baktériumokat ezután 18 órán keresztül tartottuk a tesztanyagok különböző koncentrációjú oldataiban egyedi és kombinált kezeléseket is alkalmazva. A következő koncentrációkat állítottuk be: (i) Na-n-butirát: 100mM/l, 33.3mM/l, 11.1mM/l, 3.7mM/l, 1.23mM/l, 0.41mM/l és 0mM/l (kontroll), (ii) glicerol-monolaurát: 50mM/l, 16.7mM/l, 5.55mM/l, 1.85mM/l, 0.62mM/l és 0mM/l (kontroll), (iii) *B. amyloliquefaciens* (10^8 CFU/ml, 10^7 CFU/ml, 10^6 CFU/ml, 10^5 CFU/ml és 0 CFU/ml (kontroll)). A vizsgálatokat pH 6 kémhatására pufferealt oldatokkal végeztük. Az inkubációs idő végén szelektív táptalajok segítségével meghatároztuk a baktériumok (patogének és probiotikum) csíraszámát.

A három tesztanyag közül a legjelentősebb szaporodás-gátlást a probiotikum gyakorolta a kórokozókra, és még a legkisebb koncentrációban is hatásos volt. A Na-n-butirát csak a nagyobb koncentrációkban (100mM/l, 33.3mM/l és 11.1mM/l) volt hatásos, míg a glicerol-monolaurát egyáltalán nem, vagy csupán kis mértékben gátolta a patogéneket. A kombinációk közül előnyösnek bizonyult a Na-n-butirát és a glicerol-monolaurát együttes adása, mivel ezek gátló hatása számos esetben összeadódott. Ezzel szemben nem javasolt a *B. amyloliquefaciens* glicerol-monolauráttal való kombinálása, mivel a monoglicerid erősen gátolta a probiotikumot, és ez által megszűnt annak jelentős, patogénekre gyakorolt antibakteriális hatása. A Na-n-butirát és a *B. amyloliquefaciens*

kombinálása is előnyös lehet, azonban fontos a savanyító koncentrációjának gondos megválasztása, mivel kis mértékben ez is gátolta a probiotikum szaporodását.

¹ SZIE-ÁOTK Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

Gyógyszertan

² CEVA-Phylaxia Zrt.

AZ ENROFLOXACIN ÉS COLISTIN KOMBINÁCIÓ SZINERGISTA HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA BAROMFIBÓL IZOLÁLT *E. COLI* ÉS *S. ENTERICA* TÖRZSEKEN

Jerzsele Ákos¹, Bánhidi György²

STUDY ON THE SYNERGISTIC EFFECT OF THE ENROFLOXACIN-COLISTIN COMBINATION IN *E. COLI* AND *S. ENTERICA* STRAINS ISOLATED FROM POULTRY

Jerzsele, Ákos and Bánhidi, György

Jerzsele.Akos@aotk.szie.hu

tibakteriális szerek elleni rezisztencia széleskörű elterjedése, továbbá az új hatóanyagok korlátozott száma miatt az antibiotikum-kombinációk szerepe az utóbbi évtizedekben jelentősen megnőtt. A hatóanyagok kombinálásának célja a rezisztens és mérsékelten érzékeny patogén baktériumfajok elpusztítása, továbbá a rezisztencia kialakulásának és terjedésének megakadályozása. Számos kombináció érhető el állatgyógyászati törzskönyvezett készítmény formájában. Kifejezetten előnyös, ha az antibakteriális szerek kombinációjakor az önálló hatóanyagokra jellemző MIC-értékeknél a kombinációra kapott MIC-értékek alacsonyabbak, mely szinergista hatásra utal. Nagy előny továbbá, ha a valamely antibiotikum elleni rezisztencia kialakulását kombinációs partnere késleltetni tudja.

Az enrofloxacin egy fluorokinolon típusú antibakteriális szer, melynek hatása baktericid Gram-negatív baktériumokra, továbbá a *Staphylococcus* spp. tagjaira. A kolisztin (polimixin-E) egy polipeptid antibiotikum, melynek kifejezett és gyors baktericid hatása van kiemelt Gram-negatív kórokozók (*E. coli*, *S. enterica*, *P. aeruginosa*) szemben. Utóbbi hatóanyag fontos tulajdonsága, hogy hatásmechanizmusából következően képes számos más antibakteriális szerrel szembeni rezisztencia kialakulásának késleltetésére, illetve gátlására.

Célunk volt a két antibakteriális szer fix arányú kombinációjának vizsgálata, mely kiterjedt a szinergista/additív/antagonista együttes hatás vizsgálatára, továbbá arra, hogy képes e a két hatóanyag a másikkal szembeni rezisztencia kialakulásának késleltetésére.

Az antibakteriális szerek hatását 44 *E. coli* és 6 *S. enterica* törzsön vizsgáltuk mikrodilúciós módszerrel. A hatóanyagokat önmagukban, továbbá 2:1 arányú kombinációjukban is vizsgáltuk. A baktériumok enrofloxacinra magasfokú és gyakori, kolisztinre mérsékelt és ritka rezisztenciát mutattak. Mindkét baktériumfaj esetén kifejezett szinergista hatást tapasztaltunk a hatóanyagok kombinációban való együttes alkalmazásakor. Néhány törzs esetén a hatás csupán additívnek bizonyult. Vizsgálatunk alapján kimondható, hogy az összes vizsgált baktériumtörzs csupán néhány százaléka volt rezisztens a kombinációra.

Kísérletünkben vizsgáltuk továbbá, hogy az enrofloxacinra jellemző $\frac{1}{2}$ MIC-értékű tápfolyadékban passzáva, naponta átoltva hogyan csökken a baktériumok érzékenysége. Passzási kísérleteinket 10 napig folytattuk kizárólag enrofloxacint, illetve enrofloxacint és kolisztint 2:1, továbbá 10:1 kombinációban tartalmazó tápfolyadékokban. Az önálló enrofloxacinval való passzálság már 1-5 nap alatt magasfokú rezisztenciát eredményezett a törzsek többségénél. A hatóanyagok 2:1 kombinációjával való passzálság jelentősen csökkentette a rezisztencia kialakulásának sebességét és mértékét. A 10:1 arányú kombináció mérsékelten, de ebben a tekintetben szintén hatékonyabbnak bizonyult az önálló hatóanyaghoz képest.

AZ ERITROMICIN HATÁSA A CYP450 ENZIMEK NÁTRIUM-N-BUTIRÁT OKOZTA GÉNEXPRESSION VÁLTOZÁSÁIRA HÁZITYÚKBÓL IZOLÁLT PRIMER MÁJSEJTEKEN

Csikó György, Csizinszky Rita, Nagy Gábor, Szekér Krisztina és Jerzsele Ákos

EFFECT OF ERYTHROMYCIN ON THE GENE EXPRESSION ALTERATIONS OF CYP450 ENZYMES CAUSED BY SODIUM-N-BUTYRATE IN PRIMARY CULTURE OF CHICKEN LIVER CELLS

György Csikó, Rita Csizinszky, Gábor Nagy, Krisztina Szekér and Ákos Jerzsele
Csiko.Gyorgy@aotk.szie.hu

A takarmányban alkalmazott nátrium-n-butirát (butirát) a portális vénán át felszívódva, hiszton-deacetiláz gátló aktivitása révén megváltoztathatja egyes enzimek expresszióját, így a máj citokróm (CYP450) enzimekét is. Ezáltal befolyásolhatja a májsejtekben zajló gyógyszerlebomlási folyamatokat. Az eritromicin az állatgyógyászatban gyakran alkalmazott makrolid típusú antibiotikum, amely intenzíven metabolizálódik a májban. Miközben a saját első fázisú enzimikus lebomlását mérsékelten fokozza, számos más xenobiotikumét gátolja. Kísérleteink célja ezért az volt, hogy *in vitro* körülmények között, házityúkból izolált májsejtek primer tenyészetén megvizsgáljuk, milyen hatást gyakorol a butirát és az eritromicin együttes adagolása a házityúban legjellemzőbb CYP450 enzimek expressziójára.

A májsejteket három lépésből álló perfúzióval nyertük, majd centrifugálással történő mosást követően a sejteket tápfolyadékban szuszpendáltuk. Ezt követően kollagénnel bevont tenyésztőedényekben, a 24 órán át előinkubált sejteket nátrium-n-butirát különböző koncentrációival (0 mM/l /kontroll/, 1,0, 2,5, 5,0, 7,5 és 10,0 mM/l) további 24 órán keresztül kezeltük. A butirát kezeléssel egyidőben az összes előbbi koncentrációt kombináltuk az eritromicin különböző koncentrációival (0, 10, 50 és 100 µM/l). A kezelési idő eltelte után, a sejtekből kivontuk az RNS-t, majd az így nyert mintákból az adott citokróm alcsaládok (CYP1A1, CYP2H1, CYP3A37) expresszióját kvantitatív real-time PCR módszer segítségével határoztuk meg. Az inkubáció befejezését követően a tápoldatokat is lefagyasztottuk az eritromicin koncentrációjának nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) módszerrel történő méréséhez.

Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy a butirát okozta CYP1A1 50-90%-os génexpresszió gátlást az eritromicin nem befolyásolta. A CYP3A37 esetében tapasztalt 40-60%-os csökkenést az eritromicin mérsékelte, sőt a 100 µM/l-es koncentrációja kismértékű (1,2-1,7-szeres) expresszió-növekedést okozott. A butirát okozta közel tízszeres CYP2H1 génaktivitás-fokozódást az eritromicin még tovább növelte. Az eredeti aktivitás (0 mM/l butirát, 0 µM/l eritromicin) a 100 µM/l eritromicin hatására 20-22-szeresére növekedett az egyidőben a butirát nagyobb koncentrációival (5,0, 7,5 és 10,0 mM/l) is kezelt csoportokban. Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy a butirát és az eritromicin feltételezhetően additív hatású a CYP2H1 génexpressziójára.

A különböző mennyiségű nátrium-n-butirátot tartalmazó sejttenyésztő tápoldat mintákból (májsejttenyésztet tartalmú és kontroll) elvégeztük az eritromicin HPLC-vel történő meghatározását is.

A kutatás az NKB-15936 pályázat támogatásával készült.

ERITROMICIN MEGHATÁROZÁSA SEJTNYESZTŐ TÁPOLDAT MINTÁKBÓL
NAGYHATÉKONYSÁGÚ FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS MÓDSZERREL

Nagy Gábor és Csikó György

DETERMINATION OF ERYTHROMYCIN FROM CELL-CULTURE MEDIUM USING
HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD.

Gábor Nagy and György Csikó (Csiko.Gyorgy@aotk.szie.hu)

Az eritromicin gyakran alkalmazott makrolid típusú antibiotikum az állatgyógyászatban, amely intenzíven metabolizálódik a májban. Kísérleteink során in vitro körülmények között vizsgáltuk a hatóanyag koncentrációjának változását különböző mennyiségű nátrium-n-butirátot tartalmazó májsejttenyésztés mintákban.

Célkitűzésünk olyan szelektív, érzékeny, rutinszerűen is alkalmazható nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) módszer kidolgozása volt, melynek alkalmazása lehetővé teszi a különböző sejtenyésztő tápoldat mintákból az eritromicin meghatározását.

Az eritromicin alacsony koncentrációban csak származékképzéssel egybekötött fluoreszcens detektálás alkalmazásával határozható meg. Vizsgálatainkhoz fluorenilmetil kloroformiát származékképző szert alkalmaztunk, a mintaelőkészítés során pedig folyadék-folyadék extrációval nyertük ki a hatóanyagot a sejtenyésztő tápoldat mintákból. A mérésekhez ún. fordított fázisú folyadékkromatográfiás rendszert alkalmaztunk C18 típusú állófázissal és fluoreszcens detektálással.

A HPLC-s módszer kidolgozása során optimalizáltuk a mintaelőkészítést, a származékképzést, valamint a HPLC-s mérés paramétereit. A folyadék-folyadék extrakció kidolgozásánál optimalizálni kellett a vizes és a szerves fázis arányát, valamint a vizes fázis pH-ját, míg a származékképzés beállításánál a származékképző szer koncentrációját, a reakció időt és hőmérsékletet kellett vizsgálni. A HPLC-s meghatározáshoz ki kellett választani a megfelelő C18 típusú (Nucleosil) állófázist, be kellett állítani a megfelelő gerjesztési és kibocsátási hullámhosszakot (260 ill. 315 nm), valamint a folyadékkromatográfiás mozgófázis összetételét úgy kellett kialakítani (70/30 acetonitril/0,03M foszfát puffer, pH=7,2), hogy a mért hatóanyag szelektíven meghatározható legyen a különböző sejtenyésztő tápoldat mintákból.

A rutinszerű alkalmazás előtt a módszert néhány paraméter (specifitás, linearitás, visszanyerés, reprodukálhatóság, kimutatási határ) vizsgálatával validáltuk, majd a különböző mennyiségű nátrium-n-butirátot tartalmazó sejtenyésztő tápoldat mintákból (májsejttenyésztést tartalmazó és nem tartalmazó kontrol) elvégeztük az eritromicin HPLC-s meghatározását

A kutatás az NKB-15936 pályázat támogatásával készült.

MODELL KÍSÉRLETEK *LACTOBACILLUS CASEI* 01 TÖRZS METRITISBŐL IZOLÁLT *ESCHERICHIA COLI* ÉS *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* TÖRZSEK SZAPORODÁSÁRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK KIMUTATÁSÁRA

Szekér Krisztina¹, Csizinszky Rita¹, Földi József², Kulcsár Margit³, Huszenicza Gyula³, Gálfi Péter¹

MODEL EXPERIMENTS FOR THE DETECTION OF GROWTH-INHIBITING PROPERTIES OF *LACTOBACILLUS CASEI* 01 STRAIN ON *ESCHERICHIA COLI* AND *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* STRAINS ISOLATED FROM METRITIS

Krisztina Szekér, Rita Csizinszky, József Földi, Margit Kulcsár, Gyula Huszenicza and Péter Gálfi (Szeker.Krisztina@aotk.szie.hu)

Az involúció bakteriális szövődményei, a puerperalis metritis, a klinikai endometritis, a pyometra és a szubklinikai endometritis, a tejhasznú tehenek leggyakoribb ivarszervi megbetegedései közé tartoznak. Előfordulásuk késlelteti az endometrium regenerációját és a petefészek-ciklus újraindulását, ezért a szaporodásbiológiai mutatók nagyfokú romlásával járnak. A méhgyulladás oktanilag uterinális diszbakteriózis és a méh saját védekező rendszere hiányos működésének együtthatásaként értelmezhető. Bakteriológiai oldalról az *Escherichia coli*, az *Arcanobacterium pyogenes* és Gram-negatív anaerobok játszanak fő szerepet kialakulásában. Jelen gyakorlat szerint a méhgyulladásokat antibiotikumokkal, esetleg antiszeptikumokkal kezelik. Kutatásunk alternatív terápia kidolgozására irányul.

Korábbi vizsgálataink során kimutattuk, hogy a probiotikus baktériumtörzsek, a *Lactobacillus casei* 01 és a *Bifidobacterium lactis* Bb-12, egyedi és kevert kultúrái baktericid hatást fejtettek ki húsz, különböző állatfajokból (házityúk és sertés) izolált *Escherichia coli* törzssel szemben laboratóriumi tápközegben. Továbbá igazoltuk, hogy a probiotikus baktériumtörzsek anyagsere-termékei nem mutatnak sejtkárosító hatást HeLaS3 sejteken az *E. coli* ellen hatásos koncentrációban.

Jelenlegi munkánk során a következő kérdésekre kerestünk választ:

- A probiotikus baktériumtörzs *L. casei* 01 befolyásolja-e a metritis eseteiből izolált *E. coli*, és *A. pyogenes* törzsek szaporodását?
- A probiotikus baktérium *L. casei* 01 szaporodóképessége hogyan alakul metritis eseteiből gyűjtött lochiában?

A probiotikumok és a teszt organizmusként alkalmazott *E. coli* és *A. pyogenes* kölcsönhatásának tanulmányozására 27 *E. coli* és 15 *A. pyogenes* törzset használtunk vizsgálatainkhoz. A teszt organizmusok gátlásának mértékét a vizsgált probiotikum által közvetlen sejt-sejt interakció hatására kétrétegű spot módszerrel vizsgáltuk. A gátlás mértékét részben a gátlási zóna átmérőjének meghatározásával, részben a telep és a telep + gátlási zóna összterületeinek hányadosával fejeztük ki. Ez utóbbi a *L. casei* 01 telepek méretétől független gátlási mérték meghatározást engedett. A területmérésekhez Image J programot használtunk és a lement területek nagyságát pixel dimenzióban kaptuk meg.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a vizsgált probiotikus törzs különböző hatékonysággal, de gátolta az *E. coli* és *A. pyogenes* törzsek szaporodását. Kisebb gátlási zónákat kaptunk az *A. pyogenes*, mint az *E. coli* törzseknél, ami arra utal, hogy az *E. coli* érzékenyebb a probiotikum anyagsere termékeire, mint az *A. pyogenes*. Ezzel összhangban nagyobb Telep/Telep+Gátlási zóna arányokat kaptunk az *A. pyogenes*, mint az *E. coli* esetében. A kapott eredmények alapot adnak a vizsgálatok folytatására.

A kutatás az NKB pályázat támogatásával készült.

A T-2 TOXIN, AZ OCHRATOXIN A és B SEJTOSZTÓDÁSRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA *IN VITRO* CITOTOXICITÁSI TESZTTELGálfi Péter¹ Fekete Sándor György² és Kővágó Csaba¹INVESTIGATION OF CELL DIVISION-INHIBITING PROPERTIES OF T-2 TOXIN, OCHRATOXIN A AND B IN AN *IN VITRO* CYTOTOXICITY TESTGálfi. Péter, Fekete, Sándor György and Kővágó, Csaba (Galfi.Peter@aotk.szie.hu)

A mikotoxinok vizsgálatára számos állatmodell szolgál, újabban az állatkísérleteket izolált szöveteken, valamint sejtenyészeteken történő vizsgálatok váltják föl. Kísérleteink során arra törekedtünk, hogy különböző szervekből származó sejtenyészeteket használjunk. Célunk az volt, hogy összevessük a különböző sejtenyészetek mikotoxin-érzékenységét, továbbá korrelációt kívántunk számolni a vizsgált mikotoxinok (T-2, ochratoxin A, ochratoxin B) sejtkárosodásító hatása között. Kísérleteink során arra törekedtünk, hogy különböző fajokból és szervekből származó sejtenyészeteket használjunk.

A vizsgálatokhoz használt sejtvonalak az ICN Flow(UK)-tól származtak. Jellemzőik:

Kat. szám	Megjelölés	Eredet	Faj
02-320	NBL-1 (MDBK)	Vese	Szarvasmarha
03-108	HEp-2	Gége	Ember
03-109	J-111	Leukémia	Ember
03-130	Chang liver	Máj	Ember
03-157	HeLaS3	Méhnyálkahártya	Ember
03-385	MMT 060562	Emlő	Egér
05-542	MG-63	Csontszövet	Ember
05-600	A-549	Tüdő	Ember

A sejtenyészeteket a vizsgált mikotoxinok 3-as léptékű hígítási soraival kezeltük, majd a citotoxicitás meghatározását követően a kapott eredményekből regresszió analízissel számítottuk a sejtek életképességét 50%-kal csökkentő koncentrációt (IC_{50}). A citotoxicitás meghatározására „Cell Titer 96“ AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay” tesztet alkalmaztunk, mely tetrazólium só (3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-5-[3-karboximetoxifenil]-2-[4-szulfifenil]-2H-tetrazolium; MTS) és elektronkapcsoló anyagot (fenazin-metoszulfát; PMS) tartalmazott. Az MTS-t a sejtek formazánná redukálják, amely a sejtek tápfolyadékában oldódik. A keletkezett színes formazán mennyisége közvetlenül 490 nm-en fotometrálnak. Az MTS formazánná történő átalakításáért a metabolikusan aktív sejtek dehidrogenáz enzimjei felelősek, így a kialakult formazántermék mennyisége az élő sejtek számával arányos.

Eredményeink szerint a vizsgált mikotoxinok minden sejtvonal életképességét gátolták. A sejtek életképességét 50%-kal csökkentő gátlás (IC_{50}) T-2 toxin esetében 0,1-3,0 $\mu\text{g/l}$ koncentrációnál, ochratoxin A esetében 0,5-2,8 mg/l, ochratoxin B-nél pedig 0,5-5,0 mg/l koncentráción következett be. Míg a T-2 és az ochratoxin A egyes sejtvonalakon mért IC_{50} értékei között nem mutatkozott szignifikáns korreláció ($r=0,511$; $F=0,1955$), addig a T-2 és az ochratoxin B esetén szignifikáns pozitív korreláció ($r=0,8463$; $F=0,008$) alakult ki. Az ochratoxin A és B IC_{50} értékei között lazább, de még szignifikáns korreláció ($r=0,7199$; $F=0,044$) mutatkozott. Az eredmények arra utalnak, hogy bár a vizsgált mikotoxinok hatásmechanizmusa eltérő, mégis jellegzetes érzékenységi hasonlóság mutatkozik egyes esetekben, melyek okát további, subcelluláris szintű vizsgálatok tisztázhatják.

A kutatás az NKB-15936 pályázat támogatásával készült.