

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK
(2022. JANUÁR 17.)

ÉLETTAN – BIOKÉMIA
KÓRTAN
GYÓGYSZERTAN – TOXIKOLÓGIA
MORFOLÓGIA

2021. évi 48. füzet

ELŐSZÓ

Kedves Kolleganók és Kollegák!

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2022. január 17-én és 18-án online tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 48. alkalommal kerül sor az Állatorvostudományi Egyetemen.

Az előző évek gyakorlatának megfelelően a beszámolókon PhD-hallgatók és a kiemelkedő munkát végző TDK-hallgatók szereplését külön is szorgalmazzuk, és reméljük, hogy a rendezvény jó alkalmat nyújt a különböző tudományos-szakmai műhelyeket és korosztályokat képviselő, egymás munkája iránt érdeklődő szakemberek találkozására.

Az előadások összefoglalóit – szekciófüzetekbe csoportosítva – elektronikus úton adjuk közre.

Tekintettel az érvényben lévő járványügyi korlátozásokra, a lebonyolítás on-line formában a zoom program használatával történik. A szekciókhoz a programban szereplő időpontban a <https://us02web.zoom.us/j/85430206032?pwd=dHJHZ1d6a3J5SDI2aDNhcG9KMWdOUT09> linken keresztül lehet csatlakozni. Az előadások időtartama legfeljebb 10 perc, további 2 percet számoltunk a kérdésekre. Kérjük, hogy a megadott időtartamot senki ne lépje túl. Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezük a súlyt.

A szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el az Állatorvos-tudományi Bizottság titkárához (fodor.laszlo@univet.hu) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekció elnökökkel egyeztetett tájékoztatót (a Magyar Állatorvosok Lapjában való közlés céljából), amely tartalmazza az előadások legfontosabb megállapításait.

Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagot továbbítsák munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is. Kérjük, továbbá, hogy tegyék lehetővé munkatársaik online részvételét az üléseken.

Előre is köszönjük a szekció elnökök, a titkárok, a bizottsági tagok és valamennyi előadó munkáját.

Kívánunk mindenkinek eredményes előadást.

Solti László
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter
Rektor, TDK elnök

Bartha Tibor
ÁODI elnöke

Fodor László
MTA ÁTB titkára

MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE Állatorvostudományi DI akadémiai beszámolóinak programja és szekcióbizottságai
(2022. január 17-18.)

A szekció megnevezése	A szekcióülés napja	A szekcióülés időpontja	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
Élettan és biokémia Kórtan Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	2022. január 17. hétfő	8.30-12.00	Bartha Tibor Jerzsele Ákos Neogrady Zsuzsanna Sótonyi Péter	Farkas Orsolya Mátis Gábor	Csikó György Halasy Katalin Rác Bence Zsarnovszky Attila
Élelmiszer-higiéna: Dr. Takács János Emléktűlés Állategészségügyi Igazgatás	2022. január 17. hétfő	13.00-16.00	Lacszay Péter Nagy Attila Ózsvári László	Darnay Lívia	Józwiak Ákos Kovács Sándor, Lehel József, Süth Miklós, Szita Géza
Viroológia Bakteriológia Immunológia	2022. január 18. kedd	8.30-11.30	Dénes Béla Harrach Balázs Fodor László Magyar Tibor	Kaján Győző Kreizinger Zsuzsa	Benkő Mária, Dán Ádám, Pénzes Zoltán, Rusvai Miklós, Soós Tibor, Zádori Zoltán, Bernáth Sándor, Hajtós István, Jánosi Szilárd, Gyuranecz Miklós, Makrai László, Szmolka Ama, Tenk Miklós
Parazitológia Állattan Halkórtan	2022. január 18. kedd	11.30-13.00	Baska Ferenc Farkas Róbert	Eszterbauer Edit Hornung Erzsébet Sréter Tamás	Békési László, Csaba György, Hornok Sándor, Kassai Tibor, Molnár Kálmán, Majoros Gábor, Varga István
Klinikumok	2022. január 18. kedd	13.00-15.40	Bakos Zoltán Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor	Becker Zsolt Szelényi Zoltán	Biksi Imre, Gál János Szenci Ottó Vajdovich Péter
Állathigiéna Állattenyésztés Genetika Takarmányozás	2022. január 18. kedd	15.40-17.00	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor, Fekete Sándor, Gáspárdy András, Jakab László, Rafai Pál, Zöldág László

Tartalomjegyzék

Élettan és biokémia

1. RESPIRÁBILIS FÉM-OXID BELÉGZÉS HATÁSA EGYES HORMONRECEPTOROK AGYBELI TRANSZKRIPCIÓJÁRA *IN VIVO* EGÉR MODELLBEN
Di Gennaro Plósz Kinga Anna, Kiss Dávid Sándor, Kővágó Csaba
2. 17A-ETINILÖSZTRADIOL ENDOKRIN DISZRUPTOR HATÁSA EGÉR KISAGYI SZEMCSESEJT-KULTÚRÁN
Jócsák Gergely, Kiss Dávid Sándor, Bartha Tibor, Zsarnovszky Attila
3. BISZFENOL A HATÁSA AZ ER α , ER β , TR α , TR β ÉS A PPAR γ , RECEPTOR MRNS-EK HYPOTHALAMICUS EXPRESSZIÓJÁRA *IN VIVO* EGÉR MODELLBEN
Limbóczki Richárd Dénes, Kiss Dávid Sándor, Jócsák Gergely, Zsarnovszky Attila
4. EGY MOZAIK ÚJABB DARABJA: AZ ACETAMIPRID HATÁSAI AZ AGYDŰC ÉS A REPÜLŐIZMOK REDOX STÁTUSZÁRA MÉZELŐ MÉHEKBEN
Mackei Máté, Sebők Csilla, Vörösházi Júlia, Tráj Patrik, Mackei Fruzsina, Oláh Barnabás, Neogrady Zsuzsanna, Mátis Gábor
5. A CATHELICIDIN-2 IMMUNMODULÁLÓ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ MÁJSEJT TENYÉSZETEKEN
Sebők Csilla; Walmsley, Stephanie; Tráj Patrik; Mackei Máté; Vörösházi Júlia; Kemény Ágnes; Márton Rege Anna, Neogrady Zsuzsanna, Mátis Gábor
6. A CIKÓRIASAV HATÁSA VÍRUS RNS ANALÓG MOLEKULÁVAL KEZELT CSIRKE MÁJ EREDETŰ PRIMER KO-KULTÚRÁN
Tráj Patrik, Herrmann, Eva, Sebők Csilla, Vörösházi Júlia Mackei Máté, Márton Rege Anna, Gálfi Péter, Kemény Ágnes, Neogrady Zsuzsanna, Mátis Gábor
7. A T-2 TOXIN HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ HÁROMDIMENZIÓS MÁJSEJT TENYÉSZETEKEN
Vörösházi Júlia, Mackei Máté, Sebők Csilla, Tráj Patrik, Márton Rege Anna, Neogrady Zsuzsanna, Mátis Gábor

Kórtan

8. VEMHES KOCASÜLDŐK GYULLADÁSOS MÉHELVÁLTOZÁSAINAK QVANTITATÍV ELEMZÉSE DIGITÁLIS KÉPELEMZŐ SZOFTVERREL KÍSÉRLETI PRRSV-FERTŐZÉST KÖVETŐEN
Horváth Dávid Géza, Abonyi-Tóth Zsolt, Till Rümenapf, Heinrich Kreutzmann, Christian Knecht, Andrea Ladinig, Balka Gyula

Gyógyszertan és toxikológia

9. *IN VITRO* EpiOcular™ SZÖVETMODELL ALKALMAZÁSA NÖVÉNYVÉDŐ SZEREK IRRITATÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATÁBAN
Buda István, Szabó Rita, Lehel József, Budai Péter

10. MEGA-PLATE LEMEZEN TÖRTÉNŐ, GYORSÍTOTT EVOLÚCIÓS
ANTIMIKROBIÁLIS REZISZTENCIA-KOSZELEKCIÓS VIZSGÁLAT
Jerzsele Ákos, Kerek Ádám, Török Bence
11. FELÜLETKEZELŐ POLIMERKOMPOZIT ANTIMIKROBIÁLIS
HATÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA
Jerzsele Ákos, Kerek Ádám, Sasvári Mátyás
12. SZŐLŐMAG PROANTOCIANIDINEK HATÁSAI SERTÉS BÉLHÁMSEJT –
BAKTÉRIUM KOKULTÚRÁBAN
Kovács Dóra, Palkovicsné Pézsa Nikolett, Jerzsele Ákos, Farkas Orsolya
13. SPIROTETRAMAT ÉS PENKONAZOL HATÓANYAGÚ NÖVÉNYVÉDŐ
SZEREK KORAI EMBRIOTOXICITÁSI VIZSGÁLATA FÁCÁNEMBRIÓKBAN
Major László, Budai Péter, Lehel József, Szabó Rita
14. *ENTEROCOCCUS FAECIUMMAL* TÖRTÉNŐ KEZELÉS HATÁSÁNAK
NYOMONKÖVETÉSE IPEC-J2 SEJTKULTÚRÁN
Palkovicsné Pézsa Nikolett, Kovács Dóra, Farkas Orsolya, Rácz Bence
15. ANTIBIOTIKUMOK SZENNYVIZEKBŐL TÖRTÉNŐ ELTÁVOLÍTÁSÁNAK
VIZSGÁLATA KÜLÖBÖZŐ ADSZORBENSEK ALKALMAZÁSÁVAL
Szimrók Zoltán, Nagy Gábor, Paliczné Kustán Bianka, Bakacsi Zoltán, Vincze Zoltán,
Jerzsele Ákos
16. ANTIBIOTIKUMOK ÉS BIOFILMELLENES HATÁSÚ ANYAGOK
SZINERGIZMUS VIZSGÁLATA KUTYA KÜLSŐ HALLÓJÁRAT
GYULLADÁSÁBÓL IZOLÁLT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* TÖRZSEKEN
Veres Adrienn Mercedesz, Juhász Orsolya, Horváth Anikó Melinda, Vincze Zoltán,
Jerzsele Ákos
17. AZ ABCB1 GÉNEN ELŐFORDULÓ EGYPONTOS NUKLEOTID
POLIMORFIZMUS (SNP) GYAKORISÁGA KÜLÖNBÖZŐ KUTYAFAJTÁKBAN
Wágner Réka, Palócz Orsolya, Csikó György

RESPIRÁBILIS FÉM-OXID BELÉGZÉS HATÁSA EGYES HORMONRECEPTOROK AGYBELI TRANSZKRIPCIÓJÁRA *IN VIVO* EGÉR MODELLBEN

Di Gennaro Plósz Kinga Anna^{1,2}, Kiss Dávid Sándor¹, Kővágó Csaba²

Bevezetés: Kutatásunkban a volfrámelektrodás, argon védőgázos ívhegesztés (TIG) és a bevont elektrodás ívhegesztés (MMA) technológiák alkalmazása során felszabaduló fém-oxid részecskék hatását tanulmányozzuk egér modelleken. A kutatás egyik fő irányvonalát képezi a füstből a belélegzés útján a szervezetbe jutó fém-oxid nanorészecskéknek a központi idegrendszerre (KIR) gyakorolt neurodegeneratív hatásának felderítése. A jelen kutatás az ösztrogénreceptorok (ER- α , β), pajzsmirigy-hormonreceptorok (TR- α , β) és proliferator-aktiválta receptor- γ (PPAR- γ) receptorok vizsgálatára fókuszál, mivel azt feltételezzük, hogy ezen receptorok expresszióváltozása, aktiválódása indukálhatja a degeneratív kórképek kialakulását.

Célkitűzés: Célunk feltérképezni, hogy miként változik ezen receptorok expressziója a hegesztéskor felszabaduló füst hatására, és hogy e változások milyen összefüggésbe hozhatóak a felszabaduló fémionok mennyiségi jelenlétével. Mindezzel bővíteni kívánjuk a belélegezhető fém-oxidok sejtélettani folyamatokra gyakorolt hatásáról alkotott ismereteinket, valamint fel szeretnénk hívni a figyelmet az iparban dolgozók védelmére, megfelelő elszívók és maszkok használatának fontosságára.

Módszerek: A kísérleteinkben 4 órás MMA, illetve TIG expozíció hatásait vizsgáltuk 24 (akut), illetve 96 óra (subkrónikus) elteltével az expozíciót követően, a mindkét nembe tartozó 8 hetes BALB/C egereken. A KIR vizsgálatára mintát vettünk a szaglóhagyma, a neocortex, a hippocampus, a thalamus, a hypothalamus, az agytörzs és a kisagy területeiről. A hormonreceptor-expressziót qPCR technikával mértük.

Eredmények: A legtöbb eddigi eredményt az MMA hegesztési technikából felszabaduló gázok hatásának vizsgálatából kaptuk. A kontrollhoz viszonyítva a legnagyobb expresszióváltozások a szaglóhagyma és a hipotalamusz esetében jelentkeztek. A subkrónikus expresszió receptor- és agyrégió-függően jelentősen nőtt, vagy csökkent a kontrollhoz képest, míg az akut eredmények a legtöbb esetben a kontroll értékektől nem különböztek szignifikánsan.

Következtetések: A jelenlegi eredményeink arra utalnak, hogy a kitettség időintervalluma nagyban befolyásolja a receptorok változásának irányát. Emellett, a kiemelkedően érintett agyrégiókat is sikerült azonosítani. Fontos kiemelni, hogy bizonyos agyterületeken az egyes receptorok expressziója eltérő mértékben reagált a fém-oxidok jelenlétére, így ezek a változások nagy valószínűséggel összefüggenek a fémek jelenlétével mivel, a kísérlet végrehajtásánál igyekeztünk kizárni minden más befolyásoló tényezőt. Jelen eredményeink alapján, kijelenthetjük, hogy a hegesztőfüstben jelenlévő fém-oxid részecskék hatást gyakorolhatnak a KIR bizonyos receptoraira. Ezek a változások egyenes utat jelenthetnek a neurodegenerációs kórképeknek a megjelenéséhez is, bár az egzakt biológiai hatások feltérképezése még további kutatásokat igényel.

Köszönetnyilvánítás: Köszönet illeti az ÁTE Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát az NKFIH 129055-es FK_18-forrása finanszírozta.

17 α -ETINILÖSZTRADIOL ENDOKRIN DISZRUPTOR HATÁSA EGÉR KISAGYI SZEMCSESEJT-KULTÚRÁN

Jócsák Gergely^{1*}, Kiss Dávid Sándor¹, Bartha Tibor¹ és Zsarnovszky Attila^{2,3}

Bevezetés: A 17 α -etinilösztadiol (EE) egy ösztrogén hatással bíró vegyület, jellemzően fogamzásgátló szerek tartalmazzák, gyakran progesztinokkal kombinálva. Az EE nagy hatásfokkal kötődik különböző ösztrogénreceptorokhoz. A kötés erőssége irodalmi adatok alapján két nagyságrenddel magasabb az ösztrogénénél.

Az EE-t az emberi szervezet vizelettel kiválasztja, a szennyvíztisztítás hatására sem bomlik, így megjelenik a természetes vizekben, ivóvízben is. Különböző hal- és békafajoknál kimutatták endokrin diszruptor (ED) hatását, azonban emlősökben ez még nem bizonyított.

Célkitűzés: A jelenleg is zajló kutatásunk célja az EE hatásának subtoxikus koncentrációban való vizsgálata lesz, kérdésünk, hogy az EE endokrin diszruptorként is képes-e viselkedni, és ez úton befolyásolni az ösztrogén- és pajzsmirigyhormon-rendszert, amely egyaránt elengedhetetlenül szerepet játszik mind a fiatal szervezet fejlődésében, mind pedig az egészséges felnőttkori endokrin működésekben.

Módszerek: EE jelenlétében és hiányában a már korábbiakban publikált sejtenyészési módszerünk és qPCR vizsgálatok segítségével tervezzük megvizsgálni a pajzsmirigy- és ösztrogénreceptorok (ER α , ER β , TR α és TR β) mRNS expressziójának mértékét. Az EE hatását kis-, közepes (az átlagos környezeti szennyezésnek megfelelő), és a kísérlet előtt elvégzendő életképességi vizsgálataink eredményeitől függően nagyobb dózisban is kívánjuk vizsgálni. A sejtek életképességét Neutral Red módszerrel vizsgáltuk meg.

Eredmények: Kutatócsoportunk egyelőre csak életképesség-teszteket mint előkísérleteket végzett, ezek eredménye alapján kimondható, hogy a 0.01 nM, és az 1 nM koncentrációjú EE nem károsította jelentősen a cerebelláris sejtek életképességét, a 100 nM-os dózis ellenben mérhető sejtkárosodást okozott.

Következtetések: Az előzetesen vizsgált irodalmi adatok és eredmények alapján feltételezhető az EE agonista hatása az ER-okon egér idegsejtekben. A TR hatás még nem bizonyított, azonban korábbi kutatásaink alapján a két receptor expressziója szorosan összefügg, így feltételezéseink alapján a TR expresszió is erőteljes változást fog mutatni az EE hatására.

Köszönetnyilvánítás: Köszönet illeti az ÁTE Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005 sz. pályázat finanszírozta.

BISZFENOL A HATÁSA AZ ER α , ER β , TR α , TR β ÉS A PPAR γ , RECEPTOR MRNS-EK HYPOTHALAMICUS EXPRESSZIÓJÁRA *IN VIVO* EGÉR MODELLBEN

Limbóczki Richárd Dénes¹, Kiss Dávid Sándor¹, Jócsák Gergely¹ és Zsarnovszky Attila^{2,3}

Bevezetés: Az endokrin diszruptorok olyan természetes vagy mesterséges anyagok, amelyek már kis mennyiségben is képesek a hormonreceptorokhoz kapcsolódva befolyásolni azok működését. Ennek eredményeképpen képesek felborítani a szervezet homeosztázisát, hiszen a hormonrendszer precízen szabályozza az egyensúly fenntartását hormonok és feed-back mechanizmusok segítségével. A biszfenol A (BPA) egy, a környezetünkben gyakran előforduló mesterséges eredetű endokrin diszruptor hatású vegyület. Elterjedtségének köszönhetően elkerülhetetlen az élő szervezetbe való bekerülése.

Célkitűzés: Jelen kísérletünkben azt kívántuk tesztelni, hogy a BPA képes-e, és ha igen, hogyan, befolyásolni a pajzsmirigyhormon receptorok (TR α , TR β), az ösztrogén receptorok (ER α , ER β) és a peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor gamma (PPAR γ) gének transzkripcióját. Említett gének felelősek a fiatal szervezet normál fejlődéséért, felnőtt korban pedig a sejt- és szervezet szintű homeosztázis fenntartásáért, az energiametabolizmus és a reprodukív élet megfelelő működéséért. A korábbi *in vitro* kísérleteinkkel ellentétben, jelen esetben *in vivo* körülmények között végeztük a kísérleteinket. Célunk volt vizsgálni, hogy az *in vitro* tapasztalt koncentrációfüggő BPA-hatásokhoz hasonlóan *in vivo* is tapasztalható-e dózisfüggőség a BPA-hatásokban.

Módszerek: Céljainknak megfelelően munkánk során a TR α , TR β , ER α , ER β és PPAR γ mRNS expresszióját vizsgáltuk 18 napos egereken *in vivo* körülmények között. Az egereket három külön dózisu, egyszeri intraperitoneális injekció formájában kezeltük BPA-val; a mintavételezés a hipotalamuszból történt. A vizsgálatainkhoz kvantitatív real-time PCR módszert alkalmaztunk. Az eredményeket a csak vivő anyagot tartalmazó injekciós kezelést kapott kontrollok eredményeihez viszonyítottuk.

Eredmények: Az ERk esetében szubtípusonként eltérő eredményt kaptunk, mivel az ER α vizsgálatánál az 5 mg-os BPA-oldatos kezelés esetében hormonreceptor mRNS csökkenést míg az ER β -nál növekedést tapasztaltunk. A pajzsmirigyhormon-receptorok vizsgálatánál a TR α esetében 5mg-os BPA-oldatos kezelés, míg TR β esetében az 5mg-os és a 10 mg-os BPA-oldatos kezelés hatására is szupresszív jellegű változást tapasztaltunk az mRNS expressziós szintekben. A PPAR γ expressziója szignifikánsan csökkent a kontrollhoz képest.

Következtetések: Az eredmények szerint a BPA *in vivo* is dózisfüggő módon fejt ki endokrin diszruptor hatását az alkalmazott modellen. Az ER és TR-ek esetében a jelen eredmények összhangban voltak a korábbi kutatások eredményeivel, a PPAR γ esetében pedig, korábbi *in vitro* kísérletek eredményeivel szemben *in vivo* körülmények között mRNS expresszió csökkenést mértünk.

Köszönetnyilvánítás: Köszönet illeti az ÁTE Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát az OTKA K-115613 sz. pályázat finanszírozta.

EGY MOZAIK ÚJABB DARABJA: AZ ACETAMIPRID HATÁSAI AZ AGYDÚC ÉS A REPÜLŐIZMOK REDOX STÁTUSZÁRA MÉZELŐ MÉHEKBEN

Mackei Máté^{1*}, Sebők Csilla¹, Vörösházi Júlia¹, Tráj Patrik¹, Mackei Fruzsina², Oláh Barnabás¹, Neogrády Zsuzsanna¹, Mátis Gábor¹

Az elmúlt évtizedekben a növényvédőszeres megkerülhetetlen szerepet kaptak a modern mezőgazdaságban. Bár a hatóanyagok jelentős részéről – amennyiben azok alkalmazása az előírásoknak megfelelően történik – azt írták le, hogy nem okoznak súlyosan káros hatásokat a mézelő méhekre (*Apis mellifera*), különböző tanulmányok azonban ezzel ellentétes, gyakran ellentmondásos eredményekkel szolgáltak. Az sem teljesen tisztázott továbbá, hogy a neonikotinoid típusú rovarölőszerek (pl. acetamiprid) hogyan hatnak a beporzó rovarfajok általános antioxidáns státuszára.

Jelen munkában az acetamiprid mézelő méhek redox-homeosztázisára gyakorolt hatásait kívántuk vizsgálni. Az állatokat hálóval ellátott ketrecekbe helyeztük (kb. 300 méh/csoport), és sötét inkubátorhelyiségben tartottuk 34°C-on, 50% relatív páratartalom mellett. A méhek etetése *ad libitum*, 50%-os (w/v) szacharózoldat adagolásával történt meg, amelyet a kontroll csoport kivételével három koncentrációban (35 mg/l, 17,5 mg/l, 8,75 mg/l etetőldat) acetamipriddel egészítettünk ki. A 48 órás kezelést követően az állatokat begyűjtöttük és -80°C-on tároltuk. A laboratóriumi vizsgálatok során elsőként a repülőizmok és az agydúc kiboncolása történt meg. A szövetmintákat proteáz inhibitorral kiegészített M-PER lizispufferben homogenizáltuk. A hidrogén-peroxid (H₂O₂) koncentrációját Amplex Red módszerrel mértük, míg a malondialdehid (MDA) koncentrációját, a szuperoxid-dizmutáz (SOD) és a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz (G6PDH) aktivitását, valamint a redukált és oxidált glutation arányát (GSH/GSSG arány) specifikus kolorimetriás tesztekkel követtük nyomon (n=10/csoport).

A H₂O₂ mennyisége az acetamiprid kezelést követően mindhárom alkalmazott dózis hatására szignifikánsan magasabb volt a központi idegrendszerben a kontrollhoz képest. Ezekkel az eredményekkel összhangban az MDA-koncentráció is szignifikánsan emelkedett az acetamipriddel kezelt állatok agydúcában, míg a repülőizmokban egyik paramétert tekintve sem volt tapasztalható szignifikáns különbség. A SOD-aktivitás tekintetében az agydúcban nem találtunk változást, míg ezzel szemben a repülőizmokban az acetamiprid hatására minden alkalmazott koncentrációban szignifikáns emelkedést észleltünk. Másrészt, a G6PDH aktivitása nagymértékben csökkent az acetamipridnek kitett csoportok agydúcában, valamint hasonló csökkenés volt leírható a GSH/GSSG arány tekintetében is. Ezzel szemben a repülőizmokban egyik vizsgált paraméter esetében sem észleltünk változást.

Jelen eredményeink alapján kijelenthető, hogy az acetamiprid nagymértékben befolyásolta a redox-homeosztázist, változásokat okozva a H₂O₂-termelésben és a glutation-rendszer működésében egyaránt. Hasonló mintázatot figyeltünk meg az MDA koncentrációjában is, mely változás az acetamiprid által kiváltott oxidatív stressz okozta intenzív lipidperoxidációra utal a központi idegrendszerben. Ezen túlmenően a pentóz-foszfát ciklus fiziológiás működése is károsodott az agydúcban, ami feltehetően a NADPH+H⁺ szintézis intenzitásának csökkenését eredményezi, mely folyamat szintén hozzájárul az antioxidáns rendszerben tapasztalt negatív változások kialakulásához. Minden eredményt figyelembe véve az acetamiprid intenzíven károsította a mézelő méhek központi idegrendszerének redox-homeosztázisát, mely folyamat szintén hozzájárulhat az említett peszticidnek való kitettség hatására később kialakuló patológiás elváltozások megjelenéséhez is.

A CATHELICIDIN-2 IMMUNMODULÁLÓ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ MÁJSEJTNYÉSZETEKEN

Sebők Csilla^{1*}; Walmsley, Stephanie¹; Tráj Patrik¹; Mackei Máté¹; Vörösházi Júlia¹; Kemény Ágnes²; Márton Rege Anna¹, Neogrády Zsuzsanna¹ és Mátis Gábor¹

Az antibiotikum-rezisztencia terjedése óta a használat tartás területén egyre nagyobb fokú kockázatot jelentenek a gyomor- és béltraktust károsító bakteriális fertőzések. A patogén enterális kórokozók által termelt toxinok a véráramba kerülve a portális rendszeren keresztül elsőként a májba jutnak, ahol különböző immunsejtek aktiválása révén erőteljes, olykor káros gyulladáshoz vezető folyamatokat indukálhatnak. Az utóbbi években mindezek miatt előtérbe került számos, az antibiotikumok helyettesítésére alkalmas antimikrobiális és immunmoduláló tulajdonsággal rendelkező anyag kutatása. A csirkék szervezetében természetes módon is termelődő, az antimikrobiális peptidek (AMP-k) közé sorolható cathelicidinek ígéretes jelöltnek bizonyulnak erre a célra.

Kutatásunk tárgya a csirke cathelicidin-2 elnevezésű AMP sejtek életképességére, gyulladáshoz vezető folyamatokra, illetve redox homeosztázisra kifejtett hatásának vizsgálata volt önmagában, illetve gyulladáshoz vezető céljából hozzáadott lipoteikólsav (LTA) jelenlétében csirke eredetű primer hepatocita – nem-parenchimális sejt ko-kultúra felhasználásával. A sejtenyészetek metabolikus aktivitását CCK-8 teszttel, a membránkárosodás mértékét pedig a laktát-dehidrogenáz (LDH) extracelluláris aktivitásának kolorimetriás mérésével vizsgáltuk; az interferon gamma (IFN- γ), interleukin-10 (IL-10), illetve a makrofág kolónia stimuláló faktor (M-CSF) koncentrációkat Luminex módszerrel, az interleukin-8 (IL-8) szintjét pedig csirkéspecifikus ELISA teszttel határoztuk meg. A sejtek hidrogén-peroxid (H_2O_2) termelését Amplex red módszerrel mértük, a malondialdehid koncentrációt pedig specifikus kolorimetriás teszttel határoztuk meg.

Kutatásunk során megállapítottuk, hogy mind a nagyobb (10 nmol/ml), mind a kisebb (5 nmol/ml) koncentrációjú cathelicidin-2 szignifikánsan csökkentette a sejtek metabolikus aktivitását, és ezzel egyidőben növelte a tápfolyadék LDH szintjét. Az LTA önmagában sem a metabolikus aktivitást, sem pedig az LDH szintet nem változtatta, és a cathelicidinnel történő kombinációban az LDH aktivitás szintén nem mutatott eltérést az abszolút kontrollhoz képest. A cathelicidin-2 dózisfüggő emelő hatást fejtett ki a gyulladáshoz vezető tulajdonságokkal bíró IL-8 és IFN- γ , valamint a gyulladásgátló hatású IL-10 esetében, ezen kívül csökkentette a komplex szabályozó szereppel bíró M-CSF koncentrációját. Az LTA szignifikánsan növelte az IFN- γ , és csökkentette az M-CSF szintet, de nem volt hatása a többi, általunk mért citokin koncentrációjára. A kisebb koncentrációjú cathelicidin-2 szignifikánsan csökkentette az IFN- γ koncentrációját az LTA-val kezelt sejtekhez képest. Az AMP minden csoportban emelte a sejtek H_2O_2 termelését, azonban a lipidperoxidáció melléktermékeként keletkező malondialdehid koncentrációját nem befolyásolta.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a cathelicidin-2 potens immunmoduláló hatással rendelkezik az általunk alkalmazott sejt kultúrák esetében, valamint képes csökkenteni az LTA hatására fokozottan termelődő IFN- γ szintjét. Fontos azonban a koncentráció megfelelő kiválasztása, hiszen az általunk felhasznált magasabb cathelicidindózis jelentős mértékben csökkentette a sejtek életképességét, azonban az alacsonyabb koncentrációnál a változás kevésbé volt számottevő. Ezek alapján az általunk vizsgált AMP ígéretes jelöltnek bizonyulhat a káros gyulladáshoz vezető folyamatokkal járó bakteriális fertőzések terápiajában.

Kutatásunkat az OTKA FK 134940. sz. pályázat támogatásával végeztük.

ÁTE, ÉBT Biokémiai Osztály¹ Élettan és Biokémia
ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék²
Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet³
*traj.patrik@univet.hu

A CIKÓRIASAV HATÁSA VÍRUS RNS ANALÓG MOLEKULÁVAL KEZELT CSIRKE MÁJ EREDETŰ PRIMER KO-KULTÚRÁN

Tráj Patrik^{1*}, Herrmann, Eva¹, Sebők Csilla¹, Vörösházi Júlia¹, Mackei Máté¹, Márton Rege Anna¹, Gálfi Péter², Kemény Ágnes³, Neogrady Zsuzsanna¹, Mátis Gábor¹

A vírusos oktanú kórképek (pl.: RSS, hepatitis-hydropericardium betegség, fertőző bursitis) jelentős terhet rónak a baromfiágazatra, ugyanis termelésesökkenéshez és elhulláshoz vezethetnek immunizált állományokban is, így nagyban befolyásolják a nagyüzemi baromfitartás jövedelmezőségét. Ennek hátterében a túlzott gyulladáshoz vezető válasz vagy szabadgyök-képződés okozta sejthalál áll, így kézenfekvő megoldást jelenthet az alapokok bármelyikének módszeres mérséklése.

Vizsgálataink célja az volt, hogy vírus duplaszálú RNS analóggal, a poliinozin-policitidilsavval (poly I:C) váltsunk ki gyulladást csirke eredetű primer hepatocita – nem-parenchimális sejt kultúráján, majd ezen vizsgáljuk a katáng és a pitypang, valamint az *Echinacea* nemzetség tagjainak gyökerében és herbájában jelen levő cikóriásav (CA) immunmoduláns hatását, összevetve az N-acetilcisztein (NAC), mint jól ismert antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatóanyagéval. A sejt kultúrákat 50 µg/ml poly I:C-vel, valamint gyulladáscsökkentő kezelésként 10 (C1) és 100 (C2) µg/ml CA-val vagy 100 (N1) és 200 µg/ml (N2) NAC-nel kiegészített tápfolyadékban tenyésztettük 24 órán keresztül. Ezt követően a sejtek metabolikus aktivitását, az extracelluláris laktát-dehidrogenáz (LDH) aktivitást, az interleukin-6 (IL-6), -8 (IL-8), -10 (IL-10), az interferon alfa (IFN α) és gamma (IFN γ), ill. a makrofág kolóniastimuláló faktor (M-CSF) koncentrációját mértük a tápfolyadékból.

Eredményeink szerint a membránkárosodást jelző LDH aktivitás emelkedés a poly I:C kezelt sejteknél szignifikánsan mérséklődött CA hatására, illetve a C2 kezelés képes volt helyreállítani a sejtek metabolikus aktivitását. Ezzel szemben a nagy dózisban alkalmazott NAC szignifikánsan emelte a poly I:C előidézte fokozott LDH aktivitást. Az IL-6, IL-8, IFN α , IFN γ , M-CSF gyulladáshoz kapcsolódó citokinek koncentrációja a C2 és az N1 kezelés, míg az IL-8, IFN α és IFN γ koncentrációja a C1 kezelés hatására is szignifikánsan csökkent a poly I:C kiváltotta citokinsúcshoz képest. Az IL-10 szekréció a poly I:C-vel nem kezelt csoportoknál az N2 hatására, míg a gyulladáshoz vezető stimulus mellett az N1 hatására mutatott szignifikáns csökkenést. A tenyészetekben esetlegesen előforduló apoptózis jellemzésére a kaspáz-3 szintjét és a lipidperoxidáció jellemző terméke, a malondialdehid (MDA) koncentrációját a sejtek lizátumában mértük. Az MDA koncentráció csökkenése az alacsonyabb dózisú CA kezelésnél mutatkozott meg a csak poly I:C-vel kezelt csoporthoz képest.

Az általunk alkalmazott ko-kultúra hatékonynak bizonyult a virális gyulladás kiváltotta citotoxikus válasz modellezésére, és így a közismert NAC és a CA egyes hatásainak összehasonlítására. A CA dózisfüggő gyulladáscsökkentő hatást mutatott, továbbá képes volt fenntartani a sejtek metabolikus aktivitását, ami a poly I:C membránkárosító hatásának ellensúlyozása mellett egyértelműen alátámasztja a molekula májsejtvédő tulajdonságát. Következtetésképp kijelenthető, hogy *in vitro* kísérletünk alapján a CA ígéretes jelölt lehet a duplaszálú RNS vírusok okozta kártétel mérséklésére, így javíthatja a baromfiállományok egészségi állapotát és termelékenységét.

Kutatásunkat az OTKA FK 134940. sz. pályázat támogatásával végeztük.

A T-2 TOXIN HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ HÁROMDIMENZIÓS MÁJSEJT TENYÉSZETEKEN

Vörösházi Júlia^{1*}, Mackei Máté¹, Sebők Csilla¹, Tráj Patrik¹, Márton Rege Anna¹, Neogrády Zsuzsanna¹, Mátis Gábor¹

A csirkéket számos olyan negatív környezeti és takarmányozási hatás érheti, melyek egészségi állapotukat hátrányosan befolyásolhatják. Ezek közé tartoznak a különféle gabonákat fertőző trichotecénvázis mikotoxinok, többek között a T-2 toxin. A T-2 toxin fő hatása szárnyasokban a csökkent étvágy és testsúly, az immunrendszer dózisfüggő stimulálása vagy gátlása, illetve emésztőrendszeri, idegrendszeri és reprodukció zavarok kialakulását is okozhatja. Sejtszinten gátolhatja a fehérjeszintézist, illetve serkentheti a szabadgyökök termelődését, és ezáltal oxidatív stressz kialakulásához, DNS károsodáshoz és apoptózishoz vezethet. A T-2 toxin sejtszintű hatásait csirke eredetű háromdimenziós (3D) hepatocita-nem parenchimális (NP) sejt kultúrákon vizsgáltuk. A 3D sejtenyészetek jelentős előnyökkel rendelkeznek a hagyományos kétdimenziós (2D) tenyészetekkel szemben, hiszen alkalmasak olyan sejtmodell létrehozására, amely lényegesen közelebb áll az élettani körülményekhez. A 3D tenyészetekben változatos sejt-sejt és sejt-környezet kapcsolatok jöhetnek létre, illetve a sejtek megőrzik az *in vivo* környezetnek megfelelő fenotípusukat és funkciójukat is.

Munkánk során a 3D sejtenyészetek mágneses szferoidok kialakításával hoztuk létre. Az eljárás során a máj többlépcsős perfúziójával és differenciáló centrifugálással izolált sejteket mágneses nanorészecskékkel kezeltük, melyek fő összetevői az arany, vas-oxid és poli-L-lizin, és a sejtek membránjához kötődve magnetizálják azokat. Ezt követően a sejtek speciális, erre a célra kidolgozott mágnesek segítségével szferoidokba rendezhetők.

A T-2 toxin sejtszintű hatásának vizsgálata céljából a 3D hepatocita-NP sejt kultúrákat 100, 500 és 1000 nmol/l koncentrációjú T-2 toxinnal kezeltük különböző ideig (24, 48 és 72 óra). A sejtek életképességét CCK-8 (Cell Counting Kit-8) teszt segítségével állapítottuk meg, illetve – a sejtmembrán esetleges károsodásának markereként – meghatároztuk a laktát-dehidrogenáz (LDH) extracelluláris aktivitását is. A T-2 toxin immunrendszerre gyakorolt hatásának feltérképezéséhez az interleukin-6 (IL-6) gyulladáscsökkentő citokin koncentrációját mértük csirkespecifikus ELISA teszt segítségével.

A kezelt tenyészetek életképessége mindhárom inkubációs idő esetén szignifikánsan csökkent, mely alapján elmondható, hogy a T-2 toxin citotoxikus hatást fejtett ki a májsejtekre. Az LDH aktivitás a 48 órás kezelés után mindhárom koncentráció esetében, 72 órás kezelést követően pedig a 100 és 500 nmol/l koncentrációjú kezelőoldat alkalmazása esetén mutatott szignifikáns csökkenést. Ez a csökkenés vélhetően azzal magyarázható, hogy a májsejtekben megindulhatott az autofágia folyamata, mellyel a sejtek sérült organelleikat távolítják el. Az IL-6 koncentrációja 24 óra után a 100 nmol/l koncentrációjú T-2 toxinnal kezelt csoportban, míg a hosszabb inkubációs időt követően a legnagyobb koncentrációjú kezelőoldat hatására csökkent szignifikánsan. Ez alátámasztja, hogy a T-2 toxin nagyobb koncentrációban, hosszabb ideig alkalmazva immunszuppresszív hatással rendelkezik. Ezen eredményeink megfelelő alapot nyújthatnak további *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokhoz, illetve a 3D tenyészetekben lejátszódó sejtszintű folyamatok jobb megértéséhez.

Kutatásunk anyagi háttérét a már elnyert OTKA FK 134940. sz. pályázat biztosítja.

VEMHES KOCASÜLDŐK GYULLADÁSOS MÉHELVÁLTOZÁSAINAK QVANTITATÍV ELEMZÉSE DIGITÁLIS KÉPELEMZŐ SZOFTVERREL KÍSÉRLETI PRRSV-FERTŐZÉST KÖVETŐEN

Horváth Dávid Géza^{1*}, Abonyi-Tóth Zsolt², Till Rűmenapf³, Heinrich Kreutzmann⁴, Christian Knecht⁴, Andrea Ladinig⁴, Balka Gyula¹

A sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómájának vírusa (PRRSV) által okozott szaporodásbiológiai rendellenességek körfejlődése, különösen a PRRSV-1 esetében, még nem ismert minden részletében.

Az alapvető célkitűzésünk a méhnyálkahártya gyulladással fertőzött sejteinek digitális képelemző szoftver segítségével történő számszerűsítése volt, továbbá a sejtszámok és a manuális pontozási értékek, a kvantitatív polimeráz láncreakció (qPCR) segítségével meghatározott vírusterhelés, a fertőző törzs és vakcinázottsági státusz, valamint a magzati súly közötti összefüggés meghatározása. Egy korábbi fertőzéses kísérletből származó haematoxilinnel és eozinnal festett kórszöveti metszeteket használtunk, amelyeket két vizsgáló manuálisan pontozott. Ebben a kísérletben 24 vemhes, 12 esetben oltott kocasüldőt mesterségesen fertőztünk két eltérő patogenitású PRRSV-1 törzs egyikével. A digitális képelemzéshez és sejtszámláláshoz a nyílt hozzáférésű, felhasználóbarát QuPath szoftvert (0.2.3. verzió) használtuk. Összehasonlítottuk a két vizsgáló pontozását, meghatároztuk az összefüggést a vasculitis és endometritis súlyossága, valamint a gyulladással fertőzött sejtszám és a manuális pontozás, a magzatok súlya, az oltási státusz és fertőző törzs, valamint a placenta és endometrium qPCR-eredményei között. A digitálisan számszerűsített gyulladással fertőzött sejtszám segítségével meghatároztuk a különböző manuális endometritis súlyossági kategóriák sejtszám-küszöbértékeit is.

A gyulladással fertőzött sejtszám megoszlása szignifikánsan különbözött az első vizsgáló manuális súlyossági kategóriái és a csoportok között, kivéve a két nem vakcinázott csoportot. A 10-es alapú logaritmusra transzformált qPCR-eredmények megoszlása szignifikánsan különbözött az első vizsgáló manuális fokozatai között az endometrium és placenta mintákban. Tendenciakülönbség nélküli, nagyfokú megegyezés volt a vizsgálók pontszámai között. Vizsgálótól függetlenül a magasabb vasculitis pontszám magasabb endometritis pontszámmal járt, és magasabb gyulladással fertőzött sejtszámokat mértünk magas vasculitis vagy endometritis pontszám esetén. Az endometritis súlyossági kategóriáinak sejtszám-küszöbértékei különböző sávszélességű görbék vagy szimulációk felhasználásával a digitálisan számszerűsített gyulladással fertőzött sejtszámok segítségével meghatározhatók. A magzati súly és a gyulladással fertőzött sejtszám között szignifikáns korrelációt csak a nem oltott csoportokban állapítottunk meg, míg szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a gyulladással fertőzött sejtszám és a 10-es alapú logaritmusra transzformált endometrialis qPCR-eredmények között.

Összefoglalva, a digitális képelemzés könnyen és hatékonyan alkalmazható hasonló kísérleti elrendezéseknél, ahol a méhlepény gyulladását objektíven kell értékelni.

Terveink között szerepel a szöveti macrophagok CD163 immunhisztokémiai, a vírus *in situ* hybridizációs, valamint a szöveti sejtek apoptosis markerrel történő jelölését követően hasonló statisztikai elemzéseket végezni a meglévő és az új paraméterek között.

IN VITRO EpiOcular™ SZÖVETMODELL ALKALMAZÁSA NÖVÉNYVÉDŐ SZEREK IRRITATÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATÁBAN

Buda István^{1*}, Szabó Rita¹, Lehel József², Budai Péter¹

A napjainkban is még széles körben alkalmazott OECD 405 iránymutatás alapja a Draize-féle primer szemirritációs teszt, amelyet nagyon sok kritika ér az eredmények szubjektív értékelése, de legfőképp a vizsgálatok során felhasznált állatok szenvedése miatt. Ennek következtében az elmúlt közel két évtizedben számtalan olyan *in vitro* módszer dolgoztak ki és tettek elérhetővé, melyek a körülményektől függően részben vagy akár teljes mértékben képesek lehetnek kiváltani ezt a sokat vitatott *in vivo* technikát. Ezen módszerek közé tartozik a rekonstruált emberi szaruhártyaszerű hámszöveten (EpiOcular™ szövet) végzett vizsgálat.

A vizsgálatunk során az Amega Up, a Movento, az Orius 20 EW, a Systhane 20 EW és a Topas 100 EC növényvédő szerek irritatív hatását tanulmányoztuk az *in vitro* EpiOcular™ módszerrel. A készítmények irritatív hatásának értékelése az alapján történt, hogy egy meghatározott expozíciós idő alatt milyen mértékben csökkent a sejtek életképessége, amelyet MTT teszttel határoztunk meg. Az MTT teszt során az élő sejtekben lévő dehidrogenáz enzim hatására a sárga színű MTT átalakul egy lila színű formazánná. Ezen átalakult formazán mennyisége fotometriás méréssel meghatározható. Minden esetben relatív életképességet határoztunk meg oly módon, hogy a negatív kontrollnál mért abszorbanciát vettük száz százalékának és ehhez képest határoztuk meg a növényvédő szerekkel kezelt sejtek életképességét. Ha az EpiOcular™ teszttel meghatározott relatív életképesség egy adott küszöbérték alatt volt, akkor irritáló hatásúnak tekintettük az adott vizsgálati anyagot, ha pedig a küszöbérték feletti volt, akkor pedig nem irritatívnak minősítettük a vizsgált készítményt.

Az EpiOcular™ módszerrel kapott *in vitro* eredményeink alapján az Amega Up, az Orius 20 EW, a Systhane 20 EW és a Topas 100 EC irritáló tulajdonságúak, míg a Movento inszekticid nem rendelkezik irritatív hatással. Az EpiOcular™ szövetmodellen elvégzett *in vitro* vizsgálatok jelen formájukban csak azt képesek megállapítani, hogy a vizsgálati anyag rendelkezik-e irritáló tulajdonsággal, és nem alkalmas arra, hogy különbséget tegyen az irritatív hatások mértéke között. Így az általunk meghatározott *in vitro* eredmények alapján az Amega Up, az Orius 20 EW, a Systhane 20 EW és a Topas 100 EC esetében további *in vitro* tesztek vagy az *in vivo* vizsgálatok eredményei szükségesek ahhoz, hogy elvégezhető legyen a megfelelő irritációs kategóriába történő besorolás.

Az *in vitro* EpiOcular™ módszer jelen formájában nem képes a Draize-féle *in vivo* módszer teljes kiváltására, a számtalan előnye (gyors, olcsó, egyszerű, megbízható stb.) ellenére sem. Viszont további *in vitro* módszerekkel (ICE teszt, HET-CAM teszt) együtt alkalmazva egy tesztrendszer formájában a jövőben lehetővé válhat a Draize-féle *in vivo* módszer teljes mértékű kiváltása.

MEGA-PLATE LEMEZEN TÖRTÉNŐ, GYORSÍTOTT EVOLÚCIÓS
ANTIMIKROBIÁLIS REZISZTENCIA-KOSZELEKCIÓS VIZSGÁLATJerzsele Ákos¹, Kerek Ádám^{1*}, Török Bence²

Napjaink aktuális problémája az állatokban kiszelektálódott, antibiotikum rezisztenciagének humán mikrobiom részére történő átadása. Az egyes antibiotikumokkal szembeni rezisztenciagének megjelenésének módját vizsgáltuk *in vitro* MEGA-plate (Microbial Evolution and Growth Arena) módszerrel, gyorsított evolúció és koszelekció keretében.

Célkitűzésünk a Harvard Egyetem kutatói által 2016-ban kidolgozott ún. MEGA-plate, azaz egy nagyméretű (1200x600 mm) tenyésztőedény magyarországi első megvalósítása (600x300 mm) volt. Ennek segítségével modelleztük *in vitro* az *Escherichia coli* növekvő antibiotikum koncentrációk ellen kialakuló rezisztenciájának evolúcióját, valamint molekuláris genetikai vizsgálatok segítségével nyomon követjük és feltérképezzük a rezisztenciáért felelős gének alakulását a baktériumok szelekciója során.

Az első mérőföldkő a rendelkezésünkre álló termosztát méretéhez igazított MEGA-plate (600x300 mm) tenyésztőedény összeállítása, az edény hatékony sterilizálásának kidolgozása, valamint működésének tesztelése volt. A második mérőföldkő az egyes antibiotikumok vizsgálata volt: amoxicillin, neomicin, kolisztin, oxitetraciklin, florfenikol, potenciált szulfonamid, enrofloxacin, cefotaxim. Az ATCC 25922 nemzetközi *E. coli* törzset használtuk, először meghatároztuk az adott antibiotikummal szembeni MIC értékét, majd ez alapján és a CLSI szabvány ajánlása alapján kiszámoltuk a kezdő, 1x antibiotikum dózist. A MEGA-plate segítségével modellezni tudtuk *in vitro* körülmények között az *E. coli* adott antibiotikum hatóanyagok 1x, 10x, 100x, 1000x növekvő koncentrációja ellen kialakuló rezisztencia időbeni lefolyását. Vizuálisan is jól láthatóvá válik a baktériumok mutációja és szelekciója, az egyes antibiotikum koncentráció-határok áttörése révén. A MEGA-plate-t 9 egyenlő sávra osztottuk, a két szélső sáv táptalajába nem került antibiotikum. Mindkét oldalról kiindulva a 2. sávba egyszeres, a 3. sávba tízszeres, a 4. sávba százszoros, végül a középső sávba ezerszeres antibiotikum koncentrációt tartalmazó táptalaj került. Ezt követően a két szélső sávba szélesztettük az érzékeny baktériumtörzset.

Magyarországon elsőként valósítottuk meg az ún. MEGA-plate módszerrel történő antibakteriális rezisztencia kialakulásának vizsgálatát, mely módszer lehetővé teszi a baktériumok gyorsított evolúciós és koszelekciós vizsgálatát. Az *in vitro* modell eredményeire tudjuk építeni a további *in vivo* állatkísérleteket. Egy-egy antibiotikum vizsgálata 5-15 napot vett igénybe, ennyi időbe telt, amíg áttörte a baktérium az összes antibiotikum koncentráció-határt. Ezt követően az egyes sávokból mintákat vettünk, majd meghatároztuk a baktérium új MIC értékeit, mely eredmények jól tükrözték a rezisztencia kialakulását. Ezen kívül lefagyasztottuk a mintákat, későbbi genomszekvenálás céljából.

Szeretnék köszönetet mondani a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottságnak (NKB) a téma megvalósulásában nyújtott támogatásért.

FELÜLETKEZELŐ POLIMERKOMPOZIT ANTIMIKROBIÁLIS HATÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA

Jerzsele Ákos¹, Kerek Ádám^{1*}, Sasvári Mátyás²

A 21. század egyik legjelentősebb problémája az antimikrobiális rezisztencia terjedése. A COVID-19 járvány felértékelte a fertőtlenítőszer, a felületkezelő és öntisztuló anyagok szerepét. Ezek használatával az állattenyésztésben jelentős patogén kórokozók előfordulása is hatékonyan csökkenthető, így mérsékelve az antibiotikumok felhasználását is. A titán-dioxid (TiO₂) egy sokat vizsgált fotokatalitikus vegyület. Működésének lényege, hogy fotokatalitikus aktivációja következtében keletkező reaktív oxigén gyökök (ROS) a sejtmembrán károsítása révén pusztítják el a kórokozókat. Az TiO₂-dal végzett korábbi vizsgálatok elsősorban a humán egészségügyben és emberi patogén kórokozókra történtek, állatorvosi vonalon szegényes szakirodalom áll rendelkezésre a vegyülettel kapcsolatban.

Magyarországon először vizsgáltuk nanoezüst részecskékkel módosított TiO₂ és cink-oxid (ZnO) tartalmú polimer vegyület hatékonyságát, állati eredetű *Escherichia coli*-val szemben. Célunk a polimer vegyület hatékonyságának vizsgálata mellett a szerves szennyezőanyag, valamint a mechanikai behatás arra gyakorolt hatásának vizsgálata.

A kísérlet során hat különböző teljesítményű izzót használtunk (4W, 7W, 9W, 12W, 18W, 36W), 35 cm, 100 cm, 150 cm, 200 cm, 250 cm és 300 cm távolságban. A 36-féle beállítás során levett 2160 minta elemzése után, a távolságok és fényerőségek között szignifikáns különbséget nem tudtunk kimutatni a hatékonyság tekintetében, 30-60 perc alatt a mikróbák jelentős része elpusztult. *Ex vivo* vizsgálataink során kimutattuk, hogy a kontrollhoz képest a polimer jelentős mértékű kórokozósám csökkenést okoz ($p < 0,001$). A kontroll felületről vett, baktériummal konfluensen benőtt mintához képest a polimerrel kezelt területről vett mintán a vizsgált *Escherichia coli* törzs baktériumszáma a 30. percig átlagosan 94%-kal csökkent. Vizsgáltuk a szerves szennyeződés (sertéstrágya) befolyásoló hatását 300 cm távolságból 4 és 7 wattos izzók használatával, amely esetekben az eredmények alapján megállapítható volt, hogy a kontrollhoz képest a hatékonyság csökkenés nem volt szignifikáns, a polimer továbbra is jól működött ($p < 0,0001$), azonban ehhez legalább 60 percnek kellett eltelnie. Vizsgáltuk továbbá a mechanikai behatások felületi stabilitásra gyakorolt hatását vízszugárral és nagynyomású berendezéssel való lemosást követően. Megállapítottuk, hogy előbbi hatása csekély ($p = 0,9998$), utóbbi viszont a kontrollhoz képest szignifikánsan csökkentette az antibakteriális hatékonyságot ($p < 0,0001$).

Összességében elmondható, hogy az állati eredetű kórokozók esetén a polimer hatékonysága megfelelőnek bizonyult. A fényerősség és távolság megválasztása nem befolyásolja, a szerves szennyezőanyag jelenléte viszont csökkenti a hatékonyságot. A kezelt felületek enyhe behatással tisztíthatók, viszont a fertőtlenítések során is használt erős behatások teljes mértékben eltávolítják azt, ezért annak újbóli felhordása szükséges.

Szeretnék köszönetet mondani a Gyógyszertani és Méregtani Tanszéknek, hogy a kutatás megvalósulását lehetővé tette.

SZŐLŐMAG PROANTOCIANIDINEK HATÁSAI SERTÉS BÉLHÁMSEJT – BAKTÉRIUM KOKULTÚRÁBAN

Kovács Dóra^{1*}, Palkovicsné Pézsa Nikolett¹, Jerzsele Ákos¹, Farkas Orsolya¹

Napjainkban a humán- és állategészségügy egyik legfenyegetőbb problémáját az antibiotikumokkal szembeni széleskörű rezisztencia jelenti, amely számos bakteriális megbetegedést tesz nehezen kezelhetővé, vagy akár kezelhetetlenné. A rezisztencia visszaszorítása érdekében elengedhetetlen az antibiotikumok használatának csökkentése és optimalizálása, valamint olyan antibiotikum-alternatívák alkalmazása, amelyek önállóan, vagy a hatóanyagokkal szinergizálva hozzájárulnak a fertőző megbetegedések megelőzéséhez és kezeléséhez. Erre potenciálisan alkalmas vegyületek a flavonoidok, például proantocianidinek, amelyek antioxidáns, antibakteriális és gyulladáscsökkentő hatással egyaránt rendelkeznek.

Kutatásunk célja az volt, hogy teszteljük a szőlőmag kivonatból származó proantocianidinek jótékony hatásait egy sertések bakteriális bélfertőzését modellező *in vitro* rendszerben, ezáltal egy előzetes képet kapva esetleges antibiotikum-alternatívaként való alkalmazhatóságukról.

A modellhez sertés vékonybélhám sejtvonalat (IPEC-J2) fertőztünk sertés eredetű *Escherichia coli* és *Salmonella enterica* ser. Typhimurium törzsek 10^6 CFU/ml töménységű szuszpenziójával. A baktériumok mellett a sejtek különböző csoportjain proantocianidin elő-, egyidejű- és utókezelést alkalmaztunk 50 és 100 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban. A kezelések hatására vizsgáltuk a sejtek reaktív oxigéngyök (DCFH-DA), valamint interleukin-6 és interleukin-8 szintjeiben (ELISA) bekövetkező változásokat, a sejtréteg integritásának alakulását (FITC-dextrán), továbbá a baktériumok sejtekhez való tapadásának képességét (CFU számlálás).

Vizsgálataink során a szőlőmag proantocianidinek mindkét kórokozóval szemben, mindkét vizsgált koncentrációban, elő-, egyidejű- és utókezelések során is csökkenteni tudták a sejtek gyulladást és oxidatív stresszt jelző markereinek – baktériumok által megemelt - szintjét. A patogének okozta károsodás következményeként a sejtréteg integritása csökkent, amely hatást szintén mérsékelte a proantocianidinek alkalmazása. A fentiekén túl a proantocianidinek jelenléte jelentősen csökkentette a bélhámsejtekhez tapadó baktériumok mennyiségét.

Az eredmények alapján a szőlőmag proantocianidinek ígéretes antibiotikum-alternatívának bizonyultak *in vitro*, sertések bakteriális bélfertőzéseit modellező rendszerben, a jótékony hatások igazolására azonban további, többek között *in vivo* vizsgálatokra van szükség.

Jelen kutatás a TKP2020-NKA-01 számú projekt keretében a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a Tématerületi Kiválósági Program 2020 (2020-4.1.1-TKP2020) pályázati program finanszírozásában, valamint az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával (a támogatási szerződés száma: AZ EFOP-3.6.3-VEKOP- 16-2017-00005, címe: Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával) valósult meg.

SPIROTETRAMAT ÉS PENKONAZOL HATÓANYAGÚ NÖVÉNYVÉDŐ SZEREK KORAI EMBRIOTOXICITÁSI VIZSGÁLATA FÁCÁNEMBRIÓKBAN

Major László^{1*}, Budai Péter¹, Lehel József² és Szabó Rita¹

A kémiai növényvédelem során kijuttatott növényvédő szerek nem csupán a célszervezeteket (károsító rovarok, gombák, gyomok), hanem a művelt területen élő vadmadarakat (fácán, fogoly, fűrj) és azok szaporulatát is károsíthatja. A környezet kémiai terhelése legtöbb esetben komplex módon jelentkezik, az egyidejűleg jelen lévő vegyi anyagok egymás méreghatását befolyásolhatják, ezáltal megváltozhat az összességében kifejtett hatás.

Vizsgálatsorozatunk első lépése a Movento inszekticid (100 g/l spirotetramat) és a Topas 100 EC fungicid (100 g/l penkonazol) egyedi és együttes expozíciójaként érvényesülő, a fácán embrionális fejlődésének korai szakaszára gyakorolt méreghatások felderítésére irányult. A vizsgálati anyagokat gyakorlati permetlé töménységben (a rovarölő szer 0,75%-os, a gombaölő készítmény 0,166%-os koncentrációban), 0,1 ml végtérfogatban injektáltuk a fácántojások légkamrájába a keltetés megkezdése előtt. Az inkubáció teljes időtartama alatt biztosítottuk az embriogenezis számára megfelelő hőmérsékletet (37,5-37,8°C) és páratartalmat (48-65%), továbbá gondoskodtunk a tojások napi kétszeri forgatásáról.

Az embrionális fejlődés korai szakaszának vizsgálatára az inkubáció harmadik napján került sor. A fácántojásokat a légkamránál bontottuk fel. A fácánembrió megfestése és fixálása céljából a csírákorongra 0,01%-os ozmium-tetroxidot cseppentettünk. A csírapajzsra szűrőpapír-korongot helyeztünk, amely mentén körbevágtuk a szikhártyát. A szűrőpapír-korong segítségével kiemelt fácánembriót madárfiziológiás sóoldatban (0,75t% NaCl) tárgylemezre úsztattuk. Az így elkészített csírákorong metszetek tanulmányozása fénymikroszkóp alatt történt. Az embriómortalitási adatok és a fejlődési rendellenességek előfordulási gyakoriságának statisztikai értékelése Fisher-féle egzakt teszttel történt.

Madárteratológiai vizsgálatunkban nyert adatok részletes elemzése alapján elmondható, hogy a spirotetramat hatóanyagú inszekticiddal és a penkonazol tartalmazó fungiciddal egyedileg kezelt csoportokban az embriómortalitás kismértékben fokozódott a kontrollhoz képest, de az eltérések statisztikailag nem voltak igazolhatóak. Interakcióban a rovarölő szer toxicitása erőteljesebben érvényesült, ami az embrióelhalások szignifikáns mértékű ($p < 0,05$) növekedésében mutatkozott meg a kontroll csoporthoz képest. Mikroszkópos fejlődési rendellenességek a kezelt csoportokban sporadikusan fordultak elő, gyengén fejlett test és szikérhálózat, vérgyűrű és vérszigetek formájában.

A kísérletünkben 0,75%-os koncentrációban alkalmazott Movento inszekticid és a 0,166%-os töménységben felhasznált Topas 100 EC fungicid egyedileg és együttesen alkalmazva egyaránt embriótoxikus hatásúnak bizonyult a fácán embrionális fejlődésének korai szakaszában. A megfigyelt malformációk az embrionális fejlődés további fázisaiban kompenzálódhatnak, így teratogén hatás nem igazolható.

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

ENTEROCOCCUS FAECIUMMAL TÖRTÉNŐ KEZELÉS HATÁSÁNAK NYOMONKÖVETÉSE IPEC-J2 SEJTKULTÚRÁN

Palkovicsné Pézsa Nikolett^{1*}, Kovács Dóra¹, Farkas Orsolya¹, Rácz Bence²

Az emésztőrendszeri megbetegedések súlyos gazdasági károkat okozhatnak élelmiszertermelő állatokban. Sertésekben a megbetegedések egy részét előidézhetik enteropatogén *Escherichia coli* és *Salmonella* törzsek is. A sertéságazatban sokáig elterjedt gyakorlatként alkalmazták az antibiotikus kezelést a bélrendszeri megbetegedések megelőzésére. Az antibiotikumrezisztencia kialakulásának veszélye miatt az Európai Unióban azonban jelentősen szigorodik az antibiotikumok profilaktikus célú felhasználása. Fontos kutatási célként jelent meg a sertéságazat számára olyan új anyagok keresése, amelyek hozzájárulhatnak a sertések emésztőrendszerének egészséges állapotának megőrzéséhez. A probiotikumok alkalmazása egy alternatívát jelenthet, egyre nagyobb az érdeklődés irántuk, habár pontos hatásmechanizmusuk egyelőre még kevésbé ismert. Alapvetően háromféleképpen fejthetik ki hatásukat: modulálhatják az immunrendszert, közvetlen hatást gyakorolhatnak más mikroorganizmusokra, illetve hatástalaníthatnak különböző mikrobiális termékeket. A probiotikumok nagyszáma béleredetű, tejsavtermelő baktérium és a *Bifidobaktériumok*, a *Lactobacillusok* és az *Enterococcusok* csoportjába tartozik.

Kísérleteink során IPEC-J2 sejtenyészeten gyulladást váltottunk ki *E.coli* és *Salmonella Typhimurium* baktériumokkal és célunk annak megállapítása volt, hogy az *Enterococcus faeciummal* történő elő-, egy-, és utóidejű kezelés milyen hatással van az IPEC-J2 sejtek belső redoxállapotára, gyulladáscitokinek (IL-6 és IL-8) termelésére, paracelluláris permeabilitására, illetve hogy a probiotikumokkal történő kezelés hogyan befolyásolja a kórokozó baktériumok tapadását.

Mind a patogén, mind a probiotikus baktériumokat antibiotikummentes tápoldatban szaporítottuk fel. Előkísérletekkel megvizsgáltuk a baktériumok szaporodását a bélhámsejtek tápközegében. Az IPEC-J2 sejteket 24 lyukú sejtenyésző edényekben, illetve 12 lyukú inzerteken tenyésztettük a konfluens állapot eléréséig. A patogén baktériumokkal történő kezelés idejének meghatározásához Neutral Red módszerrel megállapítottuk a kórokozó baktériumokkal történő kezelés hatását az IPEC-J2 sejtek életképességére. Az *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 probiotikummal történő elő-, egy- és utóidejű kezelés hatását a sejtek belső redoxállapotára a DCFH-DA módszerrel vizsgáltuk, a gyulladáscitokinek (IL-6, IL-8) termelődését ELISA módszerrel követtük nyomon. A paracelluláris permeabilitást az inzerit apikális kompartmentjéből a bazolaterálisba átjutó FD4 festék mennyiségével jellemeztük. Az *Enterococcus faecium* hatását a kórokozó baktériumok adhéziójára lemezőntéses technikával vizsgáltuk.

Megállapítottuk, hogy az *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 probiotikummal történő kezelés az általunk vizsgált összes paraméterre hatással van, vagyis módosítja a sejtekben található reaktív oxigénradikálok mennyiségét, a sejtek által termelt gyulladáscitokinek mennyiségét, befolyásolja a sejtkapcsoló struktúrák épségét, valamint a kórokozó baktériumok tapadását is képes gátolni.

A kutatás a TKP2020-NKA-01 számú projekt, a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a Tématerületi Kiválósági Program 2020 (2020-4.1.1-TKP2020) pályázati program finanszírozásában valósult meg.

ANTIBIOTIKUMOK SZENNYVIZEKBŐL TÖRTÉNŐ ELTÁVOLÍTÁSÁNAK VIZSGÁLATA KÜLÖBÖZŐ ADSZORBENSEK ALKALMAZÁSÁVAL

Szimrók Zoltán^{1*}, Nagy Gábor¹, Paliczné Kustán Bianka¹, Bakacsi Zoltán³, Vincze Zoltán², Jerzsele Ákos¹

Napjainkban jelentősen megnövekedett a világban a gyógyszeripari termékek használata mind a humán- és állatgyógyászatban, mind a mezőgazdaságban. Nagy jelentőségük mellett azonban a felhasznált termékek hatóanyagainak nem elhanyagolható része ürül ki a szervezetből biológiailag aktív metabolitként vagy eredeti formában, amelynek jelentős hányada a szennyvizekbe kerül. A szennyvíztisztító telepek által alkalmazott módszerek általában nem megfelelőek a gyógyszermaradványok teljes eltávolítására, amelyek így a kezelt szennyvízzel a környezeti vizekbe kerülnek a helyi ökoszisztémát károsítva. Az antibiotikumok emellett a rezisztencia kialakulását és elterjedését is elősegítik. Előbbi okok miatt nagy jelentőségű olyan módszerek kifejlesztése, melyek lehetővé teszik a szennyvizek gyógyszermaradványainak minél nagyobb mértékű eltávolítását.

Vizsgálataink során a következő antibiotikumok koncentrációit határoztuk meg: amoxicillin (β -laktám), azitromicin (makrolid), ciprofloxacín (fluorokinolon), levofloxacín (fluorokinolon), doxiciklin (tetraciklin) szulfametoxazol (szulfonamid). A kísérletek megkezdése előtt kifejlesztettük a különböző hatóanyagok meghatározásához szükséges kromatográfiai módszereket: UPLC-MS/MS (ultra nagyhatékonyságú kromatográfiai módszer tandem tömegspektrometriás detektálással). A megfelelő mintaelőkészítést követően a meghatározás (hatóanyagtól függően) izokratikus, fordított fázisú kromatográfiai módszerrel történt, tömegspektrometriás detektálással. A kromatográfiai és tömegspektrometriás detektálási paramétereket minden hatóanyagnál optimalizáltuk, míg a mennyiségi meghatározáshoz az adott antibiotikum referencia standardjának hígítási sorát használtuk 5 pontos kalibrációs módszer alkalmazásával.

A vizsgálatok első fázisában a különböző hatóanyagok és 6 különböző adszorbens vizes oldataiban határoztuk meg az adott antibiotikumok koncentrációit három különböző töménységű adszorbens alkalmazásával. A kapott eredmények (eltávolítási hatékonyság) alapján kiválasztottuk a legmegfelelőbb adszorbenseket, melyekkel a második fázisban vizsgáltuk az adszorpció időfüggését még vizes oldatokból. A vizsgálatok harmadik fázisában már tisztított szennyvizes oldatokat alkalmaztunk mind az optimális adszorbens, mind az adott antibiotikum minta esetében. Ezekben a kísérleteben a kiválasztott adszorbens koncentrációfüggését vizsgáltuk egy adott antibiotikum szint alkalmazásával különböző mintavételi időpontokban, melyek alapján az egyes hatóanyagokhoz meg tudtuk határozni a legmegfelelőbb adszorbens szintet és kontaktidőt.

A kísérletek jövőbeni folytatását az alábbiak szerint tervezzük: az optimális adszorbens koncentráció és kontaktidő alkalmazásával a vizsgált antibiotikumok keverékének vizsgálata, valamint az adszorpció hatékonyság függését a különböző komponensek koncentrációjától.

ANTIBIOTIKUMOK ÉS BIOFILMELENEK HATÁSÚ ANYAGOK SZINERGIZMUS VIZSGÁLATA KUTYA KÜLSŐ HALLÓJÁRAT GYULLADÁSÁBÓL IZOLÁLT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* TÖRZSEKEN

Veres Adrienn Mercédesz¹, Juhász Orsolya, Horváth Anikó Melinda, Vincze Zoltán², Jerzsele Ákos¹

A kutyák *Pseudomonas aeruginosa* okozta külső hallójárat-gyulladásának hatékony kezelése nagy kihívást jelent a gyakorló állatorvosok számára. A terápia rezisztencia mögött az elsődleges kórok adekvát kezelésének hiánya mellett a nem megfelelő kiegészítő terápia, illetve antibakteriális hatóanyag-választás és a baktérium-rezisztencia mechanizmusainak halmozódása (MDR-XDR törzsek), illetve biofilmképző hajlama állhat.

Vizsgálataink során egy olyan fluorokinolonra épülő szinergista szerkombináció megtalálását tűztük ki célul, amely hatékony antibakteriális hatással rendelkezik, és biofilm eradikációra lehet alkalmas helyi alkalmazásban az említett kórképből.

Kutatásunk során 15 kutya külső hallójárat-gyulladásából izolált és 1 biofilmtermelő *P. aeruginosa* kontroll (ATCC® 27853TM) törzs antimikrobiális érzékenységét határoztuk meg a CLSI irányelveknek megfelelően mikrodilúciós módszerrel végzett MIC meghatározással egy fluorokinolon, egy kelátképző anyag, egy növényi illóolaj és egy cisztein-származék önálló, illetve különböző arányú kettes vagy hármas kombinációinak jelenlétében. Utóbbiak esetében a szinergizmus meglétét a FIC index számítással igazoltuk. Spektrofotometriásan vizsgáltuk továbbá az említett szerek biofilmfeltörő képességét a törzsek 96 lyukú tenyésztőlemezén Mueller-Hinton levesben 24 órán át növesztett biofilmjein kristályibolya vagy metil-tetrazólium vitális festék jelenlétében.

A fent említett törzseken szinergista antibakteriális hatást találtunk az illóolaj-kelátképző anyagok 1:2 tömegarányú keverékének, az 13:25000 tömegarányú antibiotikum-kelátképző anyagok kettes, továbbá 8:100000:200000-től 5000:150000:300000-ig terjedő tömegarányú antibiotikum-illóolaj-kelátképző anyag hármas kombinációinak *in vitro* vizsgálata során. Parciális szinergizmust tártunk fel *P. aeruginosa* törzseken az illóolaj-kelátképző anyag 1:1, illetve 2:1 arányú keverékének használatával. A fluorokinolon antibakteriális hatására indifferens volt az illóolajjal való kombinációs alkalmazás. A ciszteinszármazék biofilmmellenes hatását nem sikerült alátámasztanunk. A fennmaradó vizsgált anyagok önállóan hatékony biofilmfeltörésre képesek 2 µg/ml-es (fluorokinolon) illetve 2 mg/ml (kelát-képző és növényi olaj) EC₅₀ értékekkel.

Eredményeink alapján a ciszteinszármazékot az alá nem támasztható biofilmmellenes hatása miatt kizártuk a szinergizmusra vizsgált szerek közül. A fennmaradó hatóanyagok meghatározott arányú kettes és hármas kombinációi szinergista hatást mutattak, így alkalmasak lehetnek további *in vivo* vizsgálatokra egy topikálisan alkalmazott állatgyógyászati fülcsepp fejlesztéséhez.

AZ ABCB1 GÉNEN ELŐFORDULÓ EGYPONTOS NUKLEOTID POLIMORFIZMUS (SNP) GYAKORISÁGA KÜLÖNBÖZŐ KUTYAFAJTÁKBAN

Wágner Réka^{1*}, Palócz Orsolya¹ és Csikó György¹

Bevezetés: Az *ABCB1* gén deléciós mutációja következtében kialakuló P-glikoprotein hiány egyes kutyafajták, például a shetlandi, a skót- és ausztrál juhászkutya, esetében nagyon gyakran előfordul. E mellett azonban számos egyéb elváltozás is érintheti a tárgyalt gént. Tanulmányunk során az *ABCB1* gén állatorvosi viszonylatban kevésbé ismert egy pontos nukleotid polimorfizmusát (SNP) vizsgáltuk, melyben egy timin bázis guaninra cserélődik. A vizsgált SNP-ről a génen való elhelyezkedése alapján feltételezzük, hogy befolyásolhatja egyes xenobiotikumok sejtmembránokon keresztüli transzportját.

A munka célja: Vizsgálatunk célja a kutya *ABCB1* génjében előforduló, c.-6-180T>G elhelyezkedésű, timin-guanin báziscsere előfordulási gyakoriságának meghatározása különböző kutyafajtákban.

Módszerek: A gyűjtött vérmintákból DNS-t izoláltunk, majd PCR (polimeráz láncreakció) segítségével felszaporítottuk a pontmutációban érintett *ABCB1* génszakaszt. Az egy pontos nukleotid mutáció jelenlétét RFLP (restrikciós fragmenthossz polimorfizmus) módszer segítségével határoztuk meg.

Eredmények: Az összesen vizsgált 214 mintából 87 esetben T/T, 99 esetben T/G és 28 esetben G/G genotípust állapítottunk meg. A négy legnagyobb mintaszámú fajtából az alábbi adatokat nyertük: 60 németjuhász egyedből 35 T/T, 23 T/G és 2 G/G genotípust, 34 shetlandi juhászkutyából 2 T/T, 16 T/G és 16 G/G genotípust, 12 svájci fehér juhászkutyából 3 T/T, 5 T/G és 4 G/G genotípust, valamint 47 magyar vizslából 22 T/T, 24 T/G és 1 G/G genotípust mutattunk ki. Összességében a guanin bázist hordozó allél gyakorisága 36% volt.

Következtetések: Figyelembe véve a báziscsere gyakori előfordulását, valamint azt, hogy a tárgyalt SNP fontos szerepet játszhat a gyógyszerek klinikai hatékonyságában, fontosnak tartjuk a génváltozat hatásaira irányuló klinikai vizsgálatokat a jövőben, különös figyelmet fordítva a központi idegrendszerre ható szerek csoportjára.

Köszönetnyilvánítás: A kutatás az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-2 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap támogatásával valósult meg.