

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK
(2020. JANUÁR 20-23.)

**ÉLETTAN ÉS BIOKÉMIA
GYÓGYSZERTAN ÉS TOXIKOLÓGIA
MORFOLÓGIA**

2019. évi 46. füzet

ELŐSZÓ

Kedves Kolleganók és Kollegák!

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2020. január 20-23. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatát, amelyre idén 46. 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. A beszámoló füzetek anyaga az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet honlapján (http://aoti.agrar.mta.hu/mta_beszamolok) megtalálható.

Az előadások és azt követő megvitatás időtartama legfeljebb 10 + 5 perc. Kérjük, hogy a megadott időtartamot senki ne lépje túl. Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezzük a súlyt. Aki azonos témán belül jelentett be 2 vagy több előadást, kérjük, próbálja meg ezeket összevonni.

A résztvevőket, különösen a bizottsági tagokat és az üléelnököket arra kérjük, hogy kérdéseikkel, megjegyzéseikkel, javaslataikkal, segítsék az előadottak részletesebb megismerését, értékelését és a beszámoló szakmai műhelyek további munkáját. A tudományos előrehaladást a fiatalok tudományos fórumokhoz való szoktatását a vita éppúgy szolgálja, mint maga az előadás.

Az egyes szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el az Állatorvos-tudományi Bizottság titkárához (magyar.tibor@agrar.mta.hu) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekció elnökökkel egyeztetett tájékoztatót (a Magyar Állatorvosok Lapjában való közlés céljából), amely tartalmazza nem csak az előadások, hanem a vita legfontosabb megállapításait is.

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

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

Kívánunk mindenkinek eredményes és hasznos tanácskozást.

Gálfi Péter
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter
Rektor, TDK elnök

Vörös Károly
ÁODI elnöke

Magyar Tibor
MTA ÁTB titkára

MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE Állatorvostudományi DI akadémiai beszámolóinak programja és szekcióbizottságai
(2020. január 20-23.)

A szekció megnevezése	A szekcióülés ideje	A szekcióülés helye	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
Élettan és biokémia Patológia Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	I. 20. hétfő 8:30-	Tormay Béla előadóterem	Bartha Tibor Jerzsele Ákos Neogrády Zsuzsanna Sótonyi Péter	Farkas Orsolya Mátis Gábor	Csikó György Halasy Katalin Kutas Ferenc Rác Bence Zsarnovszky Attila
Élelmiszer-higiéncia Állategészségügyi Igazgatás	I. 20. hétfő 8:30-	Marek József előadóterem	Laczay Péter Ózsvári László	Darnay Livia	Józwiak Ákos Kovács Sándor Lehel József, Szita Géza
Bakteriológia	I. 21. kedd 8:30-	Tormay Béla előadóterem	Fodor László Magyar Tibor	Kreizinger Zsuzsa	Hajtós István, Bernáth Sándor Gyuranecz Miklós Makrai László, Tenk Miklós, Tóth István
Viroológia Immunológia	I. 21. kedd 14:30-		Harrach Balázs Hornyák Ákos	Kaján Győző	Benkő Mária, Dán Ádám Pénzes Zoltán, Rusvai Miklós Soós Tibor, Zádori Zoltán
Állathigiéncia Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	I. 22. szerda 14:00-	Tormay Béla előadóterem	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor Fekete Sándor, Gáspárdy András Jakab László Rafai Pál, Zöldág László
Parazitológia Állattan Halkórtan	I. 22. szerda 8:30-	Hetzel Henrik előadóterem	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	I. 23. csütörtök 8:30-	Tormay Béla előadóterem	Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor Vörös Károly	Bakos Zoltán Becker Zsolt Szelényi Zoltán	Biksi Imre, Gál János Szenci Ottó Vajdovich Péter

TARTALOMJEGYZÉK

Élettan és Biokémia

1. KANNABINOID VEGYÜLETEK ASZTRO- ÉS MIKROGLIÁRA KIFEJTETT HATÁSA NEUROINFLAMMÁCIÓS ÉS NEURODEGENERATÍV KÓRKÉPEKBEN
Alföldi Regina, Tóth István, Bárány Zoltán, Jócsák Gergely, Kiss Dávid Sándor, Bartha Tibor
2. AZ ENDOKRIN DISZRUPTORKEZELÉS INDUKÁLTA PEROXISZÓMA PROLIFERÁTOR AKTIVÁLT GAMMA-; ÖSZTROGÉN- ÉS PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOR EXPRESSZIÓS VÁLTOZÁSOK ÖSSZEHASONLÍTÁSA EGÉR KISAGYI- ÉS HIPOTALAMIKUS SZÖVETMINTÁKBAN.
Jócsák Gergely, Kiss Dávid Sándor, Tóth István, Bárány Zoltán, Frenyó V. László, Bartha Tibor, Zsarnovszky Attila
3. ASZTROGLIASEJTEK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A NEUROINFLAMMÁCIÓ KIALAKULÁSÁBAN, VALAMINT A TEOFILLIN ERRE GYAKOROLT HATÁSA
Kerek Ádám, Bárány Zoltán, Kiss Dávid Sándor, Tóth István, Jócsák Gergely, Bartha Tibor, Sterczér Ágnes
4. CITOKRÓM P450 ENZIMEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA VADON ÉLŐ KÉRŐDZŐKBEN
Kovács Emma, Kurucz Ádám, Orbán Kata, Balogh Dániel, Neogrády Zsuzsanna, Mátis Gábor
5. A HŐSTRESSZ AKUT HATÁSAINAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ HEPATOCITA MONO- ÉS HEPATOCITA – NEM-PARENCHIMÁLIS SEJT KOKULTÚRÁN
Mackei Máté, Mátis Gábor, Molnár Andor, Pál László, Dubleczy Károly, Husvéth Ferenc, Neogrády Zsuzsanna
6. A T-2 TOXIN SEJTSZINTŰ HATÁSAINAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ CSIRKE EREDETŰ PRIMER MÁJMODELLEKEN
Mackei Máté, Mátis Gábor, Vörösházi Júlia, Molnár Andor, Pál László, Dubleczy Károly, Husvéth Ferenc, Neogrády Zsuzsanna
7. A CHICKEN HETEROPHIL PEPTIDE 1 (CHP-1) GYULLADÁSCSÖKKENTŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ MÁJSEJT-TENYÉSZETEKEN
Sebők Csilla, Orbán Kata, Mackei Máté, Vörösházi Júlia, Neogrády Zsuzsanna, Mátis Gábor

Gyógyszertan és toxikológia

1. FERMENTÁLT BÚZACSÍRA KIVONAT BÉLHÁMRA GYAKOROLT ANTIOXIDÁNS ÉS GYULLADÁSCSÖKKENTŐ HATÁSA
Karancsi Zita, Farkas Orsolya, Mórítz Alma Virág, Jerzsele Ákos

2. PROANTOCIANIDINEK HASZNÁLATA SERTÉSEK BAKTERIÁLIS BÉLFERTŐZÉSEIBEN
Kovács Dóra, Karancsi Zita, Farkas Orsolya, Jerzsele Ákos
3. KVERCETIN ÉS METILEZETT SZÁRMAZÉKAINAK OXIDATÍV STRESSZT CSÖKKENTŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA IPEC-J2 SEJTEKEN
Mészáros Judit, Karancsi Zita, Farkas Orsolya
4. 1,2,4-TRIAZOL-5-ONOK SZINTÉZISE β -NITRO-ENAMINBÓL
Nagy Dániel, Alekszi-Kaszás Anna, Kiss László, Pilipecz Mihály, Varga Tamás
5. *ENTEROCOCCUS FAECIUM* FELÜLSZÓVAL TÖRTÉNŐ KEZELÉS HATÁSÁNAK NYOMONKÖVETÉSE IPEC-J2 SEJTKULTÚRÁN
Palkovicsné Pézsa Nikolett, Karancsi Zita, Rácz Bence, Farkas Orsolya
6. AZ ABCB1 GÉNBEN ELŐFORDULÓ EGYPONTOS NUKLEOTID POLIMORFIZMUS (SNP) GYAKORISÁGA A MAGYARORSZÁGI BORDER COLLIE ÁLLOMÁNYBAN
Palócz Orsolya, Csikó György
7. FERMENTÁLT BÚZACSÍRA VÉDŐ HATÁSÁNAK TESZTELÉSE TRICHOTECÉN VÁZAS MIKOTOXINOK ÁLTAL KÁROSÍTOTT SERTÉS BÉLHÁMSZÉLKEKEN
Pomothy Judit Mercédesz, Prokoly Dorottya, Barna Réka Fanni, Pásztiné Gere Erzsébet
8. POTENCIÁLIS GYÓGYSZERJELÖLT MATRIPTÁZ-2 ENZIM INHIBITOROK TESZTELÉSE PRIMER MÁJSEJT MODELLEKEN
Pomothy Judit Mercédesz, Barna Réka Fanni, Paréj Zsuzsanna, Pásztiné Gere Erzsébet
9. MIKRODIALÍZIS TECHNIKA ALKALMAZÁSA SERTÉS TÉRDÍZÜLETBEN
Somogyi Zoltán, Karancsi Zita, Mag Patrik, Szalay Ferenc, Jerzsele Ákos

Morfológia

1. A SPERMIDIN HATÁSA AZ ÖREGEDŐ HIPPOKAMPUSZRA: A SZINAPTIKUS ÉS MITOKONDRIÁLIS ULTRASTRUKTÚRA KVANTITATÍV ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATA
Rácz Bence, Mark Marcello, Juhász Péter, Sótonyi Péter
2. A PARALUMBALIS IZOMZAT ANATÓMIAI ÉS ULTRAHANGVIZSGÁLATA A MELARZOMIN INJEKCIÓ BEADÁSA SORÁN, A KUTYÁK SZÍVFÉRGESSÉGÉNEK GYÓGYKEZELÉSE CÉLJÁBÓL
Szalay Ferenc, Vörös Károly, Bernd Schulze Gronover, Becker Zsolt, Dudás Györki Zoltán

KANNABINOID VEGYÜLETEK ASZTRO- ÉS MIKROGLIÁRA KIFEJTETT HATÁSA NEUROINFLAMMÁCIÓS ÉS NEURODEGENERATÍV KÓRKÉPEKBEN

Alföldi Regina¹, Tóth István^{2*}, Bárány Zoltán², Jócsák Gergely², Kiss Dávid Sándor², Bartha Tibor²

A gyógyítás történelmében a *Cannabis sativa* egyike a legrégebben használt növényeknek. Napjainkban ismét kiemelt szerephez jutottak a különböző kannabinoid hatóanyagú orvosi készítmények, melyek használata egyre több országban engedélyezett. A terápiás célok közt olyan gyógyíthatatlan neurodegeneratív betegségek is szerepelnek, mint az Alzheimer-kór, Huntington-kór vagy a sclerosis multiplex. A neurodegeneratív kórképek gyakori kísérő jelensége a neuroinflammáció, valamint az idegrendszer sejtjeinek csökkent életképessége. Az agy homeosztázisának fenntartásáért főként a gliasejtek felelősek, melyek a gyulladási folyamatokban is fontos szerepet játszanak.

Munkánk során asztroglia-mikroglia (8:1 arányban) kokultúrán vizsgáltuk különböző koncentrációjú kannabinoidok önállóan, valamint lipopoliszacharid (LPS) indukálta gyulladás mellett a sejtek életképességére és IL-6 termelésére kifejtett hatásait.

Kísérleteinkhez szükséges volt egy megfelelően alkalmazható *in vitro* modell létrehozása, ehhez 1-2 napos korú Sprague-Dawley patkányok agyszövetét használtuk föl. A patkány asztroglia-mikroglia konfluens tenyészet létrehozását követően, kannabidiol (CBD) és tetrahidrokannabinol (THC), irodalmi adatok alapján beállított növekvő dózisaival kezeltük a sejt kultúrákat, illetve ugyanezen koncentrációk hatásainak változását vizsgáltuk LPS hozzáadása mellett. Mindegyik kezelési csoport esetében a sejtek életképességét Neutral Red felvétel és laktát-dehidrogenáz kibocsátási teszt, a bekövetkező IL-6 termelést pedig ELISA módszer segítségével mértük.

A THC és CBD vizsgált koncentrációi növelték a gliasejtek életképességét mind természetes, mind gyulladási körülmények közt. A koncentrációk közül 15 μ M THC kezelés gyulladás során, 10 μ M CBD kezelés pedig mindkét esetben szignifikáns változást eredményezett a sejtek vitalitásában. Gyulladási vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy LPS hatására szignifikánsan nőtt az asztroglia IL-6 termelése, azonban a kannabinoidok nem befolyásolták jelentősen a sejtek citokin termelő képességét.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a vizsgált kannabinoid vegyületek neuroprotektív hatásához a gliasejtek is hozzájárulnak, így megfelelően hatékonyak lehetnek egyes neurodegeneratív kórképekben. A kannabinoidok neuroinflammációban betöltött szerepének pontosabb megismeréséhez további gyulladási markerek (pl: egyéb interleukinok, interferon, tumor nekrosis faktor) vizsgálata indokolt.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.2-16-2017-00008: „A neuroinflammáció vizsgálata a neurodegeneratív folyamatokban: a molekulától a betegágyig”).

AZ ENDOKRIN DISZRUPTORKEZELÉS INDUKÁLTA PEROXISZÓMA PROLIFERÁTOR AKTIVÁLT GAMMA-; ÖSZTROGÉN- ÉS PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOR EXPRESSZIÓS VÁLTOZÁSOK ÖSSZEHASONLÍTÁSA EGÉR KISAGYI- ÉS HIPOTALAMIKUS SZÖVETMINTÁKBAN.

Jócsák Gergely^{1*}, Kiss Dávid Sándor¹, Tóth István¹, Bárány Zoltán¹, Frenyó V. László¹, Bartha Tibor¹, Zsarnovszky Attila^{2,3}

A központi idegrendszer fejlődése során a különböző agyterületek szöveti differenciálódása a peroxiszóma proliferátor aktivált gamma- (PPR γ); az ösztrogén- (ER) és a pajzsmirigy-hormon receptorokon (TR) keresztül valósul meg. Ezeket a receptorokat különböző endokrin diszruptor (ED) hatású vegyületek dózisfüggő módon képesek aktiválni vagy gátolni, így a szövetek egészséges fejlődési útját esetlegesen károsan befolyásolni. Az ED-k már igen kis dózisban is képesek megzavarni a neuroendokrin rendszer finomhangolt működését, így az említett receptorok expressziójának szabályozását is. Ezen folyamatok kényes egyensúlyának a felborulása az intra- és az extracelluláris visszacsatolás (feed-back) megváltozásának eredménye, amely hatással lesz a célsejtek felületén történő hormonreceptor-mennyiség kifejeződésére.

Kutatásaink során megvizsgáltuk, hogy a különböző dózisú, három vizsgált ED (biszfenol-A [BPA], zearalenon [ZEA], arzén [As]) kezelés milyen hatást gyakorol a PPR γ , E2- és a PMH-receptorok expressziójára, és hogy e hatás különbözik-e az egér hipotalamikus- (HT) és kisagy (CRB) szövetmintákban.

Kísérleteinket *ex vivo* egér HT és CRB szövetmintákon végeztük. A PPR γ , ER, TR expressziós szintjeit qPCR technika alkalmazásával állapítottuk meg. Az ED-eket 5 μ g, 10mg és 50mg koncentrációkban alkalmaztuk. Az eredményeket kezeletlen kontroll HT és CRB szövetből mért eredményekhez, és az agyterületek között a releváns kezelési csoportokhoz viszonyítottuk.

A legszembetűnőbb eredményeket kiemelve A BPA valamennyi vizsgált receptor esetében a legkisebb alkalmazott koncentrációban növelte legjobban az expressziót. Az As 5mg koncentrációban jelentősen növelte a TR α , a PPR γ és az ER α expressziót. A HT és CRB expressziós szintek között a legnagyobb különbséget a BPA kezelés esetén tapasztaltuk.

Az *ex vivo* eredmények igazolják a korábbi *in vitro* eredmények kapcsán bemutatott ED-hatások receptorspecifikus és koncentrációfüggő hatását. Figyelemre méltó, hogy az egyes ED-k alacsony koncentrációban jelentősebb hatás érnek el a magasabb dózisokkal szemben. Továbbá az ED-k hatása jelentős eltérést mutat a különböző agyterületeken.

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

ASZTROGLIASEJTEK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A NEUROINFLAMMÁCIÓ KIALAKULÁSÁBAN, VALAMINT A TEOFILLIN ERRE GYAKOROLT HATÁSA

Kerek Ádám¹, Bárány Zoltán², Kiss Dávid Sándor², Tóth István², Jócsák Gergely², Bartha Tibor², Sterczer Ágnes³

A neuroinflammáció a központi idegrendszerben zajló gyulladásos válasz, mely számos betegség patogenezisében szerepet játszik. A (kór)folyamat kialakításáért elsősorban a mikroglia és asztroglia felelősek különféle citokinek termelése révén. Ebben közvetett, ámár jelentős szereppel bír a glutamináz enzim, ezáltal nyitva teret ezen enzim terápia célú gátlásához. A közelmúltban egy foszfodiészteráz (PDE) gátló hatóanyagról igazolódott a glutamináz enzim-gátló hatása is, de a gyógyszercsalád többi vegyületéről ilyen tekintetben ezidáig nincs ismeretünk.

Kutatásunk célja a teofillin és zaprinast PDE-gátló hatóanyagok asztroglia sejteletképességére gyakorolt hatásának, valamint esetleges glutamináz-gátló aktivitásának vizsgálata volt patkány primer asztroglia kultúrában.

1-2 napos patkányok teljes agyszövetét felhasználva primer asztroglia kultúrát hoztunk létre, melyből egy kémiai kezelés által eltávolítottuk a mikroglia nagy részét, így nyerve nagy tisztaságú asztroglia sejt kultúrát. A sejtek kezeléséhez használt ágensek, úgymint ammónia, zaprinast, teofillin és 6-diazo-5-oxo-L-norleucin (DON) sejthalálra gyakorolt hatását propidium-jodid (PI) és neutrál vörös felvétel valamint laktát dehidrogenáz (LDH) aktivitás meghatározás révén is vizsgáltuk. Ezt követően a sejteket ammóniával való kezelés után/kezelés nélkül inkubáltuk zaprinasttal, teofillinnel, DON-nal és a glutamináz aktivitás változását kolometriás eljárás alapján módszerrel vizsgáltuk.

A citotoxicitási vizsgálatok során a PI általi fluoreszcencia intenzitás nem bizonyult konzekvensnek, de a neutrál vörös-felvétel és LDH-aktivitás mérések alapján meghatározható volt az optimális kezelési koncentráció. Így végül teofillinből a 300 és 500 μM -os, zaprinastból a 100 és 300 μM -os, DON-ból pedig a 100 μM -os koncentrációk kerültek kiválasztásra ezen vegyületek glutamináz gátló hatásának vizsgálata céljából. A glutamát intracelluláris szintje mérhető volt az a kezelt asztroglia kultúrákban, viszont jelen kísérleti körülmények között a vizsgált PDE-gátlók nem rendelkeztek glutamináz-gátló hatással.

A kísérleteink eredményei szerint az LDH-aktivitáson és neutrál vörös-felvételen alapuló vizsgálatok alkalmasak voltak a vizsgált vegyületek, asztroglia sejteletképességére gyakorolt hatásának megállapítására. Eredményeink nem utaltak a teofillin és zaprinast glutamináz-gátló aktivitására, viszont ennek teljes tisztázása további vizsgálatokat igényel.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.2-16-2017-00008, címe: A neuroinflammáció vizsgálata a neurodegeneratív folyamatokban: a molekulától a betegágyig), valamint az NKB által nyújtott támogatás (témaszám: 1300001152) révén valósult meg.

CITOKRÓM P450 ENZIMEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA VADON ÉLŐ KÉRŐDZŐKBEN

Kovács Emma, Kurucz Ádám, Orbán Kata, Balogh Dániel, Neogrády Zsuzsanna, Mátis Gábor*

Az állati szervezetbe jutó xenobiotikumok biotranszformációjában fontos szerepet játszanak a citokróm P450 (CYP) enzimek. Bár e reakciók legfőbb helyszíne a máj, a szájon át felvett anyagok méregtelenítése már a bélben, kérődzők esetében pedig már az előgyomrokban megkezdődik. Vadon élő állatok esetében különösen fontos a xenobiotikum-anyagcserében résztvevő enzimek vizsgálata, hiszen a természetben fellelhető szennyezőanyagok, valamint az elfogyasztott növények bioaktív anyagai közvetlen hatást gyakorolhatnak rájuk. A vadon élő kérődzőkben zajló méregtelenítő folyamatokról ezidáig kevés információ állt rendelkezésünkre. Ezért kutatásunk célja az őz, a gímszarvas és dámszarvas méregtelenítő folyamataiban kulcsfontosságú szerepet betöltő hepatikus, ruminális és intesztinális CYP enzimek aktivitásának összehasonlító vizsgálata volt.

A mintagyűjtés során egyéni- és terelővadászatokon elejtésre került 39 vad májából, bendőhámjából és duodenum-nyálkahártyájából vettünk szövetmintákat. Azokat foszfátpufferben homogenizáltuk, majd többlépcsős differenciáló centrifugálás során elkülönítettük a posztmitokondriális felülúszót. Ezután meghatároztuk az összfehérje- és hemoglobin-koncentrációt BCA módszer, ill. ammóniareagens segítségével az enzimaktivitások standardizálása céljából. A CYP1A2 és CYP2C9 enzimek aktivitását luminometriás eljárás során specifikus CYP Glo kitek segítségével mértük.

Eredményeink alapján mindhárom állatfaj májában szignifikánsan, jelentősen magasabb aktivitásúnak találtuk a CYP1A2 enzimet a CYP2C9 enzimhez képest, és mindkét enzim esetében öznél tapasztaltuk a legnagyobb hepatikus aktivitást. A bendőbeli CYP1A2 enzim működése dámszarvasoknál a kimutatható szint alatt maradt, a CYP2C9 pedig bár mérhető volt, de releváns értéket nem mutatott. Őz és gímszarvas esetében mindkét enzim mérhetőnek, de nagyságrendekkel kisebb aktivitásúnak bizonyult a bendő-nyálkahártyában a májhoz viszonyítva. A legmagasabb ruminális aktivitást mind a CYP1A2, mind a CYP2C9 esetében gímnél tapasztaltuk. A duodenumban a CYP1A2 aktivitását dák esetében nem tudtuk kimutatni, és az aktivitás az öznél és gímszarvasnál is különösen alacsonynak bizonyult. A duodenális CYP2C9 mindhárom fajban rendkívül kis aktivitást mutatott.

Kutatásaink során elsőként mutattuk ki CYP enzimek aktivitását kérődzők bendőnyálkahártyájában, valamint megállapítottuk, hogy a CYP1A2 jelentősen nagyobb aktivitással működik mindhárom vizsgált állatfaj májában a CYP2C9 enzimhez képest. Az őz, gímszarvas és dámvad enzimaktivitásainak összehasonlítása során tapasztalt jelentős állatfaji eltérések vélhetően genetikai tényezőkkel vagy az állatok részben eltérő életmódjával állhatnak összefüggésben. Eredményeink jelentős információt nyújthatnak a vadon élő kérődzők környezeti vagy takarmányozási eredetű CYP modulátoroknak való kitettségeről, valamint a felvett xenobiotikumok anyagcseréjéről, és így élelmiszerbiztonsági szempontból is nagy jelentőségük lehet.

A kutatás részben az EFOP-3.6.3. pályázat támogatásával került megvalósításra.

A HŐSTRESSZ AKUT HATÁSAINAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ HEPATOCITA MONO- ÉS HEPATOCITA – NEM-PARENCHIMÁLIS SEJT KO-KULTÚRÁN

Mackei Máté^{1*}, Mátis Gábor¹, Molnár Andor², Pál László², Dublec Károly², Husvéth Ferenc², Neogrády Zsuzsanna¹

A napjainkban egyre gyakrabban előforduló, és igen intenzív hőhullámok fontos környezeti stressztényezőt jelentenek a baromfitartás számára. A témát érintő eddig kutatások eredményeit tanulmányozva megállapítható, hogy mind az akut, mind a krónikus módon fellépő hőstressz intenzíven és összetett módon befolyásolja az állatok egészségi állapotát, a folyamatok hátterében álló sejtszintű hatásmechanizmusok azonban nem tisztázottak. Jelen kutatásunk során ezeket a kérdéseket kívántuk vizsgálni csirke eredetű primer májsejt-tenyészeteken.

A primer sejtenyészetek kialakításához 3 hetes, Ross-308 brojlercsirkéket használtunk. A máj perfúzióját kollagenáz enzimet tartalmazó pufferrel történő emésztés követte, mely után az egyes sejtfrakciók elkülönítése céljából több lépésben centrifugáltuk a sejtszuspenziókat. A sejtzitolálást követően hepatocita mono-kultúra és hepatocita – nem-parenchimális sejt ko-kultúra (6:1 arány; hepatocita:nem-parenchimális sejt) tenyészetek kialakítására került sor. A hőstressznek kitett sejt kultúrákat 1 vagy 2 órás kezelési időt alkalmazva 43 °C-on, a kontroll tenyészeteket 38,5 °C-on inkubáltuk. A kezelést követően került sor a sejtek metabolikus aktivitásának meghatározására, melyet CCK-8 teszttel végeztünk. Amplex Red módszerrel követtük nyomon a tenyészetek extracelluláris H₂O₂ termelését, valamint csirke specifikus ELISA tesztekkel határoztuk meg a HSP70 hősokkfehérje koncentrációját. Az alkalmazott hőstressz feltételezett immunmoduláló hatásaira vonatkozólag, szintén ELISA módszerrel határoztuk meg a termelődött interleukin (IL)-6 és IL-8 mennyiségét.

A hőstressz mindkét sejtmodellben, mindkét inkubációs időt alkalmazva intenzíven befolyásolta a tenyészetek metabolikus aktivitását. A gyulladós folyamatok modelljeként is alkalmazható ko-kultúrákban szignifikánsan magasabb volt a sejtek metabolikus aktivitása, mint a hepatocita mono-kultúrák esetében. A H₂O₂ koncentrációja mindkét sejtmodell esetében 1 órás inkubációt követően szignifikánsan csökkent, míg ez a különbség 2 órás kezelést követően már nem volt megfigyelhető. Következésképpen hasonló eredményeket tapasztaltunk a HSP70, IL-6 és IL-8 koncentrációk tekintetében is. Mind a hepatocita mono-kultúrákban, mind a hepatocita – nem-parenchimális sejt ko-kultúrákban intenzíven csökkent a vizsgált faktorok koncentrációja 1 órás kezelést követően, míg ezek a különbségek 2 órás kezelési időt alkalmazva nem voltak kimutathatók.

Munkánk során eredményesen vizsgáltuk a hőstressz rövidtávú, akut hatásait az általunk kialakított csirke eredetű primer májmodelleken. Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a hőstressz erőteljesen negatívan befolyásolhatja mind a sejtek anyagcsere-állapotára, mind azok oxidatív- és immunstátuszára. Feltételezhető továbbá, hogy a rövidebb ideig tartó hőterhelés intenzívebb hatással lehet a máj működésére, mely befolyás hosszabb inkubációs időt követően a máj egyes sejtjeinek adaptációs mechanizmusai következtében csökken. A brojlercsirkék hőstresszes állapotának minél pontosabb és részletesebb megismerése érdekében az alkalmazott vizsgálatokon kívül nagy jelentőséggel bírna, és rövidtávú terveink közt szerepel egy, a fenti témához kapcsolódó *in vivo* kísérlet elvégzése is.

Kutatásunkat az EFOP-3.6.3-III-PhD és az NKFIH 124586 sz. pályázat támogatásával végeztük.

A T-2 TOXIN SEJTSZINTŰ HATÁSAINAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ CSIRKE EREDETŰ PRIMER MÁJMODELLEKEN

Mackei Máté^{1*}, Mátis Gábor¹, Vörösházi Júlia¹, Molnár Andor², Pál László², Dublicz Károly², Husvéth Ferenc², Neogrády Zsuzsanna¹

A mikotoxinok, mint az állati takarmányokat és emberi élelmiszereket gyakran szennyező különféle mikroszkopikus gombafajok másodlagos anyagcseretermékei, napjainkban egyre nagyobb jelentőséggel rendelkeznek. Az előző évek során kutatócsoportunk által sikeresen megtörtént különböző, a mikotoxinok (így például a T-2 toxin) molekuláris hatásainak vizsgálatára alkalmas csirke eredetű *in vitro* májmodellek kialakítása és jellemzése. Jelen munkánk célja annak meghatározása volt, hogy a T-2 toxin pontosan milyen sejtszintű hatásokkal lehet az általunk kialakított csirke eredetű primer hepatocita mono- és hepatocita – nem-parenchimális sejt ko-kultúrákra.

A tenyészetek létrehozásához 3 hetes, hímivarú Ross-308 brojlercsirkéket használtunk. A máj többlépcsős perfundálását kollagenázzal történő emésztés követte. Az így nyert sejtszuspenziót az egyes sejtfrakciók elkülönítése céljából több lépésben centrifugáltuk. A sejtizolálást követően hepatocita mono-kultúrák és hepatocita – nem-parenchimális sejt ko-kultúrák kialakítására került sor. Vizsgálataink során a sejttenyészeteket 8 vagy 24 órás inkubációs időt alkalmazva 0, 10, 100 és 1000 nmol/l koncentrációban kezeltük T-2 toxinnal. Ezt követően került sor CCK-8 teszt segítségével a sejtek metabolikus aktivitásának meghatározására. Amplex Red módszerrel vizsgáltuk továbbá a tenyészetek extracelluláris reaktív oxigéngyök (H₂O₂) termelését, valamint ELISA tesztekkel határoztuk meg a HSP70 hősokkfehérje koncentrációját. Arra vonatkozólag, hogy a T-2 toxin rendelkezik-e immunmoduláló hatásokkal, szintén ELISA módszerrel mértük a termelődött interleukin (IL)-6 és IL-8 mennyiségét.

Eredményeink alapján kijelenthető, hogy a T-2 toxin minden alkalmazott koncentrációban, mindkét inkubációs időt követően szignifikánsan csökkentette a tenyészetek metabolikus aktivitását. Hepatocita mono-kultúrákban az 1000 nmol/l dózisban alkalmazott T-2 toxin szignifikánsan emelte a HSP70 és IL-8 koncentrációját 24 órás kezelést követően, míg ehhez hasonló változások voltak tapasztalhatók az IL-6 mennyiségében is 8 órás inkubációt követően a mono- és ko-kultúrák esetében egyaránt. Az extracelluláris H₂O₂ tekintetében nem tapasztaltunk szignifikáns eltéréseket a T-2 toxin kezelést követően.

Munkánk során eredményesen vizsgáltuk a T-2 toxin egyes sejtszintű hatásait az általunk a közelmúltban sikerrel kialakított csirke eredetű primer májmodelleken. Vizsgálatainknak köszönhetően pontosabb képet kaphatunk a trichotecénavázak mikotoxinok pontos hatásmechanizmusáról. Eredményeink alapján a T-2 toxin erőteljesen befolyásolja a sejtek metabolikus- és immunstátuszát, de az említett káros hatások csirke esetében kevésbé lehetnek összefüggésben az oxidatív stressz kialakulásával. Sejtmodelljeink alkalmasak arra a célra, hogy azokon a jövőben további immunmoduláló faktorok és az ezek ellen esetlegesen alkalmazható védő hatású anyagok részletes vizsgálatait is elvégezhessük. Módszerünk alkalmas lehet továbbá az egyes mikotoxinok májbeli citokróm P450 enzimekre gyakorolt hatásainak *in vitro* vizsgálatára is, így pontosabb képet kaphatunk arról, hogy az említett anyagok miképp befolyásolják a szervezet xenobiotikum-transzformációjának sebességét. Kutatásunkat az EFOP-3.6.3-III-PhD és az NKFIH 124586 pályázat támogatásával végeztük.

A CHICKEN HETEROPHIL PEPTIDE 1 (CHP-1) GYULLADÁSCSÖKKENTŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA CSIRKE EREDETŰ MÁJSEJT-TENYÉSZETEKEN

Sebők Csilla¹, Orbán Kata¹, Mackei Máté¹, Vörösházi Júlia¹, Neogrády Zsuzsanna¹, Mátis Gábor^{1*}

Napjainkban egyre nagyobb jelentőséggel bír mind az állat-, mind a humán orvoslás területén a fokozott mértékben terjedő antibiotikum-rezisztencia, melyben kiemelt szerepet játszik a haszonállattartás túlzott antibiotikum-felhasználási gyakorlata. Ez rendkívüli kockázatot jelent, így az utóbbi időben előtérbe került olyan vegyületek kutatása, melyek részben vagy teljesen helyettesíthetik az antibiotikumok használatát. Az antimikrobiális peptidek ebből a szempontból ígéretes jelöltnek bizonyulnak, mert a veleszületett immunrendszer részeként mikrobaellenes hatással rendelkeznek, valamint csökkenteni képesek a bakteriális fertőzések következtében kialakuló gyulladást.

Kutatómunkánk során csirke eredetű primer májsejt mono-kultúrákon és májsejt – nem-parenchimális sejt ko-kultúrákon tanulmányoztuk a chicken heterophil peptide 1 (CHP-1) nevű antimikrobiális peptid gyulladáscsökkentő hatását. A sejteket *Salmonella* Typhimurium eredetű lipopoliszachariddal (LPS) kezeltük 0, 1, 10 és 50 µg/ml koncentrációban 8 órán keresztül, mellyel egyidejűleg a CHP-1-et 0, 0,5 és 5 µg/ml koncentrációban alkalmaztuk. A tenyésztett sejtek metabolikus aktivitását CCK-8 teszt segítségével vizsgáltuk. A gyulladáshoz vezető választ a tápfolyadék interleukin- (IL-)6 koncentrációjának ELISA módszerrel való mérésével, valamint az oxidatív stressz alakulását az extracelluláris H₂O₂-koncentráció Amplex Red módszerrel történő vizsgálatával követtük nyomon.

A CCK-8 teszt eredményei alapján a májsejt mono-kultúrák esetében az alacsonyabb (0,5 µg/ml) koncentrációjú CHP-1 kezelés nem tudta szignifikánsan befolyásolni a sejtek metabolikus aktivitását, míg a magasabb (5 µg/ml) koncentrációjú kezelést követően szignifikáns emelkedést tapasztaltunk. Méréseink alapján mind a májsejt mono-kultúrákon, mind a ko-kultúrákon a sejtek H₂O₂-termelése szignifikánsan csökkent az alacsonyabb koncentrációjú CHP-1 kezelést követően, míg szignifikánsan nőtt a magasabb koncentrációjú kezelés hatására a legtöbb LPS-koncentráció alkalmazásakor. Megállapítottuk, hogy a májsejt mono-kultúrák esetében az alacsonyabb koncentrációjú CHP-1 kezelés befolyásolta az IL-6-termelést, viszont a magasabb koncentráció szignifikánsan emelte a vizsgált interleukin mennyiségét a tápfolyadékban mindegyik LPS-kezelés mellett. A ko-kultúrákon az alacsonyabb koncentrációjú CHP-1 szignifikánsan csökkentette az IL-6 termelését az LPS-kezelések többsége mellett, míg a magasabb koncentráció szignifikánsan emelte az IL-6 mennyiségét a tápfolyadékban az LPS-mentes sejteken és az 1 µg/ml LPS kezeléseknél. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a kísérleteink során is alkalmazott 0,5 µg/ml koncentrációjú CHP-1 kezelés kedvező irányba befolyásolhatja a sejtek oxidatív státuszát, illetve mérséklő hatást gyakorolhat a gyulladáshoz vezető citokinek termelésére, azonban 5 µg/ml koncentráció mellett már kedvezőtlen hatással lehet a sejtekre. Az egyes antimikrobiális peptidek – mikrobaellenes és gyulladáscsökkentő hatásuk révén – ígéretes alternatívák lehetnek a jövőben az antibiotikum-felhasználás csökkentése céljából.

A kutatás az 124586. sz. NKFIH pályázat és az EFOP-3.6.3. pályázat támogatásával került megvalósításra.

FERMENTÁLT BÚZACSÍRA KIVONAT BÉLHÁMRA GYAKOROLT ANTIOXIDÁNS ÉS GYULLADÁSCSÖKKENTŐ HATÁSA

Karancsi Zita*, Farkas Orsolya, Móritz Alma Virág, Jerzsele Ákos

Az emésztőrendszer nyálkahártyája a szervezet fontos védelmi vonala a kórokozók szemből. Mind a társ-, mind a haszonállatok egészségének megőrzésében is egyre nagyobb a jelentősége a különféle természetes eredetű takarmány-kiegészítőknek. A fermentált búzacsíra kivonat (FBCSK) daganatellenes hatása a humán gyógyászatban széles körben ismert és alkalmazott, továbbá állatok esetében is immunerősítőként használják. A szakirodalomban azonban kevés adatot találtunk az egészséges bélhámra gyakorolt hatásáról. Fő hatóanyagként a 2,6-dimetoxi-p-benzokinont és a 2-metoxi-benzokinont azonosították.

Vizsgálataink során célul tűztük ki, hogy megállapítsuk a FBCSK hatását az egészséges bélhámsejtek életképességére, valamint, hogy fényt derítsünk a FBCSK sejtingegritást védő antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatására LPS okozta oxidatív stressz mellett.

Kutatásunkban a FBCSK hatását vizsgáltuk IPEC-J2 sertés bélhámsejteken különböző koncentrációkban (1%, 2% és 4%). A sejteket a FBCSK kezeléssel egy időben többféle eredetű LPS (*Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *E. coli* O55:B5, O111:B4, O127:B8) kezeléssel is kiegészítettük. A sejtek életképességét Neutral Red, a keletkező ROS mennyiséget Amplex Red és DCFH-DA módszerrel, a gyulladáscsökkentő hatást IL-6 mérésével jellemeztük (ELISA). A bélhám integritását fluoreszcens jelölőmolekula (FD4) alkalmazásával vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a FBCSK nem volt káros hatással a sejtek életképességére, sőt a 2%-os koncentráció növelte az élő bélhámsejtek számát. Az egyes LPS kezelések következtében keletkező intracelluláris ROS mennyiséget a FBCSK eredményesen csökkentette, míg extracellulárisan sem a különböző LPS kezelések, sem a FBCSK nem okozott változást a hidrogén-peroxid szintekben. Az IL-6 koncentrációt csak a *Salmonella* eredetű LPS növelte meg, melyet a FBCSK szignifikánsan csökkentett, továbbá a bélbarrier integritását a *Salmonella* eredetű LPS károsítani tudta, ellenben a FBCSK kezelés ezt is pozitívan befolyásolta.

Következtetésként elmondhatjuk, hogy a FBCSK nemcsak az immunszuppresszált vagy daganatos betegek terápiájában alkalmazható sikeresen, hanem gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatásának köszönhetően szélesebb körben is hatásosan igénybe vehető takarmány-kiegészítő lehet.

A kutatás az ÁTE NKB pályázat (2019.) és az Európai Unió ESZA társfinanszírozásával (EFOP-3.6.2-16-2017-00012) valósult meg, melyért hálás köszönet jár.

PROANTOCIANIDINEK HASZNÁLATA SERTÉSEK BAKTERIÁLIS BÉLFERTŐZÉSEIBEN

Kovács Dóra^{1*}, Karancsi Zita¹, Farkas Orsolya¹, Jerzsele Ákos¹

Az antimikrobiális rezisztencia térhódításának következtében napjainkban növekszik a jelentősége az antibiotikum alternatívaként használható vegyületeknek, melyek önálló antibakteriális hatásuk miatt, vagy antibiotikumok hatását potencírozva hozzájárulhatnak a rezisztens baktériumtörzsek által okozott fertőzések sikeres gyógykezeléséhez, valamint az antibiotikum-felhasználás csökkentéséhez. Ilyen vegyületek a polifenolok közé tartozó flavonoidok, melyek elsősorban antioxidáns tulajdonságuk miatt ismertek, de emellett számos más jótékony hatást mutatnak.

Kutatásunk során a flavonoidok közé tartozó szőlőmag proantocianidinek hatásait vizsgáljuk *in vitro*, sertés eredetű bélhámsejteken (IPEC-J2) és sertésekből izolált, bélpatógén baktériumtörzseken. Hosszútávú célunk az, hogy olyan természetes vegyület(ek)et találjunk, mely(ek) hatékonyan alkalmazható(k) sertések bakteriális bélfertőzésinek kezelésére, különösen antimikrobiális szerekkel szemben rezisztens kórokozók esetén.

Kutatásaink több lépésből tevődnek össze. Elsőként tanulmányoztuk a szőlőmag proantocianidinek védőhatását bakteriális endotoxinnal (LPS) kezelt sertés bélhámsejteken (Neutral Red, Amplex Red és DCFH-DA módszer). Ezt követően jelenleg is folyamatban vannak baktériumokon végzett vizsgálataink, ahol a proantocianidinek esetleges adhézió- vagy szaporodásgátló, illetve biofilmellenes hatásait vizsgáljuk (MIC meghatározás, MTS-formazán festés). A későbbiekben tervezünk szinergizmus vizsgálatokat különféle antibiotikumokkal (Checkerboard Dilution módszer), majd a leírt folyamatok megismerését bélhámsejt-baktérium kokultúrán. A jótékony hatások mellett vizsgáltuk a proantocianidinek esetleges CYP enzimmoduláló hatását is, hogy figyelembe vegyük a gyógyszerinterakciók lehetőségét.

A proantocianidinek önállóan alkalmazva többféle koncentrációban és időtartam alatt (50, 100 és 200 µg/ml, 12 és 24 óra) szignifikánsan növelték az IPEC-J2 sejtek életképességét. A bakteriális LPS-sel kezelt bélhámsejtekben oxidatív stressz alakult ki, mely esetén a proantocianidinek mind az intra-, mind pedig az extracelluláris szabadgyökök szintjét szignifikánsan csökkentették. A proantocianidinek hatására szignifikánsan megnőtt az IPEC-J2 sejtek CYP3A4 enzimaktivitása.

Eddigi eredményeink alapján a szőlőmag proantocianidinek hatékony antioxidánsnak bizonyultak bakteriális LPS-sel kezelt sertés bélhámsejteken, amely hatás igen előnyös lehet a baktericid antibiotikumokkal elölt baktériumokból felszabaduló endotoxin okozta sokk mérséklése céljából. További vizsgálataink pozitív kimenetele esetén a proantocianidinek hatékony vegyületek lehetnek sertések bakteriális fertőzésének kezelésére, jöllehet az *in vitro* előnyös tulajdonságok a későbbiekben *in vivo* is igazolandók. A proantocianidinek későbbi használata során figyelemmel kell lenni a gyógyszer-interakciók lehetőségére is CYP indukáló hatása miatt.

Kutatásaink az IK-PhD-2018, valamint az NKB támogatásával valósultak meg.

KVERCETIN ÉS METILEZETT SZÁRMAZÉKAINAK OXIDATÍV STRESSZT CSÖKKENTŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA IPEC-J2 SEJTEKEN

Mészáros Judit, Karancsi Zita, Farkas Orsolya*

Az utóbbi években a túlzott mennyiségű antibiotikum felhasználás miatt elterjedtek az úgynevezett multirezisztens baktériumok. Az Európai Unió célul tűzte ki, hogy a felhasznált antibakteriális humán- és állatgyógyszerek mennyiségét csökkentsék a tagországokban. Alternatív takarmány kiegészítők használatával számos bakteriális megbetegedés megelőzhető lehet.

A kvercetin egy antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatású flavonoid. Számos élelmiszerben jelen van, legnagyobb mennyiségben a hagymában található, de előfordul bogyós gyümölcsökben, teában és borban. A kvercetin mellett annak metilált származékai is rendelkezhetnek gyulladáscsökkentő hatással, így azok hatékonyságát is érdemes vizsgálni. Sertéseknél a hasmenéses betegségek közül kiemelendő az *Escherichia coli* okozta bakteriális fertőzés. Ez főleg a még fejletlen immunrendszerű malacokban jelentkezik, jelentős anyagi károkat okozva. Kísérletünk során e körülmények modellezésére használtuk az IPEC-J2 sejtvonalat és teszteltük a kvercetinnek valamint származékainak gyulladáscsökkentő hatását.

A vizsgálatokhoz sertés jejunum eredetű sejtvonalat használtunk, melyet 6 lyukú sejttenyésztő lemezekben tenyésztettünk. Kétféle *E. coli* lipopoliszacharidjával (LPS) indukáltunk gyulladást (O111:B4 és O127:B8) (10 µg/ml) a bélhámsejtekben. Ezzel egy időben a sejteket kvercetinrel, 3-O-metil-kvercetinrel és 3',7-dimetil-kvercetinrel (ramnazin) kezeltük (25, 50 µM). Az extracelluláris H₂O₂ meghatározásához Amplex Red, míg az intracellulárisan képződő reaktív oxigén származékok (ROS) méréséhez a DCFH-DA módszert alkalmaztuk. Korábbi kísérleteinkben a gyulladást *Salmonella* Typhimurium eredetű LPS-sel váltottuk ki, ezt a kezelést most pozitív kontrollként alkalmaztuk.

Az LPS kezelést követően a sejtekben megemelkedett az intracelluláris ROS szint, míg az extracelluláris H₂O₂ koncentráció változatlan maradt. A flavonoidokkal is kezelt sejtekben az intracelluláris ROS mennyisége szignifikánsan csökkent. A 3-o-metil-kvercetin valamint a ramnazin nagyobb mértékben csökkentette a ROS szintet, mint a kvercetin, ez feltehetőleg a metilált származékok nagyobb mérvű felszívódása miatt alakult így, de ennek bizonyítására további vizsgálatok szükségesek.

Megállapítottuk, hogy *in vitro* kísérleti rendszerünk nemcsak a *Salmonella* Typhimurium, hanem *E. coli* eredetű oxidatív stressz modellezésére is alkalmas, de az extracelluláris ROS nyomon követésére érdemes az Amplex Red helyett a jövőben más módszert alkalmazni. A kvercetin metilált származékai képesek csökkenteni mind a *Salmonella*, mind az *E. coli* eredetű LPS okozta gyulladás és oxidatív stressz mértékét is.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.2-16-2017-00012, Funkcionális, egészséges és biztonságos élelmiszer termékpálya modell kidolgozása a szántóföldtől az asztalig elv alapján, tematikus kutatási hálózatban).

1,2,4-TRIAZOL-5-ONOK SZINTÉZISE β -NITRO-ENAMINBÓL

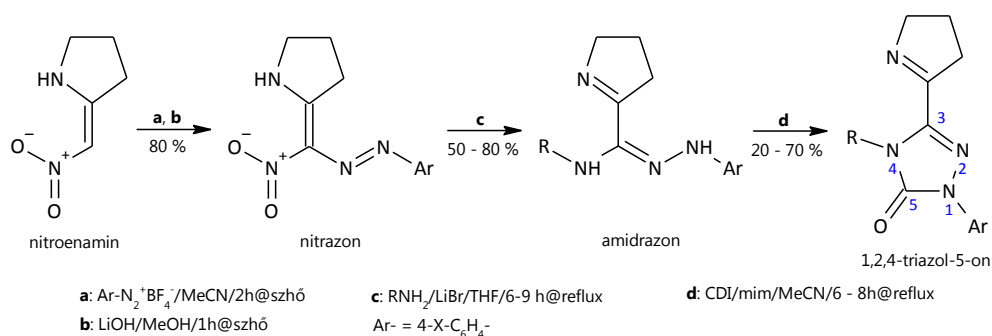
Nagy Dániel², Alekszi-Kaszás Anna¹, Kiss László¹, Pilipecz Mihály¹, Varga Tamás^{1*}

Az 1,2,4-triazol származékainak szintéziséről és azok farmakológiai vizsgálatáról szóló cikkek és szabadalmak az utóbbi években exponenciálisan növekednek. Az ok a rendkívül szerteágazó biológiai hatásukban keresendő: antibakteriális, antivirális, gombaellenes, tumorgátló, gyulladáscsökkentő, görcsoldó, antioxidáns és herbicid vegyületeket találhatunk szép számmal közöttük.

Kutatási célunk a sokoldalúan átalakítható β -nitro-enaminből kiindulva új, potenciálisan farmakológiailag aktív, 1,2,4-triazol-5-onok szintézise volt.

Módszerként szerveskémiai szintetikus és kromatográfias elválasztási technikákat alkalmaztunk. A szerkezetazonosítások NMR és HRMS spektroszkópiával történtek.

Először gyűrűs β -nitro-enaminokból diazotálással aromás nitrazonokat szintetizáltunk, amelyekből amidrazonokat állítottunk elő. Az amidrazonokból gyűrűzárással 17 új, 1,2,4-triazol-5-on-t készítettünk, 8 – 48 %-os összkitermeléssel:



A fenti optimalizált, négylépéses szintézisünk alkalmas az 1,2,4-triazol-5-on-származékok előállítására. Az eddig nem publikált módszerünk jól diverzifikálható (az 1,3,4-szubsztituensek változtatása), amit példákkal is igazoltunk.

A szerzők hálás köszönetüket fejezik ki az Állatorvostudományi Egyetemnek az IK-ÚK-2018 pályázaton elnyert anyagi támogatásáért.

ENTEROCOCCUS FAECIUM FELÜLSZÓVAL TÖRTÉNŐ KEZELÉS HATÁSÁNAK NYOMONKÖVETÉSE IPEC-J2 SEJTKULTÚRÁN

Palkovicsné Pézsa Nikolett^{1*}, Karancsi Zita¹, Rácz Bence², Farkas Orsolya¹

Haszonállatok, pl. sertések esetében a bélrendszeri megbetegedések súlyos gazdasági károkat okozhatnak. Az antibiotikumok hozamfokozás céljából történő alkalmazását az Európai Unióban 2006-ban betiltották, így próbálva megoldást találni az egyre növekvő antibiotikum rezisztencia problémakörére. Fontos kutatási célként jelent meg olyan természetes eredetű kiegészítők keresése, amelyek képesek fenntartani a bélrendszer egészséges állapotát. A probiotikumok iránt egyre nagyobb az érdeklődés, 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.

Kutatásunk során arra kerestük a választ, hogy az *Enterococcus faecium* felülűző milyen gyulladáscsökkentő és oxidatív stresszt csökkentő hatással bír, valamint célul tűztük ki a probiotikummal történő kezelés hatásának vizsgálatát az enterociták szerkezetére és funkciójára.

Az IPEC-J2 sejteken gyulladást váltottunk ki *Salmonella* eredetű LPS-sel és 6%-os *Enterococcus faecium* probiotikus felülűzővel kezeltük a sejteket. Az intracelluláris redox állapot jellemzésére a DCFHA-DA módszert, az extracelluláris redox állapot jellemzésére pedig az Amplex red módszert alkalmaztuk. Az IL-6 képződést ELISA módszerrel követtük nyomon. Real time PCR-rel vizsgáltuk a kezelés IL-6, TNF α és defenzinek (pBD1 és pBD2) mRNS szintű expressziójára gyakorolt hatását. A bélhámsejtek szerkezetében és funkciójában bekövetkező változást elektronmikroszkóppal, illetve immunhisztokémiai vizsgálattal követtük nyomon. Tanulmányoztuk az enterociták méretét, a vakuólumokat, a mikrovillusok számát, valamint tight junction (claudin-4, occludin) és citoskeletális (β -aktin, p34) fehérjék jelenlétét.

Az *Enterococcus faeciummal* történő kezelés megváltoztatta a sejtek LPS által kiváltott gyulladásra adott válaszreakcióját mind fehérje mind mRNS szinten, valamint az intracelluláris és extracelluláris redox állapotot is. Az elektronmikroszkópos és immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei alapján feltételezhetjük, hogy a probiotikus felülűzővel történő kezelés funkcionális változásokhoz is vezethet.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (EFOP-3.6.1-16-2016-00024, Intelligens szakosodást szolgáló fejlesztések az Állatorvostudományi Egyetem és a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának együttműködésében, valamint az ÁTE NKB pályázat, és az ÁTE Doktori Iskola támogatásával készült.

AZ ABCB1 GÉNEN ELŐFORDULÓ EGYPONTOS NUKLEOTID POLIMORFIZMUS (SNP) GYAKORISÁGA A MAGYARORSZÁGI BORDER COLLIE ÁLLOMÁNYBAN

Palócz Orsolya*, Csikó György

Az ABCB1 gén deléziós mutációja következtében kialakuló P-glikoprotein hiány egyes kutyafajták, például a shetlandi, a skót- és ausztrál juhászkutya, esetében nagyon gyakran előfordul. Az érintett fajták egyedei és azok keverékei is, az állatgyógyászatban egyébként biztonságosan alkalmazott gyógyszerek beadását követően gyorsan kialakuló, súlyos mérgezési tüneteket mutatnak. Border collie fajtájú egyedekben ez a fehérjehiány nagyon ritkán fordul elő, azonban egy másik típusú mutáció következtében a szállítófehérje túltermelődése miatt megváltozhat az alkalmazott gyógyszerek hatékonysága.

Vizsgálatunk célja a kutya ABCB1 génjében előforduló, c.-6-180T>G elhelyezkedésű, timin-guanin báziscsere prevalenciájának meghatározása a border collie kutyafajta magyar populációjában.

A begyűjtött mintákból DNS-t izoláltunk a kutyák véréből, és meghatároztuk a nukleinsav koncentrációját. A DNS mintákból PCR reakcióval felszaporítottuk az ABCB1 mutációt érintő génszakaszt. Az ABCB1 egy pontos nukleotid mutáció jelenlétét vizsgáltuk az összegyűjtött mintákban PCR-RFLP (polimeráz láncreakció, restriktív fragmenthossz polimorfizmus) módszer segítségével.

A 30 összegyűjtött border collie vérminta vizsgálatát követően 14 egyedet mentesnek (T/T), 14 egyedet heterozigótának (T/G), 2 egyedet pedig homozigóta mutánsnak (G/G) találtunk a szubsztitúciós mutáció tekintetében. Összességében a guanin bázist hordozó allél gyakorisága 30% volt.

A border collie egyedek esetében az ABCB1 génben előforduló szubsztitúciós mutáció a P-glikoprotein túltermelődéséhez vezethet, amely miatt a szállítófehérje szubsztrátjai, köztük számos gyógyszerhatóanyag a célszövetben nem éri el a terápiás szintet.

A kutatás az Emberi Erőforrások Minisztérium 12190/2017/FEKUTSTRAT azonosítószámú támogatási szerződésének támogatásával a „Az ABCB1 génben előforduló egy pontos nukleotid polimorfizmus (SNP) gyakorisága a magyarországi border collie állományban” című kutatási téma keretében valósult meg.

FERMENTÁLT BÚZACSÍRA VÉDŐ HATÁSÁNAK TESZTELÉSE TRICHOTECÉN VÁZAS MIKOTOXINOK ÁLTAL KÁROSÍTOTT SERTÉS BÉLHÁMSEJTEKEN

Pomothy Judit Mercedesz^{1*}, Prokoly Dorottya¹, Barna Réka Fanni¹, Pásztiné Gere Erzsébet¹

Egyre nagyobb figyelem övezi a növényi flavonoidokban gazdag búzacsíra kivonatokat. A fermentált búzacsíra (BCS) kivonat pozitív hatásaiért a 2-metoxi-benzokinon és a 2,6-dimetoxi-benzokinon a felelős. A benzokinon vegyületek hatékonyak a szabadgyökök elleni védekezésben. A deoxinivalenol (DON) és a T-2 toxin a *Fusarium* nemzetségbe tartozó gombák által termelt, trichotecén vázas mikotoxinok, amelyek jellegzetes sejten belüli károsító hatása az oxidatív szabadgyökök termelésének elősegítése. A nem daganatos eredetű sertés bélhámsejt, az IPEC-J2 sejt vonal használatával képet kaphatunk, hogy a sejtek redox állapotában milyen változást idéznek elő ezek a vegyületek. Kísérleti munkánk célja annak a meghatározása volt, hogy a fermentált BCS önmagában, illetve kombinációban a DON és a T-2 toxinnal milyen hatást gyakorol az IPEC-J2 sejtekre.

A kezelőoldatban használni kívánt fermentált BCS koncentrációját, valamint a DON és T-2 koncentrációját MTS sejtéletképesség teszt segítségével állapítottuk meg. Az IPEC-J2 sejteket membrán inzertet tartalmazó tenyésztőedényre ültettük ki, amely lehetővé tette a sejteken való transzepiteliális elektromos ellenállás (TER) mérést. A kísérlet 24 óra kezelésből és az azt követő 24 óra regenerációból állt. A regenerációs fázisban a sejteket szérummentes kezelőoldattal inkubáltuk. A bélhámsejteken mértünk TER-t, majd a kezelést és a regenerációt követően mintát vettünk az extracelluláris H₂O₂ szint (Amplex Red módszer) méréséhez. Ezzel párhuzamosan DCFH-DA oldatot adtunk a sejteknek, amely módszerrel meghatározhatóvá vált a sejtek intracelluláris ROS mennyisége.

A vizsgálathoz 1% és 2%-os fermentált BCS oldatokat, a mikotoxinok esetében 8 µM DON és 5 nM T-2 koncentrációt használtunk. A TER értékekben szignifikáns csökkenés volt a mikotoxinnal kezelt és a kontroll minták között, míg szignifikánsan magasabb volt a sejtintegritás a fermentált BCS-vel kezelt sejteknél. A 2%-os fermentált BCS hatékonynak bizonyult a T-2 által előidézett TER csökkenés megakadályozásában. Az extracelluláris H₂O₂ szint és az intracelluláris ROS mennyisége változott mind a kezelés, mind a regenerációs idő után. Mind a két vizsgálat azt mutatta, hogy a 2%-os fermentált BCS a kezelése alatt hatékonyan csökkentette az oxidatív stresszt, míg a hatás nem minden esetben érvényesült a regenerációt követően.

A fermentált BCS kivonat már önmagában alkalmazva fokozta a sejtréteg integritását és csökkentette a sejten belüli ROS képződését. A kísérleti eredményeink alapján, a 2%-os fermentált BCS képes volt szignifikánsan csökkenteni a DON és T-2-vel kezelt sejteknél a két vizsgált oxidatív stressz paramétert.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg: a támogatási szerződések száma: EFOP-3.6.1-16-2016-00024 és az EFOP-3.6.2-16-2017-00012. A kutatást a 2019 NKB pályázat támogatta.

POTENCIÁLIS GYÓGYSZERJELÖLT MATRIPTÁZ-2 ENZIM INHIBITOROK TESZTELÉSE PRIMER MÁJSEJT MODELLEKEN

Pomothy Judit Mercedesz^{1*}, Barna Réka Fanni¹, Paréj Zsuzsanna¹, Pásztiné Gere Erzsébet¹

A matriptáz (MT)-2 enzim a transzmembrán szerin proteázok családjába tartozik és a májsejtek felületén is megtalálható. Fontos szerepet játszik a szervezet vas homeosztázisának fenntartásában, indirekt módon szabályozva a hepcidin termelését. Ez a peptid hormon a ferroportinhoz kapcsolódva megakadályozza a vas felvételét a szervezetbe. Célunk annak a kiderítése volt, hogy a szfingozin-1-foszfátot (S1P) és egy MT-1 enzimre szelektív, 3-amidinofenilalanin alapvázú inhibitor (MI460) biztonságosan alkalmazható-e humán primer és patkány primer hepatocitákon, illetve hogy hatással vannak-e a MT-2 enzim működésére, amelyet indirekt módon a hepcidin expressziójának változásán keresztül detektálunk.

A kezelőoldatokban használni kívánt S1P (50-2000 ng/ml) és MI460 (1-100 μ M) koncentrációkat MTS sejtleletképesség teszt segítségével állapítottuk meg mind a két primer sejten. A sejteket membrán inzertet tartalmazó tenyésztőedényre ültettük ki. A kezelések 24 óráig tartottak, majd ezt követően mintát vettünk a felülúszóból az extracelluláris H₂O₂ szint (Amplex Red Assay Kit), interleukin (IL)-6 termelés (faj specifikus szendvics ELISA Kit), valamint a hepcidin expresszió (faj specifikus szendvics ELISA Kit) változásának méréséhez.

Humán primer hepatocitáknál az S1P egyik koncentrációban sem okozott szignifikáns csökkenést az abszorbancia értékekben, míg a 100 μ M koncentrációjú MI460 szignifikánsan csökkentette a sejtek életképességét. Patkány primer májsejtek életképességében egyik kezelés hatására sem találtunk szignifikáns eltérést a kontroll értékekhez képest. Egyik sejtvonalnál sem emelte meg a H₂O₂ szintjét az S1P és az MI460 egyik koncentrációja sem. A humán sejteknél végzett IL-6 termelés nem változott egyik koncentrációjú S1P és MI460 hatására sem. Mind a két sejtvonalnál az S1P hatására koncentrációfüggő módon, szignifikánsan csökkent a hepcidin expresszió, míg az MI460 kezelése hatására szignifikánsan emelkedett a hepcidin szint a sejtmentes felülúszóban.

Az eredmények alapján, a két vizsgált vegyület nem okozott H₂O₂ szint emelkedést, vagyis nem emelte meg ennek az oxidatív stressz faktornak a szintjét. Valamint nem növelte az IL-6 citokin termelését, ami a gyulladáshoz vezető faktorok által indukált hepcidin expresszió növekedést okozná. Mind az S1P, mind az MI460 megváltoztatta a hepcidin koncentrációt, vagyis közvetlen hatással lehetnek a vasanyagcserére.

Köszönetnyilvánítás: Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült. A kutatási témát a 115685 és a 124522 számú OTKA pályázat és a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

MIKRODIALÍZIS TECHNIKA ALKALMAZÁSA SERTÉS TÉRDÍZÜLETBEN

Somogyi Zoltán^{1*}, Karancsi Zita¹, Mag Patrik¹, Szalay Ferenc², Jerzsele Ákos¹

A mikrodialízis technikát különböző vegyületek jelenlétének igazolásához, illetve mennyiségének méréséhez alkalmazhatjuk a szervezet különböző biológiai kompartmentjeiből történő mintavételek során. Ebből következően illesztettük be használatát a fertőzés helyén történő gyógyszer-koncentrációk meghatározásához. Kutatásunkban sertések térdízületéből történő mintavételhez használtuk fel, hogy meg tudjuk határozni a florfenikol ízületben megjelenő koncentrációját. A florfenikollal történő kezelésnek nagy jelentősége van a sertéságazatban a *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* és *Mycoplasma hyosynoviae* okozta ízületgyulladásokban.

Kutatásunk célja, hogy sertések térdízületéből indirekt módon, olyan technikával mintát vegyünk, melyben meghatározva a florfenikol koncentrációját, következtetni tudjunk az ízületben megjelenő gyógyszer-koncentrációra. Ehhez a mikrodialízis technikát vettük igénybe, melyet alkalmaztak már humán vonalon ízületekből történő mintavételekre.

Kutatásunk során egy 20kg-os sertést használtunk, melyet midazolam és ketamin kombinációjának intravénásan, bolusban történő adagolásával tartottunk altatásban. Az altatás előtt rögzítettük az állatot és mindkét fülének a külső vénájába kanült helyeztünk. A jobb fülben lévő kanülon keresztül adagoltuk az altatószereket, míg a balfülbe helyezett kanülon keresztül melegített infúziót kapott a sertés. Az eljárásban mikrodialízis szondát kell a térdízületbe ültetni. Ezt követően egy órán keresztül zajlott a blank minta vétele, majd egy óra múlva intramuszkulárisan adtunk 15mg/kg dózisban florfenikolt a nyakizomzatba. Ezzel párhuzamosan elkezdjük az első órás mikrodialízist, melyet még ezentúl menően 4 órán keresztül folytattunk. A mintavételre szolgáló eppendorf csöveket óránként cseréltük, így kaptunk a blank mintával együtt 6 db mikrodialízissal nyert ízületből származó dializátumot. Melyeket azonnal szárazjégre helyeztünk, majd -80°C-on tároltunk. A mintákban LC-MS technika segítségével határoztuk meg a florfenikol koncentrációját, majd számoltunk vissza az ízületben lévő koncentrációkra, melyhez egy előzetesen elvégzett *in vitro* mikrodialízist végeztünk ismert koncentrációjú florfenikol oldatok segítségével, majd az ezen mintákból kapott eredmények segítségével létrehoztunk egy lineáris egyenletet, melynek segítségével tudtunk visszaszámolni az ízületifolyadék gyógyszer-koncentrációjára.

Kutatásunk során sikeresen igazoltuk, hogy a mikrodialízis technikával nyert mintákban a florfenikol kimutatható koncentrációban jelenik meg. Az *in vitro* módszer segítségével felállítottunk egy kalibrációs görbét, melyen keresztül visszaszámoltuk a térdízületben megjelenő gyógyszer-koncentrációra.

A mikrodialízis technika sikeresen alkalmazható sertés ízületifolyadékknál, mellyel meghatározható, hogy adott antibiotikumok megjelenik, és ha igen milyen koncentrációban. Ezen adatok felhasználásával megkaptuk a fertőzés helyére jellemző florfenikol farmakokinetikai paramétereket, melyet a farmakokinetikai/farmakodinámiai modellekben hasznosítunk, az ízületi fertőzéseket okozó kórokozók kezelése során.

A kutatás az ÁTE NKB, ÚNKP pályázatok, valamint a PhD ösztöndíj támogatásával készült.

A SPERMIDIN HATÁSA AZ ÖREGEDŐ HIPPOKAMPUSZRA: A SZINAPTIKUS ÉS MITOKONDRIÁLIS ULTRASTRUKTÚRA KVANTITATÍV ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATA

Rácz Bence *, Mark Marcello, Juhász Péter, Sótonyi Péter

A várható élettartam növekedésével, az életkorral összefüggő kognitív hanyatlás kiemelkedő probléma a mai modern társadalmakban. A spermidin kiegészítés, egy, a természetben előforduló autofágia-indukáló poliamin, ígéretes eredményeket mutat az ilyen, életkorhoz kapcsolódó kognitív hanyatlás enyhítésében, sőt megfordításában. Az spermidin átjuthat a vér-agy gáton, ahol részben elősegíti a térbeli memóriával kapcsolatos funkciókat. Vizsgáltuk a spermidin lehetséges neuroprotektív hatásait idős egerekben. Elektronmikroszkóppal vizsgáltuk a hippocampusz CA1 régióját a fiatal, öreg és spermidinnel táplált idős egerek szinaptikus ultrastruktúra-változásainak mennyiségi meghatározása céljából. Feltártuk és kvantifikáltuk a szinaptikus plaszticitás morfológiai markereit a spermidinnel kezelt egerek CA1 stratum radiatumában, összehasonlítva az idős kontrollokkal. Mivel a spermidin elősegíti a mitophagia kialakulását, vizsgáltuk a mitokondriumokban bekövetkező lehetséges változásokat: a neuropil mitokondriális sűrűségét és a belső membrán tulajdonságait számszerűsítettük. Megállapítottuk, hogy a spermidinnel végzett kezelés helyreállította a mitokondriumok számát, és megakadályozta a belső membrán életkori rendezetlenségét az öregedő egerek hippocampusz CA1 régiójában. Adataink azt sugallják, hogy a spermidin terápiásán alkalmazható az életkorral összefüggő kognitív hanyatlás ellen.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (EFOP-3.6.2-16-2017-00012 „Funkcionális, egészséges és biztonságos élelmiszer termékpálya modell kidolgozása a szántóföldtől az asztalig elv alapján, tematikus kutatási hálózatban”)

A PARALUMBALIS IZOMZAT ANATÓMIAI ÉS ULTRAHANGVIZSGÁLATA A MELARZOMIN INJEKCIÓ BEADÁSA SORÁN, A KUTYÁK SZÍVFÉRGESSÉGÉNEK GYÓGYKEZELÉSE CÉLJÁBÓL

Szalay Ferenc^{1*}, Vörös Károly², Bernd Schulze Gronover³, Becker Zsolt², Dudás Györki Zoltán²

A hazánkban egyre terjedő szívférgesség komplex gyógykezelése a doxiciklin per os, a moxidektin spot-on és a melarzomin (Immiticide inj.; Merial, France) injekciós adagolásából áll. A melarzomint a paralumbalis izomzatba kell adni, amely kellő vastagságú és jó vérellátással rendelkezik, lehetővé téve a megfelelő felszívódást. A szer kifejezetten helyi irritatív hatású, ezért pontosan követni kell a gyári leírást az applikáció során, az injekciós tű optimális helye azonban nem ismeretes. Előzetes tapasztalataink alapján az ultrahangvizsgálat hasznosnak tűnt az injekciós eljárás támogatására. E módszer ilyen célú alkalmazását és anatómiai hátterének leírását még nem publikálták.

Munkánk anatómiai részében feltártuk az epaxialis lumbalis izmokat rétegenként. Ennek keretében kipreparáltuk az izmokat, ereket és az idegeket is. Ezt követően „SILORUB DS F-TG” kétkomponensű szilikon gumit injektáltunk különböző konzisztenciákkal ezekbe az izmokba, így szimulálva a melarzomin eloszlását. Más cadaverekbe hígított metilénkék oldatot fecskendeztünk a folyadék nyomon követésére és eloszlásának megfigyelésére. Egy cadaverben ultrahangos vizsgálattal tanulmányoztuk a folyadék mozgását az izomzatban, és felvettük az eloszlás méreteit. A melarzomin injekció beadását videófelvétellel rögzítettük az ultrahangvizsgálat során *in vivo*, egy szívférgesség miatt gyógykezelt kutyában, az oldat helyének, eloszlásának és felszívódásának megfigyelésére.

Az anatómiai vizsgálataink eredményei szerint a plexus lumbalis dorsalis ágaiból eredő idegrostok egyértelműen elkülönültek az injekcióbeadás helyéhez képest, és nem kerültek érintkezésbe az injektált anyagokkal. A szilikon és a metilénkék egyaránt jól eloszlott laterálisan az epaxialis rendszeren belül. A beadott szilikon megfelelően demonstrálta az eloszlás „első perces” fázisát a készítmény alakja és térfogata alapján. Az injekciós oldat tovahaladása viszont jobban tanulmányozható volt a metilénkéssel, annak hígabb konzisztenciájának tulajdoníthatóan.

Az ultrahangvizsgálat során videófelvétellel rögzített injekcióbeadási folyamat alapján a melarzomin nem gravitált teljesen, hanem annak nagyobb része szétterült az ágyékizomzat legvastagabb belső pólyája mentén. Három perccel később már nem látszottak a melarzomin injekciós oldat ultrahangos jelei, a teljes felszívódásra utalva, legalábbis makroszkóposan. Az anatómiai és az ultrahangvizsgálati leleteink összhangban voltak egymással.

A részletes anatómiai leírásaink segíthetik a korrekt *in vivo* injekciós technikát, az ultrahangvizsgálat pedig hasznos kiegészítő módszer lehet a melarzomin injekció optimális beadási helyének meghatározására.