

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA  
SziE ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK  
(2014. jan. 27-30)

**ÉLETTAN, BIOKÉMIA, KÓRÉLETTAN, MORFOLÓGIA**

(2014. január 27, Élettan előadóterem, 8.30-tól)

## ELŐSZÓ

**Kedves Kollegánők és Kollegák!**

Budapest, 2014. január

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája 2014. január 27-30. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló, immár **40. „akadémiai beszámoló”** ülésorozatot. E jubileumról 27-n a két testület közös nyilvános ülése keretében (Élettan szekció előtt) megemlékezünk, s erre valamennyiüket ez úton is tisztelettel hívjuk.

Az előző évek gyakorlatának megfelelően a beszámolókon PhD hallgatók szereplését külön is elvárjuk, s reméljük, hogy ez is egy jó alkalma lesz a különböző tudományos-szakmai műhelyeket és korosztályokat képviselő, egymás munkája iránt érdeklődő kollegánők/kollegák találkozásának.

Az egyes szekciók üléseinek helyét és idejét a mellékelt beosztásban tüntettük fel.

Az előadások és azt követő megvitatás időtartama legfeljebb: 10 + 5 perc.

Kérjük, hogy a megadott maximális időtartamot senki ne lépje túl! Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezük a súlyt. Aki azonos témán belül jelentett be 2 vagy több előadást, kérjük, próbálja meg ezeket összevonni!

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

A beszámoló füzetek anyaga az MTA ATK ÁOTI honlapján ([www.vmri.hu/](http://www.vmri.hu/) MTA – Állatorvos-tudományi Bizottság) megtalálható. Kérjük, hogy az összefoglalók anyagát minden esetben – megvitatásra alkalmas formában – előadni szíveskedjenek.

Ami a vitát illeti, a résztvevőket, különösen pedig a bizottsági tagokat és az üléselnököket kérjük arra, hogy kérdéseikkel, hozzáfűzött megjegyzéseikkel, javaslataikkal, szíveskedjenek az előadottak részletesebb megismerését, értékelését és a beszámoló csoportok további munkáját segíteni. Sokan úgy véljük, hogy a tudományos előrehaladás és a fiatalok tudományos fórumokhoz való szoktatása szempontjából a vita (mégpedig a megfelelő kritikai elemeket sem nélkülöző vita) épp olyan fontos, mint maga az előadás. Ezért a hasznos és előrevívő vitához szükséges „műhely légkör” kialakítását és fenntartását valamennyi résztvevőtől, de különösen a bizottsági tagoktól és az elnököktől ez úton is tisztelettel és nyomatékosan kérjük.

Az egyes szekciók titkárait arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el az Állatorvos-tudományi Bizottság elnökéhez (bnagy@vmri.hu) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekció elnökkel (elnökökkel) egyeztetett tájékoztatót (Magyar Állatorvosok Lapja-ban való közlés céljából), mely szükség esetén tartalmazza nem csak az előadások, hanem a vita legfontosabb megállapításait is.

Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagból továbbítsanak, ill. kellő példányszámban másoltassanak munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is. Kérjük, továbbá, hogy munkatársaikat segítsék és hívják az üléseken való aktív és sikeres részvételre.

Előre is köszönjük a szekció elnökök, a titkárok, a bizottsági tagok és valamennyi előadó munkáját, s külön is köszönjük *Dr. Tuboly Tamásnak* az állatorvos-tudományi bizottság titkárának az összefoglaló füzetek előállításában, s szekció ülések szervezésében nyújtott nélkülözhetetlen munkáját..

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

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

Dr. Rusvai Miklós, egyetemi tanár  
elnök  
SzIE ÁoTK Doktori Iskola

**MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és SzIE-ÁOTK Doktori Iskola akadémiai beszámolóinak beosztása és szekció-bizottságai**  
(2014. január 27-30)

<b>A szekció Megnevezése</b>	<b>A szekcióülés ideje</b>	<b>A szekcióülés helye</b>	<b>Társelnökök</b>	<b>Titkár</b>	<b>Bizottsági tagok</b>
MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és ÁOTK Doktori Iskola közös ülése	<b>I. 27 hétfő</b> <b>A 40. évi jubileum</b> 8:30-9.00	Élettan tanterem	Dr. Nagy Béla Dr. Rusvai Miklós	Dr. Zsarnovszky Attila	A testületek tagjai, a szekciók elnökei, titkárai és a szekciók bizottsági tagjai
Élettan, Biokémia Kórélettan, Morfológia	9.00-től		Dr. Bartha Tibor Dr. Frenyó V. László Dr. Sótonyi Péter		Dr. Bárdos László, Dr. Halasy Katalin Dr. Jakab Csaba, Dr. Kutas Ferenc Dr. Vajdovich Péter
Élelmiszerbiztonság Állategészségügyi Igazgatás	<b>I. 27 hétfő,</b> 11.00 -tól	Továbbképzés tanterem	Dr. Laczay Péter Dr. Ózsvári László Dr. Pleva György	Dr. Erdősi Orsolya	Dr. Józwiak Ákos, Dr. Kovács Sándor Dr. Lombai György, Dr. Szita Géza Dr. Visnyei László
Állathigiénia Állattenyésztés, Genetika Takarmányozástan	<b>I. 27. hétfő</b> 13.00-tól	Élettan tanterem	Dr. Kovács Melinda Dr. Könyves László Dr. Szabó József	Dr. Bersényi András	Dr. Brydl Endre, Dr. Cseh Sándor Dr. Fekete Sándor, Dr. Gáspárdy András, Dr. Jakab László, Dr. Rafai Pál
Bakteriológia	<b>I. 28. kedd,</b> 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Magyar Tibor Dr. Varga János	Dr. Jánosi Szilárd	Dr. Gyuranecz Miklós, Dr. Hajtós István Dr. Makrai László, Dr. Nagy Béla Dr. Tenk Miklós, Dr. Tóth István
Viroológia Immunológia	13.00-tól		Dr. Bakonyi Tamás Dr. Harrach Balázs Dr. Tuboly Tamás	Dr. Pálfi Vilmos	Dr. Benkő Mária, Dr. Dán Ádám, Dr. Hornyák Ákos, Dr. Péntes Zoltán Dr. Rusvai Miklós, Dr. Soós Tibor
Parazitológia Állattan	<b>I. 29. szerda</b> 8.30-tól	Élettan tanterem	Dr. Farkas Róbert Dr. Hornung Erzsébet Dr. Kassai Tibor	Dr. Baska Ferenc	Dr. Békési László, Dr. Csaba György Dr. Hornok Sándor, Dr. Majoros Gábor Dr. Molnár Kálmán, Dr. Varga István
Klinikumok Gyógyszertan Toxicológia	<b>I. 30. csütörtök</b> 8.30-tól	Belgyógyászat tanterem	Dr. Gálfi Péter Dr. Németh Tibor Dr. Szenci Ottó Dr. Vörös Károly	Dr. Bohák Zsófia Dr. Jerzsele Ákos Dr. Pápa Kinga	Dr. Bajcsy Árpád Csaba, Dr. Biksi Imre Dr. Sályi Gábor, Dr. Sterczér Ágnes Dr. Vajdovich Péter, Dr. Zöldág László

**Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága éves beszámolójának 40. évfordulója**  
(rövid méltatás, vissza-, és előrettekintés) (kb. 30 percben)

**TARTALOMJEGYZÉK**

1. TÁPLÁLTSÁG-FÜGGŐ MITOKONDRIÁLIS METABOLIKUS ASZIMMETRIA PATKÁNYOK HYPOTHALAMUS-FÉLTEKÉINEK SEJTJEIBEN.  
Tóth István, Kiss Dávid Sándor, Bartha Tibor, Frenyó V. László, Zsarnovszky Attila
2. A  $\beta$ -ADRENERG MODULÁCIÓ SZEREPE A ZSÍRSZÖVET LIPOLYTICUS ADAPTÁCIÓJÁBAN TEJHASZNÚ TEHENEKBE  
Kenéz Ákos, Lena Locher, Jürgen Rehage, Sven Dänicke, Korinna Huber
3. ÖSZTROGÉN, PAJZSMIRIGYHORMONOK ÉS BISZFENOL A HATÁSA AZ ÖSZTROGÉN- ÉS PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOROK EXPRESSZIÓJÁRA FEJLŐDŐ KISAGYBAN.  
Jócsák Gergely, Tóth István, Bartha Tibor, Frenyó V. László és Zsarnovszky Attila
4. AZ INZULIN JELPÁLYA EGYES FEHÉRJÉINEK VIZSGÁLATA CSIRKÉK KÜLÖNBÖZŐ SZÖVETEIBEN  
Kulcsár Anna, Mátis Gábor, Kenéz Ákos, Neogrády Zsuzsanna, Korinna Huber
5. A KUPFFER-SEJTEK ARÁNYÁNAK MEGHATÁROZÁSA SERTÉS PRIMER MÁJSEJT-TENYÉSZETEN  
Mátis Gábor, Kulcsár Anna, Kulcsárné Petrilla Janka, Hatala Patrícia, Kővágó Csaba, Csikó György, Neogrády Zsuzsanna
6. VÉRALVADÁSI PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS „POINT OF CARE” MÓDSZEREKKEL  
Kispál Dóra, László Zsófia, Dékay Valéria, Antal József, Vajdovich Péter
7. KUTYÁK EXTRACRANIALIS LIQUORTÉRFOGATÁNAK MÉRÉSE MRI-VEL  
Reinitz László Zoltán, Bajzik Gábor, Garamvölgyi Rita, Lassó András, Petneházy Örs, Lőrincz Borbála, Sótonyi Péter
8. KÉPALKOTÁS RÉTEGMARÁSSAL: A KRIOMAKROTOMIZÁLÁS ALAPJAI  
Czeibert Kálmán, Petneházy Örs, Rácz Bence, Sótonyi Péter
9. A PROTEIN KINÁZ D (PKD) MUTÁCIÓJÁNAK HATÁSA A HIPPOKAMPÁLIS SZINAPSZISOK SZERKEZETÉRE  
Rácz Bence, Kovács Ákos, Hazai Diana, Schlett Katalin, Bencsik Norbert, Sótonyi Péter
10. KUTYÁK ASPIRÁCIÓS NYIROKCSOMÓ MINTÁINAK IMMUNCITOKÉMIAI VIZSGÁLATA  
Keresztes Mónika, Szabó Bernadett, Mészáros Ágnes, Vajdovich Péter
11. D-DIMER SPECIFIKUS MONOKLONÁLIS ELLENANYAG ALKALMAZÁSA IMMUNTURBIDIMETRIÁN ALAPULÓ DIAGNOSZTIKAI TESZTBEN  
Nagy Beáta, Kuik Árpád, Vajdovich Péter, Dénes Béla

**TÁPLÁLTSÁG-FÜGGŐ MITOKONDRIÁLIS METABOLIKUS ASZIMMETRIA PATKÁNYOK HYPOTHALAMUS-FÉLTEKÉINEK SEJTJEIBEN.**

Tóth István, Kiss Dávid Sándor, Bartha Tibor, Frenyó V. László, Zsarnovszky Attila

**Bevezetés:** Anatómia vizsgálatok alapján ismeretes, hogy míg a medialis hypothalamus neuronkörei mind a reproduktív, mind pedig a táplálékfelvétellel kapcsolatos folyamatok szabályozásáért felelősek, addig a lateralis rész működése túlnyomóan az éhség-jóllakottság mechanizmusainak regulálását végzi. Kutatócsoportunk korábbi eredményei szerint a patkány hypothalamus két féltékéje a mitokondriális metabolizmust terén térfélti aszimmetriát mutat, és ez a féloldaliság az ösztörsz ciklus fázisaival dinamikusan változik, valamint az annak során lezajló neuronális történéseket követi.

**Cél:** A fenti ismeretek alapján logikusnak látszik feltételezni, hogy a hypothalamus funkcionális diverzitása nem korlátozódik a reproduktív folyamatok irányításában megnyilvánuló féloldaliságra. Sokkal inkább valószínű, hogy a szóban forgó agyterület anatómiailag párosan elhelyezkedő régiói egymástól eltérő mértékben részesednek az egyes funkciók betöltésében, azaz feltételezhetjük, hogy míg az egyik oldal adott magcsoportjai például a reproduktív folyamatok levezénylésében játszanak szerepet, addig az ellenoldal azonos vagy más magcsoportjai például a táplálékfelvételt irányíthatják. Jelen munkák célja a hypothalamicus mitokondriális metabolizmus intenzitásának vizsgálata különböző tápláltsági körülmények között gonadektomizált állatokon.

**Módszer:** Hím és normál ciklusú nőtény Wistar patkányokat használunk fel, célkitűzésünk értelmében a hypothalamus szóban forgó területeit mitokondriális légzésmérés segítségével vizsgáljuk. A mindkét nembe tartozó állatokat a gonadektomiát követő két hét elteltével 24 óra táplálékmevónásnak vetjük alá (1. csoport), illetve ezt követően 4 órás időtartamra visszaetjük azokat (2. csoport). Közvetlenül a kísérletek végeztével regisztráljuk a mitokondriális metabolizmus kulcsparamétereit mindkét hypothalamus félben. Kontrollcsoportként a kezeletlen gonadektomizált állatok szolgálhatnak.

**Eredmények:** A 24 órás táplálékmevónást követően jelentős mértékű aktivitásnövekedést tapasztaltunk a mitokondriális metabolizmus terén, ami kifejezettebben jelentkezett a lateralis hypothalamusban. A négy óra visszaetetés a táplálékmevónás által előidézett magasabb mitokondriális aktivitást a kontrollhoz közeli értékre visszacsökkentette. Hím állatokban az egynapos táplálékmevónás jelentősen kisebb mértékben emelte a mitokondriális aktivitást, mint az ovariektomizált nőtényekben.

**Következtetés:** Az eredmények alapján elmondható a mitokondriális aktivitás értékei igazodni látszanak az adott hypothalamicus régió élettani szabályozó szerepéhez. Ennek megfelelően a táplálékmevónás erőteljesebb változást eredményezett a lateralis hypothalamus mitokondriális aktivitásában, amely a tápláltsági állapot egyik legfőbb afferenciós területe, ugyanakkor a medialis hypothalamusban, amelynek a GnRH- és táplálékfelvétel szabályozása egyaránt feladata, a táplálékmevónás ennél kisebb aktivitásemelkedést eredményezett.

**Köszönetnyilvánítás:** Köszönet illeti a SzIE-ÁOTK Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát részben az NKB 15930 sz. pályázat finanszírozta.

SZIE ÁOTK, Élettani és Biokémiai Tanszék, Biokémiai Osztály<sup>1</sup>                      Élettan, Biokémia  
Department of Physiology, University of Veterinary Medicine Hannover<sup>2</sup>  
Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine Hannover<sup>3</sup>  
Department of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute, Braunschweig<sup>4</sup>

## A $\beta$ -ADRENERG MODULÁCIÓ SZEREPE A ZSÍRSZÖVET LIPOLYTICUS ADAPTÁCIÓJÁBAN TEJHASZNÚ TEHENEKBEN

Kenéz Ákos<sup>1,2</sup>, Lena Locher<sup>3</sup>, Jürgen Rehage<sup>3</sup>, Sven Dänicke<sup>4</sup>, Korinna Huber<sup>2</sup>

Tejhasznú teheneekben a laktáció korai szakaszában jelentkező negatív energiamérleg a zsírszövetekben raktározott lipidek mobilizációját vonja maga után. Ez a folyamat az adipocyták lipolyticus tevékenységének fokozódásával jár, ami az intenzív szabadzsírsav-leadást szolgálja. Ismert, hogy a lipolysis szabályozásában kulcsfontosságú a hormonszenzitív lipáz (HSL) foszforilációja, amely  $\beta$ -adrenerg stimulációval indukálható. Viszont a zsírszöveti lipolysisnek a szervezet aktuális energiaigényéhez való adaptív koordinációjában közrejátszó mechanizmusok jelenleg kevésbé ismertek. A HSL foszforilációjának energiaháztartás-függő beállításában szerepet játszhat az adipocyták katekolaminokkal szembeni érzékenységének dinamikus változása. Munkánk során tejhasznú tehének zsírszöveteinek  $\beta$ -adrenerg érzékenységét, valamint endogén lipolyticus aktivitását kívántuk nyomon követni a peripartalis idő lefolyásában.

Hús Holstein tehéntől vettünk biopsziás szövetmintákat a subcutan és a retroperitonealis zsírdepókból 42 nappal az ellés előtt valamint 1, 21 és 100 nappal az ellés után. A szöveteket a mintavételt követően egy 90 percig tartó *ex vivo* isoproterenol-kezelésnek ( $10^{-6}$  M,  $\beta$ -adrenoceptor agonista) vetettük alá a  $\beta$ -adrenerg érzékenység megállapítása céljából. Ennek markereként a szövetminták szabadzsírsav- és glicerineladását mértük colorimetriás módszerekkel, valamint a HSL foszforilációjának mértékét határoztuk meg western blot segítségével. Ezenkívül a tehenektől vett natív zsírszövetmintákban is mértük a HSL foszforilációjának mértékét az aktuális endogén (*in vivo*) lipolyticus aktivitás meghatározása céljából.

Az *ex vivo* isoproterenollal kezelt szövetek az ellés utáni időpontokban kevesebb szabad zsírsavat és glicerint adtak le, illetve kevesebb foszforilált HSL-t tartalmaztak, mint az ellés előtti 42. napon. Ezzel szemben a natív szövetmintákban az ellés előtti 42. napon igen csekély mértékű volt a HSL foszforilációja, az ellést követően azonban ez jelentős mértékben fokozódott mindkét vizsgált szövetben. Ez utóbbi megerősíti, hogy a korai laktáció időszakára jellemző erőteljes zsírmobilizáció a zsírszövetekben a HSL fokozott foszforilációjával jár együtt. Ezzel szemben az *ex vivo*  $\beta$ -adrenerg érzékenység – nem várt módon – alacsony szintű volt a laktáció korai szakaszában gyűjtött zsírszövetekben, amelynek hátterében többek között a  $\beta$ -adrenerg receptorok expressziójának csökkenése állhat.

Az eredmények arra utalnak, hogy a zsírszövetekben a HSL-foszforiláció  $\beta$ -adrenerg modulációja korlátozott jelentőségű szerepet játszik a korai laktáció időszakában *in vivo* megfigyelhető megemelkedett lipolyticus tevékenység indukálásában. A zsírszövet metabolikus adaptációjában ennek megfelelően  $\beta$ -adrenerg-független mechanizmusok játszhatnak fontosabb szerepet, és ezek vezethetnek a HSL foszforilációjának fokozásához.

A kutatást a German Research Foundation (DFG) és a German Academic Exchange Service (DAAD) támogatta.

## ÖSZTROGÉN, PAJZSMIRIGYHORMONOK ÉS BISZFENOL A HATÁSA AZ ÖSZTROGÉN- ÉS PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOROK EXPRESSZIÓJÁRA FEJLŐDŐ KISAGYBAN.

Jócsák Gergely<sup>1</sup>, Tóth István<sup>1</sup>, Bartha Tibor<sup>1</sup>, Frenyó V. László<sup>1</sup> és Zsarnovszky Attila<sup>1</sup>

**Bevezetés:** Az ösztrogén (E2) és a pajzsmirigyhormonok (PMHk) részt vesznek a sejtek migrációjának, differenciációjának, proliferációjának és a szinaptogenezisnek a szabályozásában. E folyamatok során az említett hormonok, mint ligandumok, specifikus receptorokhoz kötődve az adott folyamatok szempontjából releváns géneket aktiválnak. Irodalmi adatok és saját kutatásaink szerint az E2 és PMHk complex mechanizmusokon keresztül szabályozzák saját és egymás receptorainak expresszióját. Korábbi eredmények arra utalnak, hogy az endokrin diszruptorok (EDk) befolyást gyakorolhatnak a fent említett mechanizmusokra.

**Cél:** Annak vizsgálata, hogy a biszfenol A hogyan befolyásolja az E2 és PMHk ösztrogén receptorra és PMH receptorra gyakorolt szabályzó működését primer kisagyi sejtenyészeten, valamint ennek összehasonlítása *in situ* minták referencia értékeivel.

**Módszer:** A receptor expressziós szinteket kvantitatív PCR és Western blot technikák alkalmazásával állapítottuk meg. Az eredményeket kezeletlen kontrollokhoz és kor-egyeztetett *in situ* kisagyakból mért eredményekhez viszonyítottuk.

**Eredmény:** 1. Mind az E2, mind pedig a PMHk receptorainak expresszióját az adott hormonok attól függően determinálják, hogy önmagukban vagy egymással való kombinációban hatnak a sejtekre; 2. A glia fontos mediátora a receptor expressziót szabályzó hormonhatásoknak; 3. A biszfenol A jellegzetesen és markánsan megváltoztatja a hormonok által beállított ösztrogén- és PMH receptor szinteket.

**Következtetés:** Az eredmények alapján arra lehet következtetni, hogy a kisagy normális fejlődéséhez az ösztrogének és pajzsmirigyhormonok megfelelő aránya szükséges, és hogy olyan exogén hormonhatású vegyületek, mint a biszfenol A a receptorszintek befolyásolásán keresztül is megváltoztathatják a kisagy normális fejlődésének a menetét.

**Köszönetnyilvánítás:** Köszönet illeti a SzIE-ÁOTK Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát részben az NKB 15912 sz. pályázat finanszírozta.

## AZ INZULIN JELPÁLYA EGYES FEHÉRJÉINEK VIZSGÁLATA CSIRKÉK KÜLÖNBÖZŐ SZÖVETEIBEN

Kulcsár Anna<sup>1</sup>, Mátis Gábor<sup>1</sup>, Kenéz Ákos<sup>1,2</sup>, Neogrády Zsuzsanna<sup>1</sup>, Korinna Huber<sup>2</sup>

Az inzulin intracelluláris jelátviteli útját számos effektor molekula befolyásolhatja, például az epigenetikus és receptor-mediált hatásokkal is bíró, takarmány-kiegészítőként széles körben alkalmazott butirát. Így egérkísérletekben kimutatták, hogy a butirát fokozza egyes szövetek inzulin-érzékenységét. A butirát adagolás szempontjából elsődleges célállatfajnak számító brojlercsirke esetében azonban nem áll rendelkezésünkre adat a butirát inzulin jelpályára gyakorolt hatásaira vonatkozóan. Munkánk során azt kívántuk vizsgálni, hogyan befolyásolja a szájon át adott butirát az inzulin jelátvitel egyes fehérjéinek expresszióját csirkék különböző szöveteiben.

Vizsgálatainkat a kísérlet kezdetén napos korú Ross-308 típusú brojlereken végeztük (n=10/csoport), amelyeket a 19-24. napon begyszondán keresztül bolusban adott nátrium-butirát oldattal kezeltünk naponta egyszer, 0,25 g/ttkg dózisban. Ez az adag megfelel a takarmány-kiegészítőként történő alkalmazás esetén naponta felvett átlagos butirát mennyiségnek. A kontroll állatok begyébe ugyanilyen módon desztillált vizet juttattunk. Az utolsó kezelés után, az állatok eutanáziáját követően mintát vettünk a májból, a subcutan és abdominalis zsírszövetből, valamint a *m. gastrocnemius*-ból. A homogenizált szövetekből szemikvantitatív western blot segítségével határoztuk meg az inzulin jelpályában központi szerepet betöltő inzulin receptor  $\beta$  (IR $\beta$ ), foszfatidil-inozit-3-kináz (PI3K), atipikus protein-kináz C zeta (PKC $\zeta$ ) és a mammalian target of rapamycin (mTOR) fehérjék expresszióját.

A butirátkezelés hatására szignifikánsan csökkent az IR $\beta$  expressziója a májban és mindkét vizsgált zsírszövetben, ugyanakkor emelkedett a vázizomzatban. A PI3K és PKC $\zeta$  fehérjék mennyiségét a butirát csak a májban befolyásolta, mindkét esetben szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a butiráttal kezelt állatokban. Kimutattuk továbbá, hogy az alkalmazott butirát bolus szignifikánsan mérsékelte az mTOR expresszióját a májban és a subcutan zsírszövetben, de a többi vizsgált szövetre nem fejtett ki hasonló hatást.

Kísérleti eredményeink szerint a szájon át adott butirát szövet-specifikus módon befolyásolta az inzulin jelpályá egyes fehérjéinek expresszióját csirkében. A butirát a vázizomzatban szelektíven fokozta az IR $\beta$  expresszióját, a többi vizsgált szervben egyidejű down-regulációt kiváltva. Így a butirát eltérő módon hat az egyes szövetek glükóz felvételére, egyúttal befolyásolva a glükóz szervek közötti eloszlását és stimulálva a vázizomzat szénhidrát-anyagcseréjét, amely termelés-élettani szempontból kiemelkedő jelentőséggel bír. A butirát az általunk vizsgált szövetek közül a máj inzulin jelátvitelét módosította a legjelentősebb mértékben, ami feltehetőleg a szervet a portális rendszeren keresztül érő közvetlen, enterális eredetű butirát stimulussal magyarázható. Eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a butirát az inzulin jelpályára gyakorolt hatásai révén, a szénhidrát-anyagcsere szabályozó molekulájaként új lehetőséget jelenthet a szövetek inzulin-érzékenységének befolyásolásában és a termelés hatékonyságának fokozásában.

Kutatómunkánkat a 12016. sz. KK-UK pályázat támogatásával végeztük.



## A KUPFFER-SEJTEK ARÁNYÁNAK MEGHATÁROZÁSA SERTÉS PRIMER MÁJSEJT-TENYÉSZETEN

Mátis Gábor<sup>1</sup>, Kulcsár Anna<sup>1</sup>, Kulcsárné Petrilla Janka<sup>1</sup>, Hatala Patrícia<sup>1</sup>, Kővágó Csaba<sup>2</sup>, Csikó György<sup>2</sup>, Neogrády Zsuzsanna<sup>1</sup>

A különböző állatfajokból, így az emlősállat- és humán modellként is szolgáló sertésből készített primer májsejt tenyészet jól alkalmazható modell különféle gyulladós folyamatok, többek között a bakteriális lipopoliszacharidok (LPS) által indukált gyulladós válasz *in vitro* vizsgálatára. A májból nyert primer sejttenyészet előnye, hogy nem kizárólag hepatocytákból áll, hanem kisebb arányban egyéb sejttípusokat is tartalmaz, amely jól modellezi az *in vivo* viszonyokat. A gyulladós reakció vizsgálatához elengedhetetlen azonban a tenyészet pontos jellemzése, így a Kupffer-sejtek arányának meghatározása, amely jelen munkánk céljával szolgált.

A sejtzölalást 15 kg tömegű, magyar nagyfehér fajtájú ártány sertések (n=2 állat) májának *processus caudatus* lebenyéből, több lépcsős perfúzióval és kollagenáz enzim segítségével végeztük. A sejteket kollagénnel bevont, speciálisan immunfluoreszcens vizsgálatok céljára szolgáló lumox felületű 8-lyukú lemezekben tenyésztettük ( $2 \cdot 10^5$  sejt/lyuk) 24 óráig, mialatt a tenyészet minden esetben konfluenssé vált. A sejtek metabolikus aktivitását a tápfolyadék albumintartalmának ELISA módszerrel történő meghatározásával ellenőriztük. Ezután fixálás nélkül, permeabilizálást és blokkolást (2% kecskeszérum) követően a sejttenyészeteket (n=8) a macrophag eredetű sejtekre specifikus, FITC-vel jelölt anti-CD-68 primer ellenanyaggal inkubáltuk (1:200, 60 perc, szobahőmérséklet), végül a sejtmagokat DAPI (1 µg/ml) segítségével festettük meg. A lemezeket Olympus CKX-41 típusú fluoreszcens mikroszkóp alatt vizsgáltuk, a felvételek Canon EOS 1100D típusú kamerával készültek, azok kvantifikálását az ImageJ programmal végeztük.

A sejttenyésztő médium albumintartalmának vizsgálata alapján a tenyészetek minden esetben megfelelő életképességűnek és metabolikus aktivitásúnak bizonyultak. Az immunfluoreszcens felvételek kiértékelése során a CD-68- és DAPI kettős pozitivitást mutató Kupffer-sejtek arányát a DAPI-pozitivitást mutató összes sejtszámhoz viszonyítva határoztuk meg. Vizsgálati eredményeink alapján a Kupffer-sejtek aránya tenyészetekben átlagosan  $6,74 \pm 1,07\%$ -nak adódott. Ez az eredmény összhangban van a rendelkezésünkre álló irodalmi forrásokban szereplő, más állatfajból készített májsejt tenyészetekre jellemző, 5-8% közötti értékekkel.

Mivel a macrophagok központi szerepet töltenek be az LPS indukálta gyulladós folyamatok során a különféle mediátorok, citokinek termelésében, azok fiziológiás arányban való jelenléte megerősíti, hogy az általunk készített primer sejttenyészet jól felhasználható *in vitro* modellként. További terveink között szerepel a sertésmájából izolált Kupffer-sejtek szeparálása, és azok hepatocytákhoz viszonyított arányának célzott beállítása. Ez különösen hasznos lehet az alkalmazott *in vitro* rendszerek standardizálásához, valamint a Gyógyszertani és Méregtani Tanszékkel közösen kifejlesztett, IPEC-J2 sejtvonalból és primer májsejt tenyészetből álló enterohepatikus ko-kultúra modell továbbfejlesztéséhez.

A kutatómunkát a 15972. sz. NKB pályázat segítségével végeztük.

SzIE, Állatorvos-tudományi Kar, Belgyógyászati Tanszék<sup>1</sup>  
Állatorvosi Hematológiai és Onkológiai Központ, Á.H.O.K. Kft.<sup>2</sup>  
Diagon Kft.<sup>3</sup>

Élettan, biokémia,  
kórélettan, morfológia

## VÉRALVADÁSI PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS „POINT OF CARE” MÓDSZEREKKEL

Kispál Dóra<sup>1</sup>, László Zsófia<sup>2</sup>, Dékay Valéria<sup>2</sup>, Antal József<sup>3</sup>, Vajdovich Péter<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A véralvadási vizsgálatok alapvetőek a betegek állapotának rögzítésében. Többféle lehetőség adódik a teljesen automatizált módszerek, a félautomaták, és az ún. „point of care” módszerek között. Cél, hogy olyan fejlesztéseket végezzünk, amelyekkel könnyen, gyorsan lehet a véralvadás változását nyomon követni.

**Cél:** Munkánk során két félautomata laboratóriumi módszerrel (Coag 4D, Diagon Kft. és KC4 koagulométer, Amelung, Lemgo, Germany) hasonlítottunk össze egy új fejlesztésű kézi koagulométert (CoagVet, Diagon Ltd.). A beszámoló a fejlesztés eddigi eredményeit foglalja össze.

**Módszer:** Kutya, és macska citrátos vérmintát vizsgáltunk (3,8 % Na-citrát, 1:10). A teljesvérmintákat azonnal feldolgoztuk a CoagVet (Diagon Ltd.) műszerrel, majd a plazmákat szeparáltuk, és a másik két eszközzel is vizsgáltuk. Az adatok táblázatban rögzítését követően statisztikai vizsgálatokat végeztünk, majd a kapott eredményeket összevetettük a szakirodalomban leírt adatokkal.

**Eredmény:** Megállapítottuk, hogy az általunk kapott referencia-értékek nem térnek el nagymértékben a szakirodalomban leírt adatoktól. A különbségek, eltérések okaként az eltérő metodika róható fel, hiszen a korábbi tanulmányokkal ellentétben mi félautomata eszközökkel és „point of care” módszerekkel végeztük vizsgálatainkat, ahol az emberi tényező jelentős bizonytalanságot okoz. A kutyákban a CoagVet kézi koagulométerrel nyert eredmények jó korrelációt mutattak a teljes vér, és a plazmaminták között. A teljes vér protrombin idő- (PTI-) értékek (CoagVet) korreláltak a plazmák Coag 4D, és a KC4 koagulométer PTI-értékeivel. A CoagVet műszerrel mért plazma PTI-értékek korrelációt mutattak a KC4 koagulométer aktivált parciális tromboplasztin idő- (APTI-) értékeivel. A macskákban a CoagVet, kézi koagulométerrel nyert eredmények jó korrelációt mutattak a teljes vér-, és a plazmaminták között. A teljes vér PTI-értékek (Coag Vet) korreláltak a plazmák Coag 4D, és a KC4 koagulométer PTI-értékeivel. CoagVet-tel nyert plazma PTI- értékek korreláltak a Coag4D PTI-értékeivel. Az egészséges és beteg állatok APTI és PTI-értékeinek változása a szakirodalomban leírtaknak megfelelően alakult.

**Következtetés:** Az eredményeink biztatóak, és további vizsgálati lehetőségeket rejtenek. A „point of care” módszert az APTI-vizsgálat esetében fejleszteni kell.

Köszönetünket fejezzük ki a Diagon Kft-nek, amely a véralvadási vizsgálatok fejlesztésében Magyarországon élen jár, és a fejlesztése alatt álló műszereket és reagenseket a rendelkezésünkre bocsátotta.

## KUTYÁK EXTRACRANIALIS LIQUORTÉRFOGATÁNAK MÉRÉSE MRI-VEL

Reinitz László Zoltán<sup>1</sup>, Bajzik Gábor<sup>2</sup>, Garamvölgyi Rita<sup>2</sup>, Lassó András<sup>3</sup>, Petneházy Örs<sup>2</sup>, Lőrincz Borbála<sup>2</sup>, Sótonyi Péter<sup>1</sup>

Bevezetés: A kutya agy-gerincvelői folyadékának (cerebrospinal fluid, CSF) térfogatára vonatkozó értékelhető adat nem áll a tudomány rendelkezésére. Humán mérési adatok, valamint kutyákon, a CSF nyomásával kapcsolatban végzett kutatások arra engednek következtetni, hogy a CSF térfogata nem egyenes arányban változik a testméretekkel, így a klinikumban a gerincvelő-festéses vizsgálatok és az epiduralis érzéstelenítés során alkalmazott dozimetria pontatlan, hozzájárulhat szövődmények kialakulásához.

Cél: Az előtanulmányok során kifejlesztett módszerrel, csoportos, élőállatos mérés lebonyolítása a kutyák CSF térfogatának meghatározására.

Módszer: A kidolgozott protokoll szerint 12 darab, 3-5 éves, magántulajdonban lévő kan kutyát vontunk be a vizsgálatba a tulajdonosok írásbeli hozzájárulásával. Az állatok teljes körű fizikális és neurológiai vizsgálaton estek át, amelynek során klinikai értelemben egészségesnek és neurológiai szempontból épnek bizonyultak. Az állatokat három vizsgálati csoportra osztottuk (15 kg alatt, 15-20 kg között, és 20 kg felett), mindegyikbe négy kutya került. Az állatokon propofol indukált isofluran narkózisban a CSF kimutatására általunk kifejlesztett beállításokkal kutyánként 25-35 percig tartó MRI vizsgálatot végeztünk először a koponyán transversalis és sagittalis síkokban, majd a gerinc teljes hosszán sagittalis síkokban. Az adatokat a Slicer 3D programmal dolgoztuk fel, az „Editor” modul „Threshold” és „Paint” eszközeivel jelöltük ki a CSF-et, majd a „Label Statistics” modulban kaptuk a vonatkozó térfogati értékeket.

Eredmény: Első lépésben az extracranialis területet mértük meg, az egyes vizsgálati csoportokban kapott adatokat az alábbi táblázatban foglaltuk össze:

	átlag ± SD (cm <sup>3</sup> )	testtömegre vonatkoztatott átlag ± SD (cm <sup>3</sup> /tkg)
1. csoport	20,20±1,94	1,97±0,57
2. csoport	31,93±4,70	1,73±0,37
3. csoport	34,58±6,97	1,29±0,14

Következtetés: Megállapítható, hogy az irodalomban a kutya CSF térfogatára vonatkozó becslések (6-16 cm<sup>3</sup>) pontatlanok, az egyedi variancia az extracranialis térben nagy, így további mérések szükségesek a szélső értékek meghatározására. A kapott eredmények azt igazolják, hogy a CSF-et érintő beavatkozások esetében a jelenleg használt, a testtömeggel egyenes arányban álló dozimetria felülvizsgálatra szorul.

Köszönetnyilvánítás: a TÁMOP-4.2.2. B-10/1-2010/0011 és a TÁMOP-4.2.1.B-11/2/KMR-2011-0003 projektek valamint a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottságának anyagi támogatásáért valamint a FeliCaVet Állatorvosi Szolgáltató Kft-nek és a Schiab Kft. Állatgyógyászati Centrum-nak.

## KÉPALKOTÁS RÉTEGMARÁSSAL: A KRIOMAKROTOMIZÁLÁS ALAPJAI

Czeibert Kálmán<sup>1</sup>, Petneházy Örs<sup>2</sup>, Rác Bence<sup>1</sup>, Sótonyi Péter<sup>1</sup>

**Bevezetés:** Az elmúlt másfél évtizedben több kutatást is végeztek különböző strukturális képalkotó eljárások bevonásával (elsődlegesen MRI- és CT-vizsgálatokkal), hogy minél informatívabb módon szemléltethessék az emberi és állati szervezet makro- és mikroszkópos anatómiai viszonyait. Ennek során egész testeket fagyasztottak le, majd tizedmilliméteres szeletenként lemarták (kriomakrotomizálták), minden rétegről nagyfelbontású digitális felvételt készítve. A szoftveres utómunkálatokat követően 3D-s rekonstrukciókat és különböző virtuális atlaszokat hoztak létre, amelyek aztán referenciamunkákként szolgáltak a további kutatócsoportoknak. A legjelentősebb eredményeket a Visible Human (1995), a Visible Korean Human (2001), és a Chinese Visible Human (2003) projektek keretében érték el, amelyek során teljes humán testeket kriomakrotomizáltak, de hasonlóképpen vizsgáltak állatokat is a rétegmetszés segítségével (Toga 1995, Böttcher 1999, Dogdas 2007).

**Cél:** Jelen kutatás során egy olyan összehasonlító jellegű munkát szeretnénk létrehozni - annak metodikai és tárgyi feltételeit megteremtve -, mely célzottan a kutya agyának makroszkópiusan is azonosítható struktúráit elemzi, és amely során a kriomakrotomizálással nyert anatómiai képeket az érintett tájékról készített MRI és CT felvételeknek lehet megfeleltetni, így diagnosztikai és kutatási alapot adva a szakterületben érdekelt állatorvosoknak.

**Módszer:** A kutatás első fázisa a rétegmérés validálását jelenti. Ennek során egy ipari horizontálmérőt alakítottunk át olyan módon, hogy alkalmassá váljon az előzetesen előkészített mélyfagyasztott tömb befogadására, annak folyamatos hűtése mellett. A fényképezőgépet úgy rögzítjük, hogy a felvételek mindig ugyanabból a távolságból, szögből és megvilágítással készülhessenek. A mélyfagyasztott tömb előkészítése: egy közepes testmértű (18 kg súlyú) keverék kutya cadaver jobb és bal a. carotis communis-át kanüláltuk, majd pirosra színezett szilikonpolimerrel töltöttük meg a fej artériás rendszerét. A fejet a 2. nyakcsigolya magasságában a törzstől elválasztottuk, majd poliuretánba ágyaztuk. Az így kapott tömböt 10x10x12 cm méretre vágtuk (mely a neurocraniumot tartalmazta), és -80 °C-os hűtőben tároltuk a marásig.

**Eredmény:** A rétegmérés során egy olyan nagyfelbontású képsorozatot készítünk, mely 0,2 mm-es szeletvastagsággal ábrázolja az agykoponyában található képleteket. A látható anatómiai struktúrák azonosítása után színekkel látjuk el őket, majd 3D modellt készítünk a sorozatokból. A képek rekonstrukciójakor a célunk az, hogy a térfogati elemek (voxelek) izovolumetrikusak legyenek, így minden irányban torzításmentes 3D-rekonstrukciókat tudunk előállítani.

**Következtetés:** A képalkotó vizsgálatok (CT, MR) egyre jobb felbontást tesznek lehetővé, a képfeldolgozó rekonstrukciós programok pedig egyre pontosabb 3D modelleket állítanak elő. Az eredeti struktúrák azonosítása sokat segíthet a minél pontosabb rekonstrukciós algoritmusok kidolgozásában, illetve a 3D modellek előállításában; munkánkkal is ezt szeretnénk elősegíteni.

## A PROTEIN KINÁZ D (PKD) MUTÁCIÓJÁNAK HATÁSA A HIPPOKAMPÁLIS SZINAPSZISOK SZERKEZETÉRE

Rácz Bence<sup>1</sup>, Kovács Ákos<sup>1</sup>, Hazai Diana<sup>1</sup>, Schlett Katalin<sup>2</sup>, Bencsik Norbert<sup>2</sup>, Sótonyi Péter<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A protein kináz D (PKD) egy sokféle biokémiai folyamatot befolyásoló enzim, mely számos sejttypusban megtalálható. Változatos sejten belüli lokalizációjának és széleskörű szubsztrát-specifititásának köszönhetően részt vesz számos élettani és kórélettani folyamatban. Jelentősége megállapítható a transzkripció, a proliferáció és a differenciálódás szabályozásában, a Golgi készülék sejttypusra jellemző felépítésének kialakításában és a vezikuláris transzportban, a citoszkeleton szabályozásában, az immunrendszer jelátvitelében, a sejtek túlélésében, gyulladásos folyamatokban, a szívhipertrófiában és különféle szövetek daganataiban. Az idegrendszerben az idegsejtek polaritásának kialakulásában, valamint a dendritek fejlődésében és elágazódásában bizonyították a szerepét, a szinapszisokban betöltött funkcióit eddig azonban még nem vizsgálták.

**Cél:** Kutatásunk során azt vizsgáltuk, hogy a PKD kináz funkciójának kiesése milyen morfológiai változásokat eredményez a hippocampusz CA1 régiójában található piramisisejtek szinaptikus dendrittüskéiben.

**Módszer:** A vizsgálatokhoz vad típusú (WT), és doxiciklin hatására zöld fluoreszcens fehérjével jelölt *kinase dead* (kd) PKD-t expresszáló kettős transzgenikus egereket használtunk. Az állatok agyából készült metszeteken a mutáns PKD-t kifejező sejteket anti-GFP immunhisztokémiai eljárással tettük láthatóvá. Ezt követően a területeket, melyekben előfordultak jelölést tartalmazó sejtek, transzmissziós elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. A készített felvételeken a tüskeprofilok paramétereit lemértük, és összehasonlítottuk a mutáns és WT állatokban mért adatokat.

Eredményeink szerint a kdPKD egerekben a vizsgált dendrittüskék területe, kerülete, valamint a bennük lévő posztzinaptikus denzitás (PSD) hossza szignifikánsan csökken a WT állatok ugyanezen paramétereikhez képest. Ezen felül azt is megfigyeltük, hogy a PSD hossza és a tüskék mérete közötti korreláció jelentős mértékben csökken a mutáns egerekben. Munkánk során bizonyítottuk tehát, hogy a PKD megfelelő működése szükséges a dendrittüskék optimális szerkezetének kialakulásához.

**Következtetés:** Feltételezhető, hogy a PKD a dendrittüskékben megfigyelt szerepét elsősorban az aktin-tüskeváz szabályozásán keresztül tölti be, mivel ismert, hogy a PKD több aktin-szabályozó fehérje működését is befolyásolja.

**Köszönetnyilvánítás:** Az ismertetett eredményekhez Magyar Tünde és Pop Renáta laborasszisztensek áldozatos munkája, valamint az OTKA K83830 kutatási pályázat anyagi forrásai járultak hozzá.

SzIE, Állatorvos-tudományi Kar, Belgyógyászati Tanszék<sup>1</sup>  
NÉBIH Emlős-, Vad- és Baromfibetegségek Laboratóriuma, Budapest<sup>2</sup>

## KUTYÁK ASPIRÁCIÓS NYIROKCSOMÓ MINTÁINAK IMMUNCITOKÉMIAI VIZSGÁLATA

Keresztes Mónika<sup>1</sup>, Szabó Bernadett<sup>1</sup>, Mészáros Ágnes<sup>2</sup>, Vajdovich Péter<sup>1</sup>

**Bevezetés.** Kutyák malignus lymphomájának diagnosztizálásában a nyirokcsomó vékonytű aspirátum citológiai vizsgálata gyors, hatékony és a beteg számára minimálisan invazív módszer. Az immunfenotípus (B-sejtes vagy T-sejtes lymphoma) meghatározásának fontos szerepe van a kemoterápiás kezelés megtervezésében és a prognózis felállításában (*Ponce és mtsai, 2004, Valli és mtsai, 2013*). Ezért az előzetes citológiai vizsgálatot szövettani és immunhisztokémiai vizsgálatnak kell követnie a lymphoma típusának pontosításában.

**Célkitűzések.** Lymphomában szenvedő kutyákból vett minták hagyományos citológiai, immuncitokémiai, illetve immunhisztokémiai eredményeinek összehasonlítása. A B-, illetve T-sejtes lymphocyták markereinek aspirációs citológiai mintán való alkalmazhatóságának vizsgálata.

**Vizsgálatok.** Generalizált perifériás lymphadenopáthiában szenvedő kutyákból aspirációs citológiai mintákat gyűjtöttünk. A mintákat értékeltük a hagyományos (Romanowsky típusú) festéssel készített kenetből. Ezt követően sor került a kenetek immuncitológiai festésére és értékelésére képanalitikai szoftver segítségével. Azokban az esetekben, amikor a nyirokcsomó mintából egyidejűleg immunhisztokémiai vizsgálat eredménye is rendelkezésre állt, összevetettük az eredményeket. Az immuncitokémiai vizsgálatot a következő ellenanyagokra terjesztettük ki: T-sejt marker (CD3 poliklonális nyúl anti-human ellenanyag, Dako), proliferációs marker (Ki67 monoklonális egér anti-human ellenanyag, Dako) és B-sejt marker (CD79a HM57 klón, monoklonális egér ellenanyag).

**Eredmények.** A citológiai vizsgálat alapján a generalizált lymphadenopáthiában szenvedő kutyákban mindegyik esetben lymphomát állapítottunk meg. Előzetes eredményeink alapján az immunhisztokémiai vizsgálatok során alkalmazott módszerek megfelelően működtek az aspirációs citológia mintákon is. Ezek alapján megfelelő korreláció van az immuncitokémiai, illetve immunhisztokémiai vizsgálatok között, de ezt további, nagyobb mintaszámon végzett vizsgálatokkal kell megerősítenünk.

**Következtetések.** Kutyák lymphomájának immunfenotipizálásában az immunhisztokémiai és flow cytometriai vizsgálatok mellett az immuncitokémiai vizsgálatok alkalmazása is a korszerű diagnosztikai fontos része lehet, amely előrehaladott, súlyos esetekben gyors előzetes eredményt adhat a kemoterápia megtervezésében mielőtt a szövettani vagy flow cytometriai eredmények rendelkezésre állnak.

Köszönettel tartozunk Mészáros Ágnesnek az immuncitológiai vizsgálatokban nyújtott segítségért. A vizsgálatok az NKB pályázat támogatásával készülnek.

## D-DIMER SPECIFIKUS MONOKLONÁLIS ELLENANYAG ALKALMAZÁSA IMMUNTURBIDIMETRIÁN ALAPULÓ DIAGNOSZTIKAI TESZTBEN

Nagy Beáta<sup>1</sup>, Kuik Árpád<sup>1</sup>, Vajdovich Péter<sup>2</sup>, Dénes Béla<sup>3</sup>

A D-dimer vizsgálat fontos szerepet tölt be a humán és az állatorvosi diagnosztikában egyaránt. A humán klinikumban elsősorban a mélyvénás trombózis és a tüdőembólia kizárására, illetve egyéb véralvadási zavarok kimutatására, monitorozására használják. Az állatorvosi gyakorlatban a műtétek előtti véralvadási státusz ellenőrzésében, illetve daganatos kórképek vizsgálatában van szerepe. A D-dimer antigén ellen monoklonális ellenanyag állítható elő, amely mikroszemcsére felkötve képes a plazmában lévő D-dimerhez specifikusan kötődni. Az antigén-ellenanyag reakció a szemcsék agglutinációjához és ezzel együtt a közeg turbiditásának változásához vezet. A turbiditás mérhető, és a változás mértéke arányos a mintában lévő D-dimer koncentrációjával.

Célunk, egy D-dimer-szint mérésére alkalmas diagnosztikai teszt előállítását D-dimer specifikus monoklonális ellenanyag felhasználásával.

A D-dimer specifikus monoklonális ellenanyagot hibridóma technikával állítottuk elő, majd Protein G Sepharose oszlopon tisztítottuk. A hordozóként alkalmazott különböző nagyságú karboxilált polisztirol latex szemcséket gyökös polimerizációval gyártottuk, méretüket lézerdiffrakciós szemcseméret-meghatározó készülékkel állapítottuk meg. A latexen lévő karboxil csoportokat EDC-vel aktiváltuk, az ellenanyagot kovalensen a latexre kötöttük, a szabad karboxil csoportokat glicinnel blokkoltuk. Az ellenanyag kötődését, illetve kötődés utáni aktivitását a reakcióelegy felülúszójából indirekt módon ELISA módszerrel vizsgáltuk, majd a reagenst D-dimer antigén és R1 reakció puffer jelenlétében immunturbidimetriás méréssel optikai koagulométeren teszteltük. A reakció puffer (R1) és a tároló puffer (R2) ionösszetételét, pH-értékét az immunturbidimetriás mérés alapján optimalizáltuk. Kalibrátorként, általunk preparált antigént, magas D-dimer tartalmú humán plazmát, valamint gyári kalibrátort használtunk. Mintaként 10 kutya, 10 macska (onkológiai esetek) és humán plazma mintákat mértünk le párhuzamosan az általunk fejlesztett, illetve egy referens reagenssel.

A latex szemcséket 100-300 nm mérettartományban állítottuk elő. Az ellenanyagot kovalensen kötöttük a latexre. Az ellenanyag kötődését és aktivitását indirekt ELISA módszerrel igazoltuk. Az immunturbidimetriás méréshez R1 reakció-, illetve R2 tároló puffereket állítottunk össze, amelyek ionösszetételét és pH értékeit optimalizáltuk. Az előállított reagenst 570 nm hullámhosszon mértük optikai koagulométeren, kalibrációs görbét vettünk fel a gyári kalibrátor sor, illetve humán plazmából hígított kalibrátor sor mérése alapján. Az általunk fejlesztett reagens alkalmas volt a humán és kutya plazmák mérésére, míg a macskáktól származó minták nem voltak mérhetőek.

A D-dimer specifikus monoklonális ellenanyagot immunturbidimetriás tesztben használva alkalmasnak találtuk a D-dimer szint mérésére humán és kutya plazmában egyaránt. Ugyanakkor további vizsgálatok és a reagens kalibrálása szükséges a fajspecifikus teszt előállításához.