

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA  
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

**AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK**  
(2018. JANUÁR 22-25.)

**ÉLETTAN ÉS BIOKÉMIA  
PATOLÓGIA  
GYÓGYSZERTAN ÉS TOXIKOLÓGIA  
MORFOLÓGIA**

2017. évi 44. füzet

## ELŐSZÓ

### **Kedves Kollegánók és Kollegák!**

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2018. január 22-25. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámoló**k ülésorozatot, amelyre idén 44. 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](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](mailto: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**  
(2018. január 22-25.)

<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>
Élettan és biokémia Patológia Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	<b>I. 22. hétfő</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Bartha Tibor Frenyó V. László Csikó György Sótonyi Péter	Jakab Csaba Jerzsele Ákos Mátis Gábor	Halasy Katalin Kutas Ferenc Rácz Bence Neogrády Zsuzsanna Sályi Gábor Zsarnovszky Attila
Élelmiszer-higiénia Állategészségügyi Igazgatás	<b>I. 22. hétfő</b> 9.00-	Zlamál Vilmos előadóterem	Lacza Péter Ózsvári László	Erdősi Orsolya	Józwiak Ákos Kovács Sándor Lehel József, Szita Géza
Bakteriológia	<b>I. 23. kedd</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Nagy Béla Fodor László Magyar Tibor	Kreizinger Zsuzsa	Hajtós István, Bernáth Sándor Gyuranecz Miklós Makrai László, Tenk Miklós, Tóth István
Viroológia Immunológia	13:00-		Bakonyi Tamás Harrach Balázs	Kaján Győző	Benkő Mária, Dán Ádám, Hornyak Ákos, Péntes Zoltán Rusvai Miklós, Soós Tibor
Állathigiénia Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	<b>I. 23. kedd</b> 13.30-	Zlamál Vilmos előadóterem	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor Fekete Sándor, Gáspárdy András Jakab László Rafai Pál, Zöldág László
Parazitológia Állattan Halkórtan	<b>I. 24. szerda</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Baska Ferenc Farkas Róbert	Eszterbauer Edit Sréter Tamás	Békési László, Csaba György Hornok Sándor, Kassai Tibor Molnár Kálmán Majoros Gábor, Varga István
Klinikumok	<b>I. 25. csütörtök</b> 8.30-	Tolnay Sándor előadóterem	Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor Vörös Károly	Bakos Zoltán Pápa Kinga Szelényi Zoltán	Biksi Imre Gál János Vajdovich Péter

## TARTALOMJEGYZÉK

100 ÉVE HUNYI EL TANGL FERENC  
Sótonyi Péter

### Koszorúzás

### Morfológia, Élettan és Biokémia

1. IDEGSEJT-KAPCSOLATOK VIZSGÁLATA AUTIZMUS-MODELLEN  
Rác Bence, Mark Marcello, Sótonyi Péter
2. AZ ASZTROGLIÁK NEUROINFLAMMÁCIÓS SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA  
HEPATICUS ENCEPHALOPATHIABAN  
Bárány Zoltán, Kiss Dávid Sándor, Sterczer Ágnes
3. AZ ARZÉN HATÁSA AZ ÖSZTROGÉN- ÉS PAJZSMIRIGYHORMON  
RECEPTOROK EXPRESSZIÓJÁRA FEJLŐDŐ KISAGYBAN  
Jócsák Gergely, Bartha Tibor, Zsarnovszky Attila
4. A CIRKADIÁN RITMUS HATÁSA A HYPOTHALAMUS METABOLIKUS  
ASZIMMETRIÁJÁRA  
Kiss Dávid Sándor Tóth István, Frenyó V. László, Zsarnovszky Attila
5. AZ INZULIN ÉS A GLUKAGON JELPÁLYA KÜLÖNBÖZŐ TAKARMÁNYOZÁSI  
FAKTOROK SEGÍTSÉGÉVEL TÖRTÉNŐ SZABÁLYOZÁSA  
BROILERCSIRKÉBEN  
Kulcsár Anna, Sebők Csilla, Mátis Gábor, Talapka Petra, Hatala Patrícia, Petrilla Janka,  
Fébel Hedvig, Neogrády Zsuzsanna
6. A T-2 TOXIN SEJTKÁROSÍTÓ HATÁSAINAK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA  
CSIRKE PRIMER BÉLHÁMSZÉLT- ÉS MÁJSEJTTENYÉSZETEN  
Mátis Gábor, Kulcsár Anna, Hatala Patrícia, Tóth Adrienn, Mackei Máté, Neogrády  
Zsuzsanna
7. HALLGATÓI ELÉGEDETTSÉG MÉRÉSE AZ ÉLETTANI ELŐADÁSOKKAL  
KAPCSOLATBAN  
Tóth István, Jócsák Gergely, Kiss Dávid Sándor, Bárány Zoltán Balázs, Frenyó V László,  
Mándoki Míra, Bartha Tibor

### Gyógyszertan

8. PK/PD ANALÍZISHÉZ SZÜKSÉGES MINTAVÉTELI MÓDSZEREK BAROMFI  
FAJOK LÉGUTAIBÓL  
Somogyi Zoltán, Pazár Péter, Jerzsele Ákos

9. MATRIPTÁZ MODULÁTOROK VIZSGÁLATA *IN VITRO* PRIMER MÁJSEJTEKEN  
Barna Réka Fanni, Pomothy Judit Mercédesz, Rokonál Patrik, Szombath Gergely,  
Pásztiné Gere Erzsébet
10. KVERCETIN, 3-O-METILKVERCETIN ÉS RAMNAZIN INTRA- ÉS  
EXTRACELLULÁRIS REDOX ÁLLAPOTOKRA GYAKOROLT HATÁSA IPEC-J2  
SEJTEKEN  
Karancsi Zita, Farkas Orsolya, Gálfi Péter
11. *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 2142 HATÁSA BÉLHÁMSEJTEK  
MORFOLÓGIÁJÁRA FÉNY- ÉS ELEKTRONMIKROSKÓPOS  
VIZSGÁLATOKBAN  
Palkovicsné Pézsa Nikolett, Karancsi Zita, Farkas Orsolya, Rácz Bence
12. A ZEARALENON ÉS A *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 2142 EGYÜTTES  
HATÁSA IPEC-J2 SEJTVONALON  
Pomothy Judit Mercédesz, Barna Réka Fanni, Kiss Zsófia, Pásztiné Gere Erzsébet
13. TAKARMÁNYADALÉK –GYÓGYSZER KÖLCSÖNHATÁS *EX VIVO*  
VIZSGÁLATA HÁZINYÚL EREDETŰ CITOKRÓM P450 ENZIMRENDSZEREN  
Palócz Orsolya, Csikó György
14. HÁZIÁLLATOKBÓL IZOLÁLT *STAPHYLOCOCCUS PSEUDOINTERMEDIUS*  
TÖRZSEK BIOFILMKÉPZÉSÉNEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA CONGO  
RED AGARON ÉS MTP TESZTTTEL KRISTÁLYIBOLYA FESTÉSSEL  
Veres Adrienn Mercédesz, Jerzsele Ákos, Orbán Vivien, Juhász Orsolya, Gálfi Péter

## 100 ÉVE HUNYT EL TANGL FERENC

Sótonyi Péter

Tangl Ferenc 1866 január 26-án született Pesten, iparos család gyermekeként. Már hallgató korában kitűnt képességeivel, tudomány iránti érdeklődésével. 1886-ban első tudományos dolgozatával, amelyet a periférikus idegek regenerációjáról írt, élettani pályadíjat, majd ugyan ebben az évben a legjobb kórboncolási jegyzőkönyv megírásával is pályadíjat nyert. 1888-ban szerzett orvosi oklevelet a Tudományegyetem Orvostudományi Karán, majd a kórbonctani intézetben a híres Scheuthauer Gusztáv másodasszisztense lett, ahol már hallgatóként is gyakornokoskodott, és olyan kiváló szakemberekkel dolgozott, mint Hutyra Ferenc, Preisz Hugó, Buday Kálmán és Török Lajos.

1889-ben a Grazi Egyetem szövet- és fejlődéstani tanszékére került asszisztensnek, majd a Schordmann-féle ösztöndíj segítségével Tübingenbe utazott, ahol Baumgarten professzor kórbonctani intézetében elsősorban bakteriológiával foglalkozott. Közben Berlinben is folytatott tanulmányokat Robert Koch mellett. A kielii egyetemre hívták magántanárnak, de Tangl inkább visszatért Budapestre, a kórbonctani intézetbe tanársegédnek. 1892-ben a M. kir. Állatorvosi Akadémia tanári kara felkérte a Korányi Sándor távozásával megüresedett élet- és szövettani tanszék vezetésére. Az állás elfogadása előtt még fél évet dolgozott az élettan nagyhírű professzora, Karl Friedrich Wilhelm Ludwig mellett, az élettan állatorvosi vonatkozásait Wilhelm Ellenberger drezdai intézetében szerezte meg és csak ezt követően, mint segédtanár vette át a tanszék vezetését, majd egy év múlva már rendes tanárként látta el feladatát.

Kezdeményezésére létesült a M. kir. Állatélettani és Takarmányozástani Kísérleti Állomás, amelynek haláláig igazgatója volt. A kezdetben az Állatorvosi Akadémia területén igen szerény körülmények között működő intézet 1901-ben kapott új otthont Budán, amelyet teljes mértékben Tangl Ferenc elképzelései szerint építettek és rendeztek be. Itt már a kor legmodernebb laboratóriumi körülményei között folyt a munka, ami mind elméleti, mind gyakorlati szempontból kiemelkedő jelentőséggel bírt. Az állomás az általános állattenyésztési kísérleteken kívül főleg a hazai takarmányok kémiai összetételének és tápértékének megállapítását végezte, amelyet közvetlenül felhasználhattak a gyakorlatban a tenyésztésben lévő állatok okszerű takarmányozásában, különös tekintettel a Magyarországon termelt és gyártott takarmányfélék hasznosítására. Kutatások folytatott az anyagforgalom sajátosságai, mechanizmusa és törvényei megismerésére, az ízeltlábúaktól a szarvasmarháig szinte minden állatfajra kiterjesztve kísérleteit.

Tangl Ferenc legfőbb kutatási területe – a szövettan, kórtan és bakteriológiát követően – az élettanban csúcsosodott ki. Világviszonylatban is meghatározóak az egyedfejlődésnek, a madárembrío fejlődésének, a rovarok metamorfózisának energetikájára és az anyagcserére vonatkozó kutatásai és ezek vizsgálataira épített eszközei, mint például a respirációs készülék, amellyel a munkavégző állatok tápanyag hasznosításnak mérésére nyílt lehetőség. Kísérletei vezettek az entrópia törvényének megfogalmazásához.

A Magyar Tudományos Akadémia 1902-ben levelező, majd 1910-ben rendes tagjává választotta. 1903-ban a budapesti Tudományegyetem Plósz Pál halálát követően a megüresedett élet- és kórvegytani tanszékre nyilvános rendes tanárrá nevezte ki, 1906-ban a kórbonctani, majd 1914-ben az élettani tanszék élére került, 1910 és 12 között a kar dékáni teendőit is ellátta.

1912-ben a király a M. kir. Állatélettani és Takarmányozástani Kísérleti Állomás vezetőjeként végzett munkája elismeréseként a m. kir. udvari tanácsos címet adományozta számára.

Tangl professzor iskolateremtő egyéniség volt, oktatói munkája során mindenkor alkalmazkodott hallgatói előképzettségének színvonalához, szilárd természettudományos alapokat teremtett az orvosok és biológusok számára. Legfőbb vágya az orvosi kar élettani tanszékének elnyerése volt, amelynek élére végül csak 1914-ben már nagy betegen nevezték ki. 1917-ben mindössze 51 évesen érte a halál. Tudományos elveit pályatársa, Hári Pál fogalmazta meg: „... *Sohasem engedte, hogy fantáziája elragadja, s nem engedte meg tanítványainak sem, hogy mást közöljenek, mint amit szívesen bizonyítani tudnak.*” Egész életét és munkásságát szigorú precizitás jellemezte, életműve az Állatélettani és Takarmányozási Intézetben teljesedett ki, valamint a Tangl – Hári iskolában, amely közel fél évszázados működése során számtalan nagyhírű tanárt és kutatót adott a világnak.

## IDEGSEJT-KAPCSOLATOK VIZSGÁLATA AUTIZMUS-MODELLEN

Rácz Bence\*, Mark Marcello, Sótonyi Péter

Pszichiátriai és idegrendszeri fejlődési zavarok, különösen az autizmus spektrum-betegség (Autism-Spektrum Disorder) (ASD) hátterében gyakran húzódnak génhibára visszavezethető, idegi kapcsolatokban bekövetkező anomáliák; ezek gyakran az előagyi glutamáterg ún. tükkeszinapsziok hibáira vezethetők vissza. Azok a mechanizmusok, amelyek a szinapszisok patológiás elváltozásait a hálózatban bekövetkező rendellenességekhez és az atipikus viselkedési mintázatokhoz kapcsolják kevésbé ismertek. ASD genetikai vizsgálata során megfigyelték, hogy egy, a neurexin fehérjecsaldába tartozó, a neuron/glia interakcióban, ill. a neuronális  $K^+$  csatornák klaszterbe rendeződéséért felelős *contactin associated protein-like 2* (CNTNAP2) gén gyakran hordoz mutációt. Vizsgálataink során ezért egy olyan egér modellt használtunk, amelyben CNTNAP2-gén kiütésre került; ezekben az állatokban transzmissziós-elektronmikroszkópos kvantitatív módszerrel megvizsgáltuk a kórképben leggyakrabban érintett mediális prefrontális kéreg (mPFC) szinapszisainak ultrastrukturális elrendeződését. Eredményeink azt mutatják, hogy az CNTNAP2 hiánya elsősorban a kortikális neuropil serkentő szinaptikus kapcsolatit befolyásolja, a tükkeszinapszisok számának csökkenéséhez és – érdekes módon – méretének növekedéséhez vezet. Bár a serkentő tükke-szinapszisok továbbra is jelen vannak, a kéreg 2/3 rétegének neuropiljében, azok kapcsolatrendszere és belső szerkezete megváltozik. Ezzel párhuzamosan a gátló szinapszisok mennyisége is lecsökken. Eredményeink olyan szinaptikus elváltozásokat tártak föl, amely kapcsolatba hozható az autizmus-spektrum betegség során megfigyelhető hálózati anomáliával.

„A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (kód: EFOP3.6.2-16-2017-00008, cím: A neuroinflammáció vizsgálata a neurodegeneratív folyamatokban: a molekulától a betegágyig)”



## AZ ASZTROGLIÁK NEUROINFLAMMÁCIÓS SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA HEPATICUS ENCEPHALOPATHIABAN

Bárány Zoltán<sup>1\*</sup>, Kiss Dávid Sándor<sup>1</sup>, Sterczer Ágnes<sup>2</sup>

A hepaticus encephalopathia (HE) a máj működésének kiesése következtében létrejövő, orvosi és állatorvosi viszonylatban is jelentős neurológiai kórkép. A HE-ben megfigyelhető számos cerebrális kórfolyamat közül a neuroinflammáció meghatározó szerepét egyre több szakirodalmi adat alátámasztja, mely potenciális terápiás célpontként is szolgálhat. Bár a neuroinflammációért elsősorban a mikroglia, mint az agy elsődleges immunsejtjeit teszik felelőssé, igazolt, hogy egy másik gliatípus, nevezetesen az asztroglia is képesek különféle citokinek termelésére.

Kutatócsoportunk célja az volt, hogy igazoljuk az asztroglia sejtek szerepét a HE-ben fellépő neuroinflammációban, ezzel nyitva teret annak a feltételezésünknek, miszerint a mikroglia sejtek mellett az asztroglia sejtek is aktívan hozzájárulnak a HE patogeneziséhez.

Kísérleteink *in vitro* körülmények között, nagy tisztaságú, patkány primer asztroglia sejt kultúrákon történtek, melyeken egyes, a HE-ben bizonyítottan szerepet játszó kóros tényezők asztroglialis citokin termelésére kifejtett hatását vizsgáltuk. Ennek során a konfluens, mikroglia-mentes asztroglia sejt kultúrákat ammóniával, mangánnal, hidrogén-peroxiddal és bakteriális lipopoliszachariddal kezeltük, és a sejtek, említett faktorok hatására bekövetkező interleukin (IL)-6 valamint IL-1 $\beta$  termelését ELISA módszer segítségével mértük.

Az asztroglia sejt kultúrák mikroglia mentesítése, valamint az alkalmazott ágensek optimális dózisainak meghatározása immunfluoreszcenciás vizsgálatok alapján sikeresnek bizonyult, így a beállított *in vitro* modell alkalmas volt a további vizsgálatok elvégzéséhez. A kísérleteink eredményei szerint az asztroglia sejtek képesek fiziológiai körülmények között IL-6 és IL-1 $\beta$  termelésére, de ennek mértéke szignifikánsan nem változik az alkalmazott ágensek, úgymint ammónia, mangán, hidrogén-peroxid és bakteriális lipopoliszacharid hatására.

Vizsgálataink azt mutatták, hogy az asztroglia képesek IL-6 és IL-1 $\beta$  termelésére, de az általunk vizsgált, HE-ben releváns faktorok nincsenek szignifikáns hatással ennek mértékére. Ez alapján elmondható, hogy az asztroglia sejtek potenciális neuroinflammációs szereppel bírnak, de ennek HE-ben jelentkező szerepe további tisztázás tárgyát képezi. A statisztikai elemzéseink alapján nem zárható ki az asztroglia sejtek HE-beli neuroinflammációs szerepe, amely a kísérleti elrendezés további finomítását teszi szükségessé.

Köszönet illeti Dr. Környei Zsuzsannát (KOKI) segítőkész metodikai javaslatiért. Források: NKB-2017 69P00RH02, KK-UK 15907 (FEKUT 49P02AI03)

## AZ ARZÉN HATÁSA AZ ÖSZTROGÉN- ÉS PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOROK EXPRESSZIÓJÁRA FEJLŐDŐ KISAGYBAN

Jócsák Gergely<sup>1\*</sup>, Bartha Tibor<sup>1</sup>, Zsarnovszky Attila<sup>2,3</sup>

A fejlődésben lévő szervezet idegsejtjeinek migrációjában, differenciációjuk proliferációjuk és a szinaptogenezisük szabályozásában egyaránt fontos szerep jut a pajzsmirigyhormonoknak (PMHk) és az ösztrogénnek (E2). Az említett hormonok a megfelelő intracelluláris magreceptorokat aktiválják, ezzel indukálva specifikus és egyben a felsorolt folyamatok szempontjából releváns gének átíródását. Irodalmi adatok és saját kutatásaink alapján az E2 és PMHk komplex, még ismeretlen mechanizmusokon keresztül nemcsak saját, hanem egymás receptorainak expresszióját is szabályozzák. Korábbi eredményeink arra utalnak, hogy az endokrin diszruptor vegyületek (EDk) – mint a mindennapjaink során a környezetünkben előforduló arzén (As) – befolyást gyakorolhatnak a fent említett mechanizmusokra az E2 és/vagy a PMH receptoron kifejtett hatásukon keresztül.

Kutatásaink során megvizsgáltuk, hogy az As milyen hatást gyakorol az E2- és a PMH-receptorok expressziójára, és hogy e hatásokat hogyan módosítja az E2 és a PMHk hiánya vagy kombinált adagolása, valamint a glia jelenléte és hiánya.

Vizsgálatainkat gliát tartalmazó és gliamentes patkány primer kisagyi sejttenyészetben végeztük. A receptorexpressziós szinteket kvantitatív PCR és Western blot technikák alkalmazásával állapítottuk meg. Az eredményeket kezeletlen kontroll sejttenyészetekből mért eredményekhez viszonyítottuk.

Az As a citotoxikus hatása mellett receptorfüggő módon is képes a hormonok által beállított ösztrogén- és PMH receptor szinteket befolyásolni. A gliamentes és a gliát tartalmazó csoportból mért expressziós szintek között jelentős különbségeket tapasztaltunk.

Az eredmények alátámasztják az elméletünket, miszerint bizonyos exogén hormonhatású vegyületek – például az As – megváltoztathatják a központi idegrendszeri neuronok normális fejlődését a receptorszintek befolyásolásán keresztül, tekintve hogy az idegsejtek normális fejlődéséhez az EDk által modulált ösztrogének és pajzsmirigyhormonok megfelelő aránya is szükséges. Emellett megerősítést nyert az is, hogy a glia fontos mediátora a receptorexpressziót szabályzó hormonhatásoknak az As-kiváltotta hatások tekintetében is.

Köszönet illeti az ÁTE Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát részben az NKB 69P00RH02 sz. pályázat és az OTKA K-115613 sz. pályázat finanszírozta.

Állatorvostudományi Egyetem, Élettani és Biokémiai Tanszék<sup>1</sup>  
SzIE Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar,  
Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszék<sup>2</sup>  
Yale School of Medicine, Comparative Medicine<sup>3</sup>  
\*Kiss.David@univet.hu

Élettan és Biokémia

## A CIRKADIÁN RITMUS HATÁSA A HYPOTHALAMUS METABOLIKUS ASZIMMETRIÁJÁRA

Kiss Dávid Sándor<sup>1\*</sup>, Tóth István<sup>1</sup>, Frenyó V. László<sup>1</sup>, Zsarnovszky Attila<sup>2,3</sup>

Kutatócsoportunk eddigi eredményei alapján bebizonyosodott, hogy a homeosztatikus folyamatok központi irányításáért felelős hypothalamus két – bár anatómiailag azonos, tükröszimmetrikus – működésüket tekintve az egyes funkciók betöltésében eltérő mértékben részesedő féltekéből áll. Korábbi kísérleteink eredményéből világosnak tűnt, hogy az intakt hím patkányok esetében a bal oldali hypothalamus (feltehetően több más funkció mellett) elsősorban a táplálékfelvétel vezérlése tekintetében dominál. Az e feltevés igazolására tervezett programozott etetéses vizsgálatok bár e feltételezést igazolták, az eredményekből mégis úgy tűnt, hogy a hypothalamus lateralizált aktivitását az élelem adott időre várt megjelenése mellett más külső tényezők is befolyásolják.

A fenti ismeretek és szakirodalmi adatok alapján feltételezzük, hogy a hypothalamikus aszimmetria hím patkányokban nem pusztán a táplálékfelvétel szabályozásának függvényében változik, hanem azt például a cirkadián ritmus történései is jelentősen meghatározzák.

Kísérleteink során ivarérett, intakt hím Sprague Dawley patkányokat használtunk fel, célkitűzésünk értelmében a hypothalamus szóban forgó területeit mitokondriális légzésmérés segítségével vizsgáltuk. Az állatokat 12-12 órás sötét-világos ciklus szerint, *ad libitum* víz- és élelem-hozzáféréssel tartottuk. A hypothalamikus minták gyűjtése a villany(le/fel)kapcsolás pillanatában, azt megelőzően és azt követően 1 és 2 órával történt, így a napi ciklus összesen tíz időpontjában történt.

Mind a világos, mind a sötét ciklus kezdete szembetűnő változást okozott a lateralizált működésű hypothalamus mindkét féltekéjének mitokondriális aktivitásában. A sötétből-világosba való villanykapcsoláskor a mitokondriális aktivitás mindkét féltekében megnőtt, a féltekék közötti metabolikus különbség azonban lecsökkent. A világosból-sötétbe való villanykapcsoláskor az előbbivel éppen ellentétes változásokat tapasztaltunk.

Az eredményeink alapján a cirkadián ritmussal kapcsolatos vezérlőfunkciók betöltésében a hypothalamus két féltekéje – bár hasonlóan reagál – nem egyenrangú módon vesz részt. Azt, hogy e féloldaliság pontosan mely hypothalamikus alrégiókhöz, neuronpopulációkhoz köthető (pl.: suprachiasmaticus nucleus), további vizsgálatok tárgyát képezi.

Köszönet illeti az ÁTE Élettani és Biokémiai tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát a 11475-4/2016/FEKUT (15921-49P04AI03; KK-UK-2016) jelölésű pályázat finanszírozta.

## AZ INZULIN ÉS A GLUKAGON JELPÁLYA KÜLÖNBÖZŐ TAKARMÁNYOZÁSI FAKTOROK SEGÍTSÉGÉVEL TÖRTÉNŐ SZABÁLYOZÁSA BROILERC SIRKÉBEN

Kulcsár Anna<sup>1\*</sup>, Sebők Csilla<sup>1</sup>, Mátis Gábor<sup>1</sup>, Talapka Petra<sup>1</sup>, Hatala Patrícia<sup>1</sup>, Petrilla Janka<sup>1</sup>, Fébel Hedvig<sup>2</sup>, Neogrády Zsuzsanna<sup>1</sup>

A haszonállat-, s különösképp a brojlercsirke-tartás kiemelkedő jelentőséggel bír az élelmiszertermelés területén. A különböző takarmányozási faktorok testösszetételre gyakorolt hatásainak biokémiai háttere nem hagyható figyelmen kívül, hiszen a sejten belüli folyamatok ismeretével felderíthetjük az anyagcserében bekövetkező változásokat, és pontosabb képet kaphatunk az állatok egészségére és jóllétére kifejtett hatásokról.

Jelen vizsgálatban a vastagbélben bakteriális fermentációval termelődött, vagy takarmánykiegészítőként adott butirátnak és a takarmányok nyersfehérje-tartalmának hatását vizsgáltuk növekedésben lévő brojlercsirkék inzulin és glukagon jelpályájára transzkripciós (mRNS) szinten. E hormonok közvetlen vagy közvetett hatást gyakorolhatnak az állatok gyarapodására, különösen az intenzív növekedés időszakában.

Kísérletünkben Ross 308 fajtájú brojlercsirkéket három takarmányozási faktor kombinációit használva nyolc kísérleti csoportba soroltunk: négy csoport a brojler takarmányozásban megszokott kukorica alapú, míg négy csoport búza alapú takarmányt kapott, ez utóbbi magas NSP- (nem keményítő típusú poliszacharid) tartalma a vastagbélben zajló bakteriális fermentáció során elősegíti a biológiailag aktív illózsírsavak, különösképpen a butirát termelődését. A négy csoporton belül elkülönítettünk 1,5 g/takarmány kg Na-butiráttal kiegészített és nem-kiegészített illetve normál és 15%-kal csökkentett nyersfehérje-tartalmú (limitáló aminosavakkal kiegészített) takarmánnyal etetett csoportokat is. Három hetes korban csoportonként tíz állatból májmintát vettünk, melyből az inzulin jelpályája tagjai közül az mTOR (mammalian target of rapamycin), valamint a glukagon receptor kifejeződését vizsgáltuk mRNS szinten qRT-PCR módszerrel.

A PCR vizsgálatok eredményei alapján a búza alapú takarmányozási csoportokban az mTOR génexpressziója nem szignifikánsan ( $P = 0,058$ ), a glukagon receptor mennyisége szignifikánsan ( $P = 0,017$ ) növekedett a kukorica alapú takarmányozási csoportokhoz képest. A csökkentett nyersfehérje-tartalmú, limitáló aminosavakkal kiegészített takarmány etetése szignifikánsan növelte mind az mTOR ( $P < 0,001$ ), mind a glukagon receptor ( $P < 0,001$ ) mRNS szintjét.

Ahogy eredményeink is mutatják, a különböző takarmányozási faktorok transzkripciós szinten képesek befolyásolni a brojlercsirkék anyagcsere-folyamatait. A vizsgált faktorok közül a takarmány nyersfehérje-tartalmának mutatkozott a legjelentősebb hatása, melynek mélyebb megértése különös jelentőséggel bírhat nem csak gazdasági, de környezetvédelmi szempontokból is.

Kutatásunkat az OTKA-NN 114033 pályázat támogatásával végeztük.

## A T-2 TOXIN SEJTKÁROSÍTÓ HATÁSAINAK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA CSIRKE PRIMER BÉLHÁMSEJT- ÉS MÁJSEJT TENYÉSZETEN

Mátis Gábor\*, Kulcsár Anna, Hatala Patrícia, Tóth Adrienn, Mackei Máté, Neogrády Zsuzsanna

A takarmányok mikotoxin-szennyezettsége egyre növekvő problémát jelent a baromfitartásban, hiszen jelentősen károsíthatja az állatok egészségét, és emiatt ronthatja a termelékenységet is. Kutatómunkánk során a baromfi-takarmányokban széles körben előforduló és komoly károkat okozó T-2 toxin bélhámsejtekre és májsejtekre gyakorolt hatásait kívántuk vizsgálni *in vitro* sejtmodelleken.

A kísérletekhez a sejteket 20-24 napos brojlercsirkékből izoláltuk. A bélhámsejtek izolálására két modellt dolgoztunk ki, melyekhez szöveti explantokból kifejlődő vagy kollagenáz-diszpáz enzimessal emésztéssel nyert, ileum eredetű hámsejt-tenyészeteket alakítottunk ki. A konfluenssé vált sejttenyészeteket concanavalin A lektin kötésének és a citokeratinok expressziójának immuncitokémiai kimutatásával jellemeztük. A májból hepatocytákat és Kupffer-sejteket izoláltunk több lépcsős perfúziót követő differenciáló centrifugálás segítségével, majd hepatocytá mono-kultúrákat és hepatocytá – Kupffer-sejt ko-kultúrákat (6:1 sejtarány) alakítottunk ki. A ko-kultúrák jellemzését fluoreszcens festékekkel jelzett latex-gyöngyök fagocitózisának vizsgálatával végeztük el. A konfluenssé vált sejttenyészeteket 10, 100 vagy 1000 nmol/l koncentrációjú T-2 toxin oldattal kezeltük 8, ill. 24 órán keresztül. A sejtek életképességét CCK-8, a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> termelődését pedig Amplex Red módszerrel vizsgáltuk.

A 100 és 1000 nmol/l-es toxinkezelés hatására a kollagenáz-diszpázos emésztéssel nyert bélhámsejt-tenyészetek életképessége szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) csökkent, a szöveti explantokból kialakított sejtcsoportok H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-termelése pedig szignifikánsan ( $P < 0,001$ ) fokozódott. A májsejtek esetében 8 órás kezelés után a toxin minden koncentrációja szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) csökkentette a ko-kultúrák életképességét, a 24 órás kezelést követően és a mono-kultúrákon azonban nem volt mérhető szignifikáns változás. A 24 órás T-2 toxinkezelés szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) fokozta a sejtek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-termelését 100 nmol/l koncentráció esetén a ko-kultúrán, míg 1000 nmol/l esetén a ko-kultúrán és a hepatocytá mono-kultúrán egyaránt.

Mivel a bélhámsejtek életképessége T-2 toxin hatására csökkent, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-termelése pedig nőtt, a toxin sejtkárosító hatása valószínűleg összefüggésben áll a kialakult oxidatív stresszel. A májsejteknél életképesség-csökkenést csak 8 órás kezelés esetén figyeltünk meg, amit nem kísért a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-termelés növekedése. A 24 órás toxinhatás azonban jelentősen fokozta a sejtek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-termelését, ami nem járt az életképesség szignifikáns csökkenésével. A máj esetében tehát nem figyelhető meg közvetlen kapcsolat az oxidatív stressz és az életképesség csökkenése között. Vizsgálataink alapján valószínűsíthető, hogy csirkében a bélhámsejtek összességében valamivel érzékenyebbek bizonyulnak a T-2 toxinnal szemben, mint a májsejtek, hiszen ez utóbbiak életképességét a tartós toxinkezelés a fokozott oxidatív stressz ellenére sem rontotta számottevő mértékben.

A kutatómunkát az OTKA-NN 114033. pályázat és a Nemzeti Erőforrás Minisztérium által biztosított 2017. évi kutatókari pályázat (új kutatási téma indítása) támogatásával végeztük.

## HALLGATÓI ELÉGEDETTSÉG MÉRÉSE AZ ÉLETTANI ELŐADÁSOKKAL KAPCSOLATBAN

Tóth István<sup>1\*</sup>, Jócsák Gergely<sup>1</sup>, Kiss Dávid Sándor<sup>1</sup>, Bárány Zoltán Balázs<sup>1</sup>, Frenyó V László<sup>1</sup>, Mándoki Míra<sup>2</sup>, Bartha Tibor<sup>1</sup>

Az egyetemi oktatás során a megfelelő szintű tudásátadás érdekében kiemelten fontos a hallgatók érdeklődésének és motivációjának fenntartása. Ez sokszor nem könnyű feladat, a figyelmet nagyon gyorsan el lehet veszteni egy-egy túl nehéz vagy éppen túl könnyű fejezet ismertetése során. Az oktató saját képességei és ötletei alapján próbálja megcélozni a hallgatóságot, de sokszor csak menet közben derül ki, hogy a szemben ülők milyen alaptudással rendelkeznek. Ezért van kiemelkedő szerepe az előadás során és azokon túl érkező hallgatói visszajelzéseknek (feedback). Az építő jellegű kritika és annak megfelelő kezelése kiemelten fontos, hiszen a másik fél nem mindig ugyanúgy gondolkozik, apró tanácsokkal lehet segíteni a fejlődést (természetesen, ha másik fél nyitott rá).

A hallgatói vélemények gyűjtésével elsődleges célunk az élettani oktatás és a hatékony tudásátadás fejlesztése. Emellett szeretnénk volna felhívni a hallgatók figyelmét, hogy az oktatás kétoldalú folyamat, azaz a hatékony tudásátadás az előadó felkészültsége és odaadása mellett az ő aktív részvételükön is múlik. A hallgatói aktivitás az előadás keretén belül és azon túl is egyaránt kiemelkedő fontosságú.

A félév során a nagyobb témakörök végén közzétettünk egy online kérdőívet a hallgatók körében, amelyben anonim módon elmondhatták a véleményüket az előadóról, az előadásról és a diasorról egyaránt. Az előző kérdéseken felül lehetőségük nyílt véleményt formálni a zárthelyi dolgozatokról, és egyéb jobbitó szándékú megjegyzést hozzáfűzni az élettan oktatási rendszeréhez. A kérdőív összeállításánál figyelembe vettük az ún. „szendvics módszert”, miszerint jó visszajelzés megfogalmazása során minden esetben ki kell térni a pozitívumokra: mi az, amit az egyén jól csinál, mit kell megtartani esetleg tovább fejleszteni a későbbiekben.

A félév során 4 kérdőívet töltöttek ki a hallgatók. Az eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a mai generáció szereti az izgalmas, rövid, de lényegre törő multimédiás oktatási eszközöket. Szeretik az interaktív megközelítést, de fontos, hogy az előadó ne személyeskedjen. Fontos lehet megemlíteni, hogy az előadásokon való részvételt az előadó személyén és az előadás minőségén túl egyéb faktorok is befolyásolják például egészségügyi problémák vagy egy közeli zárthelyi dolgozat más tantárgyból.

A visszajelzés elengedhetetlen a magas szintű oktatás eléréséhez. Az élet minden pillanatában találkozunk visszajelzéssel, csak sok esetben nem tekintünk rá a személyes fejlődéshez felhasználható „feedback”-ként. Minden visszajelzés kétirányú, azaz a tanárok is információt szolgáltatnak a diákok felé, akár akár nem szándékoltan is. Az oktatótól származó visszajelzéseken felül azonban szükség van arra is, hogy a diákok egymást is értékeljék és segítsék. Ezen tudat alatti vagy gyerek cipőben járó folyamatokat erősítve hatékonyabb tudásátadás érhető el nem csak élettanból, hanem a többi egyetemi tantárgyból egyaránt.

Köszönetnyilvánítás: Köszönjük a hallgatóknak, hogy kitöltötték a teszteket, és véleményükkel hozzájárultak az élettani tudás lehető leghatékonyabb átadásához.

## PK/PD ANALÍZISHEZ SZÜKSÉGES MINTAVÉTELI MÓDSZEREK BAROMFI FAJOK LÉGUTAIBÓL

Somogyi Zoltán<sup>1\*</sup>, Pazár Péter<sup>2</sup>, Jerzsele Ákos<sup>1</sup>

A farmakokinetikai/farmakodinámiai (PK/PD) analízis az állategészségügyben, hazai viszonylatban hiányos háttérrel rendelkezik. Célja az antibakteriális szerek optimális dózisének és azok adagolási intervallumának meghatározása, ezáltal a kezelések hatékonyságnak és az élelmiszerbiztonságnak elősegítése. Főbb paraméterei az AUC (koncentráció-idő görbe alatti terület), a  $C_{max}$  (maximális plazmakoncentráció) és a baktériumtörzsek MIC-értékei (minimális gátló koncentrációk). A modell a gyógyszer-koncentrációk és a klinikai, illetve mikrobiológia válasz közötti kapcsolatot építi fel.

A baromfifajok körében leggyakrabban alkalmazott gyógyszerek az antibiotikumok. A kezelések sikerességének feltétele, hogy az adott szervrendszerben a hatóanyag megfelelő koncentrációban megjelenjen. A PK/PD analízis elengedhetetlen a pontos dózis és adagolási intervallum kiválasztásához. Így csökkenthetjük az antibiotikum-rezisztens baktériumtörzsek kiszélektálódását, ezen keresztül az élelmiszerrel történő, rezisztens baktériumok átvitelének esélyét a fogyasztókban. Kutatásunk célja baromfifajok légutaiból történő mintavételi módszerek kidolgozása, melyekből a fertőzés helyén fennálló farmakokinetikai paramétereket határozzuk meg.

A korábban leírt módszerek esetében minden mintavételi időpontban egy állaton euthanasiát kell végrehajtani, majd a tüdő megfelelő módszerrel történő eltávolítását követően annak légutait a légcsőn bejuttatott fiziológiás sóoldattal kell átmosni. Az utóbbi folyadékot az *ostium abdominale*-n keresztül kell visszanyerni. Ebből a mintából mérhető a tüdőt bélelő hámsejtek felületén található folyadékréteg (pulmonary epithelial lining fluid – PELF) gyógyszer-koncentrációja. Mi a szarvasmarhában és sertésben alkalmazott broncho-alveoláris lavage-hoz hasonló mintavételi módszer kifejlesztésén dolgozunk, hogy így egy kísérleti állatból több időpontban lehessen mintát venni, ezzel csökkentve a kísérleti állatok számát és pontosítani a farmakokinetikai adatokat. A beavatkozást jobb oldalfektetésben végezzük, ennek során a baloldali hasi légzsákba hatolunk be, és az itt található *ostium abdominale*-n keresztül érjük el a tüdőt, ahol kettő lehetőség van a mintavételre. Az egyikben a klasszikus broncho-alveoláris lavage-hoz hasonlóan 2 ml folyadékot juttatunk a tüdőbe és azt nyerjük vissza, míg a másik módszerben az endoszkóp munkacsatornáján egy abszorbens szűrőpapír (Glass Microfiber Filters 21 mm) darabot juttatunk le, amelyet Foster és munkatársai leírása alapján 15 mp-re kell a légutak falához nyomni. Majd ezt követően kivonjuk a szűrőpapírból a hatóanyagokat és mérjük azok mennyiségét a PELF-ben.

Az abszorbens szűrőpapír segítségével történő mintavételi módszer megvalósítható, de finomítást igényel a módszer, hogy a madaraktól több időpontban teljesen steril körülmények között tudjunk mintát venni. A madarak tüdejének anatómiai adottságai miatt a broncho-alveoláris lavage nem megvalósítható, mivel a folyadékot nem tudjuk visszanyerni, így ez a módszer elvetésre került.

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

## MATRIPTÁZ MODULÁTOROK VIZSGÁLATA *IN VITRO* PRIMER MÁJSEJTEKEN

Barna Réka Fanni\*, Pomothy Judit Mercédesz, Rokonál Patrik, Szombath Gergely, Pásztiné Gere Erzsébet

A matriptáz-2 (MT-2) a kettős típusú transzmembrán szerin proteáz családba tartozó enzim, amely nagy mennyiségben található meg a májsejtek membránjához kötve. A MT-2 a hepcidin szint közvetett modulálásával részt vesz a vasanyagcsere szabályozásában. A matriptáz enzim gátlásával feltételezhetően megnő a hepcidin szint, amely a ferroportinhoz kapcsolódva képes csökkenteni a szervezet vasszintjét.

Kutatásunk során a MT-2 vasanyagcserében betöltött szerepét sertés és patkány májsejt monokultúrán vizsgáltuk egyrészt nem szelektív matriptáz modulátorokkal, mint a 4-(2-aminoetil)-benzoeszulfonil-fluorid (AEBSF) és a szfingozin-1-foszfát (S1P), másrészt matriptáz enzimre kifejlesztett 3-amidinofenilalanin alapvázú matriptáz inhibitorokkal (MI441, 460, 461).

A matriptáz modulátorok sejtéletképességet befolyásoló hatását MTS próbával határoztuk meg. Az extracelluláris hidrogén-peroxid szintet Amplex Red reagenssel mértük. A modulátorok hatására változó hepcidin szintet a sejtek felülszójából sertés és patkány hepcidin szendvics ELISA módszerrel detektáltuk.

Kísérleti eredményeink szerint a matriptáz modulátorok nem befolyásolták a májsejtek életképességet és nem indukáltak extracelluláris hidrogén-peroxid növekedést. Az 50  $\mu$ M koncentrációban alkalmazott szelektív inhibitorok esetén 24 órás kezelés hatására a hepcidin szint szignifikánsan magasabb volt a kontrollhoz képest primer sertés májsejtkultúrán. Az 50  $\mu$ M AEBSF kezelés hatására a hepcidin termelés nem mutatott emelkedést patkány májsejtek esetén.

Az eredmények alapján elmondható, hogy az általunk tesztelt matriptáz modulátorok a kísérleteinkben használt koncentrációkban biztonságosak. A szelektív matriptáz inhibitorok (MI-441, 460, 461) sertés primer májsejtkultúrán közvetett módon, a hepcidin szint növelésén keresztül a vasanyagcsere hatást gyakorolhatnak. Az MT-1-re kifejlesztett inhibitorok és a nem szelektív matriptáz modulátorok hepcidin szintre gyakorolt hatásának vizsgálatával, a különböző sejt kultúrák segítségével lehetőség nyílt a gyógyszerjelölt matriptáz inhibitorok alkalmazhatóságának meghatározására *in vitro*. Az eredmények hozzájárulhatnak egyes vasanyagcsere zavarok gyógykezeléséhez.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (EFOP-3.6.1 -16-2016-00024 és EFOP-3.6.2-16-201700012). A kutatási témát a 115685 és a 124522 számú OTKA pályázat támogatta.



## KVERCETIN, 3-O-METILKVERCETIN ÉS RAMNAZIN INTRA- ÉS EXTRACELLULÁRIS REDOX ÁLLAPOTOKRA GYAKOROLT HATÁSA IPEC-J2 SEJTEKEN

Karancsi Zita\*, Farkas Orsolya, Gálfi Péter

A kvercetin a flavonoidok közé tartozó természetes vegyület, mely biztonságosnak vélt, hiszen számos gyümölcsben, zöldségben, borban megjelenik. Manapság egyre gyakrabban kerülnek felhasználásra a különböző flavonoid tartalmú takarmány vagy táplálék kiegészítők is, mind az állatgyógyászatban, mind az emberek körében. Gyakori alkotóeleme ezeknek a kiegészítőknek a kvercetin is, melynek számos pozitív tulajdonságát már leírták, mint antioxidáns, gyulladáscsökkentő, vagy antikarcinogén hatás. A kvercetin különböző mértékben metoxilált formáinak hatása ellenben kevésbé ismert. A származékok kevésbé vízdékonyak, emiatt jobb felszívódással rendelkeznek a szervezetben. A kevesebb hidroxilcsoport miatt antioxidáns hatásuk csökkentnek gondolt, de képesek lehetnek más jelátviteli utakon is módosítani a redox állapotokat. A vizsgálatokhoz használt IPEC-J2 sejtek nagy előnye, hogy nem daganatos eredetű sejtvonal, így jobban tükrözi az élettani viszonyokat, szemben a gyakran alkalmazott tumoros sejtvonalakkal.

Munkánk céljával tűztük ki, hogy összehasonlítsuk az egyes kvercetin származékok antioxidáns hatását, különböző koncentrációkban, többféle vizsgálati módszer segítségével.

A kísérletek során előzetesen Neutral Red próbával megvizsgáltuk a sejtek életképességét a különböző kvercetin származékok 25 és 50  $\mu\text{M}$ -os koncentrációja mellett. A vizsgálatokhoz a sejteket 24 lyukú sejtenyésző edényekben tartottuk, míg elérték az egy sejtsornyi réteget. Oxidatív stressz kiváltásához  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,5 mM-os és 0,1 mM-os, valamint LPS 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ -es oldatát használtuk. Az alkalmazott védő vegyületek, kvercetin, 3-o-metilkvercetin és ramnazin 25 és 50  $\mu\text{M}$ -os koncentrációival dolgoztunk. Az intracelluláris redox állapotok felméréséhez dikloro-dihidro-fluorescein-diacetát (DCFH-DA) próbát, míg az extracelluláris hidrogén-peroxid mennyiségét Amplex Red reagenssel vizsgáltuk. Továbbá össze szeretnénk hasonlítani az eredményeket luminescens mérési módszerrel is.

Az intracelluláris reaktív oxigén anyagok (ROS) mennyisége szignifikánsan megemelkedett minden felhasznált károsító anyag hatására, melyet a kvercetin származékok különböző mértékben csökkentettek. Míg kvercetin esetén csak a magasabb koncentráció volt képes eredeti állapotot előidézni, addig a ramnazin 25 és 50  $\mu\text{M}$ -os koncentrációja is gátolta a ROS képződését. Ez a 3-o-metilkvercetin esetében ellenkező hatást eredményezett, itt emelkedett volt az intracelluláris ROS mennyiség, az önálló kezelés során is. Extracellulárisan a károsító anyagok közül egyedül a  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,5 mM-os koncentrációja volt képes szignifikáns emelkedést előidézni, azonban a kvercetin és ramnazin önmagukban is emelték az extracelluláris hidrogén-peroxid szintet. A 3-o-metilkvercetin jelen esetben, mind kombinációs kezelésekre hatására, mind önmagában alkalmazva nem emelte meg az extracelluláris hidrogén-peroxid mennyiségét.

A kvercetin védő hatását nagymértékben befolyásolja a molekula szerkezete, a metoxi csoportok száma. A kísérletünk során arra a következtetésre jutottunk, hogy a 3-o-metil kvercetin mind önmagában, mind kombinációs kezelésekre hatására képes volt az eredeti extracelluláris redox viszonyokat fenntartani, míg intracellulárisan a ramnazin és a kvercetin idézte elő ugyanezt.

A kutatás ÁTE NKB pályázat, az Európai Unió, az ESZA társfinanszírozásával (EFOP-3.6.2-16-2017-00012), valamint az ÁTE Doktori Iskola támogatásával készült.

## LACTOBACILLUS PLANTARUM 2142 HATÁSA BÉLHÁMSEJTEK MORFOLÓGIÁJÁRA FÉNY- ÉS ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATOKBAN

Palkovicsné Pézsa Nikolett<sup>1\*</sup>, Karancsi Zita<sup>1</sup>, Farkas Orsolya<sup>1</sup>, Rácz Bence<sup>2</sup>

Manapság egyre jobban előtérbe kerülnek a különféle, természetes eredetű takarmány kiegészítők, mint pl. a probiotikus hatású baktériumokat tartalmazó készítmények. Megfelelő mennyiségben adagolva a probiotikumok jótékony hatást fejtenek ki a gazdaszervezetre. A probiotikumok és a bélhámsejtek kölcsönhatása modulálja a gazdaszervezet immunműködését, amely azonban csak részben felelős a probiotikumnak tulajdonított jótékony hatásért. Több tanulmány számol be arról, hogy az egyes probiotikumok erősíteni képesek a bél barrier funkcióját, pl. defenzinek vagy tejsav termelése által. A bél barrier funkciójának kialakításában fontos szerepe van a sejtkapcsoló struktúrák egy típusának, az ún. tight junction (TJ) kapcsolatoknak, melyek egyes elemeinek megváltozása fény- és elektronmikroszkópos technikával vizsgálható. Kísérleteink célja egyrészt az *in vitro* tenyésztett bélhámsejteken bekövetkező változások elektronmikroszkóp és fénymikroszkóp alatt történő vizsgálatához szükséges paraméterek beállítása, másrészt a megfelelő, biztonságosan alkalmazható probiotikum koncentráció meghatározása volt.

A *Lactobacillus plantarum* 2142 probiotikus baktériumot (*Lp* 2142) MRS táplevesben szaporítottuk, 37°C-on. A baktérium szuszpenziót centrifugáltuk (3000 g, 5°C, 10 min), majd a felülúszót 0.22 µm pórusméretű steril szűrőn szűrtük. Az újszülött sertés jejunumból származó IPEC-J2 sejteket DMEM/ F-12 (1:1) tápfolyadékban tenyésztettük, melyhez 5% FBS-t adtunk, és 5% CO<sub>2</sub> tartalmú atmoszférában 37°C-on inkubáltuk. A sejteket 96-os plate-re helyeztük, és pH beállítás után különböző koncentrációjú (3%, 6%, 12%) *Lp* 2142 felülúszóval különböző ideig (1h, 2h, 4h, 24h) kezeltük. Az életképesség vizsgálatához Neutral Red próbát alkalmaztunk, ahol a felvett festékmennyiség arányos az életben maradt sejtek számával. A festék oldása után spektrofotometriás módszerrel (540 nm) határoztuk meg az élő sejtek mennyiségét. Az elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz az IPEC-J2 sejteket 6 lyukú sejtenyésző edényen tenyésztettük, a lyukakat előzetesen autoklávozott Aclar filmmel vontuk be. A fixálását követően 1%-os OsO<sub>4</sub>-el kontrasztoltuk, majd Durcupan műgyantába ágyaztuk a sejteket. A sztereo-mikroszkóp alatt kiválasztott területet kivágva félvékony metszeteket (~0.5 mikron) készítettünk. Megállapítottuk, hogy az IPEC-J2 sejtek megfelelően növekszenek az Aclar filmen. Sikeresen kidolgoztuk az elektronmikroszkópos beágyazásához szükséges technikákat és megállapításra került, hogy ily módon a sejteken megfelelően vizsgálhatóak morfológiai szempontból az esetleges probiotikum okozta elváltozások. Az IPEC-J2 sejtek felszíni struktúráit bemutató elektronmikroszkópos felvételeken jól látható a mikrovillusok keresztmetszeti képe, ill. sejtkapcsoló struktúra. Mindkét képlet kvantitatív vizsgálatára lehetőség lesz probiotikumok jelenlétében, ill. kontroll sejt kultúrákon. Az alkalmazható kezelési idők és koncentrációk meghatározása jelenleg is zajlik. A TJ fehérjék közül a közeljövőben tervezzük a claudin 4 és az occludin vizsgálatát immuncitokémiai módszerrel.

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, projekt címe: Funkcionális, egészséges és biztonságos élelmiszer termékpálya modell kidolgozása a szántóföldtől az asztalig elv alapján, tematikus kutatási hálózatban, valamint az ÁTE NKB pályázat, és az ÁTE Doktori Iskola támogatásával készült.

## A ZEARELENON ÉS A LACTOBACILLUS PLANTARUM 2142 EGYÜTTES HATÁSA IPEC-J2 SEJTVONALON

Pomothy Judit Mercedesz\*, Barna Réka Fanni, Kiss Zsófia, Pásztiné Gere Erzsébet

A zearalenon (ZEA) egy a *Fusarium* nemzetségbe tartozó gombák által termelt mikotoxinok közül, amelyek még a szántóföldön fertőzik meg a gabonanövényeket. A sertés a toxinnal fertőzött takarmányra érzékenyen reagáló fajok közé tartozik. A ZEA hővel szembeni ellenállása és a mikotoxin gyakori előfordulása indokoltá teszi, hogy keressünk olyan védő hatású anyagokat, probiotikumokat, amelyek képesek megakadályozni vagy csökkenteni a gyulladást okozó folyamatokat, mérsékelni az esetlegesen kialakult oxidatív stresszt. A nem daganatos eredetű sertés bélhámsejt, az IPEC-J2 sejtvonal alkalmas modellrendszernek bizonyult a gyulladást okozó reakciók vizsgálatára.

Kísérleti munkánk célja annak a meghatározása volt, hogy az egyidejűleg adott mikotoxin, a ZEA és a *Lactobacillus plantarum* 2142 (Lp 2142) probiotikus felülűszó milyen hatást gyakorol a sejtréteg integritására, reaktív oxigénradikálok képződésére és az egyik gyulladást okozó citokin, az interleukin-6 (IL-6) szintjének változására.

Az IPEC-J2 sejteket membrán inzertet tartalmazó tenyésztőedényre ültettük ki, amely lehetővé tette a sejteken való transzsepitheliális ellenállás (TER) mérését. Kísérletünkben egyszerre adagoltuk apikálisan a ZEA-t és a Lp 2142-sejtmentes felülűszóját. A kezelőoldatban a ZEA és Lp 2142 koncentrációját az MTS sejtleletképeség teszt alapján határoztuk meg. Az anyagokat 1 óráig alkalmaztuk a sejtrétegen. A bélhámsejteken naponta mértünk TER-t, majd a kezelést követő 24 óra elteltével minden nap vettünk mintát az extracelluláris H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> szint (Amplex Red módszer) illetve a gyulladást okozó citokin (IL-6 szedvics ELISA technika) mennyiségi méréséhez.

Az MTS teszt eredményei alapján 35 µM ZEA és 1 % Lp 2142 koncentrációt választottunk a vizsgálathoz, így a kezelés biztonságosan alkalmazható a sejtek életképességének megtartása mellett. A TER értékekben nem találtunk szignifikáns eltérést a kezelt mintákban a kontroll értékekhez viszonyítva. A ZEA minden esetben szignifikánsan növelte, míg a probiotikus sejtmentes felülűszó szignifikánsan csökkentette az extracelluláris H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> szintet a kontrollhoz képest. Az IL-6 termelésben nem volt szignifikáns különbség a kezelést követően.

Az eredmények alapján az IPEC-J2 sejtek IL-6 termelése nem növekedett 35 µM ZEA-val történő 1 óráig tartó kezelést követően, továbbá a TER mérések alapján nem módosult a sejtréteg integritása sem. A ZEA által indukált oxidatív stresszt azonban hatékonyan csökkentették a probiotikus felülűszóban jelen lévő bioaktív vegyületek.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg: a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.1-16-2016-00024 és az EFOP-3.6.2-16-2017-00012. A kutatási témát a 115685 és a 124522 számú OTKA pályázat támogatta.

## TAKARMÁNYADALÉK –GYÓGYSZER KÖLCSÖNHATÁS *EX VIVO* VIZSGÁLATA HÁZINYÚL EREDETŰ CITOKRÓM P450 ENZIMRENDSZEREN

Palócz Orsolya<sup>1\*</sup>, Csikó György

A citokróm P450 enzimek olyan hem-tiolát tartalmú fehérjék, melyek a gyógyszerek biotranszformációjában központi szerepet töltenek be. Keveset tudunk arról, hogy az állattartás során rendszeresen alkalmazott, kereskedelmi forgalomban elérhető, az állatállományok növekedése és egészségmegőrzése szempontjából jótékony hatású takarmány-adalékanyagok befolyásolják-e ezen enzimek szintjét.

Prebiotikus takarmány-adalékanyagok, valamint antimikrobiális hatóanyagok kölcsönhatásának vizsgálata házinyúl citokróm P450 (CYP) enzimrendszerén keresztül. A gyógyszer-metabolizmusban központi szerepet játszó; CYP1A, CYP2C és CYP3A alcsalád izoenzimjeinek aktivitásának meghatározása házinyúlból származó hepatikus mikroszóma frakcióból.

Új-Zélandi fehér nyúlból származó májszövetből kétlépéses differenciál ultracentrifugálási eljárással mikroszóma frakciót nyertünk. A mikroszóma mintákat *ex vivo*, benzofenantridin alkaloid tartalmú itatóvízben alkalmazható takarmány-kiegészítővel, valamint ismertén CYP enzim gátló tulajdonságú antimikrobiális hatóanyagokkal, külön-külön, valamint egyidejűleg kezeltük. A CYP1A, CYP2C és CYP3A alcsalád izoenzimjeinek aktivitását lumineszcens szubsztrátok alkalmazásával a luminometria módszerével határoztuk meg.

A benzofenantridin alkaloid tartalmú szer alapvetően nem változtatta meg a vizsgált citokróm enzimek (CYP450 1A, 2C és 3A) aktivitását. Az antibakteriális gyógyszerhatóanyagok jelentős mértékben gátolták a CYP3A6 enzim aktivitását, azonban a CYP1A, valamint CYP2C enzimek aktivitását csak nagyobb koncentrációban csökkentették.

Nem tapasztaltunk interakciót a vizsgált citokróm enzimeken az itatóvíz adalékanyag és az alkalmazott antibiotikumok között az *in vitro* alkalmazás során. Az előzetes vizsgálatok alapján, a benzofenantridin alkaloid tartalmú készítmény gyógyszerterápia mellett is biztonságosan alkalmazható házinyúlból.

A kutatás anyagi támogatását a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB) 2017. évi, 69P00RH2 témaszámú pályázatának köszönjük.

## HÁZIÁLLATOKBÓL IZOLÁLT *STAPHYLOCOCCUS PSEUDOINTERMEDIUS* TÖRZSEK BIOFILMKÉPZÉSÉNEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA CONGO RED AGARON ÉS MTP TESZTTEL KRISTÁLYIBOLYA FESTÉSSEL

Veres Adrienn Mercedesz\*, Jerzsele Ákos, Orbán Vivien, Juhász Orsolya, Gálfi Péter

Az antibiotikum rezisztencia egyik elterjedt oka a baktériumok biofilm képzésére való hajlama. Ez a virulencia faktor lehetővé teszi a mikroorganizmusok számára az élő és élettelen felületen való megtapadást és extracelluláris mátrix termelését. A szabadon élő planktonikus baktériumok eltérő élettani sajátosságokat mutatnak a mátrixba ágyazott társaikhoz képest, amelyek ezáltal nagyobb ellenállóképességgel rendelkeznek a kedvezőtlen környezeti hatásokkal, így az antibiotikumokkal szemben is. Az állatorvosi területen is nagy terápiás nehézségeket okozó biofilmképződés elleni hatékony fellépés feltétele a biofilmképződés korai kimutatásának lehetősége.

Kutatásunk során a kutya normál bőrflóra alkotó, de egyben perzisztens bőr- és fülgyulladást okozó *Staphylococcus pseudointermedius* törzsek biofilmképző hajlamát vizsgáltuk. Összefüggést kerestünk a képződő biofilm tömege (kristályibolya festés) illetve a törzsek által kongóvörös agaron képzett telepmorfológia között. Ezek elemzésével pontosabb képet kaphatunk a biofilmek kimutathatóságáról, fejlődésük dinamikájáról.

Vizsgálatunk során kutyák külső hallójárat gyulladásából hazánkban izolált és azonosított, összesen 79 különböző *S. pseudointermedius* törzs biofilmtermelését figyeltük meg és osztályoztuk. A 80 törzset a kívánt baktérium-koncentráció beállítása után MtP teszt segítségével 96 lyukú polisztirol tenyésztőedényen négy párhuzamos lyukban 37°C-on történő Müller-Hinton levesben való 24 órán át tartó inkubációt követően vizsgáltuk a baktériumkoncentráció beállítását követően. A tenyésztőedény falán adott inkubációs idő alatt képződött biofilm tömegének kimutatására 0,1%-os kristályibolya oldatot használtunk, majd a megkötött festéket etanol:acetón 3:1 arányú keverékével vontuk ki. Az így kapott oldat, a képződött biofilm mennyiségével korreláló színintenzitását 595 nm-en spektrofotometriásan mértük. Ezzel párhuzamosan vizsgáltuk a törzsek telepmorfológiáját kongó vörös agaron, CRA teszt segítségével 24 órás 37°C-on történő inkubációt követően.

Eredményeink alapján elmondhatjuk a fent említett törzsekre az adott eljárások használatával, hogy a széles körben alkalmazott Mtp teszt nem helyettesíthető a CRA teszttel a biofilmképzés kimutatására annak alacsony specificitása (83%) és alacsony negatív prediktív értéke miatt (NPV; 5,8%). A kapott eredményeinket a rendelkezésre álló szakirodalmi adatokkal összehangban állnak, így további baktériumtörzsek és kimutatási eljárások párhuzamos vizsgálatát is szükségessé teszi.

Munkám lehetővé tételéért köszönettel tartozom az Állatorvostudományi Egyetem Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB) anyagi támogatásáért.