

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK
(2021. JANUÁR 27.)

ÉLETTAN ÉS BIOKÉMIA
KÓRTAN
GYÓGYSZERTAN ÉS TOXIKOLÓGIA
MORFOLÓGIA

2020. évi 47. füzet

ELŐSZÓ

Kedves Kolleganók és Kollegák!

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2021. január 27-én, online tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 47. 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.atk.hu/mta_beszamolok) megtalálható.

Tekintettel az érvényben lévő járványügyi korlátozásokra, a lebonyolítás on-line formában történik. Az előadások időtartama legfeljebb 10 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.

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

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

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

Kívánunk mindenkinek eredményes előadást.

Gálfi Péter
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter
Rektor, TDK elnök

Bartha Tibor
ÁODI elnöke

Magyar Tibor
MTA ÁTB titkára

MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE Állatorvostudományi DI akadémiai beszámolóinak programja és szekcióbizottságai
(2021. január 27.)

A szekció megnevezése	A szekcióülés időpontja	Szekcióülés ID	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
Élettan és biokémia Patológia Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	8:30-11.10	A	Bartha Tibor Jerzsele Ákos Neogrady Zsuzsanna Sótonyi Péter	Farkas Orsolya Mátis Gábor	Csikó György Halasy Katalin Kutas Ferenc Rác Bence Zsarnovszky Attila
Klinikumok	12.00-14.00	A	Bakos Zoltán Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor	Becker Zsolt Szelényi Zoltán	Biksi Imre, Gál János Szenci Ottó Vajdovich Péter
Állathigiénia Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	14.00-15.10	A	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor Fekete Sándor, Gáspárdy András Jakab László Rafai Pál, Zöldág László
Bakteriológia	8:30-10.30	B	Fodor László Magyar Tibor	Kreizinger Zsuzsa	Hajtós István, Bernáth Sándor Gyuranecz Miklós Makrai László, Tenk Miklós
Viroológia Immunológia	10.30-12.10		Harrach Balázs	Kaján Győző	Benkő Mária, Dán Ádám Péntes Zoltán, Rusvai Miklós Soós Tibor, Zádori Zoltán
Élelmiszer-higiénia Állategészségügyi Igazgatás	13:00-14:10	B	Laczay Péter Ózsvári László	Darnay Lívia	Józwiak Ákos Kovács Sándor Lehel József, Szita Géza
Parazitológia Állattan Halkórtan	14:10-15.00	B	Baska Ferenc Farkas Róbert	Eszterbauer Edit Hornung Erzsébet Sréter Tamás	Békési László, Csaba György Hornok Sándor, Kassai Tibor Molnár Kálmán Majoros Gábor, Varga István

TARTALOMJEGYZÉK

Élettan és biokémia

1. AZ ASZTROGLIASEJTEK ÉLETKÉPESSÉGÉNEK VIZSGÁLATA MIKROGLIÁK JELENLÉTÉBEN ÉS HIÁNYÁBAN
Bárány Zoltán, Kiss Dávid Sándor, Tóth István, Jócsák Gergely, Bartha Tibor, Sterczer Ágnes
2. A HŐSTRESSZ REDOX HOMEOSZTÁZISRA GYAKOROLT HATÁSAINAK VIZSGÁLATA CSIRKÉBEN
Mackei Máté, Mátis Gábor, Sebők Csilla, Vörösházi Júlia, Molnár Andor, Pál László, Dubleczy Károly, Husvéth Ferenc, Neogrády Zsuzsanna
3. SOFT-SKILLS (NEM-SZAKMAI KOMPETENCIÁK) AZ ÁLLATORVOSKÉPZÉSBE
Makk Tímea, Tóth István, Bartha Tibor, Mándoki Míra
4. AZ ILLÓ- ÉS HOSSZÚ SZÉNLÁNCÚ ZSÍRSAVAK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA VADDISZNÓBAN ÉS HÁZI SERTÉSBEN
Mátis Gábor, Mackei Máté, Holl Ágoston, Kurucz Ádám, Neogrády Zsuzsanna, Fébel Hedvig
5. LAKTULÓZ- ÉS ÚTIFŰMAGHÉJ-KIEGÉSZÍTÉS HATÁSA EGÉSZSÉGES KUTYÁK BÉLSARÁNAK ILLÓZSÍRSAV-TARTALMÁRA
Mátis Gábor, Talabér Rebeka, Papp Márton, Müller Linda, Sterczer Ágnes, Fébel Hedvig, Neogrády Zsuzsanna
6. BAKTERIÁLIS SEJTFALKOMPONENSEK HATÁSAINAK VIZSGÁLATA KÉT-, ILLETVE HÁROMDIMENZIÓS CSIRKE EREDETŰ MÁJSEJTTENYÉSZETEKEN
Sebők Csilla, Vörösházi Júlia, Mackei Máté, Tráj Patrik, Szentgyörgyi Ákos, Neogrády Zsuzsanna, Mátis Gábor
7. A PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOROK TRANSZKRIPCIÓS EXPRESSZIÓJÁNAK VÁLTOZÁSA ARZÉN, MINT ENDOKRIN DISZRUPTOR HATÁSÁRA PATKÁNY ÉS EGÉR IN VITRO CEREBELLÁRIS MODELLEN.
Sebők Flóra, Jócsák Gergely, Kiss Dávid Sándor, Bartha Tibor, Zsarnovszky Attila
8. FERMENTÁLT BÚZACSÍRA-KIVONAT REDOX HOMEOSZTÁZISRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA PATKÁNY EREDETŰ PRIMER MÁJSEJTTENYÉSZETEKEN
Vörösházi Júlia, Mackei Máté, Sebők Csilla, Neogrády Zsuzsanna, Mátis Gábor, Jerzsele Ákos

Kórtan

1. AZ ELEFÁNTOK ENDOTHELIOTROPIKUS HERPESZVÍRUSÁNAK (EEHV) HAZAI MEGJELENÉSE ÉS KIMUTATÁSA *IN SITU* HIBRIDIZÁCIÓVAL
Horváth Dávid Géza, Sós Endre, Dénes Lilla, Dán Ádám, Biksi Imre, Balka Gyula

Gyógyszertan és toxikológia

1. NÖVÉNYVÉDŐ SZEREK *IN VITRO* SZEMIRRITÁCIÓS VIZSGÁLATA IZOLÁLT CSIRKESZEMEN
Buda István, Kormos Éva, Lehel József, Szabó Rita, Major László, Budai Péter
2. BAKTÉRIUM-BÉLHÁMSEJT KO-KULTÚRA LÉTREHOZÁSA A BAKTERIÁLIS EREDETŰ BÉLHÁMKÁROSODÁS, VALAMINT POTENCIÁLIS ANTIBIOTIKUM ALTERNATÍVÁK TANULMÁNYOZÁSÁRA
Kovács Dóra, Karancsi Zita, Palkovicsné Pézsa Nikolett, Farkas Orsolya, Jerzsele Ákos
3. KLÓRPIRIFOSZ ÉS TEBUKONAZOL HATÓANYAGÚ PESZTICIDEK EGYEDI ÉS EGYÜTTES MÉRÉGHATÁSÁNAK VIZSGÁLATA HÁZITYÚK-EMBRIÓKON
Major László, Budai Péter, Buda István, Szemerédy Géza, Lehel József, Szabó Rita¹
4. A NEWCASTLE-BETEGSÉG VÍRUSA ELLENI IMMUNIZÁLÁS TÁMOGATÁSA HUMUSZANYAGOKKAL BROJLERCSIRKE ÁLLOMÁNYBAN
Palócz Orsolya, Leitold József, Csikó György
5. A DEOXINIVALENOL ÉS A T-2 TOXIN GYULLADÁSKELTŐ ÉS OXIDATÍV STRESSZ-INDUKÁLÓ HATÁSÁNAK *IN VITRO* VIZSGÁLATA
Szabó Orsolya, Pomothy Judit, Czimmermann Ágnes E., Babitzky Ákos, Pásztiné-Gere Erzsébet
6. MATRIPTÁZ GÁTLÓ VEGYÜLETEK CYP IZOENZIMEK AKTIVITÁSÁRA GYAKOROLT HATÁSA
Varga Eszter, Nagy Gábor, Szimrók Zoltán, Szentkirályi Anna, Fedor Zsófi, Pásztiné Gere Erzsébet

Morfológia

1. FRUKTÓZ HATÁSA A HIPPOCAMPUS SZINAPTIKUS ULTRASTRUKTÚRÁJÁRA
G. Mark Marcello, Sótonyi Péter, Süth Miklós, Andrásföszky Emese, Rácz Bence

A hepaticus encephalopathia (HE) a máj működésének csökkenése illetve kiesése következtében kialakuló neurológiai komplikáció. Celluláris szinten legfőképp az asztroglia és mikroglia érintettek, többek között az általuk előidézett neuroinflammáció révén. E kórfolyamat kialakulásához hozzájárul az ammónia, a mangán és a bakteriális lipopoliszacharidok agyba jutása, cerebralis felhalmozódása, valamint az oxidatív stressz indukálása. Mindezen faktorok egyedi és együttes hatásmechanizmusa azonban nem ismert.

Kutatásunk célja az ammónia, a mangán, bakteriális lipopoliszacharid és oxidatív stressz dózisfüggő hatásának vizsgálata az asztroglia és mikroglia sejtek életképességére vonatkozóan, nagy tisztaságú patkány primer asztroglia kultúrában, valamint asztroglia és mikroglia sejteket is tartalmazó primer kultúrában.

1-2 napos patkányok teljes agyszövetét fölhasználva primer asztroglia kultúrákat hoztunk létre, egy részükből rázatással eltávolítottuk a mikrogliaakat, másik részükben viszont nem történt mikroglia-mentesítés, így hozva létre nagy tisztaságú asztroglia kultúrákat, valamint asztroglia és mikroglia sejteket is tartalmazó kevert kultúrákat. A sejt kultúrák asztroglia- és mikrogliaarányát a korábbiakban már meghatároztuk e sejtekre specifikus markerek immunfluoreszcenciás alapú jelölésével. A létrehozott sejtenyészeteket az ammónia, mangán, *E. coli* lipopoliszacharidjának és hidrogén-peroxid különböző koncentrációival inkubáltuk, majd az életben maradt, valamint halott sejtek számát neutrál vörös felvétel illetve laktát-dehidrogenáz-aktivitás meghatározás révén mértük.

Vizsgálataink eredménye szerint a két alkalmazott sejtleletképesség vizsgálat alkalmas az egyes ágensek citotoxissal összefüggésben levő hatásainak meghatározására. Kutatásunk rá mutatott arra is, hogy a vizsgált két sejt típus eltérő mértékben ellenálló az egyes ágensekkel szemben, valamint meghatározásra kerültek azok a koncentrációk, amelyek biztonsággal alkalmazhatóak a további vizsgálatokra.

Eredményeink igazolták, hogy mind a neutrál vörös felvételen, mind pedig a laktát-dehidrogenáz aktivitásán alapuló sejtleletképesség vizsgálat alkalmas az asztroglia, valamint asztroglia-mikroglia kevert kultúrák citotoxissai vizsgálatára, noha adódnak különbségek. Vizsgálataink eredményei továbbá alátámasztották azt is, hogy a sejtenyészetek eltérő mértékben érzékenyek az egyes, a HE patofiziológiájában szerepet játszó ágensek citotoxikus hatásaival szemben, amelyet figyelembe kell venni a későbbi, neuroinflammációval kapcsolatos vizsgálatainknál.

A kutatás az NKB által nyújtott támogatás (témaszám: 1300001897) révén valósult meg.

A HŐSTRESSZ REDOX HOMEOSZTÁZISRA GYAKOROLT HATÁSAINAK VIZSGÁLATA CSIRKÉBEN

Mackei Máté^{1*}, Mátis Gábor¹, Sebők Csilla¹, Vörösházi Júlia¹, Molnár Andor², Pál László², Dubblecz Károly², Husvéth Ferenc², Neogrády Zsuzsanna¹

A hőstressz, a klímaváltozás és az ezzel összefüggésben egyre gyakrabban megjelenő, valamint egyre hosszabb ideig tartó intenzív hőhullámok miatt, a baromfitartás kapcsán is egyre inkább a figyelem középpontjába kerül. A hő hatására kialakuló molekuláris szintű változások egy része már feltérképezésre került, de a negatív következmények háttérében álló pontos mechanizmusok még sok tekintetben ismeretlenek. Kutatásunkban – korábbi *in vitro* kísérleteink folytatásaként – az akut hőstressznek kifejezetten a parenchymás szervekre gyakorolt hatásait kívántuk vizsgálni *in vivo* körülmények között csirkében.

Munkánk során 32 napos, Ross 308 típusú brojlercsirkéket 4, illetve 8 órán keresztül tettük ki hőstressznek (37°C, 50% relatív páratartalom), majd az állatok szén-dioxid narkózisban történő dekapitálása után a májból, a lépéből és a veséből vettünk szövetmintákat. A hőstressz okozta sejtszintű folyamatok tanulmányozásához a régóta felfedezett, de mind a mai napig kevésbé ismert kistömegű hősokkfehérjék (small heat shock protein, sHSP), így a Hsp27, az alfa-krisztallin A (HspB4) és az alfa-krisztallin B (HspB5) koncentrációjának változását határoztuk meg csirke specifikus ELISA módszerekkel. Kísérletünk során vizsgáltuk továbbá a redox homeosztázis állapotát, így nyomon kívántuk követni a malondialdehid, illetve a protein-karbonilok és redukált glutation mennyiségében, valamint a glutation-peroxidáz enzim aktivitásában bekövetkező változásokat, melyek jól jelzik a sejtek által elszenvedett oxidatív károsodás mértékét.

A májban az alfa-krisztallin A és B mennyisége is szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult mindkét idejű hőstressz következtében, míg a többi szervben nem tapasztaltunk változást. A Hsp27 koncentrációja nem változott a hőkezelés hatására egyik szervben sem. A protein-karbonilok és a redukált glutation mennyisége a májban mindkét kezelést követően csökkent, továbbá előbbi koncentrációja a hosszabb, 8 órás hőstressz következtében szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult a lépben is. A malondialdehid koncentrációjában a 8 órás hőkezelés esetében emelkedés volt tapasztalható a májban. A glutation-peroxidáz enzim aktivitása a hosszabb hőkezelés után a májban szintén szignifikánsan magasabb volt.

Kutatásunk során, eddigi *in vitro* vizsgálataink folytatásaként, új szemszögből tanulmányoztuk a hőstressz molekuláris szintű hatásait brojlercsirkék különféle szerveiben. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy az akut, egyszeri hőhatás következtében fellépő karbonilszint-csökkenés a kistömegű hősokkfehérjék intenzív felhasználása révén, mint túlkompensációs mechanizmus jelenhet meg. Továbbá, más kutatások eredményeit is figyelembe véve megállapíthatjuk, hogy hosszabb ideig tartó hőstressz esetén a karbonilszármazékok szintje megemelkedhet, mely folyamattal szemben a később szintén emelkedő koncentrációban termelődő kistömegű hősokkfehérjék mennyisége sem tud kellő védelmet nyújtani.

Kutatásunkat az NKFIH 124586. számú pályázata és az Állatorvostudományi Egyetem normatív kutatásfinanszírozási alapja (NKB-PhD) támogatta. Munkánk továbbá az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-3-II-ÁTE-11 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

SOFT-SKILLS (NEM-SZAKMAI KOMPETENCIÁK) AZ ÁLLATORVOSKÉPZÉSBEN

Makk Timea¹, Tóth István^{1*}, Bartha Tibor¹, Mándoki Míra²

A közelmúltban végzett kutatások és felmérések hatására egyre elfogadottabb az az álláspont, hogy az állatorvostan-hallgatókat a hagyományos szakmai tudás mellett fel kell ruházni egyéb kompetenciákkal is, mint például a kommunikáció, vállalkozói és digitális ismeretek. Ezek az ún. soft skill-ek (vagy life skillek), melyek oktatása Nyugat-Európában mára az állatorvos-képzés szerves részévé vált. Az Állatorvostudományi Egyetem is bekapcsolódott az Európai Unió által támogatott ún. „SoftVets” (Pan-European soft skills curriculum for undergraduate veterinary education) oktatásfejlesztési projektbe, melynek célja egy olyan oktatási keretrendszer létrehozása, amely lehetővé teszi, hogy a hallgatók olyan készségekre tegyenek szert, amelyek birtokában könnyebben megbirkóznak a jövőbeli munkakörnyezetük okozta kihívásokkal.

A projekt elindulásakor létrejött egy egyetemi oktatókból, állatorvosokból és állatorvostan-hallgatókból álló szakértői csapat, melyhez 2018-ban csatlakoztam. Nemzetközi csapatunk célja, hogy felmérjük az állatorvosi szakmában a Soft skill-ekkel kapcsolatos európai igényeket, majd a szakirodalmi ajánlások és a munkaerőpiac elvárásait figyelembe véve összeállítsunk egy olyan ideális leírást, amely Európa-szerte alkalmazható a Soft skillek átadására az állategészségügyi felsőoktatásban.

A projekt első fázisában szakirodalmi kutatások és szakértői megbeszélések révén összeállítottuk azon kompetenciák listáját, amelyre egy frissen végzett állatorvosnak szüksége lehet. A listát három nagy témakörre osztottuk és a hallgatók által elérendő tudás szempontjából 4 szintre bontottuk (alap-, közép-, emelt- és szakértői szint). Az így létrehozott modell 10 kommunikációs, 8 digitális és 9 vállalkozói kompetenciát foglal magába. Ezt követően, a létrehozott lista alapján felépítettünk egy lehetséges tanmenetet a hallgatók számára, majd megalkottuk a soft skillek leendő oktatóinak képzés-tervezetét. Egyetemünk egyike a három partnerintézménynek, melyek beemelték az ún. 'pilot-kurzust' képzési rendjükbe. A kísérleti kurzus eredményeinek kiértékelésével hozzájárulunk az Európai Állatorvos-képző Intézmények Egyesületének (EAEVE = European Association of Establishments for Veterinary Education) munkásságához, hiszen a jövőben a soft skillek oktatása az állatorvos-képző intézmények akkreditációjához kritérium feltétellé válik.

AZ ILLÓ- ÉS HOSSZÚ SZÉNLANCÚ ZSÍRSAVAK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA VADDISZNÓBAN ÉS HÁZI SERTÉSBEN

Mátis Gábor^{1*}, Mackei Máté¹, Holl Ágoston¹, Kurucz Ádám¹, Neogrády Zsuzsanna¹, Fébel Hedvig²

Az illó zsírsavak, valamint a hosszú szénláncú zsírsavak kulcsszerepet töltenek be az állatok energiaforgalmában. Az anaerob bakteriális fermentáció végtermékeiként keletkező illó zsírsavak a kérődzők előgyomraiban, valamint a monogasztrikus fajok vastagbelében képződnek nagyobb mennyiségben, jelentős energiaforrásként szolgálva és sokrétű élettani szerepet betöltve. A kutatásunk elsődleges célja az volt, hogy a vakbélben képződött illó zsírsavak mennyiségét és egymáshoz viszonyított arányait, valamint a májszövet hosszú láncú zsírsavprofilját összehasonlítsuk vaddisznóban és házi sertésben.

Munkánk során mintát vettünk a Nyugat-Dunántúlon elejtett 47 vaddisznó vakbél tartalmából, valamint májából. Az összehasonlító vizsgálatokhoz nyert szövetminták 40 házi sertésből kerültek gyűjtésre. Az illó zsírsavak vakbél tartalmából történő mennyiségi meghatározását, valamint a májból kivont zsírsavak metil-észtereinek mérését GC-MS módszerrel végeztük el. Méréseink szerint a vaddisznók vakbél tartalmában szignifikánsan, jelentősen (kb. 67%-kal) nagyobb volt az illó zsírsavak összkoncentrációja, mint házi sertés esetében. Az illó zsírsavak arányát tekintve a propionsav és az izovajsav aránya szignifikánsan alacsonyabbnak, az n-vajsav aránya szignifikánsan magasabbnak bizonyult vaddisznóban a házi sertéshez képest. A vaddisznó esetében egyes illó zsírsavak koncentrációját szignifikánsan befolyásolta az elejtés helye, az állat kora, ivara, valamint az évszak.

A hosszú szénláncú zsírsavak esetében a jelentősebb koncentrációban jelen lévő zsírsavak közül a palmitinsav, a sztearinsav, az olajsav, a linolénsav, a gamma-linolénsav, az arachidonsav, a dokozapentaénsav és a dokozahexaénsav, májszövetben mért koncentrációiban mutatkozott szignifikáns eltérés a vaddisznó és a házi sertés között. A házi sertések mája a dokozahexaénsavat és a linolénsavat leszámítva szignifikánsan több hosszú szénláncú zsírsavat tartalmazott. Az omega-3 zsírsavak szignifikánsan nagyobb arányban voltak jelen a vaddisznók májában, mint házi sertésben.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a vaddisznók vakbelében jelentősen intenzívebb fermentációs folyamatok zajlanak, mint a házi sertésében, míg a házi sertés mája a vaddisznóhoz viszonyítva jóval nagyobb mennyiségű hosszú szénláncú zsírsavat tartalmaz. Az illó zsírsavak esetében megfigyelt állatfaji különbségekből arra következtethetünk, hogy a vaddisznó teljes energiabevitele sokkal nagyobb mértékben függ a mikrobiális fermentációtól, ami azzal magyarázható, hogy a vaddisznók táplálékának kisebb részét alkotják a könnyen emészthető szénhidrátokban gazdag takarmányok, míg nagyobb részét a csak mikrobák által lebontható szénhidrátok. A vaddisznó májának alacsonyabb hosszú szénláncú zsírsavtartalma, valamint a kedvező élettani hatású omega-3 zsírsavak nagyobb aránya hozzájárulhat a vadhús jobb minőségének biztosításához és a fogyasztók egészségének védelméhez is.

Kutatásunkat az NKFIH 124586. számú pályázata támogatta.

Állatorvostudományi Egyetem, ÉBT Biokémiai Osztály¹

Élettan és biokémia

Állatorvostudományi Egyetem, Bioinformatikai Központ²

Állatorvostudományi Egyetem, Szülészeti Tanszék és Haszonállat-gyógyászati Klinika³

Állatorvostudományi Egyetem, Belgyógyászati Tanszék és Klinika⁴

NAIK, Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet⁵

*Matis.Gabor@univet.hu

LAKTULÓZ- ÉS ÚTIFŰMAGHÉJ-KIEGÉSZÍTÉS HATÁSA EGÉSZSÉGES KUTYÁK BÉLSARÁNAK ILLÓZSÍRSAV-TARTALMÁRA

Mátis Gábor^{1*}, Talabér Rebeka¹, Papp Márton², Müller Linda³, Sterczer Ágnes⁴, Fébel Hedvig⁵, Neogrady Zsuzsanna¹

A kutyák bélflórájának összetételét számos faktor befolyásolhatja. Ezek közül kiemelkedő jelentőséggel bírnak bizonyos takarmányozási tényezők, így a nem-keményítő típusú poliszacharidok, valamint egyes oligo- és diszacharidok, melyek emésztésére a kutya szervezetében termelődő enzimek nem képesek, így ezek csak a bélbeli anaerob mikrobiális fermentáció során metabolizálódnak. Ennek eredményeként különféle rövid szénláncú zsírsavak (más néven illó zsírsavak) keletkeznek. Az illó zsírsavak három fő képviselője az ecetsav, a propionsav és az n-vajsav, melyek központi szerepet játszanak a bélflóra egyensúlyának fenntartásában, valamint különböző intesztinális és extraintesztinális hatásai révén a gazdaszervezet egészségét is befolyásolhatják.

Munkánk során azt tanulmányoztuk, hogy a kisállatpraxisban elterjedten alkalmazott laktulóz és útifű maghéj (Psyllium husk, továbbiakban psyllium), milyen mértékben képesek befolyásolni a kutya bélmikrobiom illózsírsav-termelését. Vizsgálatainkban 30, standard diétán tartott, egészséges beagle fajtájú kutyát vizsgáltunk 15 napon keresztül, mely idő alatt 15 állat napi egy alkalommal, szájon át adagolt laktulóz (Laevolac 670 mg/ml szirup, 1 ml/ttkg) kezelésben részesült, míg a másik 15 állatnak útifűmaghéj-örleményt (0,2 g/ttkg) adtunk. A kísérlet kezdetén (0. nap, kontroll mintavétel), valamint a kísérlet 5., 10. és 15. napján, összesen négy alkalommal bélsármintát vettünk az állatok végbeléből, majd a mintákban GC-MS módszer segítségével meghatároztuk az egyes illó zsírsavak koncentrációját.

Eredményeink szerint a laktulóz adagolás a kísérlet 10. és 15. napján a bélsár összillózsírsav-koncentrációjának szignifikáns emelkedését okozta a kontroll értékhez képest, a psyllium kiegészítés esetén azonban az illó zsírsavak összmenyisége csak a kísérlet 15. napján emelkedett szignifikáns mértékben. Az egyes illó zsírsavakat külön vizsgálva, a laktulóz adagolásakor az acetát és a propionát koncentrációja a kísérlet 5., 10. és 15. napján is szignifikánsan növekedett, a butirát koncentrációja viszont az 5. napon szignifikánsan csökkent, a többi időpontban pedig nem változott. A psyllium adása során az acetát és a propionát koncentrációjának szignifikáns emelkedése csak a kísérlet 15. napján volt megfigyelhető, s ugyanekkor a termelődött butirát mennyisége is szignifikánsan megnőtt.

Mindezek alapján megállapítható, hogy a laktulóz és psyllium egyaránt alkalmas a kutyák bélbeli illózsírsav-termelésének fokozására. Az acetát és propionát mennyisége mindkét kiegészítés esetében növekedett, azonban a legnagyobb biológiai aktivitással bíró butirát termelésének fokozódása csak a psyllium adását követően volt megfigyelhető, mely alapján kutyákban a psyllium adagolása, a laktulózzal összehasonlítva még előnyösebb hatásúnak tekinthető.

Kutatásunkat az NKFIH 124586. számú pályázata támogatta.

BAKTERIÁLIS SEJTFALKOMPONENSEK HATÁSAINAK VIZSGÁLATA KÉT-, ILLETVE HÁROMDIMENZIÓS CSIRKE EREDETŰ MÁJSEJT TENYÉSZETEKEN

Sebők Csilla*, Vörösházi Júlia, Mackei Máté, Tráj Patrik, Szentgyörgyi Ákos, Neogrády Zsuzsanna, Mátis Gábor

A háromdimenziós sejttenyésztési módszerek egyre nagyobb teret hódítanak a különféle *in vitro* kutatások során, hiszen az így létrehozott sejtkultúrák számos szempontból nagyobb hasonlóságot mutatnak az élő szervezethez, mint a hagyományos, kétdimenziós módszerrel tenyésztett sejtek. Azonban a mai napig tisztázatlan, hogy a kétféle technikával szaporított és életben tartott sejtek molekuláris mechanizmusai között pontosan milyen különbségek állnak fenn.

Munkánk során két-, illetve háromdimenziós sejttenyészetek különféle bakteriális sejtfalkomponensekre adott gyulladáshoz vezető választ, valamint metabolikus aktivitását hasonlítottuk össze. A sejttenyészetek kialakításához szükséges hepatocytákat és nem-parenchymális sejteket brojlercsirkéből izoláltuk, majd felhasználásukkal két- és háromdimenziós hepatocytá monokultúrát, valamint 6:1 arányú hepatocytá – nem-parenchymális sejt ko-kultúrát hoztunk létre.

Sejttenyészteinket 10 és 50 µg/ml koncentrációjú, Gram-negatív baktériumok sejtfalában található lipopoliszachariddal (LPS) és ugyanilyen koncentrációjú, Gram-pozitív baktériumok sejtfalából származó lipoteikólsavval (LTA) kezeltük 24 óráig. A sejtek metabolikus aktivitását CCK-8 teszttel vizsgáltuk, valamint a gyulladáshoz vezető citokinek közül az interleukin-6 (IL-6) és az interleukin-8 (IL-8) koncentrációját mértük a tápfolyadékban szendvics ELISA segítségével. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy kétdimenziós sejttenyészetek esetében a kezelések hatására a sejtek metabolikus aktivitása nem változott szignifikánsan, ezzel ellentétben a háromdimenziós ko-kultúráinknál csaknem minden kezelést követően szignifikáns emelkedést tapasztaltunk.

Az IL-6 és IL-8 koncentrációk a kezeléstől függetlenül szignifikánsan magasabbnak bizonyultak a kétdimenziós modellek tápfolyadékában a háromdimenziósakéhoz képest. Az IL-6 koncentráció szignifikánsan növekedett a kétdimenziós hepatocytá monokultúrán és ko-kultúrán 10 µg/ml koncentrációjú LTA kezelést követően, ezzel szemben szignifikánsan csökkent a háromdimenziós hepatocytá monokultúrán 10 µg/ml LTA kezelés, valamint ko-kultúrán 50 µg/ml LTA kezelés hatására. Az IL-8 koncentráció a kétdimenziós hepatocytá monokultúrán és a ko-kultúrán az 50 µg/ml LTA kezelést követően szignifikánsan növekedett, ezzel ellentétben a háromdimenziós hepatocytá monokultúra tápfolyadékában szignifikánsan csökkent az 50 µg/ml LTA kezelést követően, továbbá a ko-kultúra esetében az összes kezelés hatására.

Eredményeink alapján látható, hogy a két-, illetve háromdimenziós sejttenyészetek között jelentős különbségek fordulhatnak elő a gyulladáshoz vezető hatásokra adott válasz tekintetében, ami irodalmi adatok alapján feltételezhetően az eltérő génexpressziós mintázatokkal állhat összefüggésben. E különbségek minél behatóbb ismerete rendkívül fontos a sejtmodellek fejlesztése és a jövőbeli, háromdimenziós sejttenyészeteket felhasználó kutatások szempontjából.

Kutatásunkat az NKFIH 124586 sz. pályázat támogatásával végeztük.

A PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOROK TRANSZKRIPCIÓS EXPRESSZIÓJÁNAK VÁLTOZÁSA ARZÉN, MINT ENDOKRIN DISZRUPTOR HATÁSÁRA PATKÁNY ÉS EGÉR IN VITRO CEREBELLÁRIS MODELLEN.

Sebők Flóra^{1*}, Jócsák Gergely¹, Kiss Dávid Sándor¹, Bartha Tibor¹, Zsarnovszky Attila^{2,3}

Az endokrin diszruptorok olyan anyagok, melyek kis mennyiségben is képesek módosítani a szervezet hormonális szabályozását. Az endokrin rendszer megzavarásával a diszruptor képes felborítani a szervezet homeosztázisát, amit a hormonrendszer aprólékosan beállít és folyamatosan monitoroz a hormonok és feed-back mechanizmusok segítségével. Az arzén a környezetben széles körben előfordul, megtalálható a levegőben, a természetes vizekben és a föld ásványaiban, így elkerülhetetlen az élő szervezetbe való bekerülése.

Célunk az arzén hatásának subtoxikus koncentrációban való vizsgálata volt, és ennek kapcsán annak igazolása, hogy az arzén endokrin diszruptorként is képes-e viselkedni, és ez úton befolyásolni a pajzsmirigyhormon-rendszert, amely egyaránt elengedhetetlenül szerepet játszik mind a fiatal szervezet fejlődésében, mind pedig az egészséges felnőttkori endokrin működésekben. Kutatásaink során azt is vizsgáltuk, hogy az arzén hatása különbözik-e egérből és patkányból izolált kisagyi sejteken.

Feltételezésünk alátámasztására a TR α és TR β pajzsmirigyhormon-receptorok expresszióját vizsgáltuk *in vitro* primer patkány és egér cerebelláris szemcsesejt-kultúrákon. Megfigyeltük, hogyan alakul a receptorexpresszió T3 hormon kezelés, arzénnel való kezelés, majd pedig T3 hormon és arzén együttesen alkalmazott kezelése hatására. Vizsgálatainkhoz kvantitatív real-time PCR módszert használtunk. Az eredményeket kezeletlen kontroll eredményekhez viszonyítottuk.

Kísérleteink eredményeként megállapítottuk, hogy az arzén valóban endokrin diszruptorként viselkedik, hiszen már kis mennyiségben is szignifikánsan megváltoztatta a pajzsmirigyhormon expressziót mindkét faj esetén. Kiderült továbbá, hogy a TR α és TR β receptorok expresszióját patkány sejt kultúra esetében serkenti, míg egér szemcsesejtek esetében gátolja az arzén jelenléte.

Kapott eredményeink rámutattak arra, hogy a két rágcsáló faj endokrin rendszere, illetve annak szabályozása jelentősen eltér egymástól, valamint, hogy a patkány sejt kultúra érzékenyebben reagál az arzénes kezelésre, mint az egérből származó minták. Ezen faji különbségek miatt fontos, hogy modellállat választásakor figyelembe vegyünk, melyik rágcsáló faj reprezentálja jobban a modellezni kívánt szervezetet a vizsgálni kívánt szervrendszer szempontjából. Az itt bemutatott endokrin különbségekből adódóan a patkány és egér kultúrákból kapott adatok nem helyettesíthetők egymással, sokkal inkább egymás kiegészítésére alkalmasak.

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

FERMENTÁLT BÚZACSÍRA-KIVONAT REDOX HOMEOSZTÁZISRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA PATKÁNY EREDETŰ PRIMER MÁJSEJTNYÉSZETEKEN

Vörösházi Júlia^{1*}, Mackei Máté¹, Sebők Csilla¹, Neogrády Zsuzsanna¹, Mátis Gábor¹, Jerzsele Ákos²

A fermentált búzacsíra-kivonatot (fermented wheat germ extract, FWGE) bioaktív anyagai, elsősorban a benzokinon-származékok előnyös hatásai miatt széleskörben alkalmazzák a humán- és az állatgyógyászatban egyaránt. Tumorellenes aktivitása révén daganatos betegségek kiegészítő kezelésekként, immunstimuláns és antimikrobiális hatása következtében pedig általános állapotjavításra, illetve élelmiszertermelő állatok esetében hozamfokozás céljából is használható. Továbbá potenciális antioxidáns hatással is bír, azonban erről a tulajdonságáról kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. Így kísérletünk során az állatgyógyászati célra gyártott FWGE-készítmény (Immunovet®) redox homeosztázisra gyakorolt hatását vizsgáltuk a házi emlősállatok számára is modellként szolgáló patkány eredetű primer májsejttenyészeteken.

Munkánk során 8 hetes Wistar patkányból izoláltuk a májsejteket, melyekből kollagénnel bevont 6 és 96 lyukú tenyésztőedényeken egyrétegű tenyészeteket hoztunk létre. A tenyészeteket 2 és 8 órás időtartamban kezeltük gyulladáskeltésre szolgáló *Salmonella Typhimurium* eredetű lipopoliszacharid (LPS) típusú endotoxinnal, illetve ezzel egyidejűleg 0,1%-os és 1%-os FWGE-kivonattal (n=6). Összehasonlító vizsgálatok céljából ismert hepatoprotektív anyagokkal, urzodezoxikólsavval (UDCA) és szilimarinnal is kezeltünk tenyészeteket (n=6). A sejtek aerob lebontó metabolikus aktivitását, és ezáltal a vizsgált anyagok citotoxikus hatását CCK-8 teszttel követtük nyomon. Az oxidatív státusz vizsgálatának céljából a reaktív oxigénvegyületek (ROS) termelését Amplex Red módszerrel, a szabadgyökök által kiváltott lipidperoxidáció mértékét pedig a malondialdehid (MDA) koncentrációjának mérésével határoztuk meg. Emellett az antioxidáns rendszer egyik legfőbb tagjának, a glutation-peroxidáznak (GSH-Px) aktivitását is vizsgáltuk.

Eredményeink alapján elmondható, hogy egyik alkalmazott FWGE-koncentráció sem fejtett ki citotoxikus hatást a sejttenyészeteken. LPS kiváltotta gyulladáshoz az FWGE hatékonyan csökkentette a ROS-termelést és a lipidperoxidáció mértékét, tehát hepatoprotektív hatással bírt. Azonban LPS-sel nem kezelt sejtekben, 1% koncentrációban ezzel ellenkező hatást fejtett ki, növelte mind a ROS-termelődést, mind a lipidperoxidáció mértékét, viszont a GSH-Px aktivitását csökkentette. Ebből arra következtethetünk, hogy élettani körülmények között, egészséges sejteken nagy koncentrációban alkalmazva az FWGE reaktív vegyületek fokozott termeléséhez vezet, de ez nem feltétlenül jár együtt oxidatív distressz kialakulásával. A megfelelően adagolt FWGE tehát ígéretes jelölt lehet a gyulladáshoz kórképekben szenvedő betegek kiegészítő kezelésében, mérsékelve a szabadgyökök képződését és azok sejtkárosító hatását, valamint támogatva az antioxidáns rendszer működését a májban.

Kutatásunkat az NKFIH 124586. számú pályázata révén valósult meg. 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, EFOP-3.6.2-16-2017-00012 és EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005, címe: Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával).

AZ ELEFÁNTOK ENDOTHELIOTROPIKUS HERPESZVÍRUSÁNAK (EEHV) HAZAI MEGJELENÉSE ÉS KIMUTATÁSA *IN SITU* HIBRIDIZÁCIÓVAL

Horváth Dávid Géza^{1*}, Sós Endre², Dénes Lilla¹, Dán Ádám¹, Biksi Imre¹, Balka Gyula¹

Az EEHV egy világszerte előforduló herpeszvírus-csoport, amelyet az ázsiai és valószínűleg az afrikai elefántok is hordoznak látens formában. Alkalmanként a fertőzés nyomán súlyos, többnyire fatális kimenetelű, vérzéses kórkép alakul ki. A betegség első (és eddig egyetlen) magyarországi előfordulása tavaly novemberben történt, amelynek nyomán a Fővárosi Állat- és Növénykertben egy 5,5 éves ázsiai elefántborjú elpusztult.

Az alapvető célkitűzésünk az EEHV szövetmintákban való kimutatása volt egy RNS-alapú *in situ* hibridizációs eljárással (RNAscope), amelynek próbái a vírusgenom U38 (DNS-polimeráz) és U39 (gB burokfehérje) génjeiről íródó mRNS molekulák alapján lettek tervezve. A vizsgálati minták a Fővárosi Állat- és Növénykertben 2018 novemberében elpusztult elefántborjúból származtak. Az elhullott állaton elvégzett kórbonctani és kórszövettani vizsgálaton túlmenően, az említett RNAscope módszerrel a kórokozó szöveti eloszlását vizsgáltuk. A formalinban fixált, paraffinba ágyazott metszeteken párhuzamosan elvégzett, az EEHV1 termináz génjére tervezett valós idejű TaqMan-rendszerű PCR-reakció Ct-értékeit összevetettük az RNAscope vizsgálatok eredményeivel. Az EEHV1 polimeráz génjére tervezett kétkörös (nested) PCR-reakcióval nyert termékeken végeztük a nukleotiszekvencia-meghatározást.

Az állat diagnosztikai boncolása során megfigyelt elváltozások megegyeztek a betegséggel kapcsolatos szakirodalmi leírásokkal. RNAscope segítségével sikeresen láthatóvá tettük a vírus genetikai állományát a szövetekben. A valós idejű PCR reakciók Ct-értékeit összehasonlítva az RNAscope nyomán kapott festődés szemikvantitív módon meghatározott intenzitásértékeivel, valamennyi szerv esetében jó korrelációt figyeltünk meg. A kapott szekvenciát génbanki adatokkal összevetve nagy fokú (szinte 100%-os) hasonlóságot állapítottunk meg egyes észak-amerikai, európai és az általunk kimutatott EEHV1A-vírusörzsek között.

A jövőben, bizonyítottan EEHV miatt, valamint egyéb okból elhullott elefántok szervmintáin is szeretnénk kipróbálni a módszert, bizonyítva annak szenzitivitását és specificitását. Reményeink szerint az általunk kifejlesztett RNAscope rendszer felhasználható minden további EEHV által okozott kórkép nyomán elhullott, vagy biztosan fertőzött, de egyéb okból elhullott elefánt szöveteinek vizsgálatára. Ez utóbbi különösen hasznos lehet a látencia jelenleg még ismeretlen szöveti helyének meghatározása céljából.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósult meg (a támogatási szerződés száma: AZ EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005, címe: Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával).

NÖVÉNYVÉDŐ SZEREK *IN VITRO* SZEMIRRITÁCIÓS VIZSGÁLATA IZOLÁLT CSIRKESZEMEN

Buda István^{1*}, Kormos Éva³, Lehel József², Szabó Rita³, Major László³, Budai Péter³

A növényvédő szereket sokféle toxikológiai vizsgálatnak vetik alá piacra történő bevezetésüket megelőzően. A vizsgálatok között szerepel a vegyi anyagok szemkárosító hatásának megállapítására 1944-ben létrehozott nyúlön végzendő Draize-féle primer teszt, amely eljárást napjainkban is kiterjedten alkalmazzák annak ellenére, hogy a módszert nagyon sok kritika éri az eredmények szubjektív értékelése, de legfőképp a vizsgálatok során felhasznált emlősállatok szenvedése miatt. Az állatok szenvedésének csökkentése érdekében az eredeti módszert már több alkalommal átdolgozták. Így, például bevezetésre került a kísérleti állatok időben eltolt kezelése, ami alapján, ha az első kezelt állat esetében súlyos szemkárosító hatást tapasztalnak, a kezelt csoport többi állatánál a kezelés már nem kerül elvégzésre. De ezek a változtatások csak rész megoldások és alkalmazásuk nem jelentette a kísérletben használt állatok számának jelentős csökkentését. Ezért az utóbbi évtizedekben egyre több olyan alternatív módszert dolgoztak ki, melyek egyelőre csak részben képesek kiváltani a Draize-féle eljárást. Ezen módszerek közé tartozik az izolált csirkeszemén végrehajtott *in vitro* szemirritációs eljárás.

Vizsgálatunk során öt különböző növényvédő szer irritatív hatását tanulmányoztunk oly módon, hogy azokat közvetlenül a vágóhídról begyűjtött csirkeszemek szaruhártyájának felszínére juttattuk, majd ezt követően a szaruhártya duzzadásának, homályosodásának és károsodásának értékelése alapján határoztuk meg a vizsgálati anyagok irritációs potenciálját. Összefoglalva az eredményeket, az öt vizsgált készítmény közül egy korrozív, illetve súlyosan irritáló tulajdonságúnak mutatkozott. Két esetben közepesen irritáló, egy növényvédő szernél enyhén irritáló hatást tapasztaltunk, illetve egy készítménynél irritatív hatás nem volt megfigyelhető. Mivel az izolált csirkeszemén végrehajtott *in vitro* vizsgálatok jelen formájukban csak korrozív, súlyosan irritáló vagy irritatív hatást nem mutató eredmények esetén alkalmas a vegyi anyagok veszélyességi kategóriába történő besorolásra, így ezen eredmények alapján a vizsgált anyagok közül három esetében további, a tényleges irritációs kategóriába történő besorolásához szükséges egyéb *in vitro* vagy a nyulakon végzett *in vivo* vizsgálatok szükségesek.

Ez is jól tükrözi, hogy ezen *in vitro* módszer jelenleg önmagában nem képes teljesen kiváltani a Draize-féle *in vivo* módszert, a számtalan előnye (gyors, olcsó, egyszerű, megbízható stb.) ellenére sem. Viszont a kezelt szemek szaruhártyájának szövettani vizsgálatával kiegészülve, az eredmények tovább pontosíthatók, valamint más *in vitro* módszerekkel (HET-CAM, CAM-TB, EpiOcular stb.) együtt alkalmazva a jövőben lehetővé válhat a Draize-féle *in vivo* módszer teljes mértékű kiváltása.

BAKTÉRIUM-BÉLHÁMSEJT KO-KULTÚRA LÉTREHOZÁSA A BAKTERIÁLIS EREDETŰ BÉLHÁMKÁROSODÁS, VALAMINT POTENCIÁLIS ANTIBIOTIKUM ALTERNATÍVÁK TANULMÁNYOZÁSÁRA

Kovács Dóra*, Karancsi Zita, Palkovicsné Pézsa Nikolett, Farkas Orsolya, Jerzsele Ákos

A bakteriális, pl. *E. coli* és *Salmonella* eredetű bélfertőzések súlyos gazdasági kárt okozhatnak a sertéstartásban, valamint a kórokozók gyakori antibiotikum-rezisztenciája és zoonotikus volta miatt a jelenség közegészségügyi jelentőséggel is bír. A Gram-negatív baktériumok bélcsatornára kifejtett káros hatása nagymértékben a sejtfalukat alkotó lipopoliszacharidnak (LPS) tulajdonítható, amely gyulladást, oxidatív stresszt, valamint morfológiai és strukturális károsodást képes okozni a bélhámiban. A haszonállatokban történő antibiotikum felhasználás csökkentésében kiemelt szerepe van a különböző természetes eredetű alternatíváknak, melyek hozzájárulhatnak a bélcsatorna egészségének megőrzéséhez.

Erre a célra tanszéki kutatásaink során számos flavonoid (pl. trimetoxi-apigenin, kvercetin, proantocianidinek, luteolin), probiotikum és a fermentált búzacsíra-kivonat jótékony hatását vizsgáltuk sertésből izolált vékonybélhám sejtvonalon (IPEC-J2), melyen bakteriális eredetű LPS-sel váltottunk ki károsodást. Számos esetben tapasztaltunk szignifikáns antioxidáns és integritásvédő hatást, amely alapján vizsgált vegyületeink potenciális antibiotikum alternatívák lehetnek.

Jelen kutatásunk célja az, hogy a korábban tanulmányozott vegyületek jótékony hatásait egy új, reprezentatívabb modellen is igazoljuk, amelynél az IPEC-J2 sejtvonalat nem LPS-sel károsítjuk, hanem bélpatógén baktériumokkal ko-kultúrát hozunk létre belőle. A ko-kultúrában *E. coli* és *Salmonella* baktériumok teljes károkozását vagyunk képesek vizsgálni, amely pontosabban modellezi a bélfertőzések során *in vivo* lezajló folyamatokat az LPS-sel történő kezeléshez képest.

A ko-kultúra létrehozásához elsőként teszteltük a baktériumtörzsek szaporodását az IPEC-J2 sejtek tenyésztéséhez használt tápfolyadékban, valamint elvégeztük a 24 órás baktériumszuspenzió CFU meghatározását. Ezt követően meghatároztuk a baktériumszuspenzió azon töménységét, amely az eddigiek során használt LPS-nek megfelelő mértékben befolyásolja a sejtek életképességét, hogy a továbbiakban ezzel a koncentrációval dolgozzunk tovább. Vizsgáljuk a sejtekben kialakuló oxidatív stressz, gyulladás és integritás károsodás mértékét, összehasonlítva ezeken keresztül az LPS és a baktériumtörzsek hatását. A ko-kultúrában kialakuló kártétel megismerése után tanulmányozzuk az eddigiek során megismert jótékony vegyületek potenciális védőhatásait.

Kutatásunk egyik eredményeképp átfogó képet kapunk arról, hogy az eddigiekben alkalmazott LPS kezelés reprezentatív módon modellezi-e a bakteriális bélfertőzések során lejátszódó folyamatokat. Ezen felül a védőhatású anyagok ko-kultúrában történő vizsgálata megerősítheti az eddigiekben tapasztalt jótékony hatásokat, megalapozva ezáltal jövőbeni *in vivo* vizsgálatokat, hosszútávon pedig ezen anyagok gyakorlati használatát, amellyel hozzájárulhatunk az antibiotikum-rezisztencia csökkentéséhez.

Kutatásaink az NKB támogatásával valósultak meg.

KLÓRPIRIFOSZ ÉS TEBUKONAZOL HATÓANYAGÚ PESZTICIDEK EGYEDI ÉS EGYÜTTES MÉRLEGHATÁSÁNAK VIZSGÁLATA HÁZITYÚK-EMBRIÓKON

Major László^{1*}, Budai Péter¹, Buda István¹, Szemerédy Géza¹, Lehel József², Szabó Rita¹

Vizsgálatunk célja, hogy tanulmányozzuk a növényvédelemben széles körben felhasználásra kerülő Pyrinex 48 EC (480 g/l klórpírifosz) inszekticid és Mystic 250 EW (250 g/l tebukonazol) fungicid növényvédelmi gyakorlatban érvényesülő együttes expozíciójának, a tesztszervezetként választott házityúk embrionális fejlődésére gyakorolt toxikus hatását.

A rovarölő szer 1%-os, míg a gombaölő szer 0,4%-os koncentrációjú emulziójának alkalmazása gyakorlati permetlé töménységnek felelt meg. A keltetést megelőzően a vizsgálati anyagokat 0,1 ml végtérfogóban injektáltuk a tojások légkamrájába.

A korai embrionális fejlődési vizsgálat az inkubáció 3. napján, az embriókból tárgylemezen rögzített csírákorong metszetek készítésével és fénymikroszkóp alatti tanulmányozásával történt. A keltetés 19. napján elvégzett kórbonctani feldolgozás során lemérésre került az embriók testtömege, a máj és szív tömege, rögzítésre került az elhalások száma és a makroszkópos deformitások típusa és aránya. Az embriómortalitási adatok és fejlődési rendellenességek biometriai értékelése Fisher-féle egzakt teszttel, a test- és szervtömeg adatok statisztikai vizsgálata egytényezős varianciaanalízissel történt.

A fejlődés korai szakaszának vizsgálatok az egyedileg kezelt csoportokban az embrióelhalás kismértékű növekedése volt tapasztalható, az együttes kezelés eredményeként azonban már szignifikáns mértékű emelkedés mutatkozott a kontroll csoporthoz képest. A malformációk előfordulási gyakorisága a vizsgálati anyagokkal egyedileg és együttesen kezelt csoportokban egyaránt statisztikailag igazolható szignifikáns emelkedést eredményezett a kontrollhoz viszonyítva. A 19. napi feldolgozás során a klórpírifosz és a tebukonazol hatóanyagú készítményekkel elvégzett egyedi és együttes kezelések is szignifikáns mértékű embriómortalitást eredményeztek a kontrollhoz viszonyítva, továbbá az együttesen kezelt csoportban a tebukonazzal egyedileg kezelt csoporthoz képest is szignifikáns emelkedés volt tapasztalható. Makroszkópos deformitások a kezelt csoportokban sporadikusan fordultak elő. A kísérleti anyagokkal elvégzett egyedi és kombinációs kezelések eredményeként, a kezelt csoportokban az élő embriók testtömeg értékei szignifikánsan kisebbek voltak a kontrollhoz viszonyítva. A kezelt csoportokban szignifikáns csökkenés volt megfigyelhető a májak tömegének alakulásában, míg a szív tömegének kismértékű növekedését tapasztaltuk a klórpírifosszal egyedileg kezelt csoportban és az együttesen kezelt csoportban.

A kísérlet során kapott eredmények alapján elmondható, hogy az egyedileg és az együttesen kezelt csoportokban a vizsgálati anyagok embriótoxikusnak bizonyultak, a kombinációban alkalmazott növényvédő szerek additív jellegű együttes méreghatása érvényesült. Teratogén hatás nem volt igazolható.

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

A NEWCASTLE-BETEGSÉG VÍRUSA ELLENI IMMUNIZÁLÁS TÁMOGATÁSA HUMUSZANYAGOKKAL BROJLERCSIRKE ÁLLOMÁNYBAN

Palócz Orsolya^{1*}, Leitold József², Csikó György¹

A Newcastle-betegség (baromfipestis) vírus (NDV) egy paramyxovírus, amely a madarakban, főként házi baromfifélékben okoz megbetegedést. Az NDV minden évben hatalmas gazdasági veszteségeket okoz a baromfiágazatban. A betegség kezelésére nincs mód, tehát a hangsúlyt a megelőzésre kell fektetni. A baromfiállományokat rutinszerűen vakcinázzák NDV ellen. A különböző takarmánykiegészítők hatékonyak lehetnek a védettség kialakulásának elősegítésére. Korábbi vizsgálataink során fulvosav kiegészítéssel sikerült többlet ellenanyag szint kialakulását elérni bakteriális vakcina alkalmazása után csirkékben.

A tanulmányt annak megállapítása céljából végeztük, hogy telepi viszonyok között a brojlercsirkékben alkalmazott humin és fulvosav tartalmú készítmény itatása elősegíti-e az egységes és magas szintű védettség kialakulását Newcastle disease virus (NDV) elleni immunizálás során.

A brojlercsirke állományt három csoportra osztottuk. Az első csoport 10 napon át, az itatórendszeren keresztül humin- és fulvosav tartalmú takarmány-kiegészítőt kapott, a második csoport öt napon át kapta a humin- és fulvosav tartalmú takarmány-kiegészítőt (Vitapol[®]), míg a kontroll csoport tagjai a kezelési időszakban normál telepi rutin szerinti ivóvíz ellátásban részesültek. Minden egyed két alkalommal immunizáltunk. Vérvétel a telepi vakcinázás előtt majd azt követően három héttel történt. A szérumminták NDV ellenanyag szintjének megmérése Newcastle Disease Virus Antibody ELISA kittel történt.

Mind a kontroll, mind a Vitapolt kapó két csoportban megfelelően nagy ellenanyag szintek voltak mérhetőek. A csoportok átlagát tekintve a kontroll csirkékben valamivel kisebb szint és hasonló szórás érték (6474 ± 770) volt mérhető, mint a kiegészítést 10 napon át kapott állatok esetében (6679 ± 734). A Vitapolt 5 napon át kapó egyedekben szignifikánsan ($p=0,024$) nagyobb volt az NDV ellenanyag szint a kontroll állatok titerértékeivel összevetve.

Az öt napon át adott humin- és fulvosav kiegészítés megnövelte a keringő ellenanyag mennyiségét NDV vakcinázást követően a brojlerállományban. E takarmánykiegészítés megfelelő ideig történő alkalmazásának gazdasági előnye lehet, hiszen az állományok védettsége fokozódik, tehát a betegség kialakulásának esélye csökken.

A DEOXINIVALENOL ÉS A T-2 TOXIN GYULLADÁSKELTŐ ÉS OXIDATÍV STRESSZ-INDUKÁLÓ HATÁSÁNAK *IN VITRO* VIZSGÁLATA

Szabó Orsolya^{1*}, Pomothy Judit¹, Czimmermann Ágnes E.¹, Babitzky Ákos², Pásztiné-Gere Erzsébet¹

A gabona és a gabona alapú élelmiszerek potenciális mikotoxin szennyezettsége jelentős veszélyt hordoz magában. A táplálkozással bevitt, a *Fusarium* fajok által termelt, trichotecén vázas deoxinivalenol (DON) és T-2 toxin változatos megjelenésű és időtartamú betegségeket okozhat, így a jelentős gazdasági károkon túl súlyos egészségügyi kockázatot jelent. A DON és T-2 toxin együttesen is előfordulhatnak a fertőzött növényekben, ezért kombinációjuk hatásának feltérképezése gyakorlati jelentőségű bélhámsejt modelleken.

A kutatás során humán, nem-daganatos vékonybélhám sejtvonalon, a HIEC-6 sejteken vizsgáltuk a DON-t és a T-2 toxint önmagában és kombinációban alkalmazva. A sejtek életképességét MTS módszerrel, az extracelluláris hidrogén-peroxid (H₂O₂) szintet Amplex Red technikával, az intracelluláris redox állapotot DCFH-DA próbával, az IL-6 és IL-8 gyulladós citokinek koncentrációját szendvics ELISA-módszerrel valamint a klaudin-1 és az okkludin lokalizációját immunfluoreszcens festéssel, konfokális mikroszkóppal határoztuk meg.

24 órás kísérleti eredményeink szerint DON esetében 5 µmol/L, T-2 toxin esetében 10 nmol/L és DT2 kombinációs kezeléseknél 5 µmol/L DON + 10 nmol/L T-2 koncentrációknál szignifikáns sejthalált figyeltünk meg. 24 órával a kezelés után az 1 µmol/L DON és az 5 nmol/L T-2 kezelés, illetve az 1 µmol/L DON + 5 nmol/L T-2 kombinációs DT2 kezelés szignifikánsan emelte meg az extracelluláris H₂O₂ termelést és az intracelluláris oxidatív stresszt a kontroll értékekhez képest. A kezeléseket mindegyike szignifikánsan növelte az IL-6 és IL-8 szinteket mikotoxin terhelést nem kapott sejtek alap IL-6 és IL-8 termeléséhez képest. A mikotoxin expozíció csökkentette a klaudin-1 fehérje expresszióját, míg az okkludin fehérje expressziója változatlan maradt.

Összefoglalva, kutatásunk során megállapítottuk, hogy a HIEC-6 sejtvonal alkalmas vizsgálati modell az élelmiszerekben előforduló mikotoxin szennyezések gyulladáskeltő és oxidatív stresszt előidéző tulajdonságainak meghatározásában. Az eredményeink alapján megállapítható, hogy a nem- citotoxikus koncentrációban adott mikotoxin kezeléseket növelték az extra- és intracelluláris oxidatív stresszt, illetve a gyulladós IL-6 és IL-8 citokinek termelődését. A DON és a T-2 külön-külön, illetve kombinációban alkalmazva is szignifikánsan csökkentette a TJ fehérjék közül a klaudin-1 expresszióját, míg az okkludin koncentrációja nem változott szignifikáns mértékben a mikotoxin expozíciót követően.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósult meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.1-16-2016-00024 és EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005). A kutatás az ÁTE NKB és az NKFIH 124522 valamint a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásával készült.

MATRIPTÁZ GÁTLÓ VEGYÜLETEK CYP IZOENZIMEK AKTIVITÁSÁRA GYAKOROLT HATÁSA

Varga Eszter*, Nagy Gábor, Szimrók Zoltán, Szentkirályi Anna, Fedor Zsófi, Pásztiné Gere Erzsébet

A citokróm P450 (CYP) izoenzimek működése kiemelkedő jelentőségű a xenobiotikumok biotranszformációs folyamataiban, amelyek közül a CYP1, CYP2, és CYP3 enzimes család a gyógyszerek metabolizmusának közel 80%-áért felelős. A máj CYP izoenzimek aktivitásának mérésével lehetőség nyílik gyógyszerkölcsonhatások előjelzésére *in vitro* farmakokinetikai vizsgálatok során.

Kísérleti munkánkban 4 gyógyszerjelölt matriptáz enzimet gátló vegyület (MI-432, MI-463, MI-482, MI-1900) CYP1A2, CYP2C19, és CYP3A4 aktivitására gyakorolt hatását vizsgáltuk és hasonlítottuk össze humán májsejtekben és patkány, majom, humán eredetű mikroszómákban. A sejtek életképességét MTS méréssel, a CYP izoenzimek aktivitását mikroszómákban fluoreszcens eljárással, májsejtek esetében lumineszcens módszer segítségével határoztuk meg.

Eredményeink szerint a MI-432 és a MI-1900 100 μM koncentrációban szignifikánsan csökkentette a humán májsejtek életképességét 24 óra alatt. A lumineszcencia méréseink alapján a CYP1A2 izoenzimek aktivitását a MI-432 és a MI-1900 gyógyszerjelölt vegyületek 50 μM koncentrációban nem befolyásolták jelentős mértékben. A patkány, majom és a humán mikroszómális CYP1A2 izoenzimre gyakorolt hatások összehasonlítása alapján kijelenthető, hogy a majom mikroszóma esetében ezen izoenzim aktivitásában szignifikáns csökkenés látható minden alkalmazott matriptáz gátló esetében, ezzel ellentétben a patkány és a humán mikroszóma esetében nem történt CYP1A2 aktivitás változás matriptáz gátlás hatására. Majom mikroszómában nem detektáltunk CYP3A4 izoenzim aktivitás csökkenést, ezzel ellentétben patkány és humán mintákban a 4 matriptáz gátló vegyület hatására szignifikáns különbség adódott az izoenzim aktivitásában a kontrollhoz viszonyítva. A CYP2C19 enzimre gyakorolt hatások összehasonlítása alapján szignifikáns változás csak a majom eredetű mikroszóma esetén figyelhető meg matriptáz inhibitorok alkalmazása során.

Összefoglalva megállapítható, hogy mikroszómákon végzett kísérletek szerint a matriptáz gátlók hatására leginkább a CYP3A4 izoenzim aktivitása csökken szignifikáns mértékben humán és patkánymintákban, a majom mikroszóma esetében azonban elsősorban a CYP1A2 és a CYP2C19 gátlás figyelhető meg. HPLC/MS méréssel lehetővé válik a későbbiekben a biotranszformáció során a mikroszómákban keletkező matriptáz gátlók metabolitjainak beazonosítása és mennyiségi meghatározása is. A projekt folytatásaként további cél az összehasonlítások szélesebb körben történő elvégzése más állatfajokból származó mikroszómák illetve májsejtek felhasználásával, valamint további izoenzim profilok vizsgálata állatfajonként.

A kutatás az ÁTE NKB és az NKFIH 124522, valamint a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj és az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-5 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

FRUKTÓZ HATÁSA A HIPPOCAMPUS SZINAPTIKUS ULTRASTRUKTÚRÁJÁRA

G. Mark Marcello¹, Sótonyi Péter¹, Süth Miklós¹, Andrásófszky Emese², Rác Bence^{1*}

A megfelelő energiabevitel elengedhetetlen az életfunkciók fenntartásához, de a túlzásba vitt energiabevitel már egészségkárosító, sőt kognitív funkciókban is okozhat változásokat. Ismert, hogy a táplálkozás során felvett különböző szénhidrátok különböző biológiai és metabolikus hatásokkal rendelkeznek, és arra vonatkozó adatok is vannak, hogy ezen hatásokon túl a kognitív idegi folyamatokat is képesek befolyásolni. Mindezek arra utalnak, hogy a különböző szénhidrátfajták szinaptikus plaszticitási folyamatokat képesek befolyásolni az agyban.

A fruktózzal újabb kiderült, hogy károsíthatja a hippocampus-függő tanulási folyamatokat és túlzott fruktóz bevitel csökkent kognitív képességekkel társul. Arról azonban nincsenek adataink, hogy milyen szerkezeti változások állnak ezen elváltozás hátterében. Munkánk során arra kerestünk választ, hogy a tartósan magas fruktóz bevitel vajon okoz-e szinaptikus neuropil szerkezeti változásokat a tanulás és memória-funkciókért felelős agyterületen.

Fruktóz-, glükóz- ill. keményítő szénhidrátforrás alapú takarmányokat készítettünk, majd az ezzel etetett Wistar patkányok hippocampusának CA1-es régióját kvantitatív elektronmikroszkópos módszerrel vizsgáltuk. Az itt dominánsan előforduló, serkentő - glutamáterg - tüskeszínapszisok denzitását, méretét, morfológiáját transzmissziós elektronmikroszkópban digitálisan rögzítettük, megmértük, majd statisztikai módszerekkel analizáltuk. Eredményeink alátámasztják, hogy fruktóz hatására megváltoznak a hippocampális serkentő színapszisok bizonyos ultrastrukturális tulajdonságai, amely a kognitív funkciók és a metabolikus egyensúly közötti mechanisztikus kapcsolatra utal.

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)”