

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA  
Szie ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

**AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK**  
(2016. JANUÁR 25-28.)

**ÉLETTAN ÉS BIOKÉMIA**  
**KÓRTAN**  
**GYÓGYSZERTAN ÉS TOXIKOLÓGIA**  
**MORFOLÓGIA**

2015. évi 42. füzet

## ELŐSZÓ

### **Kedves Kolleganók és Kollegák!**

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és a SzIE Állatorvos-tudományi Doktori Iskolája 2016. január 25-28. között tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 42. alkalommal kerül sor a SzIE Állatorvos-tudományi Karán.

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 találkozásának.

Az előadások összefoglalóit – szekciófüzetekbe csoportosítva – elektronikus úton adjuk közre. A beszámoló füzetek anyaga az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet honlapján ([www.vmri.hu](http://www.vmri.hu) / MTA – Állatorvos-tudományi Bizottság) 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 Bizottsághoz ([akademia@vmri.hu](mailto:akademia@vmri.hu)) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekció elnökkel (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.

Gálfy Péter  
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter  
Dékán, TDK elnök

Vörös Károly  
ÁODI elnöke

Magyar Tibor  
MTA ÁTB titkára

**MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és SZIE-ÁOTK DI akadémiai beszámolóinak PROGRAMJA és szekcióbizottságai**  
(2016. január 25-28.)

<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. 25. hétfő</b> 8.30-	Élettan tanterem	Bartha Tibor Frenyó V. László Csikó György Sótonyi Péter	Jakab Csaba Jerzsele Ákos Petrilla Janka	Halasy Katalin Kutas Ferenc Rác Bence Neogrády Zsuzsanna Sályi Gábor Zsarnovszky Attila
Élelmiszer-higiéna Állategészségügyi Igazgatás	<b>I. 25. hétfő,</b> 11.00 -	Szülészeti tanterem	Laczay Péter Ózsvári László	Erdősi Orsolya	Dán Ádám Józwiak Ákos Kovács Sándor Lehel József, Szita Géza
Állathigiéna Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	<b>I. 25. hétfő</b> 8.30-	Belgyógyászat tanterem	Kovács Melinda Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre Cseh Sándor Fekete Sándor Gáspárdy András Jakab László Rafai Pál, Zöldág László
Bakteriológia	<b>I. 26. kedd,</b> 8.30-	Élettan tanterem	Nagy Béla Fodor László Magyar Tibor	Jánosi Szilárd	Hajtós István Bernáth Sándor Gyuranecz Miklós Makrai László Tenk Miklós, Tóth István
Virologia Immunológia	11.30-		Bakonyi Tamás Harrach Balázs Tuboly Tamás	Pálfí Vilmos	Benkő Mária Dán Ádám, Hornyák Ákos Pénzes Zoltán Rusvai Miklós, Soós Tibor
Parazitológia Állattan Halkórtan	<b>I. 27. szerda</b> 8.30-	Élettan tanterem	Baska Ferenc Farkas Róbert Hornung Erzsébet	Eszterbauer Edit Sréter Tamás	Békési László, Csaba György Hornok Sándor, Kassai Tibor Molnár Kálmán Majoros Gábor Varga István
Klinikumok	<b>I. 28. csütörtök</b> 8.30-	Belgyógyászat tanterem	Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor Vörös Károly	Bakos Zoltán Pápa Kinga Szelényi Zoltán	Bikszai Imre Csébi Péter Gál János Vajdovich Péter

## TARTALOMJEGYZÉK

1. A RÉTEGMARÁS, MINT ANATÓMIAI KÉPALKOTÓ ELJÁRÁS: HUMÁN- ÉS ÁLLATORVOSI CÉLÚ VIZSGÁLATOK ÖSSZEHASONLÍTÁSA ÉS FEJLESZTÉSE  
Czeibert Kálmán, Baksa Gábor, Szabó Péter, Grimm András, Nagy Szilvia, Bogner Péter, Sótonyi Péter, Rácz Bence, Petneházy Örs
2. PATKÁNY AGYI ENDOTHELIALIS ÉS ASTROCYTA SEJT KO-KULTÚRA – EGY *IN VITRO* MODEL KIDOLGOZÁSA A HEPATICUS ENCEPHALOPATHIA KÓROKTANÁNAK VIZSGÁLATÁRA  
Bárány Zoltán, Somogyi Virág, Sterczer Ágnes, Frenyó V. László
3. ÖSZTROGÉN, PAJZSMIRIGYHORMONOK ÉS A ZEARALENON HATÁSA AZ ÖSZTROGÉN- ÉS PAJZSMIRIGYHORMON RECEPTOROK EXPRESSZIÓJÁRA FEJLŐDŐ KISAGYBAN  
Jócsák Gergely, Bartha Tibor, Goszleth Gréta, Zsarnovszky Attila
4. JÓLLAKOTTSÁGFÜGGŐ MITOKONDRIÁLIS METABOLIKUS ASZIMMETRIA HÍM PATKÁNYOK HYPOTHALAMUS-FÉLTEKÉINEK SEJTJEIBEN  
Tóth István, Kiss Dávid Sándor, Ashaber Mária, Frenyó V. László, Zsarnovszky Attila
5. TÁPLÁLÉKBEVITEL-CSÖKKENTÉS INDUKÁLTA SZINAPTIKUS VÁLTOZÁSOK RÁGCSÁLÓ HIPPOKAMPUSZBAN  
Rácz Bence, Babits Réka, Halasy Katalin, Sótonyi Péter
6. AZ INKRETIN ÉS INZULIN SZEKRÉCIÓ ELTÉRŐ ALAKULÁSA CSIRKÉBEN ÉS NYÚLBAN: ÖSSZAHASONLÍTÓ VIZSGÁLATOK  
Kulcsár Anna, Mátis Gábor, Petrilla Janka, Mackei Máté és Neogrády Zsuzsanna
7. AZ INZULIN JELÁTVITEL FEHÉRJESZINTŰ SZABÁLYOZÁSA TEJELŐ TEHENEK ZSÍRSZÖVETEIBEN  
Kenéz Ákos, Jürgen Rehage, Sven Dänicke, Korinna Huber
8. TERPINEN-4-OL ÉS NÁTRIUM N-BUTIRÁT GYULLADÁSCSÖKKENTŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA MÁJSEJT – KUPFFER-SEJT KO-KULTÚRÁKON  
Mátis Gábor, Kulcsár Anna, Kulcsárné Petrilla Janka, Orbán Kata, Neogrády Zsuzsanna
9. A TRANZMEMBRÁN SZERIN-PROTEÁZOK GÁTLÁSA SEJTRENDSZEREKBE  
Czimmermann Ágnes Eszter, Barna Réka Fanni, Meggyesházi Nóra, Pásztiné Gere Erzsébet
10. KVERCETIN ÉS METOXI- SZÁRMAZÉKAINAK OXIDATÍV STRESSZRE GYAKOROLT HATÁSA IPEC-J2 SEJTEKEN  
Karancsi Zita, Szabó Andrea, Farkas Orsolya, Gálfi Péter
11. FLAVONOIDOK HATÁSA A CITOKRÓM P450 ENZIMRENDSZERRE SERTÉS BÉLHÁM SEJTKULTÚRÁN  
Kovács Dóra, Palócz Orsolya, Karancsi Zita, Csikó György, Farkas Orsolya

12. 3D SEJTTENYÉSZETEK HATÓANYAGOK ÉS KEZELÉSEK TESZTELÉSÉRE: EGY ÍGÉRETES MÓDSZER A JÖVŐ IN-VITRO KUTATÁSAIHOZ  
Kővágó Csaba, Jake Oster-Weinberg, Kiss Éva, Vancsik Tamás, Gálfi Péter
13. XENOBIOTIKUMOK HATÁSA HÁZINYÚL EREDETŰ CITOKRÓM P450 ENZIMRENDSZERRE *IN VIVO* ÉS *IN VITRO*  
Palócz Orsolya, Farkas Orsolya, Szentmiklósi Diána, Nagy Tamás és Csikó György
14. BAROMFIKOLERA VAKCINA VÉDŐHATÁSÁNAK TÁMOGATÁSA BÉTA-GLÜKÁNNAL  
Somogyi Zoltán, Palócz Orsolya, Csikó György
15. KUTYA BŐRGYULLADÁS ESETEIBŐL IZOLÁLT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS* ÉS *STREPTOCOCCUS CANIS* TÖRZSEK ÉRZÉKENYSÉGE AZITROMICINRE, MIKONAZOLRA ÉS SZULFAMETOXAZOLRA, ILLETVE EZEN HATÓANYAGOK SZINERGIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA  
Jerzsele Ákos, Veres Adrienn Mercédesz, Lukács Károly, Balogh Tamás, Gálfi Péter
16. *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS* TÖRZSEK 8-NAPOS SOROZAT-PASSZÁLÁSÁNAK HATÁSA MARBOFLOXACINNAL, ILLETVE MARBOFLOXACIN-GENTAMICIN (1:1) KOMBINÁCIÓVAL SZEMBENI REZISZTENCIA ALAKULÁSÁRA  
Jerzsele Ákos, Gyetvai Béla, Veres Adrienn Mercédesz, Lang Zsolt, Veszprémi Vanda, Gálfi Péter

## A RÉTEGMARÁS, MINT ANATÓMIAI KÉPALKOTÓ ELJÁRÁS: HUMÁN- ÉS ÁLLATORVOSI CÉLÚ VIZSGÁLATOK ÖSSZEHAJONLÍTÁSA ÉS FEJLESZTÉSE

Czeibert Kálmán<sup>1</sup>, Baksa Gábor<sup>2</sup>, Szabó Péter<sup>3</sup>, Grimm András<sup>2</sup>, Nagy Szilvia<sup>4</sup>, Bogner Péter<sup>4</sup>, Sótonyi Péter<sup>1</sup>, Rácz Bence<sup>1</sup>, Petneházy Örs<sup>5</sup>

Bevezetés, célkitűzések: Az ember és állat anatómiájának, felépítésének tanulmányozására számtalan lehetőség áll a szakemberek rendelkezésére. A közvetlen szöveti megjelenítés esetében a makroszkópos, egyszerű boncolástól, a művészi igényességgel kivitelezett preparáláson, valamint a mikroszkópos, szövettani vizsgálatokon és a plasztinációs eljárásokon át egészen a korróziós anatómiáig számos megoldás létezik. A közvetett technikák, mint a mai fejlett képalkotó diagnosztikai módszerek (CT, MR, UH, PET-CT, PET-MR, SPECT stb.) az ún. szelet-anatómia minél részletgazdagabb ismeretét kívánják meg annak érdekében, hogy a közvetett eljárások által kapott eredményt pontosan lehessen értelmezni (műtermék-képződési hatástól függetlenül). A szelet-anatómiával régóta foglalkoznak a szakterület művelői, és a technika haladásával egyre jobb eredményeket lehet felmutatni (Visible Human Project, Visible Korean Human, Chinese Visible Human). Vizsgálatunkban bemutatjuk az elmúlt évtizedekben szerepet játszó főbb humán és állatorvosi jelentőségű vizsgálatokat, és összevetjük azokat a saját kísérleteink eredményével.

Anyag és módszer. A szelet-anatómiában két fő irányvonal létezik: az egyik, amikor tényleges szeletek készülnek a régióról, a másik pedig, amikor az adott testet folyamatosan rétegmárva (kriomakrotomizálással) csak a felszíni kép kerül rögzítésre. Hagyományos szeleteléses eljárással mutatjuk be egy pulyka és egy disznó keresztmetszeti képeit: mindkét esetben fix keretrendszerben történő képalkotó vizsgálatok után poliuretán habba ágyaztuk a testeket, mely egyenletesen tágulva kitöltötte a test melletti területet, és stabilan rögzítette a végtagokat. Az így elkészült blokkokat  $-80^{\circ}$ -os hűtőben tároltuk, majd egy héttel később tetemfűrésszel 8 mm-es vastagságú szeleteket készítettünk a testekből, (a munkapad kontakt felszínét folyamatosan hűtve szárazjéggel), majd rögzített állványú kamerával (Nikon D800) digitalizáltuk az egyes szeleteket. A rétegmárásnál a beágyazóközeget először poliuretán hab, majd víz-zselatin keveréke alkotta, így össze tudtuk hasonlítani több koponyablokkon mind a beágyazóközeg hatását, mind a különböző marórendszereket, 1 mm-től 50  $\mu$ m-ig terjedő rétegvastagsággal.

Eredmények és következtetés. Mivel az egyre szigorodó etikai szabályozás (mind a humán, mind az állati tetemfelhasználásban) nem teszi bárki számára lehetővé a kísérletek gyakori megismétlését, ráadásul a vizsgálatok elvégzése magas fokú technikai és anatómiai szakismeretet igényel, és költségigényük is kiemelkedő a többi eljáráshoz képest, így fontos, hogy egy-egy adatbázis minél több célra legyen felhasználható, és a lehető legjobb képalkotó modalitásokkal rendelkezzen. A rétegmárás így hidat alkot a bevezetőben említett közvetlen és közvetett vizsgálatok között: egyaránt bemutatja és összehasonlíthatóvá teszi a hagyományos képalkotó eljárások leleteit (annak minden előnyével és nehézségével), valamint a valós anatómiai viszonyokat, és az olyan esetekre is le lehet vonni a következtetéseket, amikor egyébként csak *in vivo* vizsgálatra van mód.

## PATKÁNY AGYI ENDOTHELIALIS ÉS ASTROCYTA SEJT KO-KULTÚRA – EGY *IN VITRO* MODEL KIDOLGOZÁSA A HEPATICUS ENCEPHALOPATHIA KÓROKTANÁNAK VIZSGÁLATÁRA

Bárány Zoltán<sup>1</sup>, Somogyi Virág<sup>1</sup>, Sterczer Ágnes<sup>2</sup>, Frenyó V. László<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A hepaticus encephalopathia (HE) egy orvosi és állatorvosi vonatkozásban is jelentős neuropszichiátriai kórkép, melynek kóroki hátterében akut vagy krónikus májelégtelenség és/vagy portoszisztémás-sönt áll. Ezen elváltozások a máj méregtelenítő funkciójának kiesése által az ammónia vérplazmabeli szintjének megemelkedéséhez vezetnek, amely átjutva a vér-agy gáton, számos cerebrális kórfolyamat kialakulásáért felelős, melyek végül a HE-re jellemző tünetek egy jelentős részéhez vezetnek. Az ammónia mellett egyéb kóroki tényezők is bizonyítást nyertek, úgymint a szisztémás gyulladás valamint a mangán és az aromás aminosavak vérplazmabeli szintjének megemelkedése. Ezek szintén hozzájárulnak az agy funkciójának károsodásához. Az említett faktorok – közvetlenül vagy a vér-agy gáton mint barrieren keresztül közvetve – az eddigi ismereteink szerint elsődlegesen az astroglia sejtek működését, ezáltal pedig a neuronok funkcióját is károsítják. Bár a HE-vel kapcsolatban igen sok kísérletes eredmény áll rendelkezésünkre, ennek ellenére az astrocytákban lezajló mechanizmusok (duzzadás, bioenergetika, gyulladáshoz vezető folyamatok), valamint a vér-agy gát patológiás elváltozásának (permeabilitás változás) mikéntje, illetve az ahhoz vezető folyamatok pontosan nem ismertek, illetve a megszerzett ismeretek zavarba ejtően ellentmondásosak.

**Cél:** Kutatócsoportunk az elmúlt évben új kutatási irányvonalat nyitott, mely a HE kórképével kapcsolatosan a gliasejtekben lejátszódó kóros folyamatok mikéntjét igyekszik felderíteni. A fenti ismeretek alapján célunk az volt, hogy kidolgozzunk egy rutinszerűen megvalósítható protokollt, amely segítségével előállítható egy a HE kóroktani folyamatainak vizsgálatára alkalmas primer astrocyta sejtenyészet (és ezt kiegészítve a későbbiekben egy astrocyta-endothel ko-kultúra) mint kísérletes modell.

**Módszer:** A sejtenyészet előállítására 2 napos Wistar patkányok használtunk fel. A belőlük nyert agyakat (a kisagyakat mellőzve) az agyhártyától megtisztítjuk, enzimesen emésztjük, szuszpendáljuk, majd a kapott sejtuszpenziót lizinezett Petri csészékbe szélesztjük (1 állat/1db 10 cm átmérőjű Petri-csésze). A kiültetett sejteket meghatározott összetételű, adott időközönként cserélt tápoldatban két héten át inkubáljuk. Az így kapott sejt kultúra összetételét immunhisztokémiai eljárással ellenőrizzük (GFAP [glial fibrillary acid protein] és DAPI [4',6-diamidino-2-fenilindol] festés).

**Eredmények:** Az általunk létrehozott astrocyta sejt kultúra a kiültetést követő két hét elteltével egyrétegű, összefüggő, ép morfológiájú sejtek alkotta tenyészetet képezett. Az immunhisztokémiai vizsgálatok alapján igazolták, hogy a sejt kultúrát több mint 90%-ban astrocyták teszik ki.

**Következtetés:** Az általunk kidolgozott és beállított primer astrocyta sejt kultúra morfológiai jellemzői, ebből következően életképessége és összetétele az irodalmi adatok alapján megfelelő, a rajtuk elvégzendő vizsgálatok megvalósíthatóak, később pedig az agyi endothel-astrocyta ko-kultúra létrehozásához felhasználhatóak.

A munkát az NKB 15991 és a KK-UK 12123 sz. pályázatok finanszírozták.

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

Jócsák Gergely<sup>1</sup>, Bartha Tibor<sup>1</sup>, Goszleth Gréta<sup>1</sup> és Zsarnovszky Attila<sup>2,3</sup>

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

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

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

**Eredmény:** 1. Mindkét hormoncsalád receptorainak expressziója az adott hormonok önmagukban és egymással való kombinációban is determinálják; 2. A glia fontos mediátora a receptor expressziót szabályzó hormonhatásoknak; 3. A ZEA jellegzetesen és markánsan megváltoztatja a hormonok által beállított ösztrogén- és PMH receptor szinteket.

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

**Köszönetnyilvánítás:** Köszönet illeti a SzIE-ÁOTK Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát részben az NKB 15984 sz. pályázat és a KK-UK 2015 12107 sz. pályázat finanszírozta



## JÓLLAKOTTSÁGFÜGGŐ MITOKONDRIÁLIS METABOLIKUS ASZIMMETRIA HÍM PATKÁNYOK HYPOTHALAMUS-FÉLTEKÉINEK SEJTJEIBEN

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

**Bevezetés:** A táplálékfelvétel és szaporodásbiológia irányításában központi szerepet játszó hypothalamus anatómiailag és funkcionálisan zsúfolt felépítést mutat. A szövettanilag szimmetrikus felépítés ellenére a hypothalamust a mai napig egységes területként kezelik, ahol a két oldalon található, azonos magokhoz tartozó idegsejtek azonos élettani feladatokat látnak el. Kutatócsoportunk kimutatta, hogy a szimmetrikus elhelyezkedő magcsoportok ellenére a tápláltsági állapot változásával összefüggésben a jobb és bal oldali hypothalamus felekben eltérő mértékű változások jellemzik a táplálékfelvételt irányító szabályozó folyamatokat.

**Cél:** A fenti ismeretek alapján kijelenthető, hogy az anatómiailag szimmetrikus hypothalamicus régiók egymástól eltérő mértékben részesednek az egyes funkciók betöltésében. E jelenség alapján a hypothalamus két féltékéje között mérhető metabolikus eltérés az éhezés-jóllakottság ciklusnak megfelelően dinamikusan változik.

**Módszer:** Kísérleteink során intakt hím Wistar patkányokat használunk fel, célkitűzésünk értelmében a hypothalamus szóban forgó területeit mitochondriális légzésmérés segítségével vizsgáljuk. Az állatokat 12 sötét-világos ciklus szerint, *ad libitum* vízhozzáféréssel tartottuk. A táplálásuk programozott etetéssel történt: az állatok napi egyszer egy órán keresztül fértek hozzá a standard rágesálótáphoz a világos ciklus első órájában. A hypothalamicus minták gyűjtése az éhezés-jóllakottság ciklus különböző (összesen 11) időpontjában történt.

**Eredmények:** A vizsgálati ciklus alatt a hypothalamus két féltékéje között mérhető metabolikus különbség dinamikus ingadozást mutatott. A metabolikus aszimmetria mértékében tapasztalt dinamikus változás azonban az éhezés-jóllakottság ciklus kívül a cirkadián ritmussal is összefüggésbe hozható.

**Következtetés:** Az eredményeinkben bemutatott hypothalamicus metabolikus aszimmetria egyértelmű ciklikus ingadozást mutat, amely részben a jóllakottság mértékével, részben pedig a cirkadián ritmussal hozható összefüggésbe. Annak tisztázására, hogy a fenti két tényező hogyan és milyen mértékben áll a lateralizált metabolikus változások hátterében, 1) a két tényező időbeli lefutását el kell egymástól választani, és 2) specifikus, vérkeringésben található és/vagy hypothalamicus faktorokat kell behatóan megvizsgálni.

**Köszönetnyilvánítás:** Köszönet illeti a SzIE-ÁOTK Élettani tanszék minden munkatársát a kutatásokban való lelkes szakmai közreműködésükért. A munkát részben az NKB 15993 sz. pályázat finanszírozta.

**TÁPLÁLÉKBEVITEL-CSÖKKENTÉS INDUKÁLTA SZINAPTIKUS VÁLTOZÁSOK RÁGCSÁLÓ HIPPOKAMPUSZBAN**

Rácz Bence, Babits Réka, Halasy Katalin, Sótonyi Péter

Az elhízás hatalmas méretű terjedése miatt intenzív kutatás fókuszában állnak azon agyterületek, amelyek metabolikus vagy hormonális úton szerepet játszanak a táplálékbevitel szabályozásában. Napjainkra vált egyértelművé, hogy a táplálékfelvétellel kapcsolatos folyamatok tanulási magatartás-mintázatokkal hozhatók összefüggésbe, ezért a háttérben húzódó neuronális mechanizmusok ismerete elengedhetetlen ezek megértéséhez. Az utóbbi években a hippocampusz (amely a tanulás és memóriefolyamatok szempontjából a legjelentősebb agyterület) egyre nagyobb figyelmet kap sokrétű idegi funkciói miatt. A hippocampusz térbeli tájékozódást és memóriát kialakító funkciója mellett igen fontos szerepet játszik a szervezet belső miliójából érkező információk (pl. szomjúság vagy éhség) viselkedési mintázatokká alakításában, ezáltal kapcsolófunkciót lát el a motiváció és emlékyomok koordinált viselkedéssé alakításában. Az éhségérzet amellet, hogy élettani változásokat indukál ezen agyterületen, nagy valószínűséggel morfológiai változásokat is előidézik a hippocampusz plasztikus ideghálózatában. Tanulási folyamatok egyértelműen előidézik ilyen változásokat, de arról igen kevés ismeretünk van, hogy milyen szerkezeti változások történnek a szinaptikus környezetben különböző metabolikus hatásokra.

Kísérleteink során akut éheztetés hatását vizsgáltuk kvantitatív elektronmikroszkópos módszerekkel patkány hippocampuszban. Mivel a hippocampális dendrittüskék alak és méretváltozásai alapvető szerepet játszanak a szinaptikus hatékonyság kialakításában, vizsgálatainkat a hippocampusz CA1 stratum végeztük, amely a szinaptikus plaszticitási folyamatok legkedveltebb modell területe. Eredményeink szerint már az ilyen rövid ideig tartó táplálékmevönás is specifikus ultrastrukturális változásokat indukál a hippocampuszban.

## AZ INKRETIN ÉS INZULIN SZEKRÉCIÓ ELTÉRŐ ALAKULÁSA CSIRKÉBEN ÉS NYÚLBAN: ÖSSZAHASONLÍTÓ VIZSGÁLATOK

Kulcsár Anna, Mátis Gábor, Petrilla Janka, Mackei Máté és Neogrády Zsuzsanna

**Bevezetés:** Az inzulin jelentős szerepet tölt be a szénhidrát anyagcsere és a növekedés szabályozásában, így jelátviteli mechanizmusának és szekréciójának befolyásolhatósága különböző haszonállatokban termelés élettani szempontból különös fontossággal bír. Az inzulinnak a hasnyálmirigyből való felszabadulását elsősorban a vékony- és vastagbélben termelődő inkretin hormonok, mint például a GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Peptide) és GLP-1 (Glucagon-like Peptide 1) szabályozzák. Ismert, hogy a *per os* alkalmazott butirát egérben mind az inkretin hormonok, mind az inzulin plazmabeli koncentrációját emeli, azonban más, fajokban hasonló vizsgálatot még nem folytattak.

**A munka célja:** Kutatásunk fő célja a szájon át alkalmazott butirát kezelés inkretinekre és inzulin szekrécióra kifejtett hatásának vizsgálata volt csirkében és házinyúlban. E két faj egyrészt modellként szolgálhat az emlős és madár fajok ugyanazon kezelésre adott válaszána összehasonlítására, másrészt, mivel takarmányozásukban a butirát potenciálisan alkalmazható hozamfokozó, eredményeink gyakorlati jelentőséggel is bírnak.

**Módszerek:** Vizsgálatainkhoz fiatal, az intenzív növekedés fázisában lévő Ross 308 broiler csirkéket (24 napos) és Pannon fehér nyulakat (7 hetes) használtunk. Mindkét faj esetén egyszeri szondán át bólusban adott nátrium-butirát kezelést alkalmaztunk két különböző dózisban (0,25 és 1,25 g/ttkg). A kezelés megelőzően, majd a kezelés után 10, 30 és 60 perccel vettünk vért az állatoktól. A plazma mintákból az inzulin, GIP és GLP-1 koncentrációt ELISA módszerrel határoztuk meg.

**Eredmények:** Csirkében a vérplazma GIP, GLP és inzulin koncentrációja is szignifikánsan csökkent a magasabb dózisú butirát kezelés hatására, a kontroll csoporthoz viszonyítva. Nyúlban a butirát kezelés az inzulin és a GLP-1 termelődését szignifikánsan nem befolyásolta, a GIP koncentráció viszont szignifikánsan csökkent az alacsonyabb butirát dózis hatására a kontroll csoportban mért értékekhez képest.

**Következtetések:** Eredményeink szerint a bólusban szájon át adott butirát kezelés különböző módon befolyásolja az inkretin hormonok és az inzulin termelődését csirkében és nyúlban, valamint adataink az egérben leírt hatással sincsenek teljes összhangban. A tapasztalt különbségek feltételezhetően a madarak és az emlősök szénhidrát-anyagcserejének eltéréseivel magyarázhatók, habár a különböző emlősfajok is eltérően reagáltak a butirát kezelésre. Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a butirát fajtól függő módon hat az inzulin és inkretin homeosztázisra, s ezáltal alkalmazása új utat jelenthet az anyagcsere és a növekedés endokrin szabályozásának nutritív úton történő befolyásolásában.

A kutatómunk az Emberi Erőforrások Minisztérium 9877-3/2015/FEKUT azonosítószámú támogatási szerződésének (KK-UK-12117) és az OTKA-114033 pályázat keretében valósult meg.

## AZ INZULIN JELÁTVITEL FEHÉRJESZINTŰ SZABÁLYOZÁSA TEJELŐ TEHENEK ZSÍRSZÖVETEIBEN

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

Tejelő teheneknél a laktáció kezdetén jelentkező energiadeficit nagy terhet ró számos anyagcsere-folyamatra. Az ehhez való adaptáció részeként az inzulin iránti érzékenység csökkenését figyelték meg, többek között a zsírszövetben is. Mivel az inzulin zsírszövetre gyakorolt élettani hatása elsősorban a glükózfelhasználás és a lipogenezis serkentésében, valamint a lipolízis gátlásában nyilvánul meg, az inzulin iránti érzékenység csökkenése elősegíti az energiadeficit okán szükségessé váló katabolikus folyamatokat, továbbá segít megőrizni a glükózt a tejmirigy számára. A zsírszövetben az inzulin érzékenység csökkenését szabályozó molekuláris mechanizmusok részleteiben nem tisztáztak. Jelen tanulmány célja az inzulin jelátvitelben kulcsszerepet játszó fehérjék expressziójának és foszforilációjának jellemzése tejelő tehenek szubkután és abdominális zsírszöveteiben az ellés körüli időszakban.

Hús Holstein tehéntől gyűjtöttünk ismételt biopsziás mintákat a szubkután (SC) és a retroperitoneális (RP) zsírszövetből 42 nappal az ellést megelőzően, illetve 1, 21 és 100 nappal az ellést követően. Western blot segítségével ezekben a mintákban meghatároztuk az inzulin jelátviteli pályában kulcsszerepet betöltő fehérjék – inzulin receptor, foszfatidil-inozit-3-kináz, protein-kináz C  $\zeta$ , protein-kináz B, AMP-aktivált protein-kináz, glükóz transzporter 4, zsírsav szintetáz, mammalian target of rapamycin és foszfodiészteráz 3 – expresszióját és/vagy foszforilációját. Az elléshez viszonyított idő és a zsírszövet helyeződésének (SC vagy RP) hatását a fehérjeexpresszióra és -foszforilációra statisztikailag ANOVA segítségével elemeztük.

A vizsgált fehérjék többségénél – beleértve az inzulin receptort is – az expresszió és/vagy foszforiláció szignifikáns csökkenését figyeltük meg az ellést követő 1. és 21. napon, az ellés előtti megfigyeléshez viszonyítva. A 100. napon a vizsgált értékek ismét megközelítették az ellés előtti 42. napon mért adatokat. A vizsgált fehérjék egy része fokozott expressziót mutatott a SC zsírszövetben a RP zsírszövethez képest. Az inzulin jelpálya kiterjedt jelátviteli hálózatában számos ponton megfigyelt egyidejű expresszióbeli és/vagy foszforilációbeli csökkenés a zsírszövet összehangolt reakciójaként értelmezhető, amely illeszkedik az ellés körüli időszakban zajló számos más adaptációs folyamathoz. A fehérjeszintű változások funkcionális következménye feltételezhetően abban nyilvánul meg, hogy a SC és RP zsírszövetben közvetlenül az ellés után ugyanaz az inzulin stimulus kisebb élettani választ vált ki, mint az elléstől távolabb eső időpontokban. A zsírszövetek ilyen módon, csökkent inzulin iránti érzékenységükkel aktívan hozzájárulhatnak az energiaforrások tejtermelés irányába történő átcsoportosításához.

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

## TERPINEN-4-OL ÉS NÁTRIUM N-BUTIRÁT GYULLADÁSCSÖKKENTŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA MÁJSEJT – KUPFFER-SEJT KO-KULTÚRÁKON

Mátis Gábor, Kulcsár Anna, Petrilla Janka, Orbán Kata, Neogrády Zsuzsanna

Napjainkban egyre nagyobb figyelem irányul a növényekben fellelhető biológiailag aktív anyagok és a bakteriális anyagcseretermékek gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálatára. Munkánk során az említett csoportokba tartozó terpinen-4-ol és nátrium n-butirát *in vitro* gyulladáscsökkentő hatékonyságát kívántuk tanulmányozni a korábban munkacsoportunk által létrehozott, sertés eredetű hepatocytá – Kupffer-sejt ko-kultúra, illetve hepatocytá mono-kultúra sejtmódellen.

A májsejteket és a Kupffer-sejteket 15 kg tömegű magyar nagyfehér fajtájú sertések májának *processus caudatus*-ából izoláltuk többlépcsős perfúzió és kollagenázzal történő emésztés segítségével. Mivel a hepatikus gyulladással folyamatok lefolyásától függően változó az egyes sejttípusok egymáshoz viszonyított aránya, vizsgálatainkhoz kétféle, 6:1 és 2:1 sejtarányú (hepatocytá:Kupffer-sejt) ko-kultúrát alakítottunk ki, melyekkel az akut és krónikus gyulladást kívántuk modellezni. A 24 óra alatt konfluenssé vált tenyészeteket bakteriális lipopoliszacharid (LPS, 1 és 10 µg/ml) és terpinen-4-ol (0,13 mg/ml) vagy nátrium n-butirát (2,5 mmol/l) egyidejű alkalmazásával kezeltük, majd 24 óra várakozási időt követően meghatároztuk a tápfolyadék IL-8 koncentrációját ELISA módszer segítségével. A kialakított sejtarányok ellenőrzéséhez az összefüggő sejttenyészeteken immunhisztokémiai módszer (macrophag-specifikus CD-68 antigén kimutatása) segítségével állapítottuk meg a Kupffer-sejtek arányát.

Az immunhisztokémiai vizsgálatok alapján a hepatocyták és a Kupffer-sejtek aránya a ko-kultúrákban megfelelt az általunk beállított sejtarányoknak. A tápfolyadék IL-8 koncentrációja a hepatocytá mono-kultúrák esetében szignifikáns csökkenést mutatott mindkét gyulladáscsökkentő szer hatására a csak LPS-sel kezelt sejtekhez képest. Ezzel szemben a ko-kultúrák esetén nem csökkent szignifikánsan a tápfolyadék IL-8 koncentrációja sem a terpinen-4-ol, sem a nátrium n-butirát hatására, noha az irodalmi adatok alapján mindkét vegyület jelentős gyulladáscsökkentő hatással rendelkezhet.

A ko-kultúrákon tapasztalt eredmények feltehetően azzal magyarázhatók, hogy ezen modellek az élettaninál nagyobb, az akut, ill. krónikus gyulladással állapotokra jellemző Kupffer-sejtaránya jelentősen emelkedett IL-8-termelést eredményez. Így a felhasznált anyagok alkalmazott koncentrációja már nem képes szignifikánsan mérsékelni az adott inkubációs idő alatt a gyulladással citokin-termelés mértékét. Eredményeink tehát megerősítik, hogy a citokinek termelésében és a gyulladással szabályozásában központi szerepű Kupffer-sejtek megfelelő arányú jelenléte nélkülözhetetlen a gyulladáscsökkentő anyagok hatékonyságának *in vitro* vizsgálatában, az alkalmazott ko-kultúrák tehát e célra is jó modelleként szolgálnak.

A kutatómunkát az NKB-15988 és OTKA-114033 pályázatok támogatásával végeztük.

## A TRANZMEMBRÁN SZERIN-PROTEÁZOK GÁTLÁSA SEJTRENDSZEREKBE

Czimmermann Ágnes Eszter<sup>1</sup>, Barna Réka Fanni<sup>1</sup>, Meggyesházi Nóra<sup>2</sup>, Pásztiné Gere Erzsébet<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A TMPRSS2 egy olyan membránhoz kötött szerin proteáz, amely szerepet játszik az influenzavírusos megbetegedésekben és egyes daganatok esetén a metasztázis képződés folyamatában.

**A munka célja:** Kísérleteinkben célul tűztük ki egy szintetikus 3-amidinofenilalanin alapvázú szelektív TMPRSS2 inhibitor, az I-432 gátlószer és a bélhám interakciójának jellemzését, valamint az inhibitor *in vitro* hatékonyságának meghatározását a metasztázis képződés gátlásában.

**Módszerek:** Kísérletünk során az I-432 hatásmódját nem tumorosan transzformált, membrán inzerten tenyésztett sertés jejunális eredetű IPEC-J2 sejteken vizsgáltuk. Az I-432 inhibitor sejtekre gyakorolt toxikus hatását Neutral red, a hidrogén-peroxid mennyiségét Amplex red módszerrel határoztuk meg. A TMPRSS2 expresszióját immunfluoreszcens festéssel és Western blot módszerrel vizsgáltuk. A TMPRSS2 proteáz aktivitását fluorogén szubsztrát hozzáadásával fluoriméterrel mértük. A metasztázis gátlás hatékonyságának megítéléséhez alkalmazott transzmigrációs kísérletek során áttétes humán emlőkarcinóma sejtvonalat, MDA-MB-231 sejteket használtunk, amelyeket hCMEC/D3 humán agyi endothelsejtekre helyeztünk és a tendencia változását mértük.

**Eredmények:** A citotoxicitási kísérletben bebizonyítottuk, hogy az IPEC-J2 sejtek I-432 inhibitorral való kezelése nem okozott sejtelhalást. Megfigyeltük továbbá a TMPRSS2 aktív szerin proteáz domén expressziójának csökkenését I-432 inhibitorral kezelt IPEC-J2 sejtek esetén. Az I-432 10-50  $\mu$ M koncentrációban történő apikális hozzáadásakor csökkenést tapasztaltunk a TMPRSS2 tripszinszerű aktivitásában koncentrációfüggő módon a sejtek felülúszójában. Az IPEC-J2 sejtek I-432 inhibitorral való 48 órás inkubációját követően a kezelés az immunfluoreszcens festődés részleges csökkenését eredményezte, amely a TMPRSS2 megoszlási mintázatának megváltozásából adódik. Az apikálisan hozzáadott I-432 gátló hatása során nem emelkedett meg a hidrogén-peroxid szint sem az apikális, sem a basolateralis kompartmentekben. A transzmigrációs mérés során megállapítottuk, hogy a TMPRSS2 gátlószernek nem volt szignifikáns hatása az emlőkarcinóma sejtek vándorlására az agyi endothel sejteken át.

**Következtetések:** Eredményeink alapján az I-432 inhibitor sikeresen gátolta a TMPRSS2 enzim tripszinszerű aktivitását a sejtek felülúszójában, valamint elsőként mutattuk ki, hogy az I-432 gátlószer csökkenti a TMPRSS2 aktív szerin proteáz doménjének expresszióját IPEC-J2 sejtekben. Kísérleti eredményeink hozzájárulhatnak a TMPRSS2 gátlása során fellépő farmakológiai hatások vizsgálatához, számos daganattípus és az influenzafertőzések *in vivo* kutatásához.

A kutatás a 15989 számú NKB pályázat és a SzIE ÁOTK 2015. évi Kutató Kari keretének támogatásával készült.

## KVERCETIN ÉS METOXI- SZÁRMAZÉKAINAK OXIDATÍV STRESSZRE GYAKOROLT HATÁSA IPEC-J2 SEJTEKEN

Karancsi Zita, Szabó Andrea, Farkas Orsolya, Gálfi Péter

A kvercetin a flavonoidok közé tartozó vegyület, melynek pozitív hatásait már régóta vizsgálják. Antioxidáns, erős gyulladáscsökkentő tulajdonsággal rendelkezik, továbbá antibakteriális, anti-proliferatív és anti-hipertenzív hatását is leírták. Előfordulása széleskörű, számos piros bogyós gyümölcsben, zöldségben előfordul, sőt a fekete teában, hársban, zsályában és a borban is. Szakirodalmi adatok alapján a kvercetin fokozza a máj glutation termelését, a szuperoxid-diszmutáz aktivitását és csökkenti a lipid peroxidációt, tehát fokozza a szervezet antioxidáns védő mechanizmusait. A fokozott oxidatív stressz krónikus gyulladáshoz, akár daganatos transzformációhoz vezethet, így ennek megelőzésére a kvercetin egy jó választásnak tűnik. Az oxidatív stresszre adott válasz történhet különféle jelátviteli utak befolyásolásával is, így nem csak a „klasszikus” antioxidánsoknak, hanem különféle származékaiknak is szerepük lehet szabadgyökök okozta káros hatások kivédésében. A hidroxil csoportok metoxi csoportra való cseréje a flavonoidok esetében nagyobb hatékonyságot eredményezhet, de a háttérben álló mechanizmusok nem pontosan ismertek.

A kísérlet során kvercetin és metoxi-származékainak hatását vizsgáltuk oxidatív stresszre nem daganatos, sertés eredetű bélhámsejteken (IPEC-J2). A munka célja, hogy különbséget ismerjünk fel az egyes hatóanyagok között és bizonyítsuk a kvercetin jótékony hatását a lipopoliszacharid (LPS) és  $H_2O_2$  által indukált oxidatív stresszben. Továbbá vizsgáltuk a tesztvegyületek esetleges prooxidáns hatását is.

Az IPEC-J2 sejteket 24 lyukú sejtenyészítő edényekben tenyésztettük. Neutral Red módszerrel vizsgáltuk, hogy a tesztvegyületek biztonságosan alkalmazhatók IPEC-J2 sejteken az általunk alkalmazni kívánt koncentráció tartományban. Oxidatív stresszt LPS 10  $\mu\text{g/ml}$  koncentrációjú oldatával, valamint  $H_2O_2$  0,5 mM-os oldatával váltottunk ki. A kísérletben kvercetin (Q), tamarixetint (4'-o-metil-kvercetin, Q1m) és kvercetin-3,7,3',4'-tetrametilétert (Q4m) 25 és 50  $\mu\text{M}$ -os koncentrációban teszteltünk. A sejteket a fentebb felsorolt anyagokkal egy órán át kezeltük, majd 24 óra elteltével DCFH-DA fluoreszcens próba alkalmazásával jellemeztük a sejtek intracelluláris redox állapotát. A kialakult fluoreszcencia intenzitás méréséhez fluorimétert használtunk 480 nm gerjesztési és 530 nm kibocsájtási hullámhossz beállítással. További mintákat tettünk félre extracelluláris  $H_2O_2$  szintjének meghatározásához, melyet Amplex Red próba alkalmazásával végzünk el.

A Q1m és Q4m származék 25  $\mu\text{M}$  koncentrációban csökkenti a sejten belüli ROS mennyiséget. Ugyanakkor 50  $\mu\text{M}$  kezelés esetében a szabadgyökök szintjének emelkedését tapasztaltuk a Q1m és Q4m kezelést követően, mely prooxidáns hatást valószínűsít. Az LPS kezelés a ROS szint növekedését okozta, melyre a kvercetin származékok nem voltak hatással. Hidrogén-peroxiddal történő együttes kezelés a metoxi-származékok esetében szintén ROS csökkenéshez vezetett. A kvercetin metoxi-származékai alkalmasak lehetnek az oxidatív stressz káros hatásának kivédésére. A pozitív hatás háttérben álló mechanizmusok felderítése további kísérletek tárgyát képezi. A hatás koncentrációfüggése miatt a kvercetin és származékainak használata fokozott óvatosságot igényel.

A kutatás 105718 számú OTKA posztdoktori pályázat, valamint a SZIE ÁOTK Doktori Iskola támogatásával készült.

## FLAVONOIDOK HATÁSA A CITOKRÓM P450 ENZIMRENDSZERRE SERTÉS BÉLHÁM SEJTKULTÚRÁN

Kovács Dóra, Palócz Orsolya, Karancsi Zita, Csikó György, Farkas Orsolya

A gyógyszerek és más xenobiotikumok metabolizmusában kulcsszerepet játszó citokróm P450 (CYP) enzimrendszer régóta a figyelem középpontjában áll a gyógyszerek kinetikájának vizsgálatakor. Ennek oka az, hogy a gyógyszer adminisztráció után (különösen orális beadási mód esetén) kialakuló plazmaszintet és a gyógyszer biológiai hasznosulását jelentősen befolyásolják a CYP enzimek által katalizált oxidációs folyamatok. Emellett, az azonos CYP izoenzim által metabolizált gyógyszerek, vagy táplálékkal, takarmánnyal bevitt xenobiotikumok interakcióba léphetnek egymással, illetve egyes szerek a citokróm P450 enzimek indukciójára vagy inhibíciójára is képesek lehetnek. Mindez nagy hatással lehet a gyógyszerek alkalmazandó dózisára, és a toxicitásukra is. A CYP enzimek legnagyobb mennyiségben a májban fordulnak elő, de a bélcsatornában jelen lévő képviselőik hatása is jelentős. Ugyanakkor az emésztőtraktusban található CYP enzimekről és lehetséges kölcsönhatásaikról más vegyületekkel kevés információ áll rendelkezésre.

Vizsgálatunk során a bélhám citokróm P450 enzimeit *in vitro* vizsgáltuk két flavonoiddal (apigenin és származéka, a trimetoxi-apigenin) kezelve, melyek szerteágazó jótékony hatásuk miatt napjainkban előszeretettel alkalmazott táplálék-kiegészítő vegyületek.

A kísérlet során egészséges sertés jejunumból származó enterocita sejtvonalat (IPEC-J2) használtunk, melyet kollagénnel bevont 24-lyukú edényekben tenyésztettünk. Amikor a sejtek egy rétegben benőtték a rendelkezésükre álló helyet, elvégeztük kezelésüket. Az apigenint 25  $\mu\text{M}$  és 50  $\mu\text{M}$  koncentrációban, a trimetoxi-apigenint 25  $\mu\text{M}$  koncentrációban alkalmaztuk. A sejteket ismert CYP induktorról (fenobarbitál 1 mM), és CYP gátló hatású vegyületekkel is kezeltük (50  $\mu\text{M}$  naftoflavon + 25  $\mu\text{M}$  ketokonazol). A CYP1A1, 1A2 és 3A29 enzimek aktivitását kemilumineszcens módszerrel követtük nyomon. A CYP gének kifejeződését is vizsgáltuk, qRT-PCR módszerrel. Továbbá vizsgáltuk a gyógyszer-interakció lehetőségét az apigenin és egy gyulladáscsökkentő vegyület (antipirin) esetében.

Kimutattuk a CYP3A29 enzim aktivitást az IPEC-J2 sejtekben, míg a CYP1A1 és a CYP1A2 enzimek aktivitása kemilumineszcens módszerrel nem voltak detektálható. Ezzel szemben a transzkripció szintjén mindhárom vizsgált CYP enzim kimutatható volt. Az apigenin mindkét koncentrációban, és a 25  $\mu\text{M}$  trimetoxi-apigenin egyaránt szignifikáns ( $p < 0,05$ ) CYP3A29 inhibitornak bizonyult. Az apigenin 50  $\mu\text{M}$  koncentrációja 90% feletti valószínűséggel bizonyult hatékonyabb gátlónak, mint a 25  $\mu\text{M}$  apigenin. A trimetoxi-apigenin nem mutatott erősebb gátló hatást, mint a 25  $\mu\text{M}$  apigenin. Ugyanakkor a trimetoxi-apigenin induktorról kombinálva szignifikáns CYP3A29 gátlóként viselkedett mind a kontrollhoz, mind a 25  $\mu\text{M}$  apigenin + induktor kombinációhoz viszonyítva. Az antipirin gátló hatást fejtett ki a CYP3A29 enzimre, mely hatás az apigenin és antipirin együttes alkalmazásakor tovább erősödött. A qPCR vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy az apigenin a CYP3A gén működését gátolta, míg a CYP1A1 génre 50  $\mu\text{M}$  koncentrációban serkentő hatással bírt.

Az apigenin, és metoxi származéka képesek befolyásolni a citokróm P450 enzimrendszer egyes izoenzimjeit, melyek a klinikailag fontos gyógyszerek legnagyobb hányadának metabolizmusáért felelnek. A folyamat vizsgálata más állatfajokból származó sejteken, majd *in vivo* módszerekkel, további kutatás tárgyát képezi.



### 3D SEJTNYESZETEK HATÓANYAGOK ÉS KEZELÉSEK TESZTELÉSÉRE: EGY ÍGÉRETES MÓDSZER A JÖVŐ IN-VITRO KUTATÁSAIHOZ

Kővágó Csaba<sup>1</sup>, Jake Oster-Weinberg<sup>1</sup>, Kiss Éva<sup>2</sup>, Vancsik Tamás<sup>2</sup>, Gálfi Péter<sup>1</sup>

**Bevezetés:** A 3D sejtenyészetek szerkezetüknél fogva sokkal jobban utánozzák a magasabbrendű szervezet viszonyait, mint az egyrétegű szövetkultúrák. Emiatt régóta alkalmazzák ezeket kutatási és biotechnológiai célokra. Létrehozásuknak egyik módja a mesterséges extracelluláris mátrix-gél használata, erre a célra a legelterjedtebb anyag az Engelberth-Holm-Swarm tumorból kivont fehérjekomplex, mely Matrigél-ként is ismert.

A modulált elektro-hiperthermia (mEHT) tumorelleses kezelési eljárás, mely modulált elektromágneses energiával módosítja a daganatsejtek működését. A célszövet a kezelés során felmelegszik a közölt impedancia-csatolt elektromágneses energia következtében. A hőhatáson kívül az eljárás a daganatos sejtek jelátviteli útjainak befolyásolásával éri el a kívánt hatást.

**Célkitűzés:** Vizsgálatunkban össze kívántuk hasonlítani az mEHT 3D sejtenyészetre kifejtett hatását korábbi, *in-vivo* kísérlet eredményeivel. A kísérletben Matrigél alapú 3D szövetkultúrát hoztunk létre egér colon-adenocarcinoma eredetű C26-os sejtekből és négy kísérleti csoportot alakítottunk ki: HT; Non-cont mEHT; Cont-mEHT; és egy kontroll csoport, (C), melyet 37°C hőmérsékleten a kezelések időtartamának megfelelően. Minden csoportban 3 minta szerepelt.

**Módszerek:** A mintákról a kezelések előtt és 24 órával később natív mikroszkópiás felvételeket készítettünk, majd szövettani feldolgozás keretében hematoxin-eozin (HE) festést végeztünk a sejtek morfológiájának, kapcsolatainak felderítése és az élő és elhalt sejtek számának meghatározására. Immunhisztokémiai (IHC) festéseket végeztünk HSP60, HSP70 és BAX fehérjék mennyiségének, lokalizációjának megismerésére illetve Tunel vizsgálatot hajtottunk végre az apoptotikus sejtek kimutatására, a sejtmagokat DAPI-val jelöltük.

**Eredmények:** A kultúrák natív képein a daganatsejtekre jellemző, fészkes sejtcsoportokat látunk, melyek egymással sejtes hidakkal kapcsolódtak és a tér minden irányába kiterjedtek. A HE metszetek vizsgálatakor a kezelt mintákban több piknotikus magot illetve apoptotikus testet lehetett látni. Az IHC vizsgálatok eredményeként a HSP70 fehérje felülregulációját figyeltük meg a kezelt, különösen a "Cont-mEHT" mintákban, ahol helyenként nagyon erős jelet kaptunk. A Tunel assay apoptózisra utaló eredmény hozott a kezelt mintákban és a BAX festés is megerősítette a nagyszámú apoptotikus sejt jelenlétét.

**Következtetések:** Eredményeink nagyfokú hasonlóságot mutatnak a korábbi, élő állatokon végzett hasonló kezelések után tapasztaltakkal, így levonhatjuk a következtetést, hogy a 3D sejt-kultúra bizonyos körülmények között alkalmas az *in-vivo* módszerek kiváltására. Valószínűleg azonban ezek a módszerek sem tudják teljesen kiváltani az állatkísérleteket a jövőben.

**Köszönetnyilvánítás:** Köszönjük munkatársaink segítségét és a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság anyagi támogatását.

XENOBIOTIKUMOK HATÁSA HÁZINYÚL EREDETŰ CITOKRÓM P450 ENZIMRENDSZERRE *IN VIVO* ÉS *IN VITRO*

Palócz Orsolya, Farkas Orsolya, Szentmiklósi Diána, Nagy Tamás és Csikó György

**Bevezetés:** A citokróm P450 enzimek olyan hem-fehérjék, melyek az endogén és exogén anyagok biotranszformációjában, a fázis I. reakciókban különböző kémiai reakciókat (oxidáció, redukció, hidroxiláció, dealkiláció, stb.) katalizálnak. Az alcsaládokba sorolt citokrómok, különösen a CYP1A, CYP1B, CYP2E, CYP3A, a gyógyszer-metabolizmusban betöltött központi szerepük miatt az elmúlt évtizedekben és jelenleg is számtalan kutatás tárgyát képezik.

**Cél:** *In vitro* modellrendszer kialakítása a citokróm enzimek vizsgálatára, a rendszer ellenőrzése *in vivo* körülményekben. Nyúlból származó primer májsejt-tenyészetek, valamint élő állatból származó máj mikroszóma citokróm P450 enzimaktivitásának kimutatása a gyógyszer-metabolizmusban központi szerepet játszó CYP1A1, a CYP1A2 és a CYP3A6 izoenzimek aktivitásának mérésén keresztül. Továbbá, ezen izoenzimek vizsgálata a génextpresszió szintjén.

**Módszer:** Nyúl primer májsejt-kultúrát hoztunk létre, majd a vizsgált CYP450 enzimekre (CYP1A1, CYP1A2, CYP3A6) specifikus indukáló- (0,5 mM fenobarbital) és gátlószerekkel (50  $\mu$ M alfa-naftoflavon, 25  $\mu$ M ketokonazol), illetve 25 és 50  $\mu$ M koncentrációjú apigeninnel (flavonoid) egy órán át kezeltük a hepatocita tenyészeteket. Továbbá 12 Új-Zélandi fehér nyulat három csoportra osztva (kontroll, indukált, gátolt) három napon át kezeltünk 80 mg/ttkg fenobarbitállal, valamint 40 mg/ttkg ketokonazzal. A harmadik kezelési napon a májakat eltávolítottuk, majd elvégeztük mikroszóma szeparálást. Mind a sejttenyészetekből, mind a májszövetből mRNS-t izoláltunk. Az enzimaktivitásokat a kemilumineszcencia módszerével, a citokróm gének kifejeződését, a transzkripció szintjén, qRT-PCR-rel mutattuk ki.

**Eredmény:** A fenobarbitál mind *in vitro*, mind *in vivo* serkentőként hatott mindhárom vizsgált CYP enzim aktivitására. A ketokonazol *in vitro* körülmények között erősen gátolta a CYP1A1 valamint a CYP3A6 enzimek aktivitását, mely hatás a CYP3A6 izoenzim esetén *in vivo* is megegyező volt, azonban a CYP1A1 esetében aktivitásnövekedés jelentkezett. Az mRNS szintjén azonban a ketokonazol fokozta a CYP1A1 valamint a CYP3A6 gének expresszióját *in vitro*. A fenobarbitál hatására mindhárom izoenzim génextpressziója növekedett. Az *in vitro* alkalmazott apigenin mindkét koncentrációjában gátlószerként hatott a CYP1A2 és a CYP3A6 izoenzimek aktivitására.

**Következtetések:** Az általunk felállított *in vitro* modellrendszerben az indukáló és gátlóvegyületek hatása jól összhangban áll az élő állatban kapott eredményekkel. Tehát, a rövid távú májsejt-tenyésztés alkalmas módszer a xenobiotikumok, takarmány-adalékok előzetes tesztelésére. A nyúl hepatociták CYP450 enzim-aktivitása az alkalmazott szerek esetében, a szakirodalmi adatok alapján jó közelítést ad a humánokban leírt hatásokkal.

## BAROMFIKOLERA VAKCINA VÉDŐHATÁSÁNAK TÁMOGATÁSA BÉTA-GLÜKÁNNAL

Somogyi Zoltán<sup>1</sup>, Palócz Orsolya<sup>1</sup>, Csikó György<sup>1</sup>

Bevezetés: A *Pasteurella multocida* által okozott baromfikolera a baromfiállományokban súlyos gazdasági károkat okozhat. A kórfolyamat súlyossága függ a fajtól, életkortól, a baktérium törzs patogenitásától és a madarak immunstátuszától. A megelőzésnek és a gazdasági kár csökkentésének egyik lehetséges módja a vakcinázás, melyről 70%-os túlélés várható a vakcinázott állományokban. Viszont a megbetegedés kialakulása után csak az antibakteriális kezelésre támaszkodhatunk, azonban a kemoterápia hosszadalmas, drága, és nem minden esetben hatékony, továbbá egyre gyakrabban alakulnak ki rezisztens törzsek, amelyek köz- és állategészségügyi szempontból is aggályosak.

Cél: Központi kérdés, hogy olyan takarmány-kiegészítőt találjunk, amely a vakcinázás körüli időszakban elősegíti a kellően magas és homogén ellenanyag szintek kialakulását és így gazdaságosan támogatja az immunoprofilaktikus terápiát. Eddigi kutatásunk és a szakirodalom áttekintése alapján a béta-1-3,1-6-glükán ( $\beta$ -glükán) vizsgálatát folytattuk. A  $\beta$ -glükán a sütőélesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) sejtfalából nyert természetes poliszacharid, melynek az immunrendszerre több ponton kifejtett serkentő hatása támogatja a természetes és szerzett immunválaszt.

Módszer: Vizsgálatunkban 50 napos korú házityúkot 5 csoportra osztottunk: kontroll csoport, előkezelt kis és nagy dózisé, valamint elő- és utókezelt kis és nagy dózisé csoportok (5 mg/ttkg és 50 mg/ttkg  $\beta$ -glükán). Az előkezelt csoportok a vakcinázás előtt 5 napig, az elő- és utókezelt csoportok a vakcinázás előtt és azt követően is 5 napig voltak kezelve. A kezelés *per os* nyelőcsőszonda segítségével történt. A vakcinázást 4 hetes korban végeztük. A  $\beta$ -glükán vakcinázást befolyásoló hatását a csirkék véréből mért *P. multocida* ellen képződött ellenanyag-titer szintek változásán keresztül vizsgáltuk, melyet ELISA diagnosztikai teszt segítségével határoztunk meg.

Eredmény: Kutatásunk eredményei azt mutatják, hogy a  $\beta$ -glükán alkalmazása kedvezően hathat a vakcinázás hatékonyságára, mivel a baromfikolera elleni vakcina hatására kialakult ellenanyag szintek egyenletesebbnek bizonyultak a  $\beta$ -glükánnal kezelt csoportokban a kontroll csoporttal összehasonlítva. Az 50 mg/ttkg  $\beta$ -glükánnal kezelt mind a két csoportban, és az 5 mg/ttkg adaggal 10 napig kezelt valamennyi egyedben kialakult a védettség kialakulásához szükséges ellenanyag-titer szintek, míg a kezelést nem kapó csoportban negatív mintákat is kaptunk.

Következtetések: Az általunk tapasztalt homogén ellenanyag-titer szintek feltehetően telepi körülmények között támogatják a vakcinázás hatékonyságát baromfiállományokban, ami csökkentheti a betegség kialakulásának esélyét és ezzel párhuzamosan csökkenhet a felhasznált antibakteriális szerek mennyisége. Mindezek eredményeként a rezisztens baktériumtörzsek megjelenésének valószínűsége is csökkenthető.

## KUTYA BŐRGYULLADÁS ESETEIBŐL IZOLÁLT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS* ÉS *STREPTOCOCCUS CANIS* TÖRZSEK ÉRZÉKENYSÉGE AZITROMICINRE, MIKONAZOLRA ÉS SZULFAMETOXAZOLRA, ILLETVE EZEN HATÓANYAGOK SZINERGIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA

Jerzsele Ákos<sup>1</sup>, Veres Adrienn Mercédesz<sup>1</sup>, Lukács Károly<sup>2</sup>, Balogh Tamás<sup>3</sup>, Gálfi Péter<sup>1</sup>

A baktériumokkal szembeni szinergista kombinációk kutatása fontos lehet az állatgyógyászatban bizonyos fertőzések kezelésében, pl. az igen gyakran előforduló dermatológiai fertőzések során.

Kísérletünkben *in vitro* vizsgáltuk, hogy kutyák bőrgyulladásának külsőleges kezelésére alkalmas lehet-e az azitromicin, a mikonazol, a szulfametoxazol, illetve ezek kombinációi. A vizsgálat során gennyes bőrgyulladásban szenvedő kutyákból izolált *P. aeruginosa*, *Staphylococcus pseudintermedius* és *Streptococcus canis* törzseket használtunk. Minden fajból 32 törzs került vizsgálatra.

A MIC-értékek meghatározásához a CLSI által jóváhagyott mikrodilúciós módszert alkalmaztuk. *P. aeruginosa* esetében a kísérleti oldatokban (mind a szimpla hatóanyagoknál, mind a kombinációknál) 0,5-256 µg/ml-es koncentrációkat alkalmaztunk. Staphylococcusok és streptococcusok esetében, a várható nagyobb érzékenység miatt, 0,0625-32 µg/ml-es koncentráció-tartományt vizsgáltunk. A kombinációk esetében mindig 1:1 arányú keveréket használtunk.

*P. aeruginosa* esetében azitromicin (AZM) esetében a MIC-ek 2-128 µg/ml, szulfametoxazolnál (SMX) 32-256 µg/ml között voltak, mikonazol esetében (M) nem volt gátlóhatás. A MIC-értékek a kombinációkban az alábbiak adódtak: AZM+M 2-128 µg/ml között, AZM+SMX 2-128 µg/ml, míg SMX+M-nél minden törzs rezisztensnek bizonyult >256 µg/ml feletti értékekkel. Staphylococcusoknál a MIC-értékek a következők szerint alakultak. AZM esetében 0,125-32 µg/ml között, M esetében 1-4 µg/ml között, SMX esetében 8-32 µg/ml között. A kombinációk esetében jóval kisebb MIC-értékeket mértünk, amelyek alapján szinergizmust tudtunk igazolni. AZM+SMX kombinálásakor 0,03125-0,5 µg/ml közötti, AZM+M esetén 0,125-4 µg/ml közötti, illetve SMX+M esetében 1-4 µg/ml közé estek a MIC-értékek. A három hatóanyag együttes a MIC értékek 0,25 és 0,5 µg/ml között voltak. *Streptococcus canis* vizsgálatokor AZM esetén 0,25-32 µg/ml közötti, SMX esetén >256 µg/ml (teljes rezisztencia), M esetén 8-32 µg/ml között. A kombinációk vizsgálatokor AZM+SMX esetében 0,25-32 µg/ml között, AZM+M esetén 0,125-16 µg/ml között mozogtak a MIC értékek, míg SMX+M esetében 8 µg/ml volt a MIC.

Az interakciókat vizsgálva elmondhatjuk, hogy *P. aeruginosa* vizsgálatokor nem találtunk szinergizmust, parciális szinergizmus elvétve előfordult. Streptococcusoknál ugyanakkor elsősorban antagonizmust tapasztaltunk, néhány törzs esetében addícióval vagy parciális szinergizmussal. Staphylococcusok esetében azonban AZM+SMX-nál 37,5%-ban szinergista és 12,5%-ban parciális szinergista volt a kombináció. AZM+M-nél 20,8%-ban szinergista és 12,5%-ban parciális szinergista volt. SMX+M-nél 29,2%-ban antagonista, 66,7%-ban additív, 0%-ban szinergista és 4,2%-ban partialis szinergista volt.

**STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS TÖRZSEK 8-NAPOS SOROZAT-PASSZÁLÁSÁNAK HATÁSA MARBOFLOXACINNAL, ILLETVE MARBOFLOXACIN-GENTAMICIN (1:1) KOMBINÁCIÓVAL SZEMBENI REZISZTENCIA ALAKULÁSÁRA**

Jerzsele Ákos<sup>1</sup>, Gyetvai Béla<sup>1,2</sup>, Veres Adrienn Mercédesz<sup>1</sup>, Lang Zsolt<sup>3</sup>, Veszprémi Vanda<sup>4</sup>, Gálfi Péter<sup>1</sup>

Az antibakteriális hatóanyagokkal szemben világszerte növekvő rezisztencia kialakulásának késleltetéséhez, és az ezzel szembeni hatékony stratégiák kialakításához nélkülözhetetlen a bakteriális rezisztencia kialakulásával kapcsolatos hatások, interakciók minél szélesebb körű megismerése. Egyes kórokozók ellen az igénybe vehető hatóanyagok száma igencsak korlátozott, így kombinációk alkalmazására lehet szükség. Ez igen fontos pl. *P. aeruginosa* esetében, ahol az önmagában alkalmazott hatóanyagoknál a rezisztencia gyorsan kialakul. *Staphylococcus*ok és *streptococcus*ok esetében ezzel kapcsolatos eredményeink korlátozottak.

Vizsgálatunk célja az volt, hogy tanulmányozzuk, és értékeljük a kutyáknál potenciális bőrpatógen *Staphylococcus pseudointermedius* törzsek érzékenységének csökkenését 8 napos, naponta egyszeri passzálást követően, szubinhítoros koncentrációjú marbofloxacin, illetve gentamicin és marbofloxacin 50-50 m/m% arányú oldatban vizsgálva. A vizsgálatokhoz 32 *Staphylococcus pseudointermedius* törzset használtunk fel, melyeket kutyák bőr-, illetve fülgyulladásos eseteiből izoláltunk. A vizsgálatokat Müller-Hinton tápleves oldatban, mikrodilúciós technikával végeztük, a nemzetközi irányelveknek és szakmai ajánlásoknak megfelelően (Committee of Laboratory Standards Institute - CLSI guideline M31-A3/2009 and M07-A8). Szimultán statisztikai próbával megvizsgáltuk, hogy a marbofloxacin és a marbofloxacin-gentamicin MIC-értékek trendje mely napokon különbözött.

*Staphylococcus pseudointermedius* esetében a szubinhítoros koncentrációban alkalmazott marbofloxacin:gentamicin (1:1) oldat esetében mért MIC-értékek a sorozatpasszálás során alig növekedtek, szemben a csak marbofloxacint tartalmazó oldatban mért MIC értékekkel, ahol az összes vizsgált törzs esetében jelentős MIC-növekedés volt tapasztalható. A kombinációnál ugyanakkor a törzsek 25%-ánál egyáltalán nem nőtt a MIC, nem fejlődött ki rezisztencia. A 8. napra a marbofloxacinban passzált törzsek esetében átlagosan 11,67-szeres, míg a marbofloxacin:gentamicin esetében átlagosan 3,0-szoros MIC-érték növekedést tapasztaltunk. A szimultán statisztikai próbával, 5%-os első fajta hiba mellett az első napon nem volt szignifikáns különbség ( $p=0.6570$ ) az önállóan és a kombinációban alkalmazott hatóanyagok között, a többi napon azonban kivétel nélkül a marbofloxacin trendje volt szignifikánsan nagyobb ( $p<0.0001$ ).

Eredményeinket összefoglalva elmondható, hogy a marbofloxacin:gentamicin (1:1) arányú kombinációja szignifikánsan csökkentette a marbofloxacinnal szemben kialakuló rezisztencia valószínűségét az önállóan alkalmazott fluorokinolonnál kapott eredményekhez képest. Mivel a fluorokinolonok az embergyógyászatban ún. „kritikus fontosságú antibiotikumok” csoportjába tartoznak, ez az eredmény igen kedvező lehet nem csak az állatgyógyászati, hanem humán vonalon is.