

MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA

Hungarian Veterinary Journal
Established by Prof. B. Nádaskay, 1878

Actinobacillus pleuropneumoniae által okozott heveny, savós-vérzézéses-elhalásos tüdőgyulladás sertésben

LÓ

Lovak kolchicinmérgezése

SERTÉS

Az APP 16-os szerotípusa által okozott megbetegedés

KISÁLLAT

Hasi parenchymás szervek csavarodása
Tyzzer-betegség kölyökkutyában
Verejtékmirigy adenoma lipomában

LABORÁLLAT

A zene hatása egerek társas és egyéni viselkedésére II.

EMBRIOLÓGIA

Az asszisztált reprodukciós technikák hatásfokának növelése

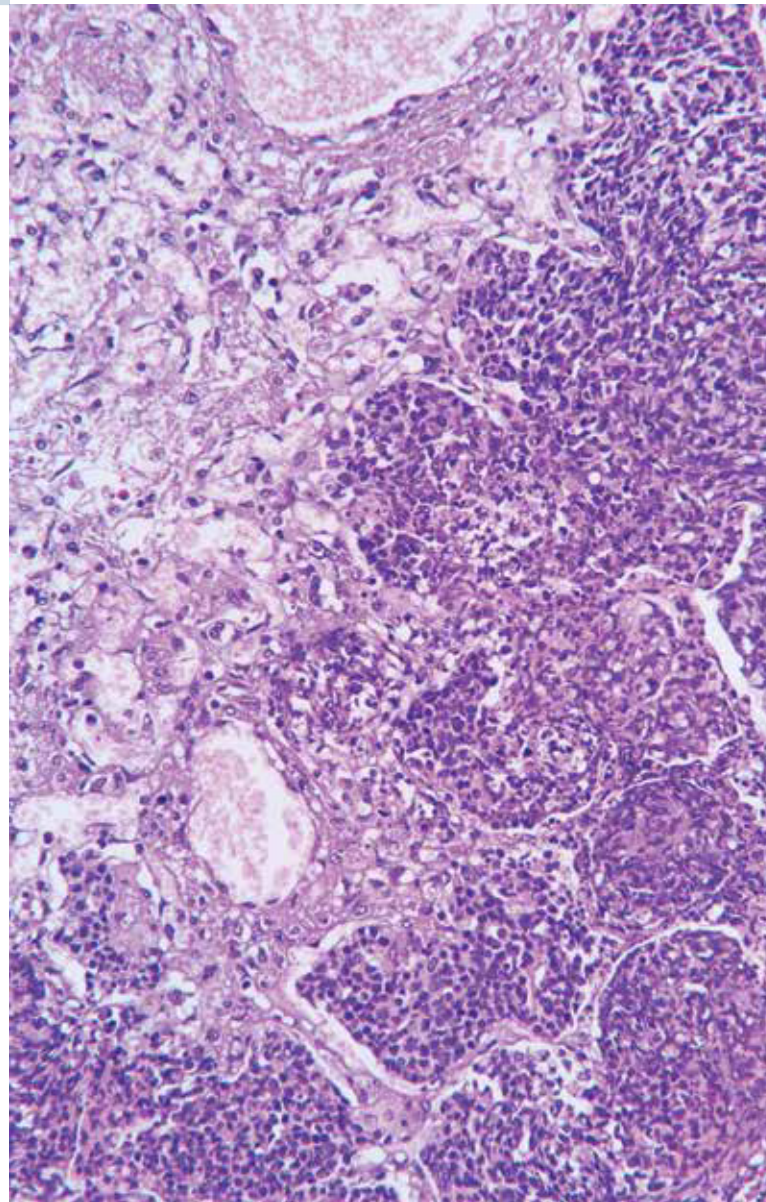
RENDEZVÉNY

Országos Állatorvosbál 2017

IN MEMORIAM

Dr. Örsi Attila (1937–2016)

TALLÓZÁS



Hirdessen Ön is
a **Magyar Állatorvosok Lapja** c.
tudományos-szakmai folyóiratban!



Hirdetési
felületek már
60 000 Ft-tól

Többszöri megjelenés esetén
további engedményeket
biztosítunk

Hirdetési áraink:

Most kedvező áron tesszük
közzé hirdetését
a Magyar Állatorvosok Lapja c.
tudományos-szakmai
folyóiratban.

| | | |
|------------|--------------|------------|
| 1/1 | 170 x 245 mm | 130 000 Ft |
| 1/2 | 170 x 118 mm | 110 000 Ft |
| 1/3 | 170 x 76 mm | 75 000 Ft |
| 1/4 | 170 x 55 mm | 60 000 Ft |
| B2, B3, B4 | 200 x 285 mm | 155 000 Ft |



Bővebb információért keresse kollégáinkat
a lenti elérhetőségek bármelyikén:
Postacím: Herman Ottó Intézet
1223 Budapest, Park u. 2.
Telefon: 06-1/362-8100, 06-1/362-8137
E-mail: info@agrarlapok.hu

LÓ / EQUINE

- 707.** Fezer G., Tóth B.: Lovak kolchicinmérgezése
Irodalmi összefoglaló és rövid esetismertetés
G. Fezer, B. Tóth: *The intoxication of equidae (horses) with colchicines*
Literature review and short case report

SERTÉS / PORCINE

- 713.** Sárközi R., Búza L., Makrai L., Fodor L.: Az *Actinobacillus pleuropneumoniae* 16-os szerotípusa által okozott légzőszervi megbetegedés tapasztalatai egy sertéstelepen
R. Sárközi, L. Búza, L. Makrai, L. Fodor: *Experiences of respiratory disease caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 16 in a Hungarian swine herd*

KISÁLLAT / SMALL ANIMALS

- 721.** Jakus J., Hetey Cs.: Hasi parenchymás szervek csavarodása kutyában
Klinikai esetismertetések
J. Jakus, Cs. Hetey: *Torsion of the abdominal parenchymal organs in dogs*
Case studies
- 729.** Szeredi L., Vágó E., Perge E., Ursu K.: Tyzzer-betegség kölyökkutyában
Esetismertetés
L. Szeredi, E. Vágó, E. Perge, K. Ursu: *Tyzzer's disease in a puppy*
Case report
- 737.** Garami J., Jakab Cs.: Verejtékmirigy adenoma és simplex lipoma komponensű benignus kompozíciós vegyes daganat kutyában
J. Garami, Cs. Jakab: *Benign compository mixed tumour with sweat-gland adenoma and simple lipoma components in a dog*

LABORÁLLAT / LABORATORY ANIMALS

- 743.** Korsós G., Brown, D. L., Windig-Zavadil, C., Rühlicke, T., Fekete S. Gy.: Egéretológia: különböző emberi és rodentizált zene hatása az egerek társas és egyéni viselkedésére, közérzetére és a genetika környezet kölcsönhatásra
II. Eredeti és öt oktávval megemelt Bach- és Mozart-zene hatása különböző genotípusú egerek viselkedésére
G. Korsós, D. L. Brown, C. Windig-Zavadil, T. Rühlicke, S. Gy. Fekete: *Mouse Ethology: Effect of different human and rodentized music upon the social and individual behaviour, general feeling and genetics-environment interaction of mice*
II. *Effect of original and five octaves higher music of Bach and Mozart on the behaviour of mice of different genotypes*

EMBRIOLÓGIA / EMBRYOLOGY

- 753** Losonczi E., Pribenszky Cs.: Ami nem öl meg, az megerősít – új eljárás az asszisztált reprodukciós technikák hatásfokának növelésére
E. Losonczi, Cs. Pribenszky: *What doesn't kill you makes you stronger – novel method in order to improve the efficacy of assisted reproduction*

RENDEZVÉNY

- 720.** Előzetes meghívó az Országos Állatorvosbálra

IN MEMORIAM

- 728.** Dr. Örsi Attila (1937–2016)

- 736.** TALLÓZÁS



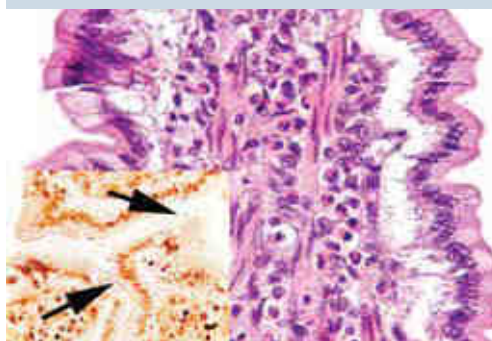
709. Őszi kikerics



717. Idült APP



725. Lépcsavarodás kutyában



733. Tyzzer-betegség kutyában

A folyóiratot indexeli és referálja/The journal is indexed and abstracted by: CAB Abstracts (CABI), Science Citation Index Expanded, Zoological Record, BIOSIS previews (Thomson Reuters), Scopus (Elsevier).
Tartalom/Contents: Current Contents – Agriculture, Biology & Environmental Sciences (Thomson Reuters)

Ingyenes mutatószám kérhető a főszerkesztőtől/Free sample copies are available from the editor-in-chief: H-1078 Budapest, István utca 2. Hungary
Megrendelhető a fenti címen a szerkesztőségétől/
Subscription orders to the Editorial Office (address above)

*** Internet address
(English contents pages, subscription price, etc.)
<http://www.univet.hu/mal>



Röntgenfelvétel 1896-ból

Vasárnap volt. AUJESZKY ALADÁR talán egy tenyészet ellenőrzésére ugrott be akkori munkahelyére, HÖGYES ENDRE kórtani intézetébe. A professzor lelkesülten adta kezébe azt a törekeny lapot, amelyen az első magyar röntgenfelvételek láthatók: EÖTVÖS LORÁND uja, amelyen a csontok és a gyűrűk jól látszanak, és egy béka. HÖGYES előző este, 1896. január 18-án a Királyi Orvosegyesületnek tartott előadásán mutatta be a képet, amelyet 120 éven át őriztek, hogy most – AUJESZKY LENKE ajándékként – az Állatorvostudományi Egyetem levéltárába kerüljön.

RÖNTGEN – akkor még X-sugárzásnak nevezett – felfedezését két nappal korábban ismertette KLUPÁTHY JENŐ a Matematikai és Fizikai Társulatban. Az ülésen maga EÖTVÖS LORÁND elnökölt, aki örömmel konstataálta, hogy a felfedezés híre „díszes vendégkoszorút gyűjtött”. Nem csoda, hiszen nemcsak olyan szaklapokban írták le, mint a *Természettudományi Közöny* (WARTHA VINCE), hanem a sokak által olvasott *Vasárnapi Újság*ban is. Február 8-án DOLLINGER GYULA már számot adott az első röntgenfelvétellel támogatott műtétről: egy tenyérből operált ki sörétszemeket az EÖTVÖS által készített kép alapján. Február 7-én PONGÓ KISS KÁROLY orvosi célokra röntgenlaboratóriumot hozott létre a műgyetemen, és olyan – általa millenniuminak nevezett – röntgenlámpákat készített, amelyekből külföldre is szállítottak. A nyári hónapokban JUTASSY JÓZSEF bőrgyógyászati elváltozásokat kezdett sugárzással kezelni, s ezzel ő lett a röntgenterápia hazai megalapítója.

1898-ra már az országban több helyen (Késmárk, Pozsony, Pest) létesítettek röntgenlaboratóriumokat állami és magánrendelőkhöz, kórházakban. A Rókusban 1899-ben 199 beteget vizsgáltak röntgennel, ALEXANDER BÉLA magánrendelőjében évente átlagosan 10-et, 10 forint körüli áron. A berendezés beszerzési értéke 100 vizsgálat árából telt ki. STEIN ADOLF volt az első magyar röntgenorvos. Az ő nevéhez fűződnek az első hólyag- és vesekő-kimutatások.

Bár az Állatorvosi Lapokban már 1913-ban jelent meg áttekinthető röntgensugárzás orvosi alkalmazásáról, a sebészeti klinika csak 1929-ben szerezte be első készülékét, amelyet KOVÁCS GYULA működtetett és ismertetett a lap hasábjain.

Orbán Éva

FŐSZERKESZTŐ / EDITOR-IN-CHIEF

Dr. BALKA Gyula

SZERKESZTŐBIZOTTSÁG / EDITORIAL BOARD

Dr. Abonyi Tamás
 Dr. Balka Gyula (elnök), Dr. Bíró Ferenc
 Dr. Búza László, Dr. Dunay Miklós Pál
 Dr. Farkas Róbert, Dr. Fekete Sándor György
 Dr. Fodor László, Dr. Gál János
 Dr. Gálfi Péter, Dr. Gönczi Gábor
 Dr. Jakab Csaba, Dr. Jerzsele Ákos
 Dr. Laczay Péter, Dr. Manczur Ferenc
 Dr. Molnár Viktor, Dr. Nagy Béla
 Dr. Nemes Imre, Dr. Németh Tibor
 Dr. Ózsvári László, Dr. Sályi Gábor
 Dr. Seregi János, Dr. Solti László
 Dr. Sótonyi Péter, Dr. Szieberth István
 Dr. Tóth Balázs, † Dr. Tuboly Tamás
 Dr. Varga János, Dr. Vetési Ferenc
 Dr. Visnyei László, Dr. Vörös Károly

OLVASÓSZERKESZTŐ

Sík Júlia

SZERKESZTŐSÉGI TITKÁR

Tóth Zsuzsanna

SZERKESZTŐSÉG / EDITORIAL OFFICE

H-1078 Budapest, István u. 2. Hungary
 Levélcím: 1400 Budapest 7. Pf. 2.
 Telefon: (36-1) 34-13-023
 (36-1) 47-84-100/8961, 8960, 8962
 Telefax: (36-1) 34-13-023
 Internet: <http://www.univet.hu/mal>
 E-mail: mal@aoatk.szie.hu

KIADÓ / PUBLISHER

Herman Ottó Intézet
 H-1223 Budapest, Park u. 2.
 Telefon: (36-1) 36-28-100
 Telefax: (36-1) 36-28-104
 Internet: www.agrarlapok.hu
 E-mail: info@agrarlapok.hu
 Felelős kiadó:
 DR. MEZŐSZENTGYÖRGYI Dávid

HIRDETÉSEK FELVÉTELE

Telefon: 06-20 996-9239, 06-13 628 114
 Telefax: (36-1) 470-0410
 E-mail: info@agrarlapok.hu

Minden jog fenntartva. A lapból értesítéseket átvenni csak a Magyar Állatorvosok Lapjára való hivatkozással lehet. A hirdetések és egyéb reklámkiadványok tartalmáért a kiadó felelősséget nem vállal.

LAPTERV

made by zwoelf – www.zwoelf.hu

TERVEZŐSZERKESZTŐ

Dávid Ildikó

NYOMÁS

Generál Nyomda Kft.
 6728 Szeged, Kollégiumi út 11/H.

INDEX 25531

HU ISSN 0025-004X

LAPTULAJDONOS

KIADÓ


 FÖLDMŰVELÉSÜGYI
 MINISZTERIUM


 HERMAN OTTÓ
 INTÉZET

The intoxication of equidae (horses) with colchicines

Literature review and short case report

Fezer Gabor^{1*}
Tóth Balázs²

G. Fezer^{1*}
B. Tóth²

1. D-74575 Schrozberg,
Rothenburger Weg 30.

e-mail: fezerg@indamail.hu

2. Equi-Med Kft.
H-4551 Nyíregyháza, Vezér u 140/a

Lovak kolchicinmérgezése

Irodalmi összefoglaló és rövid esetismertetés

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők a jelen tanulmányukban bemutatják a lovak kolchicinmérgezését. Az őszi kikericsben több mint 20 alkaloid található. A mérge fő célszervei elsősorban a nagy mitotikus aktivitású szervek, mint pl. a bélcsatorna és a máj. A szerveknek megfelelő leggyakoribb következmény a nyálzás, az izzadás és a kólikás viselkedés. Az ismertetett klinikai esetek Németország Bajor tartományában, Donauwörthben jelentkeztek 2015 tél elején. Egy 40 kancából, csikókból és 6 csődörből álló lóállomány 3 kancája és azok csikói betegedtek meg. A már korábban említett tünetek közül kólika, izzadás, és hasmenés egyaránt jelentkezett. A lovak palliatív terápiában részesültek és elhullás nem volt.

SUMMARY

Background

Autumn crocus (*Colchicum autumnale*) contains over 20 different alkaloids in its flowers and seeds. Colchicine is the most important alkaloid with the greatest effect on cell multiplication and inhibition of tubulin polymerization, more precisely precluding the spindle formation during mitosis. The main organs affected by the toxin are those with high mitotic potential, including: the intestinal tract, the liver and the kidneys. Lethal dose of colchicine varies on a narrow range among species, averaging around 1mg/bwkg. From the whole plant the lethal dose is between 1200–3000 g/horse.

Objectives

The aim of the current article was to review published data and present a retrospective case series of colchicine intoxication in horses.

Materials and Methods

Pubmed and Google scholar were used to find published data, while six animals (three mares and their foals) were included in the case series.

Results and Discussion

In agreement with the literature all six horses exhibited clinical signs including: colic, sweating and diarrhoea. The diagnosis of toxicosis was based upon macroscopic analysis of the hay in a local toxicology lab. The horses underwent the following supportive treatment: intravenous fluid therapy, as well as administration of analgesic, diuretics, laxatives and intestinal adsorbents. All horses recovered within a few days without complications. Prevention of poisoning can be achieved by mechanical destruction or herbicidal treatments.



„Minden mérég és semmi nincs mérég nélkül,
csupán a mennyiségtől függ, hogy valami mérég-e, vagy sem.”

Az, hogy mit tekintünk mérgezőnek, mindig relatív, ahogyan erre az orvos és természettudós PARACELTUS (1493–1541) is utalt már 500 évvel ezelőtt.

Már a Kr. u. 1. században, DIOSZCORIDÉSZ is leírja a kikericsfélék mérgező és ugyanakkor gyógyító hatását a *De materia medica* című könyvében, ahol mint gyógyszer: a köszvény, a reuma és a pestis kezelésére, ill. mint mérég gyilkosságokra egyaránt használatos volt. A KRISZTUS utáni 6. században TRALLEISI ALEXANDER görög orvos már az ízületi problémák gyógyítására használta (13).

HIERONYMUS BOSCH (1498–1554) leírja, hogy a kikericszet a gyógyszerészek is gyakran összetévesztik más növényekkel. 1820-ban PALLUSTIER és CAVENTON izolálja az alkaloidot, és köszvény kezelésére alkalmazza (13).

Latin neve, a „*Colchicum*” visszavezethető a görög mitológiáig, Colchisra, ami a Fekete-tenger keleti részén, Kis-Ázsiában fekszik. Colchis királyának mérgekeverő, MEDEA nevű leánya, miután férje megcsalta, annak kedvesét kolchicinnel mérgezte meg. Az „*autumnale*” pedig a növény, szokatlan, őszi virágzására utal (8). A csupasz virágnak köszönhetően (anélkül hogy egyidejűleg levelet is hajtana), korábban a szeméretlenség jelképe volt, ezért a népi neve „meztelen szobalány”, de szokták még „téli sáfrálynak” vagy „őszi liliomnak” is nevezni.

KÓROKTAN

Az őszi kikerics, a liliomfélék (*Liliaceae*) családjába tartozik, ahogy a neve is jelzi, ősszel (augusztustól–novemberig) hajtja a sáfrányszerű lila virágait, és ebben az időben nincs levele (2. és 3. ábra). A levelei együtt fejlődnek a termésével tavasszal, az erősen mérgező növénynek hagymás, föld alatti gumója van. Lándzsaszerű levelei hasonlítanak a tulipán leveleire. A növény magassága 15–20 cm, magvai igen aprók, 1–2 mm átmérőjűek (1. és 4. ábra) (9).

Kolchicint 2 növényből lehet nyerni, *Colchicum autumnale*-ből és *Gloriosa superba*-ból (18). A növény minden részében tartalmaz kolchicint, legnagyobb mennyiségben nyári hónapokban (gumó 0,8%, virág 0,1%, mag 0,8%, szár 0,6% és



1. ÁBRA. Őszi kikerics mag összehasonlítva egy 20 eurócentessel

FIGURE 1. Seed of autumn crocus, compared to a 20 Euro cent coin



2. és 3.ÁBRA. Őszi kikerics virága szeptember–október

FIGURE 2. and 3. Bloom of autumn crocus during September–October



4. ÁBRA. Őszi kikerics termése és levele április-májusban

FIGURE 4. Yield and leaves of autumn crocus, during April-May



5. ÁBRA. Száritott őszi kikerics szénában

FIGURE 5. Dried autumn crocus in the hay

Az őszi kikerics a levelek hasonlósága miatt könnyen összetéveszthető a medvehagymával

A kolchicin mérgező adagja állatfajonként változik, átlagosan 1 mg/ttkg, lovak esetében az őszi kikericsből 1200–3000 g fogyasztása halálos

A kolchicin nem bomlik le szárítás vagy erjedés hatására, ezért szénában és a szilázsban is akár éveken át megtartja kémiai stabilitását

A kolchicin gátolja a tubulin polimerizációját, pontosabban az orsóképződést a mitózis metafázisa során

a levél 2% mennyiségben) (17). Az őszi kikerics összesen több mint 20 alkaloidot tartalmaz (pl. colchicosid, demecolchin, lumicholchicin stb.).

A levelek hasonlósága miatt könnyen összetéveszthető a medvehagymával (*Allium ursinum*) (6. ábra és 1. táblázat).

TOXICITÁS

A kolchicin mérgező adagja állatfajonként változik, átlagosan 1 mg/ttkg. Embernél ez a mennyiség már legtöbb esetben halált okoz. A halálos adag az őszi kikerics növényből lovak esetében: 1200–3000 g/állat. Kb. 1,5%-nyi őszikikerics-tartalmú széna fogyasztása lovakban már mérgezést okoz. Hidegvérű fajták a nagyobb testtömegük miatt kevésbé érzékenyek.

Szarvasmarhánál a halálos adag 1500–2000 g növény/állat (9, 10).

FARMAKOKINETIKA ÉS HATÁSMECHANIZMUS

A kolchicin egy toxikus tropolonderivát, kémiai összetétele ($C_{22}H_{25}NO_6$), vízben, kloroformban, etanolban jól oldódik, éterben kevésbé (10).

A kolchicin nem bomlik le szárítás vagy erjedés hatására, ezért szénában és a szilázsban is akár éveken át megtartja kémiai stabilitását (8). Arzénsókhöz hasonló hatása van, nem maga a kolchicin mérgező, hanem a szervezetben belőle keletkező oxidikolchicin (14).

A mérég a vékonybélben szívódik fel, és a májban first-pass effektus (a bélcsatornából a portális keringéssel a májba került toxinok és gyógyszerek jelentős részben inaktíválódnak és lebomlanak) alapján metabolizálódik. Biológiai hasznosulása 25–50%, felezési ideje 45–90 perc, megoszlási térfogata 2,2–12 l/kg, máj- vagy veseelégtelenségben szenvedő egyedeknél az eliminációs felezési idő akár 10-szeresére is nőhet (12).

Állatoknál mérgezés elsősorban tavasszal következik be. A lovak és a sertések lényegesen érzékenyebbek, mint a szarvasmarha, a kecske vagy a juh (kérődzőknél kialakulhat rezisztencia hosszan tartó kolchicinfelvétel esetén) (10).

A kolchicin gátolja a tubulin polimerizációját, pontosabban az orsóképződést a mitózis metafázisa során (mitózis 3. fázisa). Hatására zavart szenved a metafázis-kromoszómák egyenlítői orientációja, így nem képződnek életképes sejtek (7). Mérgező hatását minden szervre kifejti, leginkább azonban ott, ahol gyors a sejtosztódás, mint pl. a bélcsatorna és a máj.



6. ÁBRA. Az őszi kikerics könnyen összetéveszthető a medvehagymával

Medvehagyma balra, őszi kikerics jobbra

FIGURE 6. These two plants are easy to mix
Ramsons in the left and autumn crocus on the right

A kolchicinmérgezés első szakaszában leginkább a bélhám sérül, és következményes hasmenés jelentkezik

A második szakaszban leginkább a parenchymás szervek károsodása figyelhető meg

A harmadik stádiumban az összetett szervfunkciós zavarok miatt elhullás következik be

A kolchicin gátolja az egyéb tubulinképződéstől függő folyamatokat is, mint a fehérvérsejtek mozgása vagy az ingerületátvivő anyagok szállítása (7). Gyulladásgátló hatása úgy nyilvánul meg, hogy gátolja a granulocyták migrációját a gyulladt szövetek felé, csökkentve azok aktivitását (9, 10). Klinikopatológiai szempontból ezzel magyarázták egy krónikus májgyulladás miatt kezelt ló kolchicinadagolás után kialakult granulocytopeniáját és thrombocytopeniáját. A fenti állat fokozott vérzékenység miatt került végleges elaltatásra (16).

In vitro állatkísérletekben szintén bizonyított a kolchicin DNS-szintézist blokkoló hatása (6). A szervezetben a plazmaproteinekhez, leginkább albuminhoz kötődik. A mérgezés utáni első órákban a kolchicin koncentrációja a fehér- és vörösvérsejtekben 10-szer nagyobb, mint a szérumban (19). Maximális plazmakoncentrációja 1–3 órával az elfogyasztást követően alakul ki (12).

A kolchicin a szervezetből lassan ürül. A fő metabolikus út első szakasza a biotranszformáció a májban a CY-P3A4 izoenzim hatására, amit glükuron- vagy szulfuron-sav-konjugáció követ. A vegyület nagyobb részben az epén keresztül a bélsárral ürül ki a szervezetből (enterohepatikus keringés), kisebb részben pedig (10–30%) a vesén keresztül változatlan formában ürül a vizelettel (5, 9).

1 mg/ttkg kolchicin szervezetbe jutása után 48 órával az emberi szérumban már kicsi, nem toxikus 2,4 ng/ml koncentráció mérhető, míg a 640 ng/ml vizeletben mérhető mennyiség igazolja a kolchicinmérgezés gyanúját. Ez megfelel a kolchicin ismert toxikokinetikus tulajdonságainak: nagy térfogatmegoszlás és tartós, nagy vizeletkoncentráció (11).

TÜNETEK

Kolchicin okozta mérgezésben a tünetek 3 szakaszra oszthatók.

Az első szakaszra 2–24 órával az alkaloid szervezetbe jutását követően kerül sor. Ebben a fázisban leginkább a bélhám sérül, és következményes hasmenés jelentkezik (20). Ennek megfelelően gyakori az elektrolitvesztés, a dehidráció és a hypovolaemia (4). Az elektrolit-háztartás felborulása miatt hyponatraemia, hypomagnesaemia, hypocalcaemia és hypophosphataemia jelentkezik (1).

A második szakaszban több szerv károsulása figyelhető meg, főleg a parenchymás szerveké (máj és vese). A leggyakoribb tünetek a következők: kólika, izzadás, nyálzás, apátia, inkoordináció, fogcsikorgatás, véres hasmenés, oliguria vagy anuria, vérvelés, kancáknál tejelapasztás. A tejjel történő méregürítés révén a csikókban is megjelennek a tünetek (1, 7). A hypovolaemia és a ritmuszavarok a keringés összeomlásához vezethetnek (3). A mérreg a vázizomzatban rhabdomyolysishez hasonló károsodást okoz, ami gyakran neuropathiával párosul (1). Haematopoeticus hatása a mérregnek egy kezdeti perifériás leukocytosis, amit leukopenia és pancytopenia követ a mérgezését követő 48–72 órában. Ezen vérsejtképzési következményt a sejtosztódás gátlása okozza a csontvelőben. Ha az állat túléli a mérgezést, bekövetkezik egy „rebound” leukocytosis (2). Egyéb idegrendszeri tünetek, mint pl. epileptikus rohamok is jelentkezhetnek, de nem egészen tisztázott, hogy ezek a több szervre kiterjedő károsodás vagy a GABA-receptorok antagonizálása miatt alakulnak ki (21, 23).

A harmadik stádiumban az összetett szervfunkciós zavarok miatt elhullás következik be.

| Jellemzői | Őszi kikerics | Medvehagyma |
|------------|-------------------------|--------------------------|
| Illat | nincs | fokhagyma |
| Levélforma | hosszúkás lándzsa alakú | elliptikus lándzsa alakú |
| Szár | rövid | hosszabb |
| Hüvely | fehéres | nincs |
| Virágzás | ősz | tavaszy-nyár |

1. TÁBLÁZAT. Az őszi kikerics és a medvehagyma jellemzői

TABLE 1. Features of autumn crocus compared to ramsons

KÓRBONCTAN

A rendelkezésre álló irodalmi adatok alapján a szerveknek megfelelő leggyakoribb elváltozások az emésztőrendszerben alakulnak ki, mint pl. az ödémás, gyulladt, véres nyálkahártya a vastagbél különböző szakaszain (6). Továbbá megfigyelhetők vérzések a mellékvesékben, és pancreatitis is (15). Kórszöveti vizsgálattal a sejtek és a sejtek közötti állomány vizenyője, csökkent enzimaktivitás, a sejt és a sejtmag szerkezetének felbomlása figyelhető meg a differenciált, nem osztódó bélhámsejtekben ami felelőssé tehető a kiszáradás és hyponatraemia kialakulásáért (21).

ESETISMERTETÉS

Egy bajorországi lóállományban 3 kanca és azok csikói betegedtek meg

Mivel specifikus ellenszer nem ismert, az állatok tüneti kezelésben részesültek

Az ismertetett klinikai esetek Bajorországban, Németország legnagyobb tartományának területén jelentkeztek tél elején. Egy 40 kancából, csikóikból és 6 csődörből álló lóállományban 3 kanca és azok csikói betegedtek meg. A tünetek közül kólika, izzadás és hasmenés jelentkezett, a kancáknál enyhébb, míg a csikóknál súlyosabb tünetek voltak megfigyelhetők. A méneknél ideiglenes sterilitás alakult ki, és a tenyészszезон elején a kancák nem vemhesültek. A csikóknál a későbbiekben részletezett gyógykezelés hatására a tünetek enyhültek, de aztán újra fokozódtak. A gyógykezelés folytatásával a tünetek ismét enyhültek, majd teljesen eltűntek. Elhullás nem volt. Mivel specifikus ellenszer nem ismert, az állatok az alábbi tüneti kezelésben részesültek: intravénás folyadékterápia elektrolitoldatokkal, pl. NaCl 0,9%-os oldat (25 ml/ttkg, Bella-pharm D.), metabolikus acidózis semlegesítése bikarbonáttal (1 mmol/ttkg, 8,4%-os oldat AlleMan Pharma D.). Fájdalomcsillapításra és görcsoldásra noraminophenazont (50 mg/ttkg iv. Intervet D.), míg vizelethajtásra furoszemidet (1 mg/kg iv. naponta 2-szer, Cp-Pharma D.) használtak. Hashajtó a mérgek kiürülésének gyorsítása végett paraffinolajjal (6 ml/kg Albrecht D.) és egyidejűleg adszorbens alkalmazása a mérgek megkötése céljából orvosi szénnel (2 g/ttkg Rebophar D.) orr-nyelöcső szondán keresztül történt. Aminosav-pótlás és májtámogatás céljából a lovak Amynint (2 ml/kg i.v. Merial D.) és glükózt kaptak (2 ml/ttkg 40%-os oldat, Bella-pharm D.).

A kikerics szennyezettséget a szénvizsgálat bizonyította, amely során egy növényzeti szakértő makroszkópos takarmányvizsgálatot végzett, és megállapította az enyhe-közepes mértékű kikericsszennyezettséget a szénában. A lovak esetében a definitív diagnózis kolchicinnmérgezés esetében folyadékromatográfia-tömegspektrometria (LC-MS) tandem módszerrel történik vérplazmából és vizeletből, ami ebben az esetben a hosszú átfutási idő és az anyagi megfontolások miatt nem lett elvégezve.

KÖVETKEZTETÉS

Mivel a kolchicinnak nem ismert az ellenszere, arra kell törekedni, hogy a legelőn a lehető legkevesebb őszi kikerics nőjön

Köztudott, hogy a lovak igen kíváncsi állatok, ezért sokszor teszik ki magukat mérgezés veszélyének. Mivel az állatorvos legtöbb esetben akkor kerül a beteg állathoz, amikor már a mérgezés jelei mutatkoznak, és sok esetben a mérgezést kiváltó anyagnak nincs specifikus ellenszere, gyakran csak az általános, tüneti kezelésre nyílik lehetőség, aminek eredménye sokszor kétes, ha a toxin már nagy mennyiségben felszívódott. Mivel a kolchicinnak sem ismert az ellenszere, arra kell törekedni, hogy a legelőn a lehető legkevesebb őszi kikerics nőjön.

Ennek megvalósítására a következő intézkedések ajánlottak:

1. májusban nehéz hengerek alkalmazása, ami összezúzza a leveleket és a gumókat, majd 14 nap elteltével kaszálás, aztán hígrágyalocsolás, ami elrothasztja a gumókat;
2. a virágok lekaszálása ősszel, gátolva a magképződést;
3. vegyszeres védekezés (22).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetet mondanak a *Tierarzt-praxis Torsten Brehm*nek, amelynek beteganyagából a kézirat létrejött.

IRODALOM

1. ALTMANN, A. – SZYPER-KRAVITZ, M. – SCHOENFELD, Y.: Colchicine-induced rhabdomyolysis. *Clin. Rheumatol.*, 2007. 26. 2197–2199.
2. BALDWIN, L. – TALBERT, R. – SAMPLES, R.: Accidental overdose of insufflated colchicine. *Drug Saf. Int. J. Med. Toxicol. Drug. Exp.*, 1990. 5. 305–312.
3. BEN-CHETRIT, E. – LEVY, M.: COLCHICINE: 1998 update *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 1998. 28. 48–59.
4. BRVAR, M. – PLOJ, T. et al.: Case report: fatal poisoning with *Colchicum autumnale*. *Crit. Care*, 2004. 8. 56–59.
5. ELEFThERIOU, G. – BACIS, G. et al.: Colchicine – induced toxicity in a heart transplant patient with chronic renal failure. *Clin. Toxicol.*, 2008. 46. 827–830.
6. EPSTEIN, B. – EPSTEIN, J. – FUKUYAMA, K.: Autoradiographic study of colchine inhibition of DNA synthesis and cell migration in hairless mouse epidermis in vivo. *Cell Tissue Kinetic J.*, 1983. 16. 313–319.
7. HANS, H. F. – WOLFGANG, L.: *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. 2002. 558.
8. HANS, M. S.: *Homöopathische Materia Medica für Veterinärmediziner*. 2007. 147–149.
9. HANSEL, R. – KELLER, K. et al.: *Drogen A–D*. 1992. 946–952.
10. JEAN, M. J.: Phyto und Mykotoxine. *Schweizerische Zeitschrift für Ganzheitsmedizin*. 2013. 26.
11. KUPPER, J. – RENTSCH, K. et al.: A fatal case of Autumn crocus poisoning in a heifer. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2010. 119–112.
12. LANGE, U. – SCHUMANN, C. – SCHMIDT, K.: Current aspects of colchicine therapy – classical indications and new therapeutic uses. *Eur. J. Med. Res.*, 2001. 20. 150–160.
13. MANUCHAIR, E.: *Pharmacodynamic basis of herbal medicine*. 2001. 325.
14. MÉZES, M.: *Takarmányártalmak, takarmánytoxikológia*. SZIE Takarmányozási Tanszék, Budapest, 1997. 27.
15. NAIDUS, R. – RODVIEN, R. – MIELKE, C. J.: Colchicine toxicity: A multisystem disease. *Arch. Int. Med.*, 1977. 137. 394–396.
16. PEEK, S. F. – McSLOY, A. et al.: Presumptive colchicine toxicity in a 17-year-old Arab gelding being treated for chronic active hepatitis. *Equine Vet. Edu.*, 2007. 431–434.
17. PUTTERMANN, C. – BEN-CHETRIT, E. et al.: Colchicine intoxication: Clinical pharmacology, risk factors, features and management. *Sem. Arthritis Rheumatism.*, 1991. 21. 143–155.
18. RADOSTITS, O. M. – GAY, C. C. – HINCHCLIFF, W. K.: *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Saunders Ltd. 2006. 1885.
19. SABORAUD, A. – ROCHDI, M. et al.: Pharmacokinetics of colchicine: a review of experimental and clinical data. *Z. Gastroenterol.*, 1992. 30. Suppl. 1. 35–39.
20. SÁLYI, G.: A lovak mérgezései. Irodalmi áttekintés. 2. Mérgező növények, mikotoxinok. *Magy. Állatorv. Lapja.*, 2001. 123. 585–596.
21. STEMMERMANN, G. – HAYASHI, T.: Colchicine intoxication. A reappraisal of its pathology based on study of three fatal cases. *Hum. Pathol.*, 1971. 2. 321–332.
22. STAHLIN, A.: *Massnahmen zur Bekämpfung von Grünlandunkräutern*. 1969. 249–334.
23. WEINER, J. – BUHLER, A. et al.: Colchicine is a competitive antagonist at human recombinant gamma-aminobutyric acid receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1998. 284. 95–102.

Közlésre érk.: 2016. máj. 30.

Experiences of respiratory disease caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 16 in a Hungarian swine herd

Sárközi Rita^{1*}
Búza László²
Makrai László¹
Fodor László¹

R. Sárközi^{1*}
L. Búza²
L. Makrai¹
L. Fodor¹

1. Állatorvostudományi Egyetem
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
H-1143 Budapest, Hungária krt. 23–25.

* e-mail: sarkozi.rita@univet.hu

2. MSD Animal Health,
Intervet Hungária Kft.
H-1095 Budapest, Lechner Ödön
fasor 8.

Az *Actinobacillus pleuropneumoniae* 16-os szerotípusa által okozott légzőszervi megbetegedés tapasztalatai egy sertéstelepen

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők a 16-os szerotípusú *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) okozta tüdő- és mellhártyagyulladás egy esetét írják le. Az addig alkalmazott, hazai kereskedelmi forgalomban lévő, törzskönyvezett vakcinát egy szintén kereskedelmi forgalomban lévő, törzskönyvezett, inaktivált, standardizált mennyiségben APP toxinokat és külső membrán fehérjét tartalmazó vakcinára cserélték le. Az állomány azon részében, amelyet az új vakcinával oltottak, heveny légzőszervi klinikai tüneteket nem lehetett megfigyelni, viszont a pár hónappal későbbi vágáskor látott idült elváltozásokból a 16-os szerotípusba tartozó törzseket még ki lehetett tenyésztetni.

SUMMARY

Background: Pleuropneumonia with high economic losses caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* is common throughout the world. *A. pleuropneumoniae* has two biotypes and 16 serotypes. Serotype 16 was described recently in Hungary and it has not been isolated from other countries yet. Genes for the production (apxIA) and secretion (apxIB) of ApxI, the gene for the expression of ApxII and apxIV gene were detected in it.

Objectives: Serotype 16 of *A. pleuropneumoniae* was diagnosed in a large scale pig herd with 1350 sows in the Eastern part of Hungary in acute cases of pleuropneumonia. On the basis of the bacteriological examinations the formerly used marketed, registered vaccine produced from inactivated *A. pleuropneumoniae* strains was replaced with a marketed and registered vaccine containing inactivated toxins of *A. pleuropneumoniae* and outer membrane protein in standardized amount. The objective was to evaluate its protective effect.

Materials and methods: Four lungs of dead pigs and four lungs collected at the slaughterhouse, showing lesions of acute haemorrhagic-necrotic pneumonia and fibrinous pleuritis were sent to the laboratory. After changing the vaccine, a few months later 14 lungs with chronic pleuropneumonia were examined. The isolated *A. pleuropneumoniae* strains were serotyped using the indirect haemagglutination test.

Results: Serotype 16 of *A. pleuropneumoniae* was isolated from all the 8 acute and 14 chronic forms. In that part of the herd where the animals were injected with the toxoid vaccine (only healthy animals were vaccinated), the acute respiratory signs have not been seen any more, however *A. pleuropneumoniae* serotype 16 strains could be still isolated from lung samples collected at the slaughterhouse from animals having chronic lesions.

SERTÉS

Napjainkban a fejlett országokban a háztáji sertéstartást részben vagy teljesen felváltotta a nagyüzemi tartástechnológia, mivel az elsődleges cél a hatékony és gyors termelés. A nagyüzemi sertéstartás gazdaságosságát azonban nagymértékben veszélyeztetik a sertések különféle légzőszervi betegségei (29, 34), amelyek közül az egyik legfontosabb és világszerte ismert az *Actinobacillus pleuropneumoniae* okozta tüdő- és mellhártyagyulladás. A kórokozó kizárólag sertéseket betegít meg, főként 12–16 hetes korban okoz heveny lefolyású megbetegedést. A fertőzés aerogén úton, közvetlen érintkezéssel vagy a kiköhögött hörgőváladék belégzésével terjed, és a baktérium a tüdőben heveny savós-vérzéses, majd vérzéses-elhalásos tüdőgyulladást, ill. fibrines mellhártyagyulladást idéz elő. Fakultatív patogén baktériumról lévén szó, a hajlamosító tényezőknek, így az istállóklímának, a takarmányozásnak, az állatok átcsoportosításának és keverésének, a tömegkezeléseknek, továbbá az állomány mycoplasma-, circovírus- (PCV2-) és PRRS-fertőzöttségének igen nagy szerepe van a jellegzetes betegség kialakulásában (19). Az *A. pleuropneumoniae* okozta pleuropneumonia súlyos gondot okoz világszerte a sertéstenyésztésben (15).

Az *Actinobacillus pleuropneumoniae* főként 12–16 hetes korban okoz heveny lefolyású megbetegedést

Idült esetben a csökkent étvágy és testtömeg-gyarapodás miatt a hizlalási időszak megnyúlik, szétnövés figyelhető meg, romlik a takarmányértékesülés

A heveny megbetegedések nagyszámú elhullást okoznak, és nagy gyógykezelési költséggel járnak, míg idült esetben a csökkent étvágy és testtömeg-gyarapodás miatt a hizlalási időszak megnyúlik, az állományban szétnövés figyelhető meg, továbbá a takarmányértékesülés romlását tapasztaljuk, ezáltal jelentős gazdasági kárral számolhatunk (29).

A nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD, V-faktor) igényétől függően az *A. pleuropneumoniae* baktériumtörzsek két biotípusát különböztetjük meg. Az 1-es biotípusba tartoznak azok a törzsek, amelyek NAD-ot igényelnek növekedésükhöz, a 2-es biotípusba pedig a korábban *Pasteurella haemolytica*-szerű törzseknek nevezett, NAD-ot nem igénylő *A. pleuropneumoniae* törzseket soroljuk (9, 35). Az 1-es biotípusba tartozó törzsek virulensebbek, a 2-es biotípus szórványosan fordul elő (10), és csak nagyon nagy dózisban vagy súlyos immunszuppresszió esetén képes túlheveny, ill. heveny formában megnyilvánuló betegség kialakítására (27). A kórbonctani és kórszövettani elváltozások a két biotípus okozta megbetegedés esetén nem mutatnak különbséget (10).

Hazánkban főként az 1-es biotípus fordul elő, azon belül a leggyakoribb a 2-es szerotípus

Az *A. pleuropneumoniae* két biotípusán belül a burokban lévő poliszacharidok és a sejtfal lipopoliszacharidjai alapján 16 szerotípust különítünk el (3, 15, 25, 33). A korábbi adatok alapján hazánkban főként az 1-es biotípus fordul elő, leggyakoribb az 1-es és a 2-es szerotípus, de alkalmanként 3-as, 7-es, 9-es és 11-es szerotípusú törzseket is izoláltak (23, 24). Napjainkban a 2-es szerotípusba tartozó törzsek fordulnak elő leggyakrabban, valamint a 8-as és 9-es szerotípusú törzsek izolálása is gyakori. A felületi antigének hasonlósága miatt szerológiai tesztekben gyakoriak a keresztreakciók, amelyek megfigyelhetők az 1-9-11-es, a 4-7-es, valamint a 3-6-8-as szerotípusok között (14).

A kórokozó négy fehérje természetű exotoxin termelésére képes (ApxI, ApxII, ApxIII és ApxIV), amelyek az RTX (repeats in toxin) toxinok csoportjába tartoznak. Sejtkárosító és/vagy hemolitikus tulajdonságuk révén az alveoláris makrofágokat károsítva okoznak vérzést és elhalást (13, 14).

Az ApxI és ApxIII toxinnak van elsődleges szerepe a súlyos klinikai tünetek és a tüdő-elváltozások kialakításában

Az ApxI, az ApxII és az ApxIII toxint az *A. pleuropneumoniae* mellett egyéb *Actinobacillus*-fajok, mint például az *A. rossii*, az *A. suis* és a nem patogén *A. porciconis* is képesek termelni (7, 31). Az ApxI és ApxIII toxinnak van elsődleges szerepe a súlyos klinikai tünetek és a tüdőelváltozások kialakításában, az ApxII toxin viszont általában csak enyhébb tünetek kialakítására képes (17). Az ApxIV toxint minden szerotípusú *A. pleuropneumoniae* törzs termeli a fertőzött állatban, egyéb *Actinobacillus*-fajok viszont nem tudják előállítani, így az *apxIV* gén kifejezetten az *A. pleuropneumoniae* fajra specifikus (32).

Annak ellenére, hogy minden *A. pleuropneumoniae* szerotípus hasonló elválto-

A szerotípus meghatározására a passzív hemagglutinációs próba a legalkalmasabb

Az inaktivált baktériumokat tartalmazó vakcinák esetén a védelem szerotípus-specifikus

Egy állományban jelentős veszteséget okozott a kórkép annak ellenére, hogy azt inaktivált kórokozót tartalmazó vakcinával oltották

zást képes kialakítani, a törzsek között virulenciabeli különbségek vannak, amely a toxintermelés és a felületi poliszacharid antigének mennyiségi eltéréseivel magyarázható (5). Az egyes szerotípusok különböző kombinációban termelik a toxinokat, a toxintermelés és a szerotípus között szoros korrelációt figyelhető meg (5, 31).

Az *A. pleuropneumoniae* törzsek szerotipizálására különféle klasszikus és molekuláris biológiai módszerek állnak rendelkezésünkre. A szerotípus felületi oldható antigének alapján történő meghatározására leggyakrabban a koagglutinációs, a tárgylemez-agglutinációs, a csőagglutinációs, az immundiffúziós, a passzív hemagglutinációs próbát és az ellenáramú immunelektroforézist alkalmazzák, amelyek közül a szerzők többsége a passzív hemagglutinációs próbát találta a legalkalmasabb eljárásnak specifitása és érzékenysége szempontjából (20, 21, 23, 27).

Az *A. pleuropneumoniae* törzsek molekuláris biológiai módszerekkel történő szerotipizálására a toxintermelési profil és a szerotípus szoros korrelációja ad módot (11, 18). Az *apx*-toxingénekre alapozott polimeráz láncreakció (PCR) módszert alkalmazva a 2-8-15, az 5a-5b, a 9-11, valamint a 12-13 szerotípusok között keresztreakció volt megfigyelhető, így a toxinprofilok alapján csupán a szerotípusok négy csoportja különíthető el (31). Más PCR-eljárások a burokantigének termelésében szerepet játszó génszakaszok kimutatását célozzák (1, 6).

A betegség jelentős gazdasági kártétellel jár. Heveny megbetegedés esetében antibiotikummal egyedi és állomány szintű kezelést alkalmaznak, a betegség megelőzésére pedig különböző, inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzset vagy az általuk termelt inaktivált toxinokat és külső membránfehérjét standardizált mennyiségben tartalmazó vakcinákat használnak. Az inaktivált baktériumokat tartalmazó vakcinák esetén a védelem szerotípus-specifikus, így a szerotípusok ismerete elengedhetetlenül szükséges a hatékony vakcinázáshoz (28). Vakcinázáskor számolni kell azzal is, hogy egy állományon belül többféle *A. pleuropneumoniae* szerotípus is előfordulhat, ami miatt a vakcinázás hatékonysága a várttól elmaradhat (15).

Endémiásan fertőzött nagyobb tenyészetekben a betegség kártételeinek megelőzésére érdemes az adott állományban előforduló szerotípusú törzsekből előállított inaktivált, kereskedelmi forgalomban lévő, törzskönyvezett vagy telepspecifikus vakcinát használni. A telepspecifikus vakcina előnye, hogy az állományban megtalálható különböző szerotípusok inaktivált formáját egy oltóanyagban tartalmazza. Ha nem áll rendelkezésre ilyen vakcina, akkor az *A. pleuropneumoniae* toxinjait és külső membránfehérjét standardizált mennyiségben tartalmazó inaktivált oltóanyagokkal immunizálhatjuk az állatokat (8, 26).

Vizsgálatunk célja az volt, hogy egy kereskedelmi forgalomban kapható, törzskönyvezett, inaktivált, *A. pleuropneumoniae* törzset (1-es és 2-es szerotípus) tartalmazó oltóanyaggal szabályosan vakcinázott állományban előfordult megbetegedések kóroktani hátterét megismerjük, és a veszteségek csökkentésére kísérletet tegyünk.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A VIZSGÁLT SERTÉSÁLLOMÁNY, MINTAVÉTEL

A vizsgálatainkat egy Hajdú-Bihar megyében található 1350 kocás sertéstelepen végeztük, ahol évek óta jelentős veszteséget okoztak a légzőszervi megbetegedések annak ellenére, hogy az állományt egy hazai, kereskedelmi forgalomban lévő, törzskönyvezett, inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzset (1-es és 2-es szerotípus) tartalmazó vakcinával oltották. A vizsgálatok kezdetekor 4, tüdőgyulladás klinikai tüneteit követően elhullott, antibiotikumos kezelésben nem részesült és 4 vágóhídon gyűjtött, a heveny *A. pleuropneumoniae* okozta tüdő- és mellhártyagyulladásra jellemző kórbonctani elváltozásokat mutató állatból származó tüdőt vizsgáltunk (1. ábra). A vizsgálataink lezárásakor, öt hónappal a megváltoztatott vakcinázási programot követően, vágóhídon 14 idült tüdő- és mellhártyagyulladást



1. ÁBRA. Heveny vérzéses-elhalásos tüdőgyulladás és fibrines mellhártyagyulladás

FIGURE 1. Acute haemorrhagic-necrotic pneumonia and fibrinous pleuritis

mutató sertéstüdőt gyűjtöttünk bakteriológiai vizsgálat céljára (2., 3. ábra).

BAKTERIOLÓGIAI VIZSGÁLAT

A tüdőmintákat hűtőtáskákban szállítottuk az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Bakteriológiai Diagnosztikai Laboratóriumába, majd 10% juhvért tartalmazó tripton-szója agarra (Biolab Zrt., Budapest) oltottunk az elváltozást mutató tüdők hörgőváladékából és állományából. A NAD-függő törzsek izolálása céljából a szélesztést követően *Staphylococcus aureus*szal történő áthúzással dajkatenyészetet készítettünk (4. ábra). A leoltás után a táptalajokat aerob körülmények között 24 órán át 5% CO₂ jelenlétében 37°C-os termosztátban inkubáltuk, majd szintenyészetet állítottunk elő. A morfológiai, tenyésztési és biokémiai tulajdonságai alapján *A. pleuropneumoniae* 1-es biotípusnak bizonyult törzseket további felhasználásukig 25% steril glicerint tartalmazó táplevesbe szuszpendálva mélyhűtőben (-80 °C-on) tároltuk (2).

SZEROTIPIZÁLÁS

A vizsgálataink során az izolált *A. pleuropneumoniae* törzseket passzív hemagglutinációs próbával szerotipizáltuk. A passzív hemagglutinációs próbát mikromódszerrel végeztük, amelyhez az *A. pleuropneumoniae* 16 típustörzsével szemben házinyulakban termeltetett hiperimmun savót használtunk. A lemezeket 2 órán át szobahőmérsékleten tartottuk, majd 24 órára hűtőbe (+4 °C) tettük, és csak 24 óra elteltével bíráltuk el (4).

Az izolált törzsek szerotípusát a toxingének alapján PCR-módszerrel is meghatároztuk. A QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) használatával végzett DNS-kivonás után 5 primerpárt használtunk a 4 *apx* gén amplifikására. Eltérő PCR-elegyeket és különböző PCR-programot alkalmaztunk az *ApxIA*, *ApxIB*, *ApxII*, *ApxIII*-as primereknél (kis bázispárú termékek) és az *ApxIVA* primerpárnál (nagy bázispárú termékek). A nagyméretű PCR-termékek futtatása 1%-os, míg a kisebb termékek futtatása 2%-os

agarórgélben (SERVA Heidelberg, Németország) történt (31).

EREDMÉNYEK

KLINIKAI TÜNETEK ÉS KÓRBONCTANI ELVÁLTOZÁSOK

A vizsgálataink megkezdését megelőző időszakban a gazdaságban a pleuropneumonia jelentős kártétellel járt, a 6–20 hetes korosztály 10–45%-a köhögéssel, tüszögéssel, orrfolyással járó klinikai tüneteket mutatott, és e korosztály 7,65%-a heveny actinobacillus-pleuropneumonia kórbonctani elváltozásait mutatva elhullott.

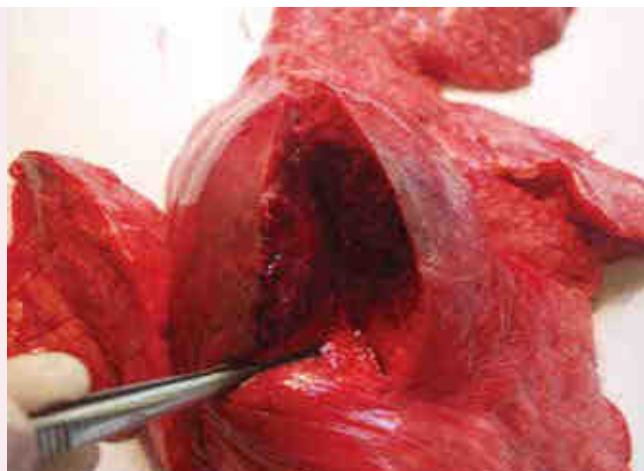
A fiataton szórványosan volt észlelhető a malacok köhögése, a kocáknál viszont egyáltalán nem volt hallható köhögés. A battériás fázis elején a tüszögés általánosan hallható-látható tünet volt. A későbbiekben a köhögés erőteljesebben jelentkezett, és a hizlalási időszak végéig hallható volt az állományban. A hizlaldán és a battérián kötőhártya-gyulladás és könnyezés volt látható.

Az állományban a 6–20 hetes korosztály 10–45%-a köhögéssel, tüszögéssel, orrfolyással járó klinikai tüneteket mutatott



2. ÁBRA. Vágóhídi tüdővizsgálat, a második tüdőben *actinobacillus pleuropneumonia* góc látható (nyíl)

FIGURE 2. Lung examination at the slaughter house; lesion of *actinobacillus pleuropneumonia* can be seen in the second lung (arrow)



3. ÁBRA. Vágóhídról gyűjtött tüdő, idült, eltokolódott *actinobacillus pleuropneumonia*

FIGURE 3. Chronic *actinobacillus pleuropneumonia*, sequester in the lung from slaughterhouse

Az átlagos napi testtömeg-gyarapodás és a takarmányértékesítés elmaradt az elvárható értékektől. A vemheskoca-szálláson, valamint egyedi állásban csak szórványos köhögés volt hallható. Az elhullott állatokban tüdő- és mellhártyagyulladást lehetett látni. Az állomány légzőszervi tüneteit közepesen súlyosaknak, bizonyos termelői csoportokban súlyosaknak minősítettük a klinikai tünetek és a kórbonctani elváltozások alapján *A. pleuropneumoniae* okozta tüdő- és mellhártyagyulladást valószínűsítettünk.

BAKTERIOLÓGIAI VIZSGÁLAT

A vizsgálatok kezdetén történt mintavétel során mind a 8, heveny elváltozást mutató sertéstüdőből *A. pleuropneumoniae* törzseket izoláltunk. A kísérlet lezárásakor a vágóhídon történt mintavétel során szintén valamennyi, az *A. pleuropneumoniae* okozta idült tüdő- és mellhártyagyulladás kórbonctani elváltozását mutató tüdőből izoláltuk a kórokozót. Mind a 22 izolált *A. pleuropneumoniae* törzs tenyésztése során NAD-ot igényelt, így a törzseket az 1-es biotípusba soroltuk be (4. ábra). A vizsgálatok során izolált *A. pleuropneumoniae* törzsek a korábban elfogadott 15 típustörzsszel szemben termelt hiperimmun savók egyikével sem adtak pozitív reakciót, viszont az általunk a közelmúltban leírt 16-os szerotípustól mintavételként javasolt A-85/14 törzsszel szemben termelt savó nagy titerben agglutinálta őket, valamennyi törzs 16-os szerotípusú *A. pleuropneumoniae*-nek bizonyult. A PCR-vizsgálat során valamennyi *A. pleuropneumoniae* törzsben az *apxI*, az *apxII* és az *apxIV* toxingén jelenlétét igazoltuk.

A bakteriológiai eredmények alapján javasoltuk, hogy a korábban alkalmazott, kereskedelmi forgalomban lévő, törzskönyvezett, inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzseket (1-es és 2-es szerotípus) tartalmazó vakcinát kereskedelmi forgalomban lévő, törzskönyvezett *A. pleuropneumoniae* toxoidokat és külső sejtfalmembrán-fehérjét standardizált mennyiségben tartalmazó vakcinával váltsák fel.

A vizsgálatok során izolált A. pleuropneumoniae törzseket a közelmúltban leírt 16-os szerotípusba sorolták

A bakteriológiai eredmények alapján javasolták, hogy az inaktivált kórokozót tartalmazó vakcinát toxoidokat és külső sejtfalmembrán-fehérjét tartalmazó vakcinával váltsák fel



4. ÁBRA. 1-es biotípusba tartozó *A. pleuropneumoniae* törzs NAD-függőség *Staphylococcus aureus* dajkatenyészetben
A felvételt DR. MAKRAI LÁSZLÓ készítette

FIGURE 4. *A. pleuropneumoniae* biotype 1. NAD-dependence in satellitism (*Staphylococcus aureus*)

Photo L. MAKRAI

A toxoidokat tartalmazó vakcinával oltott állatok esetében a heveny pleuropneumoniára jellemző légzőszervi tünetek a továbbiakban nem jelentkeztek, az állatok nem köhögtek, nem tüszögtek, és az *A. pleuropneumoniae* okozta tüdőgyulladás miatt nem történt elhullás. Mindössze a vágóhídon végzett vizsgálat során lehetett a vágásra került, de még a korábban használt, inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzseket tartalmazó vakcinával oltott sertések 20%-ában idült elváltozást látni.

MEGVITATÁS

A vizsgálatok kezdetén az állományban közepesen súlyos, súlyos légzőszervi megbetegedést állapítottunk meg, a klinikai tüneteket a battériás tartási fázistól a hizlalási idő végéig meg lehetett figyelni. A klinikai tünetek és a kórbonctani elváltozások *A. pleuropneumoniae* okozta tüdő- és mellhártyagyulladásra utaltak annak ellenére, hogy az állományt szabályszerűen egy itthon törzskönyvezett, kereskedelmi forgalomban kapható, inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzseket tartalmazó oltóanyaggal vakcinázták.

A vizsgálatok kezdetén heveny légzőszervi betegség miatt elhullott sertések tüdőmintáiból többségében szintenyészetben 1-es biotípusú *A. pleuropneumoniae*

törzseket izoláltunk, amelyeket az *A. pleuropneumoniae* közelmúltban leírt 16-os szerotípusába lehetett besorolni (33). A törzsek az *A. pleuropneumoniae* 5a és 5b szerotípusához hasonlóan az Ap₁ és az Ap₁₁ toxint termelik, amelyek közül az Ap₁ kifejezett citotoxikus és hemolitikus hatású (12). A törzsek az Ap₁₄ toxint is képesek termelni, e toxint azonban csak a fertőzött állatokban állítják elő, így az ellene termelődött ellenanyagok az *A. pleuropneumoniae* törzsek jelenlétét igazolják (11, 13).

Bár az állományt szabályszerűen vakcinázták egy kereskedelmi forgalomban lévő, törzskönyvezett, inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzseket (1-es és 2-es szerotípus) tartalmazó vakcinával, az *A. pleuropneumoniae* okozta tüdő- és mellhártyagyulladás jelentős kártétellel járt. Az inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzseket tartalmazó vakcinák csak a vakcinában lévő törzsekkel megegyező szerotípusú *A. pleuropneumoniae* törzsekkel szemben nyújtanak védelmet, az általuk biztosított védelem szerotípus-specifikus (8, 16, 28, 30). Mivel a jelen esetben egy korábban nem ismert szerotípusú, a 16-os szerotípusba tartozó *A. pleuropneumoniae* törzs okozta a telepen tapasztalható megbetegedéseket, az inaktivált *A. pleuropneumoniae* törzseket tartalmazó vakcinától teljes védőhatást nem lehetett elvárni, bár az inaktivált vakcinában is van anatoxin, amely mint antigén a szervezetből ellenanyagválaszt indukál, és ezzel biztosít bizonyos fokú védelmet a szerotípusokkal szemben. Ha ez mégsem nyújt elegendő védelmet, akkor vagy a telepen izolált törzsből előállított telepspecifikus vakcina, vagy a megbetegedést okozó törzsek által termelt toxinokat inaktív formában tartalmazó vakcina nyújthat védelmet. A bakteriológiai vizsgálatok eredményeinek birtokában a korábban használt vakcina helyett toxoidvakcinával kezdték el oltani az egészséges, tüneteket nem mutató állatokat, valamint az újabb állományt, és ennek hatására további heveny légzőszervi megbetegedések nem jelentkeztek, ami a fenti irodalmi adatokat megerősíti.

A toxoidvakcinára való áttérést követően a vágóhídi vizsgálat során idült elváltozásokat mutató tüdőmintákból izolált 16-os szerotípusú *A. pleuropneumoniae* törzsek igazolták e törzsek kórtani szerepét a vizsgált állományban.

A vizsgálatok felhívják arra is a figyelmet, hogy a modern molekuláris tipizálási eljárások mellett is szükség van a hagyományos szerotipizálás alkalmazására,

Ha az inaktivált kórokozót tartalmazó vakcina nem nyújt megfelelő védelmet, telepspecifikus vagy toxoidvakcina használata javasolt

A modern molekuláris eljárások mellett is szükség van a hagyományos szerotipizálás alkalmazására

hiszen a szerotípus egy fenotípusos tulajdonság, és a szerotipizálás eredménye hozzájárul egyes fertőző betegségek járványtanának követéséhez, segíti a vakcinák előállítását, valamint lehetővé teszi a fertőzött állományok szerológiai szempontból történő vizsgálatait (22).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az *A. pleuropneumoniae* 15 típusörzséért DR. O. ANGENNEK (Dán Műszaki Egyetem Nemzeti Állategészségügyi Intézet, Koppenhága) tartozunk köszönettel. A vizsgálatokat az OTKA 112826 pályázat támogatta.

IRODALOM

1. ANGEN, O. – AHRENS, P. – JESSING, S. G.: Development of multiplex PCR for the identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 7, and 12. *Vet. Microbiol.*, 2008. 132. 312–318.
2. BARROW, G. I. – FELTHAM, R. K. A. (eds.): *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*. 3rd. Ed. Cambridge University Press. Cambridge, 2004.
3. BLACKALL, P. J. – KLAASEN, H. L. B. M. et al.: Proposal of a new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15. *Vet. Microbiol.*, 2002. 84. 47–52.
4. BIBERSETEIN, E. L.: Biotyping and serotyping of *Pasteurella haemolytica*. In: BERGAN, T. – NORRIS, J. R.: *Methods in microbiology*. Vol. 10. Academic Press. London, 1978. 253–269.
5. BOSSÉ, J. T. – JANSON, H. et al.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*: patobiology and pathogenesis of infection. *Microbes Infect.*, 2002. 4. 225–235.
6. BOSSE, J. T. – LI, Y. et al.: Multiplex PCR assay for unequivocal differentiation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1 to 3, 5 to 8, 10, and 12. *J. Clin. Microbiol.*, 2014. 52. 2380–2385.
7. CHO, W. S. – CHAE, C.: Differentiation of twelve *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes by outer membrane lipoprotein gene-based restriction fragment length polymorphism. *J. Vet. Med. B.*, 2003. 50. 90–94.
8. CRUIJSEN, T. – VAN LEENGOED, L. A. M. G. et al.: Convalescent pigs are protected completely against infection with a homologous *Actinobacillus pleuropneumoniae* strain but incompletely against a heterologous-serotype strain. *Infect. Immun.*, 1995. 63. 2341–2343.
9. FODOR L. – HAJTÓS I. – GLÁVITS R. – VARGA J.: *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2-es biotípusú törzsei okozta tüdőgyulladás sertésállományokban. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1989. 44. 669–674.
10. FODOR, L. – VARGA, J. – MOLNÁR, É. – HAJTÓS, I.: Biochemical and serological properties of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from swine. *Vet. Microbiol.*, 1989. 20. 173–180.
11. FREY, J.: Virulence in *Actinobacillus pleuropneumoniae* and RTX toxins. *Trends Microbiol.*, 1995. 3. 257–261.
12. FREY, J.: Detection, identification, and subtyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Methods Mol. Biol.*, 2003. 216. 87–95.
13. FREY, J. – BOSSE, J. T. et al.: *Actinobacillus pleuropneumoniae* RTX-toxins: uniform designation of haemolysins, cytotoxins, pleurotoxin and their genes. *J. Gen. Microbiol.*, 1993. 139. 1723–1728.
14. FREY, J. – NICOLET, J.: Haemolysin patterns of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, 1990. 28. 232–236.
15. GOTTSCHALK, M. – LACOUTURE, S.: *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 3, 6, 8, and 15 isolated from diseased pigs in North America. *Vet. Rec.*, 2014. 174. 452.
16. JOLIE, R. – MULKS, M. – THACKER, B.: Cross-protection experiments in pigs vaccinated with *Actinobacillus pleuropneumoniae* subtypes 1A and 1B. *Vet. Microbiol.*, 1995. 45. 383–391.
17. KAMP, E. M. – STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N. et al.: Endobronchial inoculation with Apx toxins of *Actinobacillus pleuropneumoniae* leads to pleuropneumonia in pigs. *Infect. Immun.*, 1997. 65. 4350–4354.
18. KAMP, E. M. – VERMEULEN, T. M. M. et al.: Production of Apx toxins by field strains of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Actinobacillus suis*. *Infect. Immun.*, 1994. 62. 4063–4065.
19. MERALDI, G. – DOTTORI, M. et al.: Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. *Vet. J.*, 2012. 193. 234–239.
20. MITTAL, K. R. – HIGGINS, R. – LARIVIÉRE, S.: Detection of type-specific antigens in the lungs of *Haemophilus pleuropneumoniae*-infected pigs by coagglutination test. *J. Clin. Microbiol.*, 1983a. 18. 1355–1357.
21. MITTAL, K. R., – HIGGINS, R. – LARIVIÉRE, S.: Determination of antigenic specificity and relationship among *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes by an indirect hemagglutination test. *J. Clin. Microbiol.*, 1983b. 17. 787–790.
22. MITTAL, K. R. – BOURDON, S. – BERROUARD, M.: Evaluation of counterimmunoelectrophoresis for serotyping *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates and detection of type-specific antigens in lungs of infected pigs. *J. Clin. Microbiol.*, 1993. 31. 2339–2342.
23. MOLNÁR, É.: Survey of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* infection in swine by different methods. *Acta Vet. Hung.*, 1990. 38. 231–238.
24. MOLNÁR T.: Sertések légzőszervi betegségei. II. rész. *Actinobacillus pleuropneumoniae* okozta tüdő- és mellhártyagyulladás. *Az Állatorvos*, 2002. 2. 21–23.
25. MOUSER, P. (ed.): *Actinobacillus pleuropneumoniae* in swine. University West Lafayette. 2007. URL: <https://www.addl.purdue.edu/newsletters/2007/Summer/SwineAPP.html> Retrieved: 2012. 05. 27.
26. NIELSEN, R.: *Haemophilus parahaemolyticus* serotypes. Pathogenicity and cross immunity. *Nord. Vet. Med.*, 1979. 31. 407–413.
27. NIELSEN, R. – ANDERSEN, L. O. et al.: Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from pigs in two Danish herds. *Vet. Microbiol.*, 1997. 54. 35–46.
28. NIELSEN, R.: *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes-cross protection experiments. *Nord. Vet. Med.*, 1984. 36. 221–234.

29. ÓZSVÁRI L. – BÚZA L.: Sertéshizlaló telepek technológiai színvonalának, főbb termelési mutatóinak és légzőszervi tünetegyüttese (PRDC) menedzsmentjének összehasonlító vizsgálata. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2015. 137. 79–92.
30. RAMJEET, M. – DESLANDES, V. et al.: *Actinobacillus pleuropneumoniae* vaccines: from bacterins to new insights into vaccination strategies. *Anim. Health. Res. Rev.*, 2008. 9. 25–45.
31. RAYAMAJHI, N. – SHIN, S. J. et al.: Development and use of a multiplex polymerase chain reaction assay based on Apx toxin genes for genotyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates. *J. Vet. Diag. Invest.*, 2005. 17. 359–362.
32. SCHALLER, A. – KUHN, R. et al.: Characterization of *apxIVA*, a new RTX determinant of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microbiology*, 1999. 145. 2105–2116.
33. SÁRKÖZI, R. – MAKRAI, L. – FODOR, L.: Identification of a proposed new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 16. *Acta Vet. Hung.*, 2015. 63. 444–450.
34. TAKÁCS N. – ALBERT E. – KISS K. – NÉMET Z. – BIKSI I.: Sertések légzőszervi megbetegedéseinek elkülönítő kórjelzése I. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2015. 137. 15–24.
35. TUBOLY, S. (szerk.) – MEDVECZKY, I. – RUSVAI, M. – VARGA, J.: *Állatorvosi járványtan I.* – Állatorvosi mikrobiológia, bakteriológia, virológia, immunológia. Mezőgazda Kiadó. Budapest, 1998.

Közlésre érk.: 2016. jún. 2.

RENDEZVÉNY

Kedves Kolléganőök, Kollégák!

2017. február 25-én lesz a következő, az általam szervezett harmadik Országos Állatorvosbál. A 19.30-kor kezdődő eseménynek a budapesti Hotel InterContinental lesz ismét a helyszíne.

Most is várom a jótékonyági árverésre képzőművész vénájú, ill. gyűjtő állatorvosok felajánlásait. A bevétel teljes összege, mint eddig mindig, közvetlenül állatorvos kötődésű alapítványokhoz kerül. Az előző bálon nyolc alkotó és felajánló 20 műve több mint 600 ezer forint bevételt eredményezett a lelkes és nagylelkű licitálóknak köszönhetően.

A bál programjáról, egyéb részleteiről hamarosan a www.oaas.hu honlapon és a később megjelenő meghívóban olvashatnak. Kedvcsinálónak érdemes megnézni a fenti weboldalon a **Galériák** menüpont képeit és a **Videók** menüpont felvételeit!

A bállal kapcsolatban felmerült kérdésekre szívesen válaszolok.

E-mail cím: info@oaas.hu

Telefonszám: (+36-20)-941-2342

(a honlapon ez van)

Üdvözlettel: Bándy Pál

Torsion of the abdominal
parenchymal organs in dogs

Case studies

Jakus Júlia^{1*}
Hetey Csaba²

J. Jakus^{1*}
Cs. Hetey²

1. Veresvet Állatorvosi Rendelőintézet
H-2112 Veresegyház,
Erkel Ferenc u. 3/G

e-mail: jakus.julia@gmail.com

2. Állatorvostudományi Egyetem
Belgyógyászati Tanszék és Klinika

Hasi parenchymás szervek csavarodása kutyában

Klinikai esetismertetések

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők saját klinikai esetismereteseiken keresztül mutatják be a hasi parenchymás szervek (lép és máj) megcsavarodásának klinikumát. A fizikális vizsgálat sokszor állapotot jelzett. A diagnózist hasi ultrahangvizsgálat segítségével állították fel. Mindkét kórképre jellemző az érintett parenchymaállomány echogenitásának jelentős mértékű csökkenése és a bennük futó vérekek elváltozása: faluk megvastagodik, echodússá válik, a lumen thrombotizálódik. Következésményes peritonitis, ill. a szabad hasúri folyadék megjelenése is előfordulhat. A saját, májlebeny-csavarodás eset kapcsán a sérült májlebenyben egy gáztermelő baktériumokat tartalmazó tályog is kialakult. A műtéti megoldást követően a prognózis – elsősorban akut folyamat esetén – jó, idült esetekben, reperfúziós, ill. szepszis szövődmények esetén rossz.

SUMMARY

Background: The authors present the clinical manifestations of the torsion of the spleen and the liver lobe in dogs through their own cases. The splenic torsion was diagnosed in a young (5 years old) German shepherd male, the hepatic lobe torsion was seen in a female Mastino napoletano (1,5 years old).

Objectives: These acute diseases showed the signs of shock by the physical examination (hyperthermia, anaemia, increased capillary refilling time, abdominal pain in the epigastric region). General weakness and haematuria were also diagnosed. The laboratory tests indicated anaemia, inflammation (increased level of the white blood cells) and elevated level of the liver enzymes by the blood analysis. The exact diagnosis was confirmed by abdominal ultrasonography in both cases.

Results and Discussion: In the case of torsion the ultrasonographic structure of the spleen and the liver lobe are typical: decreased level of echogenicity and dilated, thrombotic blood vessels with thickened and echogenic walls in the parenchyma. Peritonitis (increased echogenicity of the peritoneum) and free abdominal fluid are also presented in such cases. Abscess in the liver parenchyma is very rare in dogs but it was also diagnosed in this case. After the operation the prognosis is good in the cases of splenic or hepatic lobe torsion, but became poor in chronic cases, in the case of reperfusion or septic complications.

KISÁLLAT

LÉPCSAVARODÁS

ESETISMERTETÉS

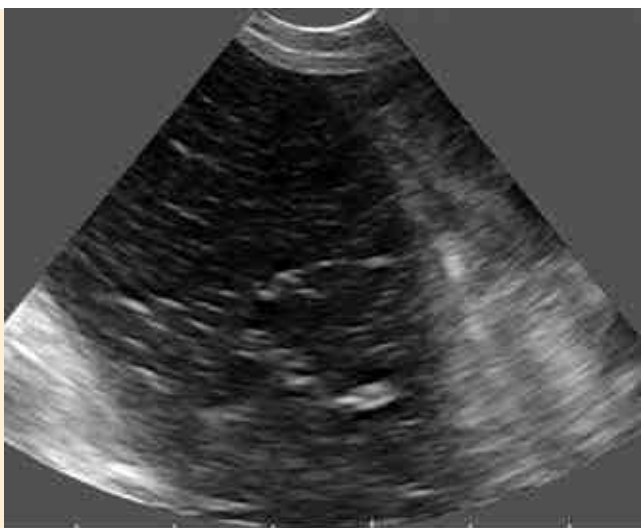
Az ötéves német juhász levertség, étvágytalanság, nehéz mozgás tüneteit mutatta, vizelete sötét volt

2015. szeptember 14-én hoztak be a Dunakeszi Állatkórházba egy ötéves, német juhász kan kutyát, amely 3 nappal korábban már állatorvosi kezelésben részesült (Imizol inj., Amoxicillin inj.). A kutya tünetei 7 nappal korábban kezdődtek. A tulajdonos levertséget, étvágytalanságot, nehéz mozgást és sötét vizeletet figyelt meg. Elmondása alapján a kutya vizelete az injekciók után világosabb lett és kicsit élénkebbnek tűnt, de továbbra sem evett és nem ivott. Hányást nem tapasztaltak, az állat normál bélsarat ürített.

A kutya a fizikális vizsgálat során bágyadt, de járóképes volt. Hyperthermiát (40 °C), sápadt nyálkahártyákat, normál kapilláris újratelődési időt tapasztaltunk. Légzése, keringése fiziológiás, hasa könnyen áttapintható volt, fájdalmat nem jelzett. Steril katéterrel vett vizelete barnás színű volt, amely a laboratóriumi vizsgálat alapján haematuria és haemoglobinuria miatt alakult ki. A hematológiai vizsgálat anaémiát (VVS: $3,89 \times 10^{12}$ T/l, Ht: 0,26 l/l), emelkedett fehérvérsejtszámot ($43,4 \times 10^9$ G/l) és normál thrombocytaszámot mutatott. A biokémiai vizsgálat során emelkedett májfunkciós értékeket (AST: 218 U/l, ALT: 136 U/l, ALKP: 575 U/l, epesav: 14,1 $\mu\text{mol/l}$) tapasztaltunk. A feltételezett immunhemolitikus anaemia diagnózisának megfelelően megkezdtük az állat kezelését (folyadékterápia, iv. antibiotis, immunszuppresszió).

A hasi ultrahangvizsgálat során jelentős mértékben megnagyobbodott, echoszegény, C alakú lépét találtunk, amelynek környékén a hashártya felfényesedett. A lép állományában echodús, párhuzamos vonalak voltak megfigyelhetők, amik csipkeszerű rajzolatot adtak (1. és 2. ábra). Kis mennyiségű szabad hasi folyadékgyülem is ábrázolódott, ami a punkció alapján véres jellegűnek tűnt. Egyéb morfológiai elváltozást a hasi ultrahangvizsgálat során nem tapasztaltunk. Bár Doppler-vizsgálat nem állt a rendelkezésünkre, a klinikai vizsgálat, a laboratóriumi eredmények és a jellegzetes ultrahangos megjelenés alapján felmerült a lépcsavarodás diagnózisának alapos gyanúja.

A jellegzetes ultrahangos megjelenés alapján felmerült a lépcsavarodás alapos gyanúja



1. ÁBRA. Az echoszegény lép állományában a kitágult erek fala párhuzamos, echodús sávok formájában jelenik meg: „csipkeszerű rajzolat”

FIGURE 1. Hypoechoic spleen with parallel linear echodensities: „lacy parenchyma”



2. ÁBRA. A „csipkeszerű rajzolat”, a fényes hashártya és a szabad hasúri folyadék (F) jelenléte jellegzetesen utal a lépcsavarodásra

FIGURE 2. Lacy parenchyma, peritonitis and free abdominal fluid (F): typical morphologic signs of splenic torsion



3. ÁBRA. A hasüregből kiemelt, megcsavarodott, szögbetört lép. A hilus megcsavarodott, körülötte a zsírszövet elhalt. Az erek megvastagodtak, trombusokkal teltek

FIGURE 3. The twisted spleen laid out from the abdomen. The twisted hilus with thick, thrombotic blood vessels and necrotic adipose tissue around the hilus

A hasi feltárási műtét során a hasüregből kb. 1 liter véres tartalom került leszívásra. A jelentős mértékben megnagyobbodott lép ventralis vége kb. 270 fokban csavarodott, szögbetört, rajta kb. 10–15 cm-es repedés volt megfigyelhető. Helyenként hiányzott a lép tokja, és előtűnt a mállékony pulpa. A lép hilusánál sárgásfehér, tömött, elhalt szövet és kisujjnyi vastag, véralvadékkal telt, elzáródott erek voltak megfigyelhetők (3. ábra). A cseplez egy része kitapadt a léphez, másik része szennyesvörös volt, és gyulladás jeleit mutatta. A lépét, a hozzá tartozó, megcsavarodott szalagot és cseplezt lekötöttük (Safil 2/0) és eltávolítottuk anélkül, hogy visszahelyeztük volna a lépét a fiziológiás helyzetébe, hogy elkerüljük a thrombusok leszakadását. A műtét végén a hasüregtesthőmérsékletű Ringer-laktát infúziós oldattal többször átöblítettük, majd a műtési sebet 3 rétegben zártuk. A lépéből és a hilus környéki szövetekből több szövettani mintavétel történt, amely a későbbiekben szöveti necrosist, liponecrosist és haematomák jelenlétét igazolta. Az egyhetes posztoperatív terápia (folyadékterápia, antibiotis, szteroid gyulladáscsökkentő, gyomornyálkahártya-védelem) során az állat általános állapota folyamatosan javult, majd tünetmentessé vált, laboratóriumi értékei rendeződtek.

MÁJLEBENY-CSAVARODÁS

ESETISMÉRETÉS

Egy másfél éves nápolyi masztiff szukánál többszöri hányást, hasmenést, véres vizeletet és gyorsan romló állapotot figyeltek meg

2014. június 16-án ambuláns vizsgálatra hoztak a SZIE Állatorvos-tudományi Kar Belgyógyászati Klinikájára egy másfél éves nápolyi masztiff szukát, akut, kétnapos kórelőzménnyel. Az állat tulajdonosa többszöri hányást, hasmenést, véres jellegű vizeletet tapasztalt, gyorsan romló általános állapot mellett. Az előző nap elvégzett vérvizsgálat eredménye emelkedett fehérvérsejtszámot (35 G/l) és emelkedett májfunkciós értékeket (ALT: 1800 U/l, ALKP: 710 U/l) jelzett.

A fizikális vizsgálat során hyperthermiát (40,2 °C), tachycardiát, dehidrációt állapítottunk meg. Az előhasi tájék tapintásos vizsgálatakor az állat fájdalmat jelzett. A kiegészítő vizsgálatok közül elsőként hasi ultrahangvizsgálat történt. Ennek során a bal oldali májlebens csökkent echogenitását figyeltük meg. Az erek ezen a területen kitértek, faluk megvastagodott, bennük vérkeringés nem volt detektálható (4. ábra). Szintén ezen a májterületen egy terjedelmes, gáztartalmú terület is ábrázolódott (5. ábra). A máj környezetében a hashártya echogenitása fokozódott, kis mennyiségű szabad hasi folyadékgyülem is megjelent. A megfigyelt morfológiai kép felvetette a májlebens-csavarodás és a májtályog gyanúját.

A fenti diagnózist a laparotomia igazolta (6. ábra). A lobotomizált májlebensből szövettani, valamint mikrobiológiai vizsgálatot végeztünk. Előbbi necrohaemorrhagiás szövet jelenlétét erősítette meg, a májerekben helyenként nagyszámú baktériumot tartalmazó thrombusokkal. A tályognak megfelelő területről vett mintából a mikrobiológiai vizsgálat *Bacteroides fragilis* jelenlétét igazolta.

A posztoperatív időszakban a kutya általános állapota javult, láztalanná vált, étvágya visszatért. Egy héttel később visszaesett, láz, ascites jelentkezett, aminek a hátterében szepszis hashártyagyulladás állt. A további intenzív terápia ellenére az állat néhány nap múlva elpusztult.



4. ÁBRA. Kifejezetten echoszegény májparenchyma, az állományában kitágult, megvastagodott falú, thrombotizált érrel (nyilak). A morfológiai kép májlebens-csavarodásra utal

FIGURE 4. Hypoechoic liver parenchyma with a dilated, thrombotic blood vessel (arrows): typical morphologic signs of liver lobe torsion



5. ÁBRA. A máj állományában gázárnyékokat tartalmazó, echodús elváltozás (nyilak): májtályogra utaló morfológiai kép

FIGURE 5. Hyperechoic lesion in the liver parenchyma with gas-shadow (arrows): liver abscess

Kutyákban a lépcsavarodás általában másodlagosan, gyomorcsavarodáshoz vagy -tágulathoz társulva lép fel, az önálló, elsődleges lépcsavarodás viszonylag ritka

A májlebens megcsavarodása kifejezetten ritka, általában a bal lateralis májlebenyt érinti

MEGVITATÁS

Lépcsavarodáson azt értjük, amikor a lép mozgékony, ventralis vége megcsavarodik a lép hilusa és az ott kilépő erek körül. Ez általában együtt jár valamilyen fokú, saját hossz tengely körüli csavarodással is. Kutyákban a lépcsavarodás általában másodlagosan, gyomorcsavarodáshoz (GDV) vagy tágulathoz társulva lép fel. Egy cikkben 193 gyomorcsavarodással diagnosztizált kutyából 39-nél (20%) állapítottak meg lépcsavarodást is (16). Az önálló, elsődleges lépcsavarodás viszonylag ritka, először 1967-ben írták le (7). A leggyakrabban német juhászban és német dogban diagnosztizálják (16), de más nagy vagy közepes testű, mély mellkasú kutyafajtában is előfordul, mint például a berni pásztor, bernáthegyi (14), golden retriever (16), collie. Leírták már francia bulldogban (8), boston terrierben (15) és standard uszkárban is (9). Kanokban gyakrabban fordul elő, mint szukákban (9, 16).

A májlebens megcsavarodása kifejezetten ritka kórkép, bár kutyán kívül más állatfajokban (nyúl, sertés, ló, macska) és emberben is ismert (10, 13). Általában a bal lateralis májlebenyt érinti.

A tünetek fennállásának időtartama alapján lépcsavarodás esetén megkülönböztetünk heveny és idült formát, míg a májlebens-csavarodás jellemzően heveny módon (pár óra–egy hét) jelentkező kórkép. A heveny forma tünetei mindkét esetben megegyeznek az akut hasi katasztrófa tüneteivel, úgymint erős hasi fájdalom, hypovolaemiás sokk, kamrai szívritmuszavar, kollapszus. Sok esetben öklendezés és nyálzás is megfigyelhető. Ha nem ismerik fel és nem kezelik időben, összeomolhat a keringés, ami szív megálláshoz vezet, a kialakuló toxæmia miatt károsodhatnak a parenchymás szervek (különösen a szív és a vese), valamint a lép esetében a szerv tokjának repedése miatt az állat elvérezhet a hasüregbe (5). Lépcsavarodás szövődményeként leírtak már *Clostridium*-fertőzés nyomán kialakult, másodlagos lépgyulladást is (5), míg a megcsavarodott májlebensben – ahogy a saját esetünkben is – tályog alakulhat ki (4). Az idült lépcsavarodás tünetei nem ennyire feltűnőek: hányás,

**A hasi parenchymás
szervek csavarodásának
primer oktana nem
tisztázott**

étvágytalanság, levertség, testtömegvesztés, visszatérő hasi diszkomfort. A tünetek időtartama kevesebb, mint egy nap és 8 hónap között változik (16). Az akut formát a lépcsavarodás-esetek 30%-ában figyelték meg (16). A maradék 70%-ot teszi ki a krónikus forma, de ezen esetek harmadában is szükség volt életmentő beavatkozásra, mikor a tünetek hirtelen akuttá váltak (16). Az eltávolított lép szövettani vizsgálata is sokszor alátámasztja, hogy a csavarodás már 2–3 hete (5) vagy akár hosszabb ideje fennállt, mint hogy tünetek megjelentek volna. Sok esetben a tulajdonos nem veszi észre a krónikus forma enyhe, intermittáló tüneteit, és csak súlyos, ill. hosszabban fennálló tünetek esetén fordul állatorvoshoz.

A hasi parenchymás szervek csavarodásának primer oktana nem tisztázott. Lehetséges, hogy a függesztőszalagok veleszületett hiánya vagy malformációja áll egyes esetek hátterében (9), de májlebery-csavarodás esetén hasi trauma következtében kialakult szalagsérülést is feltételeznek (13).

Elképzelhető, hogy a lépcsavarodás spontán megoldódó gyomortágulat vagy részleges gyomorcsavarodás nyomán jön létre (16), és hasonló oktanú eseteket leírtak májlebery-csavarodás kapcsán is (14). A lép szalagjainak megnyúlása is szerepet játszhat a lép mobilisabbá válásában gyomortágulat/csavarodás többszöri ismétlődése után (9, 16). Ezt a két elméletet támasztják alá azok az esetek, ahol a kórelőzményben szerepel gyomortágulat és/vagy -csavarodás (16), ill. az, hogy a predisponált fajták nagyjából azonosak a két betegségnél. A hipotézis bizonyítása nehéz, hiszen nem ismerjük a lép szalagjainak hosszát lép-, ill. gyomorcsavarodás előtt és után. Az viszont biztos, hogy a gyomorcsavarodás vérpangást okoz a lépben, hiszen a vénás elfolyás akadályozott. Ha ebben a helyzetben a lép csavarodik a hossz tengelye körül, a vékony falú vénák még jobban összenyomódnak. Minél tovább fennáll a vénás pangás, annál rosszabb a szerv oxigénellátottsága, aminek szöveti acidózis lesz a következménye. Ez a véralvadás fokozódásához vezet, és trombusok alakulnak ki, annál is inkább, mert az erek fala is károsodik. Ha az artériás véráramlás akadálytalan, a lép mérete és tömege tovább nő, és egy következő helyzetváltozás már nem tud magától megoldódni (5).

Oktanként szerepelhet még, ha a parenchymás szerv állományában fejlődő daganat „billenti ki” az egyensúlyi helyzetéből.

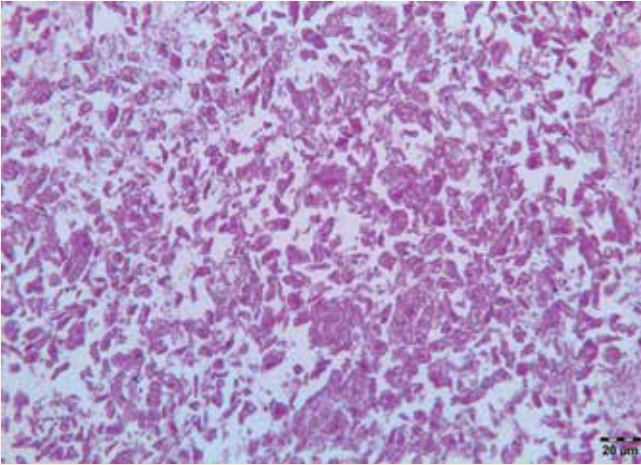
A diagnózis felállításában segít a kórelőzmény és a fizikális vizsgálat, de nem mindig állítható fel diagnózis csak ezekre támaszkodva, különösen krónikus lépcsavarodás esetében. A fizikális vizsgálat során lehetséges a megnagyobbodott máj, ill. lép tapintása főleg kisebb testű állatokban, ill. nem túl erős hasi fájdalom esetén (6, 7, 8, 12, 14, 16). A hasi fájdalom oka az érintett szerv tokjának tartós feszülése, ill. az esetlegesen fennálló hashártyagyulladás (7). Nagy testű, mély mellkasú állatokban a tapintás nehézségekre ütközik, főleg kifejezett hasi diszkomfort esetén (5, 6, 8). Az is lehetséges krónikus lépcsavarodás esetén, hogy az állat nem jelez hasi fájdalmat, de a megnagyobbodott lép vagy a lép egy része tapintható (9, 15). Ez történt a mi esetünkben is. Azt is leírták, hogy ha nem került azonnal műtetre az állat, változik a lép mérete és fájdalomassága (6). Nagy testű kutyában, ha nem nagy mennyiségű a szabad hasúri folyadék, nem tapasztalható unduláció.

Gyakran tapasztalható haemoglobin-, ill. haematuria (5, 6, 8, 15) az erekben bekövetkező hemolízis miatt. A biokémiai paraméterek vizsgálata mutathat emelkedett

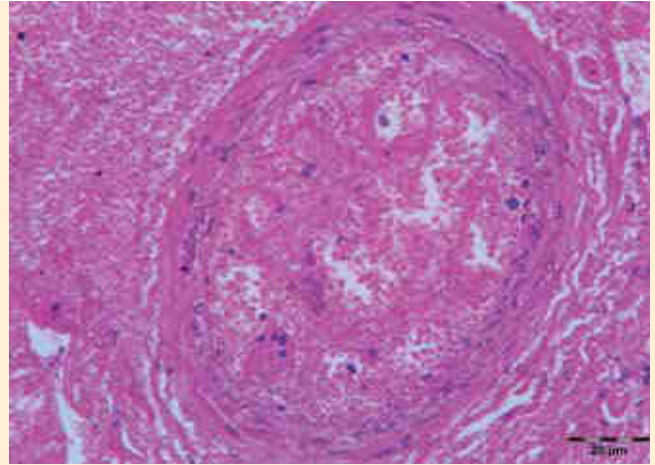


6. ÁBRA. A megcsavarodott, nekrotizálódott májlebery műtési eltávolítása

FIGURE 6. Intraoperative result: the twisted, necrotic liver lobe



7. ÁBRA. Kiterjedt vérzéses-elhalálos terület a megcsavarodott májlebenyben
H.-E., 200× Bar = 20 µm
Necrohaemorrhagic area in the torsioned liver lobe



8. ÁBRA. Septicus thrombus az érintett májlebeny artériájában
H.-E., 200× Bar = 20 µm
Septic arterial thrombus in the affected liver lobe

májenzim-, kreatinin-kináz- és karbamidszintet, bilirubinaemiát és a hasnyálmirigyenzimek emelkedését, ami azzal magyarázható, hogy a hasnyálmirigy bal lebenyét és testét a lép artériából elágazó erek látják el. A lépcsavarodás tehát vezethet ischaemiás pancreashoz és pancreatitishez is (2, 16). Mindkét kórkép következtében károsodik a retikuloendothelialis rendszer, trombolasztin szabadul fel, ez DIC-hez vezethet, aminek következtében meghosszabbodhat a véralvadási idő (12).

A hasi parenchymás szervek csavarodásának diagnosztizálásában fontosak a különböző képalkotó eljárások. Hasi röntgenfelvételen ábrázolható a megnagyobbodott, sokszor rendellenes helyzetű szerv, ami esetleg más hasúri szervek helyzetét is megváltoztatja (7, 8, 9, 14). Sokszor a szabad hasúri folyadék miatt nem ábrázolhatóak tisztán a hasúri szervek (5).

Ultrahangvizsgálat során feltűnő, hogy az érintett szervrészek kifejezetten echoszegények, a kitágult erek fala párhuzamos, echodús vonalakként jelennek meg, és ez csipkére emlékeztető szerkezetet ad a parenchyma állományának (7, 8, 9, 15). Doppler-ultrahangvizsgálattal nem ábrázolható véráramlás, bár kisebb jetek ilyenkor is előfordulhatnak (5). A véráramlás hiánya és az echoszegény területek thromboembolia, infarktusz és elhalás miatt is kialakulhatnak (9, 11, 15). Diagnosztikai értékű, ha a lép ventralis és dorsalis vége egymás közelébe kerül és C alakban ábrázolódik egy ultrahangképen, ez ugyanis csak akkor következhet be, ha a lépcsavarodás 180 foknál nagyobb (15). Egy esetben írtak le eddig spontán megoldódó, akut lépcsavarodást. Ebben az esetben a lép echoszerkezete normális volt, de állományában megjelentek a kitágult vénák. A vena lienalis erősen kitágult, és 270 fokos szögbe tört. Míg az artériában Doppler-vizsgálattal kimutattak áramlást, a vénában és a parenchymában nem. 14 órával később a kutya tünetmentes volt, és az ultrahangvizsgálat során a lép fiziológiás megjelenést mutatott (14).

Természetesen CT-vizsgálattal is diagnosztizálható a hasi parenchymás szervek rendellenes helyzetűsége (7, 15). Ennek ellenére a módszer ritkán használatos, mivel a hasi ultrahangvizsgálat diagnosztikus értékű, könnyebben kivitelezhető módszer.

Leírták már a megcsavarodott lép komplikációmentes *in situ* visszahelyezését kismértékű, akut csavarodás esetén, ahol nem volt megfigyelhető elhalás vagy trombózis (7), de mind a lépcsavarodás, mind pedig a májlebenycsavarodás megoldására általánosan a műtéti eltávolítást ajánlják. Természetesen az állat stabilizációja után

Ultrahangvizsgálat során az érintett szervrészek kifejezetten echoszegények, a kitágult erek fala párhuzamos, echodús vonalakként jelennek meg, csipkeszerű rajzolatot adva

A műtét során az ereket anélkül kell lekötöni, hogy vissza-helyeznénk a szervet az eredeti helyzetébe

kerüljön sor a műtetre és, ha van rá lehetőség, ajánlott a véralvadási paraméterek vizsgálata is. Az érintett parenchymás szerv vagy szervrészlet ereit anélkül kell lekötöni, hogy visszahelyeznénk a szervet az eredeti helyzetébe, mert különben a felszabaduló thrombusok és gyulladásos mediátorok súlyos szövődményekhez vezethetnek (5, 8, 9, 12, 15, 16). Az erek lekötése során nem szabad lekötöni a pancreas ereit (2). A műtéti megoldást követően célszerű kórszövettani mintát vizsgálatra küldeni annak érdekében, hogy kizárhassuk, nem áll-e daganatos elváltozás a csavarodás hátterében (16). Mivel a lép eltávolítása után megnőhet a gyomor mozgékonyasága és a legtöbb beteg fajtája miatt amúgy is hajlamos rá, több szerző ajánlja gastropexia elvégzését esetleges későbbi gyomorcsavarodás megelőzése érdekében (2, 8, 9, 15, 16). Leírtak már minimálinvazív, laparoszkoós splenectomiát is kutyában (1, 3), de lépcsavarodás esetén még nem alkalmazták. Erősen kérdéses, hogy a rendellenes anatómiai viszonyok között, sokszor szabad hasúri folyadék jelenlétében el lehet-e végezni a splenectomiát ugyanolyan gyorsan és biztosan, mint a hagyományos módon.

A hasi parenchymás szervek csavarodásának prognózisa jó

A hasi parenchymás szervek csavarodásának prognózisa jó, különösen, ha sikerül gyorsan felállítani a diagnózist és megfelelően stabilizálni a beteget a műtét előtt, valamint ha sikerül kezelni az esetleg fellépő szövődményeket (8, 9, 15, 16). Májlebens-csavarodást illetően a statisztikai megközelítés nehéz, egy amerikai, retrospektív tanulmány tízéves időszak alatt, csupán 13 diagnosztizált esetről számol be (12). A lépcsavarodás kapcsán egy tanulmány alapján 61 diagnosztizált kutyából 51 (83,6 %) élt még a műtét után egy hónappal (16). 1990 előtt 74%-os (26/35) egy hónapos túlélést írtak le, de ez a szám 1990 után megnőtt 96%-ra (27/28) (16). Ez valószínűleg a képződiagnosztikai eljárások fejlődésének és elterjedésének, a páciensek jobb pre-, intra- és posztoperatív monitorozásának és a sürgősségi ellátás javulásának köszönhető.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők ezúton szeretnék megköszönni DR. FARKAS ZOLTÁN, DR. GÁSPÁR EDIT és DR. MAYER KATALIN segítségét.

IRODALOM

- BAKHTIARI, J. – TAVAKOLI, A. et. al.: Minimally invasive total splenectomy in dogs: A clinical report. *Int. J. Vet. Res.*, 2011. 5. 9–12.
- CHARLESWORTH, T.: Canine splenectomy. *Comp. Anim.*, 2014. 19. 368–373.
- DOWNES, M. O. – MILLER, M. A. et. al.: Liver lobe torsion and liver abscess in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1998. 212. 678–680.
- KHAJAL, A. – BAKHTIARI, J. et al.: Comparison between single and three portal laparoscopic splenectomy in dogs. *BMC Vet. Res.*, 2012. 8. 1–4.
- KLÖPPER, G. H. – UEBERSCHÄR, S.: Fallbericht zur primären subakuten Milzdrehung beim Hund. *Prakt. Tierarzt.*, 2005. 86. 884–892. <http://www.praxisfuertierpathologie.de>
- MAXIE, M. G. – REED, J. H. et al.: Splenic torsion in three great Danes. *Can. Vet. J.*, 1970. 11. 249–255.
- PATIL, D. B. – UDINDAR, M. et. al.: Splenic Torsion in a Dog and its Emergency management. *Intas Polivet*, 2011. 12. 395–398.
- ROLDÁN, L. M. G. – DIAZ, M. B. et al.: Torsion esplénica aislada en dos perros. *Argos – Inform. Vet.*, 2014. 162. 66–68.
- SCHNIER, L. M.: A case of splenic torsion with progressive anemia and thrombocytopenia. *Can. Vet. J.*, 2010. 51. 527–529.
- SCHWARTZ, S. G. H. – MITCHELL, S. L. et. al.: Liver lobe torsion in dogs: 13 cases (1995–2004). *JAVMA*, 2006. 228. 242–247.
- SINGH, M. – FOSTER, D. et. al.: Hepatic lobe torsion and gastric-dilatation volvulus in a dog. *Aust. Vet. Pract.*, 2002. 32. 174–178.
- STONEHAM, A. E. – HENDERSON, A. K. et.al.: Resolution of severe thrombocytopenia in two standard Poodles with surgical correction of splenic torsion. *JVECC*, 2006. 16. 131–135.
- SWANN, H. M. – BROWN, D. C.: Hepatic lobe torsion in 3 dogs and a cat. *Vet. Surg.*, 2001. 30. 482–486.
- SZATMÁRI, V. – PÉNTEK, G. – VÖRÖS, K.: Spontaneous resolution of splenic torsion in a dog. *Vet. Rec.*, 2000. 147. 247–248.
- OHYA, H. – TAKAGI, S. et al.: Primary Splenic Torsion in a Boston Terrier. *J. Vet. Med. Sci.*, 2009. 71. 1533–1535.
- WEBER, N. A.: Chronic Primary Splenic Torsion With Peritoneal Adhesions in a Dog: Case Report and Literature Review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 2000. 36. 390–394.

Közlésre érk.: 2016. szept. 12.

DR. ÖRSI ATTILA (1937–2016)

DR. ÖRSI ATTILA ny. egyetemi adjunktus, a méhegészségügy oktatója, volt kollégiumi igazgató 2016. október 11-én, rövid betegség után, életének 80. évében váratlanul elhunyt.

ÖRSI ATTILA Budapesten született 1937-ben. Óbudán járt elemi iskolába és ott, az Árpád Gimnáziumban érettségizett. A gimnáziumi éveket és néhány tanárát többször és büszkén emlegette. Intenzíven sportolt, a lovaglással kötött barátsága a későbbi évek, évtizedek során is megmaradt, hiszen lovas szakedzői diplomát is szerzett, a lovasversenyeken pedig több évtizedig versenybíróként tevékenykedett. Feltehetően a lovakkal kötött barátsága irányította az állatorvosi pályára, azonban egyetemi felvételéig három évig dolgoznia kellett: földmérők mellett dolgozott szinte az ország minden pontján.

Az egyetemi évei alatt kitűnt szorgalmával. Tudományos diákköri versenyen elért eredményei révén külföldi cseregyakorlaton való részvétellel is lehetőséget nyert.

A diplomaszerezés után, 1963-tól az MTA Állategészségügyi Kutató Intézetében kapott állást. A laboratóriumi munka azonban nem elégítette ki, állatok közelébe vágyott. Az Egyetem Sebészeti és Szemészeti Tanszékére került egyetemi tanársegédnek. Az oktatói munka lehetősége csábította az Állategészségügyi Igazgatástani Tanszékre, mert ott megbízást kapott egy önálló, a mézelő méhek életét és betegségeit tárgyaló, méhegészségügy c. tárgy oktatására. E témakörben egyetemi jegyzetet is írt. Emellett még a tanszék egyéb tárgyainak, elsősorban az igazságügyi állatorvostan oktatásában is részfeladatokat kapott, továbbá, 2 oktatótársával együtt ún. mikrobuszos gyakorlatokat vezetett heti 1–2 alkalommal. Már nyugdíjasként rendszeresen oktatott lovas tanfolyamokon.

Tudományos munkái közül a már említett, több alkalommal aktualizált méhegészségügy jegyzeten túl az Igazságügyi Felülvéleményező Bizottság szakértői tevékenységének és a méhek növényvédő szerek okozta mérgezéseinek az elemzése emelhető ki.

Népszerű ember volt, de választott tisztségeket nem vállalt. Oktatótársai, a dolgozók és a hallgatók egyaránt tisztelték, szerették.

Kedvelte az ifjúságot. A hallgatókat nemcsak oktatta,

hanem nevelte is. Türelmesen magyarázott, jószívűen vizsgáztatott.

Nyitott szemmel járt a világban. Tapasztalatait, észrevételeit másokkal is megosztotta. Sokszor mesélt Decsről, a sárvízi faluról, ahol a háborús években menedékre talált, a lovarda, a Tattersal mindig pezsgő világáról, földmérői vándoréveiről, balatoni vitorlázásokról. Egyetemi és vizsgasztorikból kifogyhatatlan tárháza volt.

Külön figyelte és segítette az élsportoló hallgatókat. Teljesítményüket elismerte, sikereiknek szívből örült.

Irigylésre méltó volt a memóriája. Különösen a név- és arcmemóriája volt kitűnő. Ezt igazán kollégiumi igazgatóként tudta jól hasznosítani. Kollégiumi vezetőként nem volt könnyű dolga. A sokszor túlzó hallgatói igényeket is megfelelően kezelte. A hallgatók nemcsak elfogadták, hanem tisztelték is következetes magatartásáért, pontosságáért.

Nagyon egyszerűen, allűrök nélkül, mondhatni szerényen élt. Nem volt gépkocsija, nem vett részt társas vagy egyéni utazásokon. Számára a család volt a legfontosabb: felesége, három gyermeke, azok házastársai, 12 unoka és már 2 dédunoka is. Szeretett feleségét 4 éve vesztette el, de családjá biztos támaszt és sok örömet jelentett számára.

Az alma materhez és volt munkahelyéhez haláláig vonzódott, hiszen megélt életéveinek felét ott töltötte el: ötöt egyetemi hallgatóként, 35-öt egyetemi oktatóként. Nyugdíjasként is rendszeresen részt vett az egyetemi rendezvényeken, halála előtt egy jó hónappal az egyetemi tanévnyitón. Mindig megjelent az egyetem baráti köre által szervezett vagy tanszéki összejöveteleken. Mostantól nagyon hiányozni fog ezeken is.

Az égiek megjutalmazták még itt a földön higgadt, barátságos természetéért. Kívánsága szerint nem volt sokáig beteg, nem szorult ápolásra, és kórházban halt meg. Ez egy cseppnyi vigasz lehet szeretteinek is.

Kedves, szimpatikus lényét nem feledjük! Nyugodjon békében!

Dr. Visnyei László

Tyzzer's disease
in a puppy

Case report

Szeredi Levente^{1*}
Vágó Eszter²
Perge Edina³
Ursu Krisztina¹L. Szeredi^{1*}
E. Vágó²
E. Perge³
K. Ursu¹1. NÉBIH Állategészségügyi
Diagnosztikai Igazgatóság
H-1149 Budapest, Tábornok u. 2.
szeredil@nebih.gov.hu2. Budapesti Állatkórház Kft,
H-1135 Budapest, Lehel u. 43-47.3. MÁTRIX Állatorvosi Kórszövettani
Laboratórium
H-1038 Budapest, Vasút sor 34.

* e-mail: szeredil@nebih.gov.hu

Tyzzer-betegség kölyökkutyában

Esetismertetés

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők egy 2 hónaposan elpusztult bernáthegyi kan kutyában Tyzzer-betegséget állapítottak meg. A kölyöknél a már hetek óta fennálló hasmenést követően hirtelen láz és sárgaság jelentkezett. Az állat a kétnapos gyógykezelés ellenére elhullott. A kórbonctani vizsgálattal vérfogyottságot, súlyos fokú sárgaságot, valamint máj- és lépmeagnagyobbodást figyeltek meg. A kórszövettani vizsgálattal a májban elfajulással és sejtelhalással kísért gyulladást, a szívizomban pedig gyulladással kísért elhalásos góccokat találtak. A májban egyenletesen, míg a szívizomban az elhalások szélén sejten belül elhelyezkedő, pálca alakú, Gram-negatív baktériumokat figyeltek meg. A PCR-módszerrel a májból *Clostridium piliforme* mutattak ki.

SUMMARY

Background: Tyzzer's disease is caused by *Clostridium piliforme* a spore-forming gram-negative obligate intracellular bacterium, which can rarely find in dogs.

Objectives: Tyzzer's disease was diagnosed in a puppy. The results of clinical examination and different laboratory methods are discussed.

Materials and Methods: A 2 month old St. Bernard male dog suffered from diarrhoea and inappetence for several weeks. The puppy suddenly had fever and jaundice and died in two days in spite of treatment. The puppy was sent for laboratory examination, which included gross pathological, histological (heart, lungs, spleen, liver, kidney, small intestine) and immunohistochemical (IHC) examination (distemper, canine parvovirus, canine infectious hepatitis, leptospirosis, *Toxoplasma gondii*). Additionally rabbit anti-*Mycobacterium bovis* antibody was used for IHC test, which detects several different bacteria, fungi and protozoa. Bacteriological examination was also performed (spleen, small intestine), and for the detection of *C. piliforme* the PCR test was used.

Results and Discussion: On gross pathological examination anaemia, severe jaundice and enlarged liver and spleen were observed. With histological examination disintegration, degeneration and scant necrosis of hepatocytes were observed, associated with several macrophages and few other inflammatory cell types located in the sinusoids. Multifocal necrosis was found in the heart, also associated with large number of macrophages and few other inflammatory cell types. Intracellular gram-negative filamentous bacteria in bundle or criss-cross were found in liver evenly distributed and on the border of necrotic area in heart using Warthin-Starry silver or Giemsa staining. The bacterium immunostained with rabbit anti-*Mycobacterium bovis* antibody based IHC test. *C. piliforme* was detected in the liver, using PCR method. No other pathogens were found. The first case of Tyzzer's disease was published in dog 16 years ago in Hungary. This is the second case to report the occurrence of the disease in dog in Hungary.

A Tyzzer-betegség kutyában eddig csak egy alkalommal, 16 évvel ezelőtt került leírásra hazánkban a Magyar Állatorvosok Lapjában (4). A jelen esetbemutatóval föl szeretnénk hívni a figyelmet arra, hogy ritkasága ellenére érdemes erre a betegségre is gondolni hasmenésben szenvedő, sárgaság tüneteit mutató fiatal kutyáknál.

A *Clostridium piliforme* egy Gram-negatív, pálcá alakú, spórát képző, kizárólag sejten belül szaporodó baktérium

A *Clostridium piliforme* (korábban *Bacillus piliformis*) egy Gram-negatív, pálcá alakú, spórát képző, kizárólag sejten belül szaporodó, ostoros baktérium. A rágcsálók egészséges bélflórájának alkotórésze, de számos más állatfaj bélcsatornájában is tünetmentesen jelen lehet (3). A kórokozó által előidézett betegséget először 1917-ben ERNST TYZZER írta le egérben. A róla elnevezett Tyzzer-betegség különféle rágcsálókban és csikókban viszonylag gyakran előfordul, de szórványosan számos más állatfajban, így szarvasmarhában, kutyában, macskában, különféle vadállatfajokban (panda, mosómedve, hópárduc, prériefarkas, róka, fehérfarkú szarvas, erszényesek, majom), valamint emberben is leírták (1, 10). A kórokozó izolálása körülményes, mivel sejtmentes táptalajon nem tenyésztethető, ezért járványtanáról viszonylag kevés információ van. A bélsárral a külvilágra került spóra a külső behatásokkal szemben ellenálló, és így a fertőzőképességét akár egy évig is megőrizheti. 0,3%-os nátrium-hipoklorit oldattal, valamint 80 °C-on való 30 perces melegítéssel a spóra elpusztítható (1). A fogékony egyed a bélsárral szennyezett környezetből legnagyobb valószínűséggel szájon át veszi föl a spórákat, amelyek a bél hámszejtjeibe jutva vegetatív formává alakulnak. Ezek, a gazdaszervezet védekezőrendszerének károsodása esetén, a bélfalból a vér- és nyirokkeringés útján eljuthatnak a májba, a szívizomba vagy ritkán egyéb szervekbe (1, 3, 10).

ANYAG ÉS MÓDSZER

Egy hetek óta hasmenésben és étvágytalanságban szenvedő 2 hónapos bernáthegyi kan kutya állapota 5 napig tartó Sumetrolim tablettá adása ellenére rosszabbodott. A kölyköt állatkórházba szállították, ahol a klinikai vizsgálat során közepes fejlettség és kondíció mellett lázat (40,2 °C), valamint súlyos fokú elesettséget lehetett megfigyelni. A testtájéki nyirokcsomók kissé megnagyobbodtak, a látható nyálkahártyák pedig a normálnál kissé halványabbak voltak. A kapilláris újratelődési idő 2 mp feletti, az érverésszám 97/perc, a légzésszám 18/perc volt. A mellkas hallgatószerű vizsgálatánál kóros eltérés nem volt tapasztalható. A has vizsgálata során fájdalomreakció kíséretében megvastagodott falú, hurutos beleket tapintottunk, és a végbélben vízszerű friss vért is tartalmazó bélsarat találtunk. A vizelet élénksárga, áttetsző volt. Az intravénás folyadékterápia során 200 ml Ringer-infúziót és 30 ml hidroxietil-keményítőt (HAES) adtunk 2 ml famotidinnal kiegészítve (Quamatel 20 mg-os injekció, Richter Gedeon). Lázcsillapításra 0,2 ml nem szteroid gyulladáscsökkentőt adtunk bőr alá (Metacam 2 mg/ml, Boehringer Ingelheim), végül antibiotikumként 0,5 ml enrofloxacin adagoltunk ugyancsak bőr alá (Baytril 5% injekció, Bayer). Mivel a kutya védőoltásban még nem részesült, a terápiát 2 ml Canglob szérummal (Dyntec spol.) is kiegészítettük. Otthoni kezelés-ként diétát és probiotikus pasztát javasoltunk. Másnap reggelre az állat állapota nem javult, a hőmérséklete 40,4 °C, pulzusszáma 90/perc, légzésszáma 25/perc, a látható nyálkahártyák továbbra is halványak, és már enyhén sárgák is voltak. A rosszabbodó klinikai tünetek miatt az állat kórházi fölvétele mellett döntöttünk, amelynek során a kutyát cseppinfúzióra kötöttük, és az előző napi kezelést megismételtük. A kiegészítő vizsgálatok költségeit a tulajdonos nem vállalta, ezért ultrahangos, röntgen- és vérvizsgálat nem készült. Estére a látható nyálkahártyák már citromsárgává változtak, és a spontán ürített vizelet borostyánszínű volt. Másnap hajnalban légzésleállás miatt végzett sikertelen újraélesztési kísérletet követően a kutya elhullott.

Egy hetek óta hasmenésben szenvedő két hónapos bernáthegyi kan az intenzív kezelés ellenére elpusztult

A kórboncolás során a makroszkópos vizsgálat után különféle szervekből szövetszövetmintát vettünk (szív, tüdő, vese, lép, máj, vékonybél). Ezeket 4%-os formaldehidoldatban fixáltuk, paraffinba ágyztuk, majd belőlük 4 µm vastag metszeteket készítettünk, amelyeket hematoxilinnel és eozinnal (HE), Giemsa-, PAS-, Ziehl-Neelsen-, Brown-Brenn-, Gömöri-módszerrel, ill. Warthin-Starry-féle ezüstimpregnációval megfestettük. Sorozatmetszeteken immunhisztokémiai (IH) vizsgálatokat végeztünk a szopornyica, a húsevők parvovírusa, a kutya fertőző májgyulladás, a leptospirák és végül a *Toxoplasma gondii* kimutatása céljából (9). Ezekon felül IH-vizsgálatot végeztünk a *Mycobacterium bovis* ellen termelt reagens felhasználásával. Ezzel a módszerrel a szöveti elváltozásokban jól feltűnethetőek a legkülönbözőbb baktériumfajok, számos gomba, sőt néhány egysejtű parazita is (8).

A bakteriológiai vizsgálatokhoz mintát vettünk a lépéből és a vékonybél-tartalomából, amelyeket 5% juhvérrel kiegészített Columbia-agarra, valamint Drigalski-agarra oltottunk ki, és 37 °C-on 24 órán át inkubáltunk. A béltartalomról egy Columbia-agarra szélesztett mintát anaerob körülmények között is inkubáltunk 37 °C-on 24 órán át a clostridiumok kimutatása céljából.

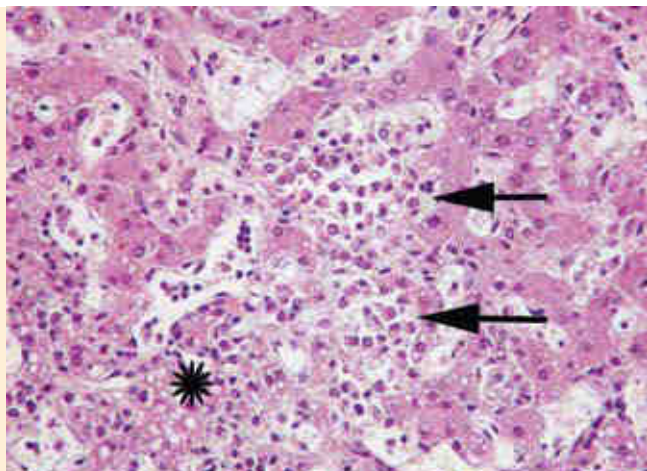
A májból megkíséreltük a *C. piliforme* kimutatását PCR-módszerrel (2).

EREDMÉNYEK

KÓRBONCTANI, KÓRSZÖVETANI, IMMUNHISZTOKÉMIAI, PCR- ÉS BAKTERIOLÓGIAI VIZSGÁLAT

A kórboncolás során közepes tápláltsági állapot és jól alvadt vér mellett vérfogyottságot valamint súlyos fokú sárgaságot figyeltünk meg. A máj jelentősen megnagyobbodott, okkersárga és könnyen szakítható volt. A lép kismértékben megnagyobbodott. A vékonybél nyálkahártyája bővérű volt, és a benne lévő pépes tartalomhoz a hátsó szakaszon emésztetlen vér keveredett, amely a vastagbélhez

A tetem boncolása során vérfogyottságot és súlyos fokú sárgaságot figyeltek meg

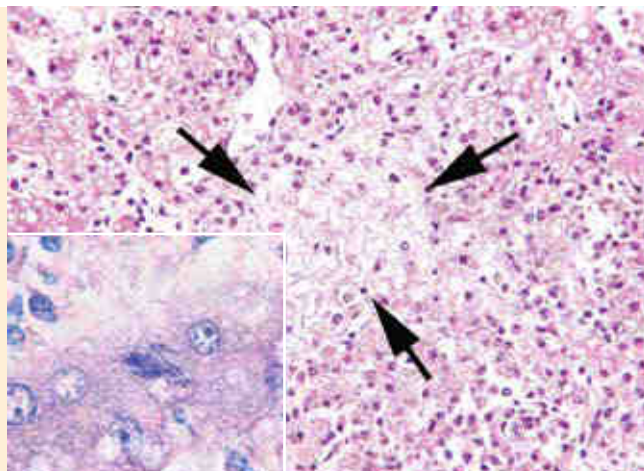


1. ÁBRA. Kutya, máj

A máj szerkezete felbomlott, a kitágult sinusoidokban nagyszámú macrophag sejt (nyilak) látható. A májsejtek egy része vakuólisan elfajult (csillag). H. E. 200×

FIGURE 1. Dog, liver

Hepatocellular dissociation and large number of macrophages (arrows) filling the distended sinusoids. Vacuolar degeneration is evident in several hepatocytes (asterisk)

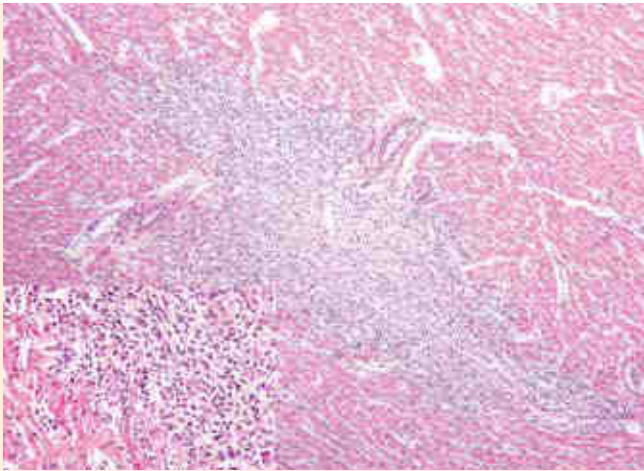


2. ÁBRA. Kutya, máj

Súlyos fokú vakuólisan májelfajulás és körülírt friss keletű elhalás (nyilak). H. E. 400×. Kiemelt képrészlet: egymással párhuzamosan kötegbe rendeződött pálca alakú baktériumok csoportja egy májsejt citoplazmájában. Giemsa 1000×

FIGURE 2. Dog, liver

Severe vacuolar degeneration of hepatocytes and focal acute necrosis (arrows). Inset: A group of rods in bundle is situated in the cytoplasm of a hepatocyte

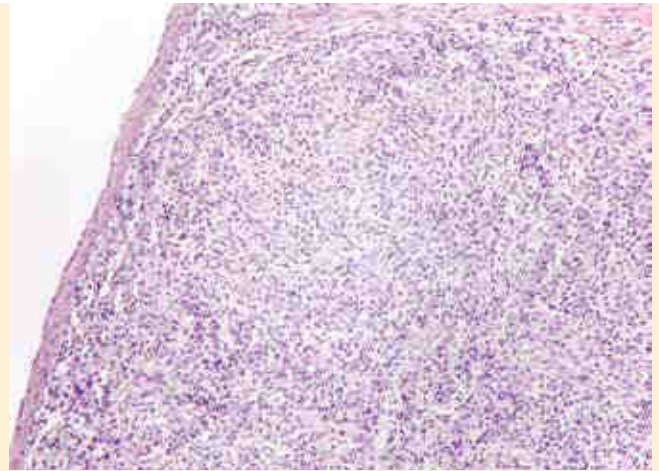


3. ÁBRA. Kutya, szívizom

Gócos elhalás és nagyszámú macrophag sejt. H. E. 40×
Kiemelt képrészlet: az elhalás széli részén döntően macrophag sejtek láthatók. H.–E. 200×

FIGURE 3. Dog, myocardium

Focal necrosis and large number of macrophage cells. Inset: Large number of macrophages on the border of the focal necrosis



4. ÁBRA. Kutya, lép

Lymphoid depletio és a macrophag sejtek megszorodása. H. E. 100×

FIGURE 4. Dog, spleen

Lymphoid depletion and large number of macrophages

A májban és a szívizomban gócos elhalásokat és főként macrophagokból álló beszűrődést figyeltek meg

Warthin–Starry-festéssel, ill. IH-val coccoïd vagy pálcá alakú baktériumokat találtak, amelyeket PCR-vizsgálattal C. piliformeként azonosítottak

közeledve már emésztetté vált. A többi szervben a heveny pangásos bővérúségen kívül egyéb kórjelző értékű elváltozást nem találtunk.

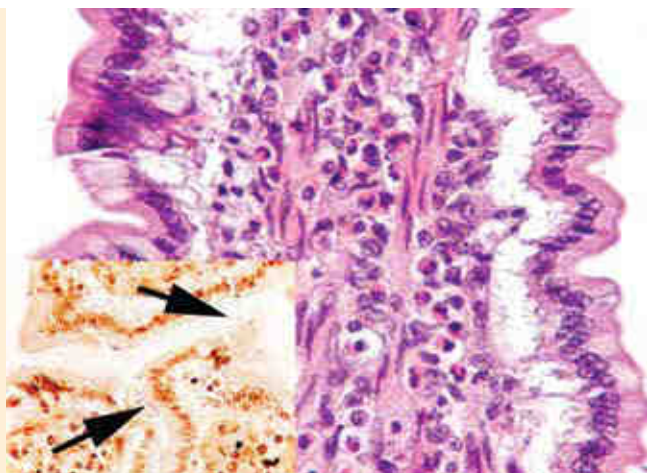
A kórszövettani vizsgálattal a legkifejezettebb elváltozásokat a májban, ill. szívizomban találtuk. A máj szerkezete epepangás kíséretében felbomlott és a sinusoidokat nagyszámú macrophag sejt töltötte ki (1. ábra). Egyéb gyulladásos sejtek csak kis számban fordultak elő. A májsejtek többsége enyhébb-súlyosabb mértékben vakuóláson elfajult, és kisebb gócban elhalt (1. és 2. ábra). A szívizom körülírt területeken elhalt, és itt nagyszámban macrophag sejtek, valamint kevés lymphocytá és neutrofil granulocytá helyezkedett el (3. ábra). A lépben a lymphoid sejtek kiürülését és a macrophag sejtek megszorodását (4. ábra), a vékonybélben a bolyhok megrövidülését és a nyálkahártyában számos eozinofil granulocytát (5. ábra), enyhe fokú félheveny szövetközi tüdőgyulladást, végül a vesében heveny tubulonephrosist is megfigyeltünk. A HE- és Giemsa-festéssel gyengén festődő hosszú pálcá alakú baktériumokat találtunk a májsejtekben a szerv teljes állományában (vö. 2. ábra), és a szívizomsejtekben az elhalásos gócbok széli részén. A baktériumok a PAS-reakcióval, ill. Gömöri-, Brown–Brenn- és Ziehl–Neelsen-festéssel nem festődtek. A Warthin–Starry-festéssel egymást keresztező vagy egymással párhuzamos elrendeződésben hosszú pálcá alakú baktériumok csoportjait figyeltük meg a májsejtekben és az elhalások szélén a szívizomsejtekben (6. ábra). Ilyen baktériumokat találtunk elvéve a lép sinusoidjaiban valamint a vékonybél hámrétegének a felszínén is (vö. 5. ábra). A *M. bovis* ellen termelt reagens felhasználásával végzett IH-vizsgálat során a májban és a szívizomban Warthin–Starry-festéssel feltüntetett baktériumok apró coccoïd vagy pálcá alakú immunfestődést mutattak (7. és 8. ábra). PCR-vizsgálattal a májból *C. piliformet* mutattunk ki.

A bakteriológiai vizsgálattal kórokozót nem tenyésztettünk ki. A szopornyica, a húsevők parvovirusa, a kutya fertőző májgyulladása, a leptospirák és a *T. gondii* kimutatását célzó IH-vizsgálat negatív lett.

MEGVITATÁS

A korábban leírtaktól eltérően az elváltozások nem a megszokott gócos, hanem a szerv teljes állományát átszövő formában jelentkeztek

A Tyzzer-betegség megállapítása hagyományosan a májban és a szívizomzatban, esetleg más szervekben fellelhető elhalásos góccok és az azok széli részén ezüstimpregnációs festéssel kimutatható egymással párhuzamos, vagy egymást keresztező, pálcá alakú, többnyire sejten belül elhelyezkedő Gram-negatív baktériumok kimutatásán alapul (1, 3). A körjelzés a bemutatott esetünkben is ezek figyelembevételével történt. Más fertőző vagy nem fertőző eredetű betegség előfordulását nem igazoltuk. A kórbonctani és kórszövettani elváltozások lényegében megegyeztek a korábbi leírásokkal. Eltérést csak abban tapasztaltunk, hogy a máj- és szívizom-elváltozások területén, valamint a lépben is a macrophagok az eddig publikált esetektől eltérően viszonylag nagy számban fordultak elő. Hasonló megfigyelésről eddig csak egyetlen kölyökkutya kapcsán számoltak be (11). A másik eltérést a máj esetében figyeltük meg, ahol az elváltozások nem a megszokott gócos, hanem a szerv teljes állományát átszövő formában jelentkeztek, és a baktérium is a szervben ennek megfelelően diffúzan fordult elő. A baktérium specifikus kimutatása embrionált tyúktojásban történő izolálással, IH-módszerrel vagy PCR-eljárással lehetséges (5), amelyek közül vizsgálataink során a PCR-t alkalmaztuk. A különböző PCR-módszerek érzékenységéről és specifitásáról eddig csak kevés összehasonlító vizsgálat jelent meg. Ezen módszerek kialakítását az nehezíti, hogy a különböző *C. piliforme* törzsek viszonylag nagyfokú genetikai változékonyságot mutatnak, valamint más *Clostridium*-fajoktól az elkülönítésük sem mindig egyértelmű (1). A genetikai változékonyság következménye, hogy az egyszerű, hagyományos PCR-módszer nem minden esetben kellően érzékeny, ami miatt fals negatív eredmények születhetnek. Ezt a hiányosságot az ún. neszed PCR-módszer kifejlesztésével sikerült kiküszöbölni (6). A vizsgálataink során

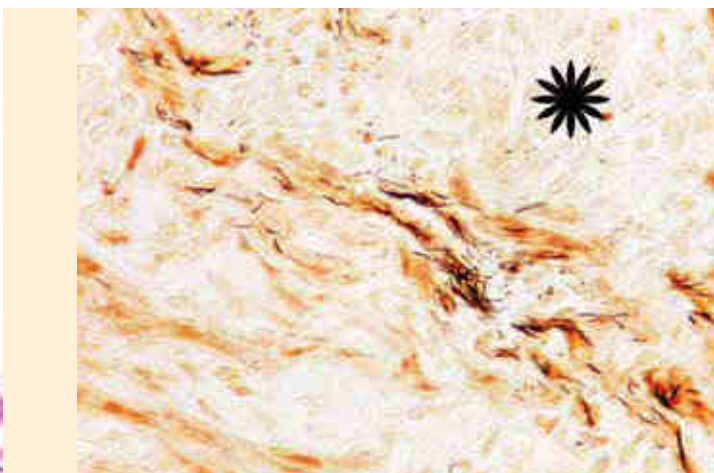


5. ÁBRA. Kutya, vékonybél

Számos eozinofil granulocita a nyálkahártyában. H.–E. 400×
Kiemelt képrészlet: *Clostridium piliforme* baktériumhoz hasonló pálcá alakú baktériumok a bélnyálkahártya felszínén (nyílak). Warthin–Starry festés, 400×

FIGURE 5. Dog, small intestine

Several eosinophil granulocytes in the mucosa. Inset: Rods resembling *Clostridium piliforme* on the surface of the intestinal mucosa (arrows)

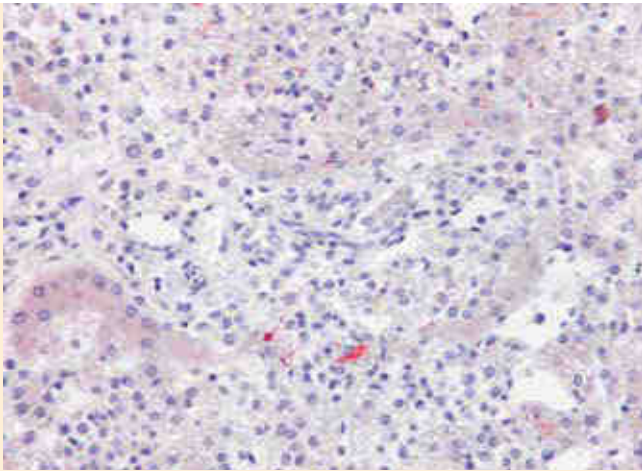


6. ÁBRA. Kutya, szív

Nagyszámú baktérium a szívizomsejtekben az elhalás széli részén (csillag). Warthin–Starry-festés 400×

FIGURE 6. Dog, heart

Large number of bacteria in the heart muscle cells at the border of necrosis (asterisk)

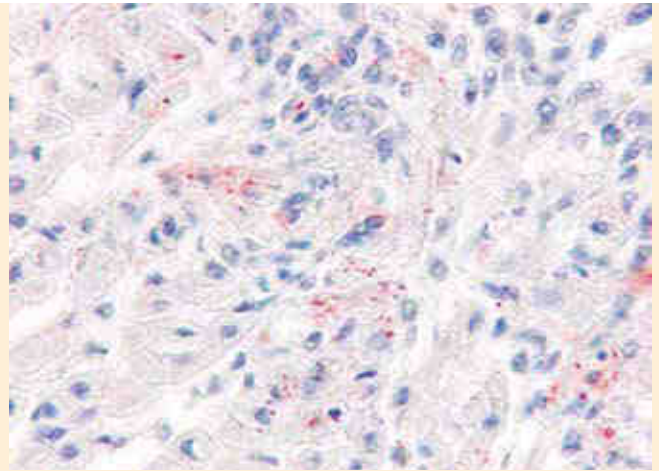


7. ÁBRA. Kutya, máj

Coccioid és elvétve pálcá alakú immunfestődés a májsejtekben és néhány macrophag sejtben. *Mycobacterium bovis* immunhisztokémia. 200×

FIGURE 7. Dog, liver

Coccioid and scant rod shaped immunostaining in hepatocytes and in some macrophage cells. *Mycobacterium bovis* immunohistochemistry



8. ÁBRA. Kutya, szív

Coccioid és néhány pálcá alakú immunfestődés a szívizomsejtekben. *Mycobacterium bovis* immunhisztokémia. 400×

FIGURE 8. Dog, heart

Coccioid and some rod shaped immunostaining in heart muscle cells. *Mycobacterium bovis* immunohistochemistry

Kutyában a Tyzzer-betegség során leggyakrabban elesettséget, étvágytalanságot és hasi fájdalmat lehet megfigyelni

Az esetükben megfigyelt hasmenés a bélfőra eltolódása miatt kedvező lehetőséget nyújthatott a *C. piliforme* bélbeli elszaporodásához

igazoltuk, hogy a *Mycobacterium bovis* ellen termelt nyúlszérum felhasználásával végzett IH-módszer a *C. piliforme* kimutatására is alkalmas. Így tovább gyarapodott azon ágensek köre, amelyeket e módszer segítségével láthatóvá tehetünk fertőző megbetegedésre gyanút keltő kórszövettani elváltozásokban (8).

A Tyzzer-betegség azonosítása élő állatban a jellegtelen klinikai tünetek és a gyors lefolyás miatt többnyire nem jár sikerrel. Kutyaiban leggyakrabban elesettséget, étvágytalanságot és hasi fájdalmat lehet megfigyelni, de ritkán hasmenés és sárgaság előfordulásáról is beszámoltak (3). Esetünkben érdekes kórelőzményi adat volt a kölyökkutya hetek óta fennálló hasmenése, amelyről már mások is beszámoltak egy Tyzzer-betegségben elhullott 3,5 hónapos kutya kapcsán (7). Sajnos az általunk bemutatott kölyökkutya pontos tartási és takarmányozási körülményeire nem sikerült fényt deríteni, így az sem zárható ki, hogy ezeknek lehetett valamilyen szerepe a tartós hasmenésben. Lovaknál végzett vizsgálatokból tudjuk, hogy a hirtelen takarmányváltás, különösen a nagy tápanyagtartalmú takarmányok etetése kedvez a *C. piliforme* túlszaporodásának a bélcsatornában. A felnőtt lovak ugyan rezisztensek a *C. piliforme*-mal szemben, de a hirtelen takarmányváltás náluk is növeli a baktérium bélsárral történő ürítését, ami a környezet fokozott szennyeződésével jár. Az ilyen lovakkal együtt tartott csikókban így már nemcsak a hirtelen takarmányváltás okozta baktériumtúlszaporodás, hanem a környezetből a szokásosnál nagyobb mennyiségben fölvetett *C. piliforme* is hajlamosít a Tyzzer-betegség kialakulására (10). Az esetünkben tapasztalt ismeretlen oktanú hasmenés a bélfőra eltolódása miatt kedvező lehetőséget nyújthatott a *C. piliforme* bélbeli elszaporodásához. Járványtani szempontból talán érdemes azt is megemlíteni, hogy a vizsgált kölyökkutya egy olyan Budapest környéki községből származott, ahol még gyakori a gazdasági haszonállatok tartása. Egy ilyen környezetben jó eséllyel fertőződhetett *C. piliforme*-mal a kölyökkutya. Egy korábbi, Tyzzer-betegségben elhullott kölyökkutyáról szóló közlemény szerzői is felvetik ennek lehetőségét (7). Abban az esetben a 3,5 hónapos korban elhullott kutya 1 hónapos korától

házinyulakkal érintkezett, és 1,5 hónapos korától folyamatosan vissza-visszatérő hasmenésben szenvedett. Ennek az állatnak ugyanakkor valamely ismeretlen okból a fertőzés iránti fogékonysága is nagyobb lehetett, amit jól mutat, hogy az együtt tartott másik 9 alomtársa egészséges maradt. Egy másik közleményben hasonló megfigyelésekről számoltak be, ahol a 6 alomtárs közül csupán egyetlen kölyökkutya betegedett meg és pusztult el Tyzzer-betegségben (11). A betegség kialakulásában kísérletesen is igazolták az egyedi védekezőképesség jelentőségét károsodott immunrendszerű egereken végzett vizsgálatokkal (5). A betegségre hajlamosító vagy azt súlyosbító körülmények közül az eddig tárgyaltakon kívül az elválasztással, szállítással vagy zsúfoltsággal járó stressz, immunszuppresszív terápia, vakcinázások, lépeltávolítás, rossz higiéniai körülmények és bizonyos fertőző betegségek (szopornyica) is szerepet játszhatnak (3). További fontos megfigyelés, hogy a különböző *C. piliforme* törzsek kórokozó képessége eltérő, ami valószínűleg az eltérő toxintermelő képességükkel áll összefüggésbe (5).

In vitro a *C. piliforme* ugyan számos antibiotikumra érzékeny, de a betegség gyors kórlefolyása miatt gyógykezelésre viszonylag ritkán van lehetőség

In vitro a *C. piliforme* ugyan számos antibiotikumra érzékeny (tetraciklin, eritromicin, aminoglikozidok, penicillin), de ezek élő állaton való hatékonyságáról nincsenek adatok. A betegség gyors kórlefolyása miatt gyógykezelésre viszonylag ritkán van lehetőség. Sikeres gyógykezelésről eddig csak csikóban számoltak be, amely az intravénás folyadékterápia és antibiotikum alkalmazása nyomán meggyógyult (3). A Tyzzer-betegséggel szembeni küzdelem így jelenleg szinte kizárólag a megelőzésen alapul, amelynek során az előbbieken felsorolt hajlamosító körülményeket kell megszüntetni vagy legalább hatásukat csökkenteni.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerző köszönetét fejezik ki MÉSZÁROS ÁGNESNEK a vizsgálatokhoz nyújtott nélkülözhetetlen segítségért.

IRODALOM

1. DELONG, D.: Tyzzer's disease. In: Suckow, M. A. – STEVENS, K. A. – WILSON, R. P. (eds.): *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*. 1st edition. Elsevier. London, 2012. 318–321.
2. IKEGAMI, T. – SHIROTA, K. et al.: Enterocolitis associated with dual infection by *Clostridium piliforme* and feline panleukopenia virus in three kittens. *Vet. Pathol.*, 1999. 36. 613–615.
3. JONES, B. R. – GREEN, C. E.: Tyzzer's disease. In: GREEN, C. E. (ed.): *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th edition. Elsevier. St Louis, Missouri, USA, 2012. 391–393.
4. MÁNDOKI M. – VETÉSI F.: A Tyzzer-betegség hazai megállapítása kutyában. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2000. 122. 263–267.
5. NETO, R. T. – UZAL, F. A. et al.: Coinfection with *Clostridium piliforme* and *Felid herpesvirus 1* in a kitten. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2015. 27. 547–551.
6. NIEPCERON, A. – LICOIS, D.: Development of a high-sensitive nested PCR assay for the detection of *Clostridium piliforme* in clinical samples. *Vet. J.*, 2010. 185. 222–224.
7. PEPPERKAMP, N. H. M. T. – Vos, J. H.: Encephalopathy in a naturally occurring case of canine Tyzzer's disease. *Eur. J. Vet. Pathol.*, 1999. 5. 109–110.
8. SZEREDI, L. – GLÁVITS, R. – TENK, M. – JÁNOSI, Sz.: Application of anti-BCG antibody for rapid immunohistochemical detection of bacteria, fungi and protozoa in formalin-fixed paraffin-embedded tissue samples. *Acta Vet. Hung.* 2008. 56. 89–99.
9. SZEREDI L. – MÉSZÁROS Á.: Az immunhisztokémiai módszer alkalmazása a fertőző állatbetegségek kimutatásában. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2008. 130. 232–246.
10. SWERCZEK, T. W.: Tyzzer's disease in foals: retrospective studies from 1969 to 2010. *Can. Vet. J.*, 2013. 54. 876–880.
11. YOUNG, J. K. – BAKKER, D. C. – BURNEY, D. P.: Naturally occurring Tyzzer's disease in a puppy. *Vet. Pathol.*, 1995. 32. 63–65.

Közlésre érk.: 2016. márc. 21.

METIMAZOLT (TIAMAZOLT) TARTALMAZÓ TRANZSDERMÁLIS GÉL HATÉKONYSÁGA MACSKÁK HYPERTHYREOSISA ESETÉN

Egy vizsgálatban 13, frissen diagnosztizált hyperthyreosisban szenvedő macskát kezeltek helyileg, transzdermális gél (pleurolecitin organogél) formájában 50 mg/ml koncentrációjú metimazollal a fül bőrén, naponta kétszer, 28 napig. Az összes kezelt állat általános állapota javult, a tiroxin- (T4-) szintek szignifikánsan csökkentek a 14. és 28. napra. Egy macska esetében tapasztaltak mellékhatást, helyi bőrreakció és trombocitopénia formájában. A macskák hyperthyreosisa ezen eredmények alapján nem csupán a nehezen kivitelezhető *per os* módon történhet, hanem a jóval egyszerűbb, transzdermális alkalmazás is hatékonynak bizonyult. (Can. Vet. J., 2006. 47. 131–135. –Jerzsele Á.–)

AZ INHALÁLT ALBUTEROL ÉS LEVALBUTEROL HATÉKONYSÁGÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA LOVAK KEHESSÉGE (VISSZATÉRŐ LÉGÚTI SZŰKÜLET, RAO) ESETÉN

Lovak alsó légúti allergiás megbetegedései továbbra is a leggyakoribb idült betegségek közé tartoznak a mérsékelt égövben. Ennek 2 leggyakoribb formája: a lovak microbronchitise (IAD – inflammatory airway disease) elsősorban fiatal (2–6 éves) lovakban, míg a keheesség (RAO – recurrent airway obstruction) jellemzően később alakul ki (8 éves kor után). Mindkét betegségre jellemző a légúti gyulladás, váladékképződés és a hörgőszűkület. Enyhe és mérsékelt súlyos esetekben gyakran alkalmazott az inhalációs terápia kortikoszteroidokkal és hörgőtágítókkal. Természetesen a gyógyszeres terápia kevésbé hatékony a megfelelő tartástechnológiai változtatások nélkül. A hörgőtágítók 3 gyógyszeres csoportba sorolhatóak. Ezek közül a leggyakrabban alkalmazottak a β 2-agonisták, amelyeknek az albuterol is a tagja. A levabuterol az albuterol R-enantiomerje, míg maga az albuterol az S-enantiomer, felelős a mellékhatások kialakulásáért.

Az alábbi munka célja az volt, hogy meghatározzák azt a levalbuteroldózist, ami maximális hörgőtágulatot eredményez, és összehasonlítsák ennek időtartamát az albuterolhoz képest. A kísérlethez 9 klinikai remisszióban lévő, de allergénnel indukálható lovat használtak. A kísérlet ún. randomizált 'crossover' módon zajlott, amelynek során a lovaknál penészes széna inhalációjával RAO-t indukáltak, majd az állatokat albuterollal vagy levalbuterollal inhaláltatták, végül pedig tüdőfunkciós tesztekkel végeztek. A transzpulmonáris nyomás változása alapján állapították meg a maximális hörgőtágulatot.

A hatástartam albuterol esetén 1 óra, míg levalbuterolnál 2 óra volt. A maximális hörgőtágításhoz szükséges dózis nem különbözött szignifikánsan a 2 gyógyszer esetén, ugyanúgy mint a maximális hörgőtágulat mértéke sem.

A szerzők az eredményekből arra következtettek, hogy a levalbuterol habár kétszer hosszabb hatástartamú, nem hatékonyabb, mint az albuterol, és a mindössze 2 órás hatástartam miatt szintén nem optimális RAO kezelésére önmagában.

(J. Vet Int. Med., 2016. 4. 1333–1337. –Tóth B.–)

Benign compositary mixed tumour with sweat-gland adenoma and simple lipoma components in a dog

Garami József¹
Jakab Csaba^{2*}

J. Garami¹
Cs. Jakab^{2*}

1. Magánállatorvos, szakdolgozatos

2. Állatorvostudományi Egyetem
Patológiai Tanszék
H-1078 Budapest, István u. 2.

* e-mail: jakab.csaba@univet.hu

Verejtékmirigy adenoma és simplex lipoma komponensű benignus kompozíciós vegyes daganat kutyában

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők egy 11 éves golden retriever szuka kutya bal lapockatájékáról származó verejtékmirigy adenoma és simplex lipoma komponensekből felépülő, benignus kompozíciós daganat kórszövettani és immunhisztokémiai feldolgozását mutatják be. A kb. 2 × 2,5 cm átmérőjű, közepesen tömött tapintatú, subcutan helyeződésű, fájdalomtalan, elmozdítható daganat preoperatív citológiai vizsgálat során simplex lipomára utaló sejtpopulációt figyeltek meg. A kórszövettani vizsgálata során differenciált, fehérzsírszöveti sejtek körülírt, fibroticus tokkal demarkált, jóindulatú burjánzását tapasztalták. A jóindulatú zsírszöveti daganat központjában kb. 1,5 mm haránt és kb. 6 mm hosszanti átmérőjű, solitaer, tubulopapillaris szöveti szerkezetű, simplex verejtékmirigy adenomát észleltek. Az immunhisztokémiai vizsgálat során a verejtékmirigy adenoma sejtei pancytokeratin citoplazmatikus és claudin-5 membrán-pozitivitást, vimentin-, α -SMA- és S-100 protein-negativitást mutattak. A szakirodalmi adatok alapján első esetleírásról van szó. A szerzők a daganat elnevezésére javasolják az adenolipoma nomenklatúrát, ill. a humán dermatoonkológiában használatos, cutan apocrin adenolipoma elnevezésének újraértelmezését, ui. ez utóbbi lipoma állományában nem daganatos, elváltozásmentes verejtékmirigyek észlelhetők.

SUMMARY

Background: A mixed tumour is a tumour derived from more than one type of tissue.

Objectives: The authors report the histopathological and immunohistochemical characterization of a solitary benign compositary mixed tumour with sweat-gland adenoma and simple lipoma components, that has been excised from the left scapular area of a 11-year-old female golden retriever dog.

Materials and Methods: After macroscopical investigation, the tracheal tissue samples were separated and conserved in 8% formalin for 24 hours at room temperature, embedded in paraffin wax and further processed for sectioning (3–4 μ m) and immunohistochemistry (antibodies: pancytokeratin, vimentin, smooth muscle actin (α -SMA), S 100 protein, and – claudin-5).

Results and Discussion: The tumour was 2 × 2,5 cm large, moderately firm, subcutaneous, painless, and movable. Preoperative cytology result was simple lipoma. During the histopathological investigation demarcated, circumscribed, benign neoplastic proliferation of the differentiated lipocytes have been observed, that entrapped centrally a tubulopapillary simple apocrine sweat gland adenoma (size: 1,5 mm × 6 mm). The sweat gland adenoma immunohistochemically showed pancytokeratin- and claudin-5-positivity, vimentin-, α -SMA- and S-100 protein-negativity. The myoepitheliocytes around the adenoma showed vimentin-, α -SMA-, S-100 protein-positivity, and pancytokeratin-, claudin-5-negativity. Smooth-muscle cells in the wall of the tumour-induced microvessels were positive for α -SMA and vimentin, furthermore the endothelium was claudin-5-positive. Lipoma cells were vimentin-, S-100 protein-positive, and pancytokeratin-, α -SMA-, claudin-5-negative.

To the author's knowledge this is the first report of such a tumour in the veterinary scientific literature. The authors recommend the naming of the tumour adenolipoma.

KISÁLLAT

A daganat a tumorparenchymából és a stromából áll. Az előbbi a daganatosan transzformált sejtek alkotják, amelyek a biológiai viselkedést határozzák meg elsősorban. A vegyes, kevert, összetett, több fázisú vagy hibrid daganatok biológiai sajátossága, hogy parenchymája két- vagy többféle szövettani típusú benignus és/vagy semimalignus és/vagy malignus tumorból épül fel (18). Három patológiai típusát különítik el: a kollíziós, a kombinációs és a kompozíciós vegyes tumorokat. A daganatok definitív diagnózisához nélkülözhetetlen a kórszövet-tani, ill. szükség esetén az immunhisztokémiai vizsgálat (1, 22, 30, 35, 36).

Jelen közleményünkben egy kutyaából származó, kórszövettanilag és immunhisztokémiaiilag diagnosztizált verejtékmirigy adenoma és simplex lipoma komponensű benignus kompozíciós vegyes daganat esetét mutatjuk be.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Egy 11 éves golden retriever szukában észlelték subcutan, citológiai lipomának tűnő tumort

Egy kb. 2 × 2,5 cm átmérőjű, közepesen tömött tapintatú, bőr alatti helyeződésű, fájdalomtalan, elmozdítható nodularis rezisztenciát diagnosztizáltak egy 11 éves golden retriever szuka kutya bal lapockatájékán, egy budapesti állatorvosi rendelőben. A műtét előtti citológiai vizsgálat során simplex lipomára utaló sejtpopulációt figyeltek meg, ill. javasolták a műtéti eltávolítást. A solitaer elváltozást sebészileg kimetszették és az ép szövetben eltávolított bioptátumot azonnal 8%-os pufferolt (PBS, pH 7,0) formaldehyddoldatban konzerválták. Az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékre beküldött, szobahőmérsékleten, 24 órán keresztül konzervált minta szövet-előkészítési folyamaton és paraffinos beágyazáson esett át. A paraffinos blokkokból 3–4 µm vastagságú metszeteket készítettünk, amelyeket hematoxilinnel és eozinnal festettünk meg. A kórszövet-tani metszeteket NIKON Optiphot-2 típusú fénymikroszkóp segítségével tanulmányoztuk, ill. NIKON Coolpix 4500 típusú digitális kamerával felvételeket készítettünk.

A sebészileg kimetszett daganatot kórszövet-tani és immunhisztokémia vizsgálatnak vetették alá

Az immunhisztokémiai vizsgálatot Ventana Discovery XT-típusú immunfestő automata segítségével végeztük. A munkánk során felhasznált antitestek a következők voltak: anti-**pancytokeratin AE1-AE3** (hígítás 1 : 100, egér monoklonális ellenanyag, DAKO), anti-**vimentin** (hígítás 1 : 200, egér monoklonális ellenanyag, DAKO), anti-**α-smooth muscle actin** (α-SMA) (hígítás 1 : 8000, egér monoklonális ellenanyag, Sigma), anti-**S-100 protein** (1 : 400 hígítás, nyúl poliklonális ellenanyag, DAKO), és anti-**claudin-5** (hígítás 1 : 100, egér monoklonális ellenanyag, Zymed Inc.). Munkánk során külső pozitív kontrollokat használtunk: (a) szarvasmarha uterus α-SMA (3), (b) kutya fibroma vimentin, (c) kutya ependymoma pancytokeratin (7), (d) kutya intact perifériás ideg S-100 protein, (e) kutya haemangiosarcoma claudin-5 esetén (14).

A pancytokeratin, a vimentin, az α-SMA és az S-100 protein markerek esetén a citoplazmatikus pozitívítást, a claudin-5 antitest esetén a membránpozitívítást fogadtuk el valódi immunreaktivitásként.

Az immunhisztokémiai reakciók kiértékelése NIKON Optiphot-2 típusú fénymikroszkóp segítségével, 10 nagy nagyítású (400×), véletlenszerűen kiválasztott látómezőben történt. A pozitív immunreakciót mutató daganatsejtek aránya alapján a következő pontozásos-rendszert alkalmaztuk: 0 (negatív) = 0–5%; 1 = 6–20%; 2 = 21–40%; 3 = 41–60%; 4 = 61–80%; 5 = 81–100% tumorsejt-pozitívítás.

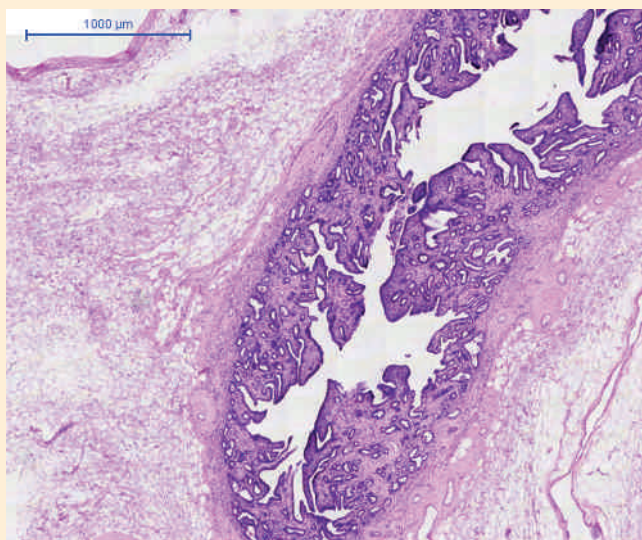
EREDMÉNYEK

A 2 × 2,5 cm-es minta kórszövet-tani vizsgálata során differenciált, fehérzsírszöveti sejtek egynemű, körülírt, fibroticus tokkal demarkált jóindulatú burjánzását

A kórszövetteni és immunhisztokémiai vizsgálatok verejtékmirigy adenomát észleltek lipomában

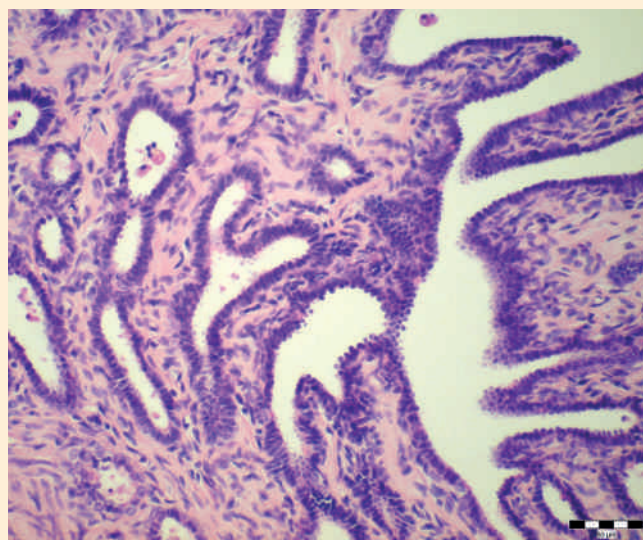
figyeltük meg. A simplex (konvencionális) lipoma állományát vékony, kötőszövetes sörvények osztották fel szabálytalan lebenyekre. A jóindulatú zsírszöveti daganat centrumában kb. 1,5 mm haránt és kb. 6 mm hosszanti átmérőjű, solitaer megjelenésű, tubulopapillaris szöveti szerkezetű, simplex verejtékmirigy adenomát figyeltünk meg (1. és 2. ábra). Az intratumoralisan stromagazdag apocrin adenomát jól vascularisált, peritumoralis, daganat indukálta myofibroblast gazdag kötőszövetes állomány (neostroma) ölelte körül (3. ábra).

Az immunhisztokémiai vizsgálat során a verejtékmirigy adenoma sejtjei diffúz, homogén, intenzív pancytokeratin citoplazmatikus pozitivitást (scoring/pont: 5) (4. ábra), homogén claudin-5 membrán-pozitivitást (scoring/pont: 5), vimentin-, α -SMA- és S-100 protein-negativitást mutattak. A mirigyvégkamrákat körülölelő



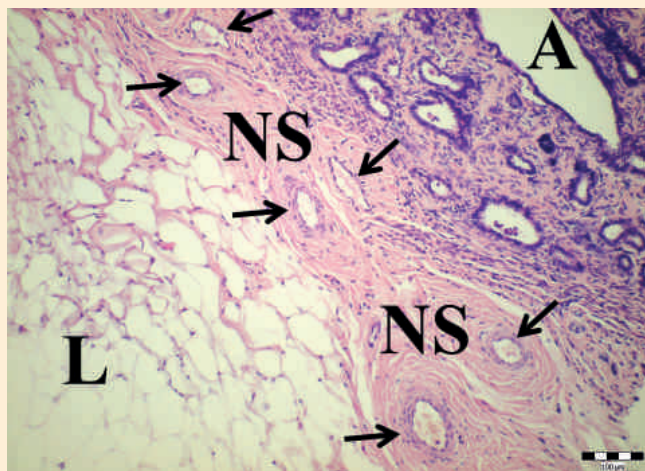
1. ÁBRA. A jóindulatú kompozíciós vegyes daganat centrumában verejtékmirigy adenoma figyelhető meg, simplex burjánzó lipocytákkal körülölelve
H.-E., 20 \times , Bar = 1000 μ m

FIGURE 1. Histopathological picture of the benign compository mixed tumour with central tubulopapillary simple apocrine gland adenoma, and peripheral benign lipoma cells



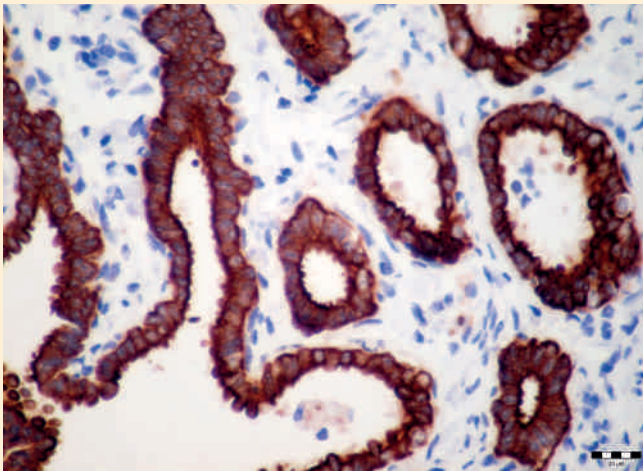
2. ÁBRA. Nagy nagyítású felvétel a kutyából származó benignus kompozíciós tumor simplex verejtékmirigy adenoma komponenséről.
H.-E., 200 \times , Bar = 50 μ m

FIGURE 2. High magnification picture about the simple tubulopapillary apocrine adenoma component of the benign compository mixed tumour from a dog



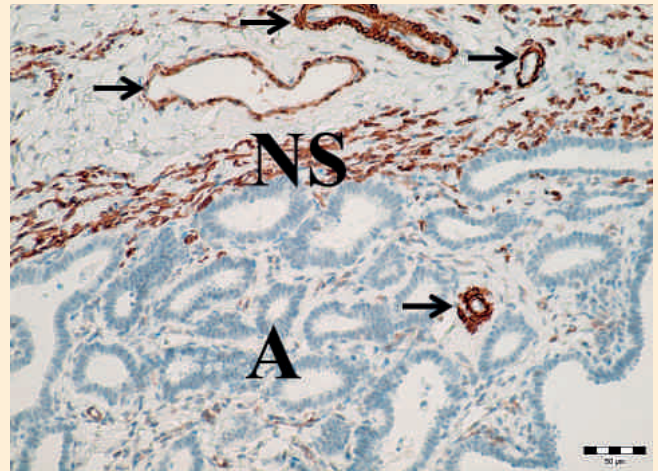
3. ÁBRA. Nagy nagyítású felvétel a kutyából származó benignus kompozíciós tumorról
L = lipoma simplex, NS = az adenoma körüli kötőszövetes állomány (neostroma), nyilak = tumor-indukált mikroerek a neostromában,
A = verejtékmirigy adenoma
H.-E., 100 \times , Bar = 100 μ m

FIGURE 3. High magnification picture about benign compository mixed tumour from a dog
L = simple lipoma, NS = neostroma, arrows = tumour-induced microvessels in the neostroma, A = apocrine gland adenoma



4. ÁBRA. Diffúz, intenzív, homogén citoplazmatikus pancytokeratin-pozitivitás (barna színreakció) a benignus kompozíciós daganat verejtmirigy adenoma sejtjeiben IHC., 400×, Bar = 20 µm

FIGURE 4. Diffuse, intense, homogenous cytoplasmic pancytokeratin-positivity in the apocrine gland adenoma cells of the benign mixed compository tumour from a dog



5. ÁBRA. α -SMA-citoplazmatikus pozitivitás (barna színreakció) az apocrin adenoma (A) állományában és környezetében lévő mikroerek falában (nyilak), továbbá az adenoma környezetében indukálódott neostroma myofibroblast sejtjeiben (NS) IHC., 200×, Bar = 50 µm

FIGURE 5. α -SMA-cytoplasmic-positivity (brown discoloration) in the wall of the microvessels (arrows) in the apocrine adenoma (A), and around the adenoma, furthermore in myofibroblast cells of the neostroma (NS)

A kompozíciós vegyes tumor benignusnak bizonyult

Kompozíciós vegyes daganatot leírtak már kutyák emlőmirigyében, pajzsmirigyében, ivarmirigyében, száj- és garatüregében, nyálmirigyében és bőrében

myoepithelsejtek homogén, intenzív citoplazmatikus vimentin-, α -SMA- és S-100 protein-pozitivitást, ill. pancytokeratin- és claudin-5-negativitást mutattak. A daganat állományában és a környezetében indukálódott neostroma mikroereinek falában α -SMA-, vimentin-pozitivitást, ill. endothel rétegében claudin-5-pozitivitást észleltünk (5. ábra).

A lipomasejtek homogén, intenzív vimentin- és S-100 protein-pozitivitást (scoring/pont: 5) és pancytokeratin-, α -SMA-, ill. claudin-5 negativitást mutattak.

A kórszövettani és immunhisztokémiai diagnózisunk: *in toto* kimetszett, benignus kompozíciós daganat volt, simplex tubulopapillaris verejtmirigy adenoma és simplex lipoma komponensekkel.

MEGVITÁTÁS

A kompozíciós vegyes daganatok parenchymáját felépítő daganatsejtekre jellemző, hogy eltérő szöveti eredetűek, lehetnek hám-, mesenchymalis, ill. egyéb jellegűek. Kutyákban leggyakrabban az emlőmirigyben észlelhetők (8, 9). Az emlőmirigyben kívül a kutyák pajzsmirigyében (17), heréjében (29), petefészkében (31), szájüregében (5, 37), nyálmirigyében (33), ill. bőrben írtak le kompozíciós vegyes daganatokat (25).

Ez idáig sem a hazai, sem a külföldi állatorvosi szakirodalomban nem írtak le kutyában előfordult, verejtmirigy adenoma és lipoma komponensű kompozíciós vegyes tumort. Az esetünkben tapasztalt daganatot el kell különíteni a cutan apocrin adenolipomától, amelyre kórszövettanilag a differenciált fehérszöveti sejtek (lipocyták) jóindulatú burjánzása és az állományukban talál-

Ez idáig az állatorvosi szakirodalomban nem írtak le verejtékmirigy adenoma és lipoma komponensű kompozíciós vegyes bőrtumort

A humán dermatonkológia cutan adenolipomának nevezi azt a fehér zsírszöveti bőrtumort amelynek állományában elváltozásmentes verejtékmirigy van

Eredményünk alapján javasoljuk, az adenoma és lipoma komponensű vegyes tumorok esetén az adenolipoma elnevezést

ható intakt verejtékmirigy (apokrin mirigy) a jellemző. A daganatban az elváltozásmentes verejtékmirigyeket mintegy magukba rekesztik a körülötte proliferáló benignus, daganatosan átalakult adipocyták (12, 15, 19).

Az általunk felállított diagnózis fénymikroszkópos, kórszövettani vizsgálaton alapult. Sem a citológiai, sem a szabad szemmel végzett makroszkópos vizsgálatok nem alkalmasak a definitív diagnózis felállításához. A kiegészítő indirekt immunhisztokémiai vizsgálatok nemcsak megerősítik a szövettani eredetet, hanem egyben segítik mind a jóindulatú és mind a rosszindulatú daganatok biológiai jellemzőinek tanulmányozását.

A munkánk során diagnosztizált bőrdaganat nevezéktanával kapcsolatos alapvető észrevételünk, felvetődő kérdésünk, hogy a verejtékmirigy adenoma és lipoma komponensű vegyes tumort miért nem nevezhetjük adenolipomának, hiszen adenoma és lipoma komponensekből épül fel? A human dermatonkológiában először, 1993-ban leírt lipomatosus tumort, amelyben intakt ekrin verejtékmirigyeket figyeltek meg, cutan adenolipomának nevezték el, annak ellenére, hogy a verejtékmirigy komponense elváltozásmentes, nem pedig tényleges jóindulatú adenoma (12). Számos humán adenoma és egyéb mesenchymalis komponensű jóindulatú vegyes daganat elnevezése követi az általunk felvetett kérdésnek megfelelő elnevezést. (a) A méh eredetű **adenomyoma** esetén az endometrialis mirigyszövetek és a simaizom elemek kevert, jóindulatú burjánzása észlelhető a daganatban (4, 38). A gyomor eredetű, ún. gastricus adenomyomában a gyomor nyálkahártya mirigyek (adenoma) és a simaizomszövet (leiomyoma) együttes, jóindulatú proliferációja tapasztalható (24, 32). Epehólyagfalból kiinduló, benignus adenomyoma esetét írták le egy 58 éves nőbetegben. A tünetmentes 3,3 × 3,2 × 2,3 cm nagyságú tumort UH-vizsgálat során, véletlenszerűen fedezték fel. A sebészi eltávolítás után kivitelezett fundus tájéki kórszövettani vizsgálat adenoma és leiomyoma komponenseket észlelt a mintában, ill. a tumor kb. 5%-nyi területén *in situ* adenocarcinomát (28). Adenomyomát leírtak már humán betegek duodenumában (2), petevezetőjében is (27). (b) Az **adenofibromában** a mirigyszövetek és a kötőszöveti elemek kevert, jóindulatú burjánzása észlelhető. Leírták már humán endometrialis szövetben (13), epeútban (11), petefészekben (34), petevezetőben (10), ill. tüdőben is (21). (c) Az **adenochondromának** nevezett jóindulatú vegyes daganatban a mirigy- és a hyalin porcszövetek kevert, benignus proliferációja észlelhető. Leírták már emberi tüdőben (6). (d) Az **angioadenoma** esetén jóindulatú vérérképző szöveti daganat (haemangioma) és mirigyhám-daganat (adenoma) vegyes burjánzása tapasztalható a tumorban (23). A **hepatoid angioadenomában**, amelyet kutyában írtak le a vérér eredetű tumor mellett, a perianalis vagy circumanalis mirigyek jóindulatú burjánzása érzékelhető (16). (e) Emlőmirigy benignus **fibroadenolipoma** esetét leírták már emberben. Az összetett daganat komponensei jóindulatú fehérszírszöveti tumor (lipoma), benignus kötőszöveti tumor (fibroma) és jóindulatú emlőmirigy eredetű daganat (adenoma) volt (20, 26). A felsorolt jóindulatú vegyes daganatok esetén használt nevezéktan véleményünk szerint megfontolandóvá teszi a cutan adenolipoma elnevezés használatának újraértelmezését, és helyesen csak az adenoma és lipoma komponensű, benignus kompozíciós vegyes daganatok esetében javasoljuk használni.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munka Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00313/14/4) támogatásával valósult meg. A szerzők ezúton is köszönetet mondanak Pop RENÁTA hisztoteknikusnak a metszetkészítési munkájáért.

IRODALOM

1. ABOU ASA, S. – ANWAR, SH. et al.: Immunohistochemical analysis of CD146 expression in canine skin tumours. *Histol. Histopathol.*, 2016. 4. 453–459.
2. ALTAN, E. – KÖKLÜ, S. et al.: Adenomyoma of the duodenum. *Am. J. Gastroenterol.*, 2015. 110. 1143–1148.
3. BIKÁDI P. – SZABÓ J. – SZABÁRA Á. – JAKAB Cs.: Alfa-simaizom-actin (α -SMA) pozitív kontrollok szarvasmarhaszövetekben. Immunhisztokémiai tanulmány. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2015. 137. 151–158.
4. BLAND-SUTTON, J.: On a Case of Diffuse Adenomyoma of the Uterus. *Proc. R. Soc. Med.*, 1909. 2. (Obstet. Gynaecol. Sect.) 113–117.
5. BOYD, R. C.: Ameloblastic fibro-odontoma in a German shepherd dog. *J. Vet. Dent.*, 2002. 19. 148–150.
6. BREWER, D. B. – BROOKES, V. S. – VALTERIS, K.: Adenochondroma of lung; a report of five cases. *Br. J. Tuberc. Dis. Chest.*, 1953. 47. 156–161.
7. CZEIBERT K. – PÁPA K. – JAKAB Cs. – KISS G. – BALOGH L. – BALKÁ GY.: Ependymoma okozta epilepsziás rohamok és szerzett májelégtelenség egy labrador retrieverben. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2015. 137. 103–113.
8. DAMASCENO, K. A. – FERREIRA, E. et al.: Relationship between the expression of versican and EGFR, HER-2, HER-3 and CD44 in matrix-producing tumours in the canine mammary gland. *Histol. Histopathol.*, 2016. 6. 675–688.
9. ESPINOSA LOS DE MONTEROS, A. – MILLÁN, M. Y. et al.: Immunolocalization of the smooth muscle-specific protein calponin in complex and mixed tumors of the mammary gland of the dog: assessment of the morphogenetic role of the myoepithelium. *Vet. Pathol.*, 2002. 39. 247–256.
10. FUKUSHIMA, A. – SHOJI, T. et al.: A case of fallopian tube adenofibroma: difficulties associated with differentiation from ectopic pregnancy. *Clin. Med. Insights. Case Rep.*, 2014. 27. 135–137.
11. GODAMBE, A. – BRUNT, E. M. et al.: Biliary Adenofibroma with Invasive Carcinoma: Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Pathol.*, 2016. doi: 10.1155/2016/8068513.
12. HITCHCOCK, M. – HURT, M. – SANTA CRUZ, D.: Adenolipoma of the skin: A report of nine cases. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1993. 29. 82–85.
13. IKUTA, A. – TANAKA, Y. et al.: Benign endometrial adenofibroma and polyp in patients receiving tamoxifen: findings on transvaginal ultrasonography and magnetic resonance imaging. *J. Med. Ultrason.*, 2005. 32. 71–76.
14. JAKAB, Cs. – HALÁSZ, J. – KISS, A. – SCHAFF, Zs. – RUSVAI, M. – GÁLFI, P. – KULKA, J.: Claudin-5 protein is a new differential marker for histopathological differential diagnosis of canine hemangiosarcoma. *Histol. Histopathol.*, 2009. 24. 801–813.
15. JAKAB Cs. – LAPCSÁK K. – BALKÁ GY.: Cutan apokrin adenolipoma kutyában: Patológiai eset ismertetése. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2013. 135. 67–71.
16. JASIK, A. – KOZACZYNSKI, W. – REICHERT, M.: Canine skin tumours with adnexal differentiation: histopathology and immunohistochemistry. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2009. 53. 277–283.
17. JOHNSON, J. A. – PATTERSON, J. M.: Multifocal myxedema and mixed thyroid neoplasm in a dog. *Vet. Pathol.*, 1981. 18. 13–20.
18. KARDEVÁN A.: *A háziállatok kórbonctana*. Egyetemi Tankönyv. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, 1976. 233–234.
19. KAZAKOV, D. V. – SPAGNOLO, D. V. et al.: Cutaneous adenolipoma: extending the spectrum of changes in the lipomatous and epithelial components. *Am. J. Dermatopathol.*, 2011. 1. 56–59.
20. KOPANS, D. B. – MEYER, J. E. – PROPPE, K. H.: Ultrasonographic, xeromammographic and histologic correlation of a fibroadenolipoma of the breast. *J. Clin. Ultrasound.*, 1982. 10. 409–411.
21. KUMAR, R. – DESAI, S. et al.: Pulmonary adenofibroma: clinico-pathological study of 3 cases of a rare benign lung lesion and review of the literature. *Ann. Diagn. Pathol.*, 2014. 18. 238–243.
22. LAPIS K.: *Pathologia I. – Általános pathologia*. Egyetemi Tankönyv. Medicina. Budapest, 1989. 280–292.
23. LACERENZA, C.: Jejunal invagination caused by angioadenoma. *Minerva Chir.*, 1957. 30. 764–766.
24. MAGNUS-ALSLEBEN, E.: Adenomyome des pylorus. *Virchows Arch.*, 1903. 173. 137–155.
25. MORITA, R. – JIN, M. et al.: A mixed apocrine gland tumor with metastases to the bone and bone marrow in a miniature poodle. *J. Toxicol. Pathol.*, 2010. 23. 95–98.
26. NILI, F. – GHANBARI, P. – GHANADAN, A.: Adenolipoma of the breast. *Malays J. Pathol.*, 2015. 37. 67–70.
27. PARSONS, J. I. – GLENDINING, B.: Adenomyoma of the Fallopian Tube, with Tuberculous Salpingitis. *Proc. R. Soc. Med.*, 1910. 3. (Obstet. Gynaecol. Sect.) 238–240.
28. PATEL, S. – SLADE, J. – JAKATE, S.: An Unusual Case of Noninvasive Adenocarcinoma Arising in a Localized Adenomyoma of the Gallbladder and Review of Literature. *Int. J. Surg. Pathol.*, 2016. 24. 341–346.
29. PATNAIK, A. K. – MOSTOFI, F. K.: A clinicopathologic, histologic, and immunohistochemical study of mixed germ cell-stromal tumors of the testis in 16 dogs. *Vet. Pathol.*, 1993. 30. 287–295.
30. PATRÓN-BOLAÑOS, C. – ACOSTA-TORRES, L. et al.: Immunohistochemical patterns in different stromal variants of pleomorphic adenomas: literature review. *Histol. Histopathol.*, 2016. 3. 239–248.
31. ROBINSON, N. A. – MANIVEL, J. C. – OLSON, E. J.: Ovarian mixed germ cell tumor with yolk sac and teratomatous components in a dog. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2013. 25. 447–452.
32. SÁNCHEZ GARCÍA, S. – RUBIO SOLÍS, D. et al.: Gastric adenomyoma clinically simulating hypertrophic pyloric stenosis. *Radiologia*, 2016. 58. 148–151.
33. SHIMOYAMA, Y. – YAMASHITA, K. et al.: Pleomorphic adenoma of the salivary gland in two dogs. *J. Comp. Pathol.*, 2006. 134. 254–259.
34. SHUKLA, S. – SRIVASTAVA, D. et al.: Serous adenofibroma of ovary: An eccentric presentation. *J. Cancer Res. Ther.*, 2015. 11. 1030–1031.
35. SOMARELLI, J. A. – BOSS, M. K. et al.: Carcinosarcomas: tumors in transition? *Histol. Histopathol.*, 2015. 6. 673–687.
36. THOMPSON, N. – STORR, S. et al.: Lymphovascular invasion: assessment and prognostic impact in melanoma and breast cancer. *Histol. Histopathol.*, 2015. 9. 1001–1009.
37. UEKI, H. – SUMI, A. et al.: Malignant ameloblastic fibro-odontoma in a dog. *Vet. Pathol.*, 2004. 41. 183–185.
38. ZHENG, W. Q. – MA, R. et al.: Elastin distribution in the normal uterus, uterine leiomyomas, adenomyosis and adenomyomas: a comparison. *Anal. Quant. Cytol. Histol.*, 2006. 28. 115–120.

Közlésre érkező: 2016. jún. 18.

Mouse Ethology: Effect of different human and rodentized music upon the social and individual behaviour, general feeling and genetics-environment interaction of mice

II. Effect of original and five octaves higher music of BACH and MOZART on the behaviour of mice of different genotypes

Korsós Gabriella^{1*}
Brown, Dan Lawrence²
Windig-Zavadil, Christina³
Rühlicke, Thomas³
Fekete Sándor György¹

G. Korsós^{1*}
D. L. Brown²
C. Windig-Zavadil³
T. Rühlicke³
S. Gy. Fekete¹

1. Állatorvostudományi Egyetem
Állattenyésztési,
Takarmányozástani és Laborállat-
tudományi Intézet
H-1078 Budapest, István u. 2.

* e-mail: korsos.gabriella@gmail.com

2. Cornell University, Ithaca, NY, USA

3. University of Veterinary Medicine,
Vienna, Austria

LABORÁLLAT

Egér-etológia: különböző emberi és rodentizált zene hatása az egerek társas és egyéni viselkedésére, közérzetére és a genetikakörnyezet kölcsönhatásra

II. Eredeti és öt oktávval megemelt BACH- és MOZART-zene hatása különböző genotípusú egerek viselkedésére

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők jelen vizsgálatukban bemutatják BACH- és MOZART egy-egy művének eredeti (humán) és öt oktávval magasabb, tízszer gyorsabb (ún. „rodentizált”) változatának hatását egerek porondteszt-viselkedésére. *I. kísérlet:* 20 CD1 hím egér esetén a humán és rodentizált zene csökkentette az aktivitást, ultrahang-kibocsátás nem volt. *II. kísérlet:* 12 BALB/c hím egér TiBeSplit rendszerrel való vizsgálata során a humán zene nem okozott jelentős változást a viselkedésben, míg a rodentizált zene hatására az aktivitás jelentősen csökkent. Az eredmények alapján a humán és a rodentizált zene másként befolyásolja az egerek viselkedését, utóbbi határozottan csökkenti aktivitásukat.

SUMMARY

Background: The importance of acoustic stimuli plays a different role in the life of laboratory rodents. Too loud noise and/or vibration may be an important stressor, while a well-chosen background music may counteract these harmful effects.

Objectives: In this study the authors investigated the effect of music of Bach and Mozart on the behaviour of mice.

Materials and Methods: In the first trial twenty adult male (SPF, CD1) mice were placed by pair in cages and video and ultrasound (US) recording was made. After the basal ethogram Mozart and Bach music were applied in normal and “rodentized” versions (has been made by increasing the pitches to the hearing range of mice, 1–110kHz). In the second trial twelve male BALB/c mice were investigated using TiBeSplit open-field equipment (Figure 1–4) with human and rodentized music, and in silence as control.

Results and Discussion: First trial: during all sessions rearing get significantly more frequent and running time decreased (Table 1). No US voices were emitted by the mice. Second trial: During the music, the length of distance, the local and large movement, and the number of spontaneous changes of direction significantly decreased (Table 2). On the contrary, resting time and time spent at the wall significantly increased under the influence of rodentized music. Taken together, the effect of rodentized music differs that of the human version and the genotype plays also a role. The basically calm CD1 mice got more active (more rearing, less running) and the more excitable BALB/c animals became less nervous owing to the musical stimuli.

Az utóbbi évtizedben új tudományág alakult ki: az *etológiai epigenetika* a viselkedésnek, a környezetnek a DNS-működés befolyásolása révén kifejtett hatását vizsgálja. Különös jelentősége van humán pszichiátriai bántalmak (autizmus, skizofrénia, neurodegeneratív zavarok, öregedés, függőségek, öngyilkosság és mentális retardáció) kutatásában (4, 20).

Az etológiai epigenetika azt vizsgálja, hogyan hat a környezet a viselkedést szabályozó DNS-működésre, anélkül, hogy a bázisrend változna

Az ilyen jellegű vizsgálatok során az eddigieknél is szigorúbban kell a kísérleti állatok környezetét szabályozni, ugyanis az *in vivo* állatkísérlet nem nélkülözhető. A zene és a zaj molekuláris szintű hatásainak megismerése (neurotranszmitterek koncentrációváltozása, idegsejtek kisülésének szinkronizálódása) felhívta a figyelmet az akusztikus környezet epigenetikai szerepére (15). A kísérleti állatok fajtái, fajtái, sőt törzsei is eltérően érzékelik a hangokat, így a zenét és a zajt is (23).

Az egyes egértörzsek geno- és fenotípusa jelentősen különbözik. Érvényes ez az akusztikai érzékelés mutatóira is. Léteznek süket vonalak is (19), sőt a korosodással a C57 is egyre rosszabbul hall (11). A kicsi, mozgékony BALB/c és a nagyobb, nyugodt CD egerek viselkedése nagyban eltér egymástól. A BALB/cj albínó ideális mint általános modell, hibridóma, monoklonális antitesttermelés, fertőző betegségek kutatására (12). Ha Theiler-féle murine encephalomyelitis vírussal fertőződik, hajlamossá válik a *Demyelinating Disease*-re. Fogékony emellett a *Listeria*-fertőzésre, az összes *Leishmania* és számos *Trypanosoma*-fajra. Ezzel szemben rezisztens az allergiás orchitisre (13). A CD-1 őse a Swiss egér, kultenyésztett albínó törzs. Ideális általános modellként, gyógyszerbiztonsági és -hatékonysági tesztekre, öregedés, álvemhesség vizsgálatára és kiváló sebészeti modell (14). RAUSCHER és mtsai (21) patkánnyal végzett alapkísérlete és számos későbbi vizsgálat (6) alapján bizonyítottak lehet venni, hogy bizonyos típusú zenedarabok hatnak a patkányok viselkedésére, temporális és praefrontális neuronjai kisülésére, valamint az agybeli neurotranszmitterek koncentrációjára, továbbá tanulási képességére (7, 9). Az egér számára a szagingereket a legfontosabbak, a látás csak nagyon közelre éles és a hallás a kettő között foglal helyet (10). A zene befolyásáról kevesebb adattal rendelkezünk (16). Vizsgálatainkba a fentiekben jellemzett két jelentősen különböző egértörzset vontunk be, és azoknak humán és öt oktávval magasabb, tízszer gyorsabb (a továbbiakban „rodentizált”) zenét játszottunk le, hogy választ kapjunk az akusztikus környezet és a genotípus interakciójára.

Az egér számára a szagingereket a legfontosabbak, a látás csak nagyon közelre éles és a hallás a kettő között foglal helyet

ANYAG ÉS MÓDSZER

ÁLLATOK, TARTÁS-TAKARMÁNYOZÁS, ZENÉK

I. kísérlet: hús SPF (specified pathogen free) CD1 hím egereket vizsgáltunk, amelyek a *Mus musculus* faj B6; 129 S6-Stat 5B törzsébe tartoztak. Az állatok élő testtömege 15–30 g volt, életkoruk 2–5 hónap. Az állatokat a Cornell Egyetem Transgenic Mouse Care Facility osztályán tenyésztették. Az állatokat az AAALAC által akkreditált polikarbonát, egyedileg szellőztetett ketrecekben (IVC) (18 × 28 × 13 cm) kettessel tartottuk. Az alomanyag autoklávval kezelt szemcsézett kukoricacsutka volt (1040; Harlan Tekland, Fredrick, MD). A ketreceket állványokon helyeztük el, s környezetgazdagításként fészekanyag és PVC-csövek szolgáltak. A világos és a sötét órák aránya 14 : 10 volt. Az egerek *ad libitum* ivóvizet (Edstrom Waterford, WI) és patkánytápot kaptak (LM 485 Irradiated rat/mouse diet 7912, Harlan Tekland).

II. kísérlet: az előzőhöz hasonló körülmények között 12 SPF BALB/c típusú hím egeret vizsgáltunk a Bécsi Állatorvostudományi Egyetem Versuchstierkunde Intézetben. Az állatok 8–12 hetesek voltak, élő testtömegük pedig 20–25 g között mozgott.

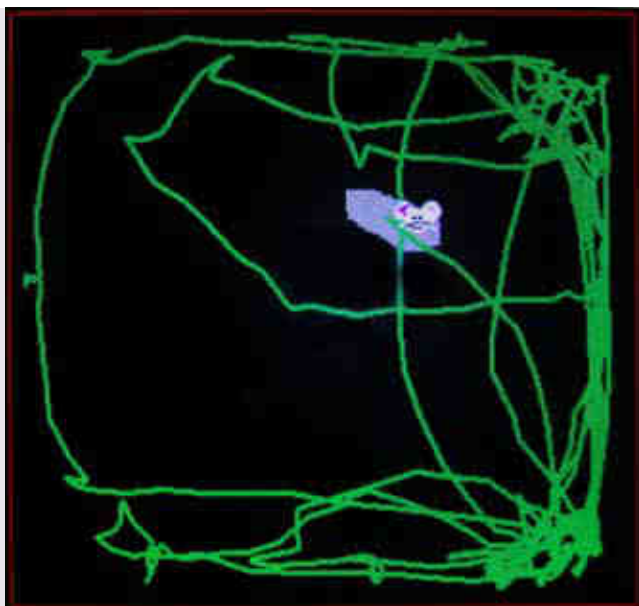
Az egyik kísérletet CD1, a másikat BALB/c hím egereken végezték

A vizsgált egereket párosával a bekamerázott és ultrahang-érzékelővel ellátott ketrecekbe helyezték

BACH- és MOZART-darabokat játszottak le nekik normál, ill. tízszeresére gyorsított, öt oktávval magasabb változatban

KÍSÉRLETI ELRENDEZÉS

I. kísérlet: az egereknek többféle zenét játszottunk le két periódusban egy 40 × 70 × 35 cm-es fémketrecben, 10–10 párral összesen 3 × 10 videofelvétel készült. Az egerek semmilyen anesztetikumot vagy fájdalomcsillapítót nem kaptak. Azokat az egyedeket, amelyek a porondtesztre várakoztak, egy gyengén megvilágított helyiségben (22 °C-on, 60±5% relatív páratartalom) tartottuk. A vizsgált egereket párosával a bekamerázott és ultrahang-érzékelővel ellátott ketrecekbe helyeztük, és 5 perces csend alatt rögzítettük az alap etogrammot. Ezután következett MOZART darabja (a továbbiakban M), majd egy zenementes 5 perces periódus (MOZART után, a továbbiakban MU). Ezután az állatoknak lejátszottuk a BACH-darabot (a továbbiakban B), majd egy újabb csendes 5 perces szakasz (BACH után, a továbbiakban BU) zárta a megfigyelést. A kísérlet első szakaszában a zenei darabok eredeti, emberi fülnek szánt humán verzióját (a továbbiakban: „humán” vagy „normál”) használtuk (NM, NB elnevezésekkel), a második szakaszban pedig a tízszeresére gyorsított, öt oktávval magasabb (a továbbiakban: „rodentizált” vagy „gyors”) változatukat (GyM és GyB elnevezésekkel). Energetizáló zeneként MOZART „D-dúr szonáta két zongorára”, K 448 jegyzékszámú darabját használtuk, a másik darab pedig a kifejezetten nyugtató hatású BACH „Goldberg-variációk”, BW 988” (Ária, var.2, var.3, var.8 és var10) részlete volt GLENN GOULD előadásában. A rodentizálás-hoz a két művet WavePad számítógépes program segítségével felgyorsítottuk és magasságában is megemeltük, így alkalmazkodva az egerek embertől eltérő hallástartományához. A zene lejátszásához egy MacBook Pro számítógépet és hozzá csatlakoztatott, a tesztketrecen kívül, két sarkától 15–15 cm-re elhelyezett hangszórókat használtunk. A zene maximum 70 dB hangnyomásszintet ért el, hogy garantáltan ne okozhasson stresszt vagy halláskárosodást (8). A kísérlet csak átmeneti diszkomfortérzetet okozhatott (a lakó állattartó dobozból való át- és visszahelyezés) az egereknek. Az eljárást a Cornell Center Animal Resources and Education CARE (Ethical Comittee of Cornell University) engedélyezte.



1. ÁBRA. A TiBeSplit megfigyelőrendszer porondja

FIGURE 1. The openfield area of the TiBeSplit system



2. ÁBRA. A TiBeSplit rendszer működés közbeni képe kevés mozgás esetén, ill. a megfigyelés elején

FIGURE 2. Picture of the TiBeSplit system during the openfield test with a sedentary mouse and at the beginning of observation



3. ÁBRA. A TiBeSplit rendszer működés közbeni képe a megfigyelés végén

FIGURE 3. Picture of the TiBeSplit system during the openfield test at the end of the observation

**A második kísérletben
porondteszteket
végeztek a zene
hatásának vizsgálatára**

**Az egerek a lassú,
emberi fülnek szánt
zenék hallgatása alatt
szimatolással és
futással töltötték a
legtöbb időt**

II. kísérlet: az egerekkel a TiBeSplit nevű automata megfigyelőrendszer segítségével porondteszteket (PT) végeztünk. Ehhez az állatokat egy felülről bekamerázott, fából készült, fekete színű, 40 × 40 cm alapterületű és 69 cm magas porondra helyeztük. A kísérlet három egymást követő napon zajlott. A zene lejátszásához egy MacBook Pro számítógépet és hozzá csatlakoztatott, az OF-dobozon kívül, két sarkától 15–15 cm-re elhelyezett hangszórókat használtunk. A zene maximum 70 dB hangnyomásszintet ért el. A kísérlet csak átmeneti diszkomfortérzetet okozhatott (a lakó állattartó dobozból való át- és visszahelyezés) az egereknek. Az 1. napon a normál gyorsaságú zeneszámokat játszottunk le az egereknek. Egy-egy egérrel három porondtesztet végeztünk egy nap, egy-egy porondteszt 8 percig tartott, ezalatt vagy MOZART darabját hallgatták az állatok, vagy a BACH-darabot, a kontrollszakaszban pedig csend volt. A lejátszott darabok ugyanazok voltak, mint az első kísérletünkben. Annak érdekében, hogy a kezelések sorrendje ne módosítsa az adatainkat, többféle zenei sorrendet alkalmaztunk (csend – MOZART – BACH vagy csend – BACH – MOZART). A 2. napon ugyanezen darabok rodentizált verzióját hallgatták meg az egerek a korábbival megegyező kísérleti elrendezésben. A 3. napon háromszor egymás után 8 perces csendes szakaszok alatt rögzítették az etogrammot.

A TiBe-split megfigyelőrendszer az alábbi mutatókat rögzítette a porondteszteket alatt: megtett út (az állat által a teljes 8 perc alatt megtett távolság méterben), pihenés (a program akkor rögzíti, hogy az állat pihen, ha annak sebessége nem haladja meg a 0,003 m/s-os sebességet), lassú vagy helyi mozgás (ha az állat 0,03 és 0,1 m/s sebesség közötti sebességgel mozog), gyors mozgás (ha az állat 0,1 m/s feletti sebességgel mozog), átlagsebesség (az állatok átlagos sebessége a 8 perc alatt m/s-ban), a porond központjának átszelése (alkalom), spontán irányváltások száma (alkalom), periférián eltöltött idő (s). A rendszer vizsgálat közbeni képét az **1., 2. és 3. ábra** szemlélteti.

STATISZTIKAI ELJÁRÁSOK

Az első kísérlet paramétereit Ethovision XT szoftver (Noldus Information Technology), a második (porondteszt) mutatóinak kiértékelésére a TiBe szoftvert és az R-programot használtuk. Majd varianciaanalízist alkalmaztunk (One Way ANOVA, post hoc Tukey HSD teszttel). Az eredményeket minden esetben $p < 0,05$ érték esetén tekintették szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

CD1. Az egerek a lassú, emberi fülnek szánt zenék hallgatása alatt szimatolással és futással töltötték a legtöbb időt, kivéve az NBU-szakaszban, abban ugyanis mindkét viselkedésem gyakorisága lecsökkent. A futás mennyisége az NM hatására megnőtt, majd folyamatos csökkenő tendenciát mutatott a többi kezelés alatt és az utolsó NBU-szakaszban szignifikánsan kevesebb volt, mint a NM szakaszban ($p < 0,001$). A futás mennyisége pedig az NBU-szakaszban szignifikánsan kisebb volt, mint a többi négyben ($p < 0,001$). Az ágaskodás ideje a zene megjelenésekor hirtelen lecsökkent, majd később is folyamatosan csökkent, és mind a négy zenés és zenét követő nyugalmi szakaszban szignifikánsan kevesebb volt, mint a csendes kontrollszakaszban ($p < 0,001$). Az ásás gyakorisága a NM-szakaszban

1. TÁBLÁZAT. A pihenés, a helyi és a térbeli gyors mozgás átlaga és szórása a zenei kezelések alatt (átlag ± szórás)**TABLE 1.** Average and standard deviation of resting, local and fast, space movement during the musical treatments. (average ± SD)
Csend = Silence, N = original version, Gy = accelerated version, pihenés = resting, helyi mozgás = local movement, gyors mozgás = fast movement

| Időszak Period | Pihenés Rest | Helybenmozgás Local movement | Gyors, térbeli mozgás Quick space movement |
|--------------------|-----------------|---------------------------------|---|
| Csend (Silence), % | 23,03 ± 8,52 | 30,92 ± 4,18 | 46,04 ± 11,73 |
| Percent of time, % | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| N. MOZART, % | 25,37 ± 9,78 | 31,74 ± 4,18 | 42,90 ± 11,72 |
| Percent of time, % | 110,16 | 102,65 | 93,18 |
| N. BACH, % | 25,13 ± 6,92 | 33,00 ± 3,77 | 41,88 ± 9,30 |
| Percent of time, % | 109,12 | 106,73 | 90,96 |
| Gy. MOZART, % | 33,52 ± 8,71 | 36,15 ± 3,77 | 30,33 ± 9,49 |
| Percent of time, % | 145,55 | 116,91 | 65,88 |
| Gy. BACH, % | 32,39 ± 6,62 | 35,83 ± 3,19 | 31,78 ± 6,58 |
| Percent of time, % | 140,64 | 115,88 | 69,03 |

A pihenés mennyisége a zene megjelenésekor lecsökkent, de a további szakaszokban növekvő tendenciát mutatott

kicsit lecsökkent, majd az NMU-szakaszban kicsit megnőtt, ezután folyamatosan csökkent; a mennyisége pedig a NBU-szakaszban volt a legkisebb, szignifikánsan kisebb, mint a NMU-szakaszban ($p < 0,001$). A pihenés mennyisége a zene megjelenésekor lecsökkent, de a további szakaszokban növekvő tendenciát mutatott. Az utolsó NBU-szakaszban szignifikánsan nagyobb volt az értéke, mint a NM- és NMU-szakaszokban ($p < 0,01$). Az evés ezzel ellentétesen változott, mennyisége a zene megjelenésekor megnőtt, majd folyamatosan csökkent. A NBU-szakaszban volt a legkevesebb az evéssel töltött idő, és ez szignifikánsan volt kevesebb mint a NM-szakasznál ($p > 0,05$). Az önápolás gyakorisága kisebb-nagyobb ugrásokkal, de folyamatosan nőtt, és az utolsó NBU-szakaszban szignifikánsan több időt fordítottak rá az egerek, mint a többi 4 szakaszban ($p < 0,001$). A társ mosdatása alig volt jelen a vizsgálat alatt (1. táblázat). Az egyes viselkedéselemek tükrözik az állat „lelkiállapotát”: közömbös (ül, de a feje mozog), átlagos (szimatol, mozog a fal mentén), félelemtől mentes (önápolás, átszeli a középpontot), ijedt (mozdulatlan ül, esetleg „lefagy”, elterül). A részleteket illetően utalunk TCHERNICHOVSKI és GOLANI (22), valamint DRAI és mtsai (3) közleményére.

Ha a különféle viselkedéselemeket két csoportra – aktív és passzív viselkedéselemekre – bontjuk, és az azonos csoportba tartozó viselkedésformákat összevonjuk, akkor láthatjuk, hogy a humán MOZART gyakorlatilag nem módosította a viselkedést, a humán BACH 24,65%-kal csökkentette az aktív elemek arányát, a passzívokét 94,16%-kal növelte. A rodentizált MOZART-zene viszont már növelte 11,12%-kal az aktív és 42,50%-kal csökkentette a passzív időszakokat. A rodentizált BACH-zene viszont 12,26%-kal mérsékelte az aktivitást és 48,01%-kal megnyújtotta a passzív időtartamát. Az aktív viselkedéselemek aránya tehát a kezelések során folyamatosan csökkent, és a NBU-szakaszban szignifikánsan kisebb volt mint az első négy szakaszban ($p < 0,001$). A passzív viselkedéselemek aránya ennek megfelelően épp fordítva alakult, a különféle kezelések alatt folyamatosan nőtt, és az utolsó NBU-szakaszban szignifikánsan nagyobb volt, mint az első négyben ($p < 0,001$). Az aktív viselkedéselemek közé tartozik a futás, szimatolás, ágasko-

Az aktív viselkedéselemek aránya a kezelések során folyamatosan csökkent

2. TÁBLÁZAT. A viselkedéselemek átlaga és szórása a különféle zenei kezelések alatt. (átlag \pm SD) M = MOZART, B = BACH, U = zenét követő szakasz

TABLE 2. Average and standard deviation of the different behaviours during the musical treatments. (average \pm SD), M = MOZART, B = BACH

| | Ágaskodik/ rearing | Ás/digging | Eszik/eating |
|-------------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|
| Csend/silence | 62,56 \pm 49,99 | 42,23 \pm 66,74 | 21,5 \pm 38,41 |
| Normál M/orig. M | 13,42 \pm 13,24 | 29,93 \pm 49,26 | 51,67 \pm 52,77 |
| Normál MU/after orig. M | 6,68 \pm 8,15 | 53,24 \pm 53,44 | 37,35 \pm 46,96 |
| Normál B/orig. B | 5,87 \pm 7,72 | 33,76 \pm 35,96 | 27,43 \pm 32,75 |
| Normál BU/after orig. B | 4,34 \pm 7,87 | 8,58 \pm 17,16 | 14,69 \pm 26,34 |
| Csend2/silence2 | 13,65 \pm 12,67 | 22,62 \pm 39,05 | 14,81 \pm 25,29 |
| Gyors M acc. M | 57,99 \pm 56,88 | 33,7 \pm 78,11 | 2,52 \pm 11,27 |
| Gyors MU/after acc. M | 64,12 \pm 51,67 | 33,13 \pm 37,99 | 15,51 \pm 29,85 |
| Gyors B/acc. B | 46,18 \pm 64,48 | 25,11 \pm 42,7 | 4,42 \pm 13,6 |
| Gyors BU/ after acc. B | 46,00 \pm 44,69 | 24,72 \pm 33,1 | 19,91 \pm 32,34 |

dás és az ásás, a passzív viselkedéselemek pedig a mosakodás (önmagát vagy társát), a pihenés és az evés.

A gyors, „rodentizált” zenét használó kísérletben is jobbra futással és szimatolással töltötték a legtöbb időt az állatok, ám mindkét viselkedésem mennyisége csökkent az idő előrehaladtával. A szimatolás mennyisége a zenés szakaszokban nagyobb volt, mint a zenét követő csendes szakaszokban. Az ásás mennyisége előbb enyhén nőtt, majd folyamatosan csökkent. Az önápolás előbb enyhén csökkent majd folyamatosan nőtt. Az evés a csendes szakaszokban kb. azonos mennyiségben volt jelen, míg a zenei kezelések alatt a mennyisége csökkent, ráadásul a zene hatására az evést egyáltalán mutató egyedek száma is csökkent (Cs2: 7, GM: 1, GMU: 10, GB: 2, GBU: 8 állat). Az ágaskodás a GyM alatt és az utána következő csendes szakaszban megnőtt, majd újra csökkenni kezdett. A GyM- és a GMU-szakaszokban szignifikánsan több időt töltöttek ezzel a viselkedéssel az állatok, mint a Cs2-szakaszban ($p < 0,05$). A Cs2-szakaszban nem figyeltünk meg mozdulatlan pihenést, utána viszont mennyisége folyamatosan nőtt. A társ mosdatása meglehetősen ritka jelenség volt, csupán a MOZART utáni csendes szakaszban, a BACH-darab alatt, ill. az után figyeltük meg.

Az aktív viselkedéselemek aránya ebben a kísérleti szakaszban is folyamatosan csökkent az idő előrehaladtával, és az utolsó GyBU-szakaszban szignifikánsan kisebb arányban voltak jelen mint a Cs2-szakaszban (one-way ANOVA, $p < 0,05$). A passzív viselkedéselemek aránya is ennek megfelelően alakult, arányuk folyamatosan nőtt, és a GyBU-szakaszban szignifikánsan nagyobb volt mint a Cs2 szakaszban.

BALB/c. A csendes szakaszban, ill. a normál tempójú és magasságú zenei darabok lejátszása közben az állatok gyors mozgással töltötték az idő nagy részét, ezt követte a helyi mozgás majd a pihenés. A rodentizált változatok lejátszása közben azonban ez megváltozott, a pihenés aránya nőtt, míg a gyors mozgásé csökkent (2. táblázat). A pihenés változása statisztikailag szignifikánsnak bizonyult, a gyors zenei kezelések alatt szignifikánsan több időt töltöttek vele az egerek, mint a csendes szakaszban. Az egerek a gyors MOZART-zenés kezelés alatt kevesebb időt töltöttek gyors mozgással, mint a csend vagy a lassú MOZART-darab alatt, a gyors BACH lejátszásakor viszont kevesebbet, mint a csendes kezelés során. A helyi mozgás aránya kisebb intervallumban mozgott a különféle kezelések során (30,92–36,15% között). A gyors MOZART-darab lejátszásakor szignifikánsan nagyobb arányban fordult elő ez a mozgásforma, mint a csendes szakaszban vagy a normál

Az aktív viselkedéselemek aránya ebben a kísérleti szakaszban is folyamatosan csökkent az idő előrehaladtával, a passzív viselkedéselemek aránya pedig folyamatosan nőtt

A BALB/c egerek esetében a rodentizált változatok lejátszása közben a pihenés aránya nőtt, míg a gyors mozgásé csökkent

| | Fut/running | Önápólás/ self-grooming | Pihenés/ resting | Szimatol/ sniffing | Társát mos- datja/groom- ing other | Aktív/active | Passzív/pas- sive |
|--|----------------|----------------------------|---------------------|-----------------------|--|-----------------|----------------------|
| | 70,6 ± 31,44 | 25,3 ± 38,06 | 23,93 ± 61,67 | 109,96 ± 40,13 | 3,92 ± 14,58 | 285,35 ± 87,86 | 74,68 ± 87,86 |
| | 108,43 ± 46,48 | 20,71 ± 35,41 | 1,71 ± 3,18 | 133,87 ± 45,66 | 0,26 ± 1,17 | 285,64 ± 52,08 | 74,36 ± 52,08 |
| | 73,09 ± 52,32 | 64,71 ± 89,98 | 11,17 ± 30,71 | 113,86 ± 66,31 | 0,33 ± 1,49 | 246,87 ± 95,6 | 113,13 ± 95,6 |
| | 66,94 ± 59,82 | 54,09 ± 76,29 | 62,49 ± 117,18 | 108,44 ± 59,26 | 0,98 ± 3,02 | 215,0 ± 123,83 | 145,0 ± 123,83 |
| | 36,24 ± 50,53 | 153,04 ± 141,38 | 99,62 ± 156,32 | 41,39 ± 56,7 | 2,1 ± 9,39 | 90,55 ± 108,64 | 269,45 ± 108,64 |
| | 145,74 ± 43,68 | 18,71 ± 44,17 | 0 ± 0 | 144,47 ± 47,12 | 0 ± 0 | 326,47 ± 48,72 | 33,52 ± 48,72 |
| | 84,64 ± 62,76 | 15,48 ± 69,23 | 24,94 ± 80,65 | 140,73 ± 85,72 | 0 ± 0 | 317,06 ± 101,96 | 42,94 ± 101,96 |
| | 62,68 ± 39,22 | 37,86 ± 77,89 | 54,33 ± 125,91 | 89,49 ± 58,05 | 2,88 ± 7,41 | 249,42 ± 133,71 | 110,58 ± 133,71 |
| | 62,5 ± 70,22 | 41,98 ± 85,76 | 56,16 ± 131,31 | 115,71 ± 101,18 | 7,95 ± 35,57 | 249,49 ± 153,44 | 110,51 ± 153,43 |
| | 49,32 ± 41,63 | 44,37 ± 97,98 | 84,44 ± 147,26 | 90,9 ± 68,22 | 0,34 ± 1,51 | 210,95 ± 147,42 | 149,05 ± 147,42 |

Az egerek szignifikánsan kisebb távolságot tettek meg rodentizált MOZART-, ill. BACH-darabok lejátszása közben

sebességű MOZART lejátszásakor. A rodentizált BACH lejátszásakor pedig jelentősen több időt töltöttek helyi mozgással mint a csend alatt.

A teljes porondteszt alatt megtett út (m) a pihenés és a helyi, ill. gyors mozgás változásának megfelelően alakult. Az egerek szignifikánsan kisebb távolságot tettek meg (7,9; 9,1; 34 és 31% csökkenés, NM, NB, GyM és GyB sorrendben) a rodentizált MOZART-, ill. BACH-darabok lejátszása közben, mint a csendes szakaszban. A térbeli gyors mozgás arányának csökkenése, a rodentizált változatok lejátszása során szignifikáns. A porondon mért átlagsebesség (m/s) a gyors zenei kezeléseknél a csendes kontrollszakaszhoz képest szignifikánsan lecsökkent. A lassú zenei kezeléseknél is kisebb átlagsebességet mértünk, mint a csendes kezelés alatt, de a különbség nem szignifikáns. Az egerek a gyors MOZART- és BACH-darabok hallgatása során kevesebb alkalommal szelték át a porond közepét, mint a csendes szakaszban. A lassú zenei kezeléseknél is kevesebbszer szelték át a központot, mint a csendes szakasz alatt, de a különbség nem szignifikáns. A rodentizált MOZART-darab alatt az egerek több időt töltöttek a periférián (s), mint a csend vagy a lassú MOZART és BACH hallgatása közben, míg a gyors BACH-zene alatt több időt tartózkodtak ott, mint a csendes szakaszban. A spontán irányváltások száma a csendes szakasz és a lassú BACH-kezeléshez képest mindkét gyors zenei kezelés során lényegesen csökkent.

MEGVITATÁS

Nem lehet kizárni azt, hogy az egymás után következő zenei kezeléseknél az egerek hozzászoktak a kísérleti helyhez és akusztikai ingerhez

Az első kísérletben az eredmények alapján arra következtettünk, hogy nem lehet kizárni azt, hogy az egymás után következő zenei kezeléseknél az egerek hozzászoktak a kísérleti helyhez és akusztikai ingerhez. A viselkedés és UH-kibocsátás regisztrálását egymás után végeztük, így lehetséges, hogy a MOZART-zene lejátszásakor még aktívabb állatok a BACH-darabnál már hozzászoktak az új környezethez és hangingerekhez, és emiatt tűntek nyugodtabbnak. Logikus feltételezni, hogy az állatok a kezdeti izgalom után folyamatosan lenyugszanak, tehát csökken az aktivitás, és nő a pihenéssel töltött idő. Ez az eredmény megfelelne a FALKENHORST (5) által tapasztaltakhoz, ahol hasonló kísérleti elrendezésben a normál tempójú és magasságú zene hatását vizsgálták az egerek viselkedésére. Az aktivitás csökkenését támasztotta alá az, hogy a szimatolás gyakorisága – bár nem volt szignifikánsan csökkenett. Ezen kívül a futással töltött idő is idővel lecsökkent, ez a MOZART, a MOZART utáni, a BACH és a BACH utáni szaka-

Az egerek érdeklődést mutattak a megjelenő zene iránt, mikor azonban az másodszor jelent meg már nem reagáltak olyan intenzíven

A rodentizált zene intenzívebb hatással lehet az egerekre, mint az eredeti

A gyors zenék alatt a helyben való mozgás gyakorisága szignifikánsan megnőtt

Az egerek aktivitása csökkent a gyors zene hatására, de kissé a lassúra is

A rodentizált zene hatására jobban szorongtak az egerek, mint a csend vagy a normál tempójú zene alatt

szokban is szignifikánsan kisebb volt az erre szánt idő mint az alapviselkedés alatt. Az önápolás és pihenés ideje viszont folyamatosan nőtt, amik ugyancsak alátámasztják a porondhoz szokás elméletét. Nem minden változás vezethető le azonban a hozzászokásból. Például az ágaskodás gyakorisága a MOZART-darab lejátszása alatti és azutáni időszakban megnőtt, azonban a BACH-darab esetén újra lecsökkent (vö. 1. táblázat). Ez arra utalhat, hogy az egerek érdeklődést mutattak a megjelenő zene iránt, mikor azonban az másodszor jelent meg (BACH), már nem volt olyan új az inger számukra, nem reagáltak olyan intenzíven. Az évessel eltöltött idő statisztikailag nehezen elemezhető, ugyanis kevés állat evett, s azok is igen nagy szórást mutattak, azonban a zenei kezeléseket kevesebb állat evett, mint a csendes szakaszokban (7, 10, ill. 8 állat az alapviselkedés, a MOZART utáni és BACH utáni szakaszokban, egy, ill. két állat a MOZART- és BACH-darab alatt), ami fokozott szorongásra utal. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a rodentizált zene intenzívebb hatással lehet az egerekre, mint az eredeti, emberi fülnek szánt változat, ugyanis az aktív viselkedéselemek csökkenése és a passzív viselkedéselemek növekedése nem olyan folyamatos és fokozatos mint FALKENHORST (5) vizsgálatában, így feltételezhető, hogy míg ott szinte minden változást a hozzászokásnak tudhatunk be, addig jelen esetben a zenei kezelés hatása is mérhető. Az aktív elemek közé tartozik a futás, szimatolás, ágaskodás, ásás, valamint az ultrahangrögzítő mikrofon „fölfedezése”, amelyet jelen vizsgálatban ágaskodásként értékeltünk. A passzív viselkedéselemek közé tartozik a mosakodás (önmagát vagy társát), a pihenés és az evés.

A második kísérlet során a kísérleti elrendezés módosításával kívántuk elkerülni, hogy a porondhoz való hozzászokás torzítsa az eredményeket. Ehhez úgy módosítottuk a vizsgálatokat, hogy egyszerre az állatok csak maximum 8 percet töltöttek a porondon, miközben végig ugyanazt a zenei kezelést hallgatták, és a különféle zenéket különböző napokon teszteltük. A csend, a MOZART- és a BACH-lejátszás sorrendjét is egyedcsoportonként változtattuk. Ezen kísérletben a lassú és a gyorsított zenék hatását egyaránt vizsgáltuk. Általánosságban a vizsgált paraméterek a csend és a lassú zene alatt is hasonlóan alakultak, bár kisebb csökkenés (gyors mozgás), vagy növekedés (pihenés, mozgás helyben) megfigyelhető volt a lassú zenék alatt is. A gyors zenék alatt viszont egyértelműen intenzívebb változások láthatóak. A helyben való mozgás gyakorisága szignifikánsan megnőtt a csendes szakaszhoz képest, a gyors MOZART alatti gyakoriság még a lassú MOZART-tól is szignifikánsan eltért. Szintén jelentősen megnőtt a pihenés mennyisége is a gyors zenék alatt. A gyors mozgás pedig ezzel ellentétben szignifikánsan lecsökkent, akárcsak az átlagsebesség és a megtett út. Ezek alapján kijelenthető, hogy az egerek aktivitása csökkent a gyors zene hatására, de kissé a lassúra is. A lassú zenére általában jellemző volt, hogy a paraméterek értékei a csend és a gyors zene között helyezkedtek el. Így csak kisebb változásokat észleltünk, ami nem volt szignifikáns.

Azt is vizsgáltuk, hogy mennyire érzik magukat biztonságban az állatok, mennyire szoronganak a kísérlet alatt. Ez jól mérhető a periférián töltött idővel, ill. a ketrec központjának átszelésének gyakoriságával. Az előbbi szorongásra utal, az utóbbi esetben viszont az egerek biztonságban érzik magukat, stresszmentesek. Kísérletünkben azt az eredményt kaptuk, hogy a gyors zene alatt a periférián töltött idő szignifikánsan több volt, a központ átszelése pedig szignifikánsan csökkent. A spontán irányváltások száma is szignifikánsan csökkent a gyors zenénél a lassúhoz és a csendhez képest (vö. 2. táblázat). Ebből egyértelműen kiderül, hogy a rodentizált zene hatására jobban szorongtak az egerek, mint a csend vagy a normál tempójú zene alatt. Ha összehasonlítjuk a két zenei darab hatását, akkor láthatjuk, hogy a gyors MOZART-nál voltak a legnagyobb eltérések, amelyek legtöbbször szignifikánsak voltak. Felmerül a kérdés: a MOZART-zene hatása intenzívebb, mint a BACH-darabé? Míg a MOZART-zene szélesebb hang- és intenzitáshatárok között

mozog, addig a BACH-darab inkább a gyors térbeli mozgást csökkentő, nyugtató hatású. Lehet, hogy ennek is szerepe van a hatás különbségében, hiszen a humán használata is eltérő. Az egyiket tanuláshoz, a másikat pihenéshez javasolják.

Az (ultra)hang kibocsátó fájára, nemére, nemi ciklusára és a hierarchián belüli helyzetére vonatkozóan is tartalmaz információkat, mind az ember, mind az egerek esetében (25). Ilyen értelemben a zene – különösen a humán változat – kevésbé jelent fajspecifikus ingert az egérnek, mint azt a jelen vizsgálatok is igazoltak. Ugyanakkor leírták, hogy van veleszületett zenei preferencia (BEETHOVEN I. és IX. szimfóniája ANTONIO CARLOS JOBIM: Agua de beber zenészámaival szemben), ami betanítással fokozható (26). Patkányok esetében az egyszerű pentaton dallam csökkenti a stresszállapotot, optimalizálja a gasztrintermelést, fokozza a makrofágok fagocitóziskészségét, a T-sejtek proliferációját és a szérum IgG-szintjét (27).

A humán és a rodentizált változat eltérő hatására magyarázatot adhat az a nyulakon (1) és mongol futóegéren (17) talált eredmény, miszerint az agyban a különböző magasságú frekvenciákra szakosodott neuronok vannak. A két klasszikus zene között mi nem találtunk szignifikáns különbséget, jóllehet a BACH-zene nyugtató hatása kifejezettebb. Ezzel szemben MERRELL (18) azt találta, hogy a heavy metal zene tartós behatása végzetes viselkedéskárosodást okozott, a hím egerek harcoltak és megölték egymást. CHABOUT és mtsai (2) azt találták, hogy veleszületett zenei preferencia is létezik az egereknél, ami – különösen fiatal korban (26) – szoktatással tovább fokozható (24).

Összességében elmondható a kísérletünk alapján, hogy a rodentizált zene hatással van az egerek viselkedésére. A zene- és a genotípustól is függően csökkenti azok aktivitását, ill. stresszorként is szerepelhet. Egyet lehet érteni EHRET (4) véleményével, miszerint egerek számára a jól megválasztott zene egyrészt stresszoldó, továbbá viselkedésüket és (ultra)hang-kibocsátásukat monitorozva helyettesíthetnek énekesmadár-modelleket.

**A kétféle egértörzs
a zenei kezelések
hatására adott
válaszviselkedése eltérő**

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munka elvégzéséhez hozzájárult a SZIE ÁOTK 2015. évi Kutató Kari keretének támogatása, valamint KISS JÓZSEFNÉ OLÁH EDIT MARGIT könyvtáros önzetlen segítsége.

IRODALOM

- BATRA, R.: responses of neurons in the ventral nucleus of the lateral lemniscus to sinusoidally amplitude modulated tones. *J. Neurophysiol.*, 2006. 96. 2388–2398.
- CHABOUT, J. – SARKAR, A. et al.: Male mice song syntax depends on social contexts and influences female preferences. *Front. Behav. Neurosci.*, 2015. 9. 76.
- DRAI, D. – BENJAMIN, Y. – GOLANI, I.: Statistical discrimination of natural modes of motion in rat exploratory behavior. *J. Neurosci. Meth.*, 2000. 96. 119–131.
- EHRET, G.: Sound communication in house mice: Emotions in their voices and ears ? In: ALTENMÜLLER, E. – SCHMIDT, S. – ZIMMERMANN, E. (eds.): *Evolution of emotional communication: From sounds in nonhuman mammals to speech and music in man*. Oxford Scholarship Online, 2013. DOI:10.1093/acprof:oso/9780199583560.003.0004
- FALKENHORST, O. *Befolyásolja a zene az egerek viselkedését?* SZIE Állatorvos-tudományi Kar, Tudományos Diákköri Konferencia. Budapest, 2013.
- FEKETE S. GY. – BERNITSA, T.: Különböző emberi környezethatások (szocializáció, zene, zajzene, zaj) befolyása a patkányok viselkedésére 2. rész. Válaszolnak-e a patkányok az emberi zenére? *Magy. Állatorv. Lapja*, 2013. 135. 246–253.
- FEKETE, S. GY. – KORSÓS, G. – VEZÉR, T. – LUKÁCS, A. – BROWN, D. L.: *Effects of Mozart-music on the rat's learning capacity and short-term action catalogue – preliminary study*. "Acoustic Communication By Animals". 3rd Intern. Conf. Aug.1–5. 2011. Cornell. 41–42.
- FEKETE S. GY. – KORSÓS G. – SUKIKARA, CH.: Különböző emberi környezethatások (szocializáció, zene, zajzene, zaj) befolyása a patkányok viselkedésére. 3. rész. Különböző típusú zajok hatása a patkányok porondteszt. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2013. 135. 692–698.
- FEKETE S. GY. – LUKÁCS A. – HORVÁTH K. – KORSÓS G. – VEZÉR T.: Mozart-szonáta hatása patkányok tanulási és emlékezési teljesítményére. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2014. 136. 167–176.
- GARNER, J. P.: Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: Potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *ILAR J.*, 2005. 46. 106–117.
- <https://www.jax.org/strain/000664>, retrieved May 24, 2016.
- <https://www.jax.org/strain/000651>, retrieved May 24, 2016.
- <http://www.criver.com/product-services/basic-research/find-a-model/balb-c-mouse>, retrieved May 24, 2016.

14. <http://www.criver.com/products-services/basic-research/find-a-model/cd-1-mouse>, retrieved May 24, 2016.
15. KANDURI, CH. – KUUSI, T. et al.: The effect of music performance on the transcriptome of professional musician. *Sci. Rep.*, 2015. 5. 9506.
16. KORSÓS G. – BROWN, D. L. – RÜHLICKE, T. – FEKETE S. GY.: Egéretológia: különböző emberi és rodentizált zene hatása az egerek társas és egyéni viselkedésére, közérzetére és a genetika-környezet kölcsönhatására, I. Irodalmi összefoglaló. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2016. 138. 695–704.
17. LANGNER, G. L. – BRAUN, S. et al.: New evidence for a pitch helix in the ventral nucleus of the lateral lemniscus in the gerbil. *Assoc. Res. Otolaryngol.*, 2006. Abstr. 771.
18. MERRELL, D.: Mice, music and maze. Does metal really have a negative effect on the animal's ability to learn? In: *Towards a new renaissance in classical education Symp.* Washington, D. C., 1998. schillerinstitute.org
19. MILLER, K. A. – WILLIAMS, L. et al.: A Novel Mouse Model of Hereditary Deafness. *PLoS One*, 2013. 8. e74243.
20. POWLEDGE, T. M.: Behavioral epigenetics: How nurture shapes nature. *BioScience*, 2011. 61. 588–592.
21. RAUSCHER, F. H. – ROBINSON, K. D. – JENS, J. J.: Improved maze learning through early music exposure of rats. *Neurol. Res.*, 1998. 20. 427–432.
22. TCHERNICHOVSKI, O. – GOLANI, I.: A phase plane representation of rat exploratory behavior. *J. Neurosci. Meth.*, 1995. 62. 21–27.
23. TURNER, J. G. – PARRISH, J. L. et al.: Hearing in laboratory animals: strains differences and nonauditory effects of noise. *Comp. Med.*, 2005. 55. 12–23.
24. VUILLEUMIER, P. – TROST, W.: Mice and emotions: from enchantment to entrainment. *Am. N.Y. Acad. Sci.*, 2015. 1337. 2012–222.
25. XU, Y. – LEE, A. et al.: Human vocal attractiveness as signaled by body size projection. *PLoS One*, 2013. 8. e6397.
26. YANG, E-J. – LIN, E. W. – HENSCH, T. K.: Critical period for acoustic preference in mice. *PNAS*, 2012. 109. Suppl. 2., 17213.
27. ZHANG, SH-Y. – PENG, G-Y. et al.: Effect and mechanisms of gong-tone music on the immunological function in rats with liver (Gan)-Qi Depression and Spleed (Pi)-Qi Defficiency Syndrome in Rats. *Chin. J. Integr. Med.*, 2013. 19. 212–216.

Közlésre érk.: 2016. jún. 7.

What doesn't kill you makes you stronger – novel method to improve the efficacy of assisted reproduction

Losonczy Eszter*
Pribenszky Csaba

E. Losonczy*
Cs. Pribenszky

Állatorvostudományi Egyetem
Állathigiéniai,
Állomány-egészségtani és Állatorvosi
Etológiai Tanszék
1078 Budapest, István u. 2.

* e-mail: losonczy.eszter@univet.hu

Ami nem öl meg, az megerősít – új eljárás az asszisztált reprodukciós technikák hatáskörének növelésére

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők jelen tanulmányukban összefoglalják mindazokat a kutatási eredményeket, amelyek az embriók és ivarsejtek életképességét javítják egy ún. stressz-előkezelés segítségével, ezáltal növelve a különböző asszisztált reprodukciós eljárások hatékonyságát. Bár a laboratóriumi munka során óvjuk e sejteket a kedvezőtlen környezeti tényezőktől (stresszoroktól), mégis, az elmúlt évtized kutatásai rámutatnak, hogy a sejteket ért stresszhatásnak pozitív hatásai is lehetnek. Amennyiben meghatározott mértékű és megfelelően kivitelezett stresszhatással előkezeljük (pre-kondicionáljuk) őket, növelhetjük a negatív környezeti tényezőkhöz való alkalmazkodóképességüket.

SUMMARY

Background: Several methods have been developed in the last decades, which require in vitro manipulation, culture, and fresh or cryopreserved storage of gametes and embryos. These techniques, like gamete and embryo cryopreservation, in vitro embryo production and culture, and somatic cell nuclear transfer necessitate meticulously adjusted conditions to avoid or minimize the harmful effects of uncontrolled stress. However, several studies in the last ten years indicate that purposefully applied stress have a positive effect on cells' quality, viability, and developmental competence.

Objectives: The aim of this review is to summarize research results on the effects of stress preconditioning on gametes and embryos of several species, provided that this pretreatment is introduced before various processes of assisted reproduction.

Materials and Methods: Review of the published literature.

Results and Discussion: If gametes and embryos are subjected to a well-defined and properly applied stress, it may induce their general adaptation and increase tolerance to various in vitro procedures, like long-term storage, cryopreservation, culture, and manipulations. The term "well-defined and properly applied" is of capital importance; only this type of stress pretreatment may increase the general tolerance of the cells. Although cellular and subcellular mechanisms supposedly contributing to these processes require further research, the new principle, i.e., to improve the stress tolerance by a defined sublethal stress, instead of passively satisfying the cells' physiological needs, may outline a completely new strategy in mammalian embryology, as well as cryopreservation of other cells and tissues. This procedure, besides its scientific value, may have significant practical consequences resulting in tangible economic benefits in many fields.

EMBRIOLÓGIA

Az emlős embriók és ivarsejtek természetes körülmények között nem kerülnek ki a szervezetből, hanem *in vivo*, számukra biztonságos, optimális körülmények között fejlődnek és látják el feladatukat. Az embriológiai kutatások fejlődésével párhuzamosan azonban megszületett az igény a különböző sejtek testen kívüli, *in vitro* körülmények közötti életben tartására és manipulálására is.

A 19. század második felében kezdődtek meg az *in vitro* embriológiai kutatások

A 19. század második felében kezdődtek meg azok a kutatások, amelyek már a szervezeten kívül, *in vitro* körülmények között vizsgálták a különböző sejtek, szövetek, szervek működését. Már ekkor SIDNEY RINGER azt vizsgálta, hogy a szívbe áramoltatott perfúziós oldat ionösszetétele milyen hatással van a szív összehúzódásaira (56), WALTER HEAPE pedig sikeresen mosott ki nyúlembriókat donor méhből, majd ültetett át recipiens méhbe (22). 1934-ben GREGORY PINCUS *in vitro* termékenyítéssel kísérletezett (43), majd a következő évtizedekben HAMMOND (20), WHITTEN (70) és ADAMS (1) egymásra épülő kutatásainak eredményeképpen születtek meg azok az embriótenyésztő oldatok, amelyek az embriológiában ma is használt médiumok alapjait képezik. Mivel maguk a kutatások, később pedig az ezek eredményeképpen kidolgozott módszerek pont a kutatások alanyaira, azaz az ivarsejtekre, embriókra nézve potenciálisan veszélyeket hordoznak magukban (18, 63), megkezdődött a különböző tenyésztőoldat-gyártó vállalatok kutatólaboratóriumaiban az ivarsejtek, embriók igényeit minél jobban kielégítő újabb és újabb oldatok fejlesztése. Az ilyen irányú fejlesztések célja többnyire az volt, hogy az átmenetileg *in vitro* körülmények között tartott ill. tenyésztett sejtek számára az *in vivo* körülményeket minél pontosabban lemásolja, imitálja. Mivel az *in vivo* lezajló folyamatokat a legtöbb esetben nem ismerjük kellő mélységben, és ha ismernénk is, nem tudjuk tökéletesen létrehozni *in vitro*, mesterséges körülmények között, (4, 37), az embriológusoknak többnyire bele kell törődniük abba, hogy az ilyen módon tartott ivarsejtek, ill. tenyésztett embriók minősége némileg károsodik az eljárások során. Ezen tökéletlenségek tetten érhetők többek között az élettani eltérésekben, génextpressziós változásokban, valamint fejlődésbeli zavarokban.

Egy olyan laboratóriumi technológia alkalmazása, amely nem csupán passzívan próbálja csökkenteni a káros hatásokat, hanem aktívan képes növelni az ivarsejtek, embriók ellenálló képességét, termékenyítő vagy termékenyülő képességét, fejlődési potenciálját, korábban a legtöbb embriológus fejében még elképzelés-ként sem merült fel. A jelen áttekintésben csokorba fogott kutatási eredmények azonban azt bizonyítják, hogy az ismert „Ami nem öl meg, az megerősít” FRIEDRICH NIETZSCHE-idézet nemcsak az egyén, hanem a sejtek szintjén is igaz lehet.

A STRESSZ ÉS ALKALMAZÁSA MINT PREKONDITIONÁLÁS

A környezeti stressz indukálta szervezeti reakciókat az 1900-as években írták le

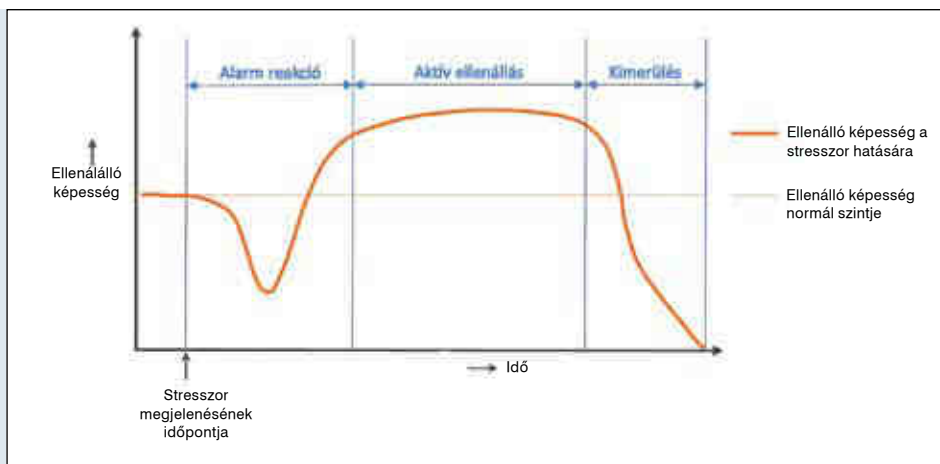
A környezeti stressz által kiváltott reakciók vizsgálatának első tudományos eredményeit 1915-ben CANNON, majd 1936-ban SELYE stresszelmélete fogalmazta meg. CANNON felismerte, hogy a külső környezet hirtelen változásaira az állati és emberi szervezet egy ún. akut stresszreakcióval, a később róla elnevezett Cannon-féle vészreakcióval válaszol, amelynek során a szimpatikus idegrendszer aktiválódik, és ennek hatására a szervezet energiatartalékainak mozgósítása révén képes lesz a menekülésre, vagy a káros hatás elhárítására (8).

SELYE azt vizsgálta, hogy az emberi szervezetre hogyan hatnak a külső környezet változásai, és ennek során felismerte, hogy különböző betegségek, ill. környezeti hatások sokszor hasonló tüneteket is kiváltanak. Ez alapján feltételezte, hogy ezek a közös tünetek egy általános válaszreakció részét képezhetik, amit generalizált adaptációs szindrómának nevezett el. Az adaptáció első fázisa az alarmreakció, amely tulajdonképpen a Cannon-féle vészreakciónak felel meg. A szervezet azonban nem képes ezen állapot hosszabb távú fenntartására, így tartósabb környezeti hatás esetén a szervezet vagy eljut az aktív ellenállás fázisába, amikor is az új

1. ÁBRA. A stresszor hatására bekövetkező változás az ellenálló képességben

FIGURE 1. Effect of a stressor on resistance

Ábrafelirat: Ellenálló képesség 2x



A stressz ellenőrzött alkalmazása javítja a sejtek reakciókészségét, ellenálló képességét

viszonyoknak megfelelően egy új egyensúlyi állapot alakulhat ki, vagy pedig túlságosan erős, kivédhetetlen környezeti hatás esetében a kimerülés szakaszába kerül (1. ábra) (59). Az előbbi fázisoknak megfelelően az élőlényre ható stressz egy bizonyos szintig javítja a reakciókészséget, az ellenálló képességet, azaz a teljesítményt, és csupán akkor lesznek káros hatásai, ha a környezeti hatás ezen a szinten túllép. E felismerésből eredeztethető az az elmélet, amely szerint ha ez a bizonyos környezeti tényező nem véletlenszerűen, kontrollálatlanul éri a szervezetet, hanem azt tudatosan, pontosan meghatározott erősséggel és ellenőrzött módon alkalmazzuk, akkor segítségével növelhető lehet a teljesítmény akár a szervezet, akár pedig a sejtek szintjén.

Jelen összefoglaló egy olyan *in vitro* technológia fejlesztését és alkalmazási területeit mutatja be, amely már bizonyított módon növeli az ivarsejtek, embriók és őssejtek általános ellenálló képességét, és ezáltal a különböző beavatkozások utáni felhasználhatóságát. E módszer működési elve az, hogy egy, a sejtek életképességét még nem rontó mértékű stresszelőkezelést követően megnő a kezelt sejtek egyéb stresszorokkal szembeni ellenálló képessége, így kevesebb alaki és működésbeli károsodást szenvednek el a fagyasztást vagy egyéb beavatkozásokat követően. A kezelés kövekezményeképpen a sejtek megnövekedett termékenyítő, ill. termékenyülő képességgel, valamint fejlődési potenciállal rendelkeznek a felhasználáskor. Jelen cikk az alkalmazható stresszorok közül főként a magas hidrosztatikus nyomásra fókuszál, amely elsőként került sikeres alkalmazásra, mint szubletális – azaz a halálosnál kisebb erősségű, a vizsgált sejteket nem károsító – stresszelőkezelés. Ezen kívül megkíséreljük sorra venni mindazokat a tényezőket, amelyek szerepet játszhatnak az ellenálló képesség javításában, valamint felvázoljuk, hogy milyen jövőbeni alkalmazásai lehetnek e módszernek.

A nagy hidrosztatikai nyomás szubletális stresszelőkezelésként használható

A NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁS MINT STRESSZELŐKEZELÉS

Azt az ötletet, hogy a nagy hidrosztatikai nyomást mint szubletális stresszelőkezelést alkalmazzuk embriókon és ivarsejteken az ellenálló képességük növelése céljából, korábbi élelmiszer-mikrobiológiai kutatások meglepő eredménye adta. Érdekes módon ez az – élelmiszeripari szempontból egyébként kedvezőtlen – eredmény lett az alapja számos korábbi és jelenleg is folyó kutatásnak.

HÍTE az 1900-as évek elején a magas hidrosztatikus nyomáskezelést követően hosszabb eltarthatóságról és jobb minőségről számolt be tej és gyümölcsök esetében. Azt tapasztalta, hogy 450–600 MPa erősségű nyomás hatására csökkent a kezelt élelmiszerek csíraszám, viszont az egyéb tartósítási módszerekhez

hasonlítva az élelmiszerek minősége csak kisebb mértékben károsodott (23). Mivel azonban a szükséges mértékű nyomás kialakítása az élelmiszerek széles körén és nagyobb mennyiségeken alkalmazva komoly kihívás elé állította volna az élelmiszeripart, kombinált kezelési eljárásokat használtak, mérsékelt erősségű nyomás és kisebb mértékű hőkezelés egymást követő alkalmazásával. A két enyhébb, szubletális, azaz a baktériumokat önmagában el nem pusztító stressz egymást követő alkalmazásától azt várták, hogy hatásuk összeadódik, és ezáltal elérhető az élelmiszer-patogén csíraszám kellő csökkenése az élelmiszerekben. A várt eredményekkel éles ellentétben azonban WEMEKAMP-KAMPHUIS és mtsai azt tapasztalták, hogy a *Listeria monocytogenes* szaporodása nemhogy csökkent volna, hanem szignifikánsan növekedett a hűtés és a nyomáskezelés egymás utáni alkalmazását követően (69). Ez arra engedett következtetni, hogy az első szubletális mértékű kezelés felkészítette a baktériumokat arra, hogy jobb hatásokkal éljék túl a második, szintén szubletális mértékű kezelést.

A magas hidrosztatikus nyomás azonnal és egyforma mértékben hat a minta minden pontjára

Erre a megfigyelésre alapozta kutatócsoportunk azokat a vizsgálatokat, amelyek az asszisztált reprodukció során alkalmazott *in vitro* eljárások hatékonyságát igyekeztek növelni szubletális mértékű stresszelőkezelés segítségével. De nem csupán a magas hidrosztatikus nyomás, hanem minden megváltozott környezeti tényező (hő, hiper- vagy hipoozmotikus viszonyok, éheztetés, mechanikai behatások, besugárzás stb.) stresszként hat a sejtekre, szervezetre, tehát mindegyik képes stressz-válaszreakciót kiváltani a sejtekben. Számos tulajdonsága miatt mégis a magas hidrosztatikus nyomás bizonyult a legalkalmasabbnak a szubletális stresszelőkezelés céljára. Egyik fontos tulajdonsága, hogy – ellentétben az összes többi stresszszorral – a nyomás felépülésével egyidejűleg, azonnal és egyforma mértékben hat a minta minden pontján. Ennek köszönhetően nem szükséges azt figyelembe venni, hogy a kezelés mennyi idő alatt tud a minta minden pontján hatást kiváltani – azaz penetrálódni –, ill. hogy egyáltalán eljut-e a minta minden pontjához. Ezen tulajdonságai mellett a hidrosztatikus nyomáskezelés biztonságosan, nagy pontossággal kivitelezhető és fenntartható az erre a célra kialakított berendezésekben. Emellett bizonyítást nyert, hogy – ellentétben pl. a hőkezeléssel, ozmotikus vagy oxidatív stresszel – a sejtek igen nagy mértékben képesek a nyomáskezelésnek ellenállni, így tág határok közötti nyomáskezelést lehet alkalmazni, anélkül hogy veszélyeztetnénk a sejtek túlélését.

A hidrosztatikus nyomáskezelés nagy pontossággal kivitelezhető és fenntartható

Hogy érzékelhetővé váljon a sejtek meglepő mértékű alkalmazkodóképessége a hidrosztatikus nyomással szemben, érdemes áttekinteni a Földön és főként a tengerekben, különböző mélységekben mérhető hidrosztatikus nyomást. Az atmoszferikus nyomás nagysága tengerszint magasságon kb. 1 bar, azaz 0,1 MPa, ez tehát az a nyomásérték, amelyhez mi, emberek, a növény- és állatvilág jelentős része – köztük a jelen cikk témájául szolgáló háziállataink –, a minket körülvevő környezetben élő baktériumok alkalmazkodtak az elmúlt évmilliók során. 10 MPa nyomás megfelel az ezer méter magas vízoszlop nyomásának, ez az a mélység, ameddig a katonai célú atom-tengeralattjárók még lemerészkednek. A Marianna-árokban mérhető hidrosztatikus nyomás kb. 100 MPa, ebben a nagyságrendben csak egyes barofil organizmusok képesek túlélni. Mindezek ismeretében igen meglepő, hogy a petesejtek, a spermiumok, az embriók, az őssejtek kezelésének optimális tartománya – amelyet az **1. táblázat** mutat be részletesen – a 30–60 MPa értékek közé esik.

A magas hidrosztatikus nyomáskezelés túlélést és ellenálló képességet javító hatásait kutatócsoportunk tíz éve kezdte vizsgálni. Egy-egy új sejttípus kezelési paramétereinek meghatározására egy általános protokollt alakítottunk ki. A kísérletek során meghatározzuk és leírjuk az adott minta stressztoleranciáját, majd ez alapján kerül a sejt-specifikus kezelési protokoll meghatározásra. Az eljárást PTAT-protokollnak hívjuk, a „Pressure Triggered Activation of Tolerance” kifejezés alapján (jelentése: nyomás által kiváltott ellenálló képesség növekedése).

A kísérletek első lépéseként definiáljuk és standardizáljuk a vizsgált sejttípus

1. TÁBLÁZAT. Optimális és szubletális nyomáskezelés mértéke különböző emlős ivarsejtek és embriók esetében**TABLE 1.** Optimal and sublethal pressure levels for various mammal gametes and embryos

| | Optimális nyomáskezelés mértéke | Optimális nyomáskezelés időtartama | A szubletális tartomány |
|---|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| Embrió (szarvasmarha, juh, egér) | 40–60 MPa | 30–60 min | ≤ 80 MPa |
| Petesejt (sertés, egér, humán) | 20 MPa | 60–90 min | ≤ 60 MPa |
| Spermium (ló, szarvasmarha, sertés, nyúl) | 10–30 MPa | 90–120 min | ≤ 60 MPa |
| Embrió test | 60 MPa | 30–60 min | ≤ 80 MPa |

Első lépésben meghatározzák a vizsgálandó sejtípus *in vitro* túlélését, funkcióját jellemző, mérhető paramétereket

Második lépésben meghatározzák a mintatárolót, a tenyésztőoldatot és a hígítót

A következő lépés a hidrosztatikus nyomáskezelés beállítása

azon mérhető funkcióit, amellyel az adott sejtek *in vitro* túlélése, működése jellemezhető. Ez jellemzően a spermiumok esetében a motilitás, a membránintegritás, a DNS-fragmentáció és a mitokondriumok aktivitásának mértéke. Embriók esetében vizsgáljuk a reexpanziót, azaz a mélyhűtést követő összeesett – vagy más néven kollabált – állapotból történő visszaalakulást, a további osztódásra való képességet, a blasztociszta állapotig eljutott embriók arányát és sejtszámát. Petesejteknel a termékenyülésre való képesség, ezt követően a petesejtből keletkezett embriók fejlődése és az előbb említett, embriókra vonatkozó vizsgálatok nyújtanak információt.

Ezt követően meghatározzuk, hogy a vizsgált sejtípus milyen mintatárolóban, milyen tenyésztőoldat, ill. hígító hozzáadásával kezelhető. A mintatárolóval szemben elvárás, hogy levegőbuborékoktól mentesen feltölthető legyen, rugalmas anyaga révén képes legyen a nyomás átadására, és hermetikusan lezárható legyen. A gyakrabban alkalmazott mintatárolók a minta térfogatától függően a 0,25 ml-es, 0,5 ml-es és 5 ml-es műszalmák, a Luer lockkal ellátott 2 ml-es, 5 ml-es, 10 ml-es fecskendő, vagy a 100 ml-es és 500 ml-es transzfúziós zsákok. A minta megfelelő tenyésztőoldatban vagy hígítóban kerül a mintatárolóba (embriók esetében pl. TCM-199, M2, G-MOPS; spermiumok esetében spermahígító).

A következő fázis feladata annak megállapítása, hogy a sejt milyen mértékű hidrosztatikus nyomásra reagál pozitívan, ill. milyen mértékű hidrosztatikus nyomást képes még károsodás nélkül túlélni. E lépés során mátrix rendszerben vizsgáljuk a hőmérsékletnek (20–24 °C, azaz szobahőmérséklet és 37–38 °C, azaz testhőmérséklet, emlős sejtek esetében), a nyomáskezelés mértékének (5–80 MPa), valamint a nyomáskezelés időtartamának (15–120 perc) a hatását a minta életképességet jellemző tulajdonságain. A nyomáskezelés az erre a célra kialakított berendezésben (2. ábra; GBOX 2010 ill. GBOX 2140, Applied Cell Technology Kft., Budapest, Magyarország) történt minden egyes referált kísérletben. A berendezés a kezelést megelőzően a kívánt hőmérsékletre felmelegíti a desztillált vízzel feltöltött nyomáskamrát, majd a minta behelyezése után a nyomáskamra lezáródik, és a beállított nyomásprogramot a készülék automatikusan kivitelezi, a megadott hőmérsékleten, nyomásértéken és időtartamban. A javító hatás a kísérlet végpontjától függően már ebben a fázisban is tetten érhető a megfelelő kezelési paraméterek alkalmazásakor.

Ezután, a kutatás harmadik szakaszában az előző fázisban megállapított mértékű, időtartamú és hőmérsékletű PTAT-kezelést követően már megtörténik az a beavatkozás – leggyakrabban mélyhűtés – is, amely hatékonyságának növelése a cél. E beavatkozást követően összehasonlítjuk a PTAT-kezelt és az előkezelésben nem részesült (kontroll-) minták életképességét jellemző paramétereket *in vitro*



2. ÁBRA. A PTAT-előkezelés automatikus kivitelezésére szolgáló GBOX 2010 és 2140 készülék

A GBOX 2010 (a képen bal oldalon) nyomáskamrája 100 cm³-es, és 2–90 MPa közötti nyomásértékek előállítására alkalmas. Kisebb térfogatú minták, pl. embriók, petesejtek, embryoid bodyk kezelhetők a segítségével. Ezzel szemben a GBOX 2140 (a képen jobb oldalon) nagyobb, 1400 cm³-es nyomáskamrájának köszönhetően nagyobb térfogatú minták, pl. bikasperma, kansperma, köldökzsinórvér kezelésére is alkalmazható, 2–40 MPa közötti nyomásértékeken

FIGURE 2. GBOX 2010 and 2140 instruments for PTAT pretreatment

GBOX 2010 (on the left side) contains a 100 ml pressure chamber, and is designed to perform pressure levels between 2 and 90 MPa, for samples of smaller volume (e.g. embryos, oocytes, embryoid bodies). GBOX 2140 (on the right side) has a 1400 ml pressure chamber, thus is capable of treatment of large sample sizes such as boar and bull semen, or umbilical cord blood, between the levels of 2 and 40 MPa

körülmények között. A PTAT-kezelést szükség esetén a sejtek feldolgozási protokolljának több különböző pontján is elvégezzük, hogy ezáltal megtaláljuk azt a pontot, ahol a kezelés a maximális javító hatást képes nyújtani.

A kutatások utolsó fázisában a minták mélyhűtést – vagy egyéb beavatkozást – követő túlélését már annak figyelembevételével vizsgáljuk nagyszámú mintán, hogy a minták felmelegítése után az adott sejtípus *in vivo* képes-e biológiai funkcióinak ellátására. Így spermiumok esetében a mesterséges termékenyítés során megfigyelt termékenyítőképességet, a termékenyített anyától elérhető utódszámot; petesejtek esetében a termékenyülésre, majd az osztódásra való képességet; embriók – ill. a kezelt petesejtekből keletkezett embriók – esetében a további osztódásokat, az embrió beültetését követően a megtapadást, *in vivo* fejlődést és terminusra történő megszületést vizsgáljuk. Végző soron tehát mindhárom esetben az inszeminálást, ill. embriótranszfert követően a vemhesség és az életképes utód létrejötte, ill. ennek aránya az a végpont, amelyek segítségével mérjük a PTAT-kezelt és a kontrollminták közötti különbséget.

A PTAT-KEZELÉSSSEL ELÉRT EREDMÉNYEK

A következő alfejezetekben sejtípusonként foglaljuk össze mindazokat az eredményeket, amelyeket a világ több kutatócsoportja ez idáig elért a magas PTAT-protokoll segítségével a különféle asszisztált reprodukciós eljárásokban. A kutatások számszerű eredményei a [2. táblázat](#)ban láthatóak.

BLASZTOCISZTA STÁDIUMÚ EMBRIÓK

Több független kutatócsoport is vizsgálta a PTAT-kezelés egér-, szarvasmarha- és juhembriókra kifejtett hatását. A kísérletek eredményei azt mutatták, hogy a kezelésen átesett embriók a mélyhűtés után nagyobb arányban maradtak életben, valamint nagyobb arányban nyerték vissza a fejlődésre való képességüket, mint az előkezelésben nem részesülő embriók.

Bár a blasztociszta állapotú embriók állatfajtól függetlenül károsodás nélkül túléltek a 80–90 MPa erősségű nyomást is, stresszelő-kezelésként alkalmazva a 40–60 MPa erősségű, 30–70 perc időtartamú kezelést a legkedvezőbb hatással. Szintén állatfajtól függetlenül megfigyelhető volt a kezelést követően az embriók üregének átmeneti, reverzibilis összeszűkülése, az embrió kollabálása.

Az *in vivo* előállított blasztociszta egérembriók esetében a 30 percen át tartó 60 MPa erősségű behatás bizonyult hatékonynak. Ezen értékekkel végzett PTAT-kezelés gyors mélyhűtést megelőzően szignifikánsan megnövelte az embriók fagyasztást követő túlélését (50).

Az *in vitro* előállított szarvasmarha-embriók nagyobb, 80 MPa erősségű nyomást is károsodás nélkül elviseltek 45 percen keresztül, és az egérembriókhoz hasonlóan esetükben is a mélyhűtést követő túlélés jelentősen javult (52). Hasonló eredményt hozott ugyanebben a fajban a 60 MPa erősségű, 60 percen át tartó PTAT-kezelés

**Több nemzetközi
kutatócsoport is
visszaigazolta a
PTAT-kezelés
hatékonyságát embriók
esetében**

is, amelyet követően hagyományos mélyhűtés helyett vitrifikációt alkalmaztunk (60). A vitrifikáció alkalmazásával a kontrollként szereplő, PTAT-kezelésben nem részeseült embriók túlélési aránya is javult, de a PTAT-kezelésen átesett embriók esetében ehhez képest is emelkedett a túlélési arány, a re-expandálódott embriók aránya, és a zona pellucidából kibújt, azaz hatchingelt embriók aránya is. E kedvező hatás leginkább akkor volt tapasztalható, amikor a PTAT-kezelést egy óra inkubáció követte a vitrifikációt megelőzően (60).

Popovic és mtsai *in vitro* előállított, majd hét napig *in vitro* tenyésztett szarvasmarha-embriókat morfológiai jellemzőik alapján három – kiváló, azaz fagyasztható és beültethető, jó, azaz fagyasztásra a korábbi tapasztalatok alapján alkalmatlan, így csak frissen beültethető; ill. gyenge, azaz frissen sem beültethető – minőségi osztályba soroltak, alávetették 60 MPa erősségű, 60 percen át tartó PTAT-kezelésnek, majd egy óra inkubációt követően vitrifikálták azokat (44). Az embriók felmelegítése után vizsgálták, hogy az egyes minőségi csoportokból milyen arányban kerültek ki beültetésre alkalmas minőségű blasztociszták. Az eredmények azt mutatták, hogy ugyan a kiinduláskor kiváló minőségű embriók esetében nem volt különbség a beültethető embriók arányában, a jó kategóriába eső embrióknál viszont a PTAT-kezelés szignifikánsan javított ezen a mutatón, így mélyhűtésre alkalmassá tette a kezelés nélkül csak frissen felhasználható embriókat. Emellett a jó minőségi osztályba sorolt embriók szignifikánsan nagyobb arányú élő sejtet tartalmaztak, mint a PTAT-kezelést nem kapott csoport. A beültetést követően a vemhességi arányban nem volt szignifikáns eltérés a PTAT-kezelésen átesett, ill. előkezelés nélküli embriók között, viszont a PTAT-csoport nagyobb számban fagyaszthatóvá és beültethetővé vált embriói biztosították az eljárás gazdasági relevanciáját (44).

TRIGAL és mtsai szintén *in vitro* előállított, majd 7–8 napig *in vitro* tenyésztett szarvasmarha-embriókat vetettek alá az előzővel megegyező mértékű PTAT-kezelésnek a vitrifikációt megelőzően. Az embriók felmelegítése után nem volt eltérés a vitrifikációt túlélő embriók arányában, azonban a PTAT-kezelésen átesett embriók esetében a felmelegítés után 48 órával szignifikánsan nagyobb volt az embriócsomót képező sejtek száma, amely egyértelmű jele a kezelt embriók magasabb minőségének és jobb fejlődési potenciáljának (65).

BOGLIOLO és mtsai friss és mélyhűtött juh embriókon végzett kísérleteikben alkalmazták a PTAT-kezelést. Tapasztalatuk szerint a 40 MPa erősségű, 70 perc időtartamú, testhőmérsékleten végzett PTAT-kezelés hatására az embriók jobb minőségűek lettek, mint a kezeletlen kontrollembrriók, amelyet a nagyobb sejt-szám és a piknotikus, azaz károsodott magvú sejtek alacsonyabb aránya jelzett (7). A vitrifikált blasztociszta embriók esetében is tetten érhető volt a PTAT-kezelés kedvező hatása, amelyet a nagyobb arányú túlélés és a piknotikus sejt-magok kisebb száma jelzett (35).

HÍMIVARSEJTEK

Mind a sertés-, mind pedig a szarvasmarhaspermára vonatkozó kísérletek során a PTAT-kezelés eredményeképpen a mélyhűtést követően nagyobb arányú túlélés, ill. hosszabb eltarthatóság volt megfigyelhető.

Kutatócsoportunk sertéshímivarsejtek PTAT-kezelésével és rutin inszeminálásával vizsgálta, hogy a kezelésnek van-e esetleges negatív hatása a vemhességre és az alomlétszámra. Az ejakulátumokat donoronként felezve a kezelt csoport 30 MPa erősségű 90 percen át tartó PTAT-kezelést kapott, míg a kontroll a hagyományos feldolgozási folyamaton ment keresztül. A kezelt és kontroll ejakulátumokat 4–24 óra elteltével mesterséges termékenyítés során felhasználva az látszott, hogy a PTAT-kezelés hatására a vemhességi arány és fialási arány nem változott, azonban az alomlétszám szignifikáns növekedése volt megfigyelhető a kontroll, kezeletlen spermával inszeminált csoporthoz képest. Érdekes módon a javító hatást csak sülők esetében tapasztaltuk. A PTAT-kezelés kedvező hatása *in vitro* körülmények

**Hazai és külföldi
tapasztalatok is
alátámasztották a
PTAT-kezelés kedvező
hatását spermium-
mélyhűtés esetén**

2. TÁBLÁZAT. Ivarsejtekkel és embriókkal elért kutatási eredmények magas hidrosztatikus nyomás (PTAT) előkezelést követően**TABLE 2.** Summary of research results obtained following high hydrostatic pressure (PTAT) pretreatment

| A kezelt sejt típusa | A kezeléssel elérni kívánt cél | A magas hidrosztatikus nyomás (PTAT) előkezeléssel elért eredmény (kezelt vs. kontroll) |
|--|---|--|
| <i>In vitro</i> előállított szarvasmarha-blasztociszta | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *81% vs. 41%-a az embrióknak élte túl a lassú mélyhűtést (16) |
| | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *76% vs. 63%-a az embrióknak bújt ki az öt körülvevő burokból a vitrifikációt követően (17) |
| | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *68% vs. 36%-a transzferálható a kiinduláskor „jó” kategóriába eső embrióknak a vitrifikációt követően (18) |
| | az embriók minőségének javítása | *73% vs. 55% élő sejt a blasztocisztában vitrifikációt követően (18) |
| | az embriók minőségének javítása | *50 vs. 39 sejt az embriócsomóban (19) |
| <i>In vitro</i> előállított juhblasztociszta | az embriók minőségének javítása | *161 vs. 124 blasztociszta sejtszám; *1,3 vs. 3,8 piknotikus index (20) |
| | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *2,3 vs. 4,8 piknotikus index (21) |
| <i>In vivo</i> előállított egérembriók | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *94% vs. 46%-a az embrióknak nyerte vissza eredeti formáját vitrifikációt követően (15) |
| | a génexpressziós változások vizsgálata | *a kiválasztott gének magasabb expressziója 0–120 perccel a nyomás előkezelést követően (57) |
| Ejakulált szarvasmarhasperma | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *21% növekedés a motilitásban lassú fagyasztást követően (27) *62% vs. 54% motilitás lassú fagyasztást követően (28) |
| | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *59% vs. 37% motilitás lassú fagyasztást követően (23) |
| Ejakulált sertéssperma | az alomlétszám növelése mélyhűtött spermás inszeminálást követően | *9,4 vs. 4,4 élő alomlétszám (termékenyülési arány ~70% mindkét csoportban) (25) |
| | a vemhességi arány és az alomlétszám növelése mélyhűtött spermás inszeminálást követően | *82% vs. 61% vemhességi arány *78% vs. 59% fialási arány *10,8 vs. 8,0 alomlétszám *9,4 vs. 7,3 élve született malac/alom *8,0 vs. 6,2 élő malac/alom 42 napos korban (születési súly ~1,7 kg mindkét csoportban, 42 napos testtömeg ~13,3 kg mindkét csoportban) (26) |
| | az alomlétszám növelése friss spermás inszeminálást követően | *12,4 vs. 11,4 alomlétszám (termékenyülési arány ~80% mindkét csoportban) (22) |
| | fehérjeprofил változások vizsgálata | *egyes, a megtermékenyülésben szerepet játszó fehérjék megnövekedett termelődése (24) |
| | | |

(folytatás a következő oldalon)

között is tapasztalható volt; a kezelt sperma rutin körülmények közötti eltarthatósága megnövekedett (53).

További kutatások kimutatták, hogy a PTAT-kezelésen átesett sertéssperma kevésbé károsodott a mélyhűtés következtében, mint a kezelésben nem részesült kontrollminta (26, 49). Ezen eredmények tükrében a PTAT hatékony módszert jelenthet a mélyhűtött sertésspermával végzett termékenyítések esetében, megnövelve az eljárás meglehetősen gyenge hatásfokát (32).

HORVÁTH és mtsai már *in vivo* vizsgálatokkal igazolták a mélyhűtött sertéshímivarsejtekkel végzett termékenyítés létjogosultságát. A kutatócsoport PTAT-kezelést, majd mélyhűtést követően a felolvasztott örökítőanyagot kocák inszemi-

| A kezelt sejt típusa | A kezeléssel elérni kívánt cél | A magas hidrosztatikus nyomás (PTAT) előkezeléssel elért eredmény (kezelt vs. kontroll) |
|---|---|---|
| <i>In vitro</i> maturáción átesett sertéspetesejtek | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *15% vs. 1%-a a petesejteknek fejlődött blasztocisztává vitrifikációt, majd parthenogenetikus aktiválást követően (29, 30) |
| | a szomatikus sejtmagátültetéses klónozás eredményességének javítása | *57% vs. 28%-a a petesejteknek fejlődött blasztocisztává (Yucatan sejtvonal) (31) *68% vs. 48%-a a petesejteknek fejlődött blasztocisztává (Large white sejtvonal) (32) *56 vs. 49 blasztocisztasejtszám (Large white sejtvonal) (32) |
| | a szomatikus sejtmagátültetéssel létrehozott embriók mélyhűtést követő túlélésének javítása | *62% vs. 30%-a az embrióknak túlélte a vitrifikációt (32) |
| Éretlen sertéspetesejtek | az <i>in vitro</i> maturáció és parthenogenetikus aktiválás eredményességének növelése | *54% vs. 39%-a a petesejteknek fejlődött blasztocisztává *60 vs. 47 blasztociszta sejtszám a petesejtből fejlődött embrióban (33) |
| Egér érett petesejtek | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *51% vs. 42%-a a petesejtekből fejlődött embrióknak osztódott a vitrifikációt követően (34) *27% vs. 12% születési arány a petesejtekből fejlődött embriók beültetése után (34) |
| | a génexpressziós változások vizsgálata | *250 gén magasabb expressziója a petesejtből fejlődött négysejtes embrióban (59) *255 gén alacsonyabb expressziója a petesejtből fejlődött négysejtes embrióban (59) |
| Humán érett petesejtek | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *87% vs. 73%-a a petesejteknek élte túl a mélyhűtést (34) *50% vs. 32%-a a petesejteknek osztódott a mélyhűtést majd parthenogenetikus aktiválást követően (34) |
| Egér embrionális őssejtek | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *75% vs. 37% <i>in vitro</i> differenciálódás szívizom irányába (35) |

* Szignifikáns különbség ($p < 0,05$); statisztikai módszer: generalizált lineáris modell.

nálására használta fel. A PTAT-kezelésben részesült spermiumok progresszív és totál motilitása a felolvasztás után jobb volt, mint a kezeletlen kontrollmintáé. A vemhességi arány, a fialási arány, az alomlétszám, az élve született malacok és a választott malacok száma nagyobb volt a PTAT-kezelésen átesett sejtekkel történt termékenyítést követően, mint a kontrollcsoportban. A születéskori és a 42 napos kori testtömeg, ill. takarmányhasznosítás nem különbözött a kezelt és a kontrollcsoport esetében (25).

Bikaspermával végzett kutatások eredménye szerint PTAT-kezelést követően mind a mélyhűtést és felolvasztást követő motilitás, mind a membránintegritás, mind pedig a fertilitás nagyobb volt (33, 51).

A petesejtek PTAT-kezelése a mélyhűtés, in vitro maturáció, ill. klónozás után nagyobb túlélési arányt eredményezett

PETESEJTEK

Több kutatócsoport vizsgálatai is kimutatták, hogy sertés-, egér- és humán petesejtek PTAT-kezelése a mélyhűtést követően nagyobb túlélési arányt eredményez. Ezen túlmenően szomatikus sejtmag-átültetési klónozás előtt alkalmazva a PTAT-kezelés szintén szignifikánsan javította a módszer eredményességét. Az elvégzett kísérletek azt igazolták, hogy petesejtek esetében a PTAT-kezelés optimális mértéke 10–20 MPa, 30–60 percen keresztül alkalmazva.

A sertéspetesejtek esetében a 20 MPa erősségű, 60 perces PTAT-kezelés bizonyult a legkedvezőbbnek (45). E kezelés hatására a vitrifikációt, majd parthenogenetikus aktiválást – amelynek során arra készítjük a petesejtet, hogy megtermékenyülés nélkül kezdje meg az egyedfejlődést – követően több mint tízszeresére nőtt a blasztocisztaarány a kontrollcsoporthoz képest (15, 45). Egy másik kutatásban PTAT-előkezelésen átesett petesejtek sejtmagjának eltávolítása után, az így kapott citoplasztot használták fel recipiensként szomatikus sejtmag-átültetési klónozás során. Mind a blasztocisztaarány, mind pedig e blasztociszta vitrifikációt követő túlélése szignifikánsan megemelkedett a PTAT-kezelt csoportban. A javító hatás akkor volt a legjelentősebb, ha a PTAT-kezelés vége és a vitrifikáció ill. a sejtmag-eltávolítás megkezdése között 1–2 óra inkubációs idő telt el. A PTAT-kezelésen átesett petesejtekből származó klónozott embriók beültetéséből két egészséges malac született (13, 14). Hasonlóképpen, egy másik tanulmány eredményei alapján éretlen (GV stádiumú) sertéspetesejtek *in vitro* maturációja, parthenogenetikus aktiválása és *in vitro* tenyésztése magasabb blasztocisztaarányt és blasztociszta-sejtszámot eredményezett, amennyiben a petesejtek előzetesen PTAT-kezelésen estek át (46).

Az egérpetesejtek stresszel szembeni toleranciája a sertéspetesejtekéhez hasonlóan bizonyult. Termékenyítésre már alkalmas, érett (MII stádiumú) egérpetesejteknek a vitrifikációt megelőző 20 MPa erősségű, 60 perces PTAT-kezelésének hatása a vitrifikáció utáni magasabb túlélési arányban, majd az intracitoplazmatikus spermium injektálással történő termékenyítést követően szintén nagyobb túlélési arányban, az embriótranszfert követően pedig nagyobb vemhességi arányban és születési arányban volt tetten érhető (48). Az előbbi biztató eredményeket követően humán petesejteket is alávetettünk az egérnél már eredményesnek bizonyult mértékű PTAT-kezelésnek. Lassú fagyasztás után a túlélő petesejtek aránya szignifikánsan magasabb volt a kezeletlen kontrollpetesejtekkel összehasonlítva (48).

EMBRIONÁLIS ÖSSEJTEK

DINNYÉS és mtsai számoltak be elsőként a PTAT-kezelés segítségével elért eredményekről egér embrionális őssejtek esetében (12). Az embrionális őssejtekből ún. embryoid bodyt hoztak létre, amely néhány száz embrionális őssejtből álló sejtaggregátum. Ezen embryoid bodyk létrehozása utáni negyedik napon a sejtaggregátumot 60 MPa erősségű, 30 perces PTAT-kezelésnek vetették alá, amely kezelés megegyezik a blasztociszta stádiumú egérembrióknál hatásosnak bizonyult kezeléssel (50). A kezelés után az embryoid bodykat vitrifikálták, majd a felmelegítésük után vizsgálták a szívizomsejtté differenciálódás mértékét mind mikroszkópos vizsgálat, mind pedig a szívizomsejt-specifikus immunhisztokémiai festési eljárás segítségével. Az eredmények azt mutatták, hogy a PTAT-kezelésnek nem volt hatása a vitrifikálást követő túlélési arányra, ellenben a szívizom irányába történő differenciálódás mértéke szignifikánsan megemelkedett a kezelt csoportban (12).

IN VIVO EREDMÉNYEK

A PTAT-kezelésen átesett friss sertésspermával végzett termékenyítésekből 491, a PTAT-kezelt mélyhűtött spermával végzett inszeminációkból pedig 531 egészséges malac született (25, 32, 53). A malacok ivararánya, születési testtömege, a koraellések és malformációk aránya nem különbözik a PTAT-kezelésben nem részesült spermával végzett termékenyítésekből származó kontrollmalacokétól.

Az embryoid body néhány száz embrionális őssejtből álló sejtaggregátum

A PTAT-kezelt, mélyhűtött/felolvasztott sertésspermával végzett termékenyítéssel kapcsolatos eredmények kifejezetten kedvezőek

A PTAT-kezelésben részesült mélyhűtött-felolvasztott sertésspermával végzett termékenyítések után a vemhességi arány, a fialási arány, az alomlétszám, az élve született malacok és a választott malacok száma szignifikánsan nagyobb volt, mint a kezelésben nem részesült sperma esetében. A születéskori és a 42 napos kori testtömeg nem különbözött a kezelt és a kontrollcsoport esetében (25).

PTAT-kezelésen átesett sertéspetesejt – sejtmagrecipienseként történő – felhasználásával végzett klónozásból az embriók beültetését követően két egészséges malac született (14).

PTAT-kezelésben részesült egérblasztociszták recipiensbe ültetését követően 240 egészséges újszülött született, ebből 12 egyedét követtünk két generáción keresztül: vizsgáltuk az élettartamot, valamint párosztatást követően az állatok szaporodásbiológiai tulajdonságait és utódait. Ezen tulajdonságok tekintetében nem volt eltérés a kezeletlen embrió beültetéséből megszületett állatokhoz képest (50).

HATÁSMECHANIZMUS

Számos kutatócsoport foglalkozott az elmúlt években a PTAT-kezelés hatásmechanizmusának feltárásával (47, 54, 55).

Az élő sejtekben és szervezetekben – a baktériumoktól a többsejtes organizmusokon át, beleértve az emberi szervezetet is – megfigyelhető az a jelenség, hogy a különféle stresszorok egy átmeneti, általános ellenállóképesség-növekedést váltanak ki (59). A sejszintű mechanizmusok a stresszhatás érzékeléséből, a stressz hatásának elemzéséből, kiértékeléséből, valamint a káros hatás ellensúlyozásából, közömbösítéséből állnak, ilyen módon növelve a sejt ellenálló képességét a hasonló hatásokkal szemben (30). Amennyiben az adott stresszor erősebb, mint a sejt ellenálló képessége, programozott sejthalál (apoptosis) vagy necrosis következik be (21). A stressz hatására termelt fehérjék, az ún. stresszfehérjék csökkenthetik vagy erősíthetik az apoptosist kiváltó sejten belüli folyamatokat (3, 19).

A stresszfehérjék többsége a chaperon családba tartozik. E fehérjék számos sejtfolyamatban részt vesznek, többek között a fehérjeláncok, a DNS és a kromatin javító mechanizmusaiiban és stabil konformációjának fenntartásában, a sejtciklus és a redoxfolyamatok regulációjában, az energiametabolizmusban, a zsírsavak és lipidek metabolizmusában, valamint a károsodott fehérjemolekulák eliminációjában (10, 31). A stresszre adott válasz során e fehérjék termelésének szabályozása transzkripció, transláció és poszttranszlációs szinten valósul meg (29, 62).

A fehérjék szerepe a stresszre adott válaszreakció során elsőként a hő sokk esetében (57), a hő sokkfehérjék (heat shock protein, HSP) felfedezésekor került megfigyelésre (64). Későbbi kutatások eredményeképpen fény derült arra, hogy a hő sokkfehérjék az egyéb, hirtelen fellépő környezeti hatásokkal szembeni ellenállás során is szerepet játszanak. HÖRMANN és mtsai a *Lactobacillus sanfranciscensis* esetében vizsgálták a nyomáskezelés, a hő, a hideg, az ozmotikus eltérések, a savas kémhatás és a tápanyagmegvonás hatására fellépő fehérjeszintű változásokat, és azt tapasztalták, hogy bizonyos fehérjék e különféle stresszhatások mindegyike esetén termelődni kezdenek (24). Ennek oka, hogy a különféle stresszhatások egymáshoz nagyon hasonló reakciót okoznak annak köszönhetően, hogy az általuk a makromolekulák (membrán lipidek, fehérjék, DNS) szintjén kiváltott hatás hasonló (30). Ezáltal, amennyiben a sejt egy bizonyos típusú környezeti hatással szemben védekezik, amelynek során a sejt homeosztázisának fenntartását segítő stresszfehérjék termelődnek, e védekezés egyéb típusú káros környezeti tényezők ellen is hatásos lesz. A stresszelőkezelés hatására termelődött stresszfehérjék ilyen módon biztosíthatnak keresztvédelmet a későbbi rutin feldolgozás során fellépő káros behatásokkal szemben.

A hő sokkfehérjéknek nagy szerepe van a spermiumok és a petesejtek környezeti tényezőkkel szembeni védekezése, valamint később az embriófejlődés során is (42). Emelkedett Hsp70-szint figyelhető meg emlős embriókban az embrionális

A stresszfehérjék az ún. chaperon családba tartoznak

A hő sokkfehérjék segítik az ivarsejtek túlélését

genom aktiválódását megelőzően fellépő környezeti stresszek hatására (9, 16, 40). Antioxidáns hatásának köszönhetően az emelkedett glutationszintézis is fontos szerepet játszik az embriók stresszre adott válaszreakciójában (17).

A PTAT-KEZELÉS HATÁSA, A STRESSZFEHÉRJÉK SZEREPE A SEJTSZINTŰ VÉDEKEZÉSBEN

Több kutatócsoport is foglalkozik kifejezetten a PTAT-kezelés hatásainak molekuláris hátterével a különböző fajok ivarsejtjeiben és embrióiban.

A baktériumok a PTAT-kezelésre csökkent fehérjetermeléssel reagáltak, azonban ötvenöt, főként a stresszfehérjék családjába tartozó fehérje aránya megnövekedett (68). Ugyanezen kezelés hatására a chondrocytákban nagyobb hősokkfehérjeszint volt mérhető, túlnyomórészt transzlációs folyamatok hatására, az mRNS stabilitásának növelése révén (29, 34).

Bár a spermiumok transzkripciós szempontból inaktív sejtek, a PTAT-kezelésen átesett sertésspermiumok esetében is megfigyelhető volt a fehérjeszintbeli különbség a kontrollcsoporttal összehasonlítva, ami a szubletális kezelésre adott válaszreakcióval függ össze, és feltehetően a csökkent lebomlásnak köszönhető (26). E nagyobb mennyiségű fehérjék a lipidek metabolizmusát, a redoxfolyamatok regulációját, a termékenyítőképeséget befolyásolják, valamint kedvező hatással vannak a különböző védekező mechanizmusokra, amelyek megnövekedett felengedés utáni motilitásban és magasabb alomlétszámban érhetőek tetten. Mindezek mellett a Hsp70 és Hsp90 szintjében nem volt változás megfigyelhető (26).

A PTAT-kezelésen átesett egér- és szarvasmarha-embriók génexpressziós eredményei is elősegíthetik a stressz hatására fellépő sejtciklus szabályozás megismerését. A PTAT-kezelés következtében átmenetileg gátlódnak a sejtek növekedéssel, osztódással összefüggő folyamatai, az oxidatív stresszre adott sejt szintű reakciókkal összefüggő génműködései viszont aktiválódnak (5). Hasonlóképpen, a PTAT-kezelésen átesett szarvasmarha-embriók esetében erősebb génexpresszió volt megfigyelhető az antioxidáns védelemmel, a koleszterinszintézissel és a stresszel szembeni ellenállással összefüggő gének működésében (61). Az oxidatív stresszel összefüggő gének erőteljesebb expressziója mind az egér-, mind a szarvasmarha-embriókban egy, a stresszre adott általános válasza utal, ahol a sejt szintű redoxpotenciál a sejtek stresszre adott válaszreakciójának fő szabályozója lehet.

WELCH és mtsai azt figyelték meg, hogy az *Escherichia coli* baktériumok különösen érzékenyek a környezeti tényezőkre életük gyors növekedéssel és osztódással járó szakaszában, ennek megfelelően a védekező mechanizmusok egyike az osztódás átmeneti, reverzibilis leállása (68). Ezzel párhuzamba állítható az az eredmény, amely PTAT-kezelésen átesett egérpetesejtek esetében mutat rá a riboszómát alkotó fehérjék szintézisének átmeneti gátlódására (6). Szintén az anyagcsere-folyamatok átmeneti gátlódásának kedvező hatását bizonyítja az ún. csendes embrió hipotézis. E hipotézis kimondja, hogy annak oka, hogy az embrionális fejlődés első napjai során visszafogottabb, „csendesebb” anyagcseréjű embriók nagyobb arányban érik el a blasztociszta állapotot, az lehet, hogy az alacsonyabb szintű anyagcserével az anyagcsere-termékek között keletkező szabad gyökök mennyisége – és ezáltal azok károsító hatása – is kisebb lesz. A makromolekulák, sejtorganellumok épsége, károsító hatásokkal szembeni védelme az embrionális fejlődés első napjaiban, az embrionális genom aktiválódásának komplex folyamatai során pedig kiemelt jelentőségű (36).

Az előkezelésként alkalmazott stresszhatás típusa és mértéke nemcsak a termelt stresszfehérjék fajtájára és mennyiségére van befolyással, hanem a sejtek életképességére is. A stresszfehérjék legkifejezettebb termelődése azonban olyan mértékű stresszkezelést követően figyelhető meg, amely már jelentős mértékben károsítja a sejtek életképességét (11). Emiatt a stresszelőkezelés mértékének a stresszfehérjék termelődésére alapozott meghatározása nem megfelelő módszer.

A PTAT-kezelés hatására emelkedik a stresszfehérjék termelése a baktériumokban

Leírták a csendes embrió hipotézist

Emellett a tapasztalatok arra utalnak, hogy a stresszelőkezelés akkor a legkedvezőbb hatású, ha az előkezelés (hidrosztatikus nyomás vagy akár ozmotikus kezelés) után 1 vagy 2 óra múlva következik a sejteket érő második behatás (pl. mélyhűtés, parthenogenetikus aktiválás, sejtmagátültetés). Ez összhangban van azzal a megfigyeléssel, hogy a stresszreakcióval összefüggő gének legnagyobb mértékű kifejeződése a PTAT-kezelés után 1 órával volt mérhető szarvasmarha-embriók esetében (61). Hasonló eredményeket hozott egy másik korábbi kutatás is, mely szerint a stresszreakció során szerepet játszó fehérjék termelődésének a csúcsa sejttípusonként és alkalmazott stresszhatásonként némileg eltérhet, azonban az első stresszfehérjeszint-emelkedés 1–2 órával a kezelést követően mérhető (11).

EGYÉB KÖRNYEZETI STRESSZOROK HATÁSAI

A PTAT-tel folytatott kísérletek eredményeinek hatására több kutatócsoport is célul tűzte ki az ozmotikus, az oxidatív, ill. a hőstressz alkalmazhatóságának vizsgálatát a sejtek ellenálló képességének növelése érdekében. E kutatások számszerű eredményeit a **3. táblázat** foglalja össze.

LIN és mtsai kísérleteikben sertéspetesejteket kezeltek nem fiziológiás koncentrációjú NaCl-oldatokkal (593 és 1306 mOsm). Az ezt követő regenerációs idő után a petesejteket vitrifikálták, majd a felmelegítést követően e sejtek parthenogenetikus aktiváláson vagy szomatikus sejtmagátültetésen estek át. A hiperozmotikus oldatban előkezelt petesejtekből szignifikánsan nagyobb arányban keletkeztek blasztociszták, mint a nem kezelt sejtekből (38). Egy további kutatásban az ozmotikus hatást kifejtő különböző ágensek hatását vizsgálták. A petesejteket 588 mOsm-os NaCl-, szacharóz-, ill. trehalózzal helyezették egy óra időtartamra, majd egy újabb órányi regenerációs idő után vitrifikálták, majd parthenogenetikus aktiválták őket. Mindhárom előkezelés hatására nagyobb blasztocisztaarány volt megfigyelhető a kezeletlen csoporthoz képest. Amennyiben a parthenogenetikus aktiválás helyett szomatikus sejtmagátültetést alkalmaztak, szintén mindhárom szubletális hiperozmotikus kezelés megnövekedett blasztocisztaarányt eredményezett, azonban a trehalóz- és szacharózkezelés esetében a blasztociszta embriók sejt száma szignifikánsan lecsökkent (39).

VANDEALE és mtsai a rövid (67) ideig tartó hidrogén-peroxid- (H_2O_2) kezelés hatásait vizsgálták szarvasmarha *in vitro* érlelt, kumuluszsejtekkel borított petesejtek esetében. A termékenyítésre kész, érett petesejteket előkezelés céljából

Számos egyéb környezeti stresszor hatását vizsgálták az embriológusok

3. TÁBLÁZAT. Ivarsejtekkel és embriókkal elért kutatási eredmények hiperozmotikus, ill. oxidatív stresszelőkezelést követően

TABLE 3. Summary of research results obtained following hyperosmotic or oxidative stress pretreatment

| A kezelt sejt típusa | A kezeléssel elérni kívánt cél | A hiperozmotikus ill. oxidatív stresszelőkezeléssel elért eredmény (kezelt vs. kontroll) |
|--|--|---|
| <i>In vitro</i> maturáción átesett sertéspetesejtek | a mélyhűtést követő túlélés javítása | *6%, *6%, *7% (sorrendben: NaCl, szacharóz, trehalóz) vs. 1%-a a petesejteknek fejlődött blasztocisztává vitrifikációt, majd parthenogenetikus aktiválást követően (63) |
| | a szomatikus sejtmagátültetési klónozás eredményességének javítása | *64%, *69%, *65% (sorrendben: NaCl, szacharóz, trehalóz) vs. 47%-a a petesejteknek fejlődött blasztocisztává (Large white sejtvonal) (63) 62, *48, *47 (sorrendben: NaCl, szacharóz, trehalóz) vs. 62 blasztociszta sejt szám (Large white sejtvonal) (63) |
| <i>In vitro</i> maturáción átesett szarvasmarha-petesejtek | az <i>in vitro</i> tenyésztés eredményességének növelése | *47% vs. 32%-a az embrióknak fejlődött blasztocisztává a H_2O_2 előkezelést követően (64) |

* Szignifikáns különbség ($p < 0,05$); statisztikai módszer: generalizált lineáris modell.

0,01–100 $\mu\text{l/l}$ közötti koncentrációjú hidrogén-peroxid-oldatba helyezték, majd a termékenyítést követően *in vitro* tenyésztették a blasztociszta állapot eléréséig. Az 50–100 $\mu\text{l/l}$ közötti koncentrációjú oldatban előkezelt petesejtekből szignifikánsan nagyobb arányban fejlődtek blasztociszták, mint a kezelésem át nem esettekből, míg az apoptózis jeleit mutató sejtek aránya a nagyobb koncentrációjú oldattal kezelt embriókban alacsonyabb volt (67).

Isom és mtsai a hőmérséklet hatásait vizsgálták. Megnövekedett fejlődési potenciált tapasztaltak azoknál a parthenogenetikusan aktivált sertéspetesejtek-nél, amelyeket az aktiválás után 9 órán keresztül 42 °C-ra emelt hőmérsékletű tenyésztőoldatban tartottak (27).

A fenti eredményekkel ellentétben több tanulmány is bizonyította, hogy a petesejtek és embriók igen érzékenyek, így gyengébb fejlődéssel reagálnak a hőmérséklet változásaira (28, 58, 66). Hasonlóképpen, több kutatás során is károsnak bizonyult a LIN és mtsai által alkalmazotthoz hasonló mértékű, bár eltérő időtartamú hiperozmotikus kezelés petesejtek esetében (2, 41). Érdemes azonban figyelembe venni, hogy ezen kutatásokban a szerzők nem szándékoztak a hőstresszt és az ozmotikus stresszt mint további ellenálló képességet javító előkezelést felhasználni, ezért nem is tettek erőfeszítést abba az irányba, hogy megtalálják az optimális mértékű kezelést. Továbbá: ezek a változatos eredmények, amelyek esetenként a fent említett környezeti stresszoroknak nemhogy a kedvező, hanem éppen a károsító hatását bizonyítják, részben a sejtek fenti tényezőkre való érzékenységének lehetnek köszönhetőek. Ezen környezeti hatások esetében ugyanis igen szűk az az alkalmazhatósági zóna, amely az *in vivo* tapasztalt, azaz optimális, és a sejtek, ill. embriók szempontjából letális értékek között található. Ugyanez a tartomány a PTAT-kezelés esetében igen tág, amelynek köszönhetően könnyen lehetséges olyan kezelési protokoll kiválasztása, amely a kedvező hatások kiváltására képes, de a sejteket nem károsítja.

A KUTATÁSOK PERSPEKTÍVÁI

A jelen áttekintésben felsorolt kutatások az embriológiában használatos *in vitro* módszerek mellé egy alapjaiban új eszköztárat kínálnak fel. Eszerint nem csupán passzív módon elégíthetjük ki a sejtek igényeit és védhetjük meg őket a számukra potenciálisan káros hatásoktól a feldolgozásuk során, hanem – kontrollált környezetben kontrollált módon alkalmazott stresszelőkezeléssel – aktiválhatjuk a sejtek saját védekező mechanizmusait. A stresszreakció eredménye így a károsító hatással szemben megnövekedett ellenálló képesség lesz. Ez a védekező reakció azonban jellegéből adódóan nem specifikus a kiváltó stresszorra vonatkozóan, hanem keresztvédezettséget biztosít egyéb tényezőkkel szemben is. Ez adhat magyarázatot arra, hogy a magas hidrosztatikus nyomás előkezelés miként biztosíthat védelmet egy gyökeresen más jellegű, a sejtek feldolgozásával együtt járó stresszel szemben, mint amilyen a mélyhűtés és a különböző *in vitro* manipulációk.

Az itt bemutatott új módszer, amelynek segítségével javítható az ivarsejtek és embriók minősége – ezen belül a mélyhűtést követő túlélése, termékenyítő képessége, fejlődési potenciálja – új távlatokat nyithat meg az embriológiában. Bár a jelenség pontos molekuláris biológiai hátterének felderítése még további kutatásokat igényel, az eddigi eredmények azt mutatják, hogy egy bizonyos, pontosan meghatározott mértékű stresszelőkezelés – a PTAT – alkalmas lehet a sejtek életképességének növelésére. A kezelés segítségével a jövőben esély van arra, hogy gazdasági szempontból is jelentős teljesítménynövekedés legyen elérhető az emlős asszisztált reprodukció, ezen belül pedig a sertés, szarvasmarha, ló mesterséges termékenyítés és spermamélyhűtés, *in vitro* embrió-előállítás és embriótranszfer, a sejtmagátültetéses klónozás, de akár a humán meddőségi kezelések területén is.

A stresszelőkezelés előnyös lehet a sejtek ellenálló képességének fokozása által

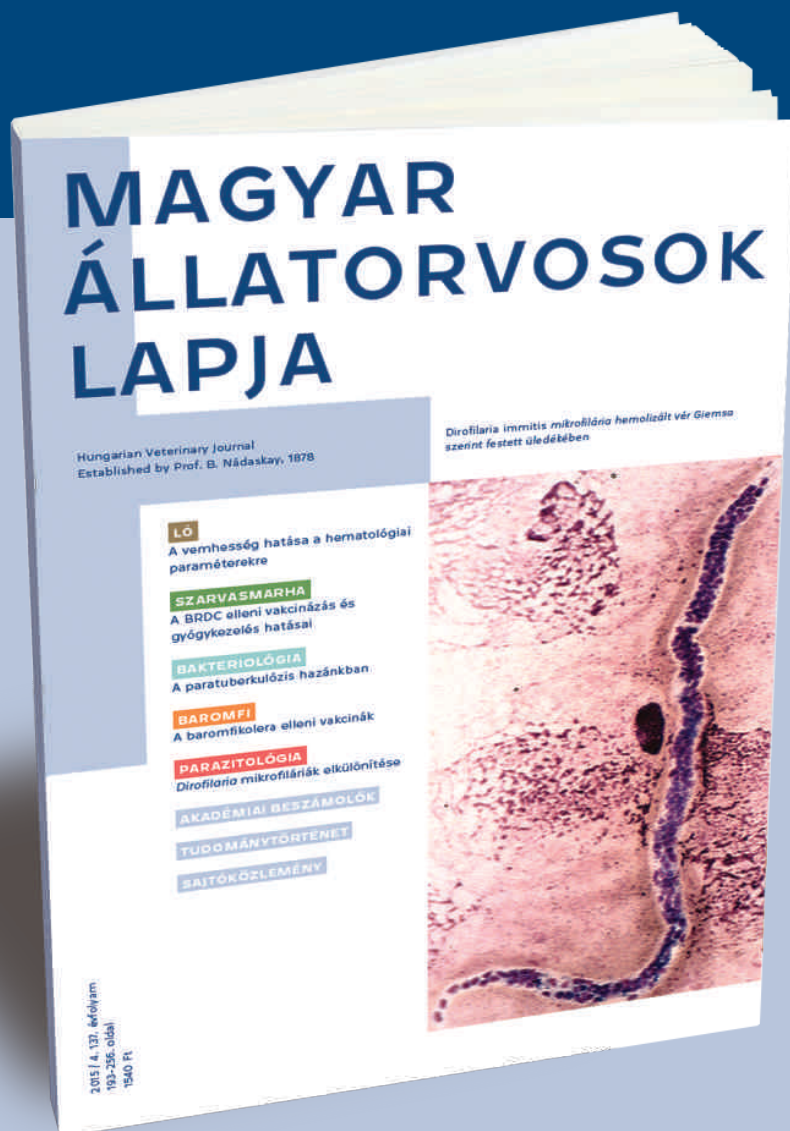
IRODALOM

1. ADAMS, C. E.: *Artificial Insemination*, 5. Third International Congress on Animal Reproduction, Cambridge, 1956.
2. AGCA, Y. – LIU, J. et al.: Effect of osmotic stress on the developmental competence of germinal vesicle and metaphase II stage bovine cumulus oocyte complexes and its relevance to cryopreservation. *Mol. Reprod. Dev.*, 2000. 55. 212–219.
3. ARYA, R. – MALLIK, M. – LAKHOTIA, S. C.: Heat shock genes—integrating survival and death. *J. Biosci.*, 2007. 32. 595–610.
4. BIGGERS, J. D. Thoughts on embryo culture condition. *Reprod. Biomed. Online*, 2001. 4. 30–38.
5. BOCK I. – LOSONCZI E. – MAMO S., POLGÁR Z. – HAMOS A. – DINNYÉS A. – PRIBENSKY C.: Stress tolerance and transcriptional response in mouse embryos treated with high hydrostatic pressure to enhance cryotolerance. *Cryo Letters*, 2010. 31. 401–412.
6. BOCK, I. – RAVEH-AMIT, H. et al.: Controlled hydrostatic pressure stress downregulates the expression of ribosomal genes in pre-implantation embryos: a possible protection mechanism? *Reprod Fertil Dev.*, 2016. 28. 776–784
7. BOGLIOLO, L. – ARIU, F. et al.: High hydrostatic pressure treatment improves the quality of *in vitro* produced ovine blastocysts. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2010. 22. 202.
8. CANNON, W. B.: *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage: an account of recent researches into the function of emotional excitement*. Appleton, New York, 1915.
9. CHRISTIANS, E. S. – ZHOU, Q. et al.: Heat shock proteins in mammalian development. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 2003. 14. 283–290.
10. CSERMELY P. – SCHNAIDER T. – SÓTI CS. – PROHÁSZKA Z. – NARDAI G.: The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacol. Ther.*, 1998. 79. 129–168.
11. DILLER, K. R.: Stress protein expression kinetics. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 2006. 8. 403–424.
12. DINNYÉS A. – POLGÁR Z. – PRIBENSKY C. – PIRITY M. K.: Improved embryoid body cryopreservation and cardiomyocyte differentiation following high hydrostatic pressure treatment. *Proceedings of The 1st International Congress on Controversies in Cryopreservation of Stem Cells, Reproductive Cells, Tissue and Organs, Valencia, Spain (CometMed, Israel)*, 2010. A-7.
13. DU, Y. – LIN, L. et al.: High hydrostatic pressure improved developmental competence of porcine oocytes for handmade cloning. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2008. 20. 94–95.
14. DU, Y. – LIN, L. et al.: High hydrostatic pressure treatment of porcine oocytes before handmade cloning improves developmental competence and cryosurvival. *Cloning Stem Cells*, 2008. 10. 325–330.
15. DU, Y. – PRIBENSKY C. et al.: High hydrostatic pressure: a new way to improve *in vitro* developmental competence of porcine matured oocytes after vitrification. *Reproduction*, 2008. 135. 13–17.
16. EDWARDS, J. L. – HANSEN, P. J.: Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997. 46. 138–145.
17. EDWARDS, J. L. – KING, W. A. et al.: Responsiveness of early embryos to environmental insults: potential protective roles of HSP70 and glutathione. *Theriogenology*, 2001. 55. 209–223.
18. GARDNER, D. K.: Dissection of culture media for embryos: the most important and less important components and characteristics. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2009. 20. 9–18.
19. GARRIDO, C. – BRUNET, M. et al.: Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle*, 2006. 5. 2592–2601.
20. HAMMOND, J.: Recovery and culture of tubal mouse ova. *Nature*, 1949. 163. 28–29.
21. HANSEN, P. J.: To be or not to be—determinants of embryonic survival following heat shock. *Theriogenology*, 2007. 68. 40–48.
22. HEAPE, W.: Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster-mother. *Proc. Roy. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 1891. 48. 257–458.
23. HITE, B. H.: The effects of pressure in the preservation of milk. *W. Va. Agric. Exp. Station Bull.* 1899. 58. 15–35.
24. HÖRMANN, S. – SCHEYHING, C. et al.: Comparative proteome approach to characterize the high-pressure stress response of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM 20451(T). *Proteomics*, 2006. 6. 1878–1885.
25. HORVÁTH A. – SZENCI O. – NAGY K. – PRIBENSKY C.: Stress preconditioning of semen before cryopreservation improves fertility and increases the number of offspring born: a prospective randomised study using a porcine model. *Reprod Fertil Dev.*, 2016. 28. 475–481.
26. HUANG S. Y. – PRIBENSKY C. – KUO Y. H. – CHIU Y. F.: Hydrostatic pressure affects the protein profile of boar sperm before and after freezing-thawing. *Anim. Reprod. Sci.*, 2009. 112. 136–149.
27. ISOM, S. C. – LAI, L. et al.: Heat shock of porcine zygotes immediately after oocyte activation increases viability. *Mol. Reprod. Dev.*, 2009. 76. 548–554.
28. JU, J. C. – PARKS, J. E. – YANG, X.: Thermotolerance of IVM-derived bovine oocytes and embryos after short-term heat shock. *Mol. Reprod. Dev.*, 1999. 53. 336–340.
29. KAARNIRANTA, K. – ELO, M. et al.: Hsp70 accumulation in chondrocytic cells exposed to high continuous hydrostatic pressure coincides with mRNA stabilization rather than transcriptional activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998. 95. 2319–2324.
30. KÜLTZ, D.: DNA damage signals facilitate osmotic stress adaptation. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2005. 289. 504–505.
31. KÜLTZ, D.: Evolution of the cellular stress proteome: from monophyletic origin to ubiquitous function. *J. Exp. Biol.*, 2003. 206. 3119–3124.
32. KUO, Y. H. – PRIBENSKY C. – HUANG, S. Y.: Higher litter size is achieved by the insemination of high hydrostatic pressure-treated frozen-thawed boar semen. *Theriogenology*, 2008. 70. 1395.
33. KÚTVÖLGYI G. – HORVÁTH A. – OLÁH I. – PÁLINKÁS P. – MERÉSZ L. – MOLNÁR M. – PRIBENSKY C. – SZENCI O.: High hydrostatic pressure treatment of fresh bull semen increases the proportion of cells surviving the freezing-thawing procedure in a Hungarian Holstein Friesian bull population. *25th World Buiatrics Congress, Budapest, Hungary*. 2008. *Magy. Állatorv. Lapja* 130(SII). 217.
34. LAMMI, M. J. – ELO, M. A. et al.: High hydrostatic pressure-induced changes in cellular protein synthesis. *Biorheology*, 2004. 41. 309–313.
35. LEDDA, S. – BOGLIOLO, L. et al.: High hydrostatic pressure treatment prior to vitrification improves the re-expansion speed and

- quality of *in vitro*-produced ovine embryos. *Proceedings of The 1st International Congress on Controversies in Cryopreservation of Stem Cells, Reproductive Cells, Tissue and Organs, Valencia, Spain*, 2010.
36. LEESE, H. J.: Metabolism of the preimplantation embryo: 40 years on. *Reproduction*, 2012. 143. 417–427.
37. LEESE, H. J. – HUGENTBLER, S. A. et al.: Female reproductive tract fluids: composition, mechanism of formation and potential role in the developmental origins of health and disease. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2008. 20. 1–8.
38. LIN, L. – DU, Y. et al.: Elevated NaCl concentration improves cryotolerance and developmental competence of porcine oocytes. *Reprod. Biomed. Online*, 2009. 18. 360–366.
39. LIN, L. – KRAUGH, P. M. et al.: Osmotic stress induced by sodium chloride sucrose or trehalose improves cryotolerance and developmental competence of porcine oocytes. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2009. 21. 338–344.
40. LUFT, J. C. – DIX, D. J.: Hsp70 expression and function during embryogenesis. *Cell Stress Chaperones*, 1999. 4. 162–170.
41. MULLEN, S. F. – AGCA, Y. et al.: The effect of osmotic stress on the metaphase II spindle of human oocytes, and the relevance to cryopreservation. *Hum. Reprod.*, 2004. 19. 1148–1154.
42. NEUER, A. – SPANDORFER, S. D. et al.: The role of heat shock proteins in reproduction. *Hum. Reprod. Update*, 2000. 6. 149–159.
43. PINCUS, G.: The eggs of mammals. *Exp. Biol. Monographs*. Macmillan Co., New York, 1936.
44. POPOVIC, L. – BERG, D. K. et al.: High hydrostatic pressure treatment increases cryo-tolerance of *in vitro* produced bovine embryos. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 2013. 73. 83–85.
45. PRIBENSKY C. – DU, Y. – MOLNÁR M. – HARNOS A. – VAJTA G.: Increased stress tolerance of pig oocytes after high hydrostatic pressure treatment. *Anim. Reprod. Sci.*, 2008. 106. 200–207.
46. PRIBENSKY C. – DU Y. – MOLNÁR M. – VAJTA G.: Sublethal stress on porcine oocytes enhances the efficacy of ART procedures. *Human Reprod.*, 2008. 23. 161.
47. PRIBENSKY C. – LIN L. – DU Y. – LOSONCZI E. – DINNYÉS A. – VAJTA G.: Controlled stress improves oocyte performance – cell preconditioning in assisted reproduction. *Reprod. Domest. Anim.*, 2012. 47. 197–206.
48. PRIBENSKY C. – MÁTYÁS S. – LOSONCZI E. – STANCA C. – BOCK I. – VAJTA G.: Stress for stress tolerance: Improving cell survival by sublethal stress treatment of eggs before vitrification – pilot study. *Fertil. Steril.* 2010. 94. S32.
49. PRIBENSKY C. – MOLNÁR M. – HORVÁTH A. – HARNOS A. – SZENCI O.: Hydrostatic pressure induced increase in post-thaw motility of frozen boar spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2006. 18. 162–163.
50. PRIBENSKY, C. MOLNÁR, M. HORVÁTH A., KÚTVÖLGYI G., HARNOS A., SZENCI O., DENG G. J., LEDERER J.: Improved post-thaw motility, viability and fertility are achieved by hydrostatic pressure treated bull semen. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2007. 19. 181–182.
51. PRIBENSKY C. – MOLNÁR M. – CSEH S. – SOLT L.: Improving post-thaw survival of cryopreserved mouse blastocysts by hydrostatic pressure challenge. *Anim. Reprod. Sci.*, 2005. 87. 143–150.
52. PRIBENSKY C. – MOLNÁR M. – ULRICH P. – BARBOSA C.C. – HATAMOTO L.K. – SANTO, C.E.P.: Pressure assisted cryopreservation: a novel possibility for IVP bovine blastocyst cryopreservation. *Reprod. Dom. Anim.*, 2005. 40. 338.
53. PRIBENSKY C. – MOLNÁR M. – KÚTVÖLGYI G. – HARNOS A. – HORVÁTH A. – HÉJJA I.: Sublethal hydrostatic pressure treatment improves fresh and chilled boar semen quality *in vitro* and *in vivo*. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2009. 21. 107.
54. PRIBENSKY C., VAJTA G.: Cells under pressure: how sublethal hydrostatic pressure stress treatment increases gametes' and embryos' performance. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2011. 23. 48–55.
55. PRIBENSKY C. – VAJTA G. – MOLNÁR M. – DU Y. – LIN L. – BOLUND L. – YOVICH J.: Stress for stress tolerance? A fundamentally new approach in mammalian embryology. *Biol. Reprod.*, 2010. 83. 690–697.
56. RINGER, S. – SAINSBURY, H.: Concerning the action of salts of potash, soda, and ammonia on the frog's heart. *Med. Chir. Trans.*, 1882. 65. 191–224.
57. RITOSSA, F. A.: A new puffing pattern induced by a temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*, 1962. 18. 571–573.
58. RIVERA, R. M. – DAHLGREN, G. M. et al.: Actions of thermal stress in two-cell bovine embryos: oxygen metabolism, glutathione and ATP content, and the time-course of development. *Reproduction*, 2004. 128. 33–42.
59. SELYE, H. A.: Syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*, 1936. 138. 32–32.
60. SIQUEIRA FILHO, E. – CAIXETA, E. S. et al.: Vitrification of bovine blastocysts pretreated with sublethal hydrostatic pressure stress: evaluation of post-thaw *in vitro* development and gene expression. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2011. 23. 585–590.
61. SIQUEIRA, F. M. – SIQUEIRA, C. E. et al.: Sublethal hydrostatic pressure pre-treatment: effect in bovine embryos' gene expression. *Biol. Reprod.*, 2009. 81. 629.
62. SÓTI C. – CSERMELY P.: Protein stress and stress proteins: implications in aging and disease. *J. Biosci.*, 2007. 32. 511–515.
63. THOMPSON, J. G. – MITCHELL, M. – KIND, K. L.: Embryo culture and long-term consequences. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2007. 19. 43–52.
64. TISSIERE, A. – MITCHELL, H. K., – TRACY, U.: Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosomal puffs. *J. Mol. Biol.*, 1974. 84. 389–398.
65. TRIGAL – B., MUÑOZ, M. et al.: Cell counts and survival to vitrification of bovine *in vitro* produced blastocysts subjected to sublethal high hydrostatic pressure. *Reprod. Domest. Anim.*, 2013. 48. 200–206.
66. TSENG, J. K. – TANG, P. C. – JU, J. C.: *In vitro* thermal stress induces apoptosis and reduces development of porcine parthenotes. *Theriogenology*, 2006. 66. 1073–1082.
67. VANDAELE, L. – THYS, M. et al.: Short-term exposure to hydrogen peroxide during oocyte maturation improves bovine embryo development. *Reproduction*, 2010. 139. 505–511.
68. WELCH, T. J. – FAREWELL, A. et al.: Stress response of *Escherichia coli* to elevated hydrostatic pressure. *J. Bacteriol.*, 1993. 175. 7170–7177.
69. WEMEKAMP-KAMPHUIS, H. H. – KARATZAS, A. K. et al.: Enhanced levels of cold shock proteins in *Listeria monocytogenes* LO28 upon exposure to low temperature and high hydrostatic pressure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002. 68. 456–463.
70. WHITTEN, W.: Culture of Tubal Mouse Ova. *Nature*, 1956. 177. 96.

Közlésre érkező: 2016. június 08.

Rendelje meg 2017-ben is a megújult Magyar Állatorvosok Lapját!



Ha most előfizet, a 2016. évben megjelent cikkekből álló tematikus különszámot digitális formában ingyen kaphatja meg.

Küldje el nekünk e-mail címét az info@agrarlapok.hu-ra és írja meg, melyeket szeretné megkapni!

- | | | |
|---|--|--|
| <input type="checkbox"/> kisállat | <input type="checkbox"/> ló | <input type="checkbox"/> mikrobiológia |
| <input type="checkbox"/> kedvenc állat | <input type="checkbox"/> szarvasmarha | |
| <input type="checkbox"/> baromfi, sertés, hal | <input type="checkbox"/> parazitológia | |

www.agrarlapok.hu/elofizetes



HERMAN OTTÓ INTÉZET

„Legyünk büszkék arra,
amik voltunk, s igyekezzünk
különbek lenni annál,
amik vagyunk!”