

MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA

Hungarian Veterinary Journal
Vol. 146. No. 3. – Budapest, March 2024
Established by Prof. B. Nádaskay, 1878

Primer vesedaganat homoki boában
(pan-citokeratin immunhisztokémia)

SZARVASMARHA

Égészséges, tejelő Holstein tehének plazma- és tejleptin, -ghrelin, -irizin és -inzulin hormonszintjének vizsgálata az ellés utáni első héten

KISÁLLAT

Újdonságok az állatorvosi epilepsziában – 2023 „A tavalyi év kutatási eredményeit már ma alkalmazzuk a napi praxisban!”

HÁZI MÉH

Vairimorpha (*Nosema*) *ceranae* előfordulása Magyarországon, mézelő méhek (*Apis mellifera*) bélmikrobiom-felmérése alapján

EGZOTIKUS ÁLLAT

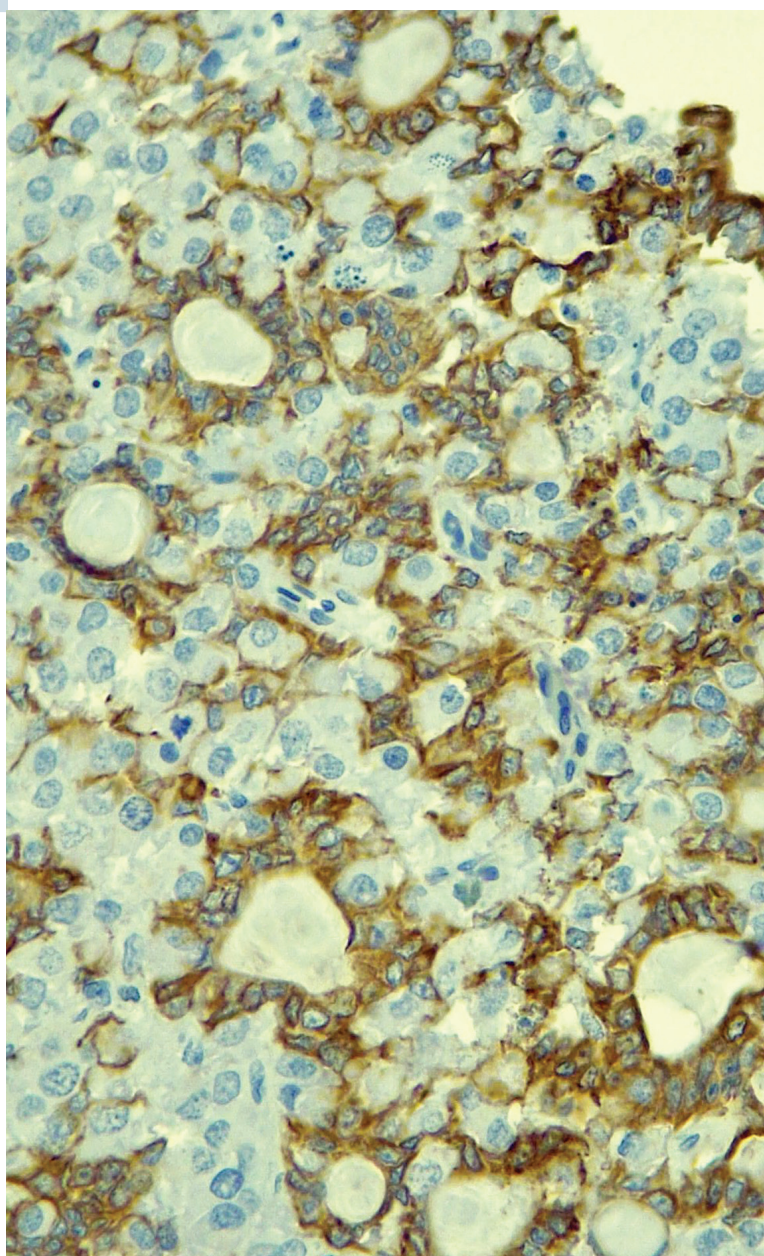
Primer vese-adenocarcinoma és *Aeromonas hydrophila* okozta heveny septicaemia tatár homoki boában (*Eryx tataricus*)

IMMUNOLÓGIA

A különböző immunológiai alapú terápiák alkalmazása a daganatok elleni küzdelemben

GYÓGYSZERTAN

Az antimikrobiális peptidek mint a fertőző betegségek elleni küzdelem új eszközei





- › VIDÉKFEJLESZTÉS
- › AGRÁRSZAKKÉPZÉS
- › TERMÉSZETMEGŐRZÉS
- › KÖRNYEZETVÉDELEM

SZARVASMARHA / BOVINE

131. H. Ergin Eğritağ, K. Varol: Egészséges, tejelő Holstein tehének plazma- és tejleptin, -ghrelin, -irisin és -inzulin hormonszintjének vizsgálata az ellés utáni első héten

H. Ergin Eğritağ, K. Varol: Investigation of plasma and milk leptin, ghrelin, irisin, and insulin hormone levels of healthy Holstein dairy cattle during the first week after calving

KISÁLLAT / SMALL ANIMALS

145. Pákozdy Á.: Újdonságok az állatorvosi epilepsziában – 2023 „A tavalyi év kutatási eredményeit már ma alkalmazzuk a napi praxisban!”

Irodalmi összefoglaló

Á. Pákozdy: News in the canine and feline epilepsy 2023
Mini review

HÁZI MÉH/HONEY BEE

149. Papp M., Békési L., Farkas R., Makrai L., Maróti G., Solymosi N.: *Vairimorpha (Nosema) ceranae* előfordulása Magyarországon, mézelő méhek (*Apis mellifera*) bélmikrobiom-felmérése alapján

M. Papp, L. Békési, R. Farkas, L. Makrai, G. Maróti, N. Solymosi: *Vairimorpha (Nosema) ceranae* from a honey bee gut microbiome survey in Hungary

EGZOTIKUS ÁLLAT / EXOTIC ANIMALS

161. Gál J., Hoitsy M., Tóth T., Marosán M., Papp A., Vincze Z., Zsiszsz Á.: Primer vese-adenocarcinoma és *Aeromonas hydrophila* okozta heveny septicaemia tatár homoki boában (*Eryx tataricus*)

J. Gál, M. Hoitsy, T. Tóth, M. Marosán, A. Papp, Z. Vincze, Á. Zsiszsz: Primary renal adenocarcinoma and *Aeromonas hydrophila* - mediated acute septicaemia in Tartar sand boa (*Eryx tataricus*)

IMMUNOLÓGIA / IMMUNOLOGY

167. Gulyás D., Földi D., Kovács G., Dénes B., Lőrincz M.: A különböző immunológiai alapú terápiák alkalmazása a daganatok elleni küzdelemben

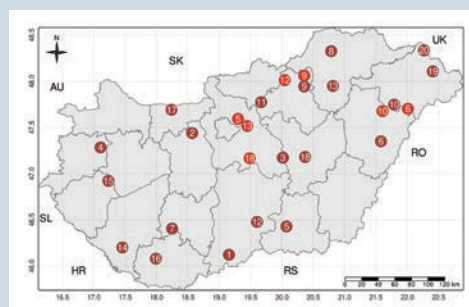
Irodalmi összefoglaló

D. Gulyás, D. Földi, G. Kovács, B. Dénes, M. Lőrincz: Utilization of various immunotherapies against cancer
Literature review

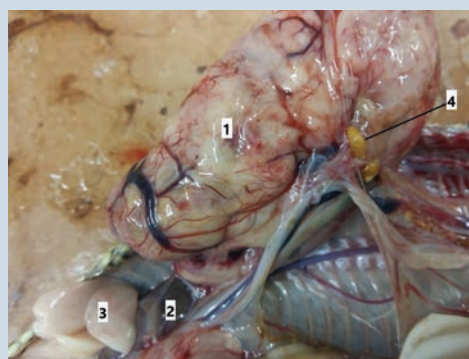
GYÓGYSZERTAN / PHARMACOLOGY

181. Sebők Cs., Márton Rege A., Mackei M., Neogrady Zs., Mátis G.: Az antimikrobiális peptidek mint a fertőző betegségek elleni küzdelem új eszközei

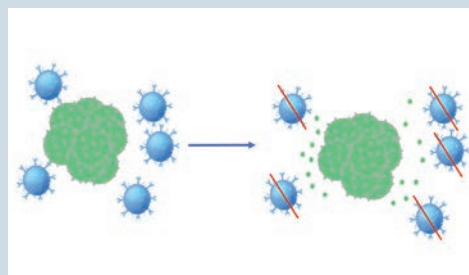
Cs. Sebők, A. Márton Rege, M. Mackei, Zs. Neogrady, G. Mátis: Antimicrobial peptides as new tools to combat infectious diseases



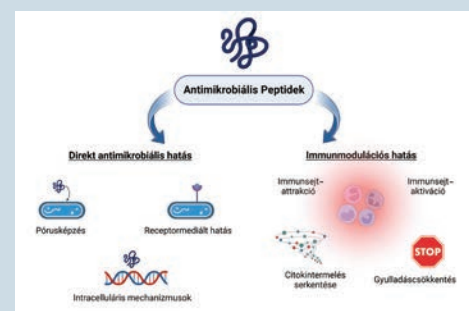
151. Országos, reprezentatív mintavétel méhészetekből



164. Vesedaganat homoki boában



170. A daganatok immunszuppresszív hatása



184. Antimikrobiális peptidek

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 szerkesztőségtől/Subscription orders to the Editorial Office (address above)

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



A gyakorlati félév bevezetése az Állatorvosi Főiskolán

A 19. század második felében az állatorvoslás elsajátításához mind több elméleti tanulmányra volt szükség. A szakma így a tudományok közé emelkedhetett, ám azzal a veszéllyel, hogy az ugyanannyira fontos gyakorlati ismeretek háttérbe szorulnak. Megoldásként a tanári kar hiába növelte meg a képzési időt, ez önmagában nem bizonyult elegendőnek. Kellott egy olyan időszak, amikor a hallgatók kizárólag leendő szakmájuk „kétkezi” teendőivel foglalkozhattak.

Miután HORTHY MIKLÓS kormányzó Budapesten, 1922. október 31-én kelt „magas elhatározása” megengedte a kilencedik félév bevezetését, intézményünk hozzájárult, hogy azt gyakorlatokkal töltsen meg. HETZEL HENRIK 1923. október 12-én mutatta be vonatkozó tervezetét. Az ebből kidolgozott szabályzat szerint a hallgatók egy hónapig húsvizsgálattal foglalkoznak valamelyik budapesti vagy vidéki vágóhídon, két hónapig pedig állatorvosi teendőket látnak el az egyik állami méneshirtokon, ménésintézetben vagy a gödöllői koronauradalomban. Bár végső soron a vezető tanártól függenek, a gyakorlat helyszínén az igazgatónak vagy kirendelt helyettesének tartoznak engedelmességgel. A közvetlen felügyeletükkel megbízott állatorvos ellenőrizheti tanulmányi haladásukat és viselkedésüket. Ha vétséget észlel, azt jelentenie kell a ménésintézet vagy a koronauradalom vezetésének, illetve a felelős főiskolai tanárnak. Ennek súlyát érezve a gyakornokoknak tilos kocsmázniuk, lármásan szórakozniuk, kötelesek tisztán tartani szállásukat, kíméletesen használni a rájuk bízott berendezési tárgyakat, eszközöket és műszereket, valamint felelősséget kell vállalniuk az általuk okozott anyagi károkért.

Később HETZEL a gyakornokokra vonatkozó fegyelmi rendtartás vázlatát is megírta. A tanári kar ezt változtatás nélkül fogadta el, HETZELT pedig – bizonyára elismerésként addigi erőfeszítéseiért – a tanfolyam vezetésével bízták meg, továbbá azzal, hogy határozza meg a saját és a képzésben résztvevő uradalmi állatorvosok fizetésének mértékét.

A földművelésügyi miniszter az 1924. március 18-án kiadott 122489/923. számú rendeletében nemcsak jóváhagyta a gyakorlati félév szabályzatát, hanem további támogatásokat is ígért: a korábbi tanévekben folyósított ösztöndíj változatlan biztosítását a kiemelkedően szorgalmas hallgatóknak, étkezési költségek megtérítését a lehetőségekhez mérten, végül vászonkabátokat és utazóbundákat. A szép kezdet után azonban a főiskolának meggyűlt a baja a minisztériummal. Először emlékeztetnie kellett ígéreteire, majd 1925 elején, az első tanfolyam után azzal szembesült, hogy a felettes szerv – pénzügyi gondokra hivatkozva – beszüntette a gyakornokok anyagi juttatását. A szenátus hatásosan ecsetelhetette a nehézségeket, mert a frissiben bevezetett szemeszter mégis megmaradt, és sikeresen épült be az állatorvosi hallgatók képzésébe.

Bozó Bence Péter

FŐSZERKESZTŐ / EDITOR-IN-CHIEF

Dr. BALKÁ Gyula

SZERKESZTŐBIZOTTSÁG / EDITORIAL BOARD

Dr. Abonyi Tamás
Dr. Balka Gyula (elnök), Dr. Bándy Pál
Dr. Bíró Ferenc, Dr. Bodó Gábor
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. Korzenszky Emőd, Dr. Laczay Péter
Dr. Magyar Tibor, 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

SZERKESZTŐSÉGI TITKÁR

Tóth Zsuzsanna

SZERKESZTŐSÉG / EDITORIAL OFFICE

H-1078 Budapest, István u. 2. Hungary
Levélcím: 1400 Budapest 7. Pf. 2.
Telefon/fax: (36-1) 341-3023
Internet: <http://www.univet.hu/mal>
E-mail: mal@univet.hu

KIADÓ / PUBLISHER

Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.
H-1223 Budapest, Park u. 2.
Telefon: (36-1) 362-8130
Telefax: (36-1) 362-8104
Internet: www.agrarlapok.hu
E-mail: info@agrarlapok.hu
Felelős kiadó: Bozzay Péter ügyvezető

HIRDETÉSEK FELVÉTELE

Telefon: (36-70) 232-4231, (36-1) 362-8130
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

Kismaros Rika

NYOMDAI KIVITELEZÉS:

Séd Nyomda, Szekszárd

INDEX: 25531

HU ISSN 0025-004X (Nyomtatott)

HU 3003-9924 ISSN (Online)

A KIADÁST TÁMOGATJA (SPONSORED BY)

Agrárminisztérium
MTA Könyv- és Folyóiratkiadó Bizottsága

LAPTULAJDONOS



KIADÓ



Investigation of plasma and milk leptin, ghrelin, irisin, and insulin hormone levels of healthy Holstein dairy cattle during the first week after calving

H. Ergin Eğritağ^{1*}
K. Varol²

1. Mehmet Akif Ersoy Eyyetem,
Állatorvostudományi Kar,
Biokémia Tanszék,
15100 Burdur, Törökország

2. Mehmet Akif Ersoy Eyyetem,
Élelmiszertudományi,
Mezőgazdasági és Állattenyésztési
Szakiskola, Állatorvostudományi
Tanszék, Burdur, Törökország

*E-mail: vh.haleergin@gmail.com

Egészséges, tejelő Holstein tehenek plazma- és tejleptin, -ghrelin, -irizin és -inzulin-hormonszintjének vizsgálata az ellés utáni első héten

Hale Ergin Eğritağ^{1*}, Kemal Varol²

ÖSSZEFOGLALÁS

A tanulmányban a szerzők hét, 3 és 6 év közötti, egészséges Holstein tehén korai laktációs időszakának első hetében leptin-, ghrelin-, irizin- és inzulinhormonszinteket vizsgálták tejsavóban és vérplazmában, valamint az energiametabolizmusban, szénhidrát- és zsírsanyagcserében részt vevő nem-észterifikált zsírsav (NEFA), béta-hidroxibutirát (BHBA), triglicerid- és glükózsztinteket vérplazmában. A vér- és tejmintákat közvetlenül ellés után (0. óra), valamint az azt követő 3. és 7. napon vették. A megállapítások szerint a plazma ghrelin-, leptin-, inzulin- és tej irizinszintjei mind különböztek statisztikailag ($p < 0,05$) a 0. óra és a 3. nap, valamint a 3. nap és a 7. nap mérései között. A 0. óra és a 3. nap, a 0. óra és a 7. nap, valamint a 3. nap és a 7. nap mérései között a plazma irizin-, mind a tejleptinértékek különböztek statisztikailag ($p < 0,05$). Emellett, amikor a tej ghrelin-, irizin-, inzulin- és a vérplazma NEFA- és glükózértékeit vizsgálták, statisztikailag szignifikáns különbséget találtak a 0. óra és a 3. nap, a 0. óra és a 7. nap adatai között ($p < 0,05$) minden paraméter esetében. Következésképp a tanulmányban megállapítást nyert, hogy a korai laktációs időszak első hetében eltérések mutatkoznak a metabolikus hormonok vérplazma- és tejszérumszintjeiben. Kimutatták, hogy a nemrégiben felfedezett irizin hormon szintje emelkedik a korai laktációs időszak első hetében ellés után.

SUMMARY

In this study, leptin, ghrelin, irisin and insulin hormone levels in milk serum and blood plasma, and non-esterified fatty acids (NEFA), beta hydroxy butyric acid (BHBA), triglyceride and glucose levels in blood plasma which are involved in energy, carbohydrate and fat metabolism were determined in the first week of the early lactation period of seven Holstein cattle aged between 3–6 years old. Blood and milk samples were taken from cattle immediately after calving (0th hour) and on 3rd and 7th postpartum days. In the findings, both plasma ghrelin, leptin, insulin, and milk irisin values were statistically different ($p < 0.05$) between 0th hour and 3rd day, between 3rd day and 7th day measurements. Both plasma irisin and milk leptin values were statistically different ($p < 0.05$) between 0th hour and 3rd day, between 0th hour and 7th day, and between 3rd day and 7th day measurements. In addition, when milk ghrelin, irisin, insulin and plasma NEFA and glucose values were examined, a statistical difference was found between 0th hour data and 3th day data, and between 0th hour data and 7th day data ($p < 0.05$) of each parameter. In conclusion, in this study, differences in blood plasma and milk serum levels of metabolic hormones were noted in the first week of the early lactation period. It has been determined that the newly discovered irisin hormone increases in the first week of the early lactation period after birth. Although, there is no statistically significant relationship, determined negative correlation between plasma irisin hormone and plasma glucose value shows that irisin hormone plays a role in energy homeostasis and is a regulator of glucose metabolism.

Az ellés körüli időszak a tejelő tehenek takarmányozásának legkritikusabb időszaka, amely a vemhesség utolsó három hetét és a laktáció utáni első három hetet foglalja magába [1–3]. A tápanyagszükséglet ellés előtti csökkenése a tehenek takarmányfogyasztásának csökkenését eredményezi a borjú nagy testtömege miatt. Az ellés után beinduló kolosztrum- és tejelválasztás viszont növeli a tápanyagszükségletet. A tejelő teheneknek a testzsír mobilizációjára van szükségük, hogy a csökkent anyagcsere melletti növekvő tápanyagigényüket kompenzálva kielégítsék általános energiaszükségletüket. A testben tárolt zsírok NEFA (non esterified fatty acids), azaz nem-észterifikált zsírsav formájában kerülnek a véráramba [1, 4, 5].

Az ellés körüli időszak alatt a tehén élettani funkciói közül a legkritikusabb változások a lipidanyagcserében láthatók. Különösen a laktáció korai időszakában megfigyelt változások egyike a zsírszövetből történő zsírmobilizáció [6]. A zsírszövet szerepet játszik a neuroendokrin, autonóm idegrendszeri és immunfunkciók szabályozásában, emellett aktív az energiaegyensúly fenntartásában is. A zsírszövet továbbá adipokineket szintetizál és választ ki, pl. leptint, irizint, adiponektint és rezisztint [7].

A *leptin* a hipotalamuszra hatva csökkenti az étvágyat és fokozza az energiatermelést. Emellett felelős a testzsír mennyiségének szabályozásáért [8, 9]. Az *irizin* fokozza az energifelhasználást azáltal, hogy a fehér zsírszövetet barna zsírszövetté alakítja. Ezáltal szabályozza a glükózhomeosztázist [10]. A *ghrelin* egy az energia- és zsíryanagcserében szerepet játszó hormon. A szervezet éhséghormonjának is nevezik. Az inzulin szintén olyan hormon, amely részt vesz az energiaanyagcserében, fontos a szénhidrátok és zsíryanagcsere szabályozásában. Stimulálja a sejteket a glükóz felvételére a vérből a normális glükózsint fenntartása érdekében [11].

Mikuła és mtsai arról számoltak be, hogy a ghrelin-, leptin- és BHBA-értékek növekedtek, míg az inzulin-, NEFA-, glükóz- és triglicerid-szintek csökkentek ellés után 21 nappal [12]. Másfelől VARGOVÁ és mtsai leírták, hogy a ghrelin, NEFA és BHBA koncentrációi növekedtek, míg a leptin-, inzulin- és glükózértékek csökkentek a születés után 21 nappal [13]. NOWROOZI-ASL és mtsai kimutatták, hogy a ghrelin-, NEFA- és BHBA-szintek növekedtek, míg a leptin-, inzulin-, triglicerid- és glükózsintek csökkentek az ellés után 21 nappal [14].

Amint látható, a ghrelin, leptin, irizin és inzulin rendkívül fontos hormonok, amelyek részt vesznek a szervezet energia-, szénhidrát- és zsíryanagcseréjében [11], legfőképpen a korai laktációs időszak első heteiben, amely alatt fontos tápanyagok, mint pl. a glükóz, zsírsavak és ásványi anyagok esetében komoly változások következnek be [12–14, 17]. Ezeknek a hormonoknak tökéletesen kell működniük ahhoz, hogy a tehenek fenntarthassák

The transition period is the most difficult period in the feeding of dairy cows. The period is the process that includes the last three weeks of pregnancy and the first three weeks following lactation [1–3]. Decreased need for nutrients before birth leads to a decrease in feed consumption due to the calf's large volume coverage. The onset of colostrum and milk secretion after birth also causes an increase in the need for nutrients. Dairy cattle require mobilization of body fat in order to meet their general energy to compensate reduced metabolism, along with increasing nutritional needs. Fats that are stored in the body are added to the blood circulation in the form of NEFA [1, 4, 5].

During the transition period, the most critical biological problems in cows are seen in lipid metabolism. Especially in the early lactation period, one of the changes observed in lipid metabolism is the mobilization of fat from adipose tissue [6]. Adipose tissue is a type of loose connective tissue and plays a role in the control of neuroendocrine, autonomic and immune functions. It also takes an active role in energy balance. In addition, adipose tissue synthesizes and secretes adipokines such as leptin, irisin, adiponectin, and resistin [7].

Leptin decreases appetite and increases energy consumption by affecting the hypothalamus. It is also responsible for controlling and regulating the amount of body fat [8, 9]. Irisin provides energy expenditure by converting white adipose tissue cells into brown adipose tissue cells. In this way, it regulates glucose homeostasis [10]. Ghrelin is a hormone involved in energy and fat metabolism. It is known as the hormone that increases appetite in the organism. Insulin is another hormone involved in energy metabolism. It is important for the regulation of carbohydrates and fat metabolism. It also stimulates tissues to glucose uptake (sugar) from the blood to maintain normal levels of glucose [11].

Mikuła et al. [12]. reported that ghrelin, leptin and BHBA values increased, while insulin, NEFA, glucose and triglyceride values decreased in cattle 21 days after birth. On the other hand, VARGOVÁ et al. [13] stated that ghrelin, NEFA and BHBA concentrations increased and the concentration of leptin, insulin and glucose values decreased in cattle 21 days after birth. Furthermore, NOWROOZI-ASL et al. [14] reported that ghrelin NEFA and BHBA levels increased and leptin, insulin triglyceride and glucose levels decreased in cattle 21 days after birth.

As can be seen, ghrelin, leptin, irisin and insulin are extremely important hormones that take part in the energy, carbohydrate and fat metabolism of the organism [11]. These hormones play an important role in the first weeks of the early lactation period, which includes changes in important nutrients such as glucose, fatty acids and minerals [12, 13, 14, 17]. These hormones need to function perfectly in order for cattle to maintain maximum milk

a maximális tejhozamot, megelőzzék az anyagcsere zavarkokat, és az állatok egészségesen jussanak túl ezen az időszakon [12, 15, 16, 18].

Ebben a tanulmányban a tehenek korai laktációs időszakának első hetében meghatároztuk a tejsavóban és a vérplazmában a leptin, ghrelin, irizin és inzulin hormonok szintjeit, és összehasonlítottuk ezeknek a hormonoknak a tejsavó- és plazmaszintjei közötti kapcsolatot. Emellett ezekkel a hormonokkal együtt vizsgáltuk a NEFA-, BHBA-, triglicerid- és glükózsintek változásait is.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

ETIKAI NYILATKOZAT

A tanulmány a Mehmet Akif Ersoy Egyetem Állatkísérletek Helyi Etikai Bizottságának (MAKÜ HADYEK) engedélyével készült (Engedély száma: 2022/99-876).

KÍSÉRLETI ELRENDEZÉS

A tanulmányban hét olyan, 3–6 év közötti Holstein tehenet használtunk, amelyek már ellettek legalább egyszer. A tehenek MISRA és mtsai szerinti testkondíciós pontszáma 3–3,5 között volt [19]. Ellés után a tehenek takarmányozása koncentrált takarmánnyal (20% nyersfehérje, metabolizálható energiatartalom 2400 kcal/kg), kukoricaszilázs, almahús, céklahús és búzaszalma keverékével történt.

A vér- és tejmintákat közvetlenül az ellés után (0. óra), majd a 3. és 7. napon vettük a tehenekből. Két ml-es vérmintákat vettünk a vena jugularis szúrásával K3 EDTA csövekbe (Vacutainer). Ezután a vérmintákat 1734 xg-n centrifugáltuk 15 percig, a kinyert plazmát Eppendorf-csővekbe (Vacutainer) gyűjtöttük és az elemzésig -20 °C-on tároltuk. A tejmintákat 10 ml-es Falcon-csővekbe vettük, amiket fejfelé helyeztünk a centrifugába, majd a felhalmozódott tejzsír miatt 1734 xg-n centrifugáltunk 20 percig. Ezután a Falcon-csővek kupakját kinyitottuk, a felső részben fennmaradó tejsavót Eppendorf-csővekbe tettük és az elemzésig -20 °C-on tároltuk. Az elemzések kezdetekor a leptin (BT-Lab / Cat No: EA0007Bo/Kína, intraassay CV = 3,2%), ghrelin (BT-Lab / Cat No: E0262Bo/Kína, intraassay CV = 5,00%), irizin (BT-Lab / Cat No: E2318Bo/Kína, intraassay CV = 11,62%), és inzulin (BT-Lab / Cat No: E0015Bo/Kína, intraassay CV = 8,02%) hormonszinteket gyári ELISA-kitekkkel határoztuk meg. A NEFA-, BHBA-, triglicerid- és glükózsinteket egy autonalaizátor (Randox RX Monaco, USA) segítségével kaptuk meg.

STATISZTIKAI ELEMZÉS

Az eredményeket az IBM SPSS 26.0 Windows szoftverrel értékeltük ki. Az adatok normális eloszlását Shapiro-Wilk-teszt alkalmazásával bíráltuk el. Megállapítottuk, hogy az adatok minden csoportban normális eloszlá-

yield, to be protected from metabolic diseases and get through this period without any problems [12, 15, 16, 18]. Therefore, in this study, leptin, ghrelin, irisin and insulin hormone levels in the milk serum and blood plasma of cattle in the first week of the early lactation period were determined and the relationship between milk serum and plasma levels of these hormones were compared. In addition, changes in NEFA, BHBA, triglyceride and glucose levels were also investigated along with these hormones.

MATERIAL AND METHODS

ETHICAL STATEMENT

This study was conducted after obtaining approval from the Mehmet Akif Ersoy University Animal Experiments Local Ethics Committee (MAKÜ HADYEK) (Approval no: 2022/99-876)

STUDY DESIGN

In this study, seven Holstein cattle aged between 3–6 years, which had given birth at least once, were used. The body condition score in the cattle varied between 3–3.5 according to MISRA et al. [19]. After calving, cattle were fed with concentrated feed (20 % crude protein, metabolizable energy value 2400 kcal/kg) corn silage, apple pulp, beet pulp and wheat straw.

Blood and milk samples were taken from cattle immediately after birth (0th hour) and on the 3rd and 7th postpartum days. Two milliliter (ml) blood samples were taken from the vena jugularis of the animals into K3 EDTA containing tubes (vacutainer tubes). Afterwards, blood samples were centrifuged at 1734 xG for 15 minutes and obtained plasma were collected into Eppendorf tubes (vacutainer tubes) and stored at -20°C until analysis. Milk samples were taken into 10 ml Falcon tubes and were placed in the centrifuge upside down and centrifuged at 1734 xg for 20 minutes due to the accumulation milk fat at the top. Then, the cap of the falcon tube was opened and the remaining serum in the upper part was taken to the Eppendorf tubes and stored at -20°C until analysis. When the analyzes started; leptin (BT-Lab / Cat No: EA0007Bo/China, intraassay CV = 3.2%), ghrelin (BT-Lab / Cat No: E0262Bo/China, intraassay CV = 5.00%), irisin (BT-Lab / Cat No: E2318Bo/China, intraassay CV = 11.62%), and insulin (BT-Lab / Cat No: E0015Bo/China, intraassay CV = 8.02%) hormone levels were determined with commercial elisa test kits. NEFA, BHBA, triglyceride and glucose levels were determined by an autoanalyzer (Randox RX Monaco / USA) device.

STATISTICAL ANALYSIS

The findings were evaluated using the IBM SPSS 26.0 for Windows package program. Shapiro-Wilk test was used

súak voltak, ezért a mérések közötti összehasonlításokat egyutas ismétlődő ANOVA-mérésekkel végeztük, és Bonferroni-korrigált többszörös összehasonlító tesztet (post-hoc teszt) alkalmaztunk. A változók közötti kapcsolatot Pearson-korrelációs elemzéssel határoztuk meg.

EREDMÉNYEK

Jelen tanulmány különböző időszakaiban meghatározott plazma és tej ghrelin-, leptin-, irizin-, inzulin-, valamint a plazma BHBA-, NEFA-, triglicerid- és glükózkonzentrációkat az 1. táblázatban ismertetjük.

A plazmában mért ghrelin-, leptin- és inzulinértékek összehasonlításakor valamennyi esetben a 0. óra és a 7. nap között, valamint a 3. és 7. nap között statisztikai különbségeket találtunk ($p < 0,05$). A plazma-irizin-ér-

to determine whether the data were normally distributed. It was determined that the data were normally distributed in all groups. Therefore, comparisons between measurements were determined using one-way repeated measure ANOVA test, and Bonferroni-corrected multiple comparison tests (post-hoc test) were used. Pearson Correlation analysis was used to determine the relationship between variables.

RESULTS

Plasma ghrelin, leptin, irisin, insulin, BHBA, NEFA, triglyceride and glucose concentrations and milk ghrelin, leptin, irisin, insulin concentrations determined in the present study at different periods are given in Table 1.

1. TÁBLÁZAT. A plazma ghrelin-, leptin-, irizin-, inzulin-, NEFA-, BHBA-, triglicerid-, glükóz- és a tej ghrelin-, leptin-, irizin- és inzulinértékei 0. óránál és 3. és 7. napon

TABLE 1. The analysis findings of plasma ghrelin, leptin, irisin, insulin, NEFA, BHBA, triglyceride, glucose and milk ghrelin, leptin, irisin and insulin values at 0th hour and on 3rd and 7th days

Paraméterek	Mérési idők		
	Ellés után (0. óra) (n = 7) $\bar{x} \pm sd$	3. nap (n = 7) $\bar{x} \pm sd$	7. nap (n = 7) $\bar{x} \pm sd$
Ghrelin (plazma) (ng/L)	220,17 $\pm$ 38,89 ^a	290,00 $\pm$ 62,24 ^b	180,74 $\pm$ 44,94 ^a
Ghrelin (tej) (ng/L)	90,20 $\pm$ 39,60 ^a	444,36 $\pm$ 35,05 ^b	455,25 $\pm$ 64,29 ^b
Leptin (plazma) (ng/mL)	2,19 $\pm$ 0,41 ^a	1,49 $\pm$ 0,38 ^b	1,96 $\pm$ 0,51 ^a
Leptin (tej) (ng/mL)	0,37 $\pm$ 0,28 ^a	3,67 $\pm$ 1,25 ^b	4,81 $\pm$ 1,16 ^c
Iriszin (plazma) (ng/mL)	3,98 $\pm$ 1,65 ^a	6,43 $\pm$ 2,81 ^b	11,93 $\pm$ 4,17 ^c
Iriszin (tej) (ng/mL)	1,72 $\pm$ 0,07 ^a	3,76 $\pm$ 0,84 ^b	2,62 $\pm$ 0,47 ^b
Inzulin (plazma) (μ I/U/L)	4,14 $\pm$ 1,03 ^a	3,42 $\pm$ 1,08 ^b	4,34 $\pm$ 0,88 ^a
Inzulin (tej) (μ I/U/L)	1,32 $\pm$ 0,98 ^a	4,94 $\pm$ 1,42 ^b	5,16 $\pm$ 0,87 ^b
BHBA (plazma) (mmol/L)	0,54 $\pm$ 0,09 ^a	0,60 $\pm$ 0,10 ^a	0,52 $\pm$ 0,11 ^a
NEFA (plazma) (mmol/L)	1,02 $\pm$ 0,16 ^a	0,64 $\pm$ 0,23 ^b	0,52 $\pm$ 0,23 ^b
Triglicerid (plazma) (mg/dL)	5,57 $\pm$ 2,26 ^a	4,68 $\pm$ 2,69 ^a	5,28 $\pm$ 2,77 ^a
Glükóz (plazma) (mg/dL)	88,71 $\pm$ 21,59 ^a	60,23 $\pm$ 11,89 ^b	51,87 $\pm$ 14,22 ^b

^{a,b,c} Az egyes sorokon belül a különböző felső indexekkel ellátott értékek szignifikánsan különböznek egymástól $p < 0,05$ szinten

BHBA: béta-hidroxibutirát; NEFA: nem-észterifikált zsírsav

* Statistically significant correlation is found; ** Statistically significant correlation is found.

BHBA: beta hydroxy butyric acid; NEFA: non-esterified fatty acids.

tékek összehasonlításakor a 0. óra és a 7. nap között, valamint a 3. és 7. nap között találtunk szignifikáns különbségeket ($p < 0,05$). A plazmában mért NEFA-értékek és glükózértékek összehasonlításánál a 0. óra és a 3. nap, valamint a 0. óra és a 7. nap között statisztikailag szignifikáns különbségeket találtunk ($p < 0,05$).

In the plasma ghrelin values comparisons statistical differences ($p < 0.05$) were found between the measurements made on the 0th hour and the 3rd day and between 3rd day and 7th day. Similarly, when plasma leptin values were compared statistical differences ($p < 0.05$) were also found between the measurements made on the

A tejben mért ghrelin- és leptinértékek összehasonlításakor a 0. óra és a 7. nap, valamint a 3. és 7. nap között, míg a tej irizin- és inzulinértékeinek összehasonlításakor a 0. óra és a 3. nap, valamint a 0. óra és a 7. nap között találtunk szignifikáns különbségeket ($p < 0,05$) (1. táblázat), (Ábra A, B, C, D).

A plazma BHBA- és a trigliceridértékei esetében nem találtunk statisztikai különbséget ($p < 0,05$) (1. táblázat), (Ábra E, F).

A 2. táblázatban minden mérési időpont a plazma ghrelin-, leptin-, irizin-, inzulin-, NEFA-, BHBA-, triglicerid-, glükóz- és a tej ghrelin-, leptin-, irizin- és inzulinértékeinek korrelációs elemzése látható.

A korrelációs eredmények szerint mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt állapítottunk meg a plazmaghrelin és a -leptin értékek között ($r = -0,520$; $p = 0,016$). A tej ghrelin és a plazma leptin értékei között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk meg ($r = -0,495$; $p = 0,023$). A tejghrelin és -leptin értékek között erősen szignifikáns pozitív korrelációt tapasztaltunk ($r = 0,871$; $p < 0,001$). A tejghrelin és a plazma irizin értékek között mérsékelten szignifikáns pozitív korrelációt tapasztaltunk ($r = 0,484$; $p = 0,026$). A tejghrelin és -irizin értékek között mérsékelten szignifikáns pozitív korrelációt láttunk ($r = 0,652$; $p = 0,001$). A tej ghrelin- és inzulinértékei között erősen szignifikáns pozitív korrelációt ($r = 0,871$; $p < 0,001$), míg a tej ghrelin és a plazma NEFA-értékei között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt tapasztaltunk ($r = -0,691$; $p = 0,001$). A tej ghrelin- és irizinértékei között mérsékelten szignifikáns pozitív korrelációt állapítottunk meg ($r = 0,652$; $p = 0,001$), míg a tej ghrelin- és inzulinértékei között erősen szignifikáns pozitív korrelációt volt megfigyelhető ($r = 0,871$; $p < 0,001$). A tejghrelin- és a plazma-NEFA-értékek között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt láttunk ($r = -0,691$; $p = 0,001$). Továbbá a tejben mért ghrelin- és a plazma-NEFA-értékek között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt állapítottunk meg ($r = -0,672$; $p = 0,001$). A tej leptin- és a plazma irizinértékei között mérsékelten szignifikáns pozitív korrelációt láttunk ($r = 0,605$; $p = 0,004$). A tejeleptin- és -inzulin-értékek között erősen szignifikáns pozitív korreláció volt azonosítható ($r = 0,862$; $p < 0,001$). A tej leptin és a plazma NEFA-értékei között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt találtunk ($r = -0,542$; $p = 0,011$). Ezen kívül a tej leptin- és a plazma NEFA-értékei között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk meg ($r = -0,632$; $p = 0,002$). A plazma irizin- és a tej inzulin-értékei között mérsékelten szignifikáns pozitív korreláció mutatkozott ($r = 0,477$; $p = 0,029$). A plazma irizin- és BHBA-értékei között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt ($r = -0,529$; $p = 0,014$), míg a tej irizin- és inzulin-értékei között ($r = 0,571$; $p = 0,007$) mérsékelten szignifikáns pozitív korrelációt találtunk. A tejirizin- és a

0th hour and the 3rd day and between 3rd day and 7th day. Furthermore, in the plasma insulin values comparisons statistical differences ($p < 0.05$) were found between the measurements made on the 0th hour and the 3rd day and between 3rd day and 7th day. When plasma irisin values were compared; statistical differences ($p < 0.05$) were found between the measurements made on the 0th hour and the 7th day and between 3rd day and 7th day. In the plasma NEFA values comparisons statistical differences ($p < 0.05$) were found between the measurements made on the 0th hour and the 3rd day and between 0th hour and 7th day. Similarly, when plasma glucose values were compared statistical differences ($p < 0.05$) were found between the the measurements made on the 0th hour and the 3rd day and between 0th hour and 7th day.

In the milk ghrelin values comparisons statistical differences ($p < 0.05$) were found between the measurements made on the 0th hour and the 3rd day and between 0th hour and 7th day. When milk leptin values were compared statistical differences ($p < 0.05$) were also found between the measurements made on the 0th hour and the 7th day and between 3rd day and 7th day. Furthermore, when milk irisin values were compared statistical differences ($p < 0.05$) were also found between the measurements made on the 0th hour and the 3rd day and between 0th hour and 7th day. In addition, in the milk insulin values comparisons statistical differences ($p < 0.05$) were found between the measurements made on the 0th hour and the 3rd day and between 0th hour and 7th day (Table 1), (Figure A, B, C, D). On the other hand, no statistical differences ($p > 0.05$) were found in the BHBA and triglyceride values (Table 1), (Figure E, F).

The correlation analysis of all measurement times of plasma ghrelin, leptin, irisin, insulin, NEFA, BHBA, triglyceride, glucose and milk ghrelin, leptin, irisin and insulin values are given in Table 2.

In correlation findings, a moderately significant negative correlation were found between plasma ghrelin and plasma leptin values ($r = -0.520$; $p = 0.016$). A moderately significant negative correlation were found between milk ghrelin and plasma leptin values ($r = -0.495$; $p = 0.023$). A highly significant positive correlation were found between milk ghrelin and leptin values ($r = 0.871$; $p < 0.001$). A moderately significant positive correlation were found between milk ghrelin and plasma irisin values ($r = 0.484$; $p = 0.026$). A moderately significant positive correlation were found between milk ghrelin and irisin values ($r = 0.652$; $p = 0.001$). A highly significant positive correlation were found between milk ghrelin and insulin values ($r = 0.871$; $p < 0.001$). A moderately significant negative correlation were found between milk ghrelin and plasma NEFA values ($r = -0.691$; $p = 0.001$). A moderately significant negative correlation were found between milk ghrelin and plasma NEFA values ($r = -0.672$;

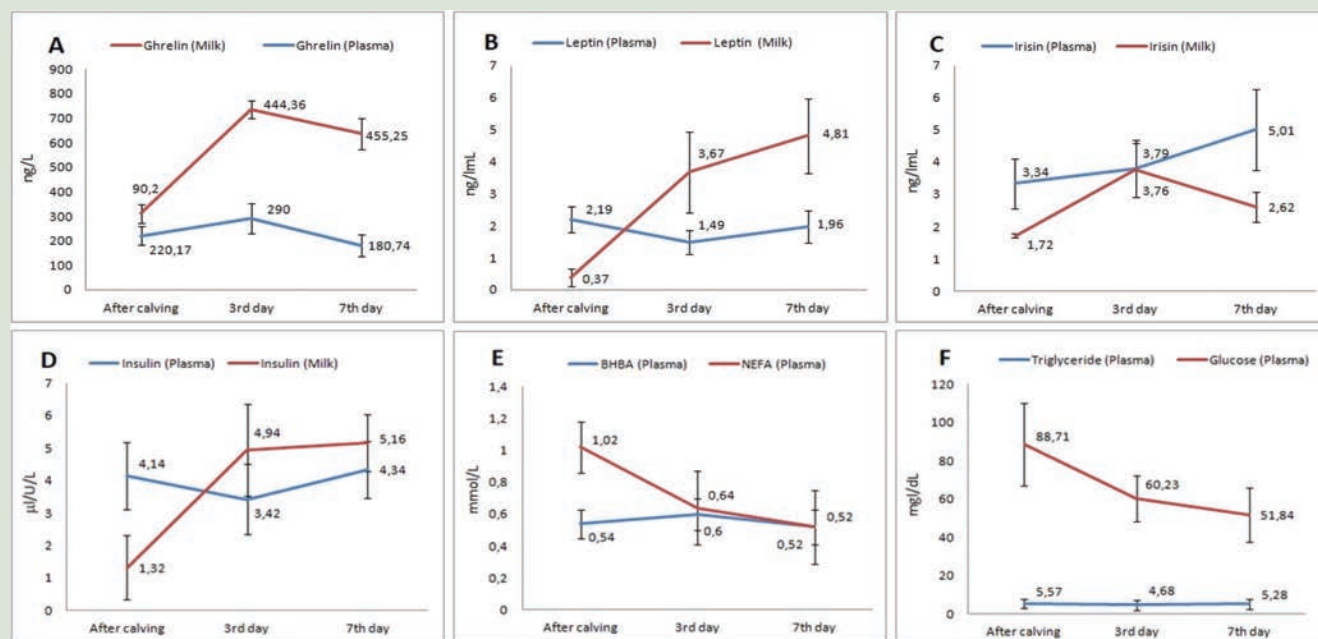
2. TÁBLÁZAT. A feltárt korrelációk a vérplazma ghrelin-, leptin-, irizin-, inzulin-, NEFA-, BHBA-, triglicerid-, glükóz- és a tej ghrelin-, leptin-, irizin- és inzulinértékei között

TABLE 2. The correlation findings of plasma ghrelin, leptin, irisin, insulin, NEFA, BHBA, triglyceride, glucose and milk ghrelin, leptin, irisin and insulin values

Változók		Ghrelin (plazma)	Ghrelin (tej)	Leptin (plazma)	Leptin (tej)	Irizin (plazma)	Irizin (tej)	Inzulin (plazma)	Inzulin (tej)	BHBA (plazma)	NEFA (plazma)	Triglicerid (plazma)	Glükóz (plazma)
Ghrelin (plazma)	Pearson-korreláció	1	0,109	-0,520*	0,009	-0,300	0,336	0,114	0,130	0,255	-0,053	-0,102	-0,013
Ghrelin (tej)	Pearson-korreláció	0,109	1	-0,495*	0,871**	0,477*	0,652**	-0,155	0,833**	0,042	-0,691**	-0,133	-0,672**
Leptin (plazma)	Pearson-korreláció	-0,520*	-0,495*	1	-0,347	-0,259	-0,457*	-0,031	-0,301	0,089	0,299	0,086	0,117
Leptin (tej)	Pearson-korreláció	0,009	0,871**	-0,347	1	0,604**	0,414	0,148	0,862**	-0,161	-0,542*	-0,042	-0,632**
Irizin (plazma)	Pearson-korreláció	-0,300	0,477*	-0,259	0,604**	1	-0,037	0,003	0,451*	-0,557*	-0,298	0,279	-0,299
Irizin (tej)	Pearson-korreláció	0,336	0,652**	-0,457*	0,414	-0,037	1	-0,243	0,571**	0,165	-0,417	-0,107	-0,457*
Inzulin (plazma)	Pearson-korreláció	0,114	-0,155	-0,031	0,148	0,003	-0,243	1	0,137	-0,283	0,163	-0,012	0,173
Inzulin (tej)	Pearson-korreláció	0,130	0,833**	-0,301	0,862**	0,451*	0,571**	0,137	1	-0,086	-0,557**	-0,170	-0,634**
BHBA (plazma)	Pearson-korreláció	0,255	0,042	0,089	-0,161	-0,557*	0,165	-0,283	-0,086	1	-0,126	-0,404	0,026
NEFA (plazma)	Pearson-korreláció	-0,053	-0,691**	0,299	-0,542*	-0,298	-0,417	0,163	-0,557**	-0,126	1	0,201	0,777**
Triglicerid (plazma)	Pearson-korreláció	-0,102	-0,133	0,086	-0,042	0,279	-0,107	-0,012	-0,170	-0,404	0,201	1	0,176
Glükóz (plazma)	Pearson-korreláció	-0,013	-0,672**	0,117	-0,632**	-0,299	-0,457*	0,173	-0,634**	0,026	0,777**	0,176	1

* Statistkailag szignifikáns korreláció ** Statistkailag szignifikáns korreláció BHBA: béta-hidroxibutirát; NEFA: nem-észterifikált zsírsav

* Statistically significant correlation ** Statistically significant correlation BHBA: beta hydroxy butyric acid; NEFA: non-esterified fatty acids.



ÁBRA. A plazma ghrelin- (A), leptin- (B), irizin- (C), inzulin- (D), NEFA- (E), BHBA- (E), triglicerid-(F), glükóz- (F) és a tej ghrelin- (A), leptin- (B), irizin- (C) és inzulin- (D) szintjei az ellést követő 0. órában és a 3. és 7. napon
BHBA: béta-hidroxibutirát; NEFA: nem-észterifikált zsírsav

FIGURE. Levels of plasma ghrelin (A), leptin (B), irisin (C), insulin (D), NEFA (E), BHBA (E), triglyceride (F), glucose (F) and milk ghrelin (A), leptin (B), irisin (C) and insulin (D) at 0 h and on 3rd and 7th days
BHBA: beta hydroxy butyric acid; NEFA: non-esterified fatty acids

plazmaglükóz-értékek között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt ($r = -0,457$; $p = 0,037$), A tejinzulin- és plazma-NEFA-értékek között mérsékelten szignifikáns negatív korrelációt állapítottunk meg ($r = -0,557$; $p = 0,009$). A tejinzulin- és a plazmaglükózértékek között mérsékelten szignifikáns negatív korreláció ($r = -0,634$; $p = 0,002$), a plazma NEFA- és glükózértékei között erősen szignifikáns pozitív korreláció mutatkozott ($r = 0,777$ $p < 0,001$).

MEGVITATÁS

A korai laktációs időszak alatt különösen fontos a tejelő tehenek tápanyagigényének kielégítése. Amennyiben ez nem következik be, a növekvő energiaigény mellett a testzsír mobilizációja megy végbe. A zsírok mobilizációjának következtében megnő a NEFA- és BHBA-szint, és romlik a testkondíciós pontszám. Konkrétan az anyagcsere által nehezen pótolható az energiahány és jelentkezni kezdenek a Negatív Energiamérleg (negative energy balance, NEB) hatásai [1, 20, 21]. Ezekkel az információkkal párhuzamban azonban a jelen tanulmányba bevont állatoknál nem alakult ki negatív energiameérleg. Ezenfelül a jelen tanulmányban a trigliceridértékekben sem tapasztaltunk statisztikailag szignifikáns változásokat az ellés körüli időszakban (1. táblázat).

A leptin főként a fehér zsírszövetből választódik ki. Azonban közismert, hogy leptint választ ki a barna zsírszövet, a placenta, a vázizom, a gyomor, az emlőmirigyhám, és az idegszövet is. A leptin gátolja az inzulin kiválasztását azáltal, hogy közvetlenül a hasnyálmirigy béta-sejtjeiben a leptinreceptorokra hat. Inzulinantagonistaként korlátozza a zsírsejtek lipogenezisét, csökkenti a szérumban a glükóz- és az inzulinszintet. Az anyagcsere sebességét és a fizikai aktivitást is fokozza. Éhség esetén a leptinszint csökken. A zsírmobilizáció eredményeként a zsírszövet tömege csökken, amelynek következtében a leptinszint is csökken [22]. Bár ghrelin a test legtöbb szövetében termelődik, a kérődzők oltógyomra is termeli azt [23, 24]. A ghrelin hormon hatása ellentétes a leptinével [25]. A ghrelin endokrin és parakrin módon is képes szabályozni a hasnyálmirigyszigetek működését. Itoh és mtsai kimutatták, hogy a ghrelin-injekció növelte a szoptató tehenek plazmaglükóz-koncentrációját, miközben a monogasztrikus borjaknál hyperglukaemiás válasz lépett fel [26]. Emellett jelentős, átmeneti emelkedést figyeltek meg a szoptató tehenek inzulin- és glukagonszintjében.

TEMIZEL és mtsai szerint birkáknál a ghrelin- és leptinkoncentrációk csökkentek az ellés utáni 3. napon, ellenben emelkedtek a 7. napon, ami nem haladta meg az ellés után mért értéket [15]. Ugyanezen tanulmányban arról is beszámoltak, hogy a NEFA-koncentráció nőtt az ellést követő 3. napon, majd ismét csökkent a

$p = 0,001$). A moderately significant positive correlation were found between milk leptin and plasma irisin values ($r = 0.605$; $p = 0.004$). A highly significant positive correlation were found between milk leptin and insulin values ($r = 0.862$ $p < 0.001$). A moderately significant negative correlation were found between milk leptin and plasma NEFA values ($r = -0.542$; $p = 0.011$). A moderately significant negative correlation were found between milk leptin and plasma NEFA values ($r = -0.632$; $p = 0.002$). A moderately significant positive correlation were found between plasma irisin and milk insulin values ($r = 0.477$; $p = 0.029$). A moderately significant negative correlation were found between plasma irisin and BHBA values ($r = -0.529$; $p = 0.014$). A moderately significant positive correlation were found between milk irisin and insulin values ($r = 0.571$; $p = 0.007$). A moderately significant negative correlation were found between milk irisin and plasma glucose values ($r = -0.457$; $p = 0.037$). A moderately significant negative correlation were found between milk insulin and plasma NEFA values ($r = -0.557$; $p = 0.009$). A moderately significant negative correlation were found between milk insulin and plasma glucose values ($r = -0.634$; $p = 0.002$). A highly significant positive correlation were found between plasma NEFA and glucose values ($r = 0.777$ $p < 0.001$).

DISCUSSION

In the early lactation period, it is extremely important to meet the nutritional needs of dairy cows. Otherwise, the mobilization of body fat takes place with the increasing energy need. As a result of mobilization of fats, there is an increase in the levels of NEFA and BHBA, and a decrease in body condition scores. In particular, metabolism has difficulty in closing the energy gap, and the effects of Negative Energy Balance (NEB) begin to emerge [1,20,21]. In parallel with these information, no negative energy balance was formed in the animals included in the present study. In addition no statistically significant changes were observed in the triglyceride values during the transition period (Table 1) in the present study.

Leptin is mainly secreted from white adipose tissue. However, it is known that leptin is also secreted by brown adipose tissue, placenta, skeletal muscle, stomach, mammary epithelium and brain tissue. Leptin inhibits insulin secretion by directly affecting the leptin receptor in pancreatic beta-cells. It acts as an insulin antagonist and restricts lipogenesis in fat cells. It reduces serum glucose and insulin levels. It also increases metabolic rate and physical activity. Leptin levels decrease in hunger. Reduction of adipose tissue mass as a result of lipid mobilization decreases leptin level [22]. Although ghrelin is produced in most tissues of the body, it is also produced in the abomasum of ruminants [23, 24].

7. napon a 3. naphoz képest. Emellett azt is kimutatták, hogy a triglicerid-koncentráció drámaian csökkent az ellést követő 3. és 7. napon. A tanulmányunk ezzel összhangban a szarvasmarha plazmaghrelin-koncentrációja növekedett a 3. napon, majd csökkent a 7. napon. A plazmaleptin-szintek csökkentek a 3. napon és nőttek a 7. napon. Emellett megállapítottuk, hogy a plazma glükózértéke csökkent a 3. és 7. napon (ábra A, B, F). Az is megállapítást nyert, hogy bár voltak eltérések a mért inzulinértékek között, ezek nem voltak statisztikailag szignifikánsak.

Az ellés körüli időszakban a tehenek energiadeficite a plazma leptinszintjének csökkenéséhez vezet. Ez a csökkenés a takarmánybevitel gyorsabb növekedését okozza. A csökkent plazmaleptin-koncentráció a tejelő tehenek előnyére válhat a korai laktációs időszakban, mivel növeli a plazma ghrelinkoncentrációját, fokozza az étvágyat, növeli a táplálékbevitelt, valamint segíti az energiaátvitelt a nem létfontosságú funkciókról, mint amilyen a szaporodás, más, vitális funkciókra [16, 27]. Tulajdonképpen ebben a tanulmányban megállapítottuk, hogy a leptinszint csökkent a szülés utáni 3. napon, a ghrelinszint pedig nőtt az energiaszükséglet miatt. Az energiaszükségletek kompenzálása és a NEFA-értékek csökkenése hozzájárulhatott a leptinszint emelkedéséhez és a ghrelinkoncentráció enyhe csökkenéséhez a 7. napon (Ábra A,B,F). Block és mtsai egy tejelő tehenekre kiterjedő tanulmányban úgy találták, hogy jelentős korreláció van a leptin és egyéb anyagcserehormonok (inzulin, növekedési hormon, inzulinszerű növekedési faktor és kortizol) között [16]. Felvetették, hogy ez az erős korreláció az energiamérleg szimultán szabályozását jelentheti. Udum Küçükşen arról számolt be, hogy szignifikáns korreláció áll fenn a plazma ghrelin- és leptinszintjei között birkáknál a laktáció szülést követő időszakában [22]. Ehhez hasonlóan a mi tanulmányunkban is mérsékelt szignifikáns negatív korrelációt találtunk a tehenek plazmaghrelin- és -leptinértékei között ($r = -0,520$; $p = 0,016$) (2. táblázat) egy héttel az ellés után. Ezek az eredmények megerősítik, hogy e két fontos anyagcserehormon között negatív lineáris kapcsolat van.

Az irizin hormon a barna zsírszövet fehér zsírszöveté váló átalakításával energiafelhasználást biztosít. Ezáltal szabályozza a glükózanyagcserét. Bár az irizin számos szövetből szabadul fel, főként a vázizomból és a zsírszövetből választódik ki [10, 28]. Javítja a glükóz-homeosztázist és fontos szerepe van az anyagcsere-egyensúly fenntartásában [18, 29]. Birkák irizinértékének testkondíciós pontszám szerinti meghatározásánál az érték $0,58 \text{ ng/mL} - 2,04 \text{ ng/mL}$ között változik vemhesség alatt és $0,46 \text{ ng/mL} - 0,64 \text{ ng/mL}$ között a laktációs időszakban [28]. Az egészséges Holstein tehenek irizinszintje $2,00 \pm 0,62$

Ghrelin hormone has the opposite effect compared to leptin hormone [25]. Ghrelin can regulate pancreatic islet function in an endocrine and paracrine manner. Itoh et al. [26] reported that ghrelin injection increased plasma glucose concentrations in lactating cows, while a hyperglycemic response occurred in pre-ruminant calves. They also observed a significant transient increase in insulin and glucagon levels in lactating cows.

According to TEMİZEL et al. [15] ghrelin and leptin concentrations in sheep decreased on 3rd day after calving, but increased on 7th day, and the increase on 7th day did not exceed the postnatal value. In the same study, they reported that NEFA concentration increased on 3rd day after birth and decreased again on 7th day compared to 3rd day. They also reported that the triglyceride concentration decreased dramatically on 3rd and 7th days after birth. In parallel with above the information in our study, bovine plasma ghrelin concentration increased on 3rd day and decreased on 7th day. Plasma leptin levels decreased on 3rd day and increased on 7th day. In addition, it was determined that the plasma glucose value decreased on 3rd and 7th days (Figure A,B,F). It was determined that although there were changes between the measurements of the insulin value, the changes were not statistically significant.

The energy deficit of transitional cows leads to a decrease in plasma leptin. This reduction encourages a faster increase in feed intake. Decreased plasma leptin concentration may benefit dairy cows in early lactation by increasing plasma ghrelin concentration, increasing appetite, increasing food intake, as well as directing energy from non-vital functions such as reproduction [16, 27]. As a matter of fact, in this study, it was determined that the leptin level decreased on the 3rd day after birth, and the ghrelin level increased due to the energy need. Compensating the energy needs and decreasing NEFA values may cause an increase in leptin value and a slight decrease in ghrelin concentration on 7th day (Figure A,B,F). Block et al. [16] found a significant correlation between leptin and other metabolic hormones (insulin, growth hormone, insulin-like growth factor and cortisol) in a study in dairy cows. They suggested that this high correlation may represent simultaneous regulation in energy balance. Udum Küçükşen [22] reported that there are significant correlations between plasma ghrelin and leptin levels in sheep in early postpartum lactation. Similarly, in our study, a moderately significant negative correlation was found between plasma ghrelin and leptin values of cattle one week after birth ($r = -0.520$; $p = 0.016$) (Table 2). These results confirm that there is a negative linear relationship between these two important metabolic hormones.

The irisin hormone provides energy expenditure by converting brown adipose tissue to white adipose tissue. In this way, it regulates glucose homeostasis. Alt-

ng/mL [30]. Ezen információ tükrében a tanulmányban nyert adatok alátámasztják ezt a feltételezést (1. táblázat). Az irizin a glükóztolerancia növelése mellett szabályozza a glükóz- és lipidszinteket, valamint az inzulinérzékenységet is [28]. Az irizin további fontos élettani folyamatokban is szerepet játszik, mint pl. a hormonkiválasztás és a glikogénanyagcsere [32, 33]. A béta-sejtek túlélését biztosítva növeli az inzulin- és a glukagonkibocsátását. Az irizin fokozza a vázizomsejtek glükózfelvételét. Szerepet játszik a máj glükóz- és lipidanyagcseréjének fokozásában. Csökkenti a glukoneogenezist, miközben fokozza a glikogenezist [33]. Ezen információkkal párhuzamban a jelen tanulmányban a szülést követő 3. napon a glükóz csökkenése, az inzulin emelkedése és az irizinértékek növekedése valószínűleg kapcsolatban áll egymással (Ábra C, D, F). Ezenfelül, bár statisztikailag nem szignifikáns, mérsékelt negatív korrelációt ($r = -0,299$; $p = 0,188$) tapasztaltunk a plazmairizin- és a -glükózértékek között. Nem találtunk összefüggést a plazma irizin- és az inzulinkoncentrációi között. Statisztikailag mérsékelt szignifikáns ($r = -0,451$; $p = 0,040$) pozitív korrelációt találtunk a plazmairizin- és a tejinzulin-koncentrációk között (2. táblázat). A plazma irizin- és inzulinkoncentrációi közötti hiányzó kapcsolat a tej stabilabb inzulinkoncentrációjával lehet kapcsolatban. Ugyanis különbségek lehetnek a plazmainzulin és a kolosztrum között idő szempontjából [33, 34]. Ezenfelül mérsékelt szignifikáns negatív korrelációt találtunk a plazmairizin- és a BHBA-értékek között ($r = -0,557$; $p = 0,009$) (2. táblázat). Az irizin és a BHBA kapcsolatát javasolt részletesebben vizsgálni kiterjedt tanulmányokban és betegségekkel.

Az irizin- és a glükózhomoeosztázisban szerepet játszó egyéb hormonok (pl. adrenalin, kortizol, GH – növekedési hormon és inkretin) közötti lehetséges kapcsolatokra vonatkozó információk korlátozottak [34]. STENGEL és mtsai arról számoltak be, hogy nem volt korreláció az irizinszint és a ghrelinszint között olyan betegségek esetén, mint az anorexia nervosa vagy a súlyos elhízás és olyan egyéneknél, akiknek széles a BMI tartománya [35]. Tanulmányunkban mérsékelt és statisztikailag nem szignifikáns negatív korrelációt találtunk a plazma irizin értéke és a plazma ghrelin értéke között ($r = -0,300$; $p = 0,187$). Statisztikailag mérsékelt szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a plazma irizin- és a tej ghrelinértéke között ($r = 0,477$; $p = 0,029$) (2. táblázat).

A leptin részt vehet a glükóz homeosztázisban, és kölcsönhatásba léphet az irizinnal [36]. Elhízás esetén a keringő irizin szintje a hyperglükémiára való kompenzációs válaszként növekszik. Azonban ebben az esetben az inzulin és a leptin érzékenysége az irizinre csökkenhet [34]. Tanulmányunkban az irizin és

though irisin is released from many tissues, it is mainly secreted from skeletal muscle and adipose tissue [10, 28]. In addition, it improves glucose homeostasis and maintains metabolic homeostasis [18, 29]. When the irisin value in sheep is determined according to body condition score; it varies between 0.58 ng/mL – 2.04 ng/mL in pregnancy, and 0.46 ng/mL – 0.64 ng/mL in lactation periods.²⁸ The irisin value in healthy Holstein cattle is 2.00 ± 0.62 ng/mL [30]. In the light of this information, the data obtained in this study support this hypothesis (Table 1). In addition to increasing glucose tolerance, irisin also regulates glucose and lipid levels and insulin sensitivity [28]. Irisin acts as a regulator in important physiological processes such as hormonal secretion and glycogen metabolism [32, 33]. By ensuring the survival of beta cells, it increases the release of insulin and glucagon. The irisin molecule increases glucose uptake into skeletal muscle. It plays a role in the improvement of hepatic glucose and lipid metabolism. Irisin increases insulin sensitivity. It decreases gluconeogenesis while increasing glycogenesis [33]. Parallel to these information, in the present study, on the 3rd day after birth; the decrease in the glucose, the increase in the insulin, and the increase are the irisin values in believed to be related (Figure C,D,F). In addition, although not statistically significant, a moderate negative correlation ($r = -0.299$; $p = 0.188$) was found between plasma irisin and glucose values. No correlation was found between plasma irisin and insulin concentrations. A moderately statistically significant ($r = -0.451$; $p = 0.040$) positive correlation was determined between plasma irisin and milk insulin concentrations (Table 2). The lack of a relationship between plasma irisin and plasma insulin concentrations may be related to the more stable insulin concentration in milk. There can be differences between the levels of plasma insulin and milk colostrum in terms of time [33, 34]. In addition, a moderately significant negative correlation was found between plasma irisin and BHBA values ($r = -0.557$; $p = 0.009$) (Table 2). This relationship of irisin and BHBA should be investigated with more extensive studies and with diseases.

Information regarding the possible relationship between irisin and other hormones involved in glucose homeostasis (such as adrenaline, cortisol, GH, and incretins) is limited [34]. STENGEL et al. [35] reported that there was no correlation between irisin levels and ghrelin levels in diseases such as anorexia nervosa or morbid obesity and in individuals with a wide body mass index range. In our study; a moderately and statistically insignificant negative correlation was found between plasma irisin value and plasma ghrelin value ($r = -0.300$; $p = 0.187$). A moderately statistically significant positive correlation was found between plasma irisin value and milk ghrelin value ($r=0.477$; $p = 0.029$) (Table 2).

a hormonok közötti kapcsolat vizsgálatakor gyenge és statisztikailag nem szignifikáns negatív korrelációt találtunk a plazma-irizin- és -leptinérték között ($r = -0,259$; $p = 0,257$) (2. táblázat).

A kolosztrum egy folyadék, amely a tőgy közvetlenül ellés után választ ki, és szín és összetétel tekintetében jelentősen különbözik a normál tejtől. A kolosztrum körülbelül 48 órán belül válik átmeneti tejjé, majd 72 órán belül normál tejjé [37]. A ghrelin, leptin és irizin hormonok tejben és kolosztrumban történő tanulmányozását főként embereken végezték. Emiatt ezeknek a hormonoknak a szintjeit tejben és kolosztrumban az emberi szintekkel hasonlítottuk össze [23, 38–40].

A tej és a kolosztrum irizin hormonszintje magas. Ez a laktáció során az emlőszövet autonóm termelése által alakul ki [38, 39]. Tanulmányunkban a tej irizin-koncentrációja kicsi volt abban az időszakban, amikor a kolosztrum a legtisztább és legsűrűbb formájában volt az ellés után. Az ellést követő 3. napon, amikor a kolosztrum már kezdett tejjé alakulni, az irizin szintje emelkedett, majd enyhe csökkenést mutatott (1. táblázat, ábra C). A 3. napon bekövetkező emelkedés az energiaszükséglethez kapcsolódó más hormonok miatt lehet.

Az anyatej ghrelintartalmát az emlőmirigy termeli [23, 40]. Az anyatej ghrelin szintje nagyobb a plazmáénál. A ghrelin koncentrációja az anyatejben a laktáció ideje alatt növekszik [23]. AYDIN és mtsai a kolosztrumban $70,3 \pm 18$ pg/mL, az átmeneti tejben $83,8 \pm 18$ pg/mL, az érett anyatejben $97,3 \pm 13$ pg/mL ghrelin szintet állapítottak meg [23]. Ugyanebben a tanulmányban embereknél az 1. napon 95 ± 16 pg/mL, a 10. napon 111 ± 13 pg/mL, és a 15. napon 135 ± 16 pg/mL plazmaghrelin szintet határoztak meg. A fent említett információkat megerősítve tanulmányunkban megfigyeltük, hogy a tej ghrelinkoncentrációja nagy mértékben növekedett a születést követő 3. napon. Emellett bár a tej ghrelinkoncentrációja a 3. napon kisebb volt, mint a plazmáé, a 7. napon majdnem megduplázódott a plazma ghrelinkoncentrációja (ábra A).

Bár a leptint főként a zsírszövet szintetizálja, az emlőszövetekben is létrejön és az emlő zsírgolyócskái tárolják [41]. Az anyatej leptinszintje alacsonyabb a vérénel [40, 41]. Az anyai vérleptin és az anyatejkoncentráció között pozitív kapcsolat van [41]. Tanulmányunkban bár a tej leptinkoncentrációja a 0. órában kisebb volt a plazma esetében mértnél, megfigyeltük, hogy a tej leptinkoncentrációja kétszerese volt a plazma 3. és 7. napi leptinkoncentrációnak (ábra B). Emellett említésre méltó volt, hogy a leptinkoncentráció kicsi volt a tiszta kolosztrumban. A korrelációs eredményekben statisztikailag nem szignifikáns negatív korrelációt találtunk a plazmaleptin- és a tejlep-

Leptin can participate in glucose homeostasis and interact with irisin [36]. Circulating irisin hormone is increased in obesity as a compensatory response to hyperglycemia. However, in this situation, the sensitivity of insulin and leptin to the irisin may decrease. [34]. In our study, when the relationship between irisin and hormones was examined; there was a low and statistically insignificant negative correlation between plasma irisin value and plasma leptin value ($r = -0.259$; $p = 0.257$) (Table 2).

Colostrum is a liquid that is secreted from the udder immediately after birth and is quite different from normal milk in terms of color and composition. Colostrum takes the form of transit milk in about 48 hour and normal milk in 72 hour [37]. Studies on the hormones ghrelin, leptin and irisin in milk and colostrum have mainly been done on humans. Therefore, the levels of these hormones in milk and colostrum were compared with humans [23,38,39,40].

The irisin hormone is found in high levels in milk and colostrum. This is shaped by the autonomous production of breast tissue during lactation [38, 39]. In our study, milk irisin concentration was low during the period when colostrum was at its purest and densest after birth. On the 3rd day after birth, while colostrum was almost starting to turn into milk, irisin hormone increased and then showed a slight decrease (Table 1, Figure C). The rise in the third day may be due to the need for energy in relation to other hormones.

The ghrelin content in breast milk is produced by the mammary gland [23, 40]. Ghrelin levels in breast milk are higher than in plasma. Their concentrations in breast milk increase during lactation [23]. AYDIN et al. [23] determined breast milk ghrelin levels as 70.3 ± 18 pg/mL in colostrum, 83.8 ± 18 pg/mL in transitional milk and 97.3 ± 13 pg/mL in mature breast milk. In the same study, they determined plasma ghrelin levels in humans as 95 ± 16 pg/mL on 1st day, 111 ± 13 pg/mL on 10th day, and 135 ± 16 pg/mL on 15th day. Supporting the information mentioned above, it was observed in our study that the milk ghrelin concentration increased at a high rate on 3rd day after birth. In addition, although the concentration of milk ghrelin on 3rd day was lower than the plasma ghrelin concentration, it almost doubled its plasma concentration on 7th day (Figure A).

Although leptin is mainly synthesized in adipose tissue, it is also synthesized in breast tissue and stored in fat globules in the breast [41]. Breast milk leptin level is lower than serum leptin level [40, 41]. There is a positive correlation between maternal serum leptin and breast milk concentrations [41]. In our study, although milk leptin concentration at 0th hour was lower than plasma leptin concentration, it was observed that milk leptin concentration was twice higher than plasma leptin con-

tinszintek között ($r = -0,347$; $p = 0,123$) (2. táblázat).

Összefoglalva, ebben a tanulmányban a korai laktációs időszak első hetében a leptin, ghrelin, irizin és inzulin hormonszintjeit határoztuk meg, amelyek igen fontosak az anyagcsere szempontjából ebben az időszakban. A plazma és tej hormonértékei között különbségeket figyeltünk meg. Eredményeinkből az is látható, hogy az anyagcsere változásai különböznek a tehén plazmájában és tejében. Emellett másik fontos részlet az irizin értéke. Ebben a tanulmányban a korai laktáció első hetében az irizin koncentrációit mind a tejsavóban, mind a vérplazmában meghatároztuk, és jelentős különbségeket találtunk az értékek között. Kimutattuk, hogy a nemrégiben felfedezett irizin szintje emelkedik a korai laktációs időszakban az ellés után. Bár nincs statisztikailag szignifikáns kapcsolat, a plazma irizinszintje és a plazma glükózértéke közötti negatív korreláció azt mutatja, hogy az irizin hormon szerepet játszik az energiahomeosztázisban, mint a glükózanyagcsere egyik szabályozója. Emellett a 7. napon végzett mérések eredményeiben az inzulinszint csökkenése ellenére jelentkező vércukorszint-csökkenés a glükózmetabolizmus szabályozásához kapcsolható, amely folyamat során a növekvő irizin hormon következtében nőtt a vázizomzat glükózfelvétele. A tej irizinszintje és a tejben mért ghrelin, leptin és inzulin hormonok közötti statisztikailag szignifikáns kapcsolat, valamint a tej és a plazma közötti különbségek egyértelműen azt mutatják, hogy a tőgyszövet fontos szerepet játszik az irizin hormon mellett más hormonok termelésében is. Ezek a hormonális változások a kolosztrumban és a tejben rendkívül fontosak a borjak számára. Ezért az újszülött borjaknál is ajánlott vizsgálni ezeknek a hormonoknak a korai laktációs időszak alatt bekövetkező változásait.

centration on 3rd and 7th days (Figure B). In addition, it was noteworthy that the leptin concentration was low in pure colostrum. In the correlation findings, a moderately statistically insignificant negative correlation was found between plasma leptin and milk leptin levels ($r = -0,347$; $p = 0,123$) (Table 2).

In conclusion, in this study, leptin, ghrelin, irisin and insulin hormone levels were determined in plasma and milk, which are very important for metabolism in the first week of the early lactation period. Differences in plasma and milk values of hormones were noted. It can also be seen from our findings that the changes in metabolism differ in the plasma and milk of the cattle. Another important detail is the value of the irisin. In this study, irisin concentrations in both milk serum and blood plasma were determined in the first week of early lactation and significant differences were found between the measurements. It has been determined that the newly discovered irisin hormone increases in the first week of the early lactation period after birth. Although there is no statistically significant relationship, the negative correlation between plasma irisin hormone and plasma glucose value shows that irisin hormone plays a role in energy homeostasis and is a regulator of glucose metabolism. In addition, in the measurements made on the 7th day, the decrease in blood glucose value despite the decrease in insulin value was associated with the regulation of glucose metabolism by increasing the glucose uptake of the increased irisin hormone into the skeletal muscle. The statistically significant relationship between milk irisin value and milk ghrelin, milk leptin and milk insulin hormones and, the differences in milk and plasma clearly show that the udder tissue plays an important role in the production of irisin hormone as well as in the production of other hormones. These hormonal changes in colostrum and milk are extremely important for calves. Therefore, changes in these hormones in the early lactation period should also be investigated in early neonatal calves.

IRODALOM / REFERENCES

- Overton TR, Waldron MR (2004) Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *J Dairy Sci* 87:E105–E119
- Arslan C, Tufan T (2010) Geçiş Dönemindeki Süt İneklerinin Beslenmesi II. Bu Dönemde Görülen Metabolik Hastalıklar ve Besleme ile Önlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16:159–166. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2009.443>
- Varol K, Eğritağ HE, Merhan O, Bozukluhan K (2022) Evaluation of Acute Phase Response in Blood and Milk Samples of Healthy Holstein Cattle in the Postpartum Period. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 28:59–65. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2021.26421>
- Karapehlivan M, İnan K, Abdullah S, Akin S, Özcan A (2013) Effects of Early and Late Lactation Period on Plasma Oxidant/Antioxidant Balance of Goats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 19:529–533. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.8315>
- Öğün M, Merhan O, Kükürt A, Kuru M, Karapehlivan M (2016) The Effect of Borax on Some Energy Metabolites in Dairy Cows during the Transition Period. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 22:437–442. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.14965>
- Drackley JK (1999) Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier?. *J Dairy Sci* 82:2259–2273. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75474-3)
- Altınar A, Şahin I, Bilal T, Vural H (2016) Kan Leptin, Ghrelin ve Adiponektin Düzeylerini Etkileyen Faktörler. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 7:15–23. <https://doi.org/10.5336/vetsci.2016-51738>
- Karakoç Z, Topaloğlu U, Ketani MA (2019) Kıl Keçisi Abomasumunda Ghrelin, Obestatin ve Leptin Hormonlarının İmmunohistokimyasal Dağılımları. *Eurasian J Vet Sci* 35:204–209. <https://doi.org/10.15312/EurasianJvetSci.2019.248>
- Deniz G, Saygı Ş (2002) Leptin, Neuropeptide Y and Obesity. *T Klin J Med Sci* 22:217–220.
- İnci A, Aypak SÜ (2016) İrisin ve Metabolik Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Endocrin* 11:15–21. <https://doi.org/10.5336/endocrin.2016-49995>
- Sınar DS, Acar NE, Yıldırım İ (2020) Enerji Metabolizması, Obezite ve Hormonlar. *TSBD* 4:30–60. <https://doi.org/10.32706/tusbid.719671>
- Mikuła R, Pruszyńska-Oszmiatek E, Pszczola M, Rzaşıńska J, Sassek M, Nowak KW, Nogowski L, Kołodziejewski PA (2021) Changes in Metabolic and Hormonal Profiles During Transition Period in Dairy Cattle—the Role Of Spexin. *BMC Vet Res* 17:1–13. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03069-4>
- Vargová M, Petrovič V, Konvičná J, Kadaši M, Zaleha P, Kováč G (2015) Hormonal Profile and Body Condition Scoring in Dairy Cows During Pre Partum and Post Partum Periods. *Acta Veterinaria Brno* 84:141–151. <https://doi.org/10.2754/avb201584020141>
- Nowroozi-Asl A, Aarabi N, Rowshan-Ghasrodashti A (2016) Ghrelin and Its Correlation with Leptin, Energy Related Metabolites and Thyroidal Hormones in Dairy Cows in Transitional Period. *Pol J Vet Sci* 19:197–204. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0024>
- Temizel EM, Cihan H, Levent P, Saril A, Özarda Y, Yilmaz Z (2018) Comparison of Pre-and Postpartum Serum Leptin, Ghrelin, And Lipid Levels in Sheep. *Turk J Vet Anim Sci* 42:177–183. <https://doi.org/10.3906/vet-1705-87>
- Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA (2001) Decreased Concentration of Plasma Leptin in Periparturient Dairy Cows is Caused by Negative Energy Balance. *J Endocrinol* 171:339–348
- Bayraktar B, Tekce E (2021) Anadolu Merinoslarında İrisin Hormon Yanıtı Üzerine Bazı Fizyolojik Parametrelerin Etkisi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 32:145–150. <https://doi.org/10.35864/evmd.954977>
- Mahgoub MO, D'Souza C, Al Darmaki RS, Baniyas MM, Adeg-hate E (2018) An Update on the Role of Irisin in the Regulation of Endocrine and Metabolic Functions. *Peptides* 104:15–23. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2018.03.018>
- Mishra S, Kumari K, Dubey A (2016) Body condition scoring of dairy cattle: A review. *Research and Reviews. J Vet Sci* 2:58–65.
- Hristovskat, Cincović M, Stojanović D, Belić B, Kovačević Z, Jezdimirović M (2017) Influence of Niacin Supplementation on the Metabolic Parameters and Lipolysis in Dairy Cows During Early Lactation. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 23:773–778. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.17743>
- Yang W, Xu C, Xia C, Chen Y, Zheng J, Li X, Liu G, Li X (2017) Ultrasound Evaluation of Negative Energy Balance-Induced Fatty Liver in Sheep. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 23:887–893. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.17932>
- Udum Küçükşen D (2017) Koyunlarda Doğum Sonrası Erken Laktasyon Döneminde Leptin ve Ghrelin Seviyelerinin Değişimleri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 12:269–275. <https://doi.org/10.17094/ataunivbd.299378>
- Aydın S, Özkan Y, Kumru S (2006) Ghrelin is Present in Human Colostrum, Transitional And Mature Milk. *Peptides* 27:878–882. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.08.006>
- Sağkan Öztürk A, Güzel M, Askar TK, Aytekin, I (2013) Evaluation of The Hormones Responsible for the Gastrointestinal Motility in Cattle With Displacement of The Abomasum; Ghrelin, Motilin and Gastrin. *Vet Rec* 172:636. <https://doi.org/10.1136/vr.101322>
- Hagemann D, Meier JJ, Gallwitz B, Schmidt WE (2003) Appetite Regulation By Ghrelin – A Novel Neuro-Endocrine Gastric Peptide Hormone in the Gut-Brain-Axis. *Z Gastroenterol* 41:929–936.
- Itoh F, Komatsu T, Kushibiki S, Hodate K (2006) Effects of Ghrelin Injection On Plasma Concentrations of Glucose, Pancreatic Hormones and Cortisol in Holstein Dairy Cattle. *Comp biochem physiol Mol amp integr physiol* 143:97–102. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.11.001>
- D'Occhio MJ, Baruselli PS, Campanile G (2019) Influence of Nutrition, Body Condition, and Metabolic Status on Reproduction in Female Beef Cattle: A review. *Theriogenology* 125:277–284. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.010>
- Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Spiegelman BM (2012) A PGC1α-dependent Myokine that Drives Brown-Fat-Like Development of White Fat And Thermogenesis. *Nature* 481:463–468. <https://doi.org/10.1038/nature10777>
- Townsend LK, Wright DC (2019) Looking on the “Brite” Side Exercise-Induced Browning of White Adipose Tissue. *Pflugers Arch* 471:455–465. <https://doi.org/10.1007/s00424-018-2177-1>
- Ergin Eğritağ H, Merhan O, Bozukluhan K, Varol K, Atcalı T (2022) Investigation of Serum Leptin, Ghrelin, Irisin, Insulin Levels and Their Correlations in Cattle With Subclinical Ketosis. *MAE Vet Fak Derg* 7:223–228. <https://doi.org/10.24880/maevufd.1202455>
- Lee HJ, Lee JO, Kim N, Kim JK, Kim HI, Lee YW, Kim HS (2015) Irisin, a Novel Myokine, Regulates Glucose Uptake in Skeletal Muscle Cells Via AMPK. *Mol Endocrinol* 29:873–881. <https://doi.org/10.1210/me.2014-1353>
- Martinez Munoz IY, Camarillo Romero EDS, Garduno Garcia JDJ (2018) Irisin a novel metabolic biomarker: present

knowledge and future directions. *Int J Endocrinol* 78:16806:1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/7816806>.

33. Berberoğlu H, Hacışevki A (2021) An Overview of the Effects of Irisin on Metabolic Disorders. *Gazi sağlık bilim derg* 6:33–41. <https://doi.org/10.52881/gsbdergi.861600>

34. Aydın S (2014) Three New Players in Energy Regulation: Preptin, Adropin and Irisin. *Peptides* 56:94–110. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.03.021>

35. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbelt U, Kobelt P, Klapp BF (2013) Circulating Levels of Irisin in Patients with Anorexia Nervosa and Different Stages of Obesity–Correlation with Body Mass Index. *Peptides* 39:125–130. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.11.014>

36. Perakakis N, Triantafyllou GA, Fernández-Real JM, Huh JY, Park KH, Seufert J, Mantzoros CS (2017) Physiology and Role of Irisin in Glucose Homeostasis. *Nat Rev Endocrinol* 13:324–337. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.221>

37. Erdem H, Atasever S (2005) Yeni Doğan Buzagılarda Kolostrumun Önemi. *Anadolu tarım bilim derg* 20:79–84

38. Bienertová-Vašků J, Bienert P, Zlámál F, Tomandl J, Tomandlová M, Dostálová Z, Vašků A (2012) Visfatin is secreted into the Breast Milk and is Correlated With Weight Changes of the Infant after the Birth. *Diabetes Res Clin Pract* 96:355–361. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.06.009>

39. Mól N, Zasada M, Tomasik P, Klimasz K, Kwinta P (2018) Evaluation of Irisin and Visfatin Levels in Very Low Birth Weight Preterm Newborns Compared to Full Term Newborns–A prospective Cohort Study. *PloS one* 13:e0204835. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204835>

40. Aydın S, Ozkan Y, Erman F, Gurates B, Kilic N, Colak R, Gundogan T, Catak Z, Bozkurt M, Akin O, Sen Y, Sahn I (2008) Presence of obestatin in breast milk: Relationship among obestatin, ghrelin, and leptin in lactating women. *Nutrition* 24:689–693. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.03.020>

41. Icol YO, Hızlı B, Ozkan T (2006) Leptin Concentration in Breast Milk and its Relationship to Duration of Lactation and Hormonal Status. *Int Breastfeed J* 1:21–22. <https://doi.org/10.1186/1746-4358-1-21>

Közlésre elfogadva: 2022. szept. 22.



DIROFILARIA ELLENI TELJES SZEZONRA VÉDELMEZT ADÓ INJEKCIÓ TARTÓSAN HATÉKONY A FERTŐZÉS KOCKÁZATÁNAK TELJES TARTAMÁRA



AFILARIA® SR 3,4mg/ml moxidektin injekció kutyáknak

- Egy hónappal a köztigazda (szúnyogok) aktivitásának kezdete előtt alkalmazva a készítmény tartósan **hatékony a fertőzés kockázatának teljes időtartama alatt** a *D. immitis* által okozott szívférgesség és a *D. repens* által okozott bőrelváltozások ellen Európában
- A készítmény **nagyon biztonságosnak** bizonyult még az ivermektinekre érzékeny fajtáknál és a szívférgesség tesztben pozitívnak talált állatoknál is
- A moxidektin lassú felszabadulása az Afilaria® SR **eredeti microsphere biztonságos és védett* technológiájának** köszönhetően
- Az injekcióban beadott moxidektin biztonságossága vemhes szukáknál bizonyított
- **3 hónap** eltarthatóság hűtőben (elkészítés után)
- Több mint kétmillió kezelt kutya
- Keresse állatorvosánál



*A nemzetközi szabadalom a Fatro kizárólagos tulajdona WO 2017/045966

Shaping the future
of animal health

Virbac

News in the canine and feline epilepsy 2023**Mini review**

Á. Pákozdy*

Universitätsklinik für Kleintiere
Veterinärmedizinische Universität
Veterinaerplatz 1. 1210 Bécs,
Ausztria

*e-mail: Akos.Pakozdy@
vetmeduni.ac.at

Újdonságok az állatorvosi epilepsziában - 2023

„A tavalyi év kutatási eredményeit már ma alkalmazzuk a napi praxisban!”

Irodalmi összefoglaló

Pákozdy Ákos***ÖSSZEFOGLALÁS**

A szerző jelen cikkében bemutatja a 2023-ban megjelent nemzetközi tudományos közlemények közül azokat, amelyek ismeretét a legfontosabbnak tartja a praxisban dologozó kollégák részére. Ezek a következő szalagcímekben foglalhatóak össze: autoimmun encephalitist írtak le macskában. Tartós fenobarbitál-kezelés során, macskákon sikeres lehet a naponta egyszeri adagolás is. A fenobarbitál macskákon gyakran okoz hematológiai elváltozásokat, de azok többnyire enyhék, klinikailag nem relevánsak. A fenobarbitál okozta heveny májkárosodás sikerrel kezelhető. Status epilepticus kezelésére vonatkozó, konszenzuson alapuló cikk jelent meg, amely ismerete hasznos lehet a gyakorlatban. Macskák hipertenzív encephalopathiája többnyire javul a vérnyomás rendezésével.

SUMMARY

In this „annual mini-review” the most relevant research results in the field of clinical epilepsy in dogs and cats will be described. The author selected and summarised from 2023 several useful findings from the international literature including own works. The following important topics will be presented. Autoimmune encephalitis was described in cats. The first case series has been published ten years ago, but now more detailed description with more cases were published. It seems that the inflammation affects the temporal lobe. Most cats showed acute temporal lobe seizures with orofacial automatism, hypersalivation, facial twitching, gagging. The brain MRI and the CSF analysis were frequently unremarkable but the antibodies against LGI1 (leucine-rich gliome-inactivated 1) was detectable in all cats. Another study showed, that for the treatment of epileptic cats the phenobarbital can be used as once a day therapy, which may be easier for many owners than the usual twice daily treatment. In another study the haematological findings were systematically evaluated in cats undergoing phenobarbital therapy. The majority of cats showed neutropenia or other cytopenias, but these changes were usually mild and clinically not relevant. An interesting case report showed how to treat succesfully acute phenobarbital induced liver failure in a dog. Furthermore a consensus statment was published about status epilepticus therapy in dogs and cats. Feline hypertensive encephalopathya and its outcome was evaluated and published.

The author hopes that his work could facilitate research implementation into the daily practice and published knowledge from 2023 can be directly beneficial.

KISÁLLAT

A legtöbb tudományterületen évente számos kutatási eredmény jelenik meg. Ez igaz az állatorvosi epilepsziára is. Hogyan lehet ezt a tudást a gyakorlatban használni? Több akadályozó tényező is van. Az eredmények különböző tudományos folyóiratokban jelennek meg, amelyeket a gyakorlati szakemberek ritkán olvasnak. Másik probléma arra vezethető vissza, hogy néhány eredmény még nem eléggé kiforrott a gyakorlati alkalmazáshoz. A cikk szerzője arra tett kísérletet, hogy kivonatos formában összefoglalja azokat a 2023-as évben megjelent új ismereteket, amelyeket a gyakorlatban dolgozó magyar állatorvosok akár már holnap felhasználhatnak az epilepsziás kutyák és macskák kezelésekor.

Akut epilepsziás, terápiaerezisztens macskában mindenképpen gondolni kell az autoimmun eredetű limbikus encephalitisre is

ÚJ AUTOIMMUN EREDETŰ EPILEPSZIÁS BETEGSÉGET ÍRTAK LE MACSKÁBAN: LIMBIKUS ENCEPHALITIS

A The Veterinary Journal-ban megjelent cikkünkben, 32 olyan epilepsziás macska adatait dolgoztuk fel, amelyek vérében kimutatható volt egy neuroprotein elleni ellenanyag [1]. A limbikus encephalitis több formája ismert embereken, ezek közül az LGI-1 (leucine-rich glioma-inactivated 1) szekretoros neuroprotein elleni immunválaszt írtuk le macskában. Az ellenanyag kimutatásában egy oxfordi egyetemi laboratórium segített. A legtöbb beteg temporalis lebenyhez kapcsolódó rohamok orofaciális automatizmusok, nyálzás, nyeldekülés, arcrángás miatt került állatorvosi kivizsgálásra. A rohamok többnyire (27/32) generalizált görcsrohamokig fokozódtak. Cluster-rohamok, vagyis naponta több alkalommal jelentkező rohamok uralták a képet a betegeink 84%-ában. A macskák túlnyomó többsége (31/32) európai rövidszőrű házimacska, átlagos életkoruk 3,5 év volt. A rutin vérvizsgálat az esetek többségében nem talált lényeges elváltozást. A koponya MR-vizsgálata csak néhány esetben mutatott elváltozást a hippocampusban. Többnyire azonban az MR- és a liquorvizsgálat sem (80% és 96%) mutatott eltérést. Ez utóbbi meglepő, hiszen a liquorvizsgálat pont a gyulladásos agyi megbetegedések diagnosztizálására hivatott módszer. A limbikus encephalitisben azonban a gyulladás főleg a humoralis immunválaszt és a komplementrendszer aktiválja, és kevésbé a cellularist. Emiatt a legtöbb esetben nincs sejtszámemelkedés a liquorban, és a gyulladásos fehérvérjék is többnyire határérték alatt maradnak. A terápiában a fenobarbitál játszotta a főszerepet, esetenként kombinálva levetiracetámmal vagy gabapentinnel. Rutinszerű immunszuppresszív terápiát nem alkalmaztunk, hiszen a szerológiai eredmények nem álltak rendelkezésre rögtön, azokat csak hetekkel a heveny fázis után kaptuk meg. A terápiaerezisztens betegek azonban prednizolon-kezelést kaptak (36%), többnyire gyulladáscsökkentő adagban. Az egy éves túlélést a betegek 75%-a elérte, és ezek a macskák általában panaszmentesek maradtak. A prognózis jobbnak látszik olyan esetekben, amelyekben kevés epilepsziás roham után megindult a kezelés, és az MR-vizsgálat negatív volt, de erős konklúzióhoz nagyobb betegszám szükséges. Sok egyéb kérdés még tisztázatlan, de úgy tűnik a betegség nem ritka, és egy akut epilepsziás, terápiaerezisztens macskában mindenképpen gondolni kell erre a betegségre is.

EPILEPSZIÁS MACSKÁK SIKERES KEZELÉSÉRE ELÉG LEHET A FENOBARBITÁL NAPI EGYSZERI ADAGOLÁSA

Egy Svédországban elvégzett vizsgálat alapján a fenobarbitál napi egyszeri adagolása is hatékonynak bizonyult macskák epilepsziájának kezelésében [2]. A macskák szájon át történő kezelése sokszor jóval nehezebben kivitelezhető, mint kutyák esetében. Amennyiben naponta szükséges a gyógyszer beadása, az gyakran kihívást jelenthet a tulajdonosnak. Ezt a problémát próbálták csökkenteni napi egyszeri adagolással a svédországi vizsgálatban. A napi adag átlagosan 2,6 mg/ttkg volt. A vizsgált 9 macska közül 8 rohammentessé vált a 3 éves utánkövetési időszakban. A vizsgálatba bevont macskák esetében idiopátikus epilepszia volt a feltételezett diagnózis. A Journal of Feline Medicine and Surgery-ben megjelent cikk eredménye nem meglepő, hiszen

A fenobarbitál napi egyszeri adagolása is hatékony lehet macskák epilepsziájának kezelésében

a fenobarbitál felezési ideje 40–80 óra, tehát az egyszeri adagolás elvi alapja ismert. Erről egy korábbi MÁL cikkben mi is beszámoltunk [3]. Az vizsgálat újdonsága abban van, hogy ez az elvi lehetőség úgy látszik, hogy a gyakorlatban is működik. E sorok írója úgy gondolja, hogy ha lehetőség van rá, inkább továbbra is a napi kétszeri adagolást válasszuk, hiszen a szérumszintben így valószínűleg csekélyebb lesz a napi ingadozás, de úgy látszik elfogadható lehet, az egyszeri is. A cikk ugyan ezt külön nem emeli ki, de láthatjuk, hogy az idiopatikus epilepszia macskánál jobban kezelhető mint kutyáknál, és gyakran eredményez rohammentességet, ahogy azt korábban ebben az újságban is hangsúlyoztuk [4].

A FENOBARBITÁL MACSKÁKON GYAKRAN OKOZ VÉRKÉPELVÁLTOZÁSOKAT, DE AZOK TÖBBNYIRE ENYHÉK

Egy retrospektív vizsgálatban azt a kérdést jártuk körül, hogy a krónikus fenobarbitál kezelés milyen hematológiai elváltozásokat okoz macskákban [5]. A vizsgálatban vont macskák esetén az idiopatikus epilepszia volt a feltételezett diagnózis, és legalább 2 hétig kapták a gyógyszert. A 69 macska 77%-ában valamilyen cytopenia volt megfigyelhető legalább egy alkalommal a kontrollvizsgálatok során. Leggyakrabban leukopenia (50%), neutropenia (60%), thrombocytopenia (24%), anaemia (20%). A cytopeniák általában enyhék voltak és nem kellett a kezelést megváltoztatni. Súlyos, életveszélyes neutropenia (500/μl alatt) csak egyetlen esetben fordult elő. A fenobarbitál szérumszintje és a citopeniák között nem találtunk szignifikáns összefüggést, tehát úgy látszik, nem feltétlenül dóziszfüggő a hatás.

FENOBARBITÁL INDUKÁLTA AKUT MÁJKÁROSODÁST SIKERREL KEZELTÉK EGY KUTYÁN

Érdekes esetet közölt a Veterinary Record [6]. Egy közel 4 éves eurázsiai fajtájú kutyát kezeltek fenobarbitállal idiopatikus epilepszia diagnózisával. A fenobarbitál adagja a szokásos volt: naponta kétszer 2,3 mg/ttkg, a szérumszint (21,9 mg/l) a javasolt terápiás sávban volt. A kutya másfél évvel a kezelés megkezdése után akut májkárosodás tüneteit mutatta, sárgaság, étvágytalanság, gyengeség, ascites jelentkezett. A vérvizsgálat hypoalbuminaemiát, emelkedett májenzim-aktivitást, hyperbilirubinaemiát, CRP-szintemelkedést mutatott. A hasi ultrahangvizsgálattal hasvízkór mellett a máj megnagyobbodása, annak hypoechogen, heterogén textúrája ábrázolódt. A máj citológiai vizsgálatával vacuolaris hepatopathiára jellemző képet találtak. A kezelés során a fenobarbitált azonnal elhagyták, helyette levetiracetámot vezettek be a szokásos 20 mg/ttkg naponta háromszori adagban. Gyomorvédelem, hányáscsillapítás, S-adenozilmethionin, vízhajtás mellett, mesterséges táplálást alkalmaztak orrnyelősőszondán keresztül. A beteg meggyógyult, és a biokémiai elváltozások is rendeződtek, igaz epilepsziás rohamok jelentkezése miatt KBr is bevezetésre került. A cikk újdonsága, hogy a fenobarbitál okozta súlyos májkárosodás sikeres kezelését mutatja be egy eset kapcsán.

STATUS EPILEPTICUS KEZELÉSÉRE VONATKOZÓ KONSZENZUS NYILATKOZAT

A Journal of Veterinary Internal Medicine-ben jelent meg az amerikai állatorvosi belgyógyász szakállatorvos társaság (American College of Veterinary Internal Medicine) konszenzus nyilatkozata [7]. A cikk tulajdonképpen egy összefoglaló 5, a témában rendszeresen publikáló neurológus szakállatorvos tollából, ami kicsit szokatlan, mert a konszenzust általában több szakemberrel közösen szokás meghozni. A status epilepticust 4 súlyossági stádiumra osztották, főleg a fennállásuk időtartama alapján. Ezek a következő stádiumok: I. *korai status epilepticus* (impending, 5–10 perc), II. *állandósult status epilepticus* (established, 10–30 perc), III. *refrakter status epilepticus* (30 perc felett), IV. *szuperrefrakter status epilepticus* (superrefractory, 24 óra felett). A humán és a kísérleti irodalomból

A hosszan tartó fenobarbitál gyakran okoz enyhe vérképelváltozásokat macskákban

Megjelent egy konszenzus nyilatkozat a status epilepticus kezelésére vonatkozóan

átvett adatok alapján 5 perc után a kezelést (általában otthoni környezetben) meg kell kezdeni. A 30 perces határ átlépésével komoly neuronális elváltozásokkal és következményekkel is számolni kell. Ami a cikk viszonylagos újdonsága, hogy a stádiumok súlyosságával párhuzamosan egy terápiás hatékonysági sorrend is körvonalazódik. *Korai status epilepticusban* általában hatékonyak az elsődlegesen választandó szerek, *állandósult status epilepticusban* ezek kevésbé inkább csak a másodlagosan választandó szerek hatnak. Idővel ezek hatékonysága csökken, és a harmadlagosan választandó szerek jutnak szerephez. *Szuperrefrakter status epilepticusban* ezek hatékonysága is lecsökken.

Elsődleges szerek közé tartoznak a benzodiazepinek: diazepam, midazolam főleg intravénásan. Ezeket hatástalanság esetén háromszor célszerű ismételni. A másodlagosan választandó szerek között szerepelnek a fenobarbitál, levetiracetám és a kevésbé ismert foszfenitoin intravénásan. Ha a status epilepticus továbbra is fennáll a harmadlagos szerek jutnak szerephez. Elsőként a ketamin, hatástalanság esetén a dexmedetomidin, hatástalansága esetén propofol, természetesen intravénásan. Valahol a sor végén vannak az altató barbiturátok, mint pentobarbitál, thiopentál vagy az inhalációs anesztézia. Jóllehet a *szuperrefrakter status epilepticus* kezelésére nem állnak rendelkezésre nagy evidenciájú vizsgálatok. A cikkben több helyen kiemelik, hogy kutyák esetében magasabb szintűek a tudományos tényeken alapuló bizonyítékok. Bár macskáknál is lényegében hasonló kezelési protokollt követhetünk, ez inkább csak feltételezés, ill. személyes tapasztalat, nem magas szintű bizonyítékokon alapuló megállapítás.

HYPERTENZÍV ENCEPHALOPATHIA MACSKÁKBAN

Érdekes prospektív vizsgálatot végeztek a Zürichi Egyetemen [8]. A klinikán vizsgált 56 magas vérnyomású (160 Hgmm felett), 10 év feletti macska adatait dolgozták fel. Az alapbetegségük hyperthyreosis vagy veseelégtelenség volt. A vizsgálatba bevont betegek életkorának mediánja 16,5 év volt. A vezető tünetek 31 esetben idegrendszeri jellegűek voltak: ataxia (15), epilepsziás rohamok (9), viselkedésváltozás (9). Az elvégzett szemfenékvizsgálat 28/30 esetben hipertenzív retinopathiára utalt. Koponya-MR vizsgálatot csak 4 esetben tudtak végezni, amely 3 esetben cerebrális vizenyőre utaló jeleket mutatott, vérzésre utaló lelet nem volt. Egy esetben az MR-vizsgálat nem mutatott elváltozást. A magas vérnyomás kezelésére amlodipin, telmisartan vagy a kettő kombinációját használták. A kezelés többnyire (92%) teljes vagy részleges remissziót eredményezett. A szerzők konklúziója, hogy a vérnyomás mérése idős macskán a rutinvizsgálat része kell legyen. E sorok szerzője azt is kiemelné, hogy a tünetek a kezeléssel többnyire javulnak, vagy megszűnnek.

**Macskák
hipertenzív
encephalopathiája
többnyire javul
a vérnyomás
rendezésével**

IRODALOM

- Glantschnigg-Eisl U, Klang A, Kneissl S, Lang B, Waters P, Irani SR, Binks SNM, Pakozdy A (2023) A feline model of spontaneously occurring autoimmune limbic encephalitis. *Vet J* 296–297:105974. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2023.105974>
- Mojarradi A, De Decker S, Van Meervenne S (2023) Once-a-day oral treatment with phenobarbital in cats with presumptive idiopathic epilepsy. *J Feline Med Surg* 25:1098612X231196806. <https://doi.org/10.1177/1098612X231196806>
- Pákozdy Á, Mikscha R, Jerzsele Á (2017) Szájon át adható antiepileptikumok macskák részére. *Magy Állatorvosok Lapja* 139:143–156
- Pákozdy Á (2018) Újdonságok az állatorvosi epilepsziakutatásban. *Magy Állatorvosok Lapja* 140:451–456
- Dohány A, Guija-de-Arespacochaga A, Fux D, Silberbauer C, Pákozdy Á (2023) A retrospective evaluation of phenobarbital-in-

duced hematologic changes in 69 cats. *Vet Clin Pathol* 52:601–606. <https://doi.org/10.1111/vcp.13259>

6. Balana Pedrol J, Seth M (2023) Complete recovery after suspected phenobarbital-induced acute liver failure in a dog. *Vet Rec Case Rep* 11:e608. <https://doi.org/10.1002/vrc2.608>

7. Charalambous M, Muñana K, Patterson EE, Platt SR, Volk HA (2024) ACVIM Consensus Statement on the management of status epilepticus and cluster seizures in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 38:19–40. <https://doi.org/10.1111/jvim.16928>

8. Moretto L, Beckmann K, Günther C, Herzig R, Rampazzo A, Suter A, Steffen F, Glaus T (2023) Manifestations of hypertensive encephalopathy in cats. *J Fel Med Surg* 25:1098612X231153357 [doi:10.1177/1098612X231153357](https://doi.org/10.1177/1098612X231153357)

Közlésre érkező: 2024. jan. 30.

***Vairimorpha (Nosema) ceranae* distribution based on a honey bee gut microbiome survey in Hungary**

M. Papp¹
L. Békési²
R. Farkas²
L. Makrai³
G. Maróti⁴
N. Solymosi^{*1,5}

1. Bioinformatikai Központ,
Állatorvostudományi
Egyetem, H-1078 Budapest

2. Parazitológiai és Állattani
Tanszék, Állatorvostudományi
Egyetem, Budapest

3. Autovakcina Kft., Budapest

4. HUN-REN Szegedi Biológiai
Kutatóközpont, Szeged

5. Komplex Rendszerek Fizikája
Tanszék, Eötvös Loránd
Tudományegyetem,
Budapest

*e-mail:
solymosi.norbert@gmail.com

***Vairimorpha (Nosema) ceranae* előfordulása Magyarországon, mézelő méhek (*Apis mellifera*) bélmikrobiom-felmérése alapján**

Papp Márton¹, Békési László², Farkas Róbert², Makrai László³, Maróti Gergely⁴, Solymosi Norbert^{*1,5}

ÖSSZEFOGLALÁS

Az európai mézelő méh (*Apis mellifera*), világszerte jelentős rovarfaj a mezőgazdaság számára. A méhcsaládokat számos kórokozó fenyegeti, köztük a *Vairimorpha (Nosema) apis* és *Vairimorpha (Nosema) ceranae* egysejtű gomba. Sokáig csupán a *V. apis* okozta kórkép (*nosemosis apium* – gyomorvész) volt ismert, azonban a közelmúltban egyre inkább az újonnan behurcolt *V. ceranae* előfordulása és kórtani szerepe vált jelentőssé. Egy korábbi vizsgálatukban a szerzők klímátikusan reprezentatív mintavételt végeztek a hazai méhcsaládokból márciusban és májusban, a méhek bélmikrobiomjának shotgun metagenomikai vizsgálata céljából. Minden mintában azonosítottak *V. ceranae* eredetű szekvenciákat. A kórokozó szignifikánsan gyakoribb volt májusban, valamint ugyanebben a mintavételi időpontban a csapadékosabb területeken. A *V. apis* fajnak nem találták a nyomát.

SUMMARY

Background: *Apis mellifera* is one of the most important arthropod species for agriculture. Several factors are known to compromise their health, posing a serious economic risk. Among these factors, pathogens and mainly parasites are especially important, including the single-celled fungi *Vairimorpha apis* and *Vairimorpha ceranae*. Historically, *V. ceranae* was not considered to infect *A. mellifera*; however, recently, it was found in this species as well and has become more prominent worldwide.

Objective: During a shotgun metagenomic survey on honey bees' gut bacteriome, we found sequences originating from *V. ceranae* in all of our samples. Our findings of this species in the Hungarian *A. mellifera* gut metagenome is presented in this study.

Materials and Methods: We have performed a climatically representative sampling on the Hungarian honey bee population in 2019. Twenty apiaries were selected for the analysis and sampled twice in the honey-producing season, at its onset (March) and peak (May). Shotgun metagenomic sequencing was performed to determine the microbiome composition of the samples. We have statistically analyzed the differences in *V. ceranae* relative abundance between the two sampling times and determined the effect of temperature and precipitation.

Results and Discussion: Reads classified as *V. ceranae* were found in all twenty samples at both sampling times, which indicates that this species is widely distributed in Hungary. Interestingly, *V. ceranae* was significantly more abundant in May, which could support the observations that the epidemiology of this species indeed shows a seasonal pattern. Despite the previous importance of *V. apis*, we were unable to identify this species in our samples. Considering the environmental factors, *V. ceranae* was significantly more abundant in samples from regions with higher precipitation in May.

HÁZI MÉH

A növények beporzásán és a méhészeti termékeken keresztül az európai mézelő méh (*Apis mellifera*) jelentősége az ember számára felbecsülhetetlen [1–3]. Az utóbbi évtizedekben a méhek életben maradását és termelőképességét számos tényező, így pl. a különféle kémiai anyagok széleskörű használata a mezőgazdaságban, valamint számos kórokozó veszélyezteti [4–6]. Az *A. mellifera* fertőző kórképei között kiemelkedő jelentőségűek a parazitózisok, közöttük is a *Varroa destructor* okozta atkakór (varroosis), valamint a nosemosis [5, 7, 8]. Ez utóbbi kórképben korábban a *Vairimorpha* (*Nosema*) *apis* (Microsporidia: Nosematidae) és újabban a *Vairimorpha* (*Nosema*) *ceranae* (Microsporidia: Nosematidae) fajoknak tulajdonítanak oktatni szerepet [7–9]. Ezek obligát intracelluláris parazitikus gombák [10, 11], amelyeket 2020-ban a *Nosema* nemzetségből a *Vairimorpha* nemzetségbe sorolták át [11].

Az utóbbi évtizedekben a méhek életben maradását és termelőképességét számos tényező veszélyezteti

Hazánkban korábban a gyomorvész okozó *V. apis* fordult elő

Az *A. mellifera* esetében korábban kizárólagosan a *V. apis* okozta fertőzés fordult elő [9, 12–14], amelyet hazánkban nosemosis, vagy gyomorvész néven régóta ismertek [15]. Az eredetileg az indiai méh (*Apis cerana*) saját kórokozójának tartott a *V. ceranae*-t 1996-ban írták le [16], amely gazdaspektrum-növekedés következtében az *A. mellifera* fertőzésére is képessé vált [9, 12–14]. Európában és Ázsiában egyaránt 2005-ben azonosították először *A. mellifera*-ban [17, 18], ezután több európai országban, köztük 2006-ban hazánkban is megfigyelték [12, 13, 15, 19]. Napjainkra a nosemosis kórokozói közül a *V. ceranae* vált dominánssá *A. mellifera*-ban is, ennek ellenére *V. apis* okozta fertőzöttség is előfordul [14, 15, 19–21]. Érdekesség, hogy többször leírtak vegyes fertőzéseket mind *A. mellifera* [12], mind *A. cerana* esetében [9]. A két legfontosabb fajon, vagyis a *V. apis* és *V. ceranae*-n kívül egyéb *Nosema* fajokat is megfigyeltek már *A. mellifera*-ban, amelyek kóroktani jelentősége még kérdéses [21].

A *Vairimorpha* fajok elsősorban a méhek középbelének hámsejtjeiben szaporodva fejtik ki kórokozó hatásukat

A *Vairimorpha* fajok elsősorban a méhek középbelének hámsejtjeiben szaporodva fejtik ki kórokozó hatásukat [14, 19, 21–23]. Miután kifejezetten a bélhez kötött patogénekről van szó, a bélsárnak jelentős szerepe van a kórokozó terjesztésében, akár a méhcsaládon belül, akár a külvilágban [14, 21, 22]. Kórlefolys tekintetében különbséget tapasztaltak a *V. apis* és *V. ceranae* által okozott kórképek között. Az előbbi esetében inkább heveny, hasmenéses tünetekkel járó kórlefolys jellemző, míg az utóbbi gyakran alakít ki idült megbetegedést [14, 19]. Ennek kialakulásában szerepe lehet ez utóbbi kórokozó és a méhek bélbakterioma között tapasztalt pozitív kapcsolatnak [23]. Az első kísérletes tanulmányok a *V. ceranae* fertőzöttséggel összefüggésben a méhek életkorának lerövidülését tapasztalták, így a kórokozót összefüggésbe hozták a kaptárelhagyás (Colony Collapse Disorder, CCD) tünetegyüttesével is [24]. Annak ellenére, hogy későbbi vizsgálatok során egymásnak ellentmondó eredményeket találtak [7, 13, 14, 20, 25, 26], úgy tűnik, hogy az utóbbi időben beigazolódni látszik ez a feltevés [27]. Járványtani szempontból fontos különbség, hogy a *V. apis* esetében jól ismert a fertőzöttség, a megbetegedések szezonálisága, míg a *V. ceranae* szezonálisan változó megjelenése [27–31] mellett az egész évben való előfordulást is lehet tapasztalni [27, 32].

Az újgenerációs szekvenálás elterjedésével megszorodott a méhek mikrobiomját célzó vizsgálatok száma

Az újgenerációs szekvenálás (new generation sequencing, NGS) elterjedésével megszorodott a méhek mikrobiomját célzó vizsgálatok száma [33–36]. Ezek jelentős része azonban a mintát alkotó baktériumközösség 16S rRNS-génjének szekvenálásán keresztül vizsgálja a bakterioma összetételét. Megemlítenédő azonban, hogy ez a megközelítés csupán korlátozott lehetőséget biztosít a mikrobióta egészének elemzésére. Az ún. shotgun metagenomika során azonban a minta teljes DNS-tartalmának feldarabolásával és az így kapott fragmentumok szekvenciájának véletlenszerű meghatározásával egy sokkal részletesebb képet nyerhetünk a mintát alkotó mikrobiális közösség összetételéről [37].

2019-ben országos mintagyűjtést végeztünk a mézelő méhek bélmikrobiom-variabilitásának szezonális és klimatikus (hőmérséklet és csapadékmennyiség sze-

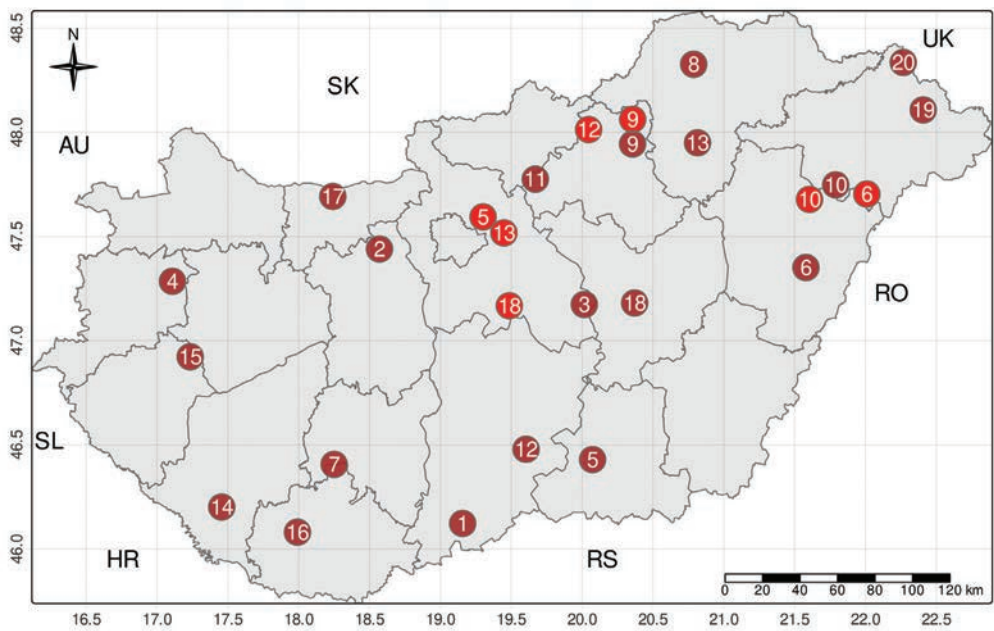
rinti) megismerése céljából. Mintáinkat shotgun metagenom szekvenálással szekvenáltuk, ahol a bélbakteriom vizsgálatán túl [36] lehetőségünk volt a mikrobióta egyéb alkotóinak, így a pl. a vírusok, úgymint az *Apis mellifera* filamentous virus [38], valamint a *V. ceranae* jelenlétének, továbbá szezonális és klimatikus variabilitásának meghatározására. Ez utóbbi kórokozó faj vizsgálata során kapott eredményeinket jelen tanulmányunkban mutatjuk be.

ANYAG, MÓDSZER

MINTAGYŰJTÉS ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

A szerzők éghajlati környezetük alapján országosan reprezentatív módon összesen 20 méhészetből vettek mintákat

A mintavétel tervezésének és lebonyolításának részletei megtalálhatók a PAPP és mtsai (2022) közleményének anyag és módszer című fejezetében [36]. E helyen csak az eredmények értelmezéséhez szükséges részleteket foglaljuk össze. 2019-ben egy az országra térben kiegyensúlyozott mintavételre került sor, amely során két alkalommal, a méztermelési időszak kezdetén (március) és csúcspontján (május) gyűjtöttünk méheket. Összesen 20 méhészetet (1. ábra) választottunk ki, úgy, hogy éghajlati környezetük alapján országosan reprezentatív mintát kapjunk. Az éghajlati környezetet az éves akkumulált növekedési foknappal (growing degree days, GDD) és az éves csapadékkal jellemeztük. A méhészetek kiválasztásának alapját a járások adták, amelyeket a környezeti változók szerint két-két



1. ÁBRA. Mintavételi pontok Magyarországon, vármegyehatárokkal

A barna pontok a márciusi, ill. a nem vándorló állományok májusi mintavételi helyét, míg a piros pontok a májusban vándorló állományokat (5., 6., 9., 10., 12., 13., 18. azonosítójú) jelzik. A 20. méhészet esetében a két mintavétel közti földrajzi eltérés olyan kicsi, hogy a térképen nem ábrázoltuk külön. A szomszédos országok ISO 2 jelölése: Ausztria (AU), Horvátország (HR), Románia (RO), Szerbia (RS), Szlovákia (SK), Szlovénia (SL), Ukrajna (UK)

FIGURE 1. Sampling points in Hungary with county boundaries

The brown dots indicate the March sampling sites and the May sampling sites of non-migratory apiaries, while the red dots indicate the May migratory apiaries (ID: 5, 6, 9, 10, 12, 13, 18). For apiary 20, the geographical difference between the two sampling dates is so small that it is not shown separately on the map. Neighbouring countries are presented by ISO 2 character codes: Austria (AU), Croatia (HR), Romania (RO), Serbia (RS), Slovakia (SK), Slovenia (SL), Ukraine (UK)

Méhészetenként
három-három
családból gyűjtött 10-10
egészséges dolgozó
gyomor-bélrendszerét
távolították el
szekvenálás céljából

Az Illumina Nextseq
szekvenálóval kapott
rövid szekvenciákat
bioinformatikai
módszerekkel elemezték

Az adatok elemzése
során azonosították
a *V. ceranae* genetikai
állományát
a mintákban

osztályba soroltuk. Így a GDD alapján hűvösebb és melegebb, a csapadék alapján szárazabb és csapadékosabb járásokat azonosítottunk. A mintavételhez, éghajlati tulajdonságaik alapján, 20 reprezentatív járást választottunk ki. Ezekből a járásokból egy-egy méhészetet választottunk, ahol elvégeztük a mintavételt. A méhcsaládok vándoroltatása miatt 8 méhészet (5., 6., 9., 10., 12., 13., 18. és 20. azonosítójú) állománya a márciusi mintavételtől eltérő földrajzi helyre került a májusi mintavételre, a részleteket az 1. ábra mutatja. A 20. méhészet esetében ez az eltérés olyan kicsi volt, hogy a térképen nem különül el. Méhészetenként három-három családból gyűjtött egyedekből családonként 10 egészséges dolgozó gyomor-bélrendszerét távolítottuk el szekvenálás céljából. Ennek során mindkét mintavételi időponthoz méhészetenként egy-egy kevert mintát, ún. pool-t hoztunk létre. Ezekből a pool-ozott mintákból Illumina NextSeq szekvenálóval párosított végű rövid leolvasási szekvenciákat, ún. paired-end short read-eket generáltunk.

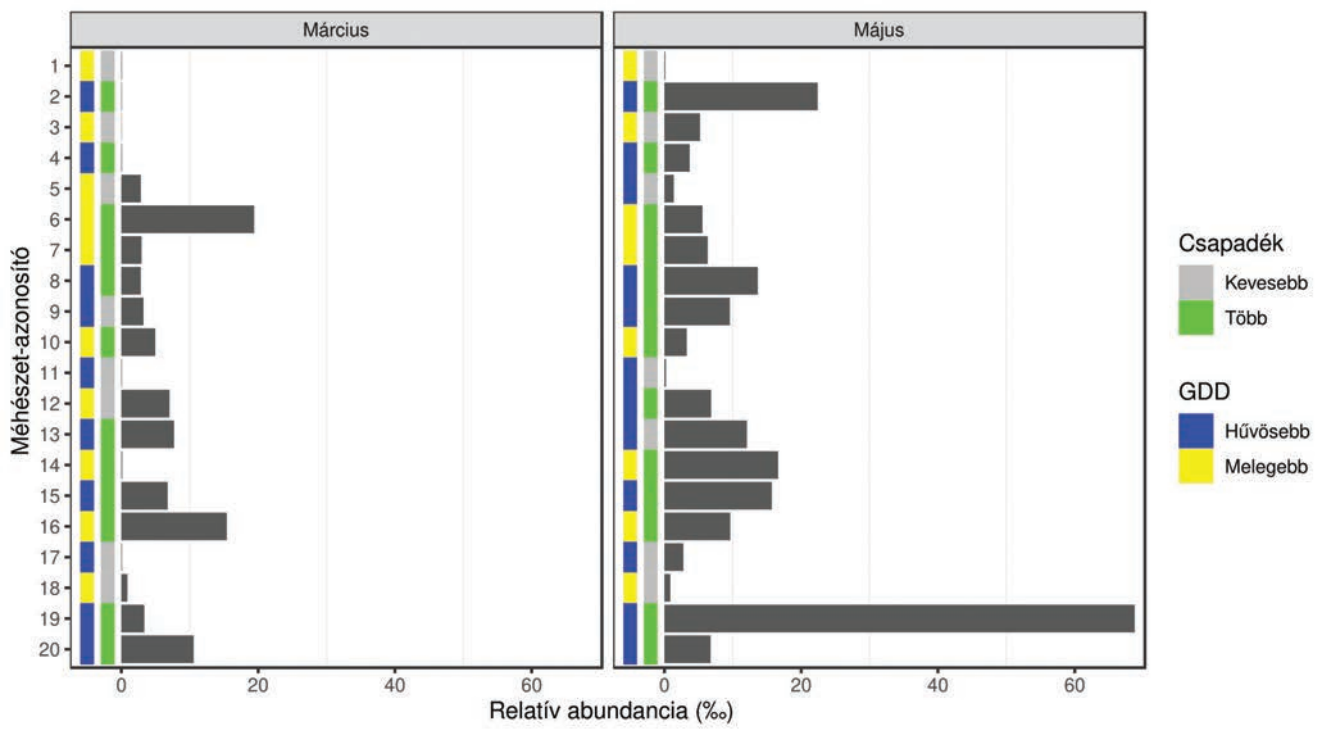
BIOINFORMATKAI ÉS STATISZTIKAI ELEMZÉSEK

A minőség alapú szűrést, valamint a nyers leolvasási szekvenciák (short read-ek) nem megfelelő minőségű szakaszainak eltávolítását (ún. trimmelését) az Adapterremoval [39] szoftverrel végeztük, 20-as minőségi küszöbértéket használva, és csak az 50 bp-nél hosszabb szekvenciákat megtartva. Az így megmaradt read-eket a Kraken2 [40] szoftver segítségével osztályoztuk taxonómiaiilag (35 bázispár hosszúságú k-mereket használva), az EuPathDB46-Clean adatbázis felhasználásával [41]. A taxon-osztályozási eredményeket a phyloseq [42] és a microbiome R-csomag függvényeivel dolgoztuk fel [43]. A szezonális és időjárási csoportokban kapott abundanciák közötti eltéréseket a DESeq2 csomaggal elemeztük [44]. A szezonális hatás elemzése során ún. kevert modellt alkalmaztunk az ismételt mérések kezelésére, amelyben a méhészetek, mint random tényezők szerepeltek. A statisztikai tesztek eredményéhez kétoldali p-értéket adtunk meg, amelyeknél a 0,05-nél kisebb értékeket tekintettük szignifikánsnak. A rövid leolvasási szekvenciák hosszabb, összefüggő szakaszokká történő összeillesztését (az ún. de novo assembly-t) MEGAHIT (v1.2.9) [45] segítségével végeztük, a kontigok (összeillesztett szakaszok) pontosításához a POLCA (v4.1.0) szoftvert használtuk [46]. A filogenetikai elemzést a polar tube protein 1 (PTP1) gén nukleinsav-szekvenciái alapján végeztük el, melynek során a saját és a nyilvános adatbázisokban elérhető szekvenciákat páronként blastn [47] segítségével összehasonlítottuk, valamint feltételezett kapcsolatot egy genetikai törzsfán ábrázoltuk. A törzsfá [48] alapját a MAFFT [49] (v7.490) segítségével végzett többszörös szekvenciaillesztés (multiple sequence alignment, MSA) képezte. A legjobb szubsztitúciós modellt a phangorn [50] csomag függvényeivel választottuk ki, a bayes-i információs kritérium (Bayesian information criterion, BIC) alapján. A generált neighbor-joining fát maximum-likelihood módszerrel optimalizáltuk. A bootstrap-értékeket 100 iterációval állítottuk elő. Minden adatfeldolgozás és ábrázolás R-környezetben történt [51].

EREDMÉNYEK

A shotgun metagenomikai szekvenálás 311 931 és 546 924 közötti párosított végű short read-et generált a mintákból, az átlag 413 629 volt. Az összes mintában ($n = 40$) azonosítani tudtunk *V. ceranae* eredetű szekvenciákat, amelyek mintánkénti relatív gyakoriságát a 2. ábra foglalja össze. A *V. ceranae*-hoz rendelt read-ek minimális, maximális és medián mintánkénti száma 16, 31 373, ill. 1 758. Megemlítendő, hogy találtunk néhány read-et, amely egy másik *Nosematidae* családba sorolt microsporidium, a *Nosema bombycis* genomjára illeszkedett (minimum: 11, maximum: 60, medián: 29).

A *V. ceranae* szezonális és klimatikus viszonyok szerinti különbségének mértékét az ún. fold change segítségével jellemeztük, amely egy becslés az egyes vizsgált



2. ÁBRA. A *Vairimorpha ceranae*-hoz sorolt read-ek relatív abundanciája az első (márciusi) és második (májusi) mintavétel idején
Az ábrán színekkel jelöltük az éves akkumulált növekedési foknap (GDD) és a csapadékmennyiség, mint éghajlati változók szerinti kategóriákat

FIGURE 2. Relative abundance of *Vairimorpha ceranae* originated reads for the first (March) and second (May) sampling
The environmental condition, growing degree-day (GDD), and precipitation categories of sampling sites are also marked

A csapadékosabb területekről, ill. a májusban gyűjtött mintákban nagyobb mennyiségben azonosítottak *V. ceranae* eredetű szekvenciákat

kategóriák közötti gyakoriság arányok eltérésének mértékére. A statisztikai elemzéseink szerint a *V. ceranae*-ból származó read-ek nagyobb számban fordultak elő a májusi mintákban ($n = 20$), mint a márciusi mintákban ($n = 20$) (FC: 3,13, 95%CI: 1,61–6,11, $p < 0,001$). A márciusi minták esetében a hőmérséklet és csapadék tekintetében nem tudtunk szignifikáns különbségeket feltárni, azonban a melegebb területekről gyűjtött mintákban ($n = 10$) nagyobb mennyiségben azonosítottuk a *V. ceranae* eredetű szekvenciákat, mint a hűvösebb területekről gyűjtött minták ($n = 10$) esetében (FC: 1,66, 95%CI: 0,44–6,21, $p = 0,451$). Ugyanezen mintavétel esetén a csapadékosabb ($n = 12$) területekről gyűjtött mintákban nagyobb arányban azonosítottuk a *V. ceranae*-hoz sorolt read-eket, mint a szárazabb ($n = 8$) területekről gyűjtött mintákban (FC: 2,98, 95%CI: 0,81–10,97, $p = 0,101$).

Májusban a hőmérséklet esetében szintén nem figyeltünk meg szignifikáns különbséget, azonban a melegebb területekről gyűjtött mintákban ($n = 8$) kisebb mennyiségben tudtunk *V. ceranae* eredetű read-eket azonosítani (FC: 0,44, 95%CI: 0,16–1,20, $p = 0,107$). Csapadékosabb ($n = 13$) területek esetében azonban a májusi minták szignifikánsan nagyobb arányban tartalmaztak *V. ceranae* eredetű read-eket, mint a szárazabb ($n = 7$) területekről gyűjtöttek (FC: 3,77, 95%CI: 1,42–10,00, $p = 0,008$).

A májusi minták közül a 19. méhészet esetében, de novo assembly (vagyis a szekvenciák hosszabb, összefüggő szakaszokká történő összeillesztése) segítségével létre tudtuk hozni a *PTP1* gén egy 649 bp hosszúságú darabját. Ez a szakasz a blastn-el végzett páronkénti illesztés alapján a JF772107.1 "NCBI accession ID" azonosítójú *PTP1* génnel mutatta a legnagyobb egyezőséget (szekvenciális

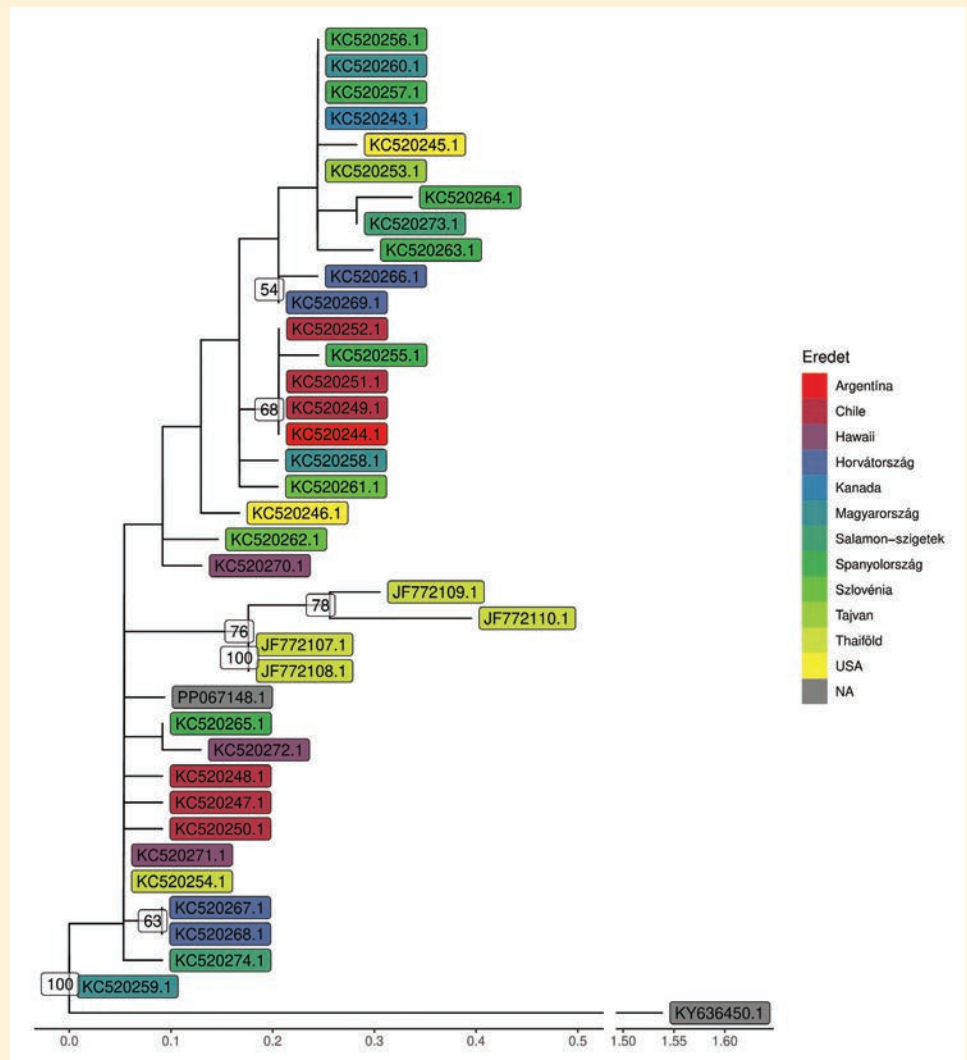
azonosság: 644/650; gap: 2/650). A 3. ábra a *PTP1* gén DNS-szekvenciáján alapuló génfát mutatja. A fa elkészítéséhez a BIC alapján legjobbként azonosított TPM1u szubsztitúciós modellt használtuk.

3. ÁBRA. A polar tube protein 1 (PTP1) DNS szekvenciája alapján készített törzsfa

A mintákat a hozzájuk tartozó NCBI accession ID azonosítók jelölik. A *Nosema bombycis* (KY636450.1) PTP1 génszekvenciáját, mint csoporton kívüli mintát használtuk a fa elkészítéséhez. A PP067148.1 azonosító jelöli azt a PTP1 szekvenciát, amelyet a 19-es méhészet májusi mintavételi eredményéből illesztettünk össze. Az 50%-nál nagyobb bootstrap-támogatottságú értékek a fa ágain jelölve vannak

FIGURE 3. Gene-tree based on the DNA sequence of the polar tube protein 1 (PTP1)

NCBI accession IDs are shown, and the *Nosema bombycis* (KY636450.1) was used as an outgroup. The PP067148.1 item represents the PTP1 sequence assembled from the sample collected in May at the apiary nr. 19. Bootstrap support levels above 50% are indicated by the numbers at the branches



MEGVITATÁS

Valamennyi vizsgált mintában találtak *V. ceranae*-hoz sorolt szekvenciákat

Mintáink mindegyike tartalmazott a taxonómiai azonosítás során *V. ceranae*-hoz sorolt szekvenciákat. Miután eredményeink az ország területére térben kiegyensúlyozott mintából származtak, így megállapítható, hogy a faj rendkívül széleskörben elterjedt hazánkban, és a fertőzöttség valószínűleg a hazai méhcsaládok jelentős részét érinti. A parazita magyarországi elterjedésére vonatkozó megfigyelésünk összhangban van a korábban leírtakkal, ahol Csáki és mtsai (2015) [32] 90% feletti prevalenciával találták meg a fajt mintáikban. Annak ellenére azonban, hogy egyes mediterrán országokban [52], valamint az Egyesült Államok Texas államában [53] az általunk megfigyelthez hasonlóan nagy prevalenciáról számoltak be, a legtöbb vizsgálat során ezeknél kisebb értékeket tapasztaltak [54–58]. Fontos azonban megjegyezni, hogy az alkalmazott módszer jelentősen befolyásolhatja a becslések pontosságát, így pl. Csáki és mtsai (2015) [32] a PCR-alapú vizsgálatok esetén nagyobb érzékenységről számoltak be a fénymikroszkópos technikákkal szemben.

A közelmúltig igen jelentős *V. apis* eredetű read-eket nem sikerült azonosítaniuk

A vizsgálatok során egy Európában eddig nem leírt faj, a *Nosema bombicis* genomját is azonosították

A *V. ceranae* okozta fertőzöttség mértéke általában a tavaszi vagy nyári hónapokban jelentősebb

Az általunk végzett felmérésben a méhcsaládok beválogatásánál feltételként szabtuk meg, hogy a méhészek nem tapasztaltak állományukban betegségekre utaló tüneteket. Ennek megfelelően eredményünk is alátámasztja, hogy a *V. ceranae* jelen lehet egészségesnek tűnő méhcsaládokban is. Ez nem meglepő, hiszen a kórokozóval kapcsolatban megállapították, hogy gyakran okoz krónikus, akár hosszabb ideig tünetmentes fertőződést [7, 14, 23, 25], ahol fontos szerepe lehet a különféle stresszoroknak a betegség kialakulásában [58]. Ez a jelenség különösen veszélyessé teszi a *V. ceranae*-t, hiszen bizonyos esetekben csupán olyan késői tünetekben nyilvánul meg a fertőződés, mint a kaptárelhagyás jelensége [27].

Az Európában rendkívül domináns *V. ceranae* mellett azonban a közelmúltig igen jelentős *V. apis* eredetű read-eket nem sikerült azonosítanunk mintáinkban. Ennek oka lehet a parazita teljes hiánya az általunk vizsgált méhcsaládokban, azonban az is elképzelhető, hogy olyan kis arányban volt jelen ez a faj a mikrobiótában, hogy a kimutatása az általunk alkalmazott szekvenálási mélységgel nem volt lehetséges. Csáki és mtsai (2015) [32] olyan kevés *V. apis*-szal fertőzött családott találtak a magyarországi felmérésükben, hogy esetünkben akár a faj teljes hiánya sem tűnik valószínűtlennek.

Mindamellet, hogy a *V. apis*-t nem sikerült azonosítani, találtunk olyan leolvasási szekvenciákat, amelyek egy másik microsporidium, a szintén *Nosematidae* családba tartozó *Nosema bombicis* [11] genomjára illeszkedtek. Ez a faj a selyemhernyók (*Bombyx mori*) nosematosis-át okozza [59], és legjobb tudomásunk szerint egyelőre még nem írták le európai mézelő méhek esetében. Annak az okát, hogy szekvenciáink mégis erre a genomra illeszkedtek, magyarázhatjuk az általunk alkalmazott módszer specifitásával, amelyet jelentősen befolyásolhat a genomok hasonlósága, valamint az adatbázisok minősége. Mindamellet azonban, hogy a megfigyelésünk legnagyobb valószínűség szerint téves pozitív találat, mindenképpen érdemesnek tartottuk megemlíteni, hiszen az *N. bombicis* egyben a *Nosema* nemzetség típusfaja is.

Felmérésünkben nem találtunk különbséget a fertőzöttséget mutató méhészek számában a márciusi és májusi mintavételi időpontok között, amely elsőre nem meglepő, hiszen a *V. ceranae* esetében többször megfigyelték már, hogy szezonális ingadozás nélkül, egész évben jelen van [27, 32]. Mindezek ellenére azonban a parazita részaránya a metagenom-mintáinkban szignifikánsan nagyobb (több, mint háromszorosa) értéket mutatott a májusi mintáinkban. Ez a megfigyelésünk azonban alátámaszthatja azokat az eredményeket, miszerint a *V. ceranae* okozta fertőzöttség mértéke szezonálisan változó lehet, ahol általában a tavaszi vagy nyári hónapokban tapasztalható jelentősebb fertőzöttség [27–31].

A kórokozó gyakoriságának változásában, valamint ezzel együtt akár a szezonális kialakulásában több faktor is szerepet játszhat [27], ezek közül pedig fontos lehet a különféle környezeti és éghajlati tényezők hatása. Ismert, pl., hogy a *V. ceranae* elsősorban a melegebb hőmérsékleten tud optimálisan szaporodni [58], valamint a *V. apis*-hoz képest nagyobb érzékenységet mutat a hidegre [13, 60]. Ezzel összhangban saját megfigyeléseink is alátámaszthatják a hőmérséklet jelentőségét, hiszen a mintákban nagyobb arányban figyeltük meg a *V. ceranae*-t a melegebb régiókból származó családok esetében. Fontos megjegyezni azonban, hogy miután a hőmérsékleti adatok a 10 éves GDD-átlag alapján lettek meghatározva, így a valós hőmérséklet-különbségek nem álltak rendelkezésünkre, amely akár magyarázhatja, hogy nem sikerült szignifikáns eltéréseket azonosítanunk.

Törökországban megfigyelték, hogy a csapadékosabb területeknek fontos szerepe van a *V. apis* járványtanában [61]. Mindezen túl ez a faj a szezonális ingadozása során is a hideg és magas páratartalmú időszakban szaporodik el jelentősen [27]. Ennek oka lehet az is, hogy a méhek ilyenkor több időt töltenek a kaptárokon belül [20]. *V. ceranae* esetében azonban eddig nem tudtak összefüggést kimutatni a kórokozó és a csapadék viszonylatában [20, 53], csupán magasabb páratartalmú

területeken figyelték meg a fokozottabb jelenlétét [52, 62]. Ezekkel az eredményekkel szemben a mi felmérésünk szignifikáns kapcsolatot tárt fel a parazita mennyisége és a csapadék között a májusi mintavétel során nyert mintáink esetében. Megfigyelésünk így jelezheti ennek a környezeti tényezőnek a fontosságát a *V. ceranae* terjedésében.

Célunk volt az általunk *V. ceranae*-ként azonosított leolvasási szekvenciák alapján a hazai törzseket összehasonlítani a nyilvános adatbázisokban elérhetővel. Ehhez a szekvenciákat mintánként hosszabb szakaszokká illesztettük össze, ún. de novo assembly-t végeztünk. Ennek során a 19-es mintában azonosítani tudtuk a PTP1 gén szekvenciáját. Ez a gén a parazita poláris tubulusát (amely a sejtekbe történő bejutásában játszik fontos szerepet) alkotó öt fehérje közül kódolja az egyiket [63]. Az általunk azonosított PTP1 génszekvencián (ezt a szekvenciát PP067148.1 azonosítóval jelöltük 3. ábránkon) kívül az NCBI GenBank adatbázisában még három, Magyarországról származó PTP1-szekvencia érhető el, amelyeket GOMEZ-MORACHO és mtsai (2015) adtak közre [64]. Elvégeztük a saját szekvenciánk és a nyilvános adatbázisokban elérhető egyéb PTP1 szekvenciák összehasonlítását. Ennek során a páronkénti szekvencia-összehasonlításban egy thaiföldi szekvenciával (JF772107.1) mutatta a legnagyobb hasonlóságot. Mindezek ellenére azonban a mintánk a szekvenciaillesztések alapján készített törzsfán két klaszter közé esett. Ezek egyike több thaiföldi mintát tartalmaz, míg a másik egy spanyolországi és hawaii mintát.

A *V. ceranae* jelentőségét elsősorban a mézelő méhek megbetegítésén keresztül okozott gazdasági kár jelenti, azonban fontos megemlíteni a parazita terjedésének ökológiai kockázatát is. Ahogyan a *V. ceranae* az eredetinek gondolt gazdafajról, vagyis az *A. cerana*-ról átkerült az európai mézelő méhre [12], úgy akár más, ökológiai jelentőségű rovarfajok fertőzésére is képessé válhat. Ez a kockázat különösen jelentős, hiszen megfigyelték a jelenlétét *A. cerana*-n és *A. mellifera*-n túl más *Apis* nemzetségbe [65], valamint különféle *Bombus* nemzetségbe tartozó fajok esetében [66, 67], ill. kimutatták *Meliponini* fajokból és *Polybia scutellaris*-ból [68]. Mindezekon túl az *Osmia bicornis* kísérletes fertőzés során érzékenységet mutatott a parazitával szemben [69]. A vadméhek, mint szintén különös jelentőségű beporzók, ökológiailag és gazdaságilag is igen jelentős fajok [70], amelyek azonban gyakran mutatnak fokozottabb érzékenységet bizonyos károsító hatásokkal szemben, mint ahogyan azt pl. peszticidek esetében már leírták [71]. A *V. ceranae* jelentősége így az agráriumban tartott szociális méhfajok károsításán keresztül kifejtett gazdasági károkozó hatásán túl sokkal jelentősebb lehet [21].

Eredményeink tehát megerősítik a *Vairimorpha ceranae* hazai előfordulására vonatkozó korábbi adatokat, ezzel kiemelve a faj jelentőségét a magyarországi méhészetekben. Megfigyeléseink, az eddigi hazai vizsgálatokkal ellentétben a faj szezonális ingadozásának jelentőségére, valamint az éghajlati tényezők szerepére hívják fel a figyelmet. Ennek megfelelően, azért, hogy a *V. ceranae* epidemiológiáját jobban megértsük a hazai méhészetekben, szükség van a kórokozó és környezete kapcsolatrendszerének (stressz-tényezők) mélyebb feltárására. Ennek ismerete alapvető fontosságú lehet az ellene folytatott védekezésben, mivel specifikus gyógyszer jelenleg nem áll rendelkezésre.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

KÖVESHEGYI RAJNALD ANDRÁS OCist emlékére. Köszönetet mondunk a méhészeknek, nélkülözhetetlen segítségükért. A projekt az Európai Unió Horizon 2020 kutatási és innovációs programjából, a 874735. számú támogatási megállapodás (VEO) keretében is kapott támogatást. PM-et támogatta az ÚNKP-22-3-II. Új Nemzeti Kiválósági Program a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap forrásából. GM a Magyar Tudományos Akadémia a Lendület-programján (LP2020-5/2020) keresztül kapott támogatást.

A *V. ceranae* a
vadméhekre is
veszélyt jelenthet

IRODALOM

1. Ványi GÁ, Csapó Z, Kárpáti L (2012) Externality effects of honey production. *Applied Studies in Agribusiness and Commerce* 6:63–67. <https://doi.org/10.19041/APSTRACT/2012/1-2/8>
2. Hristov P, Neov B, Shumkova R, Palova N (2020) Significance of Apoidea as main pollinators. Ecological and economic impact and implications for human nutrition. *Diversity* 12:280. <https://doi.org/10.3390/d12070280>
3. Patel V, Pauli N, Biggs E, Barbour L, Boruff B (2021) Why bees are critical for achieving sustainable development. *Ambio* 50:49–59. <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01333-9>
4. Oldroyd BP (2007) What's killing American honey bees? *PLoS Biol* 5:e168. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050168>
5. Békési L (2008) A szokatlan méhpusztulásokról. *Magy Állatorvosok Lapja* 130:551–557
6. Morawetz L, Köglberger H, Griesbacher A, Derakhshifar I, Crailsheim K, Brodschneider R, Moosbeckhofer R (2019) Health status of honey bee colonies (*Apis mellifera*) and disease-related risk factors for colony losses in Austria. *PLoS ONE* 14:e0219293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219293>
7. Marín-García PJ, Peyre Y, Ahuir-Baraja AE, Garijo MM, Llobat L (2022) The role of *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae) in honey bee colony losses and current insights on treatment. *Vet Sci* 9:130. <https://doi.org/10.3390/vetsci9030130>
8. Nekoei S, Rezvan M, Khamesipour F, Mayack C, Molento MB, Revainera PD (2023) A systematic review of honey bee (*Apis mellifera*, Linnaeus, 1758) infections and available treatment options. *Vet Med Sci* <https://doi.org/10.1002/vms3.1194>
9. Chen Y, Evans JD, Zhou L, Boncristiani H, Kimura K, Xiao T, Litkowski A, Pettis JS (2009) Asymmetrical coexistence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in honey bees. *J Invertebr Pathol* 101:204–209. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.05.012>
10. Adl SM, Simpson AG, Farmer MA, Andersen RA, Anderson OR, Barta JR, Bowser SS, Brugerolle G, Fensome RA, Fredericq S, others (2005) The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J Eukaryot Microbiol* 52:399–451. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2005.00053.x>
11. Tokarev YS, Huang W-F, Solter LF, Malysh JM, Becnel JJ, Vossbrink CR (2020) A formal redefinition of the genera *Nosema* and *Vairimorpha* (Microsporidia: Nosematidae) and reassignment of species based on molecular phylogenetics. *J Invertebr Pathol* 169:107279. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107279>
12. Klee J, Besana AM, Genersch E, Gisder S, Nanetti A, Tam DQ, Chinh TX, Puerta F, Ruz JM, Kryger P, others (2007) Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *J Invertebr Pathol* 96:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.02.014>
13. Fries I (2010) *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 103:S73–S79. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.017>
14. Higes M, Martín-Hernández R, Meana A (2010) *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie* 41:375–392. <https://doi.org/10.1051/apido/2010019>
15. Tapaszi Z, Forgách P, Kővágó C, Békési L, Bakonyi T, Rusvai M (2009) First detection and dominance of *Nosema ceranae* in Hungarian honeybee colonies. *Acta Vet Hung* 57:383–388. <https://doi.org/10.1556/avet.57.2009.3.4>
16. Fries I, Feng F, Silva A da, Slemenda SB, Pieniazek NJ (1996) *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *Eur J Protistol* 32:356–365. [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(96\)80059-9](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(96)80059-9)
17. Higes M, Martín R, Meana A (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J Invertebr Pathol* 92:93–95. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.02.005>
18. Huang W-F, Jiang J-H, Chen Y-W, Wang C-H (2007) A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie* 38:30–37. <https://doi.org/10.1051/apido:2006054>
19. Chen YP, Huang ZY (2010) *Nosema ceranae*, a newly identified pathogen of *Apis mellifera* in the USA and Asia. *Apidologie* 41:364–374. <https://doi.org/10.1051/apido/2010021>
20. Martín-Hernández R, Meana A, Prieto L, Salvador AM, Garrido-Bailón E, Higes M (2007) Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl Environ Microb* 73:6331–6338. <https://doi.org/10.1128/AEM.00270-07>
21. Grupe AC, Quandt CA (2020) A growing pandemic: A review of *Nosema* parasites in globally distributed domesticated and native bees. *PLoS Pathogens* 16:e1008580. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008580>
22. Huang Q, Kryger P, Le Conte Y, Moritz RF (2012) Survival and immune response of drones of a *Nosemosis* tolerant honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *J Invertebr Pathol* 109:297–302. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.01.004>
23. Zhang Y, Su M, Wang L, Huang S, Su S, Huang W-F (2021) *Vairimorpha* (*Nosema*) *ceranae* infection alters honey bee microbiota composition and sustains the survival of adult honey bees. *Biology* 10:905. <https://doi.org/10.3390/biology10090905>
24. Higes M, García-Palencia P, Martín-Hernández R, Meana A (2007) Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with the Microsporidia *Nosema ceranae*. *J Invertebr Pathol* 94:211–217. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.11.001>
25. Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, Bailón EG, González-Porto AV, Barrios L, Del Nozal MJ, Bernal JL, Jiménez JJ, Palencia PG, others (2008) How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environ Microbiol* 10:2659–2669. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01687.x>
26. Genersch E, Von Der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Büchler R, Berg S, Ritter W, Mühlen W, Gisder S, others (2010) The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie* 41:332–352. <https://doi.org/10.1051/apido/2010014>
27. Martín-Hernández R, Bartolomé C, Chejanovsky N, Le Conte Y, Dalmon A, Dussaubat C, García-Palencia P, Meana A, Pinto MA, Soroker V, others (2018) *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. *Environ Microbiol* 20:1302–1329. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14103>
28. Gisder S, Hedtko K, Möckel N, Frielitz M-C, Linde A, Genersch E (2010) Five-year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*? *Appl Environ Microb* 76:3032–3038. <https://doi.org/10.1128/AEM.03097-09>
29. Copley T, Chen H, Giovenazzo P, Houle E, Jabaji S (2012) Prevalence and seasonality of *Nosema* species in Québec honey bees. *Can Entomol* 144:577–588. <https://doi.org/10.4039/tce.2012.46>
30. Stevanovic J, Simeunovic P, Gajic B, Lakic N, Radovic D, Fries I, Stanimirovic Z (2013) Characteristics of *Nosema ceranae*

infection in Serbian honey bee colonies. *Apidologie* 44:522–536. <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0203-z>

31. Emsen B, De la Mora A, Lacey B, Eccles L, Kelly PG, Medina-Flores CA, Petukhova T, Morfin N, Guzman-Novoa E (2020) Seasonality of *Nosema ceranae* infections and their relationship with honey bee populations, food stores, and survivorship in a North American region. *Vet Sci* 7:131. <https://doi.org/10.3390/vetsci7030131>

32. Csáki T, Heltai M, Markolt F, Kovács B, Békési L, Ladányi M, Péntek-Zakar E, Meana A, Botás C, Martín-Hernández R, others (2015) Permanent prevalence of *Nosema ceranae* in honey bees (*Apis mellifera*) in Hungary. *Acta Vet Hung* 63:358–369. <https://doi.org/10.1556/004.2015.034>

33. Moran NA, Hansen AK, Powell JE, Sabree ZL (2012) Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. *PLoS ONE* 7:e36393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036393>

34. Anderson KE, Ricigliano VA, Mott BM, Copeland DC, Floyd AS, Maes P (2018) The queen's gut refines with age: Longevity phenotypes in a social insect model. *Microbiome* 6:1–16. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0489-1>

35. Regan T, Barnett MW, Laetsch DR, Bush SJ, Wragg D, Budge GE, Highet F, Dainat B, De Miranda JR, Watson M, Blaxter M, Freeman TC (2018) Characterisation of the British honey bee metagenome. *Nat Commun* 9:1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07426-0>

36. Papp M, Békési L, Farkas R, Makrai L, Judge MF, Maróti G, Tózsér D, Solymosi N (2022) Natural diversity of the honey bee (*Apis mellifera*) gut bacteriome in various climatic and seasonal states. *PLoS ONE* 17:e0273844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273844>

37. Krikó E, Farkas R, Adorján A, Makrai L, Solymosi N (2018) Metagenomika – a velünk élő mikroorganizmusok megismerésének új megközelítése. *Magy Állatorvosok Lapja* 140:423–429

38. Papp M, Tóth AG, Békési L, Farkas R, Makrai L, Maróti G, Solymosi N (2023) *Apis mellifera* filamentous virus from a honey bee gut microbiome survey in Hungary. *bioRxiv* 2023–07. <https://doi.org/10.1101/2023.07.17.549372>

39. Schubert M, Lindgreen S, Orlando L (2016) AdapterRemoval v2: rapid adapter trimming, identification, and read merging. *BMC Research Notes* 9:88. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-1900-2>

40. Wood DE, Lu J, Langmead B (2019) Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol* 20:1–13. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>

41. Lu J, Salzberg SL (2018) Removing contaminants from databases of draft genomes. *PLoS Comput Biol* 14:e1006277. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006277>

42. McMurdie S, Paul J, AND Holmes (2013) phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE* 8:1–11. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl842>

43. Lahti L, Shetty S microbiome R package. <http://microbiome.github.io>

44. Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 15:1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>

45. Li D, Liu C-M, Luo R, Sadakane K, Lam T-W (2015) MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and

complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics* 31:1674–1676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv033>

46. Zimin AV, Salzberg SL (2020) The genome polishing tool POLCA makes fast and accurate corrections in genome assemblies. *PLoS Comput Biol* 16:e1007981. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007981>

47. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)

48. Yu G, Smith D, Zhu H, Guan Y, Lam TT-Y (2017) ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods Ecol Evol* 8:28–36. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12628>

49. Katoh K, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol* 30:772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

50. Schliep K, Potts AJ, Morrison DA, Grimm GW (2017) Intertwining phylogenetic trees and networks. *Methods Ecol Evol* 8:1212–1220. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12760>

51. R Core Team (2023) R: A Language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>

52. Jabal-Uriel C, Barrios L, Bonjour-Dalmon A, Caspi-Yona S, Chejanovsky N, Erez T, Henriques D, Higes M, Le Conte Y, Lopes AR, others (2022) Epidemiology of the microsporidium *Nosema ceranae* in four mediterranean countries. *Insects* 13:844. <https://doi.org/10.3390/insects13090844>

53. Rangel J, Baum K, Rubink WL, Coulson RN, Johnston JS, Traver BE (2016) Prevalence of *Nosema* species in a feral honey bee population: a 20-year survey. *Apidologie* 47:561–571. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0401-y>

54. Papini R, Mancianti F, Canovai R, Cosci F, Rocchigiani G, Benelli G, Canale A (2017) Prevalence of the microsporidian *Nosema ceranae* in honeybee (*Apis mellifera*) apiaries in Central Italy. *Saudi J Biol Sci* 24:979–982. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.01.010>

55. Shumkova R, Georgieva A, Radoslavov G, Sirakova D, Dzhebiri G, Neov B, Bouga M, Hristov P (2018) The first report of the prevalence of *Nosema ceranae* in Bulgaria. *PeerJ* 6:e4252. <https://doi.org/10.7717/peerj.4252>

56. González SAC, Valencia GL, Cabrera CO, Gomez Gomez SD, Torres KM, Blandón KOE, Guerrero Velazquez JG, Paz LES, Trasvina Munoz E, Monge Navarro FJ (2020) Prevalence and geographical distribution of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in apiaries of Northwest Mexico using a duplex real-time PCR with melting-curve analysis. *J Apicult Res* 59:195–203. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1676999>

57. Matović K, Vidanović D, Manić M, Stojiljković M, Radojičić S, Debeljak Z, Šekler M, Čirić J (2020) Twenty-five-year study of *Nosema* spp. in honey bees (*Apis mellifera*) in Serbia. *Saudi J Biol Sci* 27:518–523. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.012>

58. Galajda R, Valenčáková A, Sučík M, Kandráciová P (2021) *Nosema* disease of European honey bees. *Journal of Fungi* 7:714. <https://doi.org/10.3390/jof7090714>

59. Li Z, Wang Y, Wang L, Zhou Z (2018) Molecular and biochemical responses in the midgut of the silkworm, *Bombyx mori*, infected with *Nosema bombycis*. *Parasite Vector* 11:1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2755-2>

60. Sánchez Collado J, Higes M, Barrio L, Martín-Hernández R

(2014) Flow cytometry analysis of *Nosema* species to assess spore viability and longevity. *Parasitol Res* 113:1695–1701. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3814-z>

61. Aydin L, Cakmak I, Gulegen E, Wells H (2005) Honey bee *Nosema* disease in the Republic of Turkey. *J Apicult Res* 44:196–197. <https://doi.org/10.1080/00218839.2005.11101179>

62. Özgör E, Güzerin E, Keskin N (2015) Determination and comparison of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in terms of geographic and climatic factors. *Hacettepe J Biol Chem* 43:9–15. <https://doi.org/10.15671/HJBC.20154311200>

63. Huang Q, Wu ZH, Li WF, Guo R, Xu JS, Dang XQ, Ma ZG, Chen YP, Evans JD (2021) Genome and evolutionary analysis of *Nosema ceranae*: A microsporidian parasite of honey bees. *Front Microbiol* 12:645353. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.645353>

64. Gómez-Moracho T, Bartolomé C, Bello X, Martín-Hernández R, Higes M, Maside X (2015) Recent worldwide expansion of *Nosema ceranae* (Microsporidia) in *Apis mellifera* populations inferred from multilocus patterns of genetic variation. *Infect Genet Evol* 31:87–94. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.01.002>

65. Chaimanee V, Warrit N, Chantawannakul P (2010) Infections of *Nosema ceranae* in four different honeybee species. *J Invertebr Pathol* 105:207–210. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.06.005>

66. Arbulo N, Antúnez K, Salvarrey S, Santos E, Branchiccela B, Martín-Hernández R, Higes M, Invernizzi C (2015) High prevalence and

infection levels of *Nosema ceranae* in bumblebees *Bombus atratus* and *Bombus bellicosus* from Uruguay. *J Invertebr Pathol* 130:165–168. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.018>

67. Gallot-Lavallée M, Schmid-Hempel R, Vandame R, Vergara CH, Schmid-Hempel P (2016) Large scale patterns of abundance and distribution of parasites in Mexican bumblebees. *J Invertebr Pathol* 133:73–82. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.12.004>

68. Porrini MP, Porrini LP, Garrido PM, Melo e Silva Neto C de, Porrini DP, Muller F, Nuñez LA, Alvarez L, Iriarte PF, Eguaras MJ (2017) *Nosema ceranae* in South American native stingless bees and social wasp. *Microb Ecol* 74:761–764. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0975-1>

69. Müller U, McMahon DP, Rolff J (2019) Exposure of the wild bee *Osmia bicornis* to the honey bee pathogen *Nosema ceranae*. *Agr Forest Entomol* 21:363–371. <https://doi.org/10.1111/afe.12338>

70. Breeze TD, Bailey AP, Balcombe KG, Potts SG (2011) Pollination services in the UK: How important are honeybees? *Agr Ecosyst Environ* 142:137–143. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.03.020>

71. Sgolastra F, Hinarejos S, Pitts-Singer TL, Boyle NK, Joseph T, Lückmann J, Raine NE, Singh R, Williams NM, Bosch J (2019) Pesticide exposure assessment paradigm for solitary bees. *Environ Entomol* 48:22–35. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy105>

Közlésre ér.: 2024. jan. 30.

BRAVECTO[®]

injekció



EGY ÉVEN ÁT TARTÓ*

BOLHA ÉS KULLANCS ELLENI VÉDELEM

BEMUTATJUK AZ ELSŐ OLYAN, KIZÁRÓLAG ÁLLATORVOSI HASZNÁLATRA KIFEJLESZTETT, injekciós formában beadható készítményt mellyel egy éven át* megszakítás nélkül tartó bolha- és kullancs elleni védelem biztosítható kutyáknak.

Fedezd fel a **BRAVECTO[®]** injekció erejét úttörő formulánkkal.



Copyright © 2023 Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA és leányvállalatai.
Minden jog fenntartva. HU-BRV-231100002



**Vedd fel a kapcsolatot
az MSD Animal Health
területi képviselőddel.**

* FONTOS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK: A hirdetés és a termékleírás nem teljes körű. Kérjük, hogy alkalmazás előtt olvassa el a készítményhez mellékelt használati utasítást! Kizárólag állatgyógyászati alkalmazásra. Kizárólag állatorvosi vényre adható ki.

Primary renal
adenocarcinoma and
Aeromonas hydrophila –
mediated acute
septicaemia in Tartar
sand boa (*Eryx tataricus*)

J. Gál^{1*}
M. Hoitsy^{1,2}
T. Tóth^{1,2}
M. Marosán¹
A. Papp¹
Z. Vincze¹
Á. Zsizsz¹

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Egzotikusállat- és
Vadegészségügyi Tanszék,
H-1078 Budapest, István u. 2.

2. Fővárosi Állat- és Növénykert,
Budapest

*e-mail: gal.janos@univet.hu

Primer vese-adenocarcinoma és *Aeromonas hydrophila* okozta heveny septicaemia tatár homoki boában (*Eryx tataricus*)

Gál János^{1*}, Hoitsy Márton^{1,2}, Tóth Tamás^{1,2}, Marosán Miklós¹, Papp Antal¹,
Vincze Zoltán¹, Zsizsz Árisz¹

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők egy 3 éves tatár homoki boa (*Eryx tataricus*, Lichtenstein, 1823) nőstényben vese-adenocarcinomát diagnosztizáltak, amely solid és tubulopapillaris szövettani szerkezetet is mutatott. A tumor nem képzett áttéteket, nem infiltrálta a környező szerveket, de térfoglaló folyamatként befolyásolhatta azok működését. A daganat hámeredetét pan-cytokeratin-markerrel igazolták és a Ki-67 reakcióval közepes mértékű mitotikus aktivitás volt tapasztalható. A szerzők által talált daganat jelenléte kígyókban ismert, de homoki boákban (*Eryx* sp.) ilyen típusú és a vesét érintő neoplasztikus elváltozásról ez ideig nincs fellelhető adat. A kígyó közvetlen elhullását heveny *Aeromonas hydrophila* okozta szepszis okozta.

SUMMARY

Background: The Tartar sand boa (*Eryx tataricus*) is considered one of the larger viviparous sandboa species. Neoplasms of the kidney are known in reptiles. Renal adenoma and adenocarcinoma, and expansively growing tubular nephroblastoma have been described. Pan-cytokeratin (CK) immunohistochemical reaction used in human onco-diagnostics has been used successfully for typing renal adenocarcinoma in reptiles. We have not found any reports of renal tumors in sand boas.

Materials and Methods: We performed pathological diagnostic tests on a female Tartar sand boa. Columbia blood agar and Drigalski agars plates were inoculated with samples from the liver and kidney. Routine histopathology was performed with hematoxylin and eosin (H&E) staining. In terms of immunohistochemical investigations, pan-cytokeratin and Ki-67 tests were performed.

Results and Discussion: The left kidney was a 10cm long, spindle-shaped and easily movable compact structure of greyish white colour during necropsy. The right kidney was normal in appearance. We managed to isolate *Aeromonas hydrophila* bacteria from the liver and the left kidney. Histological examination on H&E-stained sections from the abnormal kidney did not show any histological structures characteristic of normal kidney. As a sign of mitotic activity, the Ki-67 marker showed several dividing cells. The origin of the epithelial tumour cells was confirmed with a pan-cytokeratin antibody. The definitive diagnosis of solid/tubulopapillary renal adenocarcinoma of medium mitotic activity was concluded. The tumour did not form metastasis. The cause of death was acute septicaemia caused by *Aeromonas hydrophila*.

A tatár homoki boa (*Eryx tataricus*) megtalálható az Aral-tó északi partvidékén, Mongólia déli részén, Iránban, Afganisztánban, Pakisztánban és Kína egyes területein [1, 2]. A nagyobb homokiboa fajok közé tartozik, a nőstények akár 90 cm-nél is hosszabbak lehetnek [3]. A tartása viszonylag egyszerű, homokkal berendezett terráriumot javasolnak számára, aminek aljzatát talajfűtővel kell fűteni. Egerekkel jól etethető, habár a frissen született fiatalok között előfordul a táplálék-visszatartás, mert a természetben, születés után jobbára gyíkokat zsákmányolnak. A szaporítása terráriumi körülmények között gyakran sikeres. Egyes szerzők 2–3 hónapos teletést javasolnak a pároztatás előtt [1, 3], míg mások megfigyelései alapján hibernáció nélkül is szaporodik [2]. A megtermékenyítés után 3–5 hónapos graviditás következik, amit követően megszületnek az utódok, lévén vivipara fajról van szó [1–3]. Egy-egy alkalommal 8–20, egyes szakirodalmi adatok szerint akár 22 utód is születhet a méretesebb nőstények esetében [2, 3].

**A hüllők veséjében a
köszvényes elváltozások
a leggyakoribbak**

A hüllők veseelváltozásai között a húgysav anyagcsere zavarára visszavezethető köszvény igen gyakori, de a daganatos elváltozások is ismertek [4]. Gyíkokban, zöld leguánban (*Iguana iguana*, Linnaeus, 1758) a veséből kiinduló adenomát, sivatagi leguánban (*Dipsosaurus dorsalis*, Baird & Girard, 1852) egy esetben szintén adenomát, míg egy másikban pedig adenocarcinomát írtak le [5]. Több kígyófajban is publikálták már a vese jóindulatú (adenoma) és rosszindulatú (adenocarcinoma) daganatát. A nem mérges kígyók közül keleti szalagos siklóban (*Thamnophis sirtalis*, Linnaeus, 1758) expanszív növekedésű, tubularis szerkezetű adenocarcinomát, gabonasiklóban (*Pantherophis guttatus*, Linnaeus, 1766) adenomát, *Elaphe subocularis*-ban (Brown, 1901) szintén adenomát, disznóorrú siklóban (*Heterodon nasicus*, Baird & Girard, 1852) és sárga patkánysiklóban (*Elaphe obsoleta quadrivittata*, Holbrook, 1836) infiltratív növekedésű, tubularis szerkezetű adenocarcinomát, sárga anakondában (*Eunectes murinus*, Linnaeus, 1758) expanszív növekedésű, tubularis nephroblastomát állapítottak meg [6]. Egy másik esetben, gabonasiklóban diagnosztizált, veséből kiinduló adenocarcinoma esetében a humán onkológiai diagnosztikában széleskörben használt cytokeratin (CK) immunhisztokémiai reakciót is sikerrel használták a tumor tipizálásra [7]. Mérgekígyókban, több fajban is megállapításra került már veséből kiinduló daganat. Így korall kobrában (*Aspidelaps lubricus lubricus*, Laurenti, 1768) három esetben adenocarcinomát [8], míg egy esetben tubularis adenocarcinomát írtak le [9]. Indiai kobra (*Naja naja*, Linnaeus, 1758) [10], fekete nyakú köpködő kobra (*Naja nigricollis*, Reinhardt, 1843) [11], király kobra (*Ophiophagus hannah*, Cantor, 1836) [12] fajokban a vese benignus tumora, első esetben nem részletezett szerkezetű adenoma, a két utóbbi fajnál pedig tubularis adenoma szerepelt diagnózisként. Indiai kobrában (*Naja naja*) az előbb említett benignus neoplasztikus elváltozás mellett egy másik közleményben szó esik a fajban diagnosztizált, tubularis szerkezetű, kis mitotikus aktivitású, infiltratív növekedésű adenocarcinoma előfordulásáról. Ugyanebben a publikációban hasonló biológiai tulajdonságokkal rendelkező adenocarcinomát adnak meg vörös köpködő kobra (*Naja pallida*, Boulenger, 1896) esetében is [6].

**Homoki boában
még nem írtak le
vesedaganatot**

Az általunk elérhető szakirodalmak áttanulmányozása során homoki boákban (*Eryx* sp.) ez ideig nem találtunk leírást a veséből kiinduló daganatos elváltozásokról.

**Az *Aeromonas hydrophila* egy
Gram-negatív,
fakultatív patogén
baktérium**

Az *Aeromonas hydrophila* egy Gram-negatív, pálcá alakú, haemolizáló baktérium, amely fakultatív patogénként gyakran okozhat septicaemiát változó testhőmérsékletű fajokban [13]. Kígyók esetében a septicaemia kezdeti szakasza nehezebben észlelhető, a testet java részt egyenletesen borító, vaskos pikkelyezettség miatt [14]. Homoki boák esetében, egy újszülött egyed sziktómló gyulladásának diagnosztikája során került leírásra a fertőzés [15]. A baktérium a csökkent immunrendszeri aktivitás esetén áraszthatja el a szervezetet, testszerte vizenyőt, vérzéseket okozva [13–15].

ANYAG ÉS MÓDSZER

**A 3 éves, nőtény
homoki boa tetemét
felboncolták és
szövetteni, ill.
bakteriológiai
vizsgálatokhoz
mintákat vettek**

Az Állatorvostudományi Egyetem, Egzotikusállat- és Vadegészségügyi Tanszékére egy 3 éves, 241 g tömegű, elhullott nőtény tatár homoki boa (*Eryx tataricus*) került kórbonctani-diagnosztikai vizsgálatra 2020. február 7-én. A kígyót 30 × 50 cm alapterületű, 30 cm magas, talajfűtőre helyezett, homok aljzattal berendezett terráriumban tartották a tulajdonosok. Nappal a homok 31–32 °C-os volt, míg éjjel pár fokkal csökkent a hőmérséklet. A kígyót 1–2 hetente 2–3 növendék egérrel etették, ivóvíz folyamatosan biztosított volt az állat itatójában.

A kígyót a külső vizsgálatot követően megröntgeneztük. Ezt követően a szakma szabályai szerint az állat boncolása következett. A külső testnyílások vizsgálata után a hasi felületen a testüreget megnyitottuk és a szerveket kiemeltük. A nyelőcsövet, a gyomrot és a bélcsövet teljes hosszában felnyitottuk. A máj, az epehólyag és a kiválasztó szervek értékelése volt a következő lépés. A légcső felnyitását követően megnyitottuk a tüdőzsákot is.

A májból és a veséből mintát oltottunk ki Columbia-véresagarra és Drigalski-táptalajokra, amelyeket 28–29 °C-on, 48 órát inkubáltunk.

Az elváltozást mutató szervekből vételezett szövetdarabkákat 10%-os, puffertolt formaldehid-oldatban rögzítettük, majd paraffinba ágyaztuk. A 3–4 µm-es metszeteket hematoxin-eozin eljárással festettük meg. Az immunhisztokémiai eljárások során Pan-cytokeratin és Ki-67 markerek kerültek alkalmazásra.

Az elkészült metszeteket Leica DM500 típusú fénymikroszkóppal vizsgáltuk.

EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

A vizsgálatra hozott kígyó megfelelő fejlettségi és közepes tápláltsági állapotban volt. A test utolsó harmadában a normál körméretet jelentősen meghaladó, kb. 10 cm hosszú, tömött tapintatú duzzanat volt látható (1. ábra), ami homogén denzitású röntgenárnyékot adott. Az állat köztakarója nem mutatott kóros eltérést, a testnyílások épek voltak.

1. ÁBRA. Duzzanat a test utolsó harmadán tatár homoki boa (*Eryx tataricus*) nőtényben

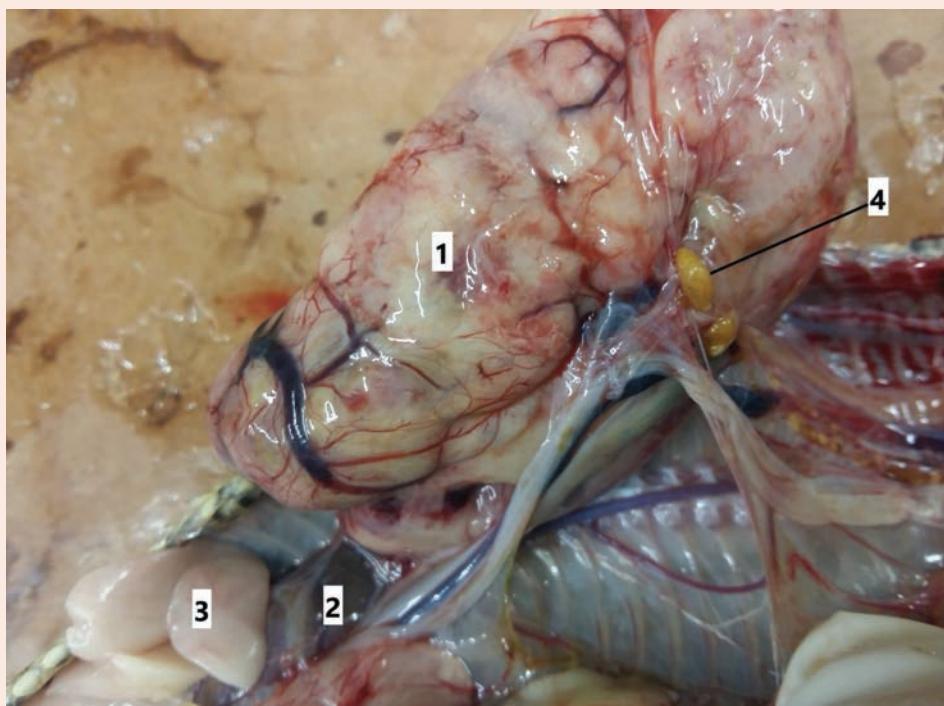
FIGURE 1. Swelling on the posterior third of the body in a female Tartar sand boa (*Eryx tataricus*)



**A felnyitott testüregben,
a petefészek mögött,
kb. 10 cm hosszú,
szürkésfehér, tömött
képletet találtak**

2. ÁBRA. A testüregben
látható, daganatos vese
makroszkópos képe
1. daganat, 2. ép veserészlet,
3. ép zsírtest,
4. ép mellékveserészlet

FIGURE 2. The macroscopic
appearance of the neoplastic
kidney in the body cavity
1. tumour, 2. intact kidney
section, 3. intact fat body,
4. intact adrenal gland
section



A testüregben a savóshártya alatt és a közepes méretű, zsírral közepesen átszőtt, ovális alakú zsírtestekben pontszerű vérzések voltak. A nyelőcsövet felnyitva nem láttunk kóros eltérést. A gyomor üres volt, az ép nyálkahártyát kis mennyiségű, áttetsző nyálka fedte. A bélcsatorna nem mutatott kóros eltérést. A máj rendes, a fajra jellemzően szivar alakú, barnavörös volt. A gömb alakú epehólyag epével feszülésig telt volt. A lép kissé megnagyobbodott, a máj rendes alakúnak és méretűnek bizonyult, de az utóbbi tokja alatt pontszerű vérzéseket lehetett megfigyelni. A légcső és a téglavörös színű tüdőzsákok üregében kóros tartalom nem volt felfedezhető. A szívburokban megszaporodott, vörhenyes, de áttetsző tartalom mellett a szív makroszkóposan nem mutatott kóros eltérést. A jobb oldali vese rendes alakjával, barnavörös színével az egészséges kígyókra jellemzőnek bizonyult. A kóros elváltozást mutató, megnagyobbodott képlet feltételezhetően a bal vesét magába foglalta.

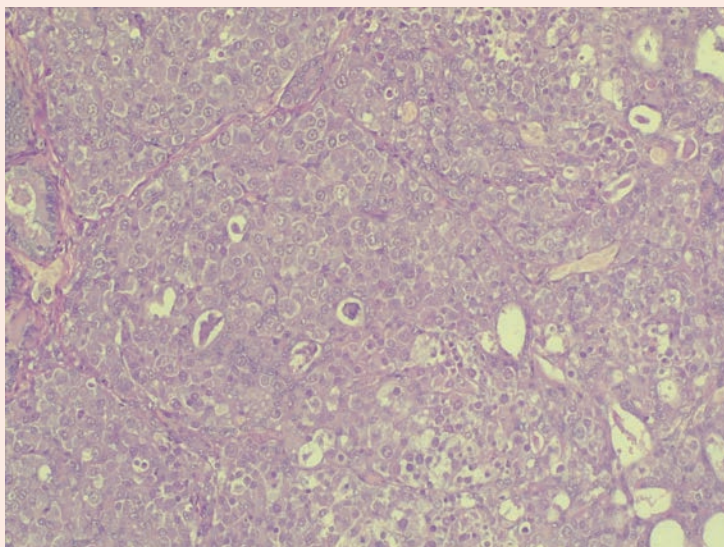
A májból és a veséből anaerob viszonyok között végzett bakteriológiai vizsgálat során a véresagar-táptalajon összefolyó, nyálkás telepeket alkotó *Aeromonas hydrophila* baktériumokat sikerült izolálni.

Az elváltozott veséből végzett kórszövettani vizsgálat során, a hematoxin-eozinnal festett metszetekben nem lehetett normális veseszerkezetre utaló szövettani struktúrákat felfedezni. A megfigyelt daganat parenchymája nagy, heterogén, sok esetben hypochromatikus magvú sejtekből állt (3. ábra). Ezek a sejtek néhol fészkekbe rendeződtek, másutt inkább kötegeket alkottak. Közepes mitotikus aktivitás jeleként számos, az osztódás különböző stádiumában levő sejt volt megfigyelhető. A veseglomerulusok nem, de egy-egy tubulus-szerű struktúra látható volt. Ez utóbbiak egyrétegű köbhámja helyett több rétegbe torlódó, közepes osztódási aktivitású sejtcsoportok is láthatók voltak.

**A májból és
a veséből anaerob
viszonyok között
Aeromonas hydrophila
baktériumot izoláltak**

3. ÁBRA. A vesetubulusok hámból
kiinduló adenocarcinoma
H.-E., 100×

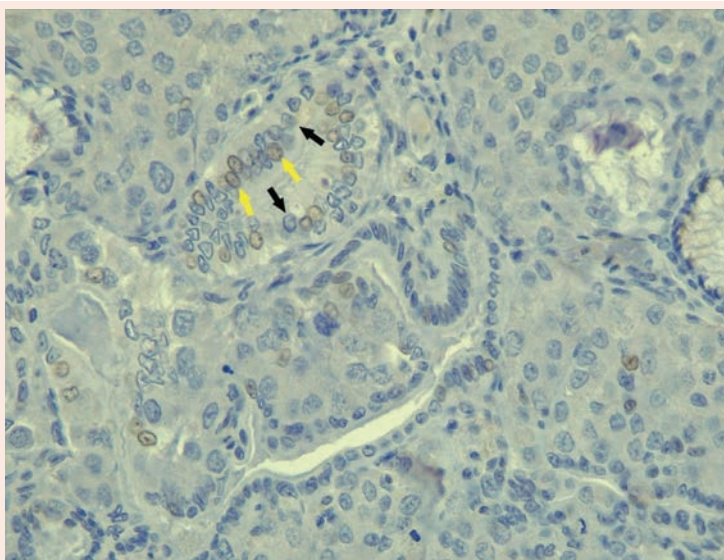
FIGURE 3. Adenocarcinoma originating
from the epithelium of the renal tubules
H.-E., 100×



A proliferációs aktivitás jeleként a Ki-67 reakcióval nagy számú osztódási ciklusban lévő sejt volt azonosítható (4. ábra). Ezek nagyobb számban a tubulusmaradványok területén levő sejtcsoportokban látszottak, míg a tumor solid parenchymájában

4. ÁBRA. A tubularis morfológiát mutató,
Ki-67 pozitív tumorsejtek magjai mahagóni barnán
festődnek (sárga nyilak). Körülöttük negatív, nem
proliferálódó sejtek is megfigyelhetők (fekete nyilak)
IHC, 400×

FIGURE 4. The nuclei of Ki-67-positive tumour cells are
mahogany brown (yellow arrows), which separated from
the simple cuboidal epithelium (black arrows)
IHC, 400×



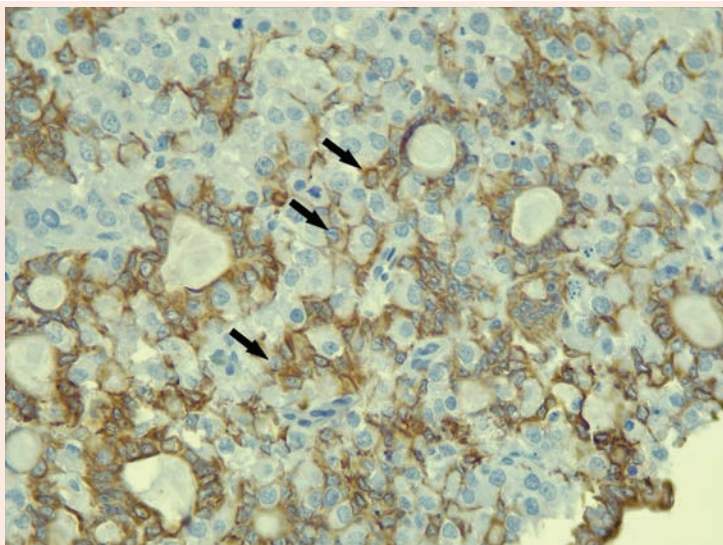
kisebb volt a számuk. Az általunk számított mitotikus index 11,8 volt. A daganat hámeredetét a pozitív pan-Cytokeratin reakcióval bizonyítottuk (5. ábra), aminek során intenzív mahagónibarna citoplazma-festődést tapasztaltunk.

Esetünkben egy 3 éves tatár homoki boa (*Eryx tataricus*) nőtényben egy oldali, közepes mitotikus aktivitású, pan-Cytokeratin pozitivitást mutató, egyes részein solid, más részein tubularis szerkezetű adenocarcinomát állapítottunk meg. A daganat nem képzett áttéteket, lokálisan, expanzívan növekvő, egységes, a testtűregben könnyen elmozdítható képletként volt fellelhető. Az általunk talált tumor jelenléte hüllőkben, így már kígyókban is ismert [6, 7, 9], de homoki boákban (*Eryx sp.*) ilyen típusú és a vesét érintő neoplasztikus elváltozásról ez ideig nem találtunk adatot az általunk elérhető szakirodalmakban. Esetünkben a tumor nem infiltrálta a környező szerveket, de tényleg befolyásolhatta azok működését. Feltételezhető, hogy az időben történő diagnózis esetén a daganat jól operálható lehetett volna.

**A kórszövettani
vizsgálattal vegyes
szöveti szerkezetű
vesetubulushám-
adenocarcinomát
állapítottak meg**

5. ÁBRA. Pozitív, mahagónibarna pan-Cytokeratin immunhisztokémiai reakció a tumorsejtek citoplazmájában (nyilak), ami annak a hámsejt-eredetére utal IHC, 400×

FIGURE 5. The brown, positive pan-Cytokeratin reaction in the cytoplasm of the tumour cells indicates the epithelial origin of the cells (arrows)
IHC, 400×



Az általunk vizsgált kígyó közvetlen elhullását *Aeromonas hydrophila* fakultatív patogén baktérium kiváltotta vérfertőzés okozta, amivel kapcsolatosan bőséges szakirodalmi utalás érhető el [13–15]. Esetünkben a hajlamosító hatásként valószínűleg a testüregben növekvő, térfoglaló daganat és a vesefunkció egyidőben történő romlása szerepelhetett, ami aztán lehetőséget adott az egyébként fakultatív patogén baktériumok elszaporodására és a véráramba törésére.

IRODALOM

1. Jones C (2004) Sand boas. *Reptila* 34:12–23
2. Treacher WH (2014) The sand boa. Trear Publishing. Davis, California, USA. pp 160–162
3. Jones C (2004) Breeding Eurasian sand boas. *Eryx jaculus*, *Eryx miliaris*, *Eryx tataricus*. *Reptila* 34:24–28
4. Divers JS, Stahl S (eds) (2019) Mader's reptile and amphibian medicine and surgery, 3rd ed. Elsevier, St. Louis. pp 642–647
5. Burt DG, Chrisp CE, Giller CS, Rushet HG (1984) Two case of renal neoplasia in a colony of desert iguanas. *J Am Vet Med Assoc* 185:1423–1425
6. Jacobson ER, Long PH, Miller RE, Kraner LW, Beehler B, Harshbarger JC, Buergelt CD (1986) Renal neoplasia in snakes. *J Am Vet Med Assoc* 189:1134–1136
7. Kao CF, Chen JL, Tsao WT, Lee AH, Liu CH, Wang FI (2016) A renal adenocarcinoma in a corn snake (*Pantherophis guttatus*) resembling human collecting duct carcinoma. *J Vet Diagn Inv* 25:599–603. <https://doi.org/10.1177/1040638716661380>
8. Keck M, Zimmerman DM, Ramsay EC, Douglass M, Reavill DR (2011) Renal adenocarcinoma in cape coral snakes (*Aspidelaps lubricus lubricus*). *J Herp Med Surg* 21:5–9. <http://dx.doi.org/10.5818/1529-9651-21.1.5>
9. Hall AS, Jacobs JL, Smith EN (2020) Possible osteosarcoma reported from a new world elapid snakes and review of reptilian bony tumors. *Anat Rec* 303:2955–2966. <https://doi.org/10.1002/ar.24475>
10. Ramsay EC, Munson L, Lowenstine L, Fowler ME (1996) A retrospective study of neoplasia in a collection of captive snakes. *J Zoo Wildlife Med* 27:28–34. <http://www.jstor.org/stable/20095540>
11. Frye FL (1994) Diagnosis and surgical treatment of reptilian neoplasms with a compilation of cases 1966–1993. *In Vivo* 8:885–892
12. Catão-Dias JL, Nichols DK (1999) Neoplasia in snakes at the National Zoological Park, Washington, DC (1978–1997). *J Comp Pathol* 120:89–95. <https://doi.org/10.1053/jcpa.1998.0253>
13. Ebani VV, Fratini F, Ampola M, Rizzo E, Cerri D, Andreani E (2008) *Pseudomonas* and *Aeromonas* isolates from domestic reptiles and study of their antimicrobial in vitro sensitivity. *Vet Res Commun* 32 (Suppl 1):195–198. <https://doi.org/10.1007/s11259-008-9160-9>
14. Esterabadi AH, Entessar F, Khan MA (1973) Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* from an outbreak of haemorrhagic septicemia in snakes. *Can J Comp Med* 37:418–420
15. Nagy F, Schranz E Vincze Z, Gál J (2012) *Aeromonas hydrophila* okozta szisztémagyulladás törpe homoki boában (*Eryx miliaris*): Esetleírás. *Magy Állatorvosok Lapja* 134:166–168

Közlésre érke.: 2023. okt. 31.

Utilization of various immunotherapies against cancer

D. Gulyás^{1,2*}
D. Földi^{1,2}
G. Kovács³
B. Dénes^{1,2}
M. Lőrincz^{1,2}

1. Állatorvostudományi
Egyetem, Járványtani
és Mikrobiológiai Tanszék,
Budapest

2. Fertőző Állatbetegségek,
Antimikrobiális Rezisztencia,
Állatorvosi Közegészségügy
és Élelmiszerlánc-biztonság
Nemzeti Laboratóriuma,
Állatorvostudományi Egyetem

3. Észak-Pesti Centrumkórház-
Honvédkórház, Urológia és
Andrológiai Osztály, Budapest

*e-mail: gulyas.dominik@
univet.hu

A különböző immunológiai alapú terápiaák alkalmazása a daganatok elleni küzdelemben Irodalmi összefoglaló

Gulyás Dominik^{1,2*}, Földi Dóra^{1,2}, Kovács Gábor³, Dénes Béla^{1,2},
Lőrincz Márta^{1,2}

ÖSSZEFOGLALÁS

A daganatos megbetegedések megelőzése és kezelése során sajnos gyakori a hagyományos eljárások (sugárterápia, kemoterápia, sebészeti beavatkozások) sikertelensége. Ugyanakkor az immunológiai alapú terápiaák területén az elmúlt évtizedek során elvégzett kutatások eredményei bizakodásra adnak okot. A daganatellenes immunterápiaák alkalmazásában az immunválasz stimulálását célozzák. A legújabb eljárások lényegét és jelentőségét az alábbi szakirodalmi összefoglaló segítségével szeretnénk bemutatni a szerzők. A daganatos megbetegedések elleni alkalmazásukra fókuszálva összegzik a jelen és a közelmúlt eredményeit, vizsgálják ezek potenciális hatásait a jövő orvoslása szempontjából.

SUMMARY

In numerous instances, conventional methodologies (such as radiation therapy, chemotherapy or surgical excision) have demonstrated their limitations in effectively preventing and treating certain types of cancers. The complexity and diversity of these conditions necessitate innovative approaches to address them effectively. Over the past few decades, there has been a remarkable and ongoing emergence of what are commonly referred to as immunotherapies. These therapies revolve around the strategic modification of the immune system, in the case of tumours through stimulation, to achieve therapeutic goals. The field of immunotherapy has evolved rapidly and diversified to address various objectives and operates under many principles. Our literature review aims to provide a comprehensive overview of the progress made in immunotherapy techniques in the field of cancer therapies. These techniques are applied with multifarious objectives, seeking to achieve the dual goals of enhancing patient outcomes and minimizing side effects. By delving into the latest findings achieved various application domains, we strive to offer a thorough and up-to-date summary of the contemporary outcomes in cancer immunotherapy. Furthermore, we seek to explore the potential ramifications of these recent advancements for the future landscape of medicine. The potential impact of immunotherapy on the field of cancer therapies is profound, with the promise of more effective and personalized treatments for patients suffering from these disorders. As we embark on this exploration, the insights we gather will shed light on the evolving role of immunotherapy and its contributions to the future of healthcare and disease management.

IMMUNOLÓGIA

A környezeti tényezők hatására a daganatok napjainkban az egyik vezető halál-
loknak számítanak embereknél és társállatainknál is. A hagyományos terápiák,
mint a sebészi kimetszés a sugárterápia és a kemoterápia hatékonysága
nem mindig megfelelő, ezért a kutatók újfajta megközelítések segítségével
próbálják megoldani a tumorok okozta problémákat. Az immunrendszer
feladata a daganatos transzformálódott sejtek felismerése, eliminálása.
A kóros sejteket a neutrophil granulocyták, a macrophagok és a dendritikus
sejtek ismerik fel elsőként, és fagocitózissal semmisítik meg. A természetes
ölősejtek az általuk termelt citotoxikus anyagok segítségével szintén képesek
a daganatsejteket felismerni, megsemmisíteni. A T- és B-lymphocyták aktivá-
lását a nyirokcsomóban a dendritikus sejtek végzik, ezek a daganat felszínén
lévő, és csak tumorsejtekre jellemző antigének segítségével képesek erre.

*A daganatok
napjainkban az egyik
vezető halálloknak
számítanak embereknél
és társállatainknál is*

*Az immunológiai
terápiák a
legintenzívebben
kutattott
tudományágnak
számítanak*

A túl gyorsan növekvő daganatok eliminálása nem mindig jár sikerrel még egész-
séges immunrendszer esetében sem. Nehezíti a daganatsejtek elpusztítását,
hogy az immunrendszer regulátor sejtjei képesek a T- és B-sejteket gátolni.
Ilyen esetekben az áttétképzésre nem hajlamos, benignus daganatokat a
sejtek körülhatárolják, a rosszindulatú daganatok viszont áttéteket tudnak
képezni. Ugyanakkor, köszönhetően az immunológiai kutatások fejlődésének,
ebbe a bonyolult folyamatba ma már egyre több lehetőségünk van beavat-
kozni. Dolgozatunkban, ezen terápiás lehetőségek sokféleségére szeretnénk
felhívni az olvasó figyelmét, különös tekintettel az állatorvosokra. Ugyanis az
általunk ismertetni szándékozott eljárásokat az állatgyógyászatban jelenleg
még nagyon korlátozottan használják.

Az immunológiai alapú terápiák, amelyek az immunrendszer működésének
befolyásolásával operálnak, az XXI. század egyik legintenzívebben kutatott
területét képviselik. Ezt a tendenciát számtalan terápiás probléma indokolja,
amelyekre az immunterápiák jelenthetik a megoldást. A téma meghatározó
jelentőségét jól szemlélteti, hogy a PubMed® keresőmotorban az "immuno-
therapy" kulcsszóra rákeresve több mint 415 000 találatot kapunk. Ugyanakkor
a "veterinary" és az "immunotherapy" keresőszavak együttes alkalmazásával
végzett keresés eredménye szerint az eddig megjelent közlemények száma
alig haladja meg a 20 000 cikket. Ezen összefoglalóban, az immunológiai
alapú terápiák keretein belül a daganatos megbetegedések kezelésére al-
kalmazott eljárások állnak a középpontban, amelyhez 83 szakirodalmi cikk
elemzésére került sor, különös figyelmet szentelve az onkológiai kezelések
terén elért eredményekre. Az élő szervezetek immunrendszere nem csupán
a fertőző betegségekkel szemben nyújt védelmet, működése kiemelkedő
fontosságú a daganatos elváltozások megelőzésében és leküzdésében is. Az
immunrendszer elégtelen működése esetén a különböző daganatos kórképek
kialakulásának kockázata jelentősen megnő. A tumorok növekedését gátló
immunológiai válaszképtelenség megértése elengedhetetlen a hatékony
terápiás eljárások kidolgozásához. Ezen stratégiák eszközei közé tartoznak
a monoklonális ellenanyagok, a genetikailag módosított T-sejtek, az im-
munellenőrzőpont-gátlók, valamint az mRNS-vakcinák, amelyek kutatása
rendkívül intenzíven folyik, úgy az orvos-, mint az állatorvostudományban
[1]. Jelenleg a daganatos megbetegedésekre tervezett immunológiai alapú
terápiák felhasználásának paradigmája leginkább a humán esetek kezelésére
szolgál. Ezen kezelések megkezdése előtt a hatékonyságot állatkísérletekkel
igazolják. Mivel a kedvtelésből tartott állataink (kutya, macska) hasonló kör-
nyezeti ártalmaknak vannak kitéve, mint gazdáik, ezért ezen kísérletekben
modell állatként szolgálhatnak. Állatorvosi gyakorlati alkalmazásuk jelenleg
még nem jelentős, de fokozatosan növekszik, és egyre gyakrabban kerül
alkalmazásra terápiás opcióként.

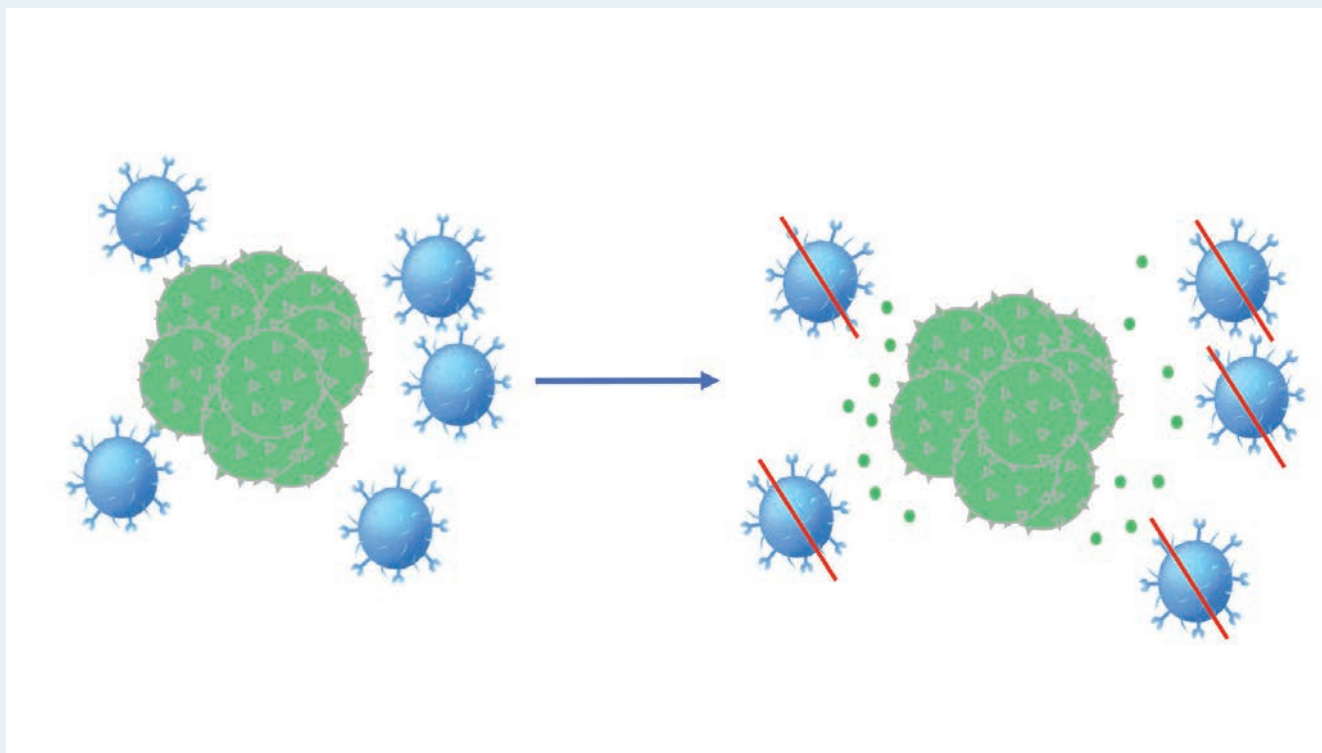
DAGANATOK ELLENI IMMUNTERÁPIÁK

Az előrehaladott stádiumú malignus daganatok gyakran ellenállnak a kemoterápiának és/vagy sugárterápiának

Az előrehaladott stádiumú malignus daganatok gyakran ellenállnak a kemoterápiának és/vagy sugárterápiának, így az agresszív kezelések ellenére is csekély túlélési arányt mutatnak. A klinikai eredmények további javítása érdekében elengedhetetlen hatékonyabb és specifikusabb terápiák kidolgozása, amelyek képesek felülkerekedni a daganat által kifejtett védekező mechanizmusokon [2, 3]. Ezen kórképek kialakulásában és kezelésében az immunrendszer kiemelt szerepét számos bizonyíték támasztja alá. Ide sorolhatók a rákos megbetegedések esetén megfigyelt, kezelés nélküli spontán remissziók, a tumorspecifikus citotoxikus T-sejtek jelenléte a daganatban, annak környezetében, vagy a környező nyirokcsomókban, valamint a monocyták és a lymphocyták detektálása az agresszívan proliferáló sejtcsoportokban. Emellett megfigyelhető néhány ráktípus megnövekedett gyakorisága immundeficiens betegeknél is [4, 5]. Például azt tapasztalták, hogy a vesetranszplantációt követő, elhúzódó immunuszuppresszív kezelések hatására a daganatos megbetegedések előfordulása szignifikáns növekedést mutatott [6]. A megfelelően működő immunrendszer aktívan gátolhatja a lassú növekedésű daganatok kialakulását. Ezt a folyamatot szokás "cancer immunosurveillance"-nek nevezni. Immunkompetens egerekben kimutatták, hogy a gamma-interferon (IFN γ) képes gátolni a daganatok növekedését. Ugyanakkor az IFN γ -receptorral nem rendelkező genetikailag módosított egerekben nagyobb valószínűséggel alakultak ki spontán daganatok. Az adaptív immunválasz fő résztvevőivel (T- és B-sejtek) nem rendelkező egerek esetében is megfigyelték ugyanezt a jelenséget [7–10].

Az immunterápiák forradalmian új, hatékony alternatívát kínálnak a malignus daganatok kezelésére

Az elmúlt két évtized során egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy a veleszületett immunválasz jóval differenciáltabb és komplexebb szerepet tölt be a daganatok elleni immunitás terén, mint az adaptív immunválasz. A tumorantigéneket felismerő T-sejtek jelen vannak a daganat mikrokörnyezetében, de a tumor kialakulásához szükséges, hogy a daganatsejtek immunuszuppresszív hatást váltsanak ki, többek között olyan citokinek (pl. a TGF- β és IL-10) véletlenszerű expressziójával [11], amelyek gátolják ezeknek a T-sejteknek az aktivitását [12, 13] (1. ábra). Ezen szempontok fényében az immunterápiák forradalmian új, hatékony alternatívát kínálnak a malignus daganatok kezelésére, nagy fokú specifitásuk és hatékonyságuk miatt [14]. A jelenleg leginkább kutatott terápiás eljárásokban monoklonális ellenanyagokat, CAR (kiméra antigénreceptor) T-sejteket alkalmaznak, amelyek képesek megváltoztatni a tumor mikrokörnyezetét azáltal, hogy szelektíven felismerik és kötődnek a tumorsejteken, az aktivált T- és B-sejteken, a macrophagokon és a regulátor T-sejteken expresszálandó immunuszuppresszív fehérjékhez, ezzel segítve a lokális és szisztémás daganatellenes immunválasz kialakulását a rákos sejtek ellen [15–17]. A közelmúltban azonban más daganatellenes immunterápiás eljárások is figyelmet kaptak. Ezek közé tartoznak az *in situ* vakcináció, az immunellenőrzőpont-gátlókat alkalmazó terápiák és ezek különböző kombinációi a jelenleg is használt, „klasszikus” kezelésekkal [18]. Emellett a dendritikus sejtek és a T-sejtek aktivitása *ex vivo* proliferációval és az azt követő adoptív transzferrel növelhető. Ezzel az eljárással a kezelt immunsejtek tumorspecifikussá válhatnak [1]. Az ellenanyag-alapú immunterápiát, az onkológiai betegségek kezelésének egyik leghatékonyabb és legmegbízhatóbb stratégiája között tartják számon. Ezen terápia hatásmechanizmusa változatos lehet, beleértve a közvetett hatást, mint pl. az ellenanyag-függő sejt citotoxicitást (Antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC), vagy a közvetlen sejtpusztulást, ideértve az apoptózis indukálását is [1]. Fontos megjegyezni azonban, hogy a monoklonális ellenanyagok önálló alkalmazás esetén gyakran korlátozott hatékonyságot mutatnak [19, 20].



1. ÁBRA. A daganatok immunszuppresszív hatása

A tumorsejtek (zöld) olyan citokineket (zöld pontok) termelnek, amelyek a tumorantigén-felismerő T-sejtek (kék) immunválaszt blokkolják

FIGURE 1. Immunosuppressive Impact of Tumors: Tumor cells (green) secrete cytokines (green spots) which impede the immune response by tumor antigen-specific T cells (blue).

A svájci kutyarákregiszter (Swiss Canine Cancer Registry) az elmúlt fél évszázad során gyűjtött adatok alapján rögzítette a leggyakoribb daganattípusok előfordulását. Több, mint százhuszezer állat adatai alapján az adenoma/adenocarcinoma (18,1%), a mastocytoma (6,5%), a lymphoma (4,3%), a melanoma (3,6%), a fibroma/fibrosarcoma (3,4%), a hemangioma/hemangiosarcoma (2,8%), a laphámrák (1,9%) és az osteoma/osteosarcoma (1,2%) fordul elő leginkább a kutyák daganattípusai között [21]. A leggyakrabban kezelt daganatos megbetegedések közé tartoznak a lymphomák, [22], azon belül is a B-sejtes formák, amelyek a leggyakoribb vérképzőszervi daganatos megbetegedésnek számítanak mind emberek, mind kutyák esetében [23]. A kutatások eredményei azt mutatják, hogy a genetikai háttér jelentősen befolyásolhatja a tumorok előfordulását és progresszióját. Különösen egyes kutyafajtáknál, ahol a betegség kockázata lényegesen nagyobb lehet: pl. tacsókóknál, pomerániai törpespicceknél, a cairn terriernek és bichon frise kutyáknál. Megfigyelték, hogy az angol bulldogok esetében akár évekkel korábban jelentkezhetnek a daganatok, mint más fajtáknál [24]. Szakirodalmi adatok szerint az emlődaganatok előfordulása csökkenthető a fiatal korban elvégzett ovariohysterectomia alkalmazásával [25]. Jelenleg csupán néhány olyan állatgyógyászati onkológiai terápia érhető el, amelyek rendelkeznek az FDA (U.S. Food and Drug Administration – Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerfelügyelet) jóváhagyásával vagy a USDA (United States Department of Agriculture – Amerikai Mezőgazdasági Minisztérium) jóváhagyásával. Az eddig ismert adatok egyértelműen rávilágítanak arra, hogy nagy szükség lenne, specifikusan kutyáknak és macskáknak szánt immunterápiás kezelési lehetőségekre [26].

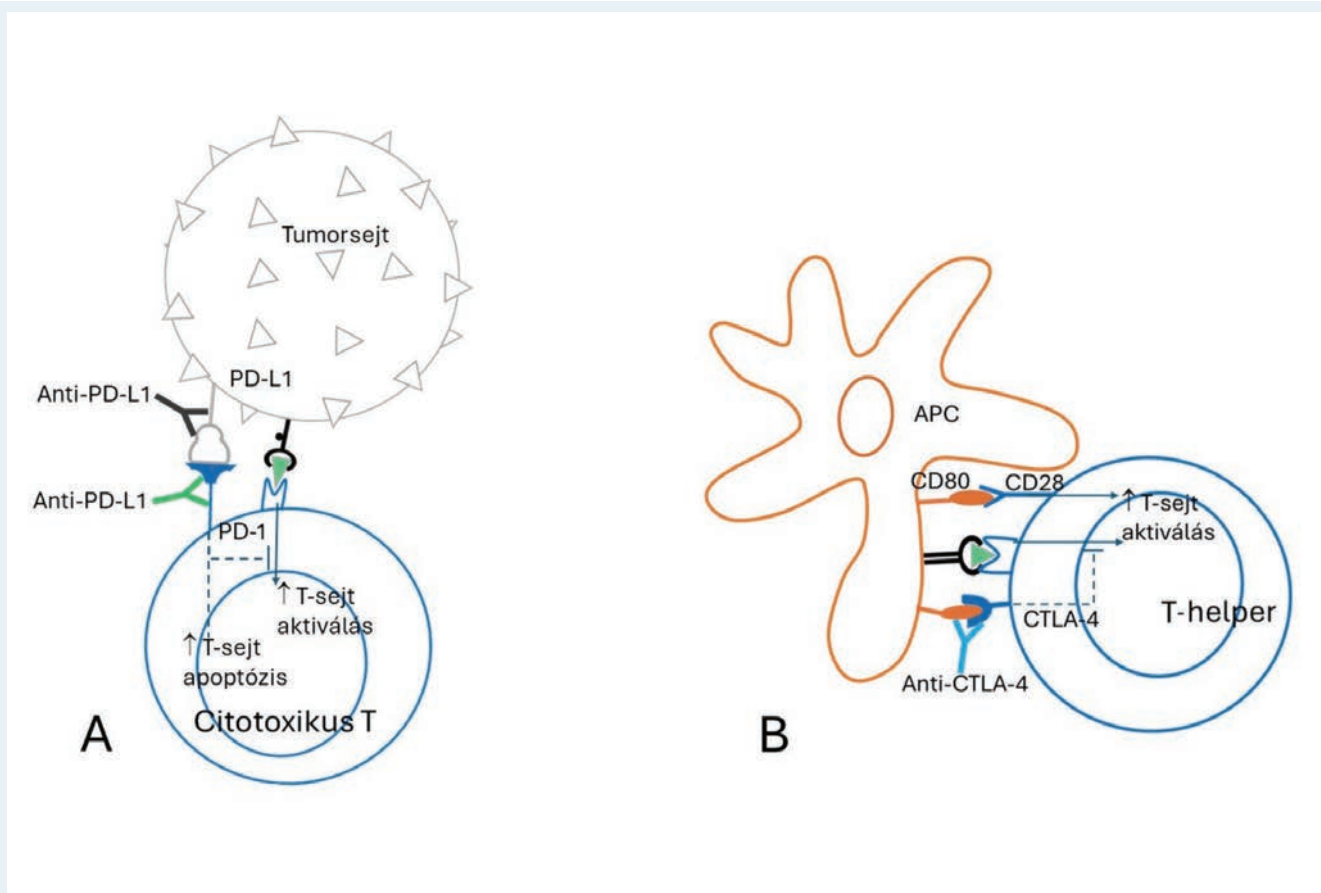
A daganatsejtek olyan anyagokat termelnek, amelyek megakadályozzák, hogy az immunrendszer felismerje őket

A daganatos megbetegedések immunterápiájának kutatásában két meghatározó, egymást kiegészítő megközelítés dominál: az immunellenőrzőpont-gátlók alkalmazása, amelyekért nemrégiben orvosi Nobel-díjat ítéltek oda [27], és a kiméra antigénreceptor (CAR) T-sejtek programozása. Ez utóbbi célja az, hogy specifikus rákos sejttypusokon található antigéneket felismerő T-sejtek létrejöttét elősegítse [28], míg az immunellenőrzőpont-gátlók a T-sejtek aktiválására összpontosítanak. A daganatok mikro környezetében a T-sejteknek fel kell ismerniük a daganatra specifikus antigéneket, ugyanakkor a daganatok olyan anyagokat termelhetnek, amelyekkel ezt megakadályozzák. Az immunrendszer minden olyan anyagra sajátjaként tekint, amelyeket az élet folyamán felhasználhat. Abban az esetben, ha a daganat már nem használt (pl. magzati korban hasznos, majd utána felesleges) fehérjék termelésébe kezd, a T-sejtek azokat nem lesznek képesek felismerni, és a daganat túlél. Más esetekben a T-sejtek működési zavara figyelhető meg, és a dendritikus sejtek ahelyett, hogy a lymphocyták működését fokoznák, inkább blokkolják azt. Ez az immunválaszt elnyomó regulátor T-sejtek jelenlétében következik be [29].

IMMUNELLENŐRZŐPONT-GÁTLÓKAT ALKALMAZÓ TERÁPIÁS ELJÁRÁSOK

A T-sejtaktiváció egy szigorúan szabályozott folyamat, amely a T-sejt receptor (TCR) komplex által generált jelektől és az ezzel összefüggő szabályozó fehérjékkel történő kölcsönhatástól függ. A dinamikus kölcsönhatás a gátló és stimuláló fehérjék között meghatározza a T-sejtes aktiváció mértékét, lehetővé téve ezzel a saját antigénekkal szembeni toleranciát (gátló hatás), ugyanakkor képes az idegen antigénekkal szembeni adaptív immunválasz elindítására (stimuláló hatás). Az immunellenőrző pontok alapvetően fontosak a gátló ingerek szempontjából, amelyek normál körülmények között a T-sejtek tevékenységét ideiglenesen gátolják, így fenntartva az immunválasz szintjét a kívánt fiziológiai tartományon belül [1]. Az immunrendszer ellenőrzési pontjain ható immunellenőrzőpont-gátlókat célzó terápiák segítségével hatékonyan aktiválhatjuk azokat a daganat mikro környezetében található T-sejteket, amelyek hatékony immunválaszt nem voltak képesek kiváltani a daganat által termelt citokinek miatt [30]. Az immunellenőrzőpont-gátlók specifikus fehérjék vagy monoklonális ellenanyagok, amelyek a CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 – citotoxikus T-lymphocyta antigén 4) vagy a PD-1/PD-L1 (programmed cell death protein-1/programmed cell death ligand-1 – programozott sejthalál fehérje-1/programozott sejthalál ligand-1) útvonalon keresztül irányítják az immunrendszer válaszát a daganatos sejtek ellen. A két leggyakrabban alkalmazott immunellenőrzőpont-gátló az anti-CTLA-4 (ipilimumab) és az anti-PD-1/PD-L1 (nivolumab) [18]. A PD-1 egy sejtfelszíni fehérje, amely az aktivált T-sejteken és B-sejteken expresszálódik, és képes kötődni a PD-L1 (B7-H1) transzmembrán fehérjéhez, amely az egészséges és daganatos sejteken egyaránt megtalálható [31, 32]. Ezek a fehérjék hozzájárulnak az autoimmun szövődmények elkerüléséhez és az immunrendszer homeosztázisának fenntartásához. Egészséges körülmények között csökkentik az immunválaszt, biztosítva a fiziológiás immunszuppresszív környezetet. Bizonyos daganatos megbetegedések, mint pl. az áttétes melanoma, a nem-kissejtes tüdőrák és a vesesejtes tumor, kihasználják ezt a folyamatot, és módosítják a PD-1/PD-L1 expresszióját, megakadályozva ezzel a megfelelő immunválasz kialakulását [33]. Nagy esetszámú emlőrákos ($n = 3647$), nem-kissejtes tüdőrákos ($n = 4549$) és III. stádiumú rosszindulatú melanomás ($n = 37$) beteg vizsgálata során azt tapasztalták, hogy azon betegek esetében, akiknél a PD-L1 expressziója a daganatban emelkedett volt, a kezelések sikerességének aránya is megnövekedett (magyarázatát lásd. a

Az immun-ellenőrzőpont-gátlók segítségével hatékonyan aktiválhatók a daganat környezetében található T-sejtek



2. ÁBRA. A) PD-1 és PD-L1 elleni monoklonális ellenanyag

Az ép és a daganatsejteken is kifejeződő PD-L1 kötődik a citotoxikus T-sejtek felületén található PD-1-hez, ami az immunválasz kialakulását blokkolja. Ez a kapcsolat az autoimmunitás kialakulását gátolja, de a daganatsejtek ezt kihasználva a T-sejtek apoptózisának fokozásával élnek túl. A PD-1, PD-L1 blokkolásával a citotoxikus sejt elpusztítja a daganatsejteket

B) A CTLA-4 elleni monoklonális ellenanyag

Az antigénprezentáló sejt az MHCII receptoron aktiválja a T-helper-sejtet. Ehhez szükség van a CD28 és CD80 közti kapcsolatra is. A CTLA-4 a CD28 antagonistájaként a T-helper sejt aktivációját gátolja, ezért az erre tervezett monoklonális ellenanyag a CD28-CD80 kapcsolatot erősíti

FIGURE 2. A) Monoclonal antibodies targeting PD-1 and PD-L1

Programmed death-ligand 1 (PD-L1), ubiquitously expressed on both healthy and neoplastic cells, engages with programmed cell death protein 1 (PD-1) receptors present on cytotoxic T cells, thereby attenuating immune responses. While this interaction serves to prevent autoimmunity, tumor cells exploit it to evade immune surveillance by inducing T cell apoptosis. Blockade of PD-1 and PD-L1 axes enhances cytotoxic T cell-mediated tumor cell clearance

B) Monoclonal antibodies against CTLA-4

Upon antigen presentation, the major histocompatibility complex class II (MHCII) on antigen-presenting cells engages with the T cell receptor, which necessitates concurrent CD28 binding to CD80. As a CD28 antagonist, cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) diminishes T helper cell activation. Therefore, monoclonal antibodies directed against CTLA-4 fortify the CD28-CD80 interaction, promoting sustained T helper cell activation

2. A ábrán) [34, 35]. A CTLA-4 egy homológja a T-sejteken található CD28-nak, és kötődik az antigénprezentáló sejtek (pl. dendritikus sejtek) CD80 (B7-1) vagy CD86 (B7-2) molekuláihoz, ahol képes szabályozni az immunválaszt. Ellentétben a CD28-cal, ami fokozza az immunválaszt, a CTLA-4-nek gátló szerepe van, és nagyobb affinitást mutat az antigénprezentáló sejtek MHC koreceptoraihoz, mint a CD28. Az anti-CTLA-4 gyógyszereket már klinikailag

alkalmazzák immunstimuláló tumorelles terápiként (2. B ábra). Bizonyos daganatok gátolhatják az immunaktivációt (pl. a nem-kissejtes tüdőrák, kissejtes tüdőrák, gyomor adenocarcinoma, hepatocellularis carcinoma) [36], így a terápia, amely a CTLA-4 molekulát semlegesíti, ezekben az esetekben hatékony lehet (a gátlás gátlásával; immune checkpoint inhibitors). A két hatóanyag kombinációja egyes daganatos megbetegedések esetén javulást mutatott a betegek túlélési idejének tekintetében. Klinikai környezetben kipróbálták különböző stádiumú humán metasztatikus melanoma, előrehaladott vesesejtes carcinoma és vastagbélrák esetében is [37]. Az anti-PD-1/PD-L1 ellenanyagokat humán klinikai vizsgálatok során is alkalmazták, kombinálva standard kemoterápiával vagy sugárterápiával [38, 39]. A monoklonális ellenanyagok használata immunellenőrzőpont-gátló szerek formájában az állatorvosi gyakorlatban még nem elterjedt, azonban klinikai kutatások már foglalkoznak vele. Ezekben az esetekben az ellenanyagok módosítása elengedhetetlen annak érdekében, hogy megfeleljenek a gazdaszervezet számára (pl. kaninizált vagy felinizált monoklonális ellenanyagok). Egy 2020-ban elvégzett vizsgálatban kaninizált anti-PD-1 molekulát alkalmaztak különböző spontán daganatoktól szenvedő kutyák kezelésére. Az eddigi eredmények ígéretesek [40].

Hasonlóan, a PD-1 gátlása biztonságosnak bizonyult és daganatellenes aktivitást mutatott a tüdőmetasztázisoktól szenvedő kutyák orális rosszindulatú melanomás (OMM – oral malignant melanoma) eseteiben. Bár a kezelések eredményei (a IV. stádiumú OMM esetek 26,7%-ban volt mérhető válasz [4/15]) elmaradtak az előrehaladott melanomás humán esetekben tapasztaltaktól [41], a PD-1-gátlás terápiai potenciáljára kutyák melanomájában is szembetűnő.

A KIMÉRA ANTIGÉNRECEPTOR (CAR) T-SEJTTERÁPIA

Az eljárás során *in vitro* körülmények között olyan T-sejteket állítanak elő, amelyek képesek a daganat antigénjét specifikusan felismerni. Ezek a genetikailag módosított sejtek visszakerülve a szervezetbe képesek a daganat eliminálására (3. ábra) [26]. A CAR T-sejtes terápia különösen ígéretesek a hematológiai daganatok esetében [42, 43].

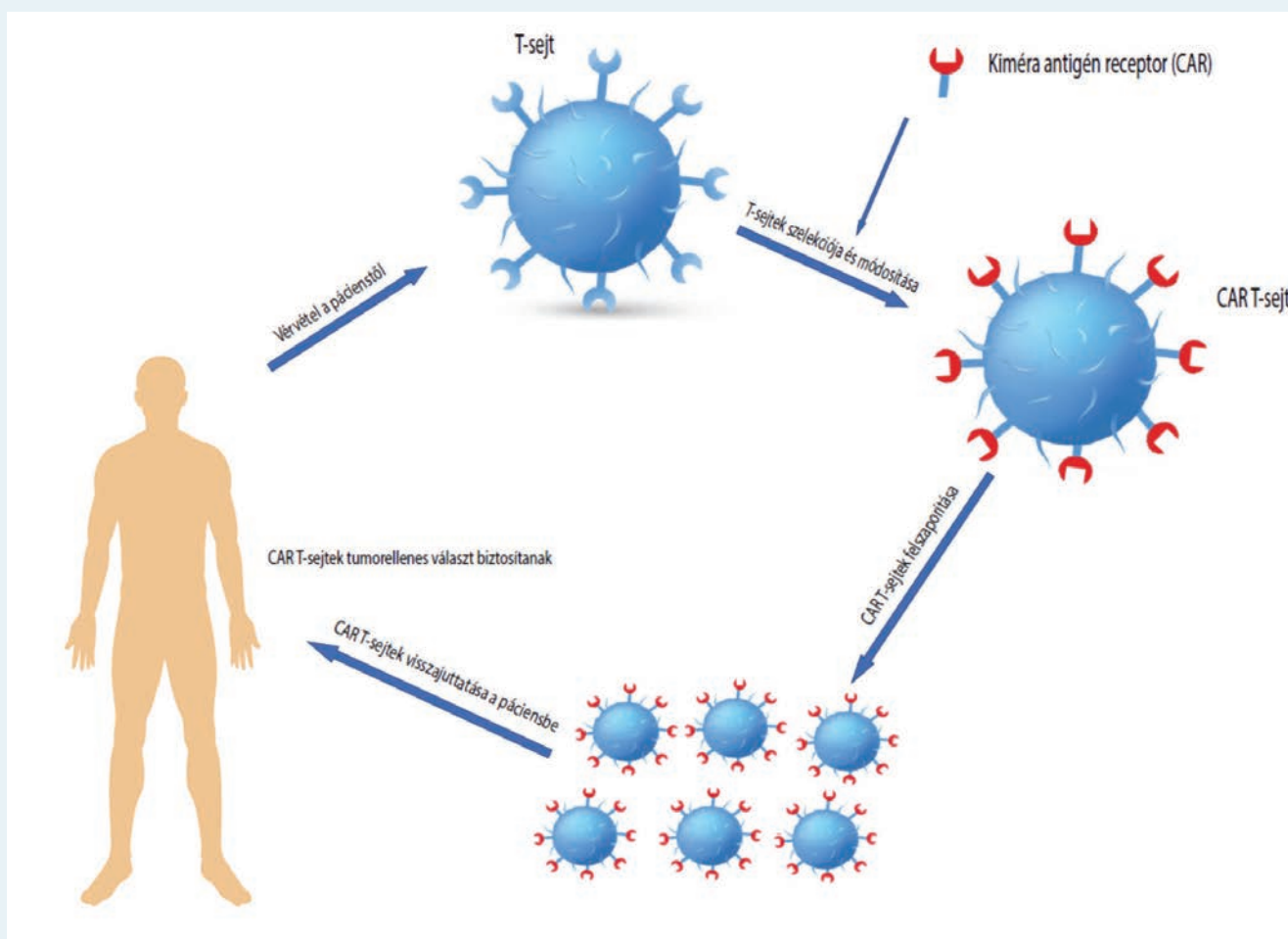
Kutyák esetében az egyik első klinikai vizsgálatot PANJWANI és mtsai [44] végezték, és azóta több eljárást fejlesztettek ki a kutya CAR T-sejtek előállítására [45, 46]. Kutyákat hosszú ideje alkalmaznak emberi sejterápiák preklinikai tesztelésére, mivel biológiai életkoruk kitolódott, és az emberi környezetben ugyanazok a hatások érik őket, mint a humán populációt, emiatt betegségeik hasonlóan manifesztálódnak [47], ezért spontán betegségmodelleket jelentenek az innovatív CAR T-sejt stratégiák tanulmányozására, valamint új megközelítések kidolgozására is. Másrészt a CAR T-sejtek hatékonyságára és biztonságosságára vonatkozó humán klinikai vizsgálatokból származó információk hozzájárulhatnak a jövőbeli sejtalapú terápia kifejlesztéséhez az állatorvosi onkológiában, az Egy Egészség (One Health) kezdeményezés keretein belül [48].

IN SITU VAKCINÁZÁS

Az immunrendszer daganatok elleni stimulálásában egy viszonylag új, alternatív módszer az *in situ* vakcinázás, amelynek során immunaktivációt serkentő anyagokat injektálnak lokálisan a daganatsejtek közé. Az *in situ* vakcináció egy olyan stratégia, amely a tumor mikrokörnyezetében a tumorasszociált antigének (TAA-k) felhasználásával képes TAA-specifikus adaptív immunválaszt előidézni. A TAA-k általában a tumorsejtek elhalála során szabadulnak fel, majd az antigénprezentáló sejtek képesek azokat feldolgozni és bemutatni a lymphocytáknak. Az immunreakció aktiválását és a helyi gyulladás kialakítását a veleszületett immunrendszerre ható aspecifikus, kis molekulású

A CAR-T eljárás során *in vitro* olyan T-sejteket állítanak elő, amelyek képesek a daganat antigénjét felismerni

Az *in situ* vakcinázás, amelynek során immunaktivációt serkentő anyagokat injektálnak lokálisan a tumor mikrokörnyezetbe



3. ÁBRA. A kiméra antigénreceptorokkal történő T-sejtmódosítás sematikus ábrája

FIGURE 3. T-Cell modification using chimeric antigen receptors

**Hatásukra
lokálisan, majd az
egész szervezetben
szisztémá-
san, specifikus
daganatellenes
cellularis
immunválasz
indukálódik**

anyagokkal éri el. Ezeket a molekulákat a daganatba, vagy annak mikrokörnyezetébe injektálják [49, 50]. Eredményként lokálisan, majd az egész szervezetben szisztémásan, specifikus daganatellenes cellularis immunválasz indukálódik, amely a metasztázisokat is képes lehet eliminálni a szervezetből [51–53]. A Toll-like receptorok (TLR-ek) különböző típusú molekuláris mintázatokat ismernek fel. A humán TLR1, 2, 4, 6 és 10 (valamint ezek állati megfelelői) specifikus, leginkább bakteriális eredetű lipidek azonosítására képesek. A TLR5 és 11 idegen fehérjéket, a TLR3, 7, 8 és 9 pedig nem-gerincesekre jellemző nukleinsavakat [54]. A TLR2 a Gram-pozitív baktériumokat, a TLR4 a Gram-negatív baktériumok lipopoliszacharidjait, míg a vírusokat a TLR3 (dsRNS), TLR7 (ssRNS) és TLR9 (metilálatlan citozin és guanin egymástól egy foszfátcsoporthal elválasztva, rövidítve CpG-DNS) ismeri fel. Számos TLR-agonista alkalmazható potenciális immunmodulátorként, és közülük több kísérletben használták a CpG-DNS-t TLR9 agonistaként [52, 55]. A metilálatlan CpG motívumot a TLR9 azonosítja, és a cellularis immunválaszt elindítva hatékonyan védekezik a daganatok ellen [52, 56–60]. Az antigénprezentáló sejtek TLR9-agonisták általi stimulálása fokozza az antigének felvételét és bemutatását, elősegítve a T-helper2-sejtek és citotoxikus T-sejtek aktiválását [59]. Emellett képes az OX40 expresszióját indukálni a T-helper-sejteken a tumor mikrokörnyezetében. Az OX40 egy kostimulátor molekula, amely a TNFR (tumor nekrosis faktor receptor) szupercsaládjához tartozik [61,

62]. Feladata az aktiválódási gáton átbillenteni azokat az effektor T-sejteket, amelyek TCR-on keresztül már kapcsolódnak antigénhez, de még nem aktiválódtak. Az OX40 molekula stimulálása továbbá gátolja a regulátor T-sejtek működését. Ennek megfelelően az anti-OX40 terápia CpG-vel együtt pozitív eredményeket mutatott több daganattípus, pl. lymphoma (A20), melanoma (B16-F10), vastagbélrák (CT26) és emlődaganat (4T1) kezelésében is [52].

DENDRITIKUSSEJT-ALAPÚ TERÁPIÁK

Az elmúlt két évtized során egyre növekvő figyelmet kapott a dendritikus sejtek (DC) és más antigénprezentáló sejtek alkalmazása a szolid daganatok lehetséges immunmodulációs terápiájában. A dendritikus sejteket B16F10–OVA metasztatizáló egér melanoma antigént (metastatic murine melanoma) tartalmazó liposzómával és DC-érési szignállal (pl. IFN γ - vagy GM-CSF-liposzómákkal [granulocytá-macrophag koloniasztimuláló faktor]) kombinálva aktiválták, ami hatékony daganatellenes aktivitást mutatott *in vitro* és *in vivo* is. A tüdőáttétek száma is csökkent a kísérletes körülmények között kezelt egerekben [63]. WAECKERLEMAN és mtsai (2005) PLGA (kopolimerizált tej- és glikolsav) mikrogömböket használtak az antigén bejuttatására humán monocytáeredetű dendritikus sejtekbe (hMoDC). A PLGA hatékonyan meghosszabbította a dendritikus sejtek antigénprezentációját, miközben nem befolyásolta a T-sejtek migrációját, citokinszekrécióját, túlélését és allostimulációját [64]. Hasonlóképpen, a GM-CSF által stimulált dendritikus sejtek használata biztató eredményeket hozott egérfibrosarcoma-modellben [65]. Más kutatásokban a fotodinámiás terápia (fényérzékenyítő anyagot visznek fel a bőrre, és azt napfény, vagy mesterséges fényforrás segítségével aktiválják, miközben reaktív oxigéngyökök szabadulnak fel) és a dendritikus sejtes vakcináció kombinációjával hatékony immunválaszt váltottak ki laphámrák esetében [66]. Ezen kívül az adenovírusvektor (kiméra Ad5/3 vektor) is potenciálisan hasznos lehet a dendritikus sejtek szelektív aktiválásához [67].

CITOKINTERÁPIÁK

A kutyáknál spontán módon kialakuló osteosarcoma (OSA) előfordulása lényegesen – körülbelül 30–50-szer – nagyobb, mint az emberi populációban (az USA-ban évente körülbelül 45 000 eset) [68]. Az állatorvosi gyakorlatban a szokásos eljárás az OSA kezelésére a sebészeti reszekció, majd 4–6 ciklus kemoterápia karboplatinral és/vagy doxorubicinnel [69, 70]. Ez a kombináció hatékonyan javíthatja a túlélési esélyeket [69, 71]. Azoknál a kutyáknál, amelyeknél csak sebészeti beavatkozást alkalmaznak (jellemzően amputációt) a metasztázisok előfordulása tüdőben, csontokban vagy lágy szövetekben a műtétet követő 14 hét alatt akár 90%-os lehet. Ugyanakkor a kemoterápia bevonásával 25%-ra is csökkenthető ez az arány. A ma már Magyarországon is igénybe vehető kezeléssel, az elérhető teljes túlélési idő átlagosan 8–12 hónapra tehető [72, 73]. A túlélési idő növelésére egy potenciális alternatív terápiás megoldás lehet a citokinterápia, pl. az IL-2 alkalmazásával. A T-sejtek aktivációjának növelésével javítható a daganatellenes immunitás és késleltethető a tüdőmetasztázisok progressziója, de akár a tumor regressziója is elősegíthető (NK- és T-sejtek differenciálódásával és aktiválódásával) [74]. Kutyák esetében az IL-2-terápiát követően azonosították a tüdőszövetben a citokin expresszióját, és szisztémás immunaktivációt tapasztaltak (átmeneti láz, alacsony lymphocytá- és vérlemezkeszám). Megfigyelték, hogy a kostimulátor molekulák és az MHCII kifejeződése is megnövekedett a monocytákon, valamint fokozódott az NK-sejtek citotoxicitása. A kezelt kutyák teljes túlélése szignifikánsan javult a betegség adott stádiumának megfelelő kontrollokhoz képest [75]. Egy 2020-as tanulmány eredményei szerint az autológ daganatsejt-vakcina, az adoptív T-sejt transzfer, valamint az IL-2 terápia alkalmazása hosszú távú túlélést eredményezhet osteosarcomás kutyák esetében [76].

**IL-2 alkalmazása
javíthatja
osteosarcomás
kutyák túlélési
idejét**

*Az mRNS hatékony
vektor a terápiás
fehérjék páciensbe
juttatására*

mRNS-VAKCINÁK

Az immuno-onkológia területén az utóbbi években számos kutatás foglalkozott az mRNS-vakcinákkal. Az eddigi eredmények biztatóak [77]. Az mRNS hatékony vektor a terápiás fehérjék páciensbe juttatására, amely tovább fokozható az mRNS-molekula módosításával [78]. Ebben a tekintetben a tumorantigéneket kódoló mRNS alkalmazását behatóan tanulmányozták hatékony rákvakcinák előállítására céljából. Az mRNS vektoroknak többféle felhasználási területe is létezik. Segítségükkel képesek vagyunk tumorspecifikus, vagy immunellenőrzési-pontot blokkoló monoklonális ellenanyagokat is bejuttatni a páciensbe. A monoklonális ellenanyagok szállítására képes mRNS-vektorokat tanulmányozták rekombináns, teljes vagy fragmens monoklonális ellenanyagok kapcsán is, amelyek tumorantigéneket, immunsejteket vagy immunaktivációs útvonalakat céloznak meg [79, 80]. Az mRNS-vakcinák arra is használhatók, hogy a daganatos transzformálódott sejteket toxikus intracelluláris fehérje szintézisére kényszerítsék, ami a sejtek önpusztítását idézi elő. Továbbá magát a tumor mikrokörnyezetet is képesek szabályozni, ezzel gátolva az immun-suppressziót. Ezenkívül a kiméra antigénreceptorok (CAR-ok) fejlesztésében is hasznosnak bizonyultak [77]. Ezek az ún. nem tumorantigén-mRNS-alapú immunterápiás megoldások sikeresnek bizonyultak preklinikai vizsgálatokban [77].

MEGVITATÁS

Az elmúlt évtizedek során megfigyelhető volt, hogy a daganatellenes immunterápiák jelentősége fokozatosan növekszik, alkalmazásuk egyre inkább alapvető iránnyá kezd válni a humán gyógyászat területén. Állatorvosi vonatkozásban egyelőre a humán terápiás készítmények előkísérleteiként elterjedtek, de szükségességük, néhány elérhető készítmény alkalmazási tapasztalatai alapján ma már vitathatatlan. A különböző immunterápiás kezelések rendkívül sokrétűen és széles körben felhasználhatóak. Ezen belül jelenleg a leghangsúlyosabb terület a daganatos megbetegedések kezelése, amelynek kapcsán nap, mint nap jelennek meg releváns szakirodalmi közlemények. Általánosságban elmondható, hogy az immunterápiás eljárások tekintetében az állatorvosi alkalmazás elmarad a humán orvoslásban tapasztalható felhasználástól. Kiváló példája a jelenségnek a monoklonális ellenanyagok alkalmazása. Míg a humán gyógyászatban számos monoklonális ellenanyag áll rendelkezésre különböző betegségek kezelésére [33, 81], az állatgyógyászatban csak néhány, főleg kaninizált, ill. felinizált ellenanyag érhető el kereskedelmi forgalomban (pl. kutya atópiás dermatitis, vagy macska osteoarthritis tüneti kezelésére). A kutyák atópiás dermatitisének kezelésére szolgáló lokivetmab (Cytopoint®, Zoetis), a kutya interleukin-31-et célozza meg [82, 83]. Ez a tendencia a daganatos megbetegedések kezelésénél is érzékelhető. Kutyá- vagy macskadaganat-antigének megismerésére való törekvés már elkezdődött. Az állatorvoslásban alkalmazott immunterápiás eljárások, bár költségigényesek – a humán kezeléseket követve – egyre nagyobb teret nyernek az egyéb, hagyományos eljárások mellett. Ezek a tendenciák mind arra utalnak, hogy az immunológiai alapú terápiák a jövő állatgyógyászatának szerves részét fogják képezni.

*Az immunológiai
alapú terápiák a jövő
állatgyógyászatának
szerves részét
fogják képezni*

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

A 2019-1.2.1-Egyetemi-Öko-2019-00010 számú projekt a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap támogatásával, a 2019-1.2.1-Egyetemi-Öko támogatási program finanszírozásában valósult meg.

IRODALOM

1. Lesch S, Gill S (2021) The promise and perils of immunotherapy. *Blood Advances* 5:3709–3725. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021004453C>
2. Fouad YA, Aanei C (2017) Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer Res* 7:1016–1036
3. Vinay DS, Ryan EP, Pawelec G, Talib WH, Stagg J, Elkord E, Lichtor T, Decker WK, Whelan RL, Kumara HMCS, Signori E, Honoki K, Georgakilas AG, Amin A, Helferich WG, Boosani CS, Guha G, Ciriolo MR, Chen S, Mohammed SI, Azmi AS, Keith WN, Bilsland A, Bhakta D, Halicka D, Fujii H, Aquilano K, Ashraf SS, Nowsheen S, Yang X, Choi BK, Kwon BS (2015) Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Semin Cancer Biol* 35 Suppl:S185–S198. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.03.004>
4. Rosenthal RC (2001) *Veterinary Oncology Secrets*. Hanley & Belfus
5. Baxevasis CN, Perez SA, Papamichail M (2009) Cancer immunotherapy. *Crit Rev Clin Lab Sci* 46:167–189. <https://doi.org/10.1080/10408360902937809>
6. Sapir-Pichhadze R, Laprise C, Beauchamp M-E, Kaouache M, Zhang X, Della Vecchia A, Azoulay L, Franco EL, Abrahamowicz M, Nicolau B (2015) Immunosuppression and cancer risk in kidney transplant recipients: A retrospective cohort study. *International Journal of Cancer* n/a: <https://doi.org/10.1002/ijc.34875>
7. Smyth MJ, Godfrey DI, Trapani JA (2001) A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. *Nat Immunol* 2:293–299. <https://doi.org/10.1038/86297>
8. Wallace ME, Smyth MJ (2005) The role of natural killer cells in tumor control--effectors and regulators of adaptive immunity. *Springer Semin Immunopathol* 27:49–64. <https://doi.org/10.1007/s00281-004-0195-x>
9. Itoh H, Horiuchi Y, Nagasaki T, Sakonju I, Kakuta T, Fukushima U, Uchida T, Yamashita M, Kuwabara M, Yusa S-I, Takase K (2009) Evaluation of immunological status in tumor-bearing dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 132:85–90. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.04.020>
10. Schmiedt CW, Grimes JA, Holzman G, McAnulty JF (2009) Incidence and risk factors for development of malignant neoplasia after feline renal transplantation and cyclosporine-based immunosuppression. *Vet Comp Oncol* 7:45–53. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2008.00172.x>
11. Hurwitz AA, Watkins SK (2012) Immune suppression in the tumor microenvironment: a role for dendritic cell-mediated tolerization of T cells. *Cancer Immunol Immunother* 61:289–293. <https://doi.org/10.1007/s00262-011-1181-5>
12. Sotomayor EM, Borrello I, Tubb E, Rattis FM, Bien H, Lu Z, Fein S, Schoenberger S, Levitsky HI (1999) Conversion of tumor-specific CD4+ T-cell tolerance to T-cell priming through in vivo ligation of CD40. *Nat Med* 5:780–787. <https://doi.org/10.1038/10503>
13. Staveley-O'Carroll K, Sotomayor E, Montgomery J, Borrello I, Hwang L, Fein S, Pardoll D, Levitsky H (1998) Induction of antigen-specific T cell anergy: An early event in the course of tumor progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1178–1183. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.3.1178>
14. Geering B, Fussenegger M (2015) Synthetic immunology: modulating the human immune system. *Trends Biotechnol* 33:65–79. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.10.006>
15. Farkona S, Diamandis EP, Blasutig IM (2016) Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? *BMC Med* 14:73. <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0623-5>
16. Gong J, Chehrazhi-Raffle A, Reddi S, Salgia R (2018) Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *J Immunother Cancer* 6:8. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0316-z>
17. Kruger S, Ilmer M, Kobold S, Cadilha BL, Endres S, Ormanns S, Schuebbe G, Renz BW, D'Haese JG, Schloesser H, Heinemann V, Subklewe M, Boeck S, Werner J, von Bergwelt-Baildon M (2019) Advances in cancer immunotherapy 2019 – latest trends. *J Exp Clin Cancer Res* 38:268. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1266-0>
18. Gorbet M-J, Ranjan A (2020) Cancer immunotherapy with immunoadjuvants, nanoparticles, and checkpoint inhibitors: Recent progress and challenges in treatment and tracking response to immunotherapy. *Pharmacol Ther* 207:107456. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107456>
19. Coiffier B, Haioun C, Ketterer N, Engert A, Tilly H, Ma D, Johnson P, Lister A, Feuring-Buske M, Radford JA, Capdeville R, Diehl V, Reyes F (1998) Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma: a multicenter phase II study. *Blood* 92:1927–1932
20. Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, Morel P, Van Den Neste E, Salles G, Gaulard P, Reyes F, Lederlin P, Gisselbrecht C (2002) CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 346:235–242. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011795>
21. Grüntzig K, Graf R, Boo G, Guscetti F, Hässig M, Axhausen KW, Fabrikant S, Welle M, Meier D, Folkers G, Pospischil A (2016) Swiss Canine Cancer Registry 1955–2008: Occurrence of the Most Common Tumour Diagnoses and Influence of Age, Breed, Body Size, Sex and Neutering Status on Tumour Development. *J Comp Pathol* 155:156–170. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2016.05.011>
22. Schiffman JD, Breen M (2015) Comparative oncology: what dogs and other species can teach us about humans with cancer. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 370:20140231. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0231>
23. Seelig DM, Avery AC, Ehrhart EJ, Linden MA (2016) The Comparative Diagnostic Features of Canine and Human Lymphoma. *Vet Sci* 3:11. <https://doi.org/10.3390/vetsci3020011>
24. Bromberek JL, Rout ED, Agnew MR, Yoshimoto J, Morley PS, Avery AC (2016) Breed Distribution and Clinical Characteristics of B Cell Chronic Lymphocytic Leukemia in Dogs. *J Vet Intern Med* 30:215–222. <https://doi.org/10.1111/jvim.13814>
25. Beauvais W, Cardwell JM, Brodbelt DC (2012) The effect of neutering on the risk of mammary tumours in dogs--a systematic review. *J Small Anim Pract* 53:314–322. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01220.x>
26. Mochel JP, Ekker SC, Johannes CM, Jergens AE, Allenspach K, Bourgois-Mochel A, Knouse M, Benzekry S, Wierson W, LeBlanc AK, Kenderian SS (2019) CAR T Cell Immunotherapy in Human and Veterinary Oncology: Changing the Odds Against Hematological Malignancies. *AAPS J* 21:50. <https://doi.org/10.1208/s12248-019-0322-1>

27. Kaiser J, Couzin-Frankel J (2018) Cancer immunotherapy sweeps Nobel for medicine. *Science* 362:13. <https://doi.org/10.1126/science.362.6410.13>
28. Kenderian SS, Ruella M, Gill S, Kalos M (2014) Chimeric antigen receptor T-cell therapy to target hematologic malignancies. *Cancer Res* 74:6383–6389. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-1530>
29. Guo M, Abd-Rabbo D, Bertol BC, Carew M, Lukhele S, Snell LM, Xu W, Boukhalel GM, Elsaesser H, Halaby MJ, Hirano N, McGaha TL, Brooks DG (2023) Molecular, metabolic, and functional CD4 T cell paralysis in the lymph node impedes tumor control. *Cell Reports* 42:113047. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113047>
30. Khalil DN, Smith EL, Brentjens RJ, Wolchok JD (2016) The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 13:273–290. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.25>
31. Zheng P, Zhou Z (2015) Human Cancer Immunotherapy with PD-1/PD-L1 Blockade. *Biomark Cancer* 7:15–18. <https://doi.org/10.4137/BIC.S29325>
32. Afreen S, Dermime S (2014) The immunoinhibitory B7-H1 molecule as a potential target in cancer: killing many birds with one stone. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 7:1–17. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2013.09.005>
33. Hargadon KM, Johnson CE, Williams CJ (2018) Immune checkpoint blockade therapy for cancer: An overview of FDA-approved immune checkpoint inhibitors. *Int Immunopharmacol* 62:29–39. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.06.001>
34. Jacquilot N, Roberti MP, Enot DP, Rusakiewicz S, Ternès N, Jegou S, Woods DM, Sodr   AL, Hansen M, Meirou Y, Sade-Feldman M, Burra A, Kwek SS, Flament C, Messaoudene M, Duong CPM, Chen L, Kwon BS, Anderson AC, Kuchroo VK, Weide B, Aubin F, Borg C, Dalle S, Beatrix O, Ayyoub M, Balme B, Tomasic G, Di Giacomo AM, Maio M, Schadendorf D, Melero I, Dr  no B, Khammari A, Dummer R, Levesque M, Koguchi Y, Fong L, Lotem M, Baniyash M, Schmidt H, Svane IM, Kroemer G, Marabelle A, Michiels S, Cavalcanti A, Smyth MJ, Weber JS, Eggermont AM, Zitvogel L (2017) Predictors of responses to immune checkpoint blockade in advanced melanoma. *Nat Commun* 8:592. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00608-2>
35. Kowanzetz M, Zou W, Gettinger SN, Koeppen H, Kockx M, Schmid P, Kadel EE, Wistuba I, Chaff J, Rizvi NA, Spigel DR, Spira A, Hirsch FR, Cohen V, Smith D, Boyd Z, Miley N, Flynn S, Leveque V, Shames DS, Ballinger M, Mocci S, Shankar G, Funke R, Hampton G, Sandler A, Amler L, Mellman I, Chen DS, Hegde PS (2018) Differential regulation of PD-L1 expression by immune and tumor cells in NSCLC and the response to treatment with atezolizumab (anti-PD-L1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 115:E10119–E10126. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802166115>
36. Walker LSK, Sansom DM (2015) Confusing signals: recent progress in CTLA-4 biology. *Trends Immunol* 36:63–70. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.12.001>
37. Rotte A (2019) Combination of CTLA-4 and PD-1 blockers for treatment of cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 38:255. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1259-z>
38. Zhang J, Yan Y, Li J, Adhikari R, Fu L (2020) PD-1/PD-L1 Based Combinational Cancer Therapy: Icing on the Cake. *Front Pharmacol* 11:722. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00722>
39. Sato H, Okonogi N, Nakano T (2020) Rationale of combination of anti-PD-1/PD-L1 antibody therapy and radiotherapy for cancer treatment. *Int J Clin Oncol* 25:801–809. <https://doi.org/10.1007/s10147-020-01666-1>
40. Igase M, Nemoto Y, Itamoto K, Tani K, Nakaichi M, Sakurai M, Sakai Y, Noguchi S, Kato M, Tsukui T, Mizuno T (2020) A pilot clinical study of the therapeutic antibody against canine PD-1 for advanced spontaneous cancers in dogs. *Sci Rep* 10:18311. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75533-4>
41. Lin Z, Chen X, Li Z, Luo Y, Fang Z, Xu B, Han M (2016) PD-1 Antibody Monotherapy for Malignant Melanoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 11:e0160485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160485>
42. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, Lekakis LJ, Miklos DB, Jacobson CA, Braunschweig I, Oluwole OO, Siddiqi T, Lin Y, Timmerman JM, Stiff PJ, Friedberg JW, Flinn IW, Goy A, Hill BT, Smith MR, Deol A, Farooq U, McSweeney P, Munoz J, Avivi I, Castro JE, Westin JR, Chavez JC, Ghobadi A, Komanduri KV, Levy R, Jacobsen ED, Witzig TE, Reagan P, Bot A, Rossi J, Navale L, Jiang Y, Aycock J, Elias M, Chang D, Wiecek J, Go WY (2017) Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 377:2531–2544. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707447>
43. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, Rives S, Boyer M, Bittencourt H, Bader P, Verneris MR, Stefanski HE, Myers GD, Qayed M, De Moerloose B, Hiramatsu H, Schlis K, Davis KL, Martin PL, Nemecek ER, Yanik GA, Peters C, Baruchel A, Boissel N, Mechinaud F, Balducci A, Krueger J, June CH, Levine BL, Wood P, Taran T, Leung M, Mueller KT, Zhang Y, Sen K, Lebwohl D, Pulsipher MA, Grupp SA (2018) Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 378:439–448. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709866>
44. Panjwani MK, Smith JB, Schutsky K, Gnanandarajah J, O'Connor CM, Powell DJ, Mason NJ (2016) Feasibility and Safety of RNA-transfected CD20-specific Chimeric Antigen Receptor T Cells in Dogs with Spontaneous B Cell Lymphoma. *Mol Ther* 24:1602–1614. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.146>
45. Yin Y, Boesteanu AC, Binder ZA, Xu C, Reid RA, Rodriguez JL, Cook DR, Thokala R, Blouch K, McGettigan-Croce B, Zhang L, Konradt C, Cogdill AP, Panjwani MK, Jiang S, Migliorini D, Dahmane N, Posey AD, June CH, Mason NJ, Lin Z, O'Rourke DM, Johnson LA (2018) Checkpoint Blockade Reverses Anergy in IL-13R α 2 Humanized scFv-Based CAR T Cells to Treat Murine and Canine Gliomas. *Mol Ther Oncolytics* 11:20–38. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2018.08.002>
46. Mata M, Vera JF, Gerken C, Rooney CM, Miller T, Pfent C, Wang LL, Wilson-Robles HM, Gottschalk S (2014) Toward immunotherapy with redirected T cells in a large animal model: ex vivo activation, expansion, and genetic modification of canine T cells. *J Immunother* 37:407–415. <https://doi.org/10.1097/CJI.0000000000000052>
47. Gardner HL, Fenger JM, London CA (2016) Dogs as a Model for Cancer. *Annu Rev Anim Biosci* 4:199–222. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110911>
48. Schneider B, Balbas-Martinez V, Jergens AE, Troconiz IF, Allenspach K, Mochel JP (2018) Model-Based Reverse Translation Between Veterinary and Human Medicine: The One Health Initiative. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 7:65–68. <https://doi.org/10.1002/psp4.12262>
49. Hammerich L, Binder A, Brody JD (2015) In situ vaccination: Cancer immunotherapy both personalized and off-the-shelf. *Molecular Oncology* 9:1966–1981. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.10.016>
50. Lizotte PH, Wen AM, Sheen MR, Fields J, Rojanasopondist P, Steinmetz NF, Fiering S (2016) In situ vaccination with

cowpea mosaic virus nanoparticles suppresses metastatic cancer. *Nat Nanotechnol* 11:295–303. <https://doi.org/10.1038/nnano.2015.292>

51. Hammerich L, Bhardwaj N, Kohrt HE, Brody JD (2016) In situ vaccination for the treatment of cancer. *Immunotherapy* 8:315–330. <https://doi.org/10.2217/imt.15.120>

52. Sagiv-Barfi I, Czerwinski DK, Levy S, Alam IS, Mayer AT, Gambhir SS, Levy R (2018) Eradication of spontaneous malignancy by local immunotherapy. *Sci Transl Med* 10:1126/scitranslmed.aan4488

53. Marabelle A, Kohrt H, Caux C, Levy R (2014) Intratumoral immunization: a new paradigm for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 20:1747–1756. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-2116>

54. Seledtsov VI, Goncharov AG, Seledtsova GV (2015) Multipurpose immunotherapy for cancer. *Biomed Pharmacother* 76:24–29. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.10.020>

55. Gulyás D, Kovács G, Jankovics I, Mészáros L, Lőrincz M, Dénes B (2022) Effects of the combination of a monoclonal agonistic mouse anti-OX40 antibody and toll-like receptor agonists: Unmethylated CpG and LPS on an MB49 bladder cancer cell line in a mouse model. *PLoS One* 17:e0270802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270802>

56. Li J, Song W, Czerwinski DK, Varghese B, Uematsu S, Akira S, Krieg AM, Levy R (2007) Lymphoma immunotherapy with CpG oligodeoxynucleotides requires TLR9 either in the host or in the tumor itself. *J Immunol* 179:2493–2500. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.4.2493>

57. Houot R, Levy R (2009) T-cell modulation combined with intratumoral CpG cures lymphoma in a mouse model without the need for chemotherapy. *Blood* 113:3546–3552. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-170274>

58. Marabelle A, Kohrt H, Sagiv-Barfi I, Ajami B, Axtell RC, Zhou G, Rajapaksa R, Green MR, Torchia J, Brody J, Luong R, Rosenblum MD, Steinman L, Levitsky H, Tse V, Levy R (2013) Depleting tumor-specific Tregs at a single site eradicates disseminated tumors. *J Clin Invest* 123:2447–2463. <https://doi.org/10.1172/JCI64859>

59. Sagiv-Barfi I, Kohrt HE, Burckhardt L, Czerwinski DK, Levy R (2015) Ibrutinib enhances the antitumor immune response induced by intratumoral injection of a TLR9 ligand in mouse lymphoma. *Blood* 125:2079–2086. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-08-593137>

60. Tsukamoto H, Kubota K, Shichiku A, Maekawa M, Mano N, Yagita H, Ohta S, Tomioka Y (2019) An agonistic anti-Toll-like receptor 4 monoclonal antibody as an effective adjuvant for cancer immunotherapy. *Immunology* 158:136–149. <https://doi.org/10.1111/imm.13095>

61. Vosskuhl K, Greten TF, Manns MP, Korangy F, Wedemeyer J (2010) Lipopolysaccharide-Mediated Mast Cell Activation Induces IFN- γ Secretion by NK Cells. *J Immunol* 185:119–125. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902406>

62. Kursunel MA, Esendagli G (2016) The untold story of IFN- γ in cancer biology. *Cytokine Growth Factor Rev* 31:73–81. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2016.07.005>

63. van Broekhoven CL, Parish CR, Demangel C, Britton WJ, Altin JG (2004) Targeting dendritic cells with antigen-containing liposomes: a highly effective procedure for induction of antitumor immunity and for tumor immunotherapy. *Cancer Res* 64:4357–4365. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0138>

64. Waeckerle-Men Y, Groettrup M (2005) PLGA microspheres for improved antigen delivery to dendritic cells as cellular vaccines. *Adv Drug Deliv Rev* 57:475–482. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.09.007>

65. Ebrahimi-Nik H, Corwin WL, Shcheglova T, Das Mohapatra A, Mandoiu II, Srivastava PK (2018) CD11c+ MHCII^{lo} GM-CSF-bone marrow-derived dendritic cells act as antigen donor cells and as antigen presenting cells in neoepitope-elicited tumor immunity against a mouse fibrosarcoma. *Cancer Immunol Immunother* 67:1449–1459. <https://doi.org/10.1007/s00262-018-2202-4>

66. Zhang H, Wang P, Wang X, Shi L, Fan Z, Zhang G, Yang D, Bahavar CF, Zhou F, Chen WR, Wang X (2018) Antitumor Effects of DC Vaccine With ALA-PDT-Induced Immunogenic Apoptotic Cells for Skin Squamous Cell Carcinoma in Mice. *Technol Cancer Res Treat* 17:1533033818785275. <https://doi.org/10.1177/1533033818785275>

67. Chondronasiou D, Gill D, Mosteiro L, Urdinguio RG, Berenguer-Llgero A, Aguilera M, Durand S, Aprahamian F, Nirmalathasan N, Abad M, Martin-Herranz DE, Stephan-Otto Attolini C, Prats N, Kroemer G, Fraga MF, Reik W, Serrano M (2022) Multi-omic rejuvenation of naturally aged tissues by a single cycle of transient reprogramming. *Aging Cell* 21:e13578. <https://doi.org/10.1111/acer.13578>

68. Anfinson KP, Grotmol T, Bruland OS, Jonasdottir TJ (2011) Breed-specific incidence rates of canine primary bone tumors – A population based survey of dogs in Norway. *Can J Vet Res* 75:209–215

69. Phillips B, Powers BE, Dernell WS, Straw RC, Khanna C, Hogge GS, Vail DM (2009) Use of single-agent carboplatin as adjuvant or neoadjuvant therapy in conjunction with amputation for appendicular osteosarcoma in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 45:33–38. <https://doi.org/10.5326/0450033>

70. Kent MS, Strom A, London CA, Seguin B (2004) Alternating carboplatin and doxorubicin as adjunctive chemotherapy to amputation or limb-sparing surgery in the treatment of appendicular osteosarcoma in dogs. *J Vet Intern Med* 18:540–544. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18<540:acada-a>2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18<540:acada-a>2.0.co;2)

71. Chun R, Garrett LD, Henry C, Wall M, Smith A, Azene NM (2005) Toxicity and efficacy of cisplatin and doxorubicin combination chemotherapy for the treatment of canine osteosarcoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 41:382–387. <https://doi.org/10.5326/0410382>

72. Withrow SJ, Powers BE, Straw RC, Wilkins RM (1991) Comparative aspects of osteosarcoma. Dog versus man. *Clin Orthop Relat Res* 159–168

73. Mason NJ (2020) Comparative Immunology and Immunotherapy of Canine Osteosarcoma. In: Kleiner ES, Gorlick R (eds) *Current Advances in the Science of Osteosarcoma: Research Perspectives: Tumor Biology, Organ Microenvironment, Potential New Therapeutic Targets, and Canine Models*. Springer International Publishing, Cham, pp 199–221

74. Mitchell DH, Withrow SJ, Johnston MR, Kruse CA (1991) Cytotoxicity against autologous, allogeneic, and xenogeneic tumor targets by human recombinant interleukin-2-activated lymphocytes from healthy dogs and dogs with lung tumors. *Am J Vet Res* 52:1132–1136

75. Dow S, Elmslie R, Kurzman I, MacEwen G, Pericle F, Liggitt D (2005) Phase I study of liposome-DNA complexes encoding the interleukin-2 gene in dogs with osteosarcoma lung metastases. *Hum Gene Ther* 16:937–946. <https://doi.org/10.1089/hum.2005.16.937>

76. Flesner BK, Wood GW, Gayheart-Walsten P, Sonderegger FL, Henry CJ, Tate DJ, Bechtel SM, Donnelly LL, Johnson GC, Kim DY, Wahaus TA, Bryan JN, Reyes N (2020) Autologous cancer cell vaccination, adoptive T-cell transfer, and interleukin-2 administration results in long-term survival for companion dogs with osteosarcoma. *J Vet Intern Med* 34:2056–2067. <https://doi.org/10.1111/jvim.15852>

77. Van Hoecke L, Verbeke R, Dewitte H, Lentacker I, Vermaelen K, Breckpot K, Van Lint S (2021) mRNA in cancer immunotherapy: beyond a source of antigen. *Mol Cancer* 20:48. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01329-3>

78. Tusup M, French LE, De Matos M, Gatfield D, Kundig T, Pascolo S (2019) Design of in vitro Transcribed mRNA Vectors for Research and Therapy. *Chimia (Aarau)* 73:391–394. <https://doi.org/10.2533/chimia.2019.391>

79. Lecocq Q, De Vlaeminck Y, Hanssens H, D'Huyvetter M, Raes G, Goyvaerts C, Keyaerts M, Devoogdt N, Breckpot K (2019) Theranostics in immuno-oncology using nanobody derivatives. *Theranostics* 9:7772–7791. <https://doi.org/10.7150/thno.34941>

80. A review of bispecific antibodies and antibody constructs in oncology and clinical challenges – ScienceDirect.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725819300695?via%3Dihub>. Accessed 22 Feb 2024

81. Buss NA, Henderson SJ, McFarlane M, Shenton JM, de Haan L (2012) Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Curr Opin Pharmacol* 12:615–622. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2012.08.001>

82. Michels GM, Ramsey DS, Walsh KF, Martinon OM, Mahabir SP, Hoevers JD, Walters RR, Dunham SA (2016) A blinded, randomized, placebo-controlled, dose determination trial of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized, anti-canine IL-31 monoclonal antibody in client owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 27:478–e129. <https://doi.org/10.1111/vde.12376>

83. Michels GM, Walsh KF, Kryda KA, Mahabir SP, Walters RR, Hoevers JD, Martinon OM (2016) A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the safety of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized anti-canine IL-31 monoclonal antibody in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 27:505–e136. <https://doi.org/10.1111/vde.12364>

Közlésre érkező: 2024. jan. 9.

Antimicrobial peptides
as new tools to combat
infectious diseases

Cs. Sebők*
A. Márton Rege
M. Mackei
Zs. Neogrády
G. Mátis

Állatorvostudományi Egyetem,
Élettani és Biokémiai Tanszék,
H-1078 Budapest, István utca 2.

*e-mail: sebok.csilla@univet.hu

Az antimikrobiális peptidek mint a fertőző betegségek elleni küzdelem új eszközei

Sebők Csilla*, Márton Rege Anna, Mackei Máté, Neogrády Zsuzsanna,
Mátis Gábor

ÖSSZEFOGLALÁS

Az antimikrobiális peptidek (továbbiakban: AMP-k), vagy a szakirodalomban egyre ismertebbé váló nevükön gazdavédő peptidek (host defense peptide, HDP) a veleszületett immunitás részeként csaknem minden szervezetben megtalálhatóak, és közvetlen antimikrobiális hatásukon kívül jelentős immunmoduláns, valamint daganatellenes és sebgyógyulást serkentő képességekkel rendelkeznek. A szakirodalmi összefoglalóban a szerzők bemutatják az AMP-k általános tulajdonságait, ill. felfedezésük történetét, majd részletesen ismertetik közvetlen és közvetett antimikrobiális hatásait.

SUMMARY

The rapidly growing rates of antimicrobial resistance represent a great challenge not just in human, but in veterinary medicine, as well. The restriction of antibiotic usage and the increasing spread of resistance made preventing and treating bacterial infections increasingly difficult. Therefore, research into compounds that can be used as substitutes for antibiotics is of particular importance. Antimicrobial Peptides (AMPs), also known as Host Defense Peptides (HDPs) can be considered promising candidates in this respect. They are small, typically cationic peptides of up to 100 amino acids, have a diverse structure and are produced in almost all living organisms as part of innate immunity.

In this review article, the authors describe the direct antibacterial activity of AMPs, which is based on their cationic and amphipathic structures. They are able to bind to the mostly negatively charged bacterial membrane and produce pores with several different mechanisms. The disrupted permeability is often enough to kill the microbe; however, AMPs can also bind to several intracellular targets, such as the DNA, and they can inhibit protein or nucleic acid synthesis. Moreover, the authors explain the extensive immunomodulatory activity of these peptides, which enables them to recruit and activate immune cells, modulate cytokine and chemokine release, promote wound healing and angiogenesis, and decrease harmful inflammatory processes. Nowadays attention tends to shift to these latter as higher AMP concentrations are needed to achieve a direct antibacterial effect *in vivo* because of the high level of salts and glycosaminoglycans. In contrast, they can provide effective protection against infectious agents and harmful inflammatory processes through their indirect immunomodulatory effects even at lower concentrations. It is therefore essential to conduct research on AMPs as alternative agents against bacterial infections to determine which therapeutic candidates will be most applicable and useful in the future.

GYÓGYSZERTAN

Az élőlények többféle módon igyekeznek védekezni a káros hatások ellen, erre lehetőséget nyújt pl. különféle biológiailag aktív anyagok kiválasztása a saját szervezetén belül, vagy annak környezetébe. Ebbe a kategóriába tartoznak az úgynevezett antimikrobiális peptidek (antimicrobial peptide, AMP), vagy más néven gazdavédő peptidek (host defense peptide, HDP), amelyek termelésére csaknem minden élőlény képes. Az AMP-k csoportjába azokat a peptideket soroljuk, amelyek maximum 100 aminosavból állnak, és szerepüket tekintve a veleszületett immunrendszer részeként közvetlen antimikrobiális hatással rendelkeznek és/vagy képesek az immunrendszer működésének befolyásolására.

**Az első
antimikrobiális
peptidet 1942-ben
azonosították**

**Az antibiotikumok
megjelenésével az
AMP-k kutatása
háttérbe szorult**

Habár felfedezésüket leginkább az előbbi tulajdonságuknak köszönhetik, később bizonyítást nyert, hogy a gerincesek, köztük az ember szervezetében a kórokozók elleni védelmet a szervezet saját védekezőképességének stimulálásával, ill. a káros gyulladásos folyamatok visszaszorításával képesek elérni. Közvetlen antimikrobiális hatások *in vivo* körülmények között kevésbé figyelhető meg, ezért manapság a szakirodalom gyakran alkalmazza a HDP kifejezést, utalva az immunrendszer segítségével betöltött protektív funkciójukra. A mai napig több, mint 3500 AMP került leírásra a University of Nebraska Medical Center adatbázisában (<https://aps.unmc.edu/>).

Először 1896-ban találtak bizonyítékot antimikrobiális hatású molekula természetes eredetű jelenlétére. Ekkor fedezték fel, hogy a lisztben található egy olyan vegyület, amely gátolja a kenyéren növekedő penészfajok szaporodását [1]. Pontos mibenlétét azonban csak 1942-ben sikerült azonosítani, amikor is kimutatták a búza endospermiumában egy olyan fehérje jelenlétét, amely képes gátolni különféle fitopatogén baktériumok és penészfajok szaporodását [2]. Ezt a fehérjét aztán az 1970-es években purotioninnek nevezték el. A későbbi években kimutatásra került több, a tioninek csoportjába sorolt növényi eredetű AMP is [3]. Ezenkívül a korai felfedezettek közé tartoznak a lizozimek csoportjába tartozó enzimek, amelyek széles körben találhatók meg a természetben, és először ALEXANDER FLEMING ismerte fel őket tyúktojásfehérjében 1922-ben [4]. Azonban nincs teljes egyetértés abban a tekintetben, hogy ezek a molekulák az AMP-k csoportjába tartoznak-e, ugyanis antimikrobiális hatásukat a bakteriális sejtfal enzimátikus bontásával fejtik ki, ellentétben az AMP-k közé sorolható többi peptiddel [5]. Ezután 1928-ban ALEXANDER FLEMING felfedezte a penicillint, amelynek terápiás felhasználása az 1940-es években indult útjára [6]. Ezzel elérkezett az antibiotikumok aranykora, amelynek hatására az egyéb, antimikrobiális hatású szerek kutatása háttérbe szorult. Azonban a penicillin felfedezése és klinikai használatba vétele között eltelt időszakban, pontosabban 1939-ben megtörtént az első AMP-nek tekinthető vegyület leírása Dubos és mtsai által. Egy talajban élő *Bacillus brevis* törzsből izoláltak antimikrobiális hatású kivonatot, amely hatékonynak bizonyult egerek kísérleti körülmények között történt *Pneumococcus* fertőzésének visszaszorítására [7]. Az izolátumból egy évvel később HOTCHKINS és DUBOS sikeresen elkülönítették a hatásért felelős molekulát, és gramicidinnak nevezték el [8]. Habár szisztémásan alkalmazva toxikusnak bizonyult, de külsőleg használva képes volt segíteni sebek és fekélyek gyógyulását, így végül kereskedelmi forgalomba kerülhetett [9]. Ezt követte 1941-ben szintén Dubos és HOTCHKISS által a tirocidin felfedezése [10], majd a fentebb már említett purotionin került leírásra 1942-ben.

Az 1960-as években aztán elindult a multirezisztens baktériumok terjedése [11], amelynek hatására ismét felélénkült az érdeklődés az egyéb antimikrobiális hatású molekulák iránt. Ennek következtében több kutató figyelme az AMP-k felé irányult, és a következő évtizedekben (egészen napjainkig) egyre több és több védelmi funkcióval rendelkező peptid került felfedezésre [12]. Az '50-es és '60-as években több kutatócsoport is bizonyítékot talált rá, hogy a fehérvérsejtek (pl. nyúlban, emberben és tengerimalacban) képesek olyan kationos fehérjék termelésére,

amelyek antimikrobiális hatásúak, és minden jel arra mutatott, hogy ezek nem az adaptív immunitás részeként kerülnek kiválasztásra [13]. A bombinint, amelyet sokan az első állati eredetű AMP-nek tartanak, 1962-ben izolálták a *Bombina variegata* varangyfaj bőre által kiválasztott váladékból [14]. Azóta több bombininszerű peptid is felfedezésre került ugyanebből, ill. más *Bombina* nemzetségbe tartozó fajokból egyaránt [15]. Ugyanakkor SORENSSEN és mtsai már korábban, 1939-ben izolálták a vaskötő tulajdonsággal rendelkező laktoferrin (vagy régebbi nevén laktotranszferrin) nevű fehérjét tehéntejből [16], de antimikrobiális hatására csak később derült fény, miután az 1960-as években anyatejből is kimutatták [17–20]. Ugyanebben az időben fedezték fel, hogy ha a viaszmosy lárváját *Pseudomonas aeruginosa* ellen immunizálják, egy olyan fehérjét kezd termelni, amely baktericid hatással bír erre a kórokozóra [21].

Később, az 1970–80-as években több, egymástól független kutatócsoport is izolált emberi és nyúlból származó fehérvérsejtekből különféle AMP-ket [22], köztük pl. a laktoferrint [23], a baktericid/permeabilitást növelő fehérjét (bactericidal/permeability-increasing protein [BPI]) [24], defenzinek [25] és szerin-proteáz homológokat (szerprocidinek) [26]. Ezt követően 1981-ben BOMAN és mtsai a selyemhernyó (*Hyalophora cecropia*) lárvájában alfa-helikális, kationos peptidok termelését indukálták, ezeket az AMP-ket később aztán cekropinoknak nevezték el [27, 28]. 1987-ben pedig ZASLOFF és mtsai afrikai karmosbékából izoláltak AMP-t, amelyet a héber pajzs szóból magainennek kereszteltek [29].

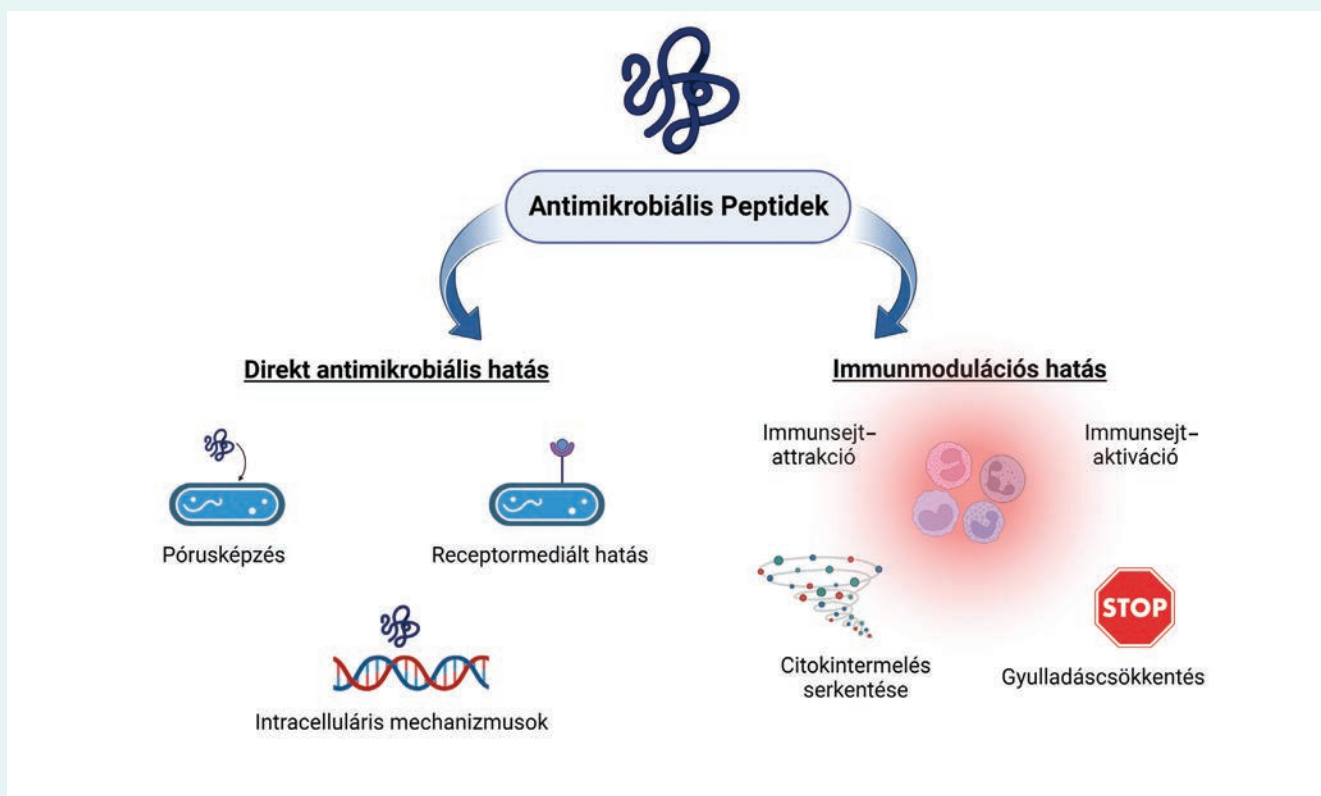
Az 1990-es években aztán felvetődött annak lehetősége, hogy az AMP-k fontos szerepet játszhatnak az olyan élőlények kórokozók elleni védelmében, amelyek nem rendelkeznek adaptív immunitással [30]. Ezt alátámasztotta az a *Drosophila melanogaster*-t vizsgáló kutatás, amelyben egy AMP-t kódoló gén eltávolítása az ecetmuslicák csökkent védekezőképességét eredményezte gombás fertőzések ellen [31]. Az ezt követő években számos AMP-t azonosítottak gerinctelenekben, amelyek közül egyesek folyamatosan, mások indukció hatására termelődnek [32]. A legtöbb ilyen peptidet a különféle kétéltűek bőre által szekretált váladékból izolálták, ezek legnagyobb csoportja a levelibékák által termelt dermaszeptinek, amelyeknek máig már többszáz tagját felfedezték [33–35]. A növényi antibakteriális és gombaellenes hatású molekulák kutatása a búzában talált purotionin felfedezése után (lásd feljebb) nagyjából 40 évvel folytatódott, a ma már defenzinek közé sorolt tioninok, valamint ciklotidek és más csoportba tartozó fehérjék felfedezésével [36]. Megemlítendő, hogy a növényi eredetű AMP-k ciszteinben gazdagok, nagy mennyiségű diszulfidhidat tartalmaznak, és a növények leveleiben, virágaiban és magjaiban egyaránt megtalálhatóak [37]. Az új AMP-k felfedezése a mai napig sem állt meg, sőt, az elmúlt években előállítottak több szintetikus peptidet is, amelyek tervezésénél a jobb hatékonyság mellett figyelembe vették a minél kisebb mértékű citotoxicitás elérését is.

Az emberek, valamint az emlősállatok fehérvérsejtjei és hámsejtjei a bőrben, ill. a gyomor-bélrendszerben számos AMP-t termelnek [38], amelyek néhol (pl. leukocyták granulumjaiban [39] vagy a bél kriptáiban [40]) kifejezetten nagy koncentrációkat érhetnek el. E koncentrációkban a peptidok ugyan képesek kifejteni közvetlen membránkárosító, és ezáltal baktériumölő hatást, de ezt a mennyiséget egy adott helyen a korábban említett példákon kívül ritkán érik el. A legtöbb területen koncentrációjuk nagyságrendekkel kisebb a hatékonynál, és ilyenkor a fiziológiás só-, fehérje-, lipoprotein- és glükózaminoglikán-koncentráció megakadályozza a közvetlen antimikrobiális hatás kialakulását [41]. Azonban ezekben az esetekben is képesek lehetnek gátolni a kórokozók szaporodását. Pl. az innate defense regulator-1 (IDR-1) nevű, szintetikusán előállított AMP *in vitro* antimikrobiális hatással nem rendelkezik, mégis képes volt megvédeni egereket egyes kórokozók okozta fertőzésektől [42], ami bizonyítékul szolgál arra, hogy hatását leginkább az immunrendszer aktív és komplex befolyásolásán keresztül éri el. Az

A kétéltűek bőrében
számos AMP-t
azonosítottak

Az emberek, valamint
az emlősállatok
fehérvérsejtjei és
hámsejtjei a bőrben,
ill. a gyomor-
bélrendszerben számos
AMP-t termelnek

AMP-k szerteágazó hatásait az 1. ábra jeleníti meg. A továbbiakban bemutatásra kerül az AMP-k bakteriális membránokra kifejtett hatása, és az immunrendszer befolyásolásában betöltött sokrétű szerepe egyaránt.



1. ÁBRA. Az antimikrobiális peptidek szerteágazó hatásai
Az ábra a BioRender.com segítségével készült

FIGURE 1. The multifaceted effects of Antimicrobial Peptides
Created with BioRender.com

Az AMP-k közvetlen antimikrobiális hatásukat leginkább kationos tulajdonságuknak köszönhetik

KÖZVETLEN ANTIMIKROBIÁLIS HATÁSUK

Az AMP-k antibakteriális hatásait két fő részre lehet osztani: közvetlen hatásra és immunmodulációra. Közvetlen antimikrobiális hatásukat leginkább kationos tulajdonságuknak köszönhetik, amelyet legfőképp lizin, arginin és hisztidin reziduumaik okoznak. Több kutatás szerint korreláció áll fenn a pozitív töltés mértéke és az antibakteriális hatás erőssége között, de csak egy bizonyos mértékig [43]. Pl. bár a karmosbékából izolált magainin hatásfoka +5-ös töltésszámmal emelkedett, azonban e fölött elvesztette antimikrobiális szelektivitását, ami valószínűleg annak volt köszönhető, hogy a peptid túl erősen kötődött különféle molekulákhoz, aminek következtében nem volt képes membránkölcsonhatásokat kialakítani, valamint ezen felül hemolitikus aktivitása is növekedett [44].

Ezen kívül a baktériumok membránjának permeabilizálásához elengedhetetlen a peptidek hidrofób tulajdonsága, ami jellemzően a valin, leucin, izoleucin, alanin, metionin, fenilalanin, valamint tirozin és triptofán aminosavak jelenlétéhez köthető. Ezek túl nagy (az 50%-ot meghaladó) aránya egyes feltételezések szerint azonban már jelentős citotoxicitáshoz vezethet a gazdasejtek irányába [45].

Emellett fontos megemlíteni az AMP-k amfipatikusságát is, hiszen ez jelenti az egyensúlyt a kationos hidofil és hidrofób molekulareszek között. Ezen optimális egyensúly fenntartása kulcsfontosságú a molekula hatásának szempont-

A baktériumok
membránjához
kötődve azon
pórusokat
alakítanak ki

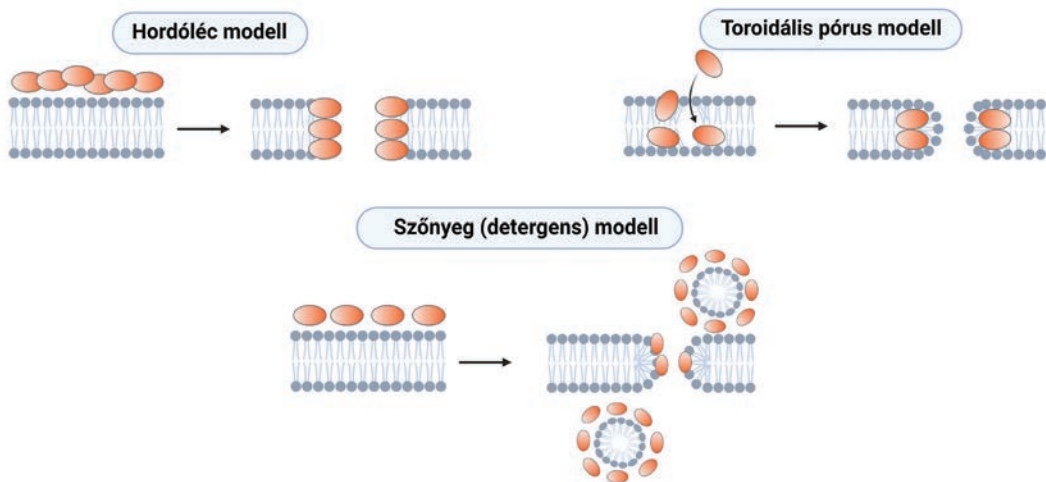
jából. Fontos szerepe van benne a peptid térbeli szerkezetének, pl. gyakoriak az alfa-helikális peptidek [43]. Az említett tulajdonságok (a peptid töltése, hidrofób és amfipatikus tulajdonsága) együtt határozzák meg az adott molekula baktériumok ellen kifejtett hatékonyságát, ill. a citotoxicitását, amely tulajdonságok minden egyes AMP esetében egyedinek tekinthetők.

Az AMP-k közvetlen antibakteriális hatása két fő részre bontható: a sejtmembránhoz történő kapcsolódás és pórus képzése, ill. a sejt citoplazmájában vagy a sejtmagban több ponton kifejtett hatás [46]. Bár a baktériumölő hatás gyorsasága és pontos mechanizmusa minden peptidnél különböző lehet, vannak olyan specifikus lépések és folyamatok, amelyek segítségével általánosan leírható az egyes AMP-k hatása [47].

A legtöbb AMP nem specifikusan kötődik a sejtmembránhoz, de van köztük néhány, pl. a nizin vagy a mezentericin, amelyek receptormediáltan fejtik ki közvetlen ölőhatásukat [48, 49]. A kationos peptidek kötődni képesek a baktériumok külső felszínéhez, amely nagyobb részben negatív töltéssel rendelkezik a foszfolipidek kifelé irányuló anionos „feje”, ill. a Gram-negatív baktériumokban nagy számban előforduló lipopoliszacharid (LPS), és a Gram-pozitív baktériumok esetében lipoteichosav (LTA) molekulák negatív töltése miatt [50]. Emiatt a pozitív töltésű AMP-k képesek a membránhoz kötődni, azonban előbb kénytelenek átjutni egyéb molekulákon is, pl. a sejtfalat alkotó peptidoglikánokon, vagy különféle egyéb poliszacharidokon és fehérjéken. A pórusképzés feltételeinek teljesüléséhez a bakteriális membrán közelébe jutó peptideknek el kell érni egy bizonyos koncentrációt, ami minden AMP esetében hasonló, mikromoláris nagyságrendben mozog [43].

A pórusképzés mechanizmusának többféle modellje létezik (2. ábra). Az egyik a „barrel-stave”, vagyis „hordóléc”-modell, amit viszonylag kevés AMP esetében figyeltek meg. Ez azon alapul, hogy az α -hélix vagy β -redő szerkezetű AMP-k a membránnal először párhuzamosan helyezkednek el, majd amint eléri a meg-

Az AMP-k pórusképzésének mechanizmusai



2. ÁBRA. Az Antimikrobális Peptidek (AMP-k) pórusképzési modelljei: hordóléc-modell, toroidális pórus modell és szőnyeg (detergens) modell

Az ábra a BioRender.com segítségével készült

FIGURE 2. Pore formation models for Antimicrobial Peptides (AMPs): barrel-stave model, toroidal pore model and carpet (detergent) model

Created with BioRender.com

A baktériumsejtbe jutva a DNS-hez kötődhetnek, ill. akadályozzák a fehérje- és nukleinsav-szintézist

Az endotoxinsokk megelőzésében is hatékonyak lehetnek

Immunrendszerre kifejtett hatásuk legalább annyira fontos, mint az antimikrobiális aktivitásuk

felelő koncentrációt, merőlegesen egy hordó alakzatú, peptidekkel bélelt pórust nyitnak a membránon, amelynek membrán felé forduló része hidrofób, a pórus lumene felé forduló része pedig hidrofíli [51, 52]. Ezen kívül szintén pórusképzésre alkalmas a „toroidal pore”, vagyis toroidális pórus modell, ami hasonló a hordó-léc-modellhez, de ennek során kevesebb peptid-peptid, és több peptid-membrán interakció alakul ki a póruson belül – tulajdonképpen a pórus egy részét maga a visszahajló membrán alkotja, a pórus belseje felé néző foszfolipid molekulák feji részeivel [52]. A harmadik lehetőség a „carpet model”, vagyis szőnyeg modell, amikor az AMP-k nem képeznek pórusokat, vagyis nem interkalálódnak a membránba. Ebben az esetben a peptidek a sejt felszínével párhuzamosan aggregálódnak, és amennyiben elég nagy számú peptid gyűlik össze, az a sejtmembrán felszakadásához vezet az általuk kifejtett detergensszerű hatás miatt [50]. Ekkor nem alakulnak ki peptid-peptid kölcsönhatások, ill. nem képződik pórus a membránban [53].

A csatornák megváltoztatják a transzmembrán-potenciált, és ez, valamint az általuk okozott permeabilitási zavar sok esetben elegendőnek bizonyul a baktérium elpusztítására. Azonban máskor, mivel a csatornák csak rövid ideig maradnak fenn [54], a rajtuk keresztül bejutott peptidek okoznak működési zavart a sejten belüli polianionos molekulákhoz, pl. a DNS-hez kötődve [55], vagy képesek akadályozni a fehérjék és nukleinsavak szintézisét [56, 57]. Ezen kívül egyes peptidek bizonyos prekursorok, pl. a lipid II molekulával történő interakció által képesek akadályozni a sejtfalszintézist [58]. Erre olyan AMP-k is képesnek bizonyulnak, amelyek nem képeznek pórust a membránokon, hanem más módon jutnak be a sejtek belsejébe, ezáltal esetükben a baktericid hatás eléréséhez kisebb koncentráció is elegendő lehet [47]. Kiemelendő továbbá a kationos peptidek azon tulajdonsága is, amely által képesek potenciózni egyes antibiotikumok hatását, hiszen az általuk képzett csatornákkal segítik a gyógyszerek bejutását a baktériumok belsejébe [59].

Az AMP-k ezen kívül hatékony mechanizmussal rendelkeznek a bakteriális fertőzések következtében kialakuló endotoxinsokk megelőzésében is. Képesek megkötni az LPS-t, valamint az LTA-t egyaránt, ezen kívül blokkolják az LPS kötődését az LPS-kötő fehérjéhez (LPS-binding protein, LBP), így megakadályozzák a macrophagok aktiválódását és ezáltal a káros, gyakran sokkos állapothoz vezető gyulladásos folyamatok létrejöttét [60].

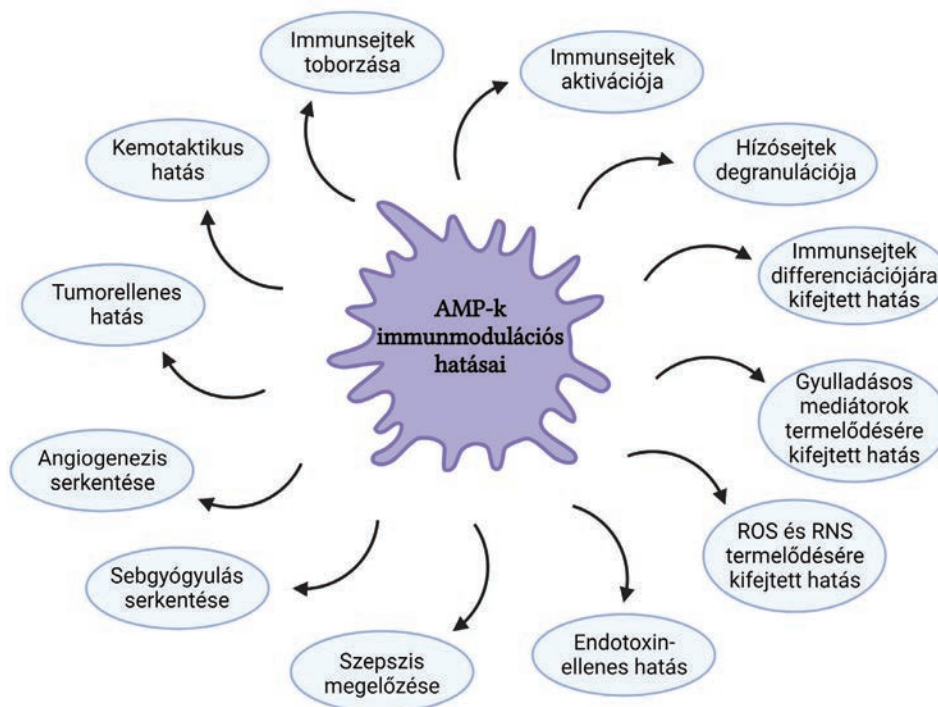
Az AMP-k sokrétű és komplex mechanizmusa kevés lehetőséget ad az ellenük kialakuló teljeskörű rezisztencia kialakulására a baktériumok számára. Léteznek bizonyos induktív rezisztencia kialakítására lehetőséget adó elemek, pl. a PhoP/PhoQ rendszer (egyes baktériumok két elemből álló szabályozó rendszere) mutációja révén elérhető bizonyos fokú ellenállás [53]. Eredendően rezisztens kórokozókról is csak elvétve számol be a szakirodalom: ilyen pl. a *Burkholderia cepacia*, amely speciális, külső membránrétege segítségével védekezik az AMP-k ellen, valamint a *Proteus* és *Serratia* fajok, amelyek proteáz enzimeikkel képesek lebontani bizonyos kationos peptideket [59]. Azonban ezen baktériumok kórokozó képessége az állatok vagy az emberek számára elhanyagolható, így e kórokozók rezisztenciája nem jelent komoly problémát a gyógyászati célú felhasználás szempontjából.

IMMUNMODULÁTOR HATÁSUK

Az AMP-k immunrendszerre kifejtett hatása legalább annyira fontosnak tekintendő, mint a közvetlen antimikrobiális aktivitásuk. Ennek egyik oka, hogy antimikrobiális hatásaik jelentősen csökkenhetnek *in vivo* körülmények között, hiszen kationos és amfipatikus tulajdonságaikat könnyedén elfedhetik a fiziológiás koncentrációban jelenlevő, negatív töltéssel rendelkező molekulák, pl. sók, fehérjék vagy glükózaminoglikánok, azonban immunmoduláns hatásaikat ebben az esetben is képesek lehetnek kifejteni [41]. Ez utóbbiak közé soroljuk a különféle sejtekre kifejtett aktivációs, attrakciós és differenciálódást segítő hatásaikat, valamint a gyulladásos mediátorok és reaktív oxigén-/nitrogéngyökök (ROS/RNS) termelő-

désének modulációját [61]. Az elmúlt időszakban egyre több és több kutatás foglalkozik az AMP-k ezen hatásaival, hiszen ahhoz, hogy sikeresen alkalmazhassuk őket különféle betegségek kezelésében, feltétlenül szükséges részletekbe menően ismernünk az immunrendszer befolyásolásában betöltött szerepüket (3. ábra).

A természetes eredetű AMP-k két legnagyobb csoportja, a katelicidinek és a defenzinek jelentős hatással bírnak a veseszűletett immunrendszer működésére [41]. A legismertebb és legszélesebb körben kutatott katelicidin a humán LL-37, amely a CAMP nevű génről íródik át az immunrendszer számos sejtjében, ill. hámsejtekben egyaránt [62]. Amellett, hogy közvetlen antimikrobiális hatású, immunmoduláns hatásai is rendkívül sokrétűek lehetnek az adott sejtípustól, valamint a sejtet érő gyulladásos stimulusoktól függően [63]. Hámsejtekben sérü-



3. ÁBRA. Az antimikrobiális peptidek (AMP-k) immunrendszerre kifejtett hatásai

ROS = Reaktív oxigéngyökök, RNS = reaktív nitrogéngyökök. Az ábra a BioRender.com segítségével készült

FIGURE 3. The effects of Antimicrobial Peptides (AMPs) on the immune system

ROS=Reactive oxygen species, RNS=reactive nitrogen species. Created with BioRender.com

lések, ill. fertőzések hatására termelődik [62], és a D3-vitamin serkenti a leadását, olyannyira, hogy Ázsia több országában e vitamint a tuberkulózis megelőzésére és kezelésére is alkalmazzák [64]. A peptid befolyása az immunsejtekre rendkívül összetett, számos extra-, ill. intracellularis receptorhoz kötve fejti ki hatását, és képes többszáz gén indukciójára [65]. Rendelkezik gyulladáskeltő hatással is, pl. serkenti a macrophagok M1, azaz pro-inflammatorikus alakká történő differenciációját, amely segítségével növeli a sejt védekezőképességét [66]. Azonban megfigyelték azt is, hogy gyulladásos stimulus esetén képes a pro-inflammatorikus citokinek termelődésének csökkentésére, ezáltal megelőzve a gyulladás káros következményeit [67].

A katelicidinek és a defenzinek jelentős hatást fejtenek ki a veleszületett immunrendszerre

Az IDR peptidek olyan szintetikus AMP-k, amelyek fokozottan képesek befolyásolni az immunválaszt

A katelicidinek csoportjába tartozik számos állatfaj által termelt peptid is. Ilyen pl. a csirke-katelicidin-2 is, amelynek szintén kimutatták antibakteriális, ill. gombaellenes hatását, valamint képes volt csökkenteni különféle eredetű sejttenyésztésen az LPS által keltett gyulladást [68]. Kutatócsoportunk csirkeeredetű májsejt – nem-parenchymális sejt ko-kultúrán vizsgálta hatásait, amelynek során a korábbi kutatásokkal egybehangzó eredmények születtek: a peptid önmagában számos citokin termelését fokozta, az LTA által keltett gyulladást viszont mérsékelte [69].

A defenzinek közé két nagy csoport sorolható, az α -, ill. a β -defenzinek, amelyeket a diszulfidhidak elhelyezkedése alapján különítenek el egymástól [70]. Közéjük számos peptid tartozik, amelyek a katelicidinekhez hasonlóan rendkívül széles hatásspektrummal rendelkeznek. Mindegyikük más és más citokinek termelődését fokozza, ill. szorítja vissza, a katelicidinekhez hasonlóan rendelkeznek gyulladást keltő és gátló hatással egyaránt [41]. A degranulálódó neutrophil granulocyták környezetében, ill. a bél kriptáiban nagy koncentrációban megtalálhatóak, ezeken a helyeken rendelkezhetnek antibakteriális hatással, azonban a katelicidinekhez képest ez kisebb mértékű [70]. A neutrophilek által leadott defenzinek képesek a baktériumok macrophagok általi fagocitózisának aktiválására [71], más immunsejtek toborzására, pro-, és anti-inflammatorikus citokinek termelődésének serkentésére, az apoptózis befolyásolására, a sebggyógyulás gyorsítására, valamint rendelkeznek antivirális, gombaellenes és tumorelles hatással egyaránt [72].

Jelentős előrelépésnek tekinthető olyan, szintetikus AMP-k létrehozása, amelyek fokozott mértékben képesek befolyásolni az immunválaszt. Ilyenek pl. az úgynevezett IDR peptidek (innate defense regulator, vagyis veleszületett védelmi rendszert irányító), amelyeket a természetben előforduló legrövidebb kationos AMP, a szarvasmarhában termelődő baktenein nyomán terveztek és állítottak elő. Azon felül, hogy immunmoduláns aktivitásuk nagyobb, mint természetes körülmények között termelődő rokonaiké, fontos, hogy a membráninterakciót lehetővé tevő kationos és amfipatikus tulajdonságaik kevésbé kifejezettek, ami bár csökkent közvetlen antibakteriális hatást eredményez, de éppen emiatt csökkenti az eukarióta sejtek membránjával létrejött, citotoxikus hatású kölcsönhatások számát is [42]. Napjainkban számos kutatás foglalkozik az immunmoduláns-, és különféle fertőzésekkel szemben kifejtett hatásukkal.

Az elsőként szintetizált, IDR-1 nevű peptid esetében különlegességnek számított, hogy *in vitro* körülmények között sem mutatott közvetlen antimikrobiális aktivitást, mégis képesnek bizonyult Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok okozta fertőzések visszaszorítására egérben kísérleti körülmények között különféle gyulladósos mediátorok termelődésének modulálásával [42]. A továbbiakban fejlesztésre került több IDR peptid is: az IDR-HH2, IDR-1002 és IDR-1018, amelyek szintén ígéretes eredményeket szolgáltattak különféle fertőzőes modellekben, pl. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* vagy *Mycobacterium tuberculosis* esetében [61, 73]. Ezen kívül az IDR-1002 esetében pl. kimutatták, hogy képes indukálni a neutrophil granulocyták migrációját és citokintermelését, valamint az egyéb AMP-k leadását (pl. a neutrophil granulocyták által termelt LL-37 nevű katelicidinét) [74]. Érdekes adatnak tekinthető továbbá, hogy az IDR-1018 képes a macrophagokat egy, a pro-inflammatorikus M1, és az anti-inflammatorikus M2 alakok közé eső sejtípus felé differenciálni [75]. Kutatócsoportunk hasonló eredményre jutott az IDR-1002 vizsgálata során, ugyanis azt találtuk, hogy csirkemájeredetű sejttenyésztésen a peptid mind pro-, mind pedig anti-inflammatorikus hatású gyulladósos mediátorok szintjét emelte, miközben az LTA által keltett gyulladást sikeresen visszaszorította [76]. Klinikai jellegű vizsgálatok során is ígéretes eredmények születtek, ugyanis az IDR-1008 hatékonyan növelte maláriával fertőzött egerek túlélési rátáját [77], valamint az IDR-1002 ciprofloxacinnal együtt alkalmazva reménytelenül jelöltnek tűnik a fogászati műtéteket követő felépülés gyorsításában [78].

A szintetikus AMP-k közül megemlíthető ezen felül a fecskefarkú lepke (*Papilio xuthus*) lárvájából izolált papiliocin nevű peptid származéka, a Pap12-6 is, amelyről kimutatták, hogy képes csökkenteni pro-inflammatórikus citokinek, mint az interleukin (IL)-6, tumor nekrozis faktor (TNF)- α és IL-1 α termelődését különféle sejtmódellenen gyulladásos stimulus ellenében, valamint egérben hatékonynak bizonyult a fertőzések visszaszorításában is [79, 80].

MEGVITATÁS

**Az AMP-k ígéretes
eszközök lehetnek
az antimikrobiális
rezisztencia elleni
küzdésben**

A leírtak alapján látható, hogy e kisméretű, kationos peptidek, vagyis az AMP-k első felfedezésük óta egyre csak bővülő csoportja számos olyan tulajdonsággal rendelkezik, amely ígéretes jelöltté teszi őket az antimikrobiális rezisztencia elleni küzdelemben. Közvetlen antibakteriális hatásuk is biztató eredményekkel szolgál, részben mert a bakteriális membránnal és sejten belüli célpontokkal való kölcsönhatásuk mechanizmusa viszonylag kevés lehetőséget ad az ellenük való rezisztencia kialakítására. Azonban talán még ennél is fontosabbnak tekinthető az immunrendszerre kifejtett sokrétű, összetett hatásrendszerük, amelynek segítségével már a közvetlen antibakteriális hatás kifejtéséhez szükséges koncentráció törtrészeivel is képesek lehetnek a különféle fertőzések eliminációjára emberi és állati szervezetekből. Ahhoz, hogy a klinikumban is használhatóvá válhassanak, számos probléma vár megoldásra: ilyenek pl. a jelentős előállítási költségek, a gazdasejtekre kifejtett citotoxicitásuk, ill. instabilitásukból eredően az alkalmazási módok nehézségei. Ezenkívül fontos az immunrendszerre kifejtett komplex hatásuk minél behatóbb megismerése különféle *in vitro* és *in vivo* rendszerek segítségével biztonságos terápiás alkalmazhatóságuk feltérképezése céljából.

IRODALOM

- Jago W, Jago W (1926) Toxic action of wheat flour to brewer's yeast. *Ind Ferment* 128–167
- Balls AK, Hale WS, Harris TH (1942) A crystalline protein obtained from a lipoprotein of wheat flour. *Cereal Chem* 19:279–288
- Stec B (2006) Plant thionins – the structural perspective. *Cell Mol Life Sci CMLS* 63:1370–1385. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5574-5>
- Fleming A (1922) On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions | Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character. *Proc R Soc Lond B* 93:306–317. <https://doi.org/10.1098/rspb.1922.0023>
- Vocadlo DJ, Davies GJ, Laine R, Withers SG (2001) Catalysis by hen egg-white lysozyme proceeds via a covalent intermediate. *Nature* 412:835–838. <https://doi.org/10.1038/35090602>
- Bennett JW, Chung K-T (2001) Alexander Fleming and the discovery of penicillin. In: *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, pp 163–184
- Dubos RJ (1939) Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus. *J Exp Med* 70:1–10 <https://doi.org/10.1084/jem.70.1.1>
- Hotchkiss RD, Dubos RJ (1940) Chemical properties of bactericidal substances isolated from cultures of a soil bacillus. *J Biol Chem* 132:793–794
- Van Epps HL (2006) René Dubos: unearthing antibiotics. *J Exp Med* 203:259. <https://doi.org/10.1084/jem.2032fta>
- Dubos RJ, Hotchkiss RD (1941) The production of bactericidal substances by aerobic sporulating bacilli. *J Exp Med* 73:629–640. <https://doi.org/10.1084/jem.73.5.629>
- Davies J (2006) Where Have all the Antibiotics Gone? *Can J Infect Dis Med Microbiol* 17:287–290. <https://doi.org/10.1155/2006/707296>
- Nakatsuji T, Gallo RL (2012) Antimicrobial Peptides: Old Molecules with New Ideas. *J Invest Dermatol* 132:887–895. <https://doi.org/10.1038/jid.2011.387>
- Hirsch JG (1956) Phagocytin: a bactericidal substance from polymorphonuclear leucocytes. *J Exp Med* 103:589–611. <https://doi.org/10.1084/jem.103.5.589>
- Kiss G, Michl H (1962) Über das Giftsekret der Gelbbauchunke, *Bombina variegata* L. *Toxicon* 1:33–34. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(62\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0041-0101(62)90006-5)
- Ageitos JM, Sánchez-Pérez A, Calo-Mata P, Villa TG (2017) Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. *Biochem Pharmacol* 133:117–138. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.018>
- Sorensen M, Sorensen SPL (1940) The proteins in whey. *C r Trav Lab Carlsberg Ser Chim* 23:55–99
- Groves ML (1960) The Isolation of a Red Protein from Milk. *J Am Chem Soc* 82, 13:3345–3350 <https://doi.org/10.1021/ja01498a029>
- Johanson B (1960) Isolation of an iron-containing red protein from milk. *Acta Chem Scand* 14:510–512. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.14-0510>
- Montreuil J, Tonnelat J, Mullet S (1960) Preparation and properties of the lactosiderophilin (lactotransferrine) of human milk. *Biochim Biophys Acta* 45:413–421. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(60\)91478-5](https://doi.org/10.1016/0006-3002(60)91478-5)

20. Kirkpatrick CH, Green I, Rich RR, Schade AL (1971) Inhibition of Growth of *Candida albicans* by Iron-Unsaturated Lactoferrin: Relation to Host-Defense Mechanisms in Chronic Mucocutaneous Candidiasis. *J Infect Dis* 124:539–544. <https://doi.org/10.1093/infdis/124.6.539>
21. Stephens JM, Marshall JH (1962) Some properties of an immune factor isolated from the blood of actively immunized wax moth larvae. *Can J Microbiol* 8:719–725. <https://doi.org/10.1139/m62-093>
22. Levy O (2004) Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes. *J Leukoc Biol* 76:909–925. <https://doi.org/10.1189/jlb.0604320>
23. Arnold RR, Cole MF, McGhee JR (1977) A Bactericidal Effect for Human Lactoferrin. *Science* 197:263–265. <https://doi.org/10.1126/science.327545>
24. Weiss J, Elsbach P, Olsson I, Odeberg H (1978) Purification and characterization of a potent bactericidal and membrane active protein from the granules of human polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem* 253:2664–2672
25. Selsted ME, Brown DM, DeLange RJ, Lehrer RI (1983) Primary structures of MCP-1 and MCP-2, natural peptide antibiotics of rabbit lung macrophages. *J Biol Chem* 258:14485–14489. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)43888-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)43888-9)
26. Gabay JE, Scott RW, Campanelli D, Griffith J, Wilde C, Marra MN, Seeger M, Nathan CF (1989) Antibiotic proteins of human polymorphonuclear leukocytes. *Proc Natl Acad Sci* 86:5610–5614. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.14.5610>
27. Hultmark D, Steiner H, Rasmuson T, Boman HG (1980) Insect Immunity. Purification and Properties of Three Inducible Bactericidal Proteins from Hemolymph of Immunized Pupae of *Hyalophora cecropia*. *Eur J Biochem* 106:7–16. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1980.tb05991.x>
28. Steiner H, Hultmark D, Engström Å, Bennich H, Boman HG (1981) Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature* 292:246–248. <https://doi.org/10.1038/292246a0>
29. Zasloff M (1987) Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc Natl Acad Sci* 84:5449–5453. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.15.5449>
30. Ganz T (2003) The Role of Antimicrobial Peptides in Innate Immunity. *Integr Comp Biol* 43:300–304. <https://doi.org/10.1093/icb/43.2.300>
31. Lemaître B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart J-M, Hoffmann JA (1996) The Dorsoventral Regulatory Gene Cassette *spätzle/Toll/cactus* Controls the Potent Antifungal Response in *Drosophila* Adults. *Cell* 86:973–983. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80172-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80172-5)
32. Hancock REW, Brown KL, Mookherjee N (2006) Host defence peptides from invertebrates – emerging antimicrobial strategies. *Immunobiology* 211:315–322. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2005.10.017>
33. Thomas P, Vineeth Kumar TV, Reshmy V, Kumar KS, George S (2012) A mini review on the antimicrobial peptides isolated from the genus *Hylarana* (Amphibia: Anura) with a proposed nomenclature for amphibian skin peptides. *Mol Biol Rep* 39:6943–6947. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1521-3>
34. Nicolas P, El Amri C (2009) The dermaseptin superfamily: A gene-based combinatorial library of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta BBA – Biomembr* 1788:1537–1550. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.09.006>
35. Fernandez DI, Gehman JD, Separovic F (2009) Membrane interactions of antimicrobial peptides from Australian frogs. *Biochim Biophys Acta BBA – Biomembr* 1788:1630–1638. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.10.007>
36. Barbosa Pelegrini P, del Sarto RP, Silva ON, Franco OL, Grossi-de-Sa MF (2011) Antibacterial Peptides from Plants: What They Are and How They Probably Work. *Biochem Res Int* 2011:e250349. <https://doi.org/10.1155/2011/250349>
37. Tam JP, Wang S, Wong KH, Tan WL (2015) Antimicrobial Peptides from Plants. *Pharmaceuticals* 8:711–757. <https://doi.org/10.3390/ph8040711>
38. Gallo RL, Hooper LV (2012) Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. *Nat Rev Immunol* 12:503–516. <https://doi.org/10.1038/nri3228>
39. Ganz T (1987) Extracellular release of antimicrobial defensins by human polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 55:568–571. <https://doi.org/10.1128/iai.55.3.568-571.1987>
40. Teltschik Z, Wiest R, Beisner J, Nuding S, Hofmann C, Schoelmerich J, Bevins CL, Stange EF, Wehkamp J (2012) Intestinal bacterial translocation in rats with cirrhosis is related to compromised paneth cell antimicrobial host defense. *Hepatology* 55:1154–1163. <https://doi.org/10.1002/hep.24789>
41. Hancock REW, Haney EF, Gill EE (2016) The immunology of host defence peptides: beyond antimicrobial activity. *Nat Rev Immunol* 16:321–334. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.29>
42. Scott MG, Dullaghan E, Mookherjee N, Glavas N, Waldbrook M, Thompson A, Wang A, Lee K, Doria S, Hamill P, Yu JJ, Li Y, Donini O, Guarna MM, Finlay BB, North JR, Hancock REW (2007) An anti-infective peptide that selectively modulates the innate immune response. *Nat Biotechnol* 25:465–472. <https://doi.org/10.1038/nbt1288>
43. Kumar P, Kizhakkedathu JN, Straus SK (2018) Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility In Vivo. *Biomolecules* 8:4. <https://doi.org/10.3390/biom8010004>
44. Dathe M, Nikolenko H, Meyer J, Beyermann M, Bienert M (2001) Optimization of the antimicrobial activity of magainin peptides by modification of charge. *FEBS Lett* 501:146–150. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02648-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02648-5)
45. Yin LM, Edwards MA, Li J, Yip CM, Deber CM (2012) Roles of Hydrophobicity and Charge Distribution of Cationic Antimicrobial Peptides in Peptide-Membrane Interactions *. *J Biol Chem* 287:7738–7745. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.303602>
46. Guaní-Guerra E, Santos-Mendoza T, Lugo-Reyes SO, Terán LM (2010) Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease. *Clin Immunol Orlando Fla* 135:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2009.12.004>
47. Brogden KA (2005) Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol* 3:238–250. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1098>
48. Breukink E, Wiedemann I, Kraaij C van, Kuipers OP, Sahl H-G, de Kruijff B (1999) Use of the Cell Wall Precursor Lipid II by a Pore-Forming Peptide Antibiotic. *Science* 286:2361–2364. <https://doi.org/10.1126/science.286.5448.2361>
49. Fleury Y, Dayem MA, Montagne JJ, Chaboisseau E, Caer JPL, Nicolas P, Delfour A (1996) Covalent Structure, Synthesis, and Structure-Function Studies of Mesentericin Y 10537, a Defensive Peptide from Gram-positive Bacteria *Leuconostoc mesenteroides* *. *J Biol Chem* 271:14421–14429. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.24.14421>
50. Shai Y (2002) Mode of action of membrane active antimicrobial peptides. *Pept Sci* 66:236–248. <https://doi.org/10.1002/bip.10260>
51. Ehrenstein G, Lecar H (1977) Electrically gated ionic channels in lipid bilayers. *Q Rev Biophys* 10:1–34. <https://doi.org/10.1017/S0033583500000123>

52. Wimley WC (2010) Describing the Mechanism of Antimicrobial Peptide Action with the Interfacial Activity Model. *ACS Chem Biol* 5:905–917. <https://doi.org/10.1021/cb1001558>
53. Yeaman MR, Yount NY (2003) Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. *Pharmacol Rev* 55:27–55. <https://doi.org/10.1124/pr.55.1.2>
54. Wu M, Maier E, Benz R, Hancock RE (1999) Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *Biochemistry* 38:7235–7242. <https://doi.org/10.1021/bi9826299>
55. Zhang L, Benz R, Hancock REW (1999) Influence of Proline Residues on the Antibacterial and Synergistic Activities of α -Helical Peptides. *Biochemistry* 38:8102–8111. <https://doi.org/10.1021/bi9904104>
56. Graf M, Wilson DN (2019) Intracellular Antimicrobial Peptides Targeting the Protein Synthesis Machinery. In: Matsuzaki K (ed) *Antimicrobial Peptides: Basics for Clinical Application*. Springer, Singapore, pp 73–89
57. Park CB, Kim HS, Kim SC (1998) Mechanism of Action of the Antimicrobial Peptide Buforin II: Buforin II Kills Microorganisms by Penetrating the Cell Membrane and Inhibiting Cellular Functions. *Biochem Biophys Res Commun* 244:253–257. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.8159>
58. Malanovic N, Lohner K (2016) Antimicrobial Peptides Targeting Gram-Positive Bacteria. *Pharmaceuticals* 9:59. <https://doi.org/10.3390/ph9030059>
59. Hancock REW, Scott MG (2000) The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *Proc Natl Acad Sci* 97:8856–8861. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.16.8856>
60. Scott MG, Vreugdenhil ACE, Buurman WA, Hancock REW, Gold MR (2000) Cutting Edge: Cationic Antimicrobial Peptides Block the Binding of Lipopolysaccharide (LPS) to LPS Binding Protein1. *J Immunol* 164:549–553. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.2.549>
61. Hilchie AL, Wuerth K, Hancock REW (2013) Immune modulation by multifaceted cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Nat Chem Biol* 9:761–768. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1393>
62. Vandamme D, Landuyt B, Luyten W, Schoofs L (2012) A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide. *Cell Immunol* 280:22–35. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2012.11.009>
63. Nijnik A, Hancock REW (2009) The roles of cathelicidin LL-37 in immune defences and novel clinical applications. *Curr Opin Hematol* 16:41–47. <https://doi.org/10.1097/moh.0b013e32831ac517>
64. Mily A, Rekha RS, Kamal SMM, Arifuzzaman ASM, Rahim Z, Khan L, Haq MA, Zaman K, Bergman P, Brighenti S, Gudmundsson GH, Agerberth B, Raqib R (2015) Significant Effects of Oral Phenylbutyrate and Vitamin D3 Adjunctive Therapy in Pulmonary Tuberculosis: A Randomized Controlled Trial. *PLOS ONE* 10:e0138340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138340>
65. Mookherjee N, Hamill P, Gardy J, Blimkie D, Falsafi R, Chikatamarla A, Arenillas DJ, Doria S, Kollmann TR, Hancock REW (2009) Systems biology evaluation of immune responses induced by human host defence peptide LL-37 in mononuclear cells. *Mol Biosyst* 5:483–496. <https://doi.org/10.1039/b813787k>
66. van der Does AM, Beekhuizen H, Ravensbergen B, Vos T, Ottenhoff THM, van Dissel JT, Drijfhout JW, Hiemstra PS, Nibbering PH (2010) LL-37 directs macrophage differentiation toward macrophages with a proinflammatory signature. *J Immunol Baltim Md 1950* 185:1442–1449. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000376>
67. Mookherjee N, Brown KL, Bowdish DME, Doria S, Falsafi R, Hokamp K, Roche FM, Mu R, Doho GH, Pistolic J, Powers J-P, Bryan J, Brinkman FSL, Hancock REW (2006) Modulation of the TLR-mediated inflammatory response by the endogenous human host defense peptide LL-37. *J Immunol Baltim Md 1950* 176:2455–2464. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.4.2455>
68. Dijk A van, Eldik M van, Veldhuizen EJA, Bokhoven HLMT, Zoete MR de, Bikker FJ, Haagsman HP (2016) Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Activities of Chicken Cathelicidin-2 Derived Peptides. *PLOS ONE* 11:e0147919. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147919>
69. Sebők C, Walmsley S, Trá P, Mackei M, Vörösházi J, Petrilla J, Kovács L, Kemény Á, Neogrady Z, Mátiš G (2022) Immunomodulatory effects of chicken cathelicidin-2 on a primary hepatic cell co-culture model. *PLOS ONE* 17:e0275847. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0275847>
70. Hazlett L, Wu M (2011) Defensins in innate immunity. *Cell Tissue Res* 343:175–188. <https://doi.org/10.1007/s00441-010-1022-4>
71. Soehnlein O, Kai-Larsen Y, Frithiof R, Sorensen OE, Kenne E, Scharffetter-Kochanek K, Eriksson EE, Herwald H, Agerberth B, Lindbom L (2008) Neutrophil primary granule proteins HBP and HNP1-3 boost bacterial phagocytosis by human and murine macrophages. *J Clin Invest* 118:3491–3502. <https://doi.org/10.1172/JCI35740>
72. Semple F, Dorin JR (2012) β -Defensins: multifunctional modulators of infection, inflammation and more? *J Innate Immun* 4:337–348. <https://doi.org/10.1159/000336619>
73. Rivas-Santiago B, Castañeda-Delgado JE, Santiago CER, Waldbrook M, González-Curiel I, León-Contreras JC, Enciso-Moreno JA, Villar V del, Mendez-Ramos J, Hancock REW, Hernandez-Pando R (2013) Ability of Innate Defence Regulator Peptides IDR-1002, IDR-HH2 and IDR-1018 to Protect against Mycobacterium tuberculosis Infections in Animal Models. *PLOS ONE* 8:e59119. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059119>
74. Nijnik A, Madera L, Ma S, Waldbrook M, Elliott MR, Easton DM, Mayer ML, Mullaly SC, Kindrachuk J, Jenssen H, Hancock REW (2010) Synthetic cationic peptide IDR-1002 provides protection against bacterial infections through chemokine induction and enhanced leukocyte recruitment. *J Immunol Baltim Md 1950* 184:2539–2550. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901813>
75. Pena OM, Afacan N, Pistolic J, Chen C, Madera L, Falsafi R, Fjell CD, Hancock REW (2013) Synthetic Cationic Peptide IDR-1018 Modulates Human Macrophage Differentiation. *PLOS ONE* 8:e52449. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052449>
76. Sebők C, Trá P, Mackei M, Márton RA, Vörösházi J, Kemény Á, Neogrady Z, Mátiš G (2023) Modulation of the immune response by the host defense peptide IDR-1002 in chicken hepatic cell culture. *Sci Rep* 13:14530. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41707-z>
77. Achtman AH, Pilat S, Law CW, Lynn DJ, Janot L, Mayer ML, Ma S, Kindrachuk J, Finlay BB, Brinkman FSL, Smyth GK, Hancock REW, Schofield L (2012) Effective Adjunctive Therapy by an Innate Defense Regulatory Peptide in a Preclinical Model of Severe Malaria. *Sci Transl Med* 4:135ra64–135ra64. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003515>
78. Sousa MGC, Xavier PD, Cantuária AP de C, Porcino RA, Almeida JA, Franco OL, Rezende TMB (2021) Host defense peptide IDR-1002 associated with ciprofloxacin as a new antimicrobial and immunomodulatory strategy for dental pulp revascularization therapy. *Microb Pathog* 152:104634. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104634>
79. Kim J, Jacob B, Jang M, Kwak C, Lee Y, Son K, Lee S, Jung ID, Jeong MS, Kwon S-H, Kim Y (2019) Development of a novel short 12-meric papiliocin-derived peptide that is effective against Gram-negative sepsis. *Sci Rep* 9:3817. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40577-8>
80. Son K, Kim J, Jang M, Chauhan AK, Kim Y (2019) Effects of C-Terminal Residues of 12-Mer Peptides on Antibacterial Efficacy and Mechanism. *29:1707–1716*. <https://doi.org/10.4014/jmb.1907.07061>

Közlésre ér.: 2024. jan. 2.



HUNGAIRY

A TISZTÁBB LEVEGŐJŰ, ÉLHETŐBB VÁROSAINKÉRT



A LIFE IP HUNGAIRY (LIFE17
IPE/HU/000017) projekt az
Európai Unió LIFE programjának
támogatásával valósul meg.

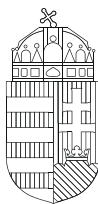


HERMAN OTTÓ
INTÉZET
NONPROFIT KFT.



MAGYAR NEMZETI
VIDÉKI HÁLÓZAT

EGYÜTT A MAGYAR VIDÉKÉRT!



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió

Európai Mezőgazdasági
Vidékfejlesztési Alap



A VIDÉKI TÉRSÉGEKBE BERUHÁZÓ EURÓPA



GRASSLANDHU

ÉRTÉKES GYEPEINK A BIOLÓGIAI SOKFÉLELÉSÉG SZOLGÁLATÁBAN



A **LIFE IP GRASSLAND-HU**
(LIFE17 IPE/HU/000018) projekt
az Európai Unió LIFE programjának
támogatásával valósul meg.