

A leptin klinikai endokrinológiája kérődzőkben

PhD értekezés tézisei

Készítette
Kulcsár Margit dr.
egyéni tanrendű felkészülő

Témavezető: † Prof. Rudas Péter

2007

Az értekezés az egyéni tanrendű felkészülő **Kulcsár Margit dr.** tud. munkatársnak (Szie Állatorvos-tudományi Kar, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék) a 1996 – 2005 között végzett kísérleti munkái, illetve az ezek nyomán készült, 2005. aug. 31-ig közlésre nyújtott publikációi alapján készült, angol nyelven, magyar és angol nyelvű összefoglalással.

A jelölt témavezetője: **† Prof. Dr. Péter Rudas, DSc**
Témabizottsági tag: **Prof. Dr. Szabó József, DSc**

Az értekezés címe: **Clinical endocrinology of leptin in ruminants**

Az értekezés a Prof. Solti László elnökletével 2007. ápr. 13-án tartott munkahelyi vita nyomán nyerte el végleges formáját.

Budapest, 2007. ápr. 15.

Kulcsár Margit dr.
tud. munkatárs
egyéni tanrendű felkészülő

Dr. Solti László
DSc, az MTA levelező tagja
tv. egyet. tanár

BEVEZETÉS

A leptin egyike a nagyrészt a fehér zsírszövet által termelt citokinszerű protein hormonoknak. A testzsír-depók triglicerid telítettsége, illetve a takarmányozás szintje (energetikai egyensúly) az a két legfontosabb tényező, ami az adipocytákban meghatározza a leptin génexpressziójának a mértékét, illetve ezzel szoros összefüggésben a plazma leptinszintjét. A leptin egyik fontos élettani szerepe, hogy a metabolikus szignálmechanizmus részeként informálja a tápláltsági állapotról az ivari működést centrálisan szabályzó, a hypothalamusban lokalizált GnRH-termelő neuronokat. E szerepe megengedő jellegűnek tűnik, és elsősorban a petefészek-működés ciklikussá válásakor jelentős, azaz mindazokban az állapotokban (pubertás, ellés utáni időszak, tenyészszezon kezdete), amikor egy anovulációs-acikliás időszak multával az állat ovulál, majd ezt követően petefészkének működése ciklikussá válik. Másrészt laboratóriumi rágcsálókön és főemlősökön szerzett tapasztalatok arról tanúskodnak, hogy a plazma leptin szintjét az életkor, az ivar, a szaporodásbiológiai státusz (ivarérés, vemhesség, laktáció, ellés utáni időszak), továbbá az egészségi állapot is befolyásolja. E fajokban intravénás endotoxin terhelés nyomán, Gram-negatív baktériumok okozta szepszisben, valamint egyes intenzív citokin-felszabadulással járó gyulladásos megbetegedésekben a plazma leptin szintje emelkedik, aminek jelentősége lehet a táplálékfelvétel ezt követő csökkenésében. A házi emlősök (mindenekelőtt a kérődzők) plazma leptin szintjét befolyásoló tényezőkre vonatkozó ismereteink napjainkban folyamatosan gyarapodnak ugyan, de – elsősorban az analitikai nehézségekből következően – a laboratóriumi rágcsálókön és főemlősökön nyert tapasztalatokhoz képest még mindig nem kellően széleskörűek, és nem egyszer ellentmondásoktól sem mentesek. Mindezek a bizonytalanságok napjainkig megghiúsították a leptin klinikai diagnosztikai célú felhasználását.

Laboratóriumunk néhány évvel ezelőtt egy kérődzőkből származó vérszérum/plazma minták leptin tartalmának a meghatározására szolgáló, fajcsoport-specifikus mérőrendszert (^{125}I -RIA) adaptált, amelyet sikerrel használunk szarvasmarhában és kiskérődző fajokban. A vonatkozó irodalom áttekintését követően értekezésemben ismertetem hét, e módszer alkalmazásával végzett kísérletsorozat eredményeit.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Munkánkat széleskörű nemzetközi és hazai intézményközi együttműködésben végeztük, amelynek keretében egyes kísérletekre is külföldön (4a: Uruguay; 5a: Szerbia; 6 és 7a: Finnország) került sor. Néhány modell (1a, 1c, 1d, 6 és 7a) és félüzemi (2 és 4a) kísérlet kivételével vizsgálataink többségére a valós hazai üzemi viszonyokat tükröző tartási és takarmányozási körülmények között történt.

Az egyes metabolikus és hormonális paraméterek meghatározására szolgáló vérmintákat a torkolati (*v. jugularis*; szarvasmarha, juh), vagy a farokvénából (*v. coccigealis*; szarvasmarha), a tejmintákat pedig az egészséges tőgynegyedekből gyűjtöttük, alvadásgátlóként nátrium fluoridot (glukóz határozására szolgáló vérminták) vagy heparint (egyéb célra szolgáló vérminták), illetve konzerválószerként kálium dikromátot (tejminták) tartalmazó csövekbe. A vérmintákat minden esetben kb. 60 percen belül centrifugáltuk. A plazmát a laboratóriumi feldolgozásig fagyasztva (-20 ill. -50 °C), a tejmintákat hűtve (+4 °C) szállítottuk és tároltuk. A 2. kísérletben a progeszteron-metabolit (P4-met) tartalom meghatározására a végbélből gyűjtött és fagyasztva (-20 °C) tárolt bélsár-mintákból is sor került.

A szarvasmarha és juh fajból származó vérplazma-minták leptinszintjének a mennyiségi meghatározása céljára laboratóriumunkban – *Delavaud* és *mtsai* (2000 és 2002) módszerének az adaptálásával, az

általuk biztosított ellenanyag¹ felhasználásával, *Forgách T.* (Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügy Intézet, Budapest) és *Magdy H. G. Ishak* (Nuclear Research Center, Kairó, Egyiptom) közreműködésével, az Izotóp Intézet (Budapest) technikai segítségével – egy kérődzőspecifikus ¹²⁵I-RIA mérőrendszert fejlesztettem ki (1. táblázat).

1. táblázat: A *Delavaud* és *mtsai* (2000 és 2002) nyomán kifejlesztett ¹²⁵I-RIA jellemzői

¹²⁵ I-jelölés	¹²⁵ I- _{rb} leptin ² , klóramin-t eljárással (<i>Hunter és Greenwood, 1962</i>)		
¹²⁵ I- _{rb} leptin szeparálása	oszlopkromatográfiával		
¹²⁵ I / ¹²⁵ I- _{rb} leptin	arány-meghatározás vékonyréteg-kromatográfiával		
Standard	¹²⁵ I- _{rb} leptin ² , 0,0833 – 5,00 ng/cső (9 pont, 3 párhuzamos)		
Kötött és szabad fázis szeparációja	Mágnesezhető immunoszorbens szuszpenzióval ³		
Érzékenység	0,032 nmol/l		
Visszanyerés	0,125, 0,250 és 0,500 nmol/minta: 95 – 106 %		
Sorozatban hígított minták kötési mintázata	A standarddal párhuzamos		
	A minőségellenőrző minták leptinszintje		
	0,058 nmol/l	0,241 nmol/l	0,577 nmol/l
Interassay CV	12,2 %	5,6 %	6,1 %
Intraassay CV	10,1 %	4,6 %	5,3 %

Az egyéb hormonmeghatározásokat saját fejlesztésű, vagy kereskedelmi forgalomban kapható kitek használatán alapuló (2. táblázat), minden esetben előzetesen validált módszerekkel végeztük. A vizsgált metabolikus paramétereket és akut fázis proteineket kereskedelmi forga-

¹ Rekombináns ovin leptin (_{rb}leptin) ellen nyúlban termelt ellenanyag (*Prof. Y. Chilliard és C. Delavaud*, INRA, Saint-Genes-Champanelle, Franciaország)

² Rekombináns bovin leptin (_{rb}leptin) (DSL-RO 1708-100, DSL, Webster, Texas, USA)

³ Izotóp Intézet, Budapest

2. táblázat: Az alkalmazott hormonanalitikai vizsgálmódszerek

		Kísérlet
Hormonmeghatározások vérplazma-mintából		
Inzulin-szerű növekedési faktor-I (IGF-I)	¹²⁵ I-RIA (helyi) ^a	3, 4a, 4b, 7a, 7b, 7c
	¹²⁵ I-IRMA (keresk.) ^b	5b, 6
Teszoszteron	³ H-RIA (helyi) ^c	1c
Progeszteron (P4)	³ H-RIA (helyi) ^d	1d, 1e, 2, 3
	¹²⁵ I-RIA (keresk.) ^e	4a
Kortizol	³ H-RIA (helyi) ^f	3
Inzulin	¹²⁵ I-RIA (keresk.) ^g	2, 3, 4a, 4b, 7a, 7b, 7c
	¹²⁵ I-IRMA (keresk.) ^h	5a, 5b, 6
Tiroxin (T4)	¹²⁵ I-RIA (keresk.) ⁱ	3, 7a, 7b, 7c
	¹²⁵ I-RIA (keresk.) ^j	4a, 4b, 6
Trijódotironin (T3)	¹²⁵ I-RIA (keresk.) ⁱ	3, 7a, 7b, 7c
	¹²⁵ I-RIA (keresk.) ^j	4a, 4b, 6
17β-ösztadiol (E2)	¹²⁵ I-RIA (keresk.) ^k	1e
LH	ELISA (keresk.) ^l	1e
Hormonmeghatározások tejmintából		
Progeszteron (P4)	ELISA (helyi) ^m	4b
Hormonmeghatározások bélsár-mintából		
Progeszteron-metabolit (P4-met)	ELISA (helyi) ⁿ	2

^a *Nikolic és mtsai, 2001*

^b DSL-5600 Active IGF-I Coated-Tube IRMA Kit; Diagnostic Systems Laboratories Inc., Webster, Texas, USA

^c *Dahlbom és mtsai, 1995; Fodor és mtsai, 2003*

^d *Nagy és mtsai, 1998*

^e Coat-a-count, DPC Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA

^f *Nikolic és mtsai, 1998; Jánosí és mtsai, 2003*

^g ¹²⁵I-Insulin RIA CT kit; CIS Bio International Ltd, Gif-Sur-Yvette, France

^h BI-Insulin IRMA kit; CIS Bio International Ltd – Subsidiary of Schering S.A., Gif-Sur-Yvette, France

ⁱ ¹²⁵I-T₄-Spec és ¹²⁵I-T₃ MIS RIA kitek (Izotóp Intézet, Budapest)

^j ¹²⁵I-T₄-Spec és ¹²⁵I-T₃ kötött csöves RIA kitek (Izotóp Intézet, Budapest)

^k DSL-39100 3rd Generation Estradiol RIA kit, Diagnostic Systems Laboratories Inc., Webster, Texas, USA

^l LH Detect, INRA, Tours, France

^m *Nagy és mtsai, 1998; Huszenicza és mtsai, 1998; Taponen és mtsai, 2002*

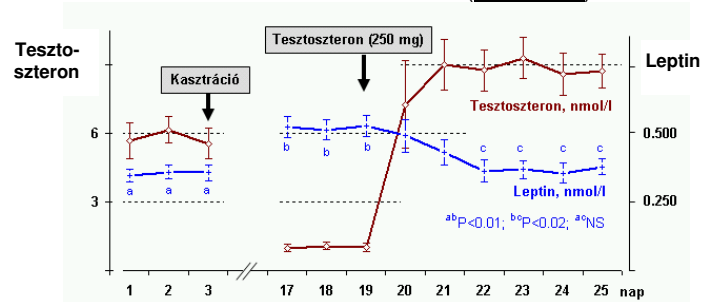
ⁿ *Kulcsár és mtsai, 2006*

lomban kapható diagnosztikai csomagok segítségével közreműködő társ-laboratóriumaink határozták meg.

A LEPTIN ¹²⁵I-RIA BIOLÓGIAI VALIDITÁSÁNAK BIZONYÍTÁSA

Az első kísérletsorozat keretében a kifejlesztett ¹²⁵I-RIA (illetve az üzemi körülmények között kivitelezhető mintagyűjtési eljárások) biológiai validitásáról kívántunk megbizonyosodni. Módszerünkkel sikerrel reprodukáltunk néhány, az irodalmi adatok alapján várható tendenciát (pl. a leptin szintjének a 24 órás táplálékmegegyeztetést követő, vagy a laktáció kezdetén tapasztalható csökkenése; a diurnális ingadozás hiánya), ezzel is bizonyítva eredményeink élettani megbízhatóságát (*1a*, *1b*, *1c* és *1d kísérlet*). E kísérletsorozat újdonságértékű tapasztalataként megfigyeltük továbbá, hogy a plazma leptin szintje hasonló takarmányozású és tápláltsági állapotú anyajuhokban magasabb, mint kosokban (*1c* és *1d kísérlet*). Tejelő teheneekben és nem laktáló anyajuhokban egyaránt igazoltuk, hogy a plazma leptin szintje a ciklus tüsző- és sárgatest-fázisában, továbbá ovariectomiát követően, illetve ösztrogén-visszapótlás nyomán nem változik (*1d* és *1e kísérlet*); ezzel szemben kosokban a kasztráció nyomán emelkedik, hosszú hatású tesztoszteron kezelés után pedig ismét csökken

1. ábra: A vérplazma tesztoszteron és leptin szintjének a változása kosokban a kasztrációt, valamint a két héttel később végzett hosszú hatású tesztoszteron kezelést követően (*1c kísérlet*).



(1. ábra). Ennek alapján megállapítható volt, hogy – bár a szexuálissteroid hormonok nem tekinthetők a leptinprodukciónak elsődleges regulátorának – a leptinnek a hímivarban mérhető alacsonyabb szintjéért a here tesztoszteron termelése a felelős.

A MÓDSZERREL VÉGZETT TOVÁBBI VIZSGÁLATOK

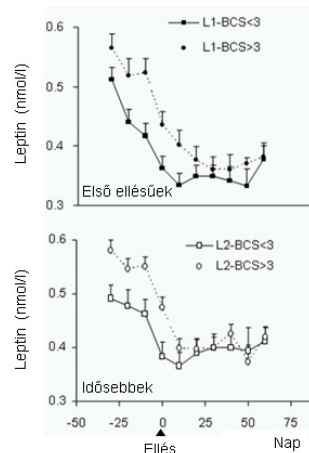
Az előbbiekben vázolt kedvező tapasztalatok birtokában további 6 kísérletsorozatra került sor. A terjedelmi korlátok miatt e helyen csak a leptin vérplazmában mért szintjének a változására vonatkozó legfontosabb megfigyeléseinket összegezzük.

A *2. kísérlet* keretében – adataikat nem vehesült állománytársai-kéival (n=32) összevetve – január végén, indukált/szinkronizált ovuláció nyomán vehesült, a későbbiekben egy (n=12), két (n=6), ill. három-öt (n=6) magzatot ellő anyajuhokban azt vizsgáltuk, hogy a leptin szintjének az irodalomból ismert, a vemhességre jellemző emelkedése összefügg-e a magzatok számával, valamint a progeszteron és az inzulin koncentrációjával. A plazma leptin szintje a fogamzást megelőzően mért értékhez képest a vemhesség 41. és 81. napján jelentősen emelkedett, majd a 101. napig lényegesen nem változott, és mindvégig összefüggést mutatott a magzatok számával, valamint a P4 és a P4-met tartalommal. A vemhesség egyes szakaszainak a befolyásoló szerepe azonban meghaladta e járulékosnak tekinthető tényezők hatását. A vemhesség-indukált hyperleptinaemia foka nem volt korrelációban az inzulinnal. A nem vehesült anyák leptinszintjében lényeges változásokat nem tapasztaltunk.

A vemhesség kb. 140. napján vizsgált anyajuhok adatait elemezve a *3. kísérletben* annak tisztázására vállalkoztunk, hogy a vemhesség-indukált hyperleptinaemiát milyen mértékben befolyásolja a szubklinikai ketózis kialakulása, továbbá az egészséges állománytársakéhoz (vehemszám egy: n=41, kettő:n=30) viszonyítva a vemhességi ketózis túlélőinek (vehemszám minden esetben 2; n=27) miként alakul a szapro-

dásbiológiai teljesítménye. A január végi ellésű anyák újbóli vemhesítését egy 3 hónappal későbbi ciklusindukció nyomán kíséreltük meg. Megállapítottuk, hogy az anyajuhok vemhességi ketózisának szubklinikai formája a vehemépítés energiaszükségletének a kielégítetlenségét tükröző komplex endokrinológiai következményekkel jár, ami a leptin szintjének a csökkenését is magában foglalja. Ha a biológiai tenyésztésen kívül (néhány héttel az ellést, és közvetlenül a választást követően) ismét ovulációt / ciklikus petefészek-működést indukálunk, állománytársaikhoz viszonyítva a korábban ketózisos anyajuhokban a plazma leptinszintje alacsonyabb lehet, miközben csökken az ovariális válaszkészségük és fertilitásuk is.

Legelőn tartott fiatal (első borjas, L1; n=21) és az idősebb (L2; n=21) állatok adatainak az összevetésével tejhasznú teheneinkben (4a kísérlet) azt vizsgáltuk, hogy az ellés körüli leptin mintázat milyen összefüggést mutat az egyéb metabolikus és hormonális mutatókkal, továbbá annak alakulása függ-e az elléskori tápláltsági állapottól és az állat életkorától. A vemhesség utolsó kb. 30 napján a tápláltsági állapot valamint a leptin



vérplazma-szintje egyaránt folyamatosan csökkent. Utóbbi az ellés utáni első héten érte el mélypontját, és ezt követően a vizsgálatok idején már nem változott lényegesen. A leptin szintjében az elléskori tápláltsági állapottól függő különbségeket inkább az ellést

2. ábra: A vérplazma leptinszintjének a változása az ellés körüli időszakban, az elléskor átlagos átlagos kondíciójú, (BCS>3), ill. sovány (BCS<3) teheneinkben (4a kísérlet)

megelőzően, életkor-függő különbségeket pedig inkább a laktáció kezdetén figyeltünk meg. A tápláltsági állapot a plazma leptin szintjével az ellést

megelőzően jelentős fokú pozitív korrelációt mutatott, ami a laktáció kezdetén minimálisra csökkent, és csak az átlagos tápláltsági állapotban ellő állatokra korlátozódott. Ugyancsak jelentős pozitív korrelációt tapasztaltunk a leptin és az IGF-I szintje között. Az ellés utáni acikliás periódus tartama az első laktációjú sovány teheneinkben jelentősen meghosszabbodott, és összefüggést mutatott a leptin és az IGF-I vérplazma-mintázatával.

Mindezekkel összhangban az egy további, hét hazai nagyüzem első laktációjú (n=132) és idősebb (n=251) teheneire kiterjedő vizsgálatban (4b kísérlet) a ciklikus petefészek-működésű állománytársaikkal korcsoportonként összevetve az ellés utáni kb. 50. napon még acikliás állatokat szignifikánsan alacsonyabb leptin és IGF-I szintek jellemezték.

Tejhasznú teheneinkben a vérplazma ketonanyag (β OH-butirát, BHB) és leptinszintjének az ellés utáni napokban tapasztalható összefüggését sorozat-mintavételezésben részesült néhány állatban (n=22; 5a kísérlet), továbbá nyolc üzem ≥ 2 . ellésű állataira kiterjedően (n=253; 5b kísérlet) is vizsgáltuk, az 1.00 mmol/l BHB koncentrációt tekintve a normo- és a hyperketonaemia közötti határértéknek. A hyperketonaemiás egyedeket – különösképpen a hosszasan hyperketonaemiásakat – jelentősen alacsonyabb leptin szintek jellemezték.

Védett zsírforrásként a pálmaolaj zsírsavainak Ca-sóit (7,0 és 3,5 ill. 0 %, abrakarmányhoz kevert koncentrátum formájában, a laktáció első 8 hetében; n=24; 6. kísérlet) etetve igen nagy tejtermelésű tejhasznú teheneinkben nem tapasztaltunk jelentős különbségeket a plazma leptin, inzulin, T₃, T₄ és IGF-I szintjében.

Végezetül néhány metabolit és metabolikus hormon – így a leptin – szintjének a változásait intraciszternális endotoxin⁴ kezeléssel kiváltott mastitisben (n=9; 7a kísérlet), a tőgygyulladásnak a laktáció kezdetén diagnosztizált, különböző súlyosságú és bakteriológiai háttérű eseteiben (n=37; 7b kísérlet), továbbá a puerperális méhgyulladás enyhébb, illetve

⁴ 100 μ g E. coli 0111:B4 lipopolysaccharid B; Bacto, Difco Laboratories Inc., Detroit, MI, USA

általános (toxikus) tünetekkel is járó eseteiben (n=41; *7c kísérlet*) követtük nyomon. E kórképekben jelentős endokrinológiai változásokat figyeltünk meg: a kortizol, inzulin, IGF-I, T4 és a T3 szintjének a jellemző eltérései mellett csökkent a vérplazma leptinszintje is. A leptin szintjének a változása azonban inkább következménye, mintsem oka az e megbetegedések során tapasztalható takarmányfelvétel-csökkenésnek.

Feltételezzük, eredményeink hasznos alapként szolgálhatnak a leptin diagnosztikai és prognosztikai értékének a megítéléséhez a termelés- és reprodukció-orientált, illetve a klinikai jellegű kutatómunkában

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Az új tudományos eredmények tekinthető tapasztalataink az alábbiakban összegezhetőek:

- (1) A plazma leptin szintje anyajuhokban magasabb, mint kosokban. Kérődzőkben a plazma leptin szintje a ciklus tüsző- és sárgatest-fázisában, továbbá ovariectomiát követően, illetve ösztrogén-visszapótlás nyomán nem változik; ezzel szemben kasztráció nyomán emelkedik, a tesztoszteron kezelés nyomán pedig ismét csökken.
- (2) Anyajuhokban a plazma leptinszintjének a vemhességgel kapcsolatos emelkedése összefüggést mutat a magzatok számával, illetve a progeszteron szintjével.
- (3) Az anyajuhok vemhességi ketózisának szubklinikai formája a vehemépítés energiaszükségletének a kielégítetlenségét tükröző komplex endokrinológiai következményekkel jár, ami a leptin szintjének a csökkenését is magában foglalja. Ha a biológiai tenyészdőszakon kívül ismét ovulációt / ciklikus petefészek-működést indukálunk, állománytársaikhoz viszonyítva a korábban ketózisos anyajuhokban a plazma leptinszintje alacsonyabb lehet, miközben csökken az ovarialis válaszkészségük és fertilitásuk is.

- (4) Amikor tejhasznú tehenekben az ellés körüli metabolikus és endokrinológiai változásokat – ide értve a plazma leptinszintjének a változásait is – kívánjuk nyomon követni, tekintettel kell lennünk az egyes életkorcsoportok közötti különbségekre is. Az endokrin szignálmechanizmus, ami tejhasznú tehenekben az ellés utáni negatív energetikai egyensúlyról, illetve a testzsír-raktárak telítettségéről tájékoztatja az ivari működés központi szabályozását, magában foglalja a plazma IGF-I és a leptinszintjét.
- (5) Az ellés körüli időszakban, továbbá a laktáció első heteiben a normo- és hyperketonaemiás tehenek plazma leptinszintjében jelentős különbségek igazolhatóak: azok az állatok, amelyekben az ellést követően emelkedett ketonanyag-szintek (β OH-vajsav: >1.00 mmol/l) fordultak elő, alacsonyabb plazma leptin-koncentrációkkal jellemezhetőek (*5a* és *5b kísérlet*).
- (6) A laktáció kezdetén rekorder tehenekben védett zsírforrás etetése nyomán nem változott jelentősen a plazma leptin (továbbiá inzulín, T₃, T₄ és IGF-I) szintje.
- (7) Tejhasznú tehenekben a laktáció kezdetén gyakran előforduló, intenzív endotoxin/citokin-felszabadulással járó gyulladós kórképek (pureperalis metritis, súlyos általános tünetekkel is kísért mastitis) számos metabolikus hormonnak a vérplazmában mérhető szintjét befolyásolják, így a leptin koncentrációját is csökkentik.

A JELÖLTNEK AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEI

1. Angol nyelvű folyóiratokban megjelent, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemények:

- 1.1. Nikolic, J.A., Nedic, O., Samanch, H., Aleksic, S., Miscevic, B., **Kulcsár, M.**: Peripheral circulating insulin-like growth factor-I and II in cattle. *Acta Vet. Hung.*, 2001. 49. 53-63. (IF: 0.420)
- 1.2. Meikle, A., **Kulcsár, M.**, Chilliard, Y., Fébel, H., Delavaud, C., Cavestany, D., Chilibruste, P.: Effects of parity and body condition score at calving on endocrine and reproductive parameters of the dairy cow under grazing conditions. *Reproduction*, 2004. 127. 727-737. (IF: 2.181)
- 1.3. Huszenicza Gy., Jánosi Sz., Gáspárdy A., **Kulcsár M.**: Endocrine aspects in pathogenesis of mastitis in postpartum dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 2004. 82-83. 389-400. (IF: 1.410)
- 1.4. Kokkonen, T., Taponen, J., Tuori, M., Lohenoja, S., **Kulcsár, M.**, Delavaud, C., Chilliard, Y., Tesfa A.T.: Effects of fat supplementation in early lactation dairy cows. *J. Anim. Feed Sci.*, 2004. 13. Suppl. 1. 499-502. (IF: 0.416)
- 1.5. Cavestany, D., Blanc, J.E., **Kulcsár, M.**, Uriarte, G., Chilibruste, P., Meikle, A., Fébel, H., Ferraris, A., Krall, E.: Metabolic profiles of the transition dairy cow under a pasture-based milk production system. *J. Vet. Med. A.*, 2005. 52. 1-7. (IF: 0.756)
- 1.6. **Kulcsár M.**, Jánosi Sz., Lehtolainen T., Kátai L., Delavaud C., Balogh O., Chilliard Y., Pyörälä S., Rudas P., Huszenicza Gy.: Feeding-unrelated factors influencing the plasma leptin level in ruminants. *Domest. Anim. Endocrin.*, 2005. 29. 214-226. (IF: 1.559)
- 1.7. **Kulcsár M.**, Dankó G., Magdy, H.G.I., Reiczigel J., Forgach T., Proháczik A., Delavaud, A., Magyar K., Chilliard, Y., Solti L., Huszenicza Gy.: Pregnancy stage and number of fetuses may influence maternal plasma leptin in ewes. *Acta Vet. Hung.*, 2006. 54. 221-234. (utolsó ismert IF, 2005: 0.530)
- 1.8. **Kulcsár M.**, Dankó G., Delavaud, C., Mircu, C., Nikolic, A.J., Gáspárdy A., Cernescu, H., Chilliard, Y., Cseh S., Rudas P., Huszenicza Gy.: Endocrine characteristics of late pregnant hyperketonaemic ewes and their reproductive performance following the induction of ovarian cyclicity out of the breeding season. *Acta Vet. Hung.*, 2006. 54. 235-249. (utolsó ismert IF, 2005: 0.530)
- 1.9. Földi J., **Kulcsár M.**, Pécsi A., Huyghe, B., de Sa, C., Lohuis, J.A.C.M., Cox, P., Huszenicza Gy.: Bacterial complications of

postpartum uterine involution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 2006. 96. 265-281. (utolsó ismert IF, 2005: 2.136)

2. Magyar nyelvű folyóiratokban megjelent, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemények:

- 2.1. Huszenicza Gy., **Kulcsár M.**, Kátai L., Balogh O.: A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés. 2. A petefészek működése az ellés utáni időszakban. *Magy. Áo. Lapja*, 2003. 125. 75-82. (IF: 0.089)
- 2.2. Kátai L., **Kulcsár M.**, Kiss G., Huszenicza Gy.: A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés. 3. Az újravemhesülés zavarai. *Magy. Áo. Lapja*, 2003. 125. 143-146. (IF: 0.089)
- 2.3. Huszenicza Gy., **Kulcsár M.**, Dankó G., Balogh O., Gaál T.: A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés. 4. A ketonanyagképződés fokozódása és annak klinikai következményei. *Magy. Áo. Lapja*, 2003. 125. 203-208. (IF: 0.089)
- 2.4. Faigl V., Marton A., Keresztes M., Novotniné Dankó G., Csatári G., Antal J., Nagy S., Árnási M., **Kulcsár M.**, Cseh S., Huszenicza Gy.: Az anyajuhok szaporodási teljesítményének növelésével összefüggő egyes újabb élettani kérdések és ezek technológiai vonatkozásai. Irodalmi áttekintés. *Magy. Áo. Lapja*, 2005. 127. 586-593. (IF: 0.114)
- 2.5. Pécsi A., Földi J., **Kulcsár M.**, Pécsi T., Huszenicza Gy.: Az involúció bakteriális eredetű szövödményei szarvasmarhában. Irodalmi áttekintés. 1. rész. *Magy. Áo. Lapja*, 2006. 128. 721-730. (utolsó ismert IF, 2005: 0.114)

3. Tudományos folyóiratokban megjelent, előzetesen lektorált, angol nyelvű összefoglalók:

- 3.1. Huszenicza Gy., **Kulcsár M.**, Jánosi Sz., Lehtolainen, T., Dankó G., Kátai L., Delavaud, C., Magdy H.G.I., Balogh O., Chilliard, Y., Pyörälä, S., Rudas, P.: Feeding-unrelated factors influencing the plasma leptin level in ruminants. Abstract. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 2004. 8. 22.
- 3.2. **Kulcsár M.**, Jánosi Sz., Kátai L., Kóródi P., Balogh O., Delavaud, C., Chilliard, Y.: Mastitis-related endocrine alterations in postpartum dairy cows. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2004. 39. 289.

- 3.3. **Kulcsár M.**, Lehtolainen, T., Balogh O., Delavaud, C., Chilliard, Y., Pyörälä, S.: Experimental endotoxin mastitis fails to alter the plasma leptin level in dairy cows. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2004. 39. 290.
- 3.4. Huszenicza Gy., **Kulcsár M.**, Jánosi Sz, Lehtolainen T., Delavaud C, Chilliard Y, Pyörälä S: Effects of Gram-negative mastitis on plasma leptin level in dairy cows. Abstract. *Tierärztliche Praxis*, 2004. 32(G). 107.
- 3.5. Huszenicza Gy., Jánosi Sz., **Kulcsár M.**: Effects of Gram-negative mastitis on ovarian activity in postpartum (pp) dairy cows. Abstract. *Tierärztliche Praxis*, 2004. 32. 107.
- 3.6. **Kulcsár M.**, Kátai L., Balogh O., Pécsi A., Dalevaud, C., Földi J., Hirvonen, J., Faigl V., Chilliard, Y., Huszenicza, Gy.: Metabolic and endocrine changes, inflammatory proteins and ovarian activity in dairy cows with acute puerperal metritis. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2005. 40. 407.

4. Konferencia-kiadványokban megjelent, angol nyelvű, teljes szövegű közlemények

- 4.1. Huszenicza, Gy., Kátai, L., **Kulcsár, M.**, Pécsi T., Kiss G., Delavaud, C., Fébel H., Chilliard, Y., Driancourt, M.A., Butler, W.R.: Metabolic factors influencing fertility at the first postpartum insemination in high-producing dairy cows. *Proc. of 15th European A.I. Vets' Meeting* (8-11 October, 2003, Budapest, Hungary), pp. 16-25.
- 4.2. Huszenicza, Gy., **Kulcsár, M.**, Kátai, L., Balogh, O., Meikle, A., Fébel, H., Delavaud, C., Pécsi, A., Földi, J., Cavestany, D., Chilliard, Y., Fekete, S.: Metabolic factors influencing the onset of cyclic ovarian function and fertility in postpartum dairy cows. *Proc. of the 8th Internat. Conf. of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition* (Sept. 23-25, 2004, Budapest, Hungary), pp. 17-37.
- 4.3. **Kulcsár M.**, Jánosi Sz., Lehtolainen T., Delavaud, C, Chilliard, Y., Pyörälä, S., Huszenicza Gy.: Effects of Gram-negative mastitis on plasma leptin level in dairy cows. *Proc. 3. Leipziger Tierärztekongress: Endotoxikosen bei Rinden.* (22 Jan. 2005, Leipzig, Deutschland), pp. 133-151.

A JELÖLT TOVÁBBI LEPTIN VONATKOZÁSÚ, AZ ÉRTEKEZÉSBEN NEM ISMERTETETT KÖZLEMÉNYEI

1. Angol nyelvű folyóiratokban megjelent, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemények:

- 1.1. Nikolic, J. A., **Kulcsár, M.**, Kátai, L., Nedic, O., Jánosi, Sz., Huszenicza, Gy.: Periparturient endocrine and metabolic changes in healthy cows and in those affected by various forms of mastitis. *J. Vet. Med. A*, 2003. *50*. 22-29. (IF: 0,558)
- 1.2. Sayed-Ahmed, A., **Kulcsár, M.**, Rudas, P., Bartha, T.: Expression and localization of leptin and leptin receptor in the mammary gland of the dry and lactating non-pregnant cow. *Acta Vet. Hung.*, 2004. *52*. 97-111. (IF: 0,566)
- 1.3. Cavestany, D., **Kulcsár, M.**, Crespi, D., Chilliard, Y., La Manna, A., Balogh, O., Keresztes, M., Delavaud, C., Huszenicza, Gy., Meikle, A.: Effect of prepartum energetic supplementation on production and reproductive characteristics, and metabolic and hormonal profiles in dairy cows under grazing conditions. *J. Dairy Sci.*, közlésre benyújtva (utolsó ismert IF, 2005: 2.240)

2. Egyéb leptin vonatkozású közlemények

- 2.1. Huszenicza, Gy., **Kulcsár, M.**, Nikolic, J. A., Schmidt, J., Kóródi, P., Kátai, L., Dieleman, S., Ribiczei-Szabo, P., Rudas, P.: Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with Monensin or inert fat in feed. In: Diskin, M.G. (ed.): Fertility in the high-producing dairy cow. British Society of Animal Science (Edinburgh, United Kingdom), Occasional publications, 2001., No. 26., Vol. 2., pp. 405-409.
- 2.2. Huszenicza Gy., **Kulcsár M.**, Kátai L., Balogh O., Balogh-Pál B.: Az endokrin ritmusok összhangjának példája a szaporodásbiológiában: a ciklikus petefészek-működés újraindulása az ellés utáni időszakban nagy tejtermelésű szarvasmarhában. In: Csernus V., Mess B.: Biológiai órák: ritmikus biológiai folyamatok az élővilágban. Akadémiai Kiadó, Budapest, 2006. pp. 137-150.

† Rudas Péter professzor emlékére

Köszönetnyilvánítás

A szerző hálás szívvel köszöni témavezetőjének, az időközben elhunyt *Rudas Péter* tv. egyet. tanárnak sokirányú, inspiratív tanácsait, sok éves támogatását.

A jelölt munkacsoportja nevében is köszönetét fejezi ki *Prof. Y. Chilliard*nak és *C. Delavaud*nak (INRA, Saint-Genes-Champanelle, Franciaország) a metodikai adaptációt lehetővé tevő kérődzőspecifikus leptin-ellenanyag biztosításáért, folyamatos közreműködési készségükért. Az értekezés alapjául szolgáló kísérleti munka csaknem 9 éven keresztül, széleskörű nemzetközi és hazai együttműködés keretében folyt. A szerző köszöni valamennyi résztvevő, különösképpen pedig † *Forgách T.*, *Jánoki Gy.* (OSSI, Budapest), *Keszei Cs.*, *Németh A.* (Izotóp Intézet, Budapest), *Magdy H. G. Ishak* (Nuclear Research Center, Kairó, Egyiptom), *Fébel H.* (ÁTK, Herceghalom), *S. Pyörälä*, *J. Taponen*, † *J. Hirvonen*, *T. Lehtola-inen*, *T. Kokkonen* (Állatorvos-tudományi Kar, Helsinki, Finnország), *A. Meikle*, *D. Cavestany*, *P. Chilibroste* (Állatorvos-tudományi Kar, Montevideo, Uruguay), *J. A. Nikolic*, *I. Ivanov*, *H. Samanch* (INAE, ill. Állatorvos-tudományi Kar, Belgrád, Szerbia), *Reiczigel J.*, *Gáspárdy A.* és *Ribiczeiné Szabó P.* (Állatorvos-tudományi Kar Budapest) alkotó közreműködését. Köszönet és hála a kísérletek helyszínéül szolgáló üzemek állatorvosainak és dolgozóinak a szíves közreműködésükért. A jelölt ezúton is köszöni korábbi és jelenlegi tanszékvezetői, *Pethes Gy.*, *Haraszi J.* és *Solti L.* megértő támogatását, továbbá a munkában közvetlenül is résztvevő nagyszámú tanszéki kolléga és külső munkatárs, mindenekelőtt *Budai B.*, *Kiss E.* és *Simon-Czigány I.* technikusok, valamint *Balogh O.*, *Dankó G.*, *Földi J.*, *Jánosi Sz.*, *Kátai L.*, *Kóródi P.*, *Szepes O.* és *Úveges P.* áldozatkész technikai közreműködését. E helyen is köszönet illeti mindazokat, akik az előzetes változatot elolvasva észrevételeikkel, tanácsaikkal segítettek az értekezés végső formájának az elkészítését, továbbá támogatóinkat (FKFP-0270, OTKA-T/016 473, OTKA-T/034 435, továbbá az Intervet International BV. és a Pfizer Animal Health Ltd.), a rendelkezésünkre bocsátott anyagi forrásokért.

Hálás köszönetem végül családomnak, szeretetteljes támogatásukért és az értekezés elkészítésére fordított, tőlük „ellopott” időért.

Budapest, 2007. ápr. 15.

Kulcsár Margit dr.