

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

**Tumor markerek, mint prognosztikai faktorok szerepe
kutyák és macskák nemi szervi daganatainak korai
megállapításában**

Készítette: Keresztesi-Fleck Bence

Témavezető: Dr. Thuróczy Julianna

Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

Budapest

2017

Tartalomjegyzék

Bevezetés.....	3
Szakirodalmi Áttekintés	4
Daganatos elváltozások előfordulása.....	4
Daganat típusok	5
Petefészek daganatok	5
Emlő daganatok	5
Emlő daganatok besorolása:.....	6
Kanok/ kandúrok ivarszervi daganatai	7
Prognosztikai faktorok.....	8
Prognózis felállításának jelentősége.....	8
Tumor markerek a humán gyógyászatban	9
Hererák diagnosztikában használt tumor markerek	9
Emlőrák tumor markerek.....	9
Petefészek daganat tumor markerei.....	10
Matrix metalloproteinase (MMP-9) és Ki-67proliferációs faktor	11
Laktát-dehidrogenáz	11
ALP	13
P4.....	13
E2.....	14
Anyag és módszer	15
Vizsgált egyedek.....	15
Vérvétel.....	15
ALP	15

LDH	16
P4	16
E2	16
Szövetteni vizsgálat	17
Eredmények.....	17
LDH	20
ALP	20
E2	21
P4	22
Megbeszélés	30
P4	30
E2	30
ALP	30
LDH	31
Összegzés.....	31
További célkitűzés	32
Összefoglalás.....	33
Summary	34
Köszönetnyilvánítás	34
Irodalomjegyzék.....	35

BEVEZETÉS

Az urbánus ártalmak a kisállatokra is egyre nagyobb mértékben hatnak. A gyógyszerekkel és kezelésekkel sikerült meghosszabbítani az átlagéletkort, de így náluk is egyre gyakrabban jelentkeznek a megváltozott életmód okozta betegségek, köztük a daganatos elváltozások. Fontos a prognózis és a sikeres terápia érdekében, hogy minél előbb megállapításra kerüljenek ezek az elváltozások és így a nyomon követésük is egyszerű legyen.

A legtöbb ivarszervi daganat a kutyáknál és macskáknál is gyakran csak előrehaladott állapotban kerül megállapításra, mert a gazdák általában, csak a nagy terimenövekedéssel, illetve súlyos panaszokkal járó elváltozásokat veszik észre, mivel a hasüregben növekvő és hormont nem termelő daganatok csak a más célból végzett ultrahang vizsgálat vagy hasi műtétek mellékleteként kerülnek megállapításra. Az állatorvosi általános klinikai vizsgálat során is csak az előrehaladott állapotban lévő betegeknél diagnosztizálnak ivarszervi daganatos elváltozást a jellemző tünetek (hyperplasia, benignus proliferáció, malignus transzformáció) alapján, mert ezeknek a daganatoknak a korai kimutatása nehézkes. A kisméretű ivarszervi daganatok jellemzői nehezen kiértékelhetőek, ezért jobb előrejelzési módszerek szükségesek a korai megállapításhoz. A preoperatív diagnózis információt nyújthat a tumor típusáról, így a megfelelő kezelést lehetne alkalmazni. Szakdolgozati munkám során olyan tumor markereket kerestünk, amik segítségével ez a preoperatív diagnózis a klinikai vizsgálatok során a rutin feladatok részeként felállítható. Fontos szempont volt, hogy a vizsgálatok költsége alacsony legyen, így a gyakorló állatorvosok nap, mint nap használhatják, az alap kivizsgálás részeként alkalmazhassák. A dolgozat témája a tumor markerek, mint prognosztikai faktorok szerepe kutyák nemi szervi daganatainak korai megállapításában. A vizsgálatok célja, hogy az egyes nemi szervi daganatokat, még a klinikai tünetek megjelenése előtt, egy vérvétel során előre lehet-e jelezni.

Szakirodalmi áttekintés

Daganatos elváltozások előfordulása

Egy angliai tanulmány szerint a kutyák 23%-a pusztul el daganatos megbetegedésben. A 10 év feletti kutyákat vizsgálva ez a szám 45% (Bronson, 1982). Egy, az Egyesült Királyságban folytatott kiterjedt kutatás szerint a leggyakrabban előforduló neopláziák a bőrben és a lágyszövetekben találhatóak meg. Százezer kutyából 1437-nél találtak ilyen típusú elváltozást. Az emlők elváltozása a harmadik leggyakoribb (205/100.000)(Dobson et al., 2002).

Egy hasonló amerikai kutatás szerint, Alameda megyében 100.000 kutyából 381,2-nek és 100.000 macskából 155,8-nak volt daganatos elváltozása. A vizsgálat szerint a kutyáknak és az embereknek is kétszer olyan gyakran fordul elő daganatos elváltozás a szervezetében, mint a macskáknak. Ugyanitt vizsgálták a nemek és fajok közti különbségeket, így kiderült, hogy a hím kutyáknál nagyobb eséllyel keletkezik daganat a száj és garatterületén, mint a szukáknál, és a kandúroknak nagyobb eséllyel lesz lymphosarcomája, mint a nőstény macskáknak. Az ivarszervi daganatoknál megfigyelték, hogy az ivartalanítás jelentősen csökkenti mindkét fajnál az elváltozások kialakulását. A nem ivartalanított állatoknál hétszer nagyobb eséllyel alakult ki emlődaganat (Dorn et al., 1968).

Olaszországban, Genovában a helyi állatorvosok 6743 biopszia mintát küldtek be vizsgálatra 1985 és 2002 között. Ezekből 3303 (48,9%) minta bizonyult rákosnak. Itt az emlődaganat bizonyult a leggyakoribb elváltozásnak a szuka kutyáknál. Ez az összes daganatos elváltozás 70%-a volt. A daganatos elváltozások háromszor gyakoribbak voltak a szuka kutyáknál, mint a hímeknél, ezt valószínűleg az emlődaganat gyakori előfordulása okozta (Merlo et al., 2008). A kutatás eredményét befolyásolta, hogy az eredmények csak a biopszia eredmények alapján készültek. Emiatt is fordulhatott elő, hogy ilyen magas számban szerepeltek az emlődaganatos betegek, mert az emésztőszervi, valamint légzőszervi elváltozásoknál a mintavétel nehezebbnek bizonyult, így sokszor elmaradt.

Összességében megfigyelhető, hogy kutyák és macskák ivarszervi daganataival gyakran találkozhat a klinikus állatorvos. Az utóbbi években egyre gyakrabban alkalmazott ivartalanításokkal az előfordulásuk ugyan csökkent, de még mindig nagy számban találhatóak

meg. A tanulmányok alapján főleg az idősebb állatok érintettek, de fiataloknál is gyakoriak az elváltozások.

Daganat típusok

Petefészek daganatok

A kutyák és macskák petefészek daganatai három csoportba oszthatók. Csírasejt, hámsejt és stróma eredetűek. Előfordulásuk alapján a csírasejt eredetű a legritkább a kutyáknál. Macskáknál a stróma eredetű a leggyakoribb, csírasejt és hámsejt eredetű daganatok a ritkábbak. Legtöbbször adenocarcinoma alakul ki kutyákban és macskákban egyaránt. A hám eredetű neoplasmák fordulnak elő nagy számban (46%) és ezeknek majdnem kétharmaduk malignus egyes tanulmányok szerint. A stróma eredetűek közül egyenlő arányban fordult elő granulosa és Sertoli-Leydig sejtes daganat is. Az életkorok átlaga 10 év volt, kivéve azokat, akiknek teratomájuk volt, náluk 4 év volt az átlag. Az elváltozások legtöbbször unilaterális, kivéve a Sertoli-Leydig sejtes daganatokat, aminek nagy része bilaterális (Patnaik and Greenlee, 1987).

Gyakran fordulnak elő cisztás elváltozások is. A ciszták kialakulhatnak szekunder vagy terciér (Graaf-féle) tüszőkből, vagy sárgatestből a tüszőrepedést követően.

A szekunder, vagy folliculus-theca ciszta fordul elő leggyakrabban, változó számban és nagyságban. Áttetsző folyadékkal kitöltött, amit vékony fal vesz körül.

A terciér vagy folliculus-lutein ciszta ritkább, ez az érett, de fel nem repedt Graaf-féle tüszőkből keletkezik. Két fal alkotja a burkát, egy belső vastagabb és egy külső vékonyabb luteinsejtekkel infiltrált, fibrózus szövet.

A sárgatestből kialakult ciszta, a corpus luteum ciszta kialakulhat megrepedt Graaf-féle tüszőből, vagy a sárgatestből. Üregében vízszerű folyadék található, amit egy vagy két rétegben zsírcseppeket tartalmazó luteinsejtekből álló fal burkol (Meuten, 2016).

Emlő daganatok

Szukákban a petefészek elváltozásain kívül gyakori volt az emlőtelep daganatos elváltozása is. A nem ivartalanított kutyákban ez a leggyakoribb daganatos elváltozás, több mint 40%. Kialakulásukban fontos szerepe van az ivari működésnek, hormonoknak. Ez magyarázza, hogy a

preventív ovari-, ovariohysterektomia alkalmazásával csökkent előfordulása, de így is jelentős betegség az állatorvosi praxisokban. Kezelési lehetősége limitált a humán emlődaganatokhoz képest. Állatoknál általában az érintett emlők, valamint (preventív) a mellette lévők sebészi eltávolítását alkalmazzák. Súlyos esetben a teljes emlőléc és a Sentinel nyirokcsomó is eltávolításra kerül (Sleeckx et al., 2011).

Az emlődaganatok, mind a benignus, mind a malignus, E2 receptort expresszálnak. Amellett, hogy részt vesznek a kezdeti rosszindulatú transzformációban, az E2 receptorok terápiás célpontok lehetnek a kutyák emlődaganatának gyógyításában, úgy, mint a nők mellrákjában. A nőknél egy életen át fennáll a veszélye, hogy kialakul a mellrák, amit a kumulált biológiailag aktív ösztrogén okoz. Az ösztrogének számos nukleáris proto-onkogén transzkripcióját szabályozzák. Ezek a proto-onkogének szabályozzák a sejtciklust, az apoptózist és a differenciálódást, részt vesznek a jelátviteli folyamatokban. Az ösztrogének és progeszteronnak jelentős szerepe van a normál emlőmirigy fejlődésében, de ezek a hormonok érintettek a tumor fejlődésében is (Sorensen, 2003).

Emlő daganatok besorolása:

Az emlődaganatokat a WHO által publikált táblázat szerint lehet szövettanilag is osztályozni. Előfordulhat benignus (jóindulatú) illetve malignus (rosszindulatú) elváltozás. Daganat típus szerint megkülönböztetünk sarcomát, carcinomát, carcinosarcomát, melyek mind malignus elváltozások. Benignus daganat típusok az adenoma, papilloma, fibroadenoma, valamint a benignus kevert tumor (Goldschmidt et al., 2011). Ezeknek a háttérben ivari, illetve hormonális zavarok is állhatnak. A daganat megjelenhet egy vagy egyszerre több emlőn is, lehet uni- vagy bilaterális. Súlyosság megállapítására a TNM besorolás használható, melyből a T: tumor átmérője (T1-4), az N: regionális nyirokcsomó (Sentinel-nyirokcsomó) érintettsége (N0/N1), az M: metasztázis megléte (M0/M1). A tumor méretét négy osztályba sorolják. T1: kutyában kisebb, mint 3 cm, macskában kisebb, mint 1 cm. T2: kutyában 3-5 cm, macskában 1-3 cm. T3: kutyában nagyobb, mint 5 cm, macskában nagyobb, mint 3 cm. T4: „mastitiscarcinomatosa” gyulladós carcinoma (Matos et al., 2012).

Kanok/ kandúrok ivarszervi daganatai

A kanokban leggyakoribb a here és mellékhere elváltozása volt. A here leggyakoribb daganatos elváltozásai kétféle csoportba oszthatók. Ezek a csírasejtes tumorok és a gonado-stromális tumorok. A csírasejtes tumor a here germinatív sejtjeiből indul ki, ide tartozik a seminoma, ez a leggyakoribb daganatos elváltozása a heréknek. A gonadostromális daganatok közé tartozik a Leydig-féle intersticiális sejtekből kiinduló daganatok és a Sertoli-sejtes daganat. Előbbi soliter, nagyra nő és áttéteket képezhet, míg utóbbi gócos/lobuláris szerkezetű. A Sertoli-sejtes daganat gyakran ad áttéteket a hasüregbe, tüdőben, thymuson, esetleg az agyban. A primer vegyes heredaganat az első két csoport elemeit egyszerre tartalmazza (Meuten, 2016.).

A heredaganat gyakrabban jelentkezik idősebb korban, de fiatalabb egyedekben is előfordulhat. Ennek a daganatnak a kialakulása kutyafajtától független. Leggyakoribb a cryptorchid herében. Ilyenkor az egyik, vagy mindkét here a herezacskóba leereszkedés során elakad. Ez megtörténhet már a hasüregben, de gyakori a lágyékgyűrűnél és a lágyékcsatornában is. Oka lehet a lassabban megrövidülő gubernaculum, így a here fejlődése gyorsabb a leereszkedés sebességénél és relatív nagy here alakulhat ki. Ezen kívül okozhatja egy túl szűk lágyékgyűrű, vagy lágyékcsatorna, valamint fasciakettőzetek, egyéb fejlődési rendellenességek is. Ezek a herék fokozottan hajlamosak a daganatos elváltozásokra (Kawakami et al., 1984).

A különböző daganat típusok más-más tüneteket eredményeznek. A Sertoli-sejtes daganat hatására a here és a herezacskó környéke megduzzadhat. Amennyiben a kutya rejtett herével született, a duzzanat máshol is megjelenhet a rejtett here elakadásától függően. Így kialakulhat az alhasi, lágyék tájékon, de hasi részen is.

Ennek a daganat típusnak több mint a fele ösztrogént termel, így a kutya ösztrogén túltermelés tüneteit mutatja majd. Ez a prosztatata, az emlőmirigyek, a csecsbimbók megnövekedését, szőrhullást, hyperpigmentációt okoz. Ilyen esetekben még az is előfordul, hogy az állat más kanok érdeklődését is felkelti. A cryptorchid kanok vizeletürítést is a szukákra jellemző pozícióban végzik el. Ezeknek az állatoknak a 15 %-ban alakul ki ösztrogén myelotoxikózis. Ennek jelei a csontvelő hypoplázia és a nem regeneratív anémia. Rejtett here esetén a spermavezető elváltozása is gyakori, főleg neoplasztikus herék nagy mértékű terimenövekedése esetén (Quartuccioetal., 2012).

A seminomás betegek hasonló tüneteket mutatnak, de a betegeknek csak kis százalékánál jelentkezik emelkedett ösztrogénkoncentráció. A Leydig féle intersticiális daganatoknál viszont néhány betegnél a tesztoszteron koncentrációemelkedés mellett megjelenhet az emelkedett ösztrogénkoncentráció is.

A hererákban szenvedő kutyák prognózisa általában biztató. Ritkán fordul elő áttét az időben diagnosztizált betegeknel, így egy egyszerű kasztrációval a legtöbb beteg gyógyítható. Azoknál a kutyáknál, amelyeknél ösztrogént termelő daganatot diagnosztizáltak, az esetek kis részében a műtét után feminizációs tünetek maradhatnak vissza. Ezek a daganat típusok könnyedén elkerülhetők a megfelelő időben elvégzett ivartalanítással, melynek kockázatát a modern altatógépek alkalmazása jelentősen csökkenti. A rejtett herés állatokat lehetőleg minél hamarabb meg kell műteni, mivel a melegebb környező hőmérséklet miatt már fiatal korban megkezdődhet a here szövetek daganatos elfajulása.

Prognosztikai faktorok

A tumor markerek, mint prognosztikai faktorok, rendkívül sokfélék, daganattípustól függően lehetnek hormonok, enzimek és egyéb, daganat által termelt anyagcsere termékek. A tumor sejtek többek között a daganatra jellemző glikoproteineket termelnek. A mennyiségük összefüggésben van a kiválasztó sejtek mennyiségével, és a daganatos transzformáció kezdetétől kiválasztódnak. Kimutatásukkal, már a daganatos elváltozások kezdetén megállapítható az elváltozás, ami szabad szemmel, illetve tapintásos vizsgálattal nem lenne megállapítható (Marchesi et al., 2007).

Prognózis felállításának jelentősége

A legújabb publikációk szerint az állatok átlag életkora növekedett az utóbbi időben, ami megnöveli a daganatok kialakulásának lehetőségét. Számos publikáció foglalkozik kutyák és macskák ivarszervi daganatainak kivizsgálásának lehetőségeivel és jelentőségével. Ezen tanulmányok szerint ezek a betegek modellként használhatók, mert bizonyos szempontból hasonlóságot mutatnak a humán megbetegedésekkel. Ilyenek az életkor, incidencia, kockázati tényezők, biológiai jellemzők, hisztopatológiai és molekuláris jellemzők, valamint a terápiára adott válaszreakció (Matos et al., 2012).

Tumor markerek

A tumor markereknek nagy jelentősége van a diagnózis felállításában, a daganat stádiumának meghatározásában, a kockázat becslésben, és a monitorozásban. A tumor markerek kimutathatók a plazmából, szérumból, vizeletből vagy szövetekből. A következő fejezetben azokat a tumor markereket mutatom be, amiket a humán here-, a mell-, és a petefészek rák gyógyászatában használnak.

Hererák diagnosztikában használt tumor markerek

Here daganatok esetén α -fetoproteint (α FP), humán chorio-gonadotropint (hCG) és laktát dehidrogenázt(LDH) használtak prognosztikai faktorként. A vizsgálatok alapján kiderült, hogy ezek tumor markerként nem használhatók megbízhatóan. Az α FP koncentráció emelkedhet hepatitis, gyógyszer okozta májterhelés, hepatocelluláris daganat esetén is. A hCG koncentráció szintén magas lehet kemoterápia esetén, valamint heterophil antitestek hatására is. Emelkedett LDH aktivitást okozhat a hemolízis, májbetegség, izomsérülés, myocardialis infarktus. A vizsgálat alapján a seminomás betegek 21 %-nál volt mérhető szérum hCG emelkedés. Az LDH átlagosan 40-60 %-ában emelkedett meg a különböző típusú heredaganatokban. Ezekon kívül vizsgálták még a placentáris ALP-t(PALP) is. Az ALP tumor asszociált izoenzimét először egy tüdőrákos betegnél írták le. Később más daganatos betegek szérum mintájában is detektálták, majd placentáris ALP-ként határozták meg. A PALP értéke leginkább a seminomás betegekben emelkedett meg. Dohányzó embereknél az értéke tízszerese is lehet a normálisnak. Emiatt, és mérésének nehézségei miatt a klinikumban, nem alkalmazható rutinszerűen a diagnózis felállításához.

Több prognosztikai faktor vizsgálata után kiderült, hogy csak az LDH-nak és a hCG-nek van önálló prognosztikai jelentősége a here daganatos elváltozásának vizsgálatában. Mindemellett, állatoknál, ahol a dohányzásjelentősége kisebb, csak mint passzív dohányzás fordulhat elő, a PALP, esetleg az ALP egyéb izoenzime alkalmazható lehet tumor markerként(Sturgeon et al., 2008).

Emlőrák tumor markerek

Az emlőrák az egyik leggyakoribb daganat típus a nőknél, évente egy millió új esetet diagnosztizálnak a világon. Gyakorisága így hasonló a kutyáknál és macskáknál mért

eredményekhez. Nőknél a vezető tünetek a mell állományában kialakuló csomó, a mellbimbó elváltozása és a bőr kontúrjának a megváltozása. A biztos diagnózis felállításához biopszia és szövettani vizsgálat szükséges. Jelenleg a vér analízisén alapuló biomarkerek használata nem ad megbízható eredményt. Kezelése elsősorban műtéttel történik, sugárterápiás és kemoterápiás kiegészítéssel. Az elsődleges terápia után, a mellrákkal diagnosztizált betegeket meghatározott időközönként nyomon követik. Ez általában fizikális vizsgálatot, röntgen vizsgálatot tumor markerek és biokémiai paraméterek vizsgálatát jelenti. Több tumor marker mellett vizsgálták az E2 és P4 receptorokat is. Ennek elsődleges oka, hogy az eredményekkel megállapítható, hogy az endokrin terápia milyen reakcióval válaszol a szervezet. Azonban, a betegség kimenetelének megállapításában ezek a receptorok gyenge tumor markernek minősültek, főleg a nyirokcsomó áttét nélküli betegeknél. Mindemellett más faktorokkal együtt használható a recidíva esélyének megállapítására (Sturgeon et al., 2008).

Petefészek daganat tumor markerei

A petefészek daganat előfordulása embereknél szintén igen gyakori. Ez a négy leggyakoribb daganatos elváltozás egyike. Világszerte, évente több mint 200 000 új beteget diagnosztizálnak, aminek több mint a fele fatális végkimenetelű. Ennek a daganat típusnak igen nagy a mortalitása embereknél, de az új kemoterápiás szereknek köszönhetően sikerült 5 év fölé emelni az átlag túlélési időt. A magas mortalitás oka, hogy általában csak későn sikerül diagnosztizálni a betegséget. Az előrehaladott állapotú petefészek carcinomás betegek nagy része sajnos meghal. Ezzel szemben a korai stádiumban diagnosztizált betegek 90 %-a meggyógyul. Emiatt igen fontos a petefészek daganatok korai diagnosztizálásához a tumor markerek használata. Humán gyógyászatban a leggyakrabban használt tumor marker a cancer antigén 125 (CA125). A CA125 a női genitális traktus szerveiben a sejtek felszínén található fehérje. Határértéknek a 35 kU/L-t határozták meg. Nőknél a hám eredetű petefészek rákos betegek 80%-nál volt magasabb a határértéknél. A koncentráció korrelál a daganat méretével és súlyosságával. A CA125 önmagában nem teljesen megbízható a petefészek rák megállapításában, mert nem elég specifikus. Egyéb kiegészítő vizsgálatok (ultrahang) illetve más tumor markerekkel együtt viszont segítségére lehet az orvosoknak a kezelés hatékonyságának ellenőrzésében és a recidíva esélyének megállapításában. Gyakran alkalmazzák prognosztikai markerként, hogy pre- és posztoperatív is mérik a koncentrációját. Azoknál a betegeknél, akiknél a preoperatív érték

65kU/L felett volt, az 5 éves túlélési idő esélye jelentősen alacsonyabb volt (Sturgeon et al., 2008).

Matrix metalloproteinase (MMP-9) és Ki-67 proliferációs faktor

Jelenleg prognosztikai faktorként a gyakorlatban a tumor méretét, szövettani típusát, grade besorolását, növekedésének ütemét és a nyirokcsomók állapotát használják. Ezek alapján állítják fel a prognózist, majd határozzák meg az utókezelést is, azonban nem alkalmasak egy makroszkóposan még nem látható daganat jelenlétének kimutatására (Vörös, 2014).

Ilyen típusú daganatok kimutatására több tumor markert is kipróbáltak prognosztikai faktorként, valamint a késői fázisban több faktort is vizsgáltak, köztük az MMP-9 és a Ki-67 proteint. Az MMP-9 egy kalcium dependens cink tartalmú metalloproteináz. Ez egy olyan proteáz, ami minden extracelluláris mátrix proteint képes bontani. Ismert, hogy részt vesz a sejtfelszíni receptorok hasításában és az apoptotikus ligandok felszabadításában. A Ki-67 egy nukleáris protein, ami szükséges a sejt proliferációhoz.

Egy kísérletben az állatokat 2 évig figyelemmel követték a daganatok eltávolítása után. A kutyák 5 és 15 év közöttiek voltak. 30%-nál újult ki a daganat, vagy alakult távoli metasztázis és 25,8% halt meg, vagy döntöttek eutanázia mellett a kétéves megfigyelési periódus alatt.

A keringő MMP-9 és a Ki-67 jelenléte az eredmények alapján nem mutatott összefüggést az emlődaganatok kialakulásával, így tumor markerként nem használhatók. Kimutatták viszont, hogy az MMP-9 magas kötőszöveti expressziója az agresszív daganatokban, illetve a daganatos sejtekben keletkező Ki-67 protein felhasználható. A MMP-9 aktivitás, ill. a Ki-67 koncentráció emelkedése segíthet azon az állatok kiválasztásában, melyeknek postoperatív terápiára van szükségük. Így az MMP-9 terápiai célpont lehet a kutyák emlődaganatának az utókezelésében. Ezeknek a faktoroknak a vizsgálata biztosabb eredményt ad a rutin prognosztikai értékelésnél, mint a normál szövettani és klinikai paraméterek vizsgálata, úgy, mint a tumor mérete, növekedési üteme, grade besorolása (Santos et al., 2013).

Laktát-dehidrogenáz (LDH)

Az LDH egy enzim, ami részt vesz a glükóz anyagcserében. A tumor szövetben a glükóz anyagcsere magasabb, így az LDH szint is emelkedhet. Ez az oka, hogy több tanulmányban is szerepel, mint tumor marker.

Az LDH egy négy alegységes fehérje. Kétféle alegysége létezik, az M és a H. Az M a muscle típusú, főleg a vázizmokra jellemző, a H a heart típusú, ez a szívizomra jellemző. A két alegységet két külön gén kódolja. A négy alegységes fehérjében az egyes alegységek úgy érintkeznek egymással, hogy egy képzeletbeli tetraéder csúcspontjaiban helyezkednek el. Mivel a kétféle alegység véletlenszerűen kombinálódhat egymással, végeredményképpen ötféle izoenzim lehetséges: M₄, M₃H, M₂H₂, MH₃ és H₄.

Az izoenzimek aránya a véletlenszerű kombinálódás miatt eltér a különböző szövetekben. Ennek oka az egyes alegységeket kódoló gének eltérő hatékonysága.

A kétféle alegység alakja és molekulatömege azonos (34.000 Da), emiatt a tetramer izoenzimek alakja és molekulatömege (136.000 Da) is azonos lesz, de töltésük nem egyezik, mert a két alegység töltése sem azonos. A H alegység negatív, az M alegység pozitív töltésű, így a tetramer töltése is a H és M alegységek számától függ (Albert et al., 1999.).

Egy tanulmányban vizsgálták az LDH, mint tumor markert a Ewing sarcomában. Megfigyelték, hogy az LDH szintnek prognosztikai jelentősége van a túlélési esélyek kiszámításában. A rutin röntgen és csontvizsgálatok nem elég érzékenyek a prognózis felállításához és a kiújulás meghatározásához. A vizsgálatok során a 230 U/l értéket állították be a normális maximumnak az előzetes vizsgálatok alapján. 56 beteget vizsgáltak. Ebből 32-nek volt normál tartományon belül az LDH érték a kezeléseket követően. A 32 betegből 10-nek kiújult a betegség, 22-nek nem. 15 betegnek megemelkedett LDH értéket mértek a kezeléseket követően. Közülük 5-nek újult ki a betegség, 10-nek nem. Ezek alapján az adatok alapján megállapították, hogy az Ewing sarcomás betegeknél nem használható az LDH, mint tumor marker a kiújulás előjelzésére. A szérum LDH szint mérése nem specifikus a tumor aktivitásra. Megfigyelték viszont, hogy a kiújult betegek LDH szintje magasabb, az idő-ekvivalens betegségmentes kontrolok LDH szintjénél. Ez mutatja, hogy a normál LDH szint összefüggésben van a betegség hiányával. Alacsony specificitása miatt, önmagában nem megbízható eredményt ad, ezért kiegészítő vizsgálatokkal (röntgen, biokémia, csont szkennelés) együtt alkalmazandó (Farley et al., 1987).

Az LDH-t vizsgálták már lymphomás betegeknél is. A vizsgálat során két csoportba osztották a grade III. és IV-es pácienseket az LDH értékeik alapján. A határ az 500 U/l volt. Megfigyelték, hogy a túlélési idő jelentősen rövidebb az 500 U/l-nél magasabb értéket mért betegeknél. A túlélés, a terápiára adott válasz és a visszaesés esélye összefüggésbe hozható a terápia előtti LDH

értékkel a Burkitt lymphomás és here daganatos betegeknél. Mindemellett észrevették, hogy a magasabb értékű csoportnál gyakoribb volt a csontvelő érintettsége. A gyorsan osztódó neoplasztikus sejtek nagyban függenek a glikolízisből keletkező energiától. Így nagy szükségük van LDH-ra, hogy NADH-ból NAD keletkezzen, ezzel támogatva a glikolízist. Az adatok alapján kimondható, hogy azok a daganatok, amik következtében magasabb LDH szint volt mérhető, sokkal agresszívebben viselkedtek, nem reagáltak olyan jól a terápiára és a kiújulás is hamarabb bekövetkezett. Ezen kívül bizonyított, hogy az LDH aktivitás korrelál a non-Hodgkin lymphoma túlélésével is(Schneider et al., 1980).

Alkalikus foszfatáz (ALP)

Az ALP egy, a testben majdnem minden szövetben előforduló enzim, amely a membránokhoz kötődik. Előfordulások szerint több izoenzimük ismert: ilyenek a csont, bél, máj, placenta- és vesetubulus eredetűek. A máj és csont eredetűn kívül a többi csak kis mennyiségben található meg a plazmában, így nem meghatározóak, felezési idejük is rövid.

Csont eredetűt az osteoblastok, míg a máj eredetűt a hepatocyták és az epekapillárisok hámsejtjei termelik.

Macskában a felezési idő 6 óra, míg kutyában 3 nap, így bennük jobban alkalmazható az enzimaktivitás mérése májfunkció vizsgálatára, mint macskákban.

Normálisnál többször magasabb érték mérhető vemhes állatokban és fiatalokban, mert a harmadik trimeszterben a placenta által termelt ALP növeli az értéket, míg a fiatal állatokban pedig 6-9 hónapos korban a fokozott osteoblast aktivitás miatt emelkedik az enzim szint(Albert et al., 1999).

P4

A P4 vagy sárgatest hormon a petefészekben termelődik a tüszőrepedést (ovuláció) követően. A hormon termeléséért a sárgatest (corpus luteum) a felelős, ami a luteinizáló hormon (LH) hatására alakul ki a tüszőből. A luteinizáló hormon egy glikoprotein, ami az agyban, az agyalapi mirigy, vagyis hipofízis elülső lebenyében termelődik. A tüszőérésére van hatással, amikor eléri az LH a csúcspontot, akkor következik be az ovuláció. A sejtek által felvett vagy szintetizált koleszterinből keletkezik pregnenolon, mely P4-ná konvertálódik. A sárgatest szövetében alig

expresszálódnak a P4 androgénekké alakításához szükséges enzimek, ezért a P4 nagymennyiségben kerülhet a vérbe a luteális fázisban.

A P4 alapvázát szteránváz alkotja. Termelődésére az endometrium szekréciós fázisba kerül. Hatására a méhnyálkahártya megvastagodik és tápanyagot halmoz fel, így kialakítva az ideális környezetet a megtermékenyített petesejtnek a beágyazódáshoz. Kuttyában a sárgatest hosszan fennmarad, így a P4 termelés is folyamatos, ezzel biztosítva a beágyazódott petesejtnek a megfelelő környezetet. A magasabb P4 koncentráció megakadályozza a méhkontrakciókat is, megelőzve ezzel a koraellést. Kuttyában a sárgatest működése nem vemhes állatban is a vemheshez hasonlóan hosszú ideig fennmarad. A P4 receptor (PR) magreceptor családba tartozik, de van sejt felszíni G-proteinhez kapcsolt receptora is. A mineralokortikoid receptornak antagonistája, nagy mennyiségben az androgén receptornak is. Hidroxilációt, majd glükuronsavval vagy szulfáttal történő konjugációt követően vizelettel, ill. bélsárral ürülnek a metabolitok, melyben fajonkénti különbségek figyelhetők meg (Albert et al., 1999.). A petefészek daganatok egy részében folyamatos a P4 termelés.

E2

A 17 β - ösztadiol (E2) egy 18 szénatomból álló fenol gyűrűs szteroid hormon. Ez a legfontosabb természetes E2, amit a petefészek tüszők, a petefészek a granulosa sejtjeiben és a hímekben a herékben is termelődik. A theca sejtekből származó androgénekből (tesztoszteronból illetve androsztendionból) keletkezik az aromatáz enzim segítségével. Az E2 a vérbe szekretálódik, ahol 98%-a sex hormon binding globulinhoz (SHBG), kis része pedig albuminhoz kötődve kering. Csak nagyon kis mennyiségben található meg a vérben szabadon, vagy a konjugált (4,5) formájában. Metabolizmusa során kevésbé aktív ösztroinná (E1) vagy ösztriollá (E3) alakítást követően szulfatálódik vagy glükuronsavval konjugálódik és így ürül a vizelettel vagy kisebb mértékben a bélsárral.

Az E2-ek, mint minden szteroid hormon lipofilek, átjutnak a sejtmembránon, így hatásukat intracellulárisan fejtik ki. A célszervek sejtjeibe jutva speciális receptorokhoz kötődnek, és a kialakult komplex befolyásolja a géntranszkripciót és így a fehérjeszintézist. Ilyen receptorok találhatóak a hüvelyben, húgycsőben, méhben, emlőben, tüszőkben, a hipotalamuszban és a hipofízisben, valamint kis mennyiségben, a májban és a bőrben.

Az E2 koncentráció a szervezetben hozzájárul a hüvely, a méhnyak mirigyei, az endometrium és a petevezeték nyálkahártyájának működéséhez, valamint segíti a myometrium növekedését.

A ciklus során a folliculus által termelt ösztadiol kiváltja a hipotalamusz-hipofízis reakciót, ez egy negatív feedback mechanizmus, mely szabályozza a szervezet E2 szintjét a gonadotrop hormonszintek befolyásolásával. Az LH koncentráció emelkedése kiváltja az ovulációt. A luteális fázisban a P4-al együtt segíti a petesejt beágyazódását.

Az E2 koncentráció emelkedés hatására egyes daganatos elváltozások is gyakrabban fordulnak elő, ilyenek az emlődaganatok és a méhnyálkahártya elváltozásai. Az E2 és a P4 a ciklus során különböző módon változik, így egymáshoz viszonyított értékeik is diagnosztikai jelentőséggel bírhatnak(Albert et al., 1999.).

Hímekben ugyan kis mennyiségben termelődik, de az E2 nagy mennyiségben feminizációs elváltozásokat okozhat, ez gyakran fordul elő a herék Sertoli sejtes daganata során.

Anyag és módszer

Vizsgált egyedek

Munkánk során az Állatorvostudományi Egyetem Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika, valamint a Budafoki Állatgyógyászati Központ betegeit vizsgáltuk. Az általunk vizsgált 42 állat közül 35 kutya és 7 macska volt.

Vérvétel

Az alvadásban nem gátolt vérmintát zárt rendszerben a v. saphena antebrachiiból vettük. A csöveket egyedileg jelölve centrifugáltuk. A szérumot egyedileg jelölt Eppendorf csövekben, a biokémiai vizsgálatok megkezdéséig -20 °C-on tároltuk.

ALP

Meghatározása szérum mintából történik spektrofotometriás eljárással. A szérumot közvetlenül a NormaChem 4-nitro-fenil-foszfátot tartalmazó reakcióelegyébe kell mérni. Az enzim hatására sárga elegy keletkezik, ami 405 nm-en mérhető. Az ALP aktivitás egyenesen arányos az időegységre eső színintenzitás növekedéssel.

LDH

Az LDH méréséhez a Dialab LDH (P) reagensét használtuk. A reagens két része az R1, piruvát és foszfát, valamint R2, NADH. A pH 9,6. A két reagenst egymással és a szérummal elegyítve a színintenzitás 405 nm-en mérhető.

P4

A P4 koncentrációt Quanticheck ELISA (ÁOTE, Budapest) kittel mértük, 0-40 ng/ml tartományban.

Az intra-assay coefficiens (CV) 5,14%; 2,39%; 3,86%, az inter-assay CV 3,79 %, szenzitivitás 0,2 ng/ml.

Keresztreakciók alapján a specificitás: progesteron 100%, 11 α -OH-progesteron-HS 95%, 11 α -OH progesteron 20%, 11 β -OH-progesteron 1,6%, 17 α -OH progesteron 3,6%, 5 α -pregnan-3,20-dion 15,5%, 5 β -pregnan-3,20-dion 100%, 5 β -pregnan 3alpha, 20 α -diol>0,01%, 4-pregnen-20 α -ol-3-one 0,03%, 4-pregnen-20 β -ol-3-one 0,06%, pregnenolon 1,8%, corticosteron 0,09%, deoxycorticosterone 0,16%, androstendion 0,02%, dehydroisoandrostendion 0,02%, estrone 0,01% testosterone 0,01%, equilin> 0,01%, d-equilenin 0,25%.

E2

Az E2 koncentráció mérésére DRG Estradiol ELISA (EIA-2693, DRG International Inc, USA)kitet használtunk, 9,7-2000 pg/ml tartományban.

Az intra-assay CV 6,81%, 2,71%, 4,13%, az inter-assay CV pedig 7,25%, 6,72%, 9,39%. A szenzitivitása 9,7pg/ml.

Keresztreakciók alapján a specificitás: Estradiol-17 β 100%, 11-Deoxycortisol 0%, Androstenedione 0, 21-Deoxycortisol 0%, Androsterone 0%, Dihydrotestosterone 0%, Corticosterone 0%, Dihydroepiandrosterone 0%, Cortisone 0%, 20-Dihydroprogesterone 0%, Epiandrosterone 0%, 11-Hydroxyprogesterone 0%, 16-Epiestriol 0%, 17 α -Hydroxyprogesterone 0%, Estradiol-3-sulfate 0%, 17 α -Pregnenolone 0%, Estradiol-3-glucoronide 0%, 17 α -Progesterone 0%, Estradiol-17 α 0%, Pregnanediol 0%, Estriol 0.05 Pregnanetriol 0%, Estriol-16-

glucoronide 0%,Pregnenolone 0%, Estrone 0.2%,Progesterone 0%, Estrone-3-sulfate 0%,Testosterone 0%, Dehydroepiandrosterone 0%

Szövetteni vizsgálat

A műtétek során eltávolított daganatokat formalinban fixáltuk. A szövetteni vizsgálat a MATRIX kórszövetteni laboratóriumban történt.

Eredmények

Macskák közül hat európai rövidszőrű, egy abesszin fajtájú volt. Kuttyák több fajta közül is kerültek a vizsgált csoportba. A fajta szerinti megoszlást, és az előfordulásuk gyakoriságát az **Táblázat 1.** mutatja be részletesen.

Fajta	Darabszám	Gyakoriság
Keverék	12	28,57%
Európai rövidszőrű	6	14,29%
Németjuhász	5	11,90%
Spániel	3	7,14%
Német dog	2	4,76%
Törpe spicc	1	2,38%
Sheltie	1	2,38%
Boxer	1	2,38%
Angol staffordshire terrier	1	2,38%
Golden retriever	1	2,38%
Tacskó	1	2,38%
Yorkshire terrier	1	2,38%
Fox terrier	1	2,38%
Kaukázusi juhász	1	2,38%
Basset hound	1	2,38%
Francia bulldog	1	2,38%
Berni pásztor	1	2,38%
Labrador	1	2,38%
Abesszín	1	2,38%

Táblázat 1. Vizsgált betegek fajta szerinti megoszlása

A macskák közül egykét és fél éves, a másik hat 10 év feletti és mindegyik nőstény macska volt. Átlag életkoruk 10 év 1 hónap. Ha csak az idős korosztály átlag életkorát vizsgáljuk, akkor 11 év 4 hónapot kapunk eredménynek.

A kutyák közül négy nem érte el a 3 éves kort sem, közülük hárman a kontroll csoportba tartoztak. A legfiatalabb beteg kutya 5 éves. 11 kutya esett a 3 és 8 éves kor közé (36,6%), így középkorúnak mondhatók. A 8 évesnél idősebb kutyák száma 19 volt (48,8%). A legidősebb kutya majdnem elérte a 13 éves kort. Egy kutyának nem volt megadva a kora az adatbázisban. A kor szerinti megoszlást a **Táblázat 2.** mutatja be.

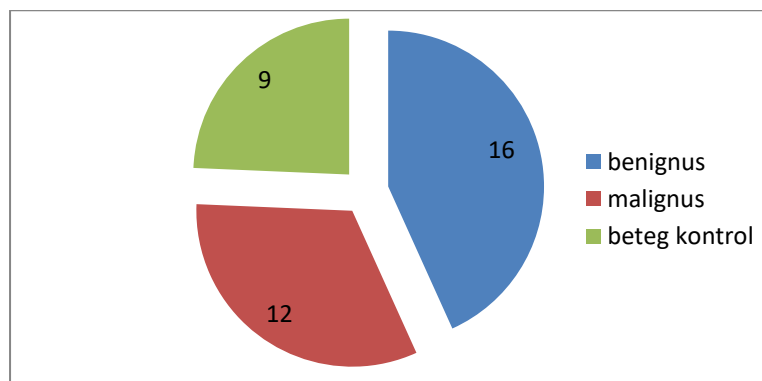
Életkor összes	8,5év
Életkor daganatos	9,2év
Életkor malignus	11,0év
Életkor benignus	9,1év
Életkor kontrol	5,8év

Táblázat 2 Kutyák életkor szerinti előfordulása

Súlyuk szerint osztályozva, 5 kg alatti kutya nem szerepelt a minták között, 5 és 10 kg közöttiből öt volt. A legkisebb kutya egy 5 és fél kilogrammos Yorkshire terrier volt. A minták nagy része nagytestű kutyából származott. Tíz kutya esett a 10 kg és 25 kg közötti tartományba, míg másik 14 kutya 25 kg-nál is nehezebb volt. A legnehezebb kutya egy 53 kg-os német dog volt. A többi kutya súlyáról nem szerepelt adat az adatbázisban. A kutyák közül 25 volt szuka és 16 kan. Az egyedek átlag súlya 23,7 kilogramm.

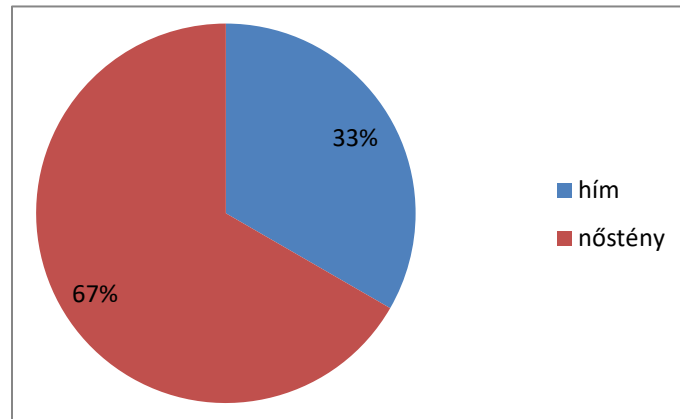
A szövettani vizsgálatok alapján 38,1% volt benignus és 28,6% pedig malignus daganat. A kontrol csoportban pyometra, hereatrófia, gyulladás is volt. A kontrol csoport 33,3%-a volt az összes egyednek. A szövettani eredmények szerinti megoszlást az **1. Ábra** mutatja be.

Ábra 1. Szövettani eredmény szerinti megoszlás.



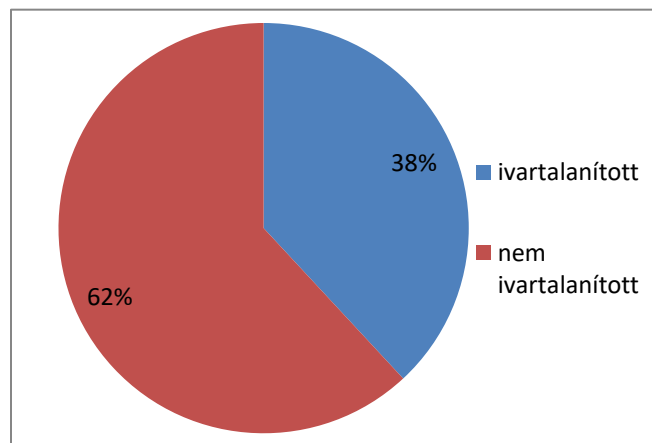
Tizennégy minta (33%) hím, és 28(67%) nőstény állatból származott(**2.Ábra**). Macskáknál mind a 7 egyed nőstény volt.

Ábra 2. Ivar szerinti megoszlás



A kutyák közül 26 (62%) ivaros volt, a többit (16) már előzőleg ivartalanították (**3. Ábra**).

Ábra 3. Ivartalanított és nem ivartalanított egyedek megoszlása.

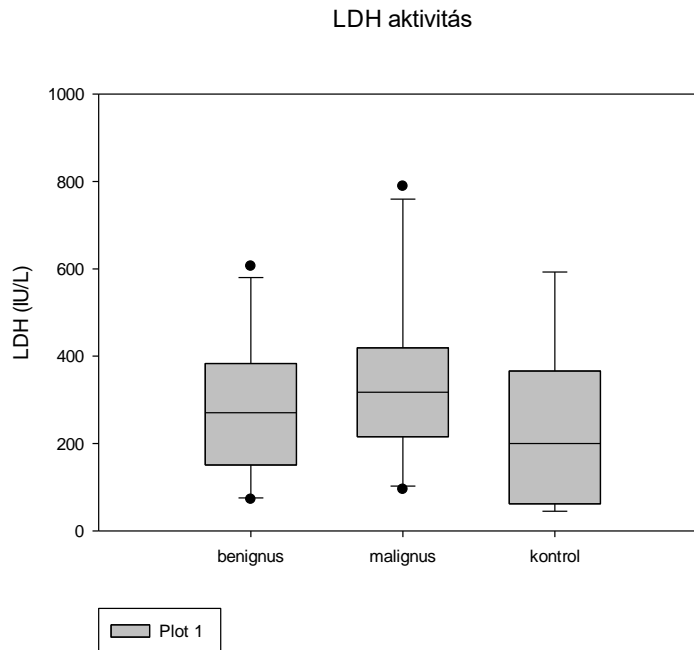


A daganatos macskák közül kettőt ivartalanítottak, kettőt nem. Az egészséges kontroll egyedek közül két ivartalanított volt.

LDH

A mért eredmények 45 és 789 U/I között változtak ($300,7 \pm 143,4$). LDH élettani határértéke kutyákban és macskákban 200 U/I. Tizenkét állatnak volt normál tartományon belüli értéke, és 30 állatnak haladta meg azt. A 12 normál érték közül egy volt kontrol egyedből, öt benignus és három malignus daganatos betegből származott.

Ábra 4. LDH aktivitás

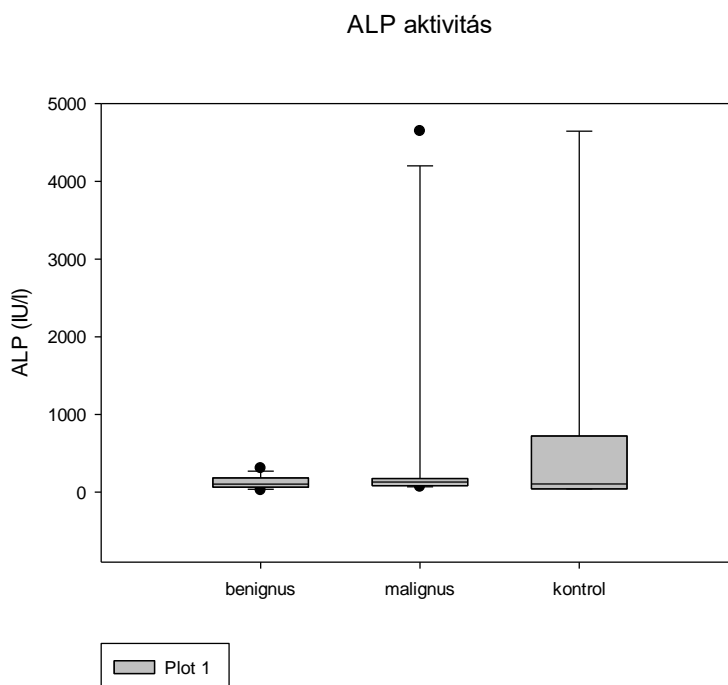


A boxplot diagramon látható (**4. Ábra**), hogy a leggyakrabban előforduló értékek benignus daganat esetén fedik a malignus daganat leggyakoribb értékeit. Ugyanez figyelhető meg, ha a kontrol csoportot is belevesszük a vizsgálatba.

ALP

Az ALP élettani határértéke 280 U/I. Az értékek 26 és 4646 U/I között változtak ($303,4 \pm 366,7$). Csak három haladta meg az élettani határértéket. Mind a három daganatos beteg volt. A kontrol egyedekben az ALP aktivitás határértéken belüli volt.

Ábra 5. ALP aktivitás

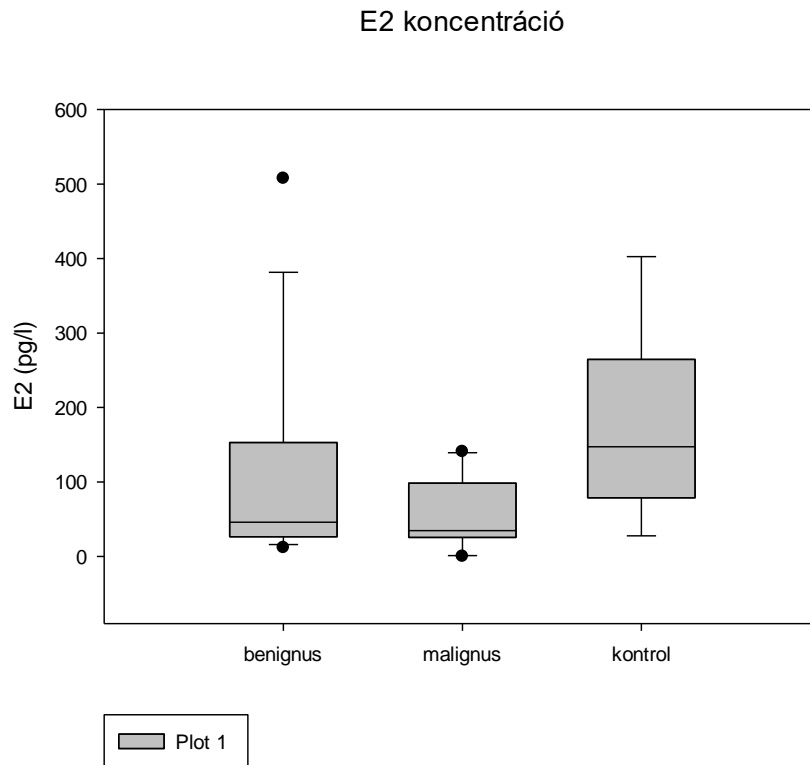


ALP esetén (**5. Ábra**) a benignus és malignus betegek értékei is keskeny sávon belül változtak, de mind a két tartomány fedik egymást. A beteg és kontrol csoportok értékeinek a halmaza is fedik egymást.

E2

A legalacsonyabb érték 0,01 pg/ml volt, a legmagasabb pedig 615,18 pg/ml ($113,8 \pm 95,9$), amit egy kontrol egyednél mértünk. A második legmagasabb érték 507,66 pg/ml volt, amit egy beteg állat eredményeként kaptunk.

Ábra 6. E2 koncentráció



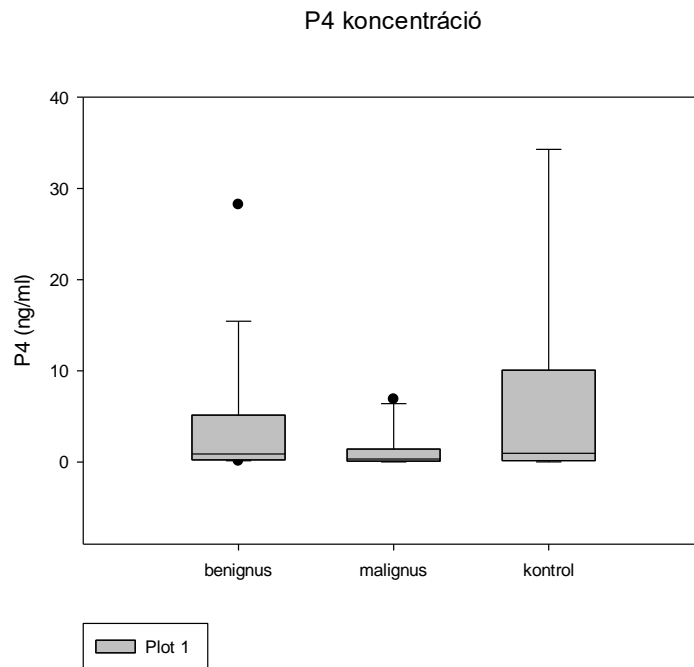
E2 esetében a benignus és malignus betegek E2 koncentrációjának halmaza fedi egymást (6. Ábra). A kontrol csoport halmaza átfedésben van a benignus csoport halmazával. A malignus csoport halmaza a boxplot diagram alapján kis mértékben fedi le a kontrol csoportot, de ha a kiugró értékeket és az átlagtól való eltérést is figyelembe vesszük, akkor ez a két halmaz is fedi egymást.

P4

Az értékek 0,01 ng/ml és 34,28 ng/ml közé estek ($3,9 \pm 4,9$). Azok közül, amelyek az értéke meghaladta a 3 ng/ml értéket, 40% volt benignus, 20% malignus, a maradék pedig kontrol

Két csoportra osztva az egyedeket ivartalanítási státuszuk alapján a következők voltak megfigyelhetők. Az ivartalanított csoport P4 átlaga 2,3 ng/ml, szórása 4,1. Az E2 szintek átlaga 131,5 pg/ml, míg szórása 178,1. A nem ivartalanított csoport P4 átlaga 4,8 ng/ml, míg szórása 8,9. E2 szintek átlaga 102,8 pg/ml és szórása 104,6.

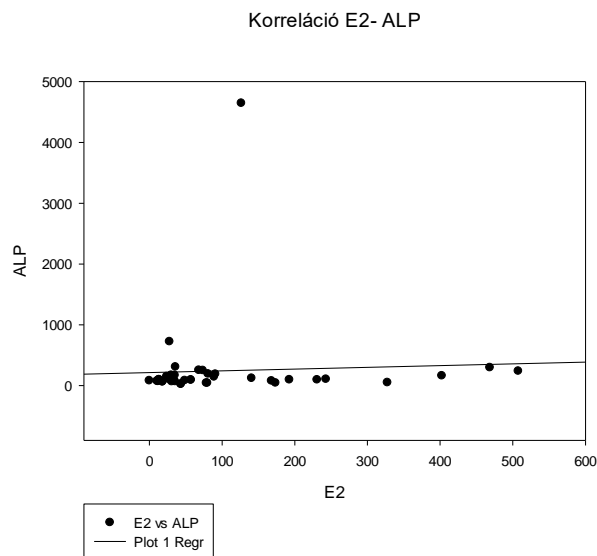
Ábra 7. P4 koncentráció



A P4 esetében (7. **Ábra**) a malignus és benignus daganatos betegek csoportjának halmaza is fedi egymást és a kontrol csoport halmazát is.

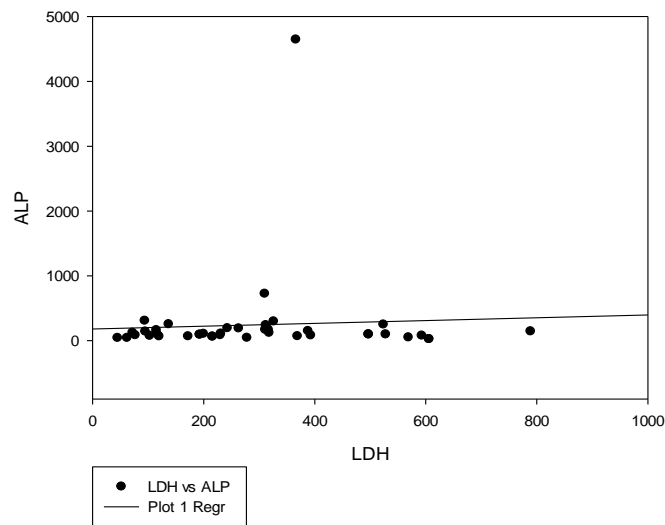
A mérések után statisztikai program segítségével elemeztük a kapott eredményeket. Ezek alapján megfigyelhető, hogy az E2 koncentráció és az ALP között erős korreláció van, ezt a 8. **Ábra** mutatja be. Ugyan ez figyelhető meg az ALP és a LDH között, ez a 9. **Ábrán** látható.

Ábra 8. ALP-E2



Ábra 9. LDH-ALP

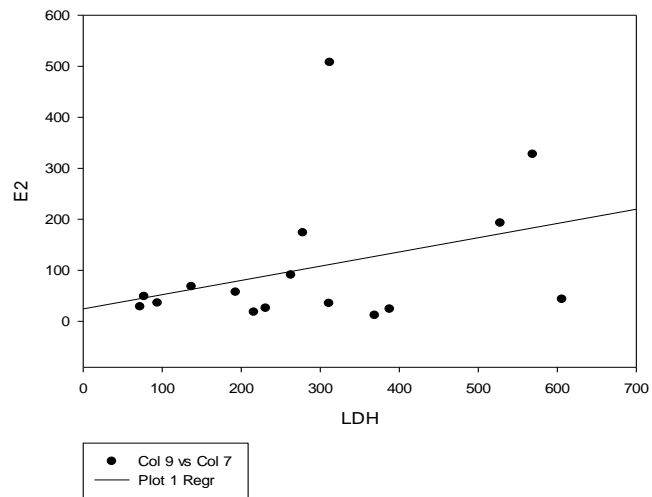
Korreláció LDH - ALP



A 10. Ábrán látható, hogy közepes korreláció van az E2 és LDH között benignus daganatok esetén.

Ábra 10 LDH-E2 benignus daganatok

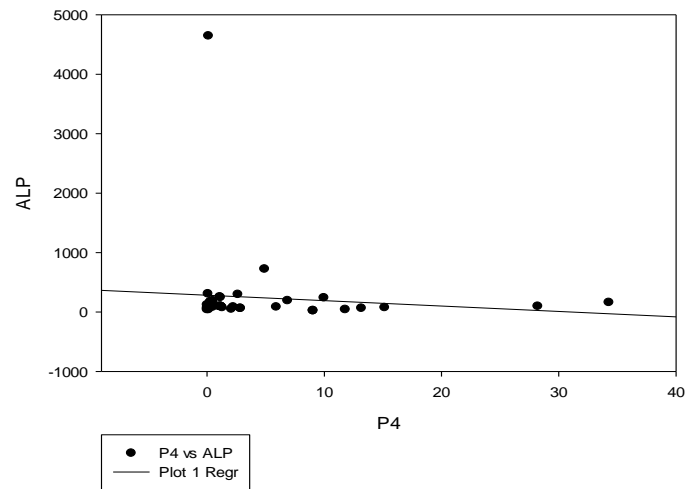
Korreláció LDH - E2 Benignus tumor



A P4 és ALP korrelációját a 11. Ábra mutatja be, ebben az esetben közepes korrelációt láthatunk. A többi esetben nem volt megfigyelhető számottevő korreláció egyik tumor markerrel sem.

Ábra 11. P4-ALP

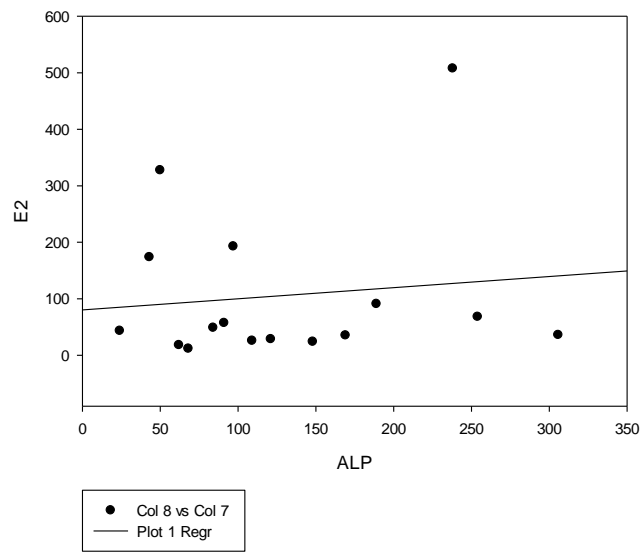
Korreláció P4 - ALP



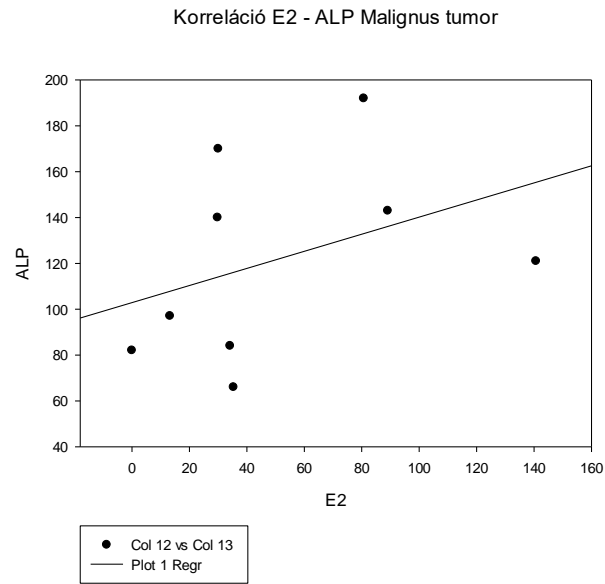
ALP és E2 korrelációját benignus daganatok esetén a **12. Ábra** mutatja be. Ebben az esetben erős a korreláció, megfigyelhető, hogy a trendvonalhoz közel esnek az értékek. ALP és E2 korrelációja malignus daganatok esetén (**13. Ábra**) ugyanszórt képet mutat, de az értékek itt is közel fekszenek a trendvonalhoz.

Ábra 12. ALP-E2 benignus tumor

Korreláció ALP - E2 Benignus tumor

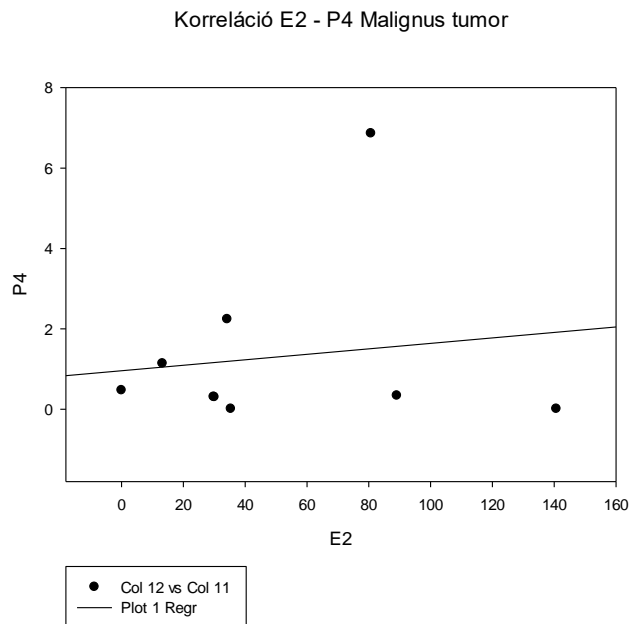


Ábra 13. ALP-E2 malignus tumor



Az E2 és P4 korrelációját vizsgálva látható, hogy nincs számottevő összefüggés a két paraméter között. Malignus tumor esetén (**14. Ábra**) az értékek távol fekszenek a trendvonalától, így kijelenthető, hogy nincs összefüggés közöttük.

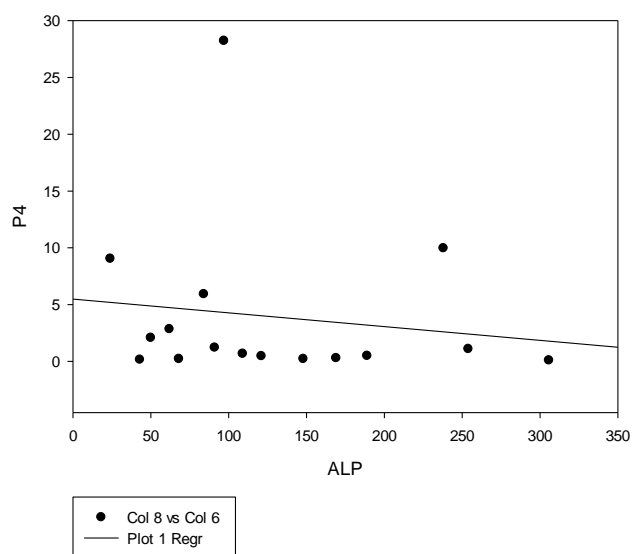
Ábra 14. E2-P4 malignus tumor



ALP és P4 korrelációját vizsgálva benignus (**15. Ábra**) és malignus (**16. Ábra**) daganatok esetén látható, hogy az értékek szórtnan helyezkednek el a grafikonon. Több kiugró érték is látható.

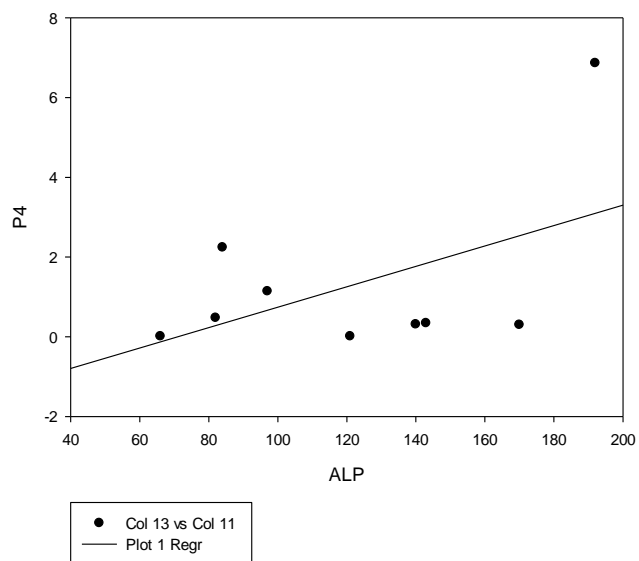
Ábra 15. ALP-P4 benignus tumor

Korreláció ALP - P4 Benignus tumor



Ábra 16. ALP-P4 malignus tumor

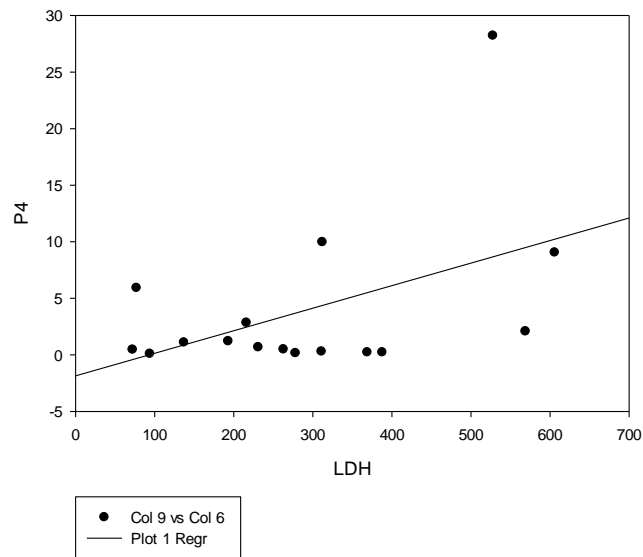
Korreláció ALP - P4 Malignus tumor



LDH és P4 korrelációja benignus (17. **Ábra**) és malignus (18. **Ábra**) elváltozások esetén szintén ez látható. Egyes értékek közelebb fekszenek a trendvonalhoz, viszont több érték elszórtan, a trendvonalától távolabb látható.

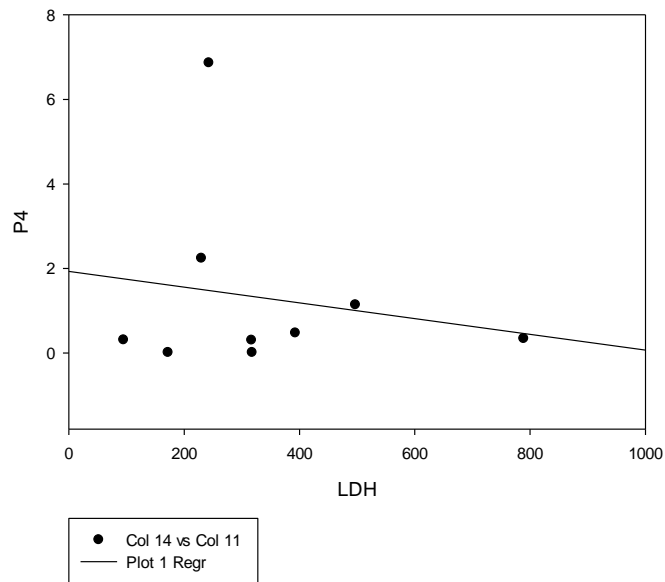
Ábra 17. LDH-P4 benignus tumor

Korreláció LDH - P4 Benignus tumor



Ábra 18. LDH-P4 malignus tumor

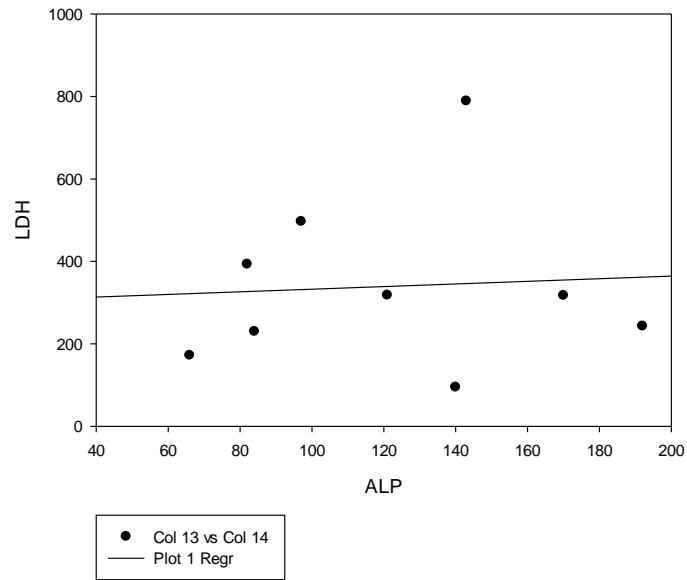
Korreláció LDH - P4 Malignus tumor



ALP és LDH esetében ugyanez látható. Malignus (19. **Ábra**) és benignus (20. **Ábra**) elváltozás esetén is szórta helyezkednek el az értékek.

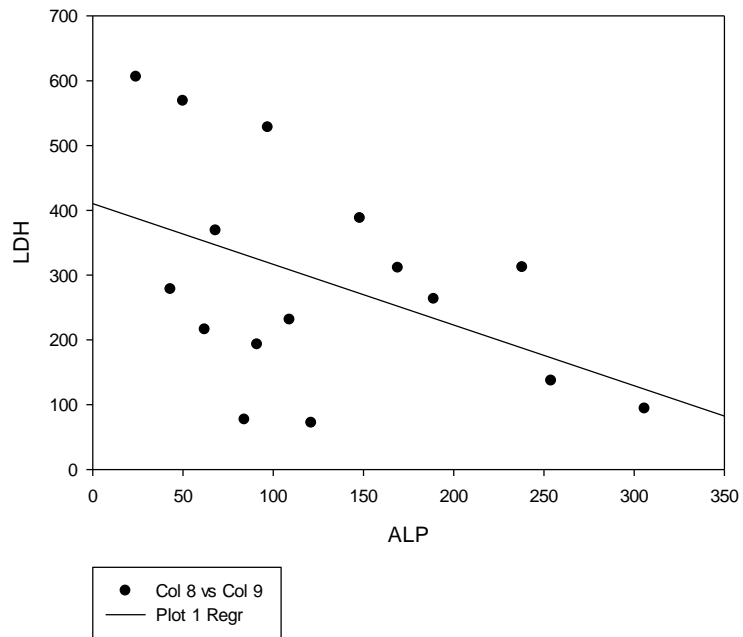
Ábra 19. ALP-LDH malignus tumor

Korreláció ALP - LDH Malignus tumor



Ábra 20. ALP-LDH benignus tumor

Korreláció ALP - LDH Benignus tumor



Megbeszélés

Az ivarok szerint vizsgálva a kutyákat megfigyelhető, hogy a nőstény állatoknál gyakrabban fordul elő daganatos elváltozás.

Ha csak a benignus (16) és malignus (9) elváltozások számát vizsgáljuk, akkor látható, hogy a benignus betegek száma majdnem kétszerese a malignus betegek számának.

P4

Az ivartalanított csoport P4 koncentrációja alacsonyabb volt, mint a nem ivartalanítottaké, és a szórás is kisebb volt. Ezt okozhatja az ivartalanítás során eltávolított hormontermelő szervek hiánya. Az ivaros csoportban a magasabb szintet és a nagyobb szórást az ivari ciklus okozhatta. Míg az ivartalanított állatokban az ivartalanítást követően az ivari hormonok szintje egy idő után stagnál, addig az ivaros állatoknál a ciklusuk szerint különböző eredményeket mérhetünk ezért a szórás is nagyobb lesz. Az ivaros álatok P4 szintje az 1 ng/ml, vagy még alacsonyabb szinttől egészen 30-50 ng/ml szintig is emelkedhet, így az átlag szint is magasabb lesz az ivartalanított állatok szintjéhez képest. (Edqvist et al., 1975)

Ivartalanított állatoknál a plazma P4 koncentráció és a szórás is alacsonyabb volt, mint az ivaros társaiknál, de nem találtunk összefüggést a daganatok jelenléte és a P4 szint között.

E2

Az E2 szint a normál ivari ciklus alatt 10-30 pg/ml értékek között mozog (Edqvist et al., 1975). Ehhez képest a vizsgálat során az egyedek nagy részénél ennél sokszor magasabb értékeket mértünk. Ezek a megemelkedett plazma E2 koncentrációk összefüggésbe hozhatók a daganatok jelenlétével. Egyes daganat típusok E2-t termelnek, így valószínűsíthető, hogy ezeknél az egyedeknél egy ilyen típusú elváltozás állt a háttérben.

ALP

Az ALP esetében volt három kiugróan magas eredmény (723, 3058, 4646 U/I). Ezek az okai, hogy az átlagos értékeket és a szórást is megemelték. Statisztikailag is nehézségeket okoztak, mert rontották, eltorzították az eredményeket. Ha ezeket az eredményeket nem vesszük figyelembe, így megfigyelhető, hogy az értékek többsége nem haladja meg a határértéket. Ebből következtethetünk arra, hogy az ALP-nak önmagában nincs jelentősége tumor markerként. Az

ALP kiemelkedően magas értékei miatt a korrelációs együttható alapján nem lehetne kimondani, hogy erős a korreláció a paraméterek között, mert a kiugró értékek torzítják a statisztikát. Mivel aktivitás emelkedést vártunk, de normál tartományon belüli értékeket kaptunk és más tumor markerekkel erős korrelációt mutatott, így a továbbiakban használható lehet tumor markerként egyéb markerekkel együtt használva.

LDH

LDH esetében hasonló arányban volt megemelkedett és normál érték. A normál tartományon belüli értékek nagy része benignus daganatos egyedtől származik, csak elenyésző hányada volt malignus beteg egyedtől. A megemelkedett érték alapján használható lehet tumor markerként, de figyelembe kell venni, hogy emelkedett értéket nagyobb hányadban a malignus daganatok okoztak, benignus daganatok nem emelték meg az értékeket az élettani határérték fölé.

A boxplot diagramok elemzésével kiderül, hogy önmagában nem használható egyik marker sem, mert átfedés van a halmazok között. Ezek alapján nem mutatható ki egy betegség csupán egy paraméter koncentrációjának emelkedéséből. Az egyes markereknél jól látható, hogy a benignus és malignus csoportok halmaza fedik egymást. Ezek szerint a markerek koncentráció emelkedéséből nem lehet megállapítani egy daganatos elváltozás agresszivitásának fokát. Ugyanez látható a beteg és kontrol egyedek értékeinek összehasonlításakor. Az egyes halmazok részben vagy teljesen fedik egymást, így egy-egy paraméter önálló vizsgálatával nem lehet biztosan kijelenteni, hogy daganatos elváltozás található az egyedben vagy sem.

A korreláció analízis során viszont kiderült, hogy több paramétert együtt vizsgálva felhasználhatók daganatos betegség előjelzésére. Főként az E2 és ALP mutatott erős korrelációt a vizsgálatok során. Ezen kívül az ALP és LDH együttes vizsgálata lehet használható daganatok előjelzésében.

Összegzés

Már több cikk is foglalkozott hasonló témával (Campos et al., 2012; Farley et al., 1987; Hellmén et al., 1993; Marchesi et al., 2007; Schneider et al., 1980; Sturgeon et al., 2008; Zaidan Dagli, 2008). Az eredmények alapján látható, hogy mindeddig nem sikerült találni olyan markert, amely biztosan jelezné a daganatok meglétét még a makroszkópos vizsgálat előtt. Éppen ezért

foglalkoztunk a négy paraméter vizsgálatával, remélve, hogy található összefüggés a daganatok és a markerek között.

A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy önmagában egyik vizsgált marker sem megfelelő a makroszkóposan nem látható daganatok előjelzésére, azonban bebizonyosodott, hogy több marker együttes használata lehetővé teszi a prognózis felállítását.

Megfelelő kombinációnak bizonyult az ALP és E2 együttes használata. Jól látható az erős korreláció az ábrákon. A vizsgált paraméterek alapján kijelenthető, hogy az ALP és E2 együttes vizsgálata során, az emelkedett értékek valószínűsítik a daganatos elváltozás meglétét.

További célkitűzés

A már kezelt betegek nyomon követése a vizsgált paraméterek felhasználásával választ adna arra a kérdésre, vajon az áttétképződés, ill. a recidívák kialakulásának korai megállapításában, valamint a daganat mentes állapot elkülönítésében a vizsgált markerek milyen diagnosztikai jelentőséggel bírnak.

A jövőben érdemes lehet, egy ennél is specifikusabb vizsgálat, melynek során bizonyos daganatos elváltozásokat követünk nyomon szövettani vizsgálatokkal, és csak az azonos szövettani eredménnyel rendelkező betegeket vizsgálnánk. Így egy adott daganattípusra specifikus tumor markert lehetne keresni, ami megkönnyíthetné a diagnózist.

Összefoglalás

A kutyák és macskák átlag életkora az utóbbi időben megemelkedett köszönhetően a fejlett állatorvosi ellátásnak, gyógyszereknek. Ennek hátránya, hogy az urbánus bántalmak is gyakrabban jelentkeznek ezeknél az állatoknál. Az elterjedt ivartalanítási programok ellenére, még mindig gyakoriak az ivarszervi daganatok. Ezek legtöbbször csak későn, nagy terimenövekéssel járó folyamatok során lesznek diagnosztizálva. Mindaddig nem találtak olyan módszert, mellyel az ivarszervi daganatok még a makroszkópos elváltozások megjelenése előtt, a rutin klinikai vizsgálatokba beépítve kimutatná a daganatos transzformációk jelenlétét.

Dolgozatom során olyan tumor markereket kerestünk, amelyek mint prognosztikai faktorok megbízhatóan jelzik a kutyák és macskák ivarszervi daganatait.

Munkánk során 42 állatot vizsgáltunk, 35 kutyát és 7 macskát. Vérvétel során P4, E2, ALP és LDH koncentrációt mértünk. A daganatos betegekből szövettani mintagyűjtés is történt. Ezt követően kórszövettani laboratóriumban szövettani vizsgálatot végeztek a mintákon. Az egyedeket három csoportba osztottuk (benignus, malignus és kontrol) és így vizsgáltuk a kapott eredményeket.

A kapott eredményeket statisztikai programmal elemeztük és kiértékeljük. Az eredmények alapján kiderült, hogy korábbi tanulmányokkal ellentétben, önálló markerek nem használhatóak a prognózis felállítására. A kapott értékek halmazai fedik egymást grafikonos ábrázolás esetén, így kijelenthető, hogy a kontrol és beteg csoportok értékei hasonlóak, így önállóan egyik marker sem használható. Korreláció analízis során látható, hogy több marker együttes használata viszont megfelelő biztonsággal használható a kutyák és macskák ivarszervi daganatainak korai megállapítására.

Leginkább az E2 és ALP együttes használata, valamint az ALP és LDH kombináció használható biztonságosan. Ezen paraméterek együttes vizsgálata során erős korrelációt figyeltünk meg, ami alapján kijelenthető, hogy ezek a markerek használhatók prognosztikai faktorként a klinikumban.

Summary

The average age of dogs and cats recently increased thanks to the advanced animal medical supply, and medicines. The urban disorders often occur in these animals. Despite the frequently used spraying programs, genital tumors are still common. Often, they will usually be diagnosed only during the late-stage, when large-scale processes appear. So far, there has been no method found which can be incorporated into routine clinical trials to allow to detect the presence of genital tumors, before macroscopic lesions appear.

In my thesis, there are tumor markers we were looking for, which can be used as prognostic factors of genital tumors of the dogs and cats.

There were 42 animals, 35 dogs and 7 cats tested. The blood samples were collected and, P4, E2 concentrations, ALP and LDH activity were measured. Histological sample collection from patients with tumor also occurred. It followed a histological examination of the samples in a histopathological laboratory. The individuals were divided into three groups (malignant, benign and control) and the results were examined.

The results were analysed and evaluated by a statistical program (SPSS). The results showed that, unlike earlier studies, independent markers cannot be used to set the prognosis. The sets of values are overlapping each other with graphical representation, so it can be stated that the values of control and patient groups are similar, so no marker can be used independently. Correlation analysis shows that the combined use of multiple markers can be used with adequate safety for the early diagnosis of the genital tumors of dogs and cats.

Most likely the combined use of E2 and ALP, as well the ALP and LDH in combination can be used safely. These parameters combined, a strong correlation we have observed, based on it, it can be stated that these markers are to be used as a prognostic factor in the clinical practice.

Irodalomjegyzék

- Albert M., Fodor L., Gaál T., Kiss G., Kótai I., Kulcsár M., Magdus M., Nagy P., Ribiczey P., Rusvai M., Soós P., Sréter T., Szász F., Szilágyi A., Vajdovich P., 1999: Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika. Budapest, Sík Kiadó. p. 160-5; 244-7; 273-80
- Bronson, R.T., 1982:Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *American Journal of Veterinary Research*, 43. 11. p. 2057–9.
- Campos, L.C., Lavalle, G.E., Estrela-Lima, A., Melgaço de Faria, J.C., Guimarães, J.E., Dutra, Á.P., Ferreira, E., de Sousa, L.P., Rabelo, É.M.L., Vieira da Costa, A.F.D., Cassali, G.D., 2012: CA15.3, CEA and LDH in dogs with malignant mammary tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*., 26. 6. p. 1383–8.
- Dobson, J.M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., Wood, J.L.N., 2002: Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *Journal Small Animal Practice*, 43. 6. p. 240–6.
- Dorn, C.R., Taylor, D.O.N., Schneider, R., Hibbard, H.H., Klauber, M.R., 1968:Survey of animalneoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *Journal of National Cancer Institute*, 40. 2. p. 307–18.
- Edqvist, L.-E., Johansson, E.D.B., Kasström, H., Olsson, S.-E., Richkind, M., 1975:Bloodplasmalevels of progesterone and oestradiol in the dog during the oestrous cycle and pregnancy. *Acta Endocrinologica*, (Copenh.) 78. p. 554–64.
- Farley, F., H. Healey, J., Caparros-Sison, B., Godbold, J., M. Lane, J., Glasser, D., 1987:Lactasedehydrogenase as a tumor marker for recurrent disease in Ewing's sarcoma. *Cancer*, 59. 7. p. 1245–8.
- Hellmén, E., Bergström, R., Holmberg, L., Spångberg, I.-B., Hansson, K., Lindgren, A., 1993:Prognosticfactors in canine mammary tumors: A multivariate study of 202 consecutive cases. *Veterinary Pathology*, 30. 1. p. 20–7.
- Kawakami, E., Tsutsui, T., Yamada, Y., Yamauchi, M., 1984:Cryptorchidism in the Dog: Occurrence of cryptorchidism and semen quality in the cryptorchid dog. *Japanese Journal Veterinary Science*, 46. 3. p. 303–8.
- Marchesi, M.C., Conti, M.B., Pieramati, C., Mangili, V., Fruganti, G., 2007a:Assessment and behavior of alphafetoprotein (AFP), antigen cancer 15/3 (CA 15/3), carcinembryonal antigen (CEA) in clinical oncology of the dog: Preliminary study. *Veterinary Research. Communication*, 31. 1. p. 301–4.
- Matos, A.J.F., Baptista, C.S., Gärtner, M.F., Rutteman, G.R., 2012:Prognosticstudies of canine and feline mammary tumours: The need for standardized procedures. *The Veterinary Journal*. 193. 1. p. 24–31.
- Merlo, D. f., Rossi, L., Pellegrino, C., Ceppi, M., Cardellino, U., Capurro, C., Ratto, A., Sambucco, P. l., Sestito, V., Tanara, G., Bocchini, V., 2008:Cancerincidence in pet dogs: Findings of the animal tumor registry of Genoa, Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22. 4. p. 976–84.

- Meuten, D.J.(Ed.), 2017. Tumors in domestic animals. 5th ed. John Wiley & Sons., Inc., Hoboken, NJ, USA. p. 689-701; 706-14
- Patnaik, A.K., Greenlee, P.G., 1987: Canine ovarianneoplasms: A clinicopathologic study of 71 cases, including histology of 12 granulosa cell tumors. *Veterinary Pathology*, 24. 6.p. 509–14.
- Quartuccio, M., Marino, G., Garufi, G., Cristarella, S., Zanghì, A., 2012: Sertolicell tumors associated with feminizing syndrome and spermatic cord torsion in two cryptorchid dogs. *Journal of Veterinary Science*. 13. 2. p. 207–9.
- Santos, A.A., Lopes, C.C., Ribeiro, J.R., Martins, L.R., Santos, J.C., Amorim, I.F., Gärtner, F., Matos, A.J., 2013: Identification of prognostic factors in canine mammary malignant tumours: a multivariable survival study. *BMC Veterinary Research*, 9. 1. doi.org/10.1186/1746-6148-9-1
- Schneider, R.J., Seibert, K., Passe, S., Little, C., Gee, T., Lee, B.J., Miké, V., Young, C.W., 1980: Prognostic significance of serum lactate dehydrogenase in malignant lymphoma. *Cancer*, 46. 1. p. 139–43.
- Sleeckx, N., de Rooster, H., Veldhuis Kroeze, E., Van Ginneken, C., Van Brantegem, L., 2011: Canine mammary tumours, an overview. *Reproduction in Domestic Animals*, 46. 6. p. 1112–31.
- Sorenmo, K., 2003: Canine mammary gland tumors. *Veterinary. Clinic Small Animal Practice*, 33. 3. p. 573–96.
- Sturgeon, C.M., Duffy, M.J., Stenman, U.-H., Lilja, H., Brünner, N., Chan, D.W., Babaian, R., Bast, R.C., Dowell, B., Esteva, F.J., Haglund, C., Harbeck, N., Hayes, D.F., Holten-Andersen, M., Klee, G.G., Lamerz, R., Looijenga, L.H., Molina, R., Nielsen, H.J., Rittenhouse, H., Semjonow, A., Shih, I.-M., Sibley, P., Sölétormos, G., Stephan, C., Sokoll, L., Hoffman, B.R., Diamandis, E.P., National Academy of Clinical Biochemistry, 2008: National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clinical. Chemistry*, 54. 12.p. 11-79.
- Vörös A., 2014: A Ki-67 Proliferációs Index Meghatározásának Különböző Vonatkozásai Emlőrákban. PhD értekezés. Szeged, Szegedi Tudományegyetem Patológiai Intézet. p. 1-20.
- Zaidan Dagli, M.L., 2008: The search for suitable prognostic markers for canine mammary tumors: A promising outlook. *The Veterinary Journal: 1997*, 177. 1. p. 3–5.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki elsősorban Dr. Thuróczy Juliannának, témavezetőmnek, hogy mérhetetlen türelemmel és segítőkészséggel irányult felém minden helyzetben és köszönöm a szakdolgozatom elkészítésében nyújtott szakmai segítségét.

Köszönöm a Budafoki Állatgyógyászati Központ munkatársainak a segítségét, és a türelmüket, hogy az útközben lehettem és a laborban tevékenykedhettem.

Köszönetet szeretnék mondani dr. Perge Edinának a szövettani vizsgálatok elvégzéséért, Mészáros Ágnesnek a szövettani metszetek elkészítéséért. Köszönöm Wölfling Annának a progeszteron és ösztrogén mérésekben nyújtott segítségét.

Köszönöm családom állandó támogatását és türelmüket.

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: VEREGETESI-FLECK BEUCE
Elérhetőség (e-mail cím): beuce.veretesi@szemk.egm
A feltöltendő mű címe: TÜKÖR MÄRKEREK MIWT PRODUKCIÓI FAKTOROK
SSEDEPE KUTVAKÉS MÄCSÄK NEM SZERU MÄGÄNÄTÄNK KÖRÄI MEGÄLLÄPITÄSÄKÄD
A mű megjelenési adatai: 2017
Az átadott fájlok száma: 1db

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül), a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatja a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyag rész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel)**:

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2017. év11.....hó 23.....nap

aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

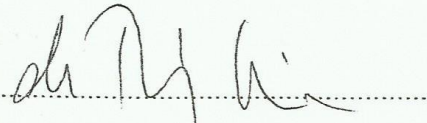
- a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;
- a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;
- az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;
- a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,
- a nyílt hozzáférés támogatása.

Alulírott S. Thunday Juliane..... igazolom, hogy

Keszentkeri-Fleck Beuce..... (a hallgató neve)

Tumor markerrel mintaprospertikai feltételű szervek
híjakkal és meztelen nemi szervek állapotának leírás megállapításában
című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2017. nov. 22.....



a témavezető neve és aláírása

fülcselki és Szapodi Balázs
Tanár a Klinikán

tanszék