

Állatorvostudományi Egyetem

Szülészeti Tanszék és Haszonállat-gyógyászati Klinika



Az Anti-Müllerian hormon szérumszint meghatározás szerepe a gonadális elváltozások diagnosztikájában és az ivari státusz meghatározása során kutyában

Készítette: Soós Eszter Kincső

Témavezető: Dr. Müller Linda

ÁTE, Szülészeti Tanszék és Haszonállat-gyógyászati Klinika

PhD, egyetemi adjunktus, klinikavezető

Külső konzulens: Dr. Balogh Orsolya

PhD, DACT, associate professor

Department of Small Animal Clinical Sciences, Virginia-Maryland
College of Veterinary Medicine, USA

Budapest, 2023

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke.....	3
2. Bevezetés.....	4
3. Irodalmi áttekintés.....	5
3.1 Az AMH hormon fogalma és szerepe.....	5
3.2 Az AMH mérésének lehetőségei kutyában.....	6
3.3 Az AMH termelődésének befolyásoló tényezői kutyában.....	7
3.4 A hormonszint alakulása egészséges szukában.....	7
3.5 Betegségek diagnózisa szukában.....	9
3.6 Hormonszint alakulása egészséges kanokban.....	11
3.7 Betegségek diagnózisa kanokban.....	11
3.8 Ivari státusz meghatározása kutyában.....	13
4. Célkitűzések.....	15
5. Anyag és módszer.....	16
5.1 Az irodalom áttekintése.....	16
5.2 A műtétek és a mintagyűjtés.....	16
5.3 AMH-szint meghatározás.....	18
5.4 Statisztikai analízis.....	18
6. Eredmények.....	19
6.1 Gonádok.....	19
6.2 AMH szérumszint.....	21
7. Megbeszélés.....	27
8. Összefoglalás.....	31
9. Summary.....	33
10. Köszönetnyilvánítás.....	34
11. Irodalomjegyzék.....	35

1. Rövidítések jegyzéke

AMH Anti-Müllerian hormon

CLIA chemiluminescence immunoassay (immun-kemilumineszcens próba)

CV variációs koefficiens

DSD szexuális fejlődés zavara

ELISA enzyme-linked immunosorbent assay (enzimhez kötött immunszorbiens próba)

FSH follikulus stimuláló hormon

GCT granulosa sejtes tumor

LH luteinizáló hormon

MIS Müllerian inhibiting substance

MIF Müllerian inhibiting factor

OE ovariektómia

OHE ovariohisterektómia

ORS ovarian remnant szindróma (petefészek maradvány szindróma)

SCT Sertoli-sejtes tumor

TDK Tudományos Diákköri Konferencia

TGF- β transforming growth factor (transzformáló növekedési faktor béta)

UH ultrahang

2. Bevezetés

Az ivari differenciáció fontos faktoraként ismert anti-Müllerian hormon (AMH), elsősorban az asszisztált reprodukció területén széles körben elterjedt diagnosztikai markerré vált az utóbbi évtizedekben. A kisállatpraxisban is megfigyelhető növekvő jelentőségét magyarázza, hogy a posztnatális időszakban is megjelenik a vérben. Az AMH vérszintjének meghatározása alkalmazható az intakt és ivartalanított egyedek elkülönítésére, valamint a rejtettheréjűség, az ovarian remnant szindróma (ORS), petefészek elváltozások, Sertoli-, illetve granulosa sejtes daganatok diagnosztikájában, emellett felmerül a fertilitási markerként történő alkalmazásának lehetősége. Szérumszintjének meghatározása tehát jelentős diagnosztikai szereppel bír a kisállatpraxisban, ugyanakkor a mindennapi gyakorlatban történő alkalmazása további vizsgálatokat igényel mivel a kutya AMH-szint alakulásáról született eltérő elrendezésű vizsgálatokon alapuló publikációk a mérési módszerek különbözősége (az antitest keresztreakciója, a módszer érzékenysége) miatt is némileg eltérő eredményeket közöltek.

Célul tűztük ki, hogy meghatározzuk az egészséges, valamint ivarszervi elváltozással diagnosztizált állatokat jellemző, a klinikus kollégák számára is elérhetővé vált mérési módszerrel meghatározható AMH szérumszinteket, valamint az ivartalanítás után várható hormonszint csökkenés ütemét az említett betegcsoportokban.

Munkám során az Állatorvostudományi Egyetem Szülészeti klinikájára érkező egészséges, ivartalanítás céljából, valamint ivarszervi rendellenesség miatt műtétre kerülő ivarérett nőtény és hím kutyákból gyűjtöttem vérmintákat. Közvetlenül a műtéti beavatkozás előtt (0. nap), majd az azt követő 3., 7., 14., és 28. napokon levett vérmintákból egy kutyára vizsgálatunkkal egy időben validált immun-kemilumineszcens módszerrel határoztuk meg a szérumszinteket, majd elvégeztük a statisztikai értékelést. Reményeim szerint a kutatás alapján meghatározott határértékek és a levonható következtetések biztosítják majd a klinikusok számára is a könnyen elérhető, gazdaságos módszer alkalmazásával nyerhető eredmények pontos értékelését, például intakt és ivartalanított állatok elkülönítése, vagy ORS diagnosztika során.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 Az AMH hormon fogalma és szerepe

Az anti-Müllerian hormon (avagy Müllerian inhibiting substance (MIS), Müllerian inhibiting factor (MIF)) egy glikoprotein, amely a TGF β (transforming growth factor beta) szupercsaládba tartozik [1]. Más fajokhoz hasonlóan, kutya embriókban is elsődleges szerepet játszik a hím irányú ivari differenciációban, ezen belül is a női nemi szervek elődjeként mindkét nemben megjelenő Müller-cső regressziójában. Termeléséért a here differenciációja során megjelenő Sertoli-sejtek felelősek a vemhesség 36. napjától [2]. Kanokban az AMH termelés a születés után is fennmarad és kimutatható a vérből is. A hormontermelés kizárólagos forrásai pedig továbbra is a Sertoli sejtek [3, 4]. A marker alkalmazásában rejlő diagnosztikai lehetőségeket tovább bővíti, hogy a hormon szukákban is megjelenik. A Müller-cső eredetű szervek (a petefészek külső epithel rétege, a petevezető, a méh, a méhnyak és a vagina cranialis szakasza) teljes kifejlődését követően, a petefészkek is képesek a hormon termelésére, így vérszintje a prepubertális időszakban, majd a pubertást követően is folyamatosan mérhető [3, 5, 6]. Szukában, másfajokhoz hasonlóan a petefészek elsődleges, másodlagos és korai antrális tüszőinek granulosa sejtjei szolgálnak az AMH egyedüli forrásaként [7]. A petefészkekben a hormon gátolja az aromatáz enzim aktivitását, ezáltal az androgén és ösztrogén hormonok termelését is [8]. Ezenkívül szerepe, hogy a primordiális tüszők növekedését és a follikulus stimuláló hormon (FSH) által serkentett tüszőnövekedést gátolja, hiszen csökkenti a tüszők FSH iránti érzékenységet, így elnyomja a kisebb tüszők növekedését [9–12]. Humán vonalon mindkét nemben számos indikációval használják az AMH szérum szintet, mint diagnosztikai markert. Például nők esetében a hormon segítségével detektálni tudják a petefészkekben a kis antrális tüszők számát, így a petefészkek kimerülését [13]. Azt azonban még kutatják, hogy lehet-e a hormon a női menopauza előre jelző eszköze, hiszen különböző, és ellentmondásos eredmények születtek a témában [13]. Ezenkívül úgy tűnik, hogy nők esetében az asszisztált reprodukciós eljárásokat segítve, az AMH sikeresen előre jelezheti a gonadotropin hormon adagolására adott választ [13]. A hormont férfiak esetében használják a termékenység, illetve a meddőség megállapítására. 2005-ben egy tanulmány azt találta, hogy termékeny férfiakban az AMH vérszintje szignifikánsan magasabb volt [14, 15]. Ezenkívül fiú gyermekek esetében jelzi, hogy a herék nem szálltak le [16].

3.2 Az AMH mérésének lehetőségei kutyában

Kutya esetében először 2011-ben számoltak be az AMH vérszintjének sikeres méréséről, melyhez humán AMH ellen termeltetett ellenanyaggal működő, enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálatot (ELISA) használtak [17]. Utóbbi rendszer működése az antigének és antitestek interakcióján alapszik [18]. Azóta az AMH szérumszint meghatározását egyre elterjedtebben használják mind hím, mind nőstény kutyákban az ivarszervek jelenlétének igazolására [6, 17, 19–25]. Az állatorvosi gyakorlatban, világviszonylatban azóta számos tesztrendszer elérhetővé vált, ami ugyanakkor nehezítheti a publikált eredmények összehasonlíthatóságát, hiszen azok jelentősen különbözhetnek az alkalmazott mérési technika függvényében [3]. A humán specifikus mellett megjelent kutya specifikus, AMH-t felismerni képes ellenanyagok használata, valamint a detekciós rendszer érzékenysége (pl., ELISA, vagy immun-kemilumineszcens próba (CLIA)) különbözősége is jelentősen befolyásolhatja az eredmények összehasonlíthatóságát. A kutya specifikus ellenanyagot alkalmazó tesztek (pl. Ansh Labs® és EastBioPharm® cMIS/AMH ELISA) a jobb kötődés miatt magasabb hormon szintet mérnek, mint a humán specifikus ellenanyagot tartalmazó tesztek (pl. Beckman Coulter® AMH Gen II humán ELISA teszt), hiszen itt gyengébb a keresztreakció [3, 6, 17, 19–22, 26–28]. A kutya specifikus AMH ELISA tesztet egerekből nyert monoklonális antitesttel állították elő [19]. Míg az AMH Gen II ELISA egy pár humán specifikus monoklonális antitestet használ, amik az AMH adott régiójának epitopjára irányulnak [18, 29]. Egy publikáció szerint ugyanakkor, a humán AMH Gen II teszt egyértelmű különbséget mutatott az ivartalan és ivaros állatok AMH vérszintjei között, ellentétben a kutya specifikus ELISA tesztrel mért hormonkoncentrációkkal, ezzel pedig rávilágított arra, hogy egyes fajspecifikus tesztek érzékenysége elmaradhat a várt szinttől, így azok nem mindig szolgálnak megbízható eredménnyel [26]. Mindezek alapján minden új módszert beállító labor számára javasolt a módszer ellenőrzése, illetve az alkalmazott határértékek ez alapján történő megállapítása.

A mérési módszer mellett a mintavétel jelentőségét is ki kell emelni. A mintavétel során keletkezett hemolízis befolyásolja a mérés végeredményét, illetve a heparint tartalmazó vérplazmából kutyák esetében magasabb AMH-szintet mértek, mint a szérum mintákból [19].

3.3 Az AMH termelődésének befolyásoló tényezői kutyában

A kor, mint befolyásoló tényező, nagy szerepet játszik a hormonszint alakulásában. Szuka kutyákban a hormon a petefészek granulosa sejtjeiben termelődik az állat egész élete alatt [30]. Szukákban a hormon már pubertás előtt is detektálható, és az élet első évében vérbeli szintje növekedni kezd [6, 31]. Egy 2016-os tanulmány szerint viszont a 4 évnél fiatalabb szukákban a hormon koncentráció magasabb volt, mint a 4 évnél idősebbekben, illetve később minden év elteltével további csökkenést mutatott [28]. Ennek ellentmondóan ugyanakkor Alm és Holst eredményei szerint a kor nincs összefüggésben a hormon koncentrációjával [20].

Az állatok fajtája szintén hatással lehet a mért AMH vérkoncentrációjára. Jelenlegi tudomásom szerint 2 cikk létezik, amelyek az anti-Müllerian hormon termelődése és adott kutya fajta közötti összefüggést taglalja. Egy tanulmány az óriás fajták esetében alacsonyabb hormonszintet mért, mint a kis-, közepes- és nagytestű fajtáknál [28]. Egy másik tanulmány azt találta, hogy beagle fajtájú kutyák AMH szintje magasabb volt, mint a labrador-keverékek esetében mérhető hormonszint [25].

Az ivar is jelentős, mint befolyásoló tényező. Kan kutyák esetében az ivarszervek által termelt hormon mennyisége magasabb hormonszintet eredményez, mint szuka kutyákban [32].

3.4 A hormonszint alakulása egészséges szukában

Magzati korban a nőstény állatok szervezete nem termel AMH-t, azért, hogy a Müller-cső fejlődése ne korlátozódjon [9, 10, 19]. A születés után a perpubertás időszakban a hormon szintje mérhető, illetve az élet első évében szintje növekvő tendenciát mutat [6, 31]. Később, pubertás után, az élet negyedik évétől számítva egy tanulmány szerint, szintje folyamatos csökkenése detektálható [28].

Felnőtt korban az ösztroz-ciklus is befolyásolja a hormon termelődését. Szukában a perifériás hormonkoncentráció szignifikánsan változik az ivari ciklus során, az anösztroz-proösztroz átmenet során szignifikánsan megemelkedett [7, 25]. Megállapították annak a lehetőségét, hogy a hormon koncentráció változásának mértéke függ a növekvő tüszők számától [7]. Ösztrozban és diösztrozban a hormonszint csökken, illetve az anösztroz közepéig alacsony marad. Azonban fontos kihangsúlyozni, hogy az állatokban egyedileg is eltérő eredményeket találtak [25]. Egy tanulmány szerint a késői anösztroztól, majd 6 nappal az ovulációt megelőzően a proösztroz időszakában a perifériás vérben mérhető hormonkoncentráció szignifikánsan nő,

majd 3 nappal az ovuláció előtt szignifikánsan csökken [7]. Ezzel szemben áll egy 2018-as tanulmány, melyben nem találtak összefüggést az ösztroz ciklussal [20].

A termékenység felderítése főleg tenyészállatokban jelentős. Egy tanulmányban kimutatták, hogy egy szuka, melynek magasabb AMH-szintje volt az ösztroz során, nagyobb almot hozott a világra, mint azon fajtársai, akinek alacsonyabb volt a hormonszintje ebben az időszakban [3, 25, 28]. Az AMH-t a növekvő tüszők választják ki, ezért ígéretes lehet a petefészek öregedésének megállapítására, mivel a petefészek öregedését jelzi a primordiális tüszőkészlet csökkenése [9, 33, 34]. Humán gyógyászatban az hormont a petefészek tüszőtartalékának vagy a menopauza kezdetének becslésére használják [25, 35, 36]. Génmanipulált nőstény egerekben azonban leírták, hogy az AMH hiánya nem befolyásolja a termékenységet és nem okozott egyértelmű elváltozást a petefészekben [12, 37]. Az AMH a termékenység megállapításában szerepelhet, mint eszköz, viszont kutyákban a szintjét befolyásolja az ösztroz ciklus, illetve a különböző hormonális problémák, mint a Cushing kór vagy a pajzsmirigy alul működés [3]. Ahhoz, hogy az említett hormont a termékenység mérésére használni lehessen, meg kellene állapítani egy referencia intervallumot és azt, hogy pontosan hogyan változik az ösztroz ciklus alatt [25]. Utóbbira B. Walter kísérletet tett és leírta egyéb források mellett, hogy a hormon szintje az ösztroz ciklus alatt emelkedik és csökken, viszont egyedi eltérések előfordulnak az állatokban [3]. Azonban egy tanulmány szerint nőkben az AMH nem játszik szerepet az idiopátiás meddőségben [15]. Összességében véleményem szerint kutyák terén több kutatásra lenne szükség ahhoz, hogy az AMH hasznos eszköze lehessen a termékenység felderítésében.

A vemhességgel és az alomszámmal is összefüggésbe hozták korábban. Azonban eddig csak egy tanulmány tesz jelentést arról, hogy korreláció van az AMH szintje és a szuka alomszáma között [28].

3.5 Betegségek diagnóziisa szukában

Nőstény ivaros állatok esetében kialakulhat elváltozás, betegség az ivarszervekben. Az esetleges betegség diagnóziisanak felállítása során kedveltebbek a kevésbé invazív vizsgálatok. A hasüreg áttekintését ultrahang (UH) segítségével is meg lehet tenni, de ezzel csak a makroszkópos elváltozásokat lehet detektálni – például az ivartalanítás után a petefészek visszamaradt része nem feltétlenül látható az ultrahangon. Így az ovarian remnant szindróma (ORS) diagnóziisanak felállításához alkalmas lehet az AMH mérés.

Az ORS tulajdonképpen azt jelenti, hogy az ivartalanítás (OE vagy OHE) során egy változó méretű petefészek darab visszamarad, ami később hormont termel és az ivartalanítás ellenére is megjelennek az ivaros állat egyes esetekben ciklusos ivari működésének jelei [28, 38, 39]. Specifikus tünetei lehetnek például a véres kifolyás a hüvelyből, a péra ödémája, a kanok érdeklődése, vagy esetleges álvemhesség [28]. Mindezek mellett a hasüregben maradt petefészekszövet hajlamos a daganatos transzformációra, így az érintett egyedekben gyakrabban fordulhat elő granulosa sejtes tumor (GCT) [40, 41]. A diagnosztikai lehetőségek között vannak a klinikai tünetek, a hormon analízis, az ultrahang (UH) és a diagnosztikai laparotómia [38, 42, 43]. Az UH vizsgálat, mint diagnosztikai eszköz, informatív lehet, de a vizsgálat eredménye függ a vizsgálótól, az állat ösztrusz-ciklus beli stádiumától, a vizsgálat időpontjától illetve a visszamaradt petefészek szövet méretétől [44]. A nőnemű szervezetben az egyetlen sejt, ami képes AMH-t termelni, az a granulosa sejt, ezzel pedig kijelenthető, hogy az AMH méréssel 100%-os specificitással és szenzitivitással lehet detektálni az ovárium jelenlétét [21, 28]. Ezzel pedig alkalmas az ORS diagnóziisanak kialakítására is [41]. Lehetőség van még egyéb hormonok szintjének mérésére, például GnRH stimuláció során az ösztradiol szintje megnő a szervmaradvánnyal rendelkező állatban, luteális fázisban pedig az alapszintnél magasabb progeszteronszint mérhető [38, 40, 45]. ORS esetén szignifikánsan magasabb AMH-szint mérhető, mint az ivartalanításon átesett állatokban, ugyanakkor a mért hormonszint alacsonyabb, mint intakt állatokban [26]. Összességében elmondható, hogy az AMH mérés alkalmazható, mint kiegészítő diagnosztikai lehetőség, önmagában azonban nem elegendő a rendellenesség felderítésére. Az AMH és a progeszteron együttes mérése egy vérszérum mintában növelheti az ORS helyes diagnosztizálásának esélyét, hiszen a hormonok szintjét befolyásolja a maradvány szövet mérete és szövettani állapota (ciklusstádium, esetleges daganatos transzformáció) [24]. Az AMH progeszteronnal és/vagy LH-szint méréssel egyidejű meghatározása diagnosztikai eszköz lehet a petefészek, vagy petefészek darab jelenlétének detektálására [19, 20, 24].

A petefészek ciszták kutyák esetében is megjelenhetnek. Eredetük szerint lehetnek felszín alatti, folliculáris, cisztás corpus luteum vagy luteinizált ciszta [41, 46]. Egy 2018-as tanulmányban, melyben 20 állatban diagnosztizáltak petefészek cisztát, azt találták, hogy a kis luteinizált cisztával rendelkező állatokban szignifikánsan magasabb volt az AMH szint, mint a többi cisztás petefészekkel rendelkező állatban [41]. Emberekben a policisztás petefészek szindróma biomarkere lehet az AMH, mely megemelkedik a betegségben szenvedők esetében [9, 47].

A granulosa sejtes tumor a petefészek stroma eredetű daganata és általában fiatalabb korban jelentkezik [48]. Mások szerint azonban középkorú és idősebb állatok betegsége [40, 49, 50]. Előfordul a humán medicinában és az állatorvoslásban egyaránt [3, 51]. Kutyák esetében a GCT megjelenhet az ORS mellett is, mint kísérő jelenség [40, 41, 45]. Klinikai tünetei különbözőek lehetnek, ha a daganat termel hormont, akkor az ösztroz ciklus elváltozásai lehetnek klinikai tünetek [41, 43]. Ezenfelül a tumor diagnosztizálására alkalmas lehet az UH vizsgálat, amin esetleg látható a petefészek elváltozása [41, 48]. A nőnemű szervezetben az egyetlen sejt, ami AMH-t termel, az a petefészek granulosa sejtje, ezért a hormon mérése alkalmas lehet a sejtek egyes elváltozásainak detektálására is [15, 41]. A hormon mérésének vannak azonban nehézségei, hiszen a normális ciklusban lévő állatok esetében az AMH-szintje csökkenhet és emelkedhet egy ciklus alatt, ezért érdemes lehet egy második mérést is elvégezni, ha nem biztos az eredmény [3]. A granulosa sejtes tumor esetében, az AMH-koncentrációja a perifériás vérben megemelkedik [19, 41, 51]. Az, hogy az AMH alkalmas-e az daganateltávolítás céljából elvégzett ovariohisterektómia után, a metasztázisok kimutatására, nem tisztázott [41]. Egy tanulmány megállapította, hogy a GCT esetében mért AMH-szintet egy ösztrozban lévő állat esetében is ki lehet mutatni, ezért ha a kórelőzmény és az ultrahang diagnosztika nem utal elváltozásra, érdemes a mérést megismételni [25]. Összességében kijelenthető, hogy az anti-Müllerian hormon alkalmas, mint kiegészítő diagnosztikai módszer a GCT diagnózisának felállításában.

3.6 Hormonszint alakulása egészséges kanokban

Kanok esetében már a magzatban található Sertoli-sejtek is termelik az AMH-t, ami azért felelős, hogy a hím ivarszervek megfelelően tudjanak fejlődni [1, 52]. Férfiakban leírták a hormon változását termékenységi zavarok esetén [53, 54]. Hím állatok esetében pedig leírták, hogy emelkedett AMH szintet tapasztaltak a here degenerációjával párhuzamosan [27, 55]. Ezenkívül a nem tapintható Sertoli-sejtes tumornál terméketlenséget írtak le, mely szintén összefüggésbe hozható a hormonszint emelkedésével [27, 56]. Egy 2005-ös humán kutatás leírja, hogy a megvizsgált terméketlen és termékeny férfiak között az ondó AMH tartalmában nem találtak jelentős különbséget, viszont a perifériás vérből mért AMH-szint a meddő férfiak esetében alacsonyabb volt, mint a termékeny csoportban [15]. Összességében véleményem szerint kutyákban ezen a terén is több kutatásra lenne szükség ahhoz, hogy az AMH hasznos eszköz lehessen a termékenység felderítésében.

3.7 Betegségek diagnózisa kanokban

Hím állatokban, ugyanúgy, mint nőstényekben felmerülhet ivarszervekhez fűződő betegség és elváltozás. Ezeket és az anti-Müllerian hormonnal való kapcsolatukat a későbbiekben szeretném részletesen kifejteni. A prepubertális korú kan kutyák perifériás AMH-szintje magasabb, mint az ivarérett felnőtt kutyáké [53, 57]. Ennek eredményeként a magasabb AMH-szintet intakt prepubertásban lévő kan kutyákban mérhetünk, nem pedig felnőtt ivarérett ebekben. Hím nemű állatokban nagy jelentőséggel bír a rejtettheréjűség és a következményesen esetlegesen fellépő Sertoli-sejtes tumor (SCT). Ezek és ehhez hasonló elváltozásokkal kapcsolatos AMH-szintjének szakirodalmát szeretném áttekinteni. Fontos kiemelni, hogy a hormont hím állatokban a Sertoli-sejtek termelik, és az AMH biomarkere lehet a Sertoli sejtek érésének [19, 57–59].

A rejtett here, másnéven cryptorchidismus intakt állatokban fordul elő, veleszületett betegség, mely multigénes öröklődést mutat [60, 61]. Tulajdonképpen a herék leszállása a hasüregből a testüregen kívüli herezacskóba nem történik meg, helyette a szerv a hasüregben, vagy a lágyékcsatornában, esetleg az inguinális területen a bőr alatt marad [60]. A rejtett here lehet egy- vagy kétoldali [60]. Szignifikánsan magasabb AMH szintet mértek kutyákban, akinek egyoldali rejtett heréje volt, mint az egészséges felnőtt, intakt vagy kasztrált ebekben, ennek oka pedig az lehet, hogy nagyon sok az éretlen Sertoli sejt az ivarszervekben [3, 62]. Ami problémát okozhat, hogy a rejtett here neoplasztikus elváltozásokra prediszponálhat [22, 43]. Ilyen elváltozás lehet a Sertoli-sejtes tumor és a seminoma [63]. Azonban nem tisztázott még,

hogy a cryptochid elkülöníthető a Sertoli-sejtes tumoros rejtett herétől [3]. Emberek esetében használták az AMH-t arra, hogy a rejtettheréjűséget elkülönítsék az anorhidizmustól [64]. Leírták, hogy az AMH jelenléte a vérben utal a hereszövet meglétére, függetlenül attól, hogy a here leszállt-e vagy sem [22]. Ebben a tanulmányban írták azt is, hogy az AMH segíthet elkülöníteni a kasztrált és anorhidizmusban szenvedő állatokat a rejtett heréjű állatoktól [22]. Az AMH-szintjének mérése kérdéses esetekben segíthet eldönteni, hogy az állat kasztrált vagy rejtettheréjűségben szenved [27].

Hím állatok esetében a 3 fő here daganat típus a Sertoli-sejtes, a Leydig-sejtes tumor és a seminoma, melyek nagyjából egyenlő arányban jelennek meg [50, 65]. Kan kutyákban, főleg az idősebb intakt állatokban gyakori a stroma eredetű SCT, ami okozhat hiperösztrogenizmust, így hiperpigmentációt, szőrhullást, anémiát vagy trombocitopéniát [3, 43, 51]. Ezek azonban nem specifikus tünetek [27]. Hím állatokban a Sertoli-sejtek termelik az AMH-t, tehát a vérben lévő hormon szintje és annak változása ezekhez a sejtekhez köthető [19, 57]. A hormon emelkedése köthető a Sertoli-sejtes tumorhoz, azonban a hormon referencia intervalluma egyelőre nem tisztázott [3, 27]. Megfigyelték, hogy a Sertoli-sejtes tumorral rendelkező állatok AMH szintje szignifikánsan magasabb, mint intakt állatokban [22, 27, 66]. Azok az állatok, aminek rejtett heréje van, hajlamosabbak a Sertoli sejtes tumorra a genetikai háttér, valamint a magasabb hasüregi hőmérséklet miatt [22, 43, 60]. Összesítve elmondható, hogy az AMH hasznos markere a Sertoli-sejtes tumornak a herében [27]. Az viszont nem tisztázott, hogy rejtett here esetén kimutatható-e a daganat jelenléte vagy sem, illetve, hogy alkalmas-e metasztázisok felderítésére az ivartalanítás után.

Egy 2014-es tanulmányban leírják, hogy primer here atrófia esetén az elsorvadt herében a spermatogenezis eleve hiányzott, vagy nagyon korai időszakban leállt, illetve volt olyan állat, akinél a herében csak Sertoli-sejteket találtak [55]. Ezen tanulmány szerint az éretlen Sertoli sejtek termelnek AMH-t [55]. Egy másik kísérletben, melyben 4,7mg deslorelin implantátummal imitálták a szubfertilitást kan kutyákban, az mutatkozott meg, hogy a kezelés alatt az állatokban megnőtt a perifériás AMH szint, illetve a teszt detekciós határát is meghaladta a beültetést követő 7-15. héten [3, 67]. Ezen kísérletek alapján lehetséges, hogy az AMH alkalmas a herék sorvadásának detektálására is [3].

3.8 Ivari státusz meghatározása kutyában

Mind női és hím nemű állatokban okozhat gondot az ivaros állapot felmérése. Az ivartalanítás nagyon fontos annak megelőzésében, hogy egy adott faj kontrollálatlanul túlszaporodjon. Ezenkívül hasznos abban is, hogy megakadályozzuk egyes ivarszervekhez kötött betegségeket [68–70]. Felmerülhet problémaként, hogy egy állatról eldöntsék, hogy ivaros vagy sem, ha az ivaros állapot nem egyértelmű. Ha egy szuka tüzelés közben kerül vizsgálatra, a diagnózis egyszerű [20]. Ha viszont nem mutatja az ivarzás klinikai tüneteit, kihívást jelenthet a diagnózis felállítása, ilyen lehet például ORS-ben szenvedő szuka kutya, vagy egy rejtett herével rendelkező állat [20]. Olyan kutyák esetében, akik fiatalon lettek ivartalanítva, a műtéti heg sem látszik feltétlenül [19]. Lehetőség van a hasüreg sebészi feltárására, melynek során a sebész az ivarszerv jelenlétének felkutatására tesz kísérletet, ez azonban kockázatos az altatás miatt, invazív az állat számára és nem utolsó sorban költséges az állattulajdonos vagy a menhely számára [17]. A hüvelycitológia lehetne még egy non-invazív megoldás, de csak akkor használható a módszer, ha az állat ösztruszban vagy proösztruszban van [17]. Ezek kikerülésére és az ivaros állapot felderítésében segítségre lehet az AMH mérése, melyet a szervezetben egyetlen sejtfajta termel. Szuka kutyákban az egyetlen ilyen sejt a petefészek granulosa sejtje, míg kan kutyákban a Sertoli sejtek expresszálják a hormont [21, 71]. A hormont évek óta használják az ivarszervek jelenlétének meghatározására mind hím, mind nőtény állatokban [6, 17, 19–25]. Az AMH az ivarszervek eltávolításával bizonyos időn belül eltűnik a perifériás keringésből [17, 72]. Egy tanulmányban azt írták le, hogy 10 nappal az ivartalanítás után az AMH-koncentráció a minimum mérhető koncentráció környékére esik [25, 73]. Axel 2016-ban megállapította, hogy az AMH teszt szenzitivitását figyelembe véve, sikeresen meg lehet állapítani az állat ivari státuszát, viszont a kiegészítő diagnosztikai módszerek növelhetik a teszt sikerességének esélyét. Hímeekben ez a tesztoszteron mérését jelenti, nőtényekben pedig a GnRH stimulációs teszt alkalmazható, bár utóbbit még vizsgálni érdemes [19]. Sokszor azonban intakt szukák esetében is lehet olyan alacsony AMH-szintet mérni, mint ivartalanított állatokban [17, 19, 20]. Ezenkívül a prepubertásban lévő szukák esetében az AMH-szint alacsony, így náluk nem lehet megállapítani, hogy ivartalanítottak-e vagy sem [17]. Ellentétben a kanokkal, ahol a pubertás előtti és utáni állapot nem zárja ki az intakt és ivartalan állatok megkülönböztetését, hiszen prepubertásban a hormon szintje magasabb, mint felnőtt korban [53, 57]. Fontos azt is figyelembe venni, hogy a hím állat milyen módon lett kasztrálva, hiszen sebészileg ivartalanított hímek esetében az AMH csökkenést mutatott, míg a GnRH

szuperagonistával végzett kémiai kasztráción átesett állatoknál a hormon szintje jelentősen megnőtt, gyakran a maximálisan mérhető szint fölé emelkedett [19, 22, 23, 53].

Az egyértelműen kijelenthető, hogy az AMH alkalmas az ivartalanított státusz meghatározásában szerepet vállalni, viszont az még nem tisztázott, hogy a hormon perifériás szintje mennyi idővel az ivartalanítás után esik le főleg a magasabb AMH-szintet mutató, esetleg ivarszervi elváltozással bíró egyedekben, és ezzel együtt kérdéses, hogy a teszt mennyi idővel az ivartalanítás után képes megkülönböztetni az ivartalanított állatot az intakttól. Emellett problémát jelenthet az is, hogy kaphatunk fals pozitív eredményeket ivartalanított állatokban, illetve intakt állatokban is detektálható lehet alacsonyabb hormon koncentráció [17, 19, 20].

4. Célkitűzések

Az AMH véleményem szerint egy nagyon hasznos hormon, amit a szaporodásbiológiai vizsgálatok során remekül lehet alkalmazni, és alkalmaznak is évek óta. A kutya AMH szérumszintjének alakulásáról született eltérő elrendezésű vizsgálatokon alapuló publikációk a mérési módszerek különbözősége miatt is némileg eltérő eredményeket közöltek. Ezen kísérlet célja megállapítani, hogy az ivartalanítást követően az AMH szintje mikor esik le az aktív ivari szövetek eltávolítása miatt. Illetve lehet-e visszamenőlegesen az ivartalanítás időpontjára következtetni. Ezen kívül, lehetne-e a hormonszint mérése az önellenőrzés eszköze, mely bizonyíthatja az ép, vagy elváltozott ivarszerv maradéktalan eltávolítását. Ezekben a kérdéses esetekben hasznos lenne, mint kiegészítő diagnosztikai lehetőség. Arra keressük tehát a választ, hogy az AMH mennyi idővel az ivarszervek eltávolítása után csökken a minimum szint alá. Ezzel talán behatárolható lesz egy időintervallum, melyen túl az AMH jelenléte a perifériás vérben kórosnak számíthat. A jelen dolgozat célja megfigyelni, hogy intakt állatokban, illetve különböző ivarszervi elváltozással rendelkező állatokban mennyi a kiindulási AMH-koncentráció, illetve, hogy mennyivel az ivartalanítás után érik el a nem detektálható szintet. Reményeink szerint a kutatás alapján meghatározott határértékek és a levonható következtetések segítik majd a klinikus kollégákat abban, hogy az immár számukra is könnyen elérhetővé vált mérési módszer alkalmazása (például intakt és ivartalanított állatok elkülönítése, ORS diagnosztika) során nyert eredményeket pontosan értékeljék és az alapján megfelelő klinikai döntéseket hozzanak.

5. Anyag és módszer

5.1 Az irodalom áttekintése

Jelen TDK munka elkészítéséhez 77 online cikket olvastam el és különböző fejezeteit tanulmányoztam. Ezenkívül 2 könyvet lapoztam fel és olvastam el a kapcsolódó fejezeteket. Ezen források megjelenésének évszámai 1986-tól 2022-ig terjednek. Ezeket a feldolgozott forrásokat részben magam kerestem, részben pedig témavezetőm, Dr. Müller Linda volt szíves rendelkezésemre bocsátani. Az internetes keresést az „Antimüllerian hormone in dogs” kifejezéssel kezdtem, aztán az egyetem könyvtárában fellelhető szaporodásbiológiai könyv tanulmányozásával folytattam a kutatást. Feldolgozva az AMH fejlődéstani szerepét, áttértem a felnőtt állatokról szóló cikkek tanulmányozására, ezen belül is külön tárgyalva a hormon hím és nőstény állatokban betöltött szerepét. Kereséseim között szerepelt az „AMH in bitches”, és az „AMH in male dogs”. Később különböző cikkek irodalomjegyzékében található forrásokat is megtekintettem, illetve adott esetben felhasználtam. A legtöbb összefoglaló jellegű információt Beate Walter cikkeiből gyűjtöttem össze, illetve az ő hivatkozásait felhasználva jutottam el egészen régi cikkekhez is. Kutatásom során változatos témájú cikkeket olvastam, sok felfedezetlen területtel.

5.2 A műtétek és a mintagyűjtés

A vizsgálatba az Állatorvostudományi Egyetem Központi Oktató Klinikájára, ezen belül is a Szülészeti Klinikára érkező, megelőző vagy terápiás céllal végzendő ivartalanítás (ovariectomy/ovariohysterectomy vagy castatio) miatt érkező páciensek mellett (8 állat), a hatóság által engedélyezett kihelyezésre kijelölt, szintén ivartalanításra érkező, kísérleti célra tenyésztett beagle fajtájú kutyákat vontunk be (21 egyed). Így a kísérlet során összesen 29 (15 szuka és 14 kan), ivarérett, különböző korú (1-14,5 év) és testsúlyú (4,8-37,6 kg), különböző fajtájú kutyából volt lehetőségünk mintákat gyűjteni. A 12 egészséges szuka mellett, 3, évekkorábban ivartalanításon már átesett, azonban a klinikai tünetek és a kiegészítő vizsgálatok alapján, ORS gyanúja miatt, feltárási hasi műtét céljából érkező állatot is bevontunk. A 7 egészséges kan esetében, fizikális vizsgálattal győződünk meg a herék fiziológiás helyzetéről (mindkét oldali here scrotalis pozícióban), valamint azok normál turgoráról és szimmetriájáról. A fent említett 7 állaton kívül 3 kan esetében heredaganat volt valószínűsíthető, illetve 4 kan kutya pedig egyoldali rejtett heréjűség diagnózisával került műtéti ellátásra. A betegcsoportok (ORS, heredaganatos, rejtett heréjű) egyedei a műtétet megelőzően hasi ultrahang vizsgálaton estek át, a heredaganatos és ORS csoportba sorolt

állatok esetében pedig rutin vérvizsgálatot is végeztünk. Közvetlenül a műtét előtt, a műtéti előkészítés részeként a vena cephalica antebrachii-ba vezetett vénakanülön keresztül vérmintát gyűjtöttünk az állatoktól (nulladik napi minta). A műtétet követő 3., 7., 14., 21., és 28. napon további vérvételeket hajtottunk végre. A mintákat szérumseparátort és véralvadást gátló anyagot nem tartalmazó csövekbe gyűjtöttük. A levételt követően a mintákat szobahőmérsékleten 20 percig állni hagytuk, hogy megalvadjon a vér, majd lecentrifugáltuk 1500g-n, 4°C-on 12 perc alatt. Végül a szérum mintákat eppendorf csövekbe pipettáztuk és -80°C-on tároltuk a hormonszint-meghatározásig. Sajnos nem mindegyik állattól sikerült vért venni a fent említett időpontokban, mivel a tulajdonosok különböző okok miatt nem jelentek meg minden állattal az adott időpontban. A műtétek után a rutin ivartalanításon átesett, és a rejtettheréjű állatok esetében az eltávolított ivarszerveket makroszkópos vizsgálatnak vetettük alá, melynek célja az volt, hogy megbizonyosodjunk róla, hogy az ivarszervek teljes egészében eltávolításra kerültek, illetve a herék metszéspapját vizsgálva kerestük az esetleges daganatos elfajulásra utaló jeleket. A petefészkek esetében a folliculusok, valamint a sárgatestek jelenlétét regisztráltuk a ciklusstádium meghatározása céljából. A heredaganattal rendelkező, illetve az ORS miatt operált állatok eltávolított nemi szerveit szövettani vizsgálatra küldtük, hogy igazolják egyrészt a visszamaradt petefészkek szövetet, és megállapítsák a heredaganatok szövettani típusát. A szövettani vizsgálatra küldött mintákat 10%-os, foszát-pufferrel ellátott formalinban tároltuk a szövettani feldolgozásig. A szövettani metszetek készítését, valamint azok rutin hematoxillin-eozin festés után történő vizsgálatát a Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékének munkatársai, illetve a Mátrix Állatorvosi Kórszövettani Laboratórium munkatársai végezték. Munkánk során tulajdonossal rendelkező, illetve kísérleti célra tenyésztett állatokból származó, a műtéti technika részeként eltávolított szövetek mellett, valamint a műtéti anesztézia bevezetéséhez szükséges vénakanülön át, majd a későbbiekben tűszúrással végzett vérvételek során nyert plusz vérmintákat dolgoztuk fel, ami összességében állatkísérletnek minősül. Az eredmények felhasználására, valamint a mintavételre írásban kérjük a tulajdonosok beleegyezését. A kísérletet a Pest Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-biztonsági, Állategészségügyi, Növény és Talajvédelmi Főosztálya az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács projektértékelési szakvéleménye alapján, PE/EA/1148-4/2021 ügyiratszámom jóváhagyta.

5.3 AMH-szint meghatározás

A gyűjtött, majd mélyfagyasztott szérum minták felolvasztását követően a szérum AMH-koncentrációkat humán AMH specifikus ellenanyagot használó, immun-kemilumineszcens meghatározáson alapuló (CLIA) módszer segítségével határozták meg a Praxislab Állatorvosi Laboratórium munkatársai. A humán specifikus teszt kutya és macska minták mérésére vonatkozó validációja a dolgozat beadásával egy időben kerül publikálásra, így a teszten belüli (intra-assay) és tesztek közötti (inter-assay) variációs koefficiensek (CV) jelen dolgozatban nem kerülhetnek közlésre. Az alkalmazott teszt esetében a legkisebb mérhető koncentráció 0,01 ng/ml, a legmagasabb pedig 23 ng/ml volt. Egyes esetekben a minták AMH-koncentrációja meghaladta a teszt detekciós tartományát, ezekben az esetekben a szérumminták tízszeres hígítását követően végezték a mérést.

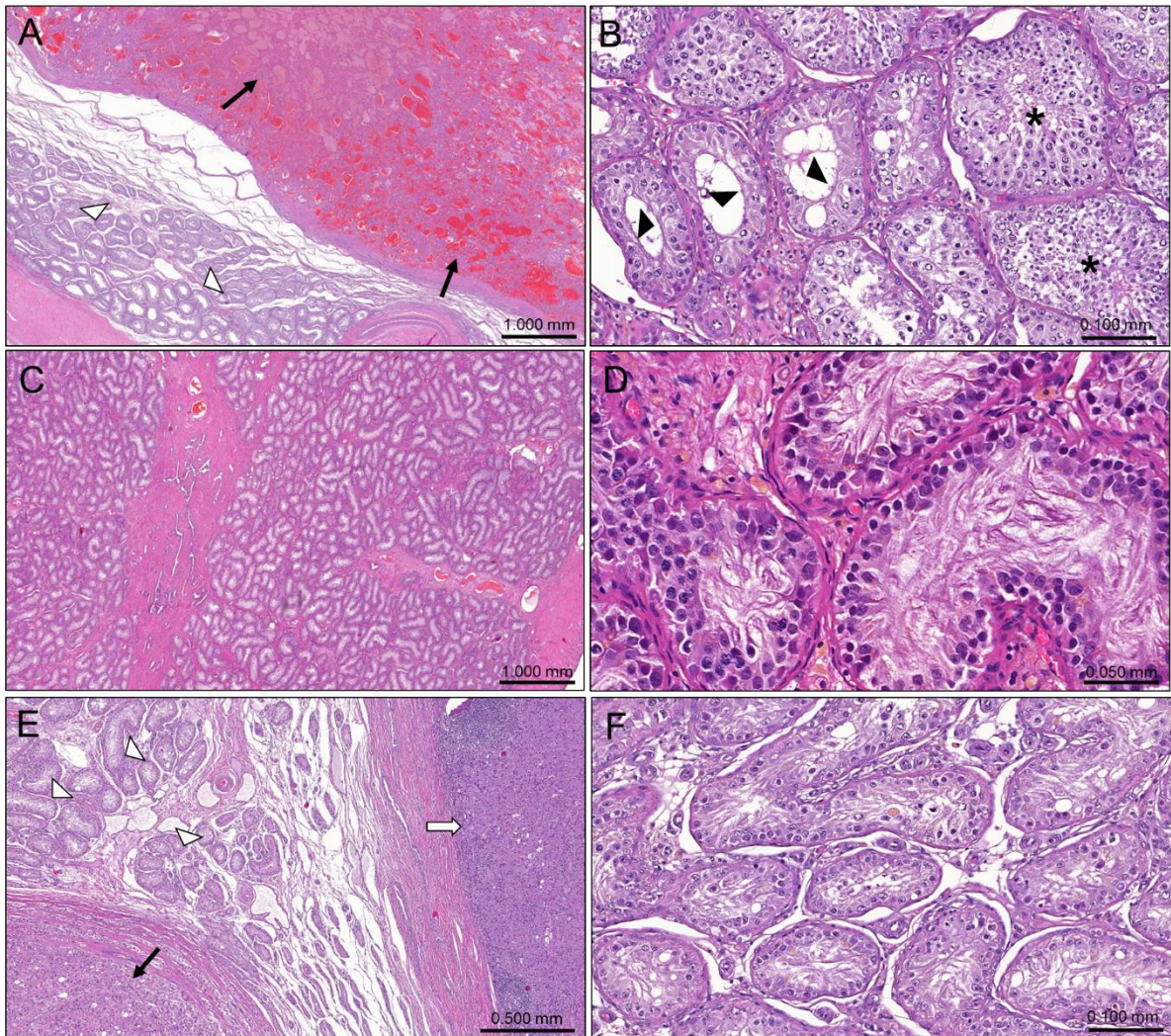
5.4 Statisztikai analízis

A kanok és szukák (az egészséges gonáddal rendelkező egyedek) 0., 7., és 14. napi AMH-koncentrációit Mann-Whitney U teszttel hasonlítottuk össze. A szukák, valamint a kanok esetében, a gonadális elváltozások alapján kialakított csoportok egyedeinek 0. napi AMH szérumszintjeit kétmintás (független mintás) t-próbával, valamint Kruskal-Wallis teszttel, a szukák 0., 7, és 14., valamint a kanok 0., 14. illetve 28. napi vérmintáiból meghatározott hormon koncentrációkat pedig páros t-próbával, vagy Wilcoxon-féle előjeles rang teszttel hasonlítottuk össze. A szérum AMH-koncentrációkat átlag \pm standard eltérés (SD) formában adjuk meg, hacsak másképp nem jelezzük. Az adatokat IBM SPSS® Statistics for Windows, Version 28.0.1.1 (Armonk, NY, USA) programcsomag segítségével vizsgáltuk. A szignifikanciaszintet $P < 0,05$ -nél határoztuk meg. A felezési idő meghatározását nem rekeszes (noncompartmental) farmakokinetikai analízissel végeztük, Phoenix WinNonlin 8.1 szoftver (Certara, Princeton, USA) alkalmazásával. A beállításokban a beadás időpontjának az első mérés eredményének időpontját vettük alapul (C0), beadási módnak pedig az intravénásan adott bolust állítottuk be. A számításhoz a Linear Log Trapezoidal módszert alkalmaztuk. A farmakokinetikai görbe meredekségének beállításainál minden egyed esetében külön határoztuk meg a meredekség időintervallumát, a 0. naptól az utolsó mintavételi nap plusz egy napként. A felezési időket átlag (nap) \pm standard eltérés (SD) formában adjuk meg. A csoportokat jellemző AMH felezési idő értékeket egytényezős varianciaanalízissel (one-way ANOVA) hasonlítottuk össze.

6. Eredmények

6.1 Gonádok

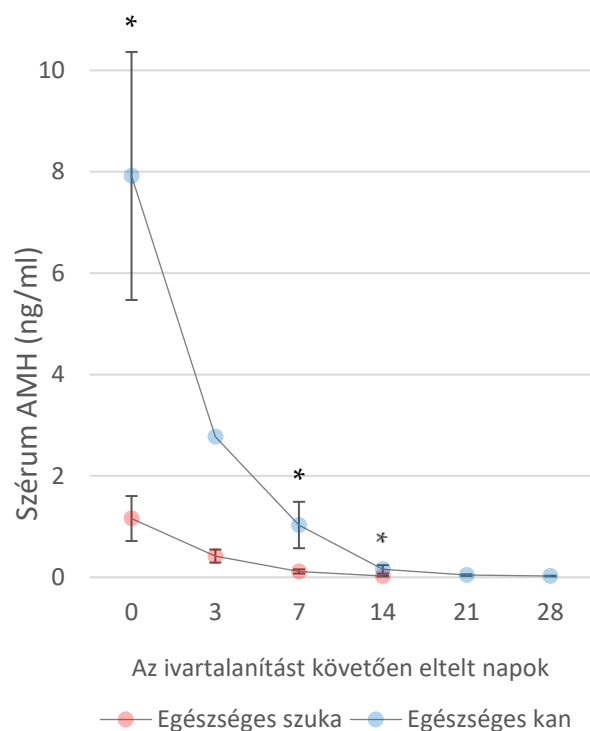
A 12 rutin ivartalanításon átesett szuka közül a makroszkópos vizsgálat alapján 10 kutya volt anösztruszban, 2 pedig diösztrusz fázisban, illetve egyik állatban sem találtunk patológiás elváltozást a petefészkeken. Az ORS gyanújával operált állatokban a szövettan mindhárom esetben igazolta, hogy valóban petefészek maradványszövet került eltávolításra, illetve sárgatestek, vagy luteinizálódott sejtek jelenlétét írták le. Az ORS-sel rendelkező állatok egyikében a mért progeszteron hormon koncentráció 1,3 ng/ml volt. A rutin ivartalanításra érkező vagy rejtett heréjű kanok esetében, az eltávolított herék állományában makroszkópos vizsgálattal nem találtunk daganatos elváltozást, ugyanakkor a hasúri rejtett herék kisebbek voltak a leszállt herékhez képest. A három abnormális scrotalis herével rendelkező egyed esetében a hisztopatológiai vizsgálat többféle tumor jelenlétét állapította meg (Leydig-, vagy Sertoli sejtes daganat, seminoma), emellett változó fokban atrófia, fibrózis, valamint a kanyarulat csatornában a spermatogenezis hiánya volt jellemző (1. ábra, 2. táblázat).



I. ábra: A heredaganatos kanok heréinek szövettani vizsgálata. A 23-as számú eb: A – Leydig-sejtes tumor (fekete nyilak) és a környező parenchima (fehér nyílhegyek); B – A hereparenchima nagyobb nagyításban, melyen seminiferosus tubulusok láthatóak normál spermatogenezissel (csillagok) és a spermatogenezis leállása látható heredegenerációval (fekete nyílhegyek). A 24-es számú kutya: C - Leydig-sejtes tumorról ellenoldali here súlyos, diffúz atrófiát és fibrózist mutat. D - ugyanaz a here, mint a C ábrán, a spermatogenezis leállása látható a seminiferosus tubulusokban. A 25-ös számú kutya: E – Leydig-sejtes tumor (fekete nyíl) és szeminóma (fehér nyíl), a környező hereparenchimájának atrófiáját mutatja (fehér nyílhegyek); F- A hereparenchima nagyobb nagyításban, a spermatogenezis leállása a seminiferosus tubulusokban.

6.2 AMH szérumszint

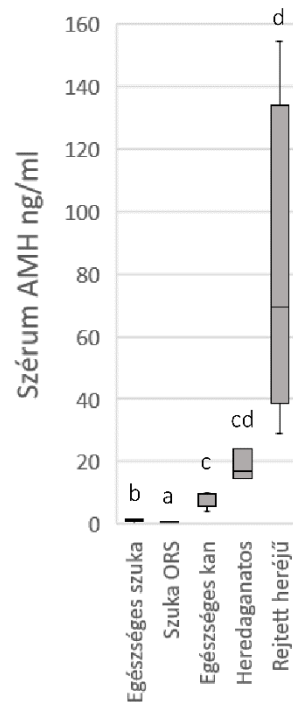
Az egészséges gonádokkal rendelkező kanok minden vizsgált időpontban (0., 7., 14. nap) magasabb AMH-koncentrációt mutattak, mint az egészséges szukák ($P < 0,001$; 2. ábra). Utóbbi különbség szintén megfigyelhető volt, amikor valamennyi szuka és valamennyi kan 0. napi hormonszintjeit hasonlítottuk össze ($P < 0,001$; 3. ábra). Az ORS-sel diagnosztizált szukák alacsonyabb AMH-koncentrációkkal ($0,45 \pm 0,31$ ng/ml) rendelkeztek, mint az egészséges – akkor még intakt – szukák ($1,16 \pm 0,44$ ng/ml; $P = 0,027$), ugyanakkor a két csoportban jellemző hormonkoncentrációk tartományai átfedést mutattak (egészséges 0,18-1,71 ng/ml; ORS 0,07-0,92 ng/ml; (3. ábra, 4. ábra).



2. ábra: Az anti-Müllerian hormon (AMH) koncentrációjának változása (átlag \pm SD) gonadektómia után a normál gonádokkal rendelkező nőstény és kan kutyáknál. (*) A csillagok a csoportok között szignifikáns különbségeket jelzik az adott időpontokban; a 3. napi minták eredményeit nem hasonlítottuk össze.

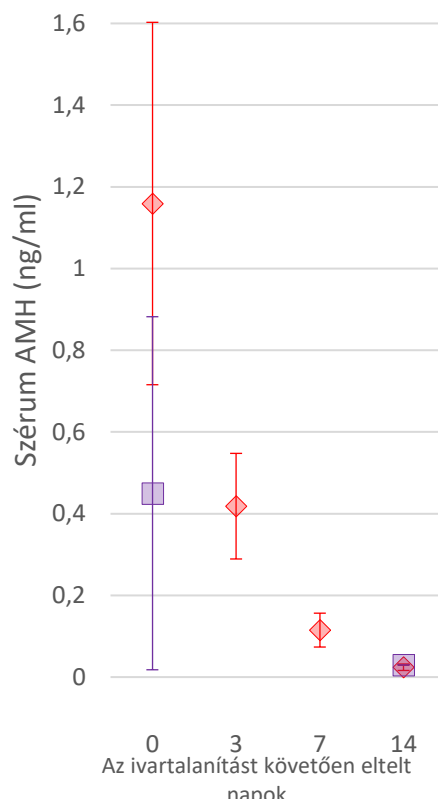
1. táblázat: 0. napi hormonszintek a különböző csoportokban.

	Egészséges szuka	Szuka ORS	Egészséges kan	Heredaganatos	Rejtett heréjű
átlag	1,16	0,45	7,92	18,63	80,57
szórás	0,44	0,43	2,45	5,04	52,81
minimum	0,18	0,07	4,07	14,53	29,06
maxinum	1,71	0,92	10,16	24,26	154,38
egyedszám	12	3	7	3	4



3. ábra: 0. napi hormonszintek, a különböző betűk szignifikáns különbséget jelölnek

A szérum AMH-koncentráció az ivarszervek eltávolítását követően, az idő előrehaladtával minden csoportban fokozatos csökkenést mutatott (2. ábra). Egészséges szukákban a hormonszint szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető a 7. napra, majd tovább csökkent a 14. napra ($P \leq 0,002$), amikor minden egyedben megközelítette, vagy elérte az alapszintet (0,01-0,04 ng/ml). Utóbbi tartomány nem mutatott átfedést a 0. napon mért hormonszintekkel (4. ábra, 2. táblázat). Összességében azt mondhatjuk, hogy az ivartalanított szukák esetében az alapszint a 0,01-0,04 ng/ml tartományba esett, a később szövettani vizsgálattal igazolt ORS, vagyis petefészekmaradványszövettel rendelkező állatok esetében a 0. napi, legalacsonyabb érték 0,07 ng/ml volt.



4. ábra: Az egészséges és az ORS-el rendelkező szukák AMH szintje

2. táblázat: A nőivarú állatok vérszérum mintáiból mért AMH-koncentráció a nulladik naptól a 28. napig, illetve egyéni jellemzők állatonként.

Kutya Szuka	Fajta	Testtöme g (kg)	Kor (év)	Szérum AMH-koncentráció (ng/mL)				Megjegyzés
				D0	D3	D7	D14	
1	Beagle	8	2,3	1,34		0,1	0,02	Egészséges gonádok, diösztrusz
2	Beagle	8,2	1,7	1,26		0,11	0,02	Egészséges gonádok, anösztrusz
3	Beagle	7,9	2,3	0,9		0,08	0,02	Egészséges gonádok, anösztrusz
4	Beagle	11,7	8,3	0,7	0,18	0,06	0,02	Egészséges gonádok, anösztrusz
5	Beagle	8,6	1,9	1,63		0,16	0,02	Egészséges gonádok, anösztrusz
6	Beagle	12,8	8,3	1,58		0,17	0,03	Egészséges gonádok, anösztrusz
7	Beagle	13	8,3	1,12	0,43	0,12	0,03	Egészséges gonádok, anösztrusz
8	Beagle	10	8,3	0,18		0,04	0,01	Egészséges gonádok, anösztrusz
9	Beagle	9,1	8,3	0,86	0,4	0,16	0,04	Egészséges gonádok, anösztrusz
10	Beagle	10,6	5,3	1,71	0,56	0,15	0,03	Egészséges gonádok, anösztrusz
11	Beagle	11,3	5,3	1,46	0,45	0,1	0,02	Egészséges gonádok, anösztrusz
12	Beagle	11	5,4	1,17	0,49	0,13	0,03	Egészséges gonádok, anösztrusz

13	Mopsz	9,4	5,7	0,92			0,03	ORS
								2 hónapja ivartalanítva. Szövettanon a petefészek maradványa látható, granulosa sejtekkel, sárgatesttel, kötőszöveti tumoros sejtekkel és folliculáris cisztával.
14	Bichon Havanese keverék	4,8	1,3	0,36			0,03	ORS
								9 hónapja ivartalanítva. Szövettanon a granulosa sejtek kis nodulusai láthatók és számos sárgatest. Az ovárium rete részlete és szeróza ciszták.
15	Groenendael	25,9	14,5	0,07				ORS
								Több éve ivartalanítva, a pontos dátum nem ismert. Kezdeti szérum progeszteron koncentráció: 1,3 ng/ml

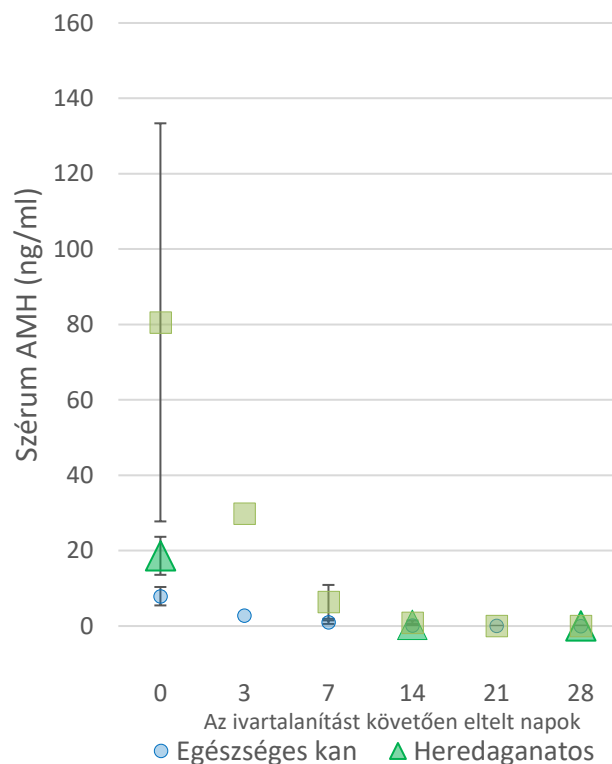
A kanokban mért 0. napi szérum AMH-koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak a hasúri rejtettheréjű állatokban ($80,57 \pm 52,81$ ng/ml), mint az egészséges kanokban ($7,92 \pm 2,45$ ng/ml; $P=0,004$; (3. ábra). Nem mutatkozott szignifikáns különbség a heredaganatos ($18,36 \pm 5,04$ ng/ml), valamint az egészséges ($P=0,250$), illetve a rejtett heréjű ($P=0,820$) egyedek hormonszintjei között, ugyanakkor az egészséges kanok ($4,07-10,6$ ng/ml), valamint a heredaganatos egyedek ($14,53-24,26$ ng/ml), illetve az egyoldali rejtett heréjű egyedek 0. napi hormonszintjei ($29,06-154,38$ ng/ml) nem alkottak egymást átfedő tartományokat (1. táblázat, 3. ábra, 5. ábra).

Kan kutyákban (egészségesek és betegcsoportok) az AMH-koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt a 14. napon a 0. napon mért kezdeti hormonkoncentrációkhoz viszonyítva ($P=0,001$), ugyanakkor az alapszintet csak a 28. napra közelítették meg a hormonszintek ($0,02-0,12$ ng/ml). A 28. napon mért AMH-szintek szignifikánsan alacsonyabbak voltak mint a 0., valamint 14. napon mért értékek ($P=0,012$), illetve a 28. napi értékek nem voltak átfedésben a 0. napi hormonszintekkel (5. ábra, 2. táblázat). Az egyik heredaganattal (Leydig sejtes daganat) rendelkező kan (24. állat) esetében a 28. napi hormonszint még nem érte el az alapszintet ($0,12$ ng/ml), ezért nyomonkövettük a beteg további értékeit, és a 34 héttel később levett mintában már alapszintre csökkent hormonszintet ($0,03$ ng/ml) detektáltunk.

3. táblázat: A hím állatok szérumból nyert AMH szintek a nulladik naptól a 28. napig, illetve az egyedi esetekben feltüntetett elváltozások.

Kutya Kan	Fajta	Testtömeg (kg)	Kor (év)	Szérumból nyert AMH-koncentráció (ng/mL)						Megjegyzés
				D0	D3	D7	D14	D21	D28	
16	Beagle	12,5	6	9,54	2,77	0,64	0,04	0,02 (D20)		Egészséges gonádok, herék mindkét oldalon fiziológias, scrotalis helyeződésben
17	Beagle	10,2	2,9	10,16		1,2	0,19			
18	Beagle	12,3	7,4	9,69		1,63	0,24			
19	Beagle	9,8	10	6,55			0,19		0,03	
20	Beagle	11,7	4,5	4,07		0,51	0,07	0,03	0,02	
21	Beagle	11	5,1	9,75		1,44	0,25	0,06	0,03	
22	Beagle	10,1	5	5,66		0,77	0,11	0,04	0,02	
23	Havanese keverék	11,4	13	14,53			0,05		0,02	A baloldali herében Leydig-sejtes tumor; Közepesen-súlyosan atrofizált. Jobb oldalon Leydig-sejtes tumor és szeminoma, enyhén kompresszált hereparnehima.
24	Golden retriever	37,6	11	24,26			0,69		0,12 (0,03 a 34. héten)	Jobb oldali herében Leydig-sejtes tumor, melyet a mellékhere parenchyma ölel körül, benne leállt a spermatogenezis. Bal oldalon atrofizál, fibrózisos here, benne csak Sertoli-sejt.
25	Spániel keverék	26	12	17,11			0,22		0,02	Jobb oldali herében seminoma, SCT, Leydig-sejtes tumor, parenhimában leállt a spermatogenezis, és összenyomatódott. Bal oldalon pedig Sertoli- és Leydig-sejtes tumor, mely körül makrofágos és plazmacitás beszűrődés, illetve nekrozis található.
26	Border collie	22	3	>23, 7			1,38			Egyoldali, hasúri rejtett here, melynek mérete kisebb
27	Beagle	9,3	5,1	29,06		3,24	0,42	0,09	0,05	
28	Beagle	9	5	75,9		9,59	1,06			
29	Sheltie	10	1	71,1				0,08 (D24)		

A teljes általunk vizsgált populációban az AMH-t jellemző felezési idő $2,85 \pm 0,51$ nap volt. Egészséges szuka kutyákban vizsgálva $2,7 \pm 0,42$ nap, míg a 2 utókövetett ORS miatt műtött állatban (a 3. állat esetében nem volt lehetséges az utókövetés) $3,37 \pm 0,76$ nap, az egészséges, kétoldali scrotalis herékkel rendelkező kanokban $3,03 \pm 0,57$ nap, heredaganatos páciensek esetén $3,16 \pm 0,43$, a 4 egyoldali rejtett heréjű állatokban pedig $2,49 \pm 0,34$ nap alatt feleződött az AMH szérumszint. A csoportokban meghatározott felezési idők tekintetében azonban nem mutatkozott szignifikáns különbség ($P=0,120$).



5. ábra: Az egészséges és az elváltozott herékkel rendelkező kanok szérumszintje

7. Megbeszélés

A vizsgálatunk során alkalmazott humán specifikus ellenanyagot alkalmazó CLIA mérések során kapott eredmények ugyanazon tartományban, valamint hasonló referencia értékek között mozogtak, mint a több publikációban említett Laboklin (Laboklin GmbH & Co. KG, Bad Kissingen, Germany) által végzett, szintén humán specifikus ellenanyag kemilumineszcens detektálásán alapuló mérés [25, 42]. Ez biztosítékként szolgál arra nézve, hogy az általunk alkalmazott, jelenleg validálás alatt álló módszerrel, egy az előbbihez hasonlóan megbízható és jól alkalmazható mérési lehetőséghez jutottunk.

A jelen tanulmány során azt tapasztaltuk, hogy a hím állatok esetében a vérérum AMH-koncentrációja magasabbnak bizonyult, mint nőstény állatok esetében, ahogyan ezt korábbi tanulmányok is jelentették [15, 19, 32]. Ép gonádokkal rendelkező szukák esetében, már a harmadik napra jelentős hormon koncentráció esést tapasztaltunk, ami a hetedik napra további szignifikáns csökkenést mutatott, ami egy 2020-as tanulmányhoz hasonlóan azt igazolja, hogy a szérum AMH-koncentráció az ivartalanítás után számottevően csökken [73]. Azonban a fent említett tanulmányban, az AMH analízishez használt ELISA-kit nem egyezett a TDK dolgozatban bemutatott kutatás során alkalmazott módszerrel, így az általunk bemutatott eredmények és a tanulmányban feltüntetett paraméterek nem hasonlíthatók össze közvetlenül [73]. A 14. napra minden szuka hormonszintje szignifikánsan csökkent, így megközelítve az alap hormonszintet (0,01-0,04 ng/ml). Ezek az értékek nem mutattak átfedést a műtét előtti (0. napi) hormonszintekkel (0,07-1,71 ng/ml). Ezzel ellentétben Place és munkatársai átfedő tartományokról számoltak be az intakt és legalább 9 napja ivartalanított szukák hormonszintjei esetében, amit azzal magyaráztak, hogy a vizsgálatba vont egyedek között alacsony AMH-koncentrációval rendelkező, prepubertális korú egyedek is voltak [17]. Walter és munkatársai, jelen vizsgálathoz hasonlóan CLIA alapú mérést alkalmaztak, és hasonló eredményt kaptak a vizsgálatuk során [25]. Felnőtt korban ivartalanított szukákból a műtétet követő 10. napon vett vér AMH-koncentrációja 0,01-0,06 ng/ml közé esett, ami jelentősen alacsonyabb volt, mint az intakt egyedekben mérhető koncentráció (0,19-1,45 ng/ml) [25]. A felnőtt nőstény kutyákon végzett vizsgálataink alapján azt mondhatjuk, hogy a szérum AMH-koncentrációja alkalmas az intakt/ivartalanított állapot megkülönböztetésére, ha az ivartalanítás után legkorábban 14 nappal mérik.

Mindhárom ORS-sel rendelkező nősténynél mérhető volt az AMH-koncentráció, bár az egyik kutyánál a kiindulási alapérték közelében volt (0,07 ng/ml) a hormonkoncentráció. A szérum

progeszteronszintje a kiindulási érték felett volt, és luteinizált szövetre utalt, amit szövettani vizsgálat is megerősített. A másik két szukánál sárgatestet igazoltak, és az AMH szintje hasonló volt a normális, ép szukák szintjéhez. Ezen eredmények alapján, más szerzőkhöz hasonlóan mi is javasoljuk a szérumszám AMH és progeszteron egyidejű mérését a kérdéses vagy nem kimutatható AMH eredményekkel rendelkező ORS esetekben [24].

A hím kutyák esetében azt találtuk, hogy a szérumszám AMH szintje 14. nappal csökkent, és a 28. nappal szignifikánsan alacsonyabb volt, illetve a kiindulási értékhez közel vagy annak szintjén volt (0,02-0,12 ng/ml) az ivartalanítás előtti koncentrációhoz képest. Ez hasonló a korábbi tanulmányokhoz, amelyek különböző csoportokban kimutatták, hogy a sebészileg kasztrált hímek AMH-koncentrációja jelentősen alacsonyabb, mint az intakt állatoké [19, 22, 23]. Azonban olyan hosszútávú vizsgálatot, amely a kan kutyák egyéni AMH-profilját követte volna az ivartalanítás után, még nem végeztek. Vizsgálatunk azt mutatja, hogy az ivarszervek elváltozásaival rendelkező vagy nem rendelkező felnőtt kan kutyák esetében a szérumszám AMH-koncentráció alkalmas az intakt és a kasztrált státusz megkülönböztetésére, ha legkorábban 28 nappal a műtét után méri.

Vizsgálatunk fontos eredménye volt az AMH szérumszám felezési idejének meghatározása, amelyről korábban még nem számoltak be. A szérumszám felezési ideje átlagosan $2,85 \pm 0,51$ nap volt a teljes vizsgálati populációban, és nem különbözött a nemek és az ivarszervi patológiás folyamattal rendelkező állatok csoportjai között, ami lehetővé teszi a különböző kutyapopulációkban való felhasználását. Ez a tapasztalat hasznos a klinikai gyakorlatban az egyes kutyák várható AMH-profiljának meghatározásához, és bizonyos esetekben, például a granulosa- vagy Sertoli-sejtes tumorok metasztatizálásának kizárásához ajánlott ismételt ellenőrző vizsgálat szempontjából.

A heredaganat miatt műtetre érkező egyedek esetében, ahol a két scrotalis here vizsgálata alapján Leydig-sejtes, Sertoli-sejtes tumor, valamint seminoma jelenlétét igazoltuk szignifikánsan magasabb AMH-koncentrációt mértünk, mint azon társaik esetében, ahol a herék épek voltak. Ismeretes, hogy Sertoli-sejtes tumorral rendelkező állatokban az AMH szérumszámkoncentrációja megemelkedik, ami hozzájárulhatott a megnövekedett AMH-szérumszámhoz (17,11 ng/ml) a vizsgálatunkban szereplő egyik kutyánál, amelynek heréiben Sertoli-sejtes tumor, valamint Leydig-sejtes tumor és szeminóma volt [23, 27, 57, 66, 74]. Ugyanakkor a szeminómákat és Leydig-sejtes tumorokat tartalmazó kutya herék parenchimájában és az atrófiás herékben is megnövekedett AMH-szérumszámot mértünk [55,

74, 75]. Vizsgálatunkban a daganatokat körülvevő hereparenchima mechanikus összenyomása, valamint a daganatok fokozott és tartós tesztoszteron- és/vagy ösztrogénszekréciójából származó negatív hormonális visszacsatolás hozzájárulhatott a herék különböző mértékű atrófiájához és a spermatogenezis elnyomásához valamennyi kutyánál, és ezáltal a megnövekedett szérum AMH-szintekhez. Érdekes módon a legmagasabb szérum AMH-értéket (24,26 ng/ml) abban a kutyában találták, amelynek egyik heréje teljesen atrofizált volt, a szeminiferosus tubulusokban leállt a spermatogenezis, és csak a Sertoli-sejtek voltak kórosak. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a kutyák heredaganatai esetében a magas AMH-szérumszint nem feltétlenül jelzi a Sertoli-sejtes tumor jelenlétét, ahol a tumorsejtek fokozott mennyiségű AMH-t termelnek, hanem az atrófiás hereparenchima Sertoli-sejtjei is hozzájárulhatnak a fokozott AMH-termeléshez, függetlenül a herében jelen lévő tumortípustól.

Azonban jelen kísérletben azon állatok AMH szintje is magasabb volt, akiket Leydig-sejtes tumorról, illetve szeminomával diagnosztizáltak, amit már korábbi tanulmányokban is leírtak [74, 75]. Jelen TDK során az atrofizált here esetében is magasabb hormon koncentrációt találtunk, amit egy másik cikk is leír [55]. Összességében az mondható, hogy a heredaganatok esetében emelkedett AMH-koncentrációval találkozhatunk, tehát ez nem jelzi specifikusan a Sertoli-sejtes tumor jelenlétét. A fokozott AMH termelődés származhat a szomszédos atrofizált heréből, illetve a tumorban vagy annak környezetében lévő Sertoli-sejtekből, például szeminomából.

Azon kanoknál, amelyeket rejtett herével diagnosztizáltak, szintén emelkedett AMH-koncentrációval találoztunk, mely túllépte a maximálisan mérhető koncentrációt, és megerősítette a korábbi tanulmányok eredményeit [23, 74]. Nem meglepő módon a vizsgálatban az egyoldalú hasúri rejtettherékkel rendelkező négy kutya szérum AMH-koncentrációja volt a legmagasabb. Ez összhangban van a korábbi tanulmányokkal, amelyek alkalmanként magas AMH fehérjeexpressziót mutattak ki a le nem szálló, valamint néhány leszállt heréjű kriptorhid állatban, és a magas AMH-szérumszintek társultak egy másik tanulmányban a csak Sertoli-sejtes elváltozással jellemezhető hereatrófiával egyoldali kriptorchidás kutyákban [62, 74]. Bár ezeknél a kutyáknál nem végeztek szövettani vizsgálatot, a herék makroszkópos értékelése során nem találtak tumort. Ezért azt gyanítjuk, hogy a magas szérum AMH-szint ebben a csoportban a herék atrófiájának köszönhető, ami fokozott AMH-kibocsátást eredményezett.

Jelen kísérlet limitációjaként fogalmazzuk meg, hogy viszonylag kevés állatot tudunk bevinni a kísérletbe, illetve, hogy az esetek utókövetése, ezáltal egyes mintavételek az egyedek egy részében nem volt megoldható, a vizsgálat klinikai jellegéből adódóan, illetve az állattulajdonosok hajlandóságának változása miatt. Mindezek ellenére azonban sikerült érdemi eredményeket megfogalmazni a AMH szérumszint koncentráció rövid idővel az ivartalanítást követően mutatott változásáról, valamint ezen adatok szerepéről az ivari státusz meghatározását célzó klinikai alkalmazás vonatkozásában, szukák és kanok esetében. az ivari státusz meghatározásának időzítéséről a klinikai gyakorlat terén. A normális ivarszervekkel rendelkező nőstény és kan kutyáink mindegyike beagle volt, és a testméret és az életkor bizonyítottan befolyásolja a szérumszint AMH-szintjét az ösztroosz idején mintavételezett felnőtt nőstény kutyáknál [28]. Hollinshead és munkatársai tanulmányában azonban csak az óriás méretű kutyáknál találtak különbségeket a szérumszint AMH szintben, amelyeknek alacsonyabb volt a koncentrációja az többi fajtához képest, illetve a szerzők más vizsgálatot használtak [28]. Ezért nem valószínű, hogy a fajtakülönbségek befolyásolták eredményeinket az ivartalanítás utáni AMH-változásokkal összefüggésben, különös tekintettel arra, hogy a kezdeti AMH-koncentrációk széles spektrumát vizsgáltuk.

Összegzésként megállapíthatjuk, hogy e tanulmány jelentősége többrétű. Ami azt az időpontokat illeti, amikor az AMH-koncentráció elérte a kiindulási szintet vagy ahhoz közeli szintet, arra következtetünk, hogy a szérumszint AMH-t az intakt és az ivartalanított/herélt kutyák megkülönböztetésére lehet használni, szukák esetében legkorábban 14 nappal, kanok esetében pedig 28 nappal az ivartalanítás után. Az AMH átlagos $2,85 \pm 0,51$ napos szérumszint felezési idejének ebben a vizsgálatban meghatározott átlaga alapján az AMH-koncentráció újbóli ellenőrzésének időzítése bizonyos betegknél és klinikai esetekben most már pontosabban elvégezhető ezen információ felhasználásával. A kriotorhidizmus és heredaganatok esetén a hereparenhima bizonyos fokú sorvadása következtében megnövekedett AMH-szérumszint várható, ebből pedig az következik, hogy a kizárólag Sertoli-sejtes típusú daganaton kívüli heretumorok jelenléte is vezethet megnövekedett szérumszint AMH-koncentrációhoz.

8. Összefoglalás

Az ivari differenciáció fontos faktoraként ismert anti-Müllerian hormon (AMH), elsősorban az asszisztált reprodukció területén széles körben elterjedt diagnosztikai markerré vált az utóbbi évtizedekben. A kisállatpraxisban is megfigyelhető növekvő jelentőségét magyarázza, hogy a posztnatális időszakban is megjelenik a vérben. Hímnemű egyedekben egyedüli forrásként a here Sertoli sejtei, nőneműekben pedig a kisebb folliculusok granulosa sejtei termelik, így vérszintjének meghatározása alkalmazható az intakt és ivartalanított egyedek elkülönítésére, valamint a rejtettheréjűség, az ovarian remnant szindróma (ORS), petefészek elváltozások, Sertoli-, illetve granulosa sejt daganatok diagnosztikájában, emellett felmerül a fertilitási markerként történő alkalmazásának lehetősége. A kutya AMH szérumszintjének alakulásáról született eltérő elrendezésű vizsgálatokon alapuló publikációk a mérési módszerek különbözősége miatt is némileg eltérő eredményeket közöltek. Munkám során a Szülészeti klinikára érkező egészséges, ivartalanítás céljából, valamint ivarszervi rendellenesség miatt műtétre kerülő ivarérett nőstény és hím kutyákból gyűjtöttem vérmintákat. Közvetlenül a műtéti beavatkozás előtt (0. nap), majd az azt követő 3., 7., 14., és 28. napokon levett vérmintákból egy kutyára vizsgálatunkkal egy időben validált immun-kemilumineszcens módszerrel határoztuk meg a szérum AMH-koncentrációkat, majd elvégeztük a statisztikai értékelést. Az eltávolított gonádok makroszkópos vizsgálata mellett heredaganat és ORS esetén azok szövettani feldolgozását is elvégeztük. A vizsgálatba vont összesen 15 különböző fajtájú, 1,3-14,5 éves szuka kutyából 12 rutin ivartalanításon esett át, 3 állatnál ORS műtéti ellátása volt a cél. A 14 különböző fajtájú, 1-13 éves kan között 7 egészséges, 3 heredaganattal és 4 rejtettheréjűséggel diagnosztizált betegből vettünk mintát. Nemenként, valamint a gonádokat érintő elváltozások alapján kialakított csoportonként szignifikánsan ($P < 0,05$) eltérő 0. napi átlagos AMH-koncentrációk folyamatos csökkenését figyeltük meg a műtétet követő időpontokban. A szukákban mért vérszintek a 14. nappal alapszintre csökkentek, míg egészséges kanokban a 0. napon mért szignifikánsan magasabb kiindulási értékek csak a 21-28. nappal érték el azt. Meghatároztuk az AMH felezési idejét az egyes csoportokban, valamint az egyes időpontokban mért, az ivartalanított és ivaros (egészséges, vagy elváltozott gonáddal rendelkező) állatok elkülönítésére alkalmas határértékeket. A kutatás alapján meghatározott határértékek segíthetik a kollégákat egy általuk is elérhető, egyre szélesebb körben alkalmazható mérési módszerrel nyerhető eredmények helyes értékelésében. Például segítséget nyújtanak az ivarszervi elváltozások diagnosztikájában, illetve megadják, hogy ORS vagy hereelváltozások esetén, hány nappal a beavatkozást követően igazolható a gonád teljes

eltávolítása egy ismételt AMH méréssel, illetve heredaganat esetében mikor kell áttét meglétére gondolni.

9. Summary

The anti-Müllerian hormone (AMH), known as an important factor in reproductive differentiation, has become a widely used diagnostic marker in the field of assisted reproduction in recent decades. Its increasing importance in small animal practice is explained by its presence in the blood in the postnatal period. In males, it is exclusively produced by Sertoli cells of the testis and in females only by granulosa cells of smaller follicles. Therefore, its determination in the blood is used to differentiate intact from castrated/spayed animals and can also help in the diagnosis of cryptorchidism, ovarian remnant syndrome (ORS), ovarian lesions, Sertoli and granulosa cell tumours, as well as being a fertility marker. There are slightly different results in the literature about serum AMH levels in dogs due to differences in experimental designs and hormone assays used in these studies. During my work, I collected blood samples from healthy, reproductively mature female and male dogs presented to the Obstetrics Clinic for routine spay and neuter, and from male and female dogs undergoing surgery for gonadal abnormalities. Blood samples taken immediately before surgery (day 0) and on days 3, 7, 14 and 28 after surgery were analyzed for serum AMH concentrations by a chemiluminescence immunoassay (CLIA) validated for dogs (at the same time as our study), and data were statistically evaluated. In addition to macroscopic examination of the removed gonads, histopathological evaluation of testicular tumours and ORS was also performed. Out of a total of 15 female dogs of different breeds, aged 1.3-14.5 years, 12 dogs underwent routine neutering and 3 animals underwent surgical treatment for ORS. Among the 14 males of different breeds, aged 1-13 years that were sampled, 7 had normal gonads, 3 had testicular tumours and 4 had unilateral abdominal cryptorchid testes. Initial serum AMH differed significantly ($P < 0.05$) between groups created according to sex and gonadal lesions, and we observed a continuous decrease in mean AMH concentrations during the postoperative period in all groups. Serum levels in bitches decreased to baseline by day 14, whereas the significantly higher baseline levels in healthy male dogs reached baseline only by days 21-28. We determined serum AMH half-life in each group and the limit values at each time point to separate neutered and intact animals (healthy or with gonadal abnormality). The results of our study will help veterinarians to correctly evaluate the hormone level values obtained using a measurement method that they can apply more widely in various clinically important instances such as diagnosing gonadal disorders. In the case of an ORS or testicular abnormality, it also helps to define how many days after surgery can complete removal be confirmed by a repeat AMH measurement, and in the latter case, when should metastasis be considered.

10. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr Müller Lindának, aki sok jó tanáccsal és segítséggel látott el, illetve az érdekesítő és jelentőségteljes témáért, amit választott. Köszönetet szeretnék mondani a családomnak és a barátaimnak, akik segítettek és támogattak mindenben.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Balogh Orsolyának a kutatás tervezésében, valamint az eredmények kiértékelésében nyújtott segítségéért, valamint Dr. Somogyi Zoltánnak, aki segített a felezési idők meghatározásában. A hormonszintek meghatározása PraxisLab állatorvosi laboratóriumban történt. A szakmai segítségért és a mérések elvégzéséért ezúton is szeretnék köszönetet mondani Dr. Balogh Nándornak, Paksi Krisztinának és Finta Csillának.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: AZ EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005, címe: Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával).

11. Irodalomjegyzék

1. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, Tizard R, Farber NM, Cheung A, Ninfa EG, Frey AZ, Gash DJ, Chow EP, Fisher RA, Bertonis JM, Torres G, Wallner BP, Ramachandran KL, Ragin RC, Manganaro TF, MacLaughlin DT, Donahoe PK (1986) Isolation of the bovine and human genes for müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 45:685–698. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90783-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90783-X)
2. Meyers-Wallen VN, Manganaro TF, Kuroda T, Concannon PW, MacLaughlin DT, Donahoe PK (1991) The Critical Period for Mullerian Duct Regression in the Dog Embryo. *Biology of Reproduction* 45:626–633. <https://doi.org/10.1095/biolreprod45.4.626>
3. Walter B (2020) Anti-Müllerian hormone in dogs and cats reproduction. *Reprod Dom Anim* 55:26–31. <https://doi.org/10.1111/rda.13603>
4. Young J, Rey R, Couzinet B, Chanson P, Josso N, Schaison G (1999) Antimüllerian Hormone in Patients with Hypogonadotropic Hypogonadism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84:2696–2699. <https://doi.org/10.1210/jcem.84.8.5972>
5. Problems of fetal endocrinology: The gonadal and hypophyseal hormones | CiNii Research. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1573950400761073536>. Accessed 13 Aug 2022
6. Turna Yilmaz Ö, Toydemir TSF, Kirsan I, Gunay Ucmak Z, Caliskan Karacam E (2015) Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches. *Vet Res Commun* 39:159–162. <https://doi.org/10.1007/s11259-015-9639-0>
7. Nagashima J, Hansen B, Songsasen N, Travis A, Place N (2016) Anti-Müllerian Hormone in the Domestic Dog during the Anestrus to Oestrous Transition. *Reprod Dom Anim* 51:158–164. <https://doi.org/10.1111/rda.12660>
8. Pellatt L, Rice S, Dilaver N, Heshri A, Galea R, Brincat M, Brown K, Simpson ER, Mason HD (2011) Anti-Müllerian hormone reduces follicle sensitivity to follicle-stimulating hormone in human granulosa cells. *Fertility and Sterility* 96:1246-1251.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.08.015>
9. Visser JA, de Jong FH, Laven JSE, Themmen APN (2006) Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 131:1–9. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00529>
10. Durlinger ALL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JThJ, Grootegoed JA, Themmen APN (1999) Control of Primordial Follicle Recruitment by Anti-Müllerian Hormone in the Mouse Ovary. *Endocrinology* 140:5789–5796. <https://doi.org/10.1210/endo.140.12.7204>
11. Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, Rose UM, de Jong FH, Uilenbroek JThJ, Grootegoed JA, Themmen APN (2001) Anti-Müllerian Hormone Attenuates the Effects of FSH on Follicle Development in the Mouse Ovary. *Endocrinology* 142:4891–4899. <https://doi.org/10.1210/endo.142.11.8486>
12. Durlinger A, Visser J, Themmen A (2002) Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 601–609. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1240601>

13. Allahbadia G, Ata B, Lindheim SR, Woodward B, Bhagavath B (2020) Textbook of assisted reproduction. Springer, Singapore
14. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artenisio AC, Stabile G, Volpe A (2010) Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update* 16:113–130. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp036>
15. Al-Qahtani A, Muttukrishna S, Appasamy M, Johns J, Cranfield M, Visser JA, Themmen APN, Groome NP (2005) Development of a sensitive enzyme immunoassay for anti-Mullerian hormone and the evaluation of potential clinical applications in males and females. *Clin Endocrinol* 63:267–273. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02336.x>
16. Matuszczak E, Hermanowicz A, Komarowska M, Debek W (2013) Serum AMH in Physiology and Pathology of Male Gonads. *International Journal of Endocrinology* 2013:1–6. <https://doi.org/10.1155/2013/128907>
17. Place NJ, Hansen BS, Cheraskin J-L, Cudney SE, Flanders JA, Newmark AD, Barry B, Scarlett JM (2011) Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy. *J VET Diagn Invest* 23:524–527. <https://doi.org/10.1177/1040638711403428>
18. Kumar A, Kalra B, Patel A, McDavid L, Roudebush WE (2010) Development of a second generation anti-Müllerian hormone (AMH) ELISA. *Journal of Immunological Methods* 362:51–59. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2010.08.011>
19. Themmen APN, Kalra B, Visser JA, Kumar A, Savjani G, de Gier J, Jaques S (2016) The use of anti-Müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy status in dogs. *Theriogenology* 86:1467–1474. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.05.004>
20. Alm H, Holst BS (2018) Identifying ovarian tissue in the bitch using anti-Müllerian hormone (AMH) or luteinizing hormone (LH). *Theriogenology* 106:15–20. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.028>
21. Axné E, Ström Holst B (2015) Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology* 83:817–821. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.11.016>
22. Gharagozlou F, Youssefi R, Akbarinejad V, Mohammadkhani NI, Shahpoorzadeh T (2014) Anti-Müllerian hormone: a potential biomarker for differential diagnosis of cryptorchidism in dogs. *Veterinary Record* 175:460–460. <https://doi.org/10.1136/vr.102611>
23. Holst B (2017) Diagnostic possibilities from a serum sample-Clinical value of new methods within small animal reproduction, with focus on anti-Müllerian hormone. *Reprod Dom Anim* 52:303–309. <https://doi.org/10.1111/rda.12856>
24. Place NJ, Cheraskin J-L, Hansen BS (2019) Evaluation of combined assessments of serum anti-Müllerian hormone and progesterone concentrations for the diagnosis of ovarian remnant syndrome in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 254:1067–1072. <https://doi.org/10.2460/javma.254.9.1067>

25. Walter B, Feulner H, Otzdorff C, Klein R, Reese S, Meyer-Lindenberg A (2019) Changes in anti-Müllerian hormone concentrations in bitches throughout the oestrous cycle. *Theriogenology* 127:114–119. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.007>
26. Pir Yagci I, Pekcan M, Polat I, Kalender H, Macun H (2016) Does serum anti-Müllerian hormone levels always discriminate presence of the ovaries in adult bitches? Comparison of two ELISA kits. *Reprod Dom Anim* 51:910–915. <https://doi.org/10.1111/rda.12757>
27. Holst BS, Dreimanis U (2015) Anti-Müllerian hormone: a potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumours. *BMC Vet Res* 11:166. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0487-5>
28. Hollinshead F, Walker C, Hanlon D (2017) Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reprod Dom Anim* 52:35–40. <https://doi.org/10.1111/rda.12822>
29. Groome NP, Cranfield M, Themmen APN, Savjani GV, Mehta K (2011) Immunological assay and antibodies for anti-mullerian hormone
30. Hagen CP, Mouritsen A, Mieritz MG, Tinggaard J, Wohlfart-Veje C, Fallentin E, Brocks V, Sundberg K, Jensen LN, Anderson RA, Juul A, Main KM (2015) Circulating AMH Reflects Ovarian Morphology by Magnetic Resonance Imaging and 3D Ultrasound in 121 Healthy Girls. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100:880–890. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3336>
31. Bedaiwy MA, Mahfouz RZ, Kubaney HR, Plautz GE, Hurd W, Falcone T (2010) The role of anti-müllerian hormone (AMH) in prepubertal gonadal reserve screening. *Fertility and Sterility* 94:S46. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.07.179>
32. Walter B, Flock U, Leykam C, Otzdorff C, Simmet K, Hecht W, Kempker L, Aupperle-Lellbach H, Reese S (2022) Serum anti-Müllerian hormone concentration as a diagnostic tool to identify testicular tissue in canine disorders of sexual development. *Domestic Animal Endocrinology* 78:106654. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2021.106654>
33. Scheffer GJ, Broekmans FJM, Looman CWN, Blankenstein M, Fauser BCJM, de Jong FH, te Velde ER (2003) The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Human Reproduction* 18:700–706. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg135>
34. te Velde ER, Scheffer GJ, Dorland M, Broekmans FJ, Fauser BCJM (1998) Developmental and endocrine aspects of normal ovarian aging. *Molecular and Cellular Endocrinology* 145:67–73. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(98\)00171-3](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(98)00171-3)
35. Sahmay S, Oncul M, Tuten A, Tok A, Acikgoz AS, Cepni I (2014) Anti-Müllerian hormone levels as a predictor of the pregnancy rate in women of advanced reproductive age. *J Assist Reprod Genet* 31:1469–1474. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0324-y>
36. Dólleman M, Depmann M, Eijkemans MJC, Heimensem J, Broer SL, van der Stroom EM, Laven JSE, Van Rooij IAJ, Scheffer GJ, Peeters PHM, van der Schouw YT, Lambalk CB, Broekmans FJM (2014) Anti-Müllerian hormone is a more accurate predictor of individual time to menopause than mother's age at menopause. *Human Reproduction* 29:584–591. <https://doi.org/10.1093/humrep/det446>

37. Behringer RR, Finegold MJ, Cate RL (1994) Müllerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell* 79:415–425. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90251-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90251-8)
38. Wallace MS (1991) The Ovarian Remnant Syndrome in the Bitch and Queen. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 21:501–507. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(91\)50056-5](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(91)50056-5)
39. Howe LM (2006) Surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology* 66:500–509. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.005>
40. Buijtels JJCWM, de Gier J, Kooistra HS, Naan EC, Oei CHY, Okkens AC (2011) The pituitary-ovarian axis in dogs with remnant ovarian tissue. *Theriogenology* 75:742–751. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.10.015>
41. Walter B, Coelfen A, Jäger K, Reese S, Meyer-Lindenberg A, Aupperle-Lellbach H (2018) Anti-Müllerian hormone concentration in bitches with histopathologically diagnosed ovarian tumours and cysts. *Reprod Dom Anim* 53:784–792. <https://doi.org/10.1111/rda.13171>
42. Sontas BH, Gürbulak K, Ekici H (2007) Ovarian remnant syndrome in the bitch: a literature review. *Arch med vet* 39:. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2007000200002>
43. Johnston SD Root Kustritz, Margaret V, Olson, Patricia S, (2001) *Canine and feline theriogenology*. Saunders, Philadelphia, PA
44. Ball RL, Birchard SJ, May LR, Threlfall WR, Young GS (2010) Ovarian remnant syndrome in dogs and cats: 21 cases (2000–2007). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 236:548–553. <https://doi.org/10.2460/javma.236.5.548>
45. Perkins NR, Frazer GS (1995) Ovarian remnant syndrome in a Toy Poodle: A case report. *Theriogenology* 44:307–312. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00185-B](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00185-B)
46. Arlt S, Haimerl P (2016) Cystic ovaries and ovarian neoplasia in the female dog - a systematic review. *Reprod Dom Anim* 51:3–11. <https://doi.org/10.1111/rda.12781>
47. Laven JSE, Mulders AGMGJ, Visser JA, Themmen AP, de Jong FH, Fauser BCJM (2004) Anti-Müllerian Hormone Serum Concentrations in Normoovulatory and Anovulatory Women of Reproductive Age. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89:318–323. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030932>
48. Diez-Bru N, Garcia-Real I, Martinez EM, Rollan E, Mayenco A, Llorens P (1998) ULTRASONOGRAPHIC APPEARANCE OF OVARIAN TUMORS IN 10 DOGS. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 39:226–233. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1998.tb00345.x>
49. Patnaik AK, Greenlee PG (1987) Canine Ovarian Neoplasms: A Clinicopathologic Study of 71 Cases, Including Histology of 12 Granulosa Cell Tumors. *Vet Pathol* 24:509–514. <https://doi.org/10.1177/030098588702400607>
50. Nielsen SW, Kennedy PC (1990) Tumors of the genital systems. *Tumors in domestic animals* 3:498–502

51. Rey R (2000) Anti-Müllerian hormone is a specific marker of Sertoli- and granulosa-cell origin in gonadal tumors. *Human Pathology* 31:1202–1208. <https://doi.org/10.1053/hupa.2000.18498>
52. (2015) Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Elsevier
53. Balogh O, Somoskői B, Kollár E, Kowalewski MP, Gram A, Reichler IM, Klein R, Kawate N, Mester L, Walter B, Müller L (2021) Anti-Müllerian hormone, testosterone, and insulin-like peptide 3 as biomarkers of Sertoli and Leydig cell function during deslorelin-induced testicular downregulation in the dog. *Theriogenology* 175:100–110. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.08.017>
54. Xu H-Y, Zhang H-X, Xiao Z, Qiao J, Li R (2019) Regulation of anti-Müllerian hormone (AMH) in males and the associations of serum AMH with the disorders of male fertility. *Asian J Androl* 21:109–114. https://doi.org/10.4103/aja.aja_83_18
55. Giudice C, Banco B, Veronesi MC, Ferrari A, Di Nardo A, Grieco V (2014) Immunohistochemical Expression of Markers of Immaturity in Sertoli and Seminal Cells in Canine Testicular Atrophy. *Journal of Comparative Pathology* 150:208–215. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2013.08.001>
56. England GCW (1995) Ultrasonographic diagnosis of non-palpable Sertoli cell tumours in infertile dogs. *J Small Animal Practice* 36:476–480. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1995.tb02785.x>
57. Banco B, Veronesi MC, Giudice C, Rota A, Grieco V (2012) Immunohistochemical Evaluation of the Expression of Anti-Müllerian Hormone in Mature, Immature and Neoplastic Canine Sertoli Cells. *Journal of Comparative Pathology* 146:18–23. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2011.03.011>
58. Andersson E Testosterone and Anti-Müllerian Hormone (AMH) in lean and overweight Labrador retrievers. 28
59. Rey R, Lordereau-Richard I, Carel JC, Barbet P, Cate RL, Roger M, Chaussain JL, Josso N (1993) Anti-müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely during normal and precocious pubertal development. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 77:1220–1226. <https://doi.org/10.1210/jcem.77.5.8077315>
60. Romagnoli SE (1991) Canine Cryptorchidism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 21:533–544. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(91\)50059-0](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(91)50059-0)
61. Khan FA, Gartley CJ, Khanam A (2018) Canine cryptorchidism: An update. *Reprod Dom Anim* 53:1263–1270. <https://doi.org/10.1111/rda.13231>
62. Leykam C, Otzdorff C, Flock U, Kempker L, Aupperle H, Coelfen A, Meyer-Lindenberg A, Walter B (2018) Anti-Mullerian hormone concentration in dogs with unilateral cryptorchidism. In: *Reproduction in Domestic Animals*. WILEY 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA, pp 22–23
63. Reif JS, Maguire TG, Kenney RM, Brodey RS (1979) A cohort study of canine testicular neoplasia. *J Am Vet Med Assoc* 175:719–723

64. Lee MM, Donahoe PK, Silverman BL, Hasegawa T, Hasegawa Y, Gustafson ML, Chang Y, MacLaughlin DT (1997) Measurements of Serum Müllerian Inhibiting Substance in the Evaluation of Children with Nonpalpable Gonads. *N Engl J Med* 336:1480–1486. <https://doi.org/10.1056/NEJM199705223362102>
65. Hong S, Lee H-A, Han S-J, Kim O (2011) Spontaneous Sertoli Cell Tumor with Cryptorchism in a Beagle Dog. *Lab Anim Res* 27:177. <https://doi.org/10.5625/lar.2011.27.2.177>
66. Ano H, Hidaka Y, Katamoto H (2014) Evaluation of anti-Müllerian hormone in a dog with a Sertoli cell tumour. *Vet Dermatol* 25:142-e41. <https://doi.org/10.1111/vde.12112>
67. Balogh O, Müller L, Klein R, Walter B, Kowalewski MP, Reichler IM (2018) Serum concentration and testicular expression of anti-Müllerian hormone in adult male Beagles treated with a 4.7 mg deslorelin implant. In: Abstract proceedings of the 21st EVSSAR congress. p 160
68. Olson PN, Nett TM, Bowen RA, Amann RP, Sawyer HR, Gorell TA, Niswender GD, Pickett BW, Phemister RD (1986) A need for sterilization, contraceptives, and abortifacients: abandoned and unwanted pets. I. Current methods of sterilizing pets. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*
69. Schneider R, Dorn CR, Taylor DON (1969) Factors Influencing Canine Mammary Cancer Development and Postsurgical Survival. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 43:1249–1261. <https://doi.org/10.1093/jnci/43.6.1249>
70. Brendler CB, Berry SJ, Ewing LL, McCullough AR, Cochran RC, Strandberg JD, Zirkin BR, Coffey DS, Wheaton LG, Hiler ML, Bordy MJ, Niswender GD, Scott WW, Walsh PC (1983) Spontaneous benign prostatic hyperplasia in the beagle. Age-associated changes in serum hormone levels, and the morphology and secretory function of the canine prostate. *J Clin Invest* 71:1114–1123. <https://doi.org/10.1172/JCI110861>
71. Monniaux D, Drouilhet L, Rico C, Estienne A, Jarrier P, Touzé J-L, Sapa J, Phocas F, Dupont J, Dalbiès-Tran R, Fabre S (2013) Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reprod Fertil Dev* 25:1. <https://doi.org/10.1071/RD12270>
72. La Marca A, De Leo V, Giulini S, Orvieto R, Malmusi S, Giannella L, Volpe A (2005) Anti-Müllerian Hormone in Premenopausal Women and After Spontaneous or Surgically Induced Menopause. *Reprod Sci* 12:545–548. <https://doi.org/10.1016/j.jsrg.2005.06.001>
73. Anadol E, Gultiken N, Yarim GF, Karaca E, Kanca H, Yarim M (2020) Polish Journal of Veterinary Sciences. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. <https://doi.org/10.24425/PJVS.2020.134683>
74. Pecile A, Groppetti D, Pizzi G, Banco B, Bronzo V, Giudice C, Grieco V (2021) Immunohistochemical insights into a hidden pathology: Canine cryptorchidism. *Theriogenology* 176:43–53. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.09.011>
75. Otdorff C, Aupperle-Lellbach H, Walter B (2022) High Anti-Müllerian hormone concentration in a dog with testicular degeneration

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott Dr. Müller Linda, mint témavezető nyilatkozom, hogy Soós Eszter Kincső állatorvostan-hallgató „Az Anti-Müllerian hormon szérumszint meghatározás szerepe a gonadális elváltozások diagnosztikájában és az ivari státusz meghatározása során kutyában” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2022. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2022.10.hó 14.nap.

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke, positioned above a dotted line.

témavezető

NYILATKOZAT

Alulírott Soós Eszter Kincső nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe Az Anti-Müllerian hormon szérumszint meghatározás szerepe a gonádalis elváltozások diagnosztikájában és az ivari státusz meghatározásában során kutyákon tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2022 évi TDK konferencián szerepelt dolgozattal.

Budapest, 2023. 10. 19.

Soós Eszter Kincső



a hallgató neve és aláírása



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Soós Eszter Kincső

Neptun-kódja: C90Z05

A témavezető neve és beosztása: Müller Linda, egyetemi adjunktus

Tanszék: Szülészeti Tanszék és Haszonállat-gyógyászati Klinika

A diplomadolgozat címe: Az Anti-Müllerián hormon szérumszint meghatározás szerepe a gonadális elváltozások diagnosztikájában és az ivari státusz meghatározása során kutyában

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022	02	18	A témaválasztás megbeszélése	
2.	2022	03	10	Főbb fejezetek, formai követelmények	
3.	2022	04	21	A mintagyűjtési feladatok megbeszélése	
4.	2022	05	17	Az irodalmi összefoglaló készítésének tervezése, az irodalomkutatás módja	
5.	2022	06	17	Az eredmények elemzése	

Érdemjegy az első félév végén: jeles (5)

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022	07	04	A következtetések és a megbeszélés fejezet	
2.	2022	09	13	Az anyag és módszer rész véglegesítése	
3.	2022	10	16	A dolgozat végső ellenőrzése, véglegesítése	
4.	2022	11	10	A prezentáció elkészítése	
5.	2022	11	15	A prezentáció javítása, véglegesítése	

Érdemjegy a második félév végén: jeles (5)

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védésre alkalmasnak találtam.

.....
témavezető aláírása

Hallgató aláírása:

Tanszéki előadó aláírása:
 Átvétel dátuma: 2023. 10. 30

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül