

TDK DOLGOZAT

Babits Emma Léda

2023

Állatorvostudományi Egyetem
Belgyógyászati Tanszék

Akut fázisú fehérjék összehasonlítása akut pancreatitis
során experimentális kutya modellben

Babits Emma Léda

Témavezető: Dr. Manczur Ferenc, egyetemi docens,
Dr. Kanyorszky Eszter Tünde, klinikai állatorvos
Belgyógyászati Tanszék

2023

Tartalom

1. Rövidítések jegyzéke.....	2
2. Bevezetés.....	3
3. Irodalmi összefoglaló	4
1. Az akut fázis reakció	4
2. Pozitív akut fázis fehérjék	6
2.1. C-reaktív protein.....	7
2.2. Szérum amyloid-A.....	8
2.3. Haptoglobin	10
3. Negatív akut fázis fehérjék.....	12
4. Akut pancreatitis	13
4.1. A fiziológiás hasnyálmirigy.....	13
4.2. Akut pancreatitis patofiziológiája.....	13
4.3. Akut pancreatitis tünetei	14
4.4. Diagnosztika	15
4.5. Gyógykezelés	16
4.6. Akut pancreatitis kiváltása ceruleinnel	17
4. Célkitűzések	18
5. Anyag és módszer	19
5. A kísérlet alanyául szolgáló állatok.....	19
5.1. Felhasznált állatok	19
5.2. Felhasznált egyedek tartási körülményei, gondozása	19
5.3. Állatok táplálása	20
6. Állatokon végzett beavatkozások	20
6.1. Pancreatitis kiváltása	21
6.2. Alkalmazott kezelések.....	21
7. Állatokon végzett vizsgálatok	22
7.1. Fizikális vizsgálat	22
7.2. Ultrahangvizsgálat	22
7.3. Vérvizsgálat.....	23
8. Eutanázia	23
9. Post mortem vizsgálatok – kórbonctan és kórszövettan	23
10. Statisztikai kiértékelés	24
6. Eredmények.....	25
7. Megbeszélés	32
8. Összefoglaló.....	36
9. Summary	36
10. Bibliográfia	38
11. Köszönetnyilvánítás	42

Rövidítések jegyzéke

APP – akut fázis fehérje

CRP – C-reaktív protein

APR – akut fázis reakció

TNF α – tumor nekrozis faktor alfa

IL – interleukin

LIF – leukémia gátló faktor

INF γ – gamma-interferon

TGF β – transzformáló növekedési faktor

LPS - lipopoliszacharid

PGE-2 – prosztaglandin E2

AGP – α 1-savanyú glükoprotein

Hp vagy HAPT – haptoglobin

SAA – szérum amyloid-A

ELISA – enzimhez kötött immunszorbens vizsgálat

CAPCSI – kutya akut pancreatitis klinikai súlyossági index

MCAI – módosított kutya aktivitási index

HDL – Magas sűrűségű lipoprotein

LAT – latex agglutinációs turbidimetria

SRMA – szteroid-reszponzív meningitis arteritis

Hb – hemoglobin

DM – diabetes mellitus

CME – kutya monocytás ehrlichiosis

ROS – reaktív oxigénszármazékok

EPI – exokrin pancreas insufficientia

LIP – lipáz

AMYL - amiláz

cPL – kutya pancreas specifikus lipáz

TLI – tripszinszerű immunoassay

RER – nyugalmi energia szükséglet

Bevezetés

Az akut fázis fehérjék (APP) a szervezet elsődleges védvonalának szolgálatában állnak. Bármely szöveti sérülés, vagy gyulladási folyamat kiválthatja plazma koncentrációjuk változását. Ebből kiindulva már jó ideje foglalkoztatja a kutatókat, hogy vajon mennyiségi változásaiknak vizsgálatai miként hasznosíthatók? Lehet-e általános megállapításokat tenni, értéktartományokat fizikai állapotokkal, patológiai folyamatok lezajlásával párhuzamba állítani? És ha igen, vajon a különböző fajok egyedeiben mekkora változatosság mutatkozik az egyes fehérjék konkrét mennyiségeiben, illetve egymáshoz viszonyított arányában? Ezen kérdések az idő előre haladtával egyre pontosabban kerülnek megválaszolásra, amely eredmények, ahogyan az lenni szokott, újabb és újabb ötleteket vetnek fel további vizsgálatokra. Így kerülnek célkeresztbe azok a kérdések is, hogy vajon a különböző kórképek mennyiben mutatnak változatosságot az APP-k szintjét illetően. Ezen tudományos gondolatmenetet megragadva kezdtünk mi is kutatásunkba.

Célunk az volt, hogy feltérképezzük kutyáknál az akut pancreatitisben bekövetkező APP változásokat, ezzel fényt derítve arra a kérdésünkre is, hogy a jelenleg legelfogadottabb C-reaktív protein (CRP) mellett használható lehet-e más APP is a betegség diagnózisának megerősítésére, folyamatának és a gyógyító munka hatékonyságának nyomon követésére.

Irodalmi összefoglaló

1. Az akut fázis reakció

A szervezet védekező rendszerét két nagy csoportba oszthatjuk: a veleszületett- és a szerzett immunrendszerre. Az szerzett (adaptív) immunitás a bonyolultabb szerveződési egységek fennmaradásához feltétlenül szükséges mechanizmusok összetett rendszere, amelyet sejtek, ellenanyagok és különböző mediátorok kölcsönhatásai működtetnek. Az öröklött immunitás egyszerűbb szervezetekben is megfigyelhető védekező egységek összessége, amely azonban szintén létfontosságú; számos ponton védi a szervezetet: fizikai barrierek, fagociták, komplement rendszerek és toll-like receptorok segítségével előz meg fertőzéseket, távolít el potenciális patogéneket a szervezetből. Ráadásul, csak a veleszületett immunrendszer megfelelő működése esetén képes aktiválódni az adaptív immunitás. [1]

Az akut fázis reakció (APR), amivel ezek után részletesebben kívánok foglalkozni, a szerzett immunitás részeként értelmezhető folyamat. Lényege, hogy az egész szervezet összehangoltan védekezzen, a gyulladások lokalizálására, és az eredeti állapot helyreállítására törekedve. Alexander Koj 1996-os cikke [2] szerint: az akut fázis reakció folyamatok kaszkádjaként írható le, ennek része lehet, ha kialakul helyi akut gyulladás a szöveti sérülésnél, emellett létrejön szisztémás reakció, amely neurológiai, endokrin és metabolikus változások összességként írható le. Ezek lázban, leukocitózisban, bizonyos hormonok megemelkedett szintjében, fokozott véralvadásban és komplement rendszer aktivitásban, illetve különböző plazmaproteinek, az akut fázis fehérjék megemelkedett szintézisében mutatkoznak meg. Ez azonban komplex működések révén tud csak megvalósulni.

A folyamatok megindulásában a főszerepet a szöveti makrofágoknak tulajdonítják, amelyek a szövet sérülésekor bekövetkező aktiválódásuk után számos mediátort szekretálnak: gyulladásos és citotoxikus citokineket, növekedési faktorokat, bioaktív lipideket (prostaglandin E2, tromboxán A2, thrombocytá aktiváló faktor), hidrolitikus enzimeket, reaktív oxigéngyököket és nitrogén-monoxidot. [3] Azonban nem szabad említés nélkül hagyni egyéb sejteket, mint a neutrophil-, basophil- és eosinophil leukociták (polimorphonuclearis leukociták); T-sejtek; vérlemezkék vérér endothel sejtek és a fibroblastok, ezek a sejtek is képesek különböző mediátorok termelésére. Így például megemlíthetjük az endothel sejtek tumor nekrosis faktor alfa (TNF α) [4] és a fibroblastok

interleukin-6 (IL-6) termelését, igaz az utóbbiak szövet specifikusan eltérő arányban termelik az egyes egyéb mediátorokat is. [5, 6]

A felszabaduló szöveti szabályozó molekulákat három csoportba sorolhatjuk: az IL-6 típusú citokinek, amelyek az akut fázis reakció szisztémás változásaiért főként felelősek, többek között ide tartozik az IL-6 mellett az IL-11 és a leukémia gátló faktor (LIF). A proinflammatoricus citokinek, amelyek megindítják és erősítik a gyulladásos folyamatokat, úgy mint a TNF_{α} , IL-1, gamma-interferon (INF_{γ}) és az IL-8; és végül az antiinflammatoricus citokinek, amelyek leállítják a reakciót: IL-10, IL-4, IL-13 és transzformáló növekedési faktor béta (TGF_{β}). [2] Közülük általánosan elfogadottan kiemelkedő szerephez az IL-1, TNF_{α} és az IL-6 jut.

A homeosztázis megzavarását követően, például lipopoliszacharid (LPS) szervezetbe jutásával, először az IL-1 $_{\beta}$ és a TNF_{α} szérumszintje emelkedik meg, amelyet az IL-1 $_{\alpha}$ majd az IL-6 követ. [7] Az IL-6 késleltetett emelkedését az is okozza, hogy termelését a két korábbi - IL-1 és TNF_{α} - citokin is mediálja. [8, 9] Felszabadulásukat követően a véráramba kerülnek, így szóródva a szervezetben, hogy elérjék a távoli célsejteket.

Az egyik fő állomás az agy, ahol a hipotalamuszban kortikotrop releasing hormon termelődik, ami az agyalapi mirigyben kortikotropin szekréciót fog eredményezni, ennek hatásaként a mellékvesékben pedig glükokortikoidok termelődnek. Az utóbbi több további folyamatot is mediál: gyengíti a monocyták differenciációját és működését [10]; negatívan hat az endothel sejtek és a fibroblastok mediátor szintézisére; ugyanakkor a máj akut fázis fehérje termelésére serkentő hatást gyakorol. [11] A glükokortikoidok termelése mellett, az agy egyéb folyamatokat is serkent prosztaglandin E2 (PGE-2) termelésével, ennek és a központi idegrendszer különböző területeire ható IL-1, IL-6 és TNF_{α} -nak köszönhetően létrejön az úgynevezett „betegség szindróma”. Ennek részjelenségei: láz, amelyet főként az IL-6 okoz; aluszékonyság, aminek fő okozója a felsoroltak közül, a PGE-2 koncentráció változása: kis mennyiség felszabadulása esetén fokozza az alvás mennyiségét, míg súlyosabb gyulladásos reakció esetén, nagyobb mennyiségben, szaggatott alvási periódusokat hoz létre. Ezek mellett anorexia is jelentkezik, amelyet a PGE-2 még nem tisztázott módon vált ki. Elképzelhető, hogy a ghrelin szintézist centrálisan gátolja, de az is, hogy perifériásan tesz így, illetve felmerül az is, hogy több szinten játszik közre az energiaháztartás irányításában. Hasonlóan ehhez, még nem teljesen feltérképezett utakon hiperalgéria jelensége is megfigyelhető. [12, 13]

Az akut fázis reakció ezzel párhuzamosan, illetve ahogy említettem, a fenti folyamatokkal összefüggésben, a májban is megindít létfontosságú folyamatokat: az akut fázis fehérjék termelését, amelyekkel részletesen a következő alfejezetekben szeretnék foglalkozni.

2. Pozitív akut fázis fehérjék

A pozitív akut fázis fehérjék a fentiek alapján tehát azon csoportot képezik, amelyben a komponensek szérumkoncentrációja a gyulladással citokinek hatására megemelkedik. Az alapján, hogy milyen mértékű ez a mennyiség-növekedés, a fehérjéket három csoportba sorolják. Fontos kiemelni, hogy a különböző plazmakomponensek eltérő osztályba kerülhetnek különböző fajokat vizsgálva. Az úgynevezett minor (I-es) kategóriában 50-100%-os emelkedésre számíthatunk, ilyen például sertéseknél és szarvasmarháknál a fibrinogén. A mérsékelt (II-es) csoportnál 1-10-szeres emelkedés közötti értékeket tapasztalhatunk, ami részben azzal is magyarázható, hogy ezek alap szérumszintje magasabb. [14] Ide tartozik kutyák esetében a C-reaktív plazmin, az α 1-savanyú glükoprotein (AGP) és a haptoglobin (Hp). A magas (III-as) osztályban 10-100-szoros lesz az adott fehérje koncentrációja, ezek közé soroljuk kutyáknál a szérum amyloid A-t (SAA) és a CRP-t. [12, 15] Az egyes csoportok nem csak mennyiségben különböznek egymástól, hanem megjelenésük idejében is. Ennek megfelelően az egyes fehérjék: az I-es csoportban a leggyorsabban, 24-48 órával a stimulust követően mutatják jelentős emelkedésüket; a II-es osztályba tartozóknak 3 vagy több napra van szükségük, míg a III-as csoport minimális emelkedése még ennél is lassabban tapasztalható. [14]

A pozitív akut fázis fehérjék teljes és pontos funkcióinak feltárása a mai napig zajlik, bár már most is számos ismeret birtokában állunk. Általánosságban elmondható, hogy a molekulák megvédik a szöveteket a felszabaduló gyulladással mediátorok okozta túlzott károsodástól, neutralizálják a romboló hatású enzimeket, megkötik a szabadgyököket és a szabad hemoglobint. Növelik az immunvédekezés hatékonyságát: opszoninként működnek, mikroorganizmusokat és azok produktumait kötik meg és aktiválják a komplementrendszer, illetve modulálják a teljes immunműködést. Ezek mellett egyesek, mint a C-reaktív plazmin és a hepcidin különböző molekulákat transzportálnak, azok potenciális veszteségét elkerülendő. [16, 17]

A homeosztatist kibillentő, patológiai állapotokban változik a különböző fehérjék szintje. E változások megismerése mind az állatorvoslás, mind a humán gyógyászatban igen nagy

jelentőségű lehet az egyes kórképek diagnosztizálása, a kórfejlődés nyomon követése és a prognózis felállítása szempontjából.

A következő alfejezetekben szeretném részletesen bemutatni az általunk is vizsgált akut fázis fehérjéket a CRP-t, a SAA-t és a Hp-t, illetve ismertetni egyéb sajátosságaikat.

2.1. C-reaktív protein

A C-reaktív protein (CRP) az elsőként felfedezett APP, amely nevében őrzi ezt a tudományos eredményt, nevezetesen, hogy képes kötődni a *Pneumococcus pneumoniae* C-poliszacharidjához. [18] A molekula tulajdonságait tekintve nagyjából 115 kDa-os és öt nem kovalensen kötődő alegységből áll. [19] Feladata az akut fázis reakció során, hogy opsoninként kötődjön a gombák, baktériumok és paraziták felszíni poliszacharidjaihoz, ezzel aktiválva a komplementrendszer klasszikus útját, illetve mediálva a kórokozók fagocitózisát és elölését a leukociták által. Utóbbit a fehérvérsejtek felszínén található FcγR teszi lehetővé, amely a CRP-t kötő receptor a sejtek felszínén. [20]

Szérumszintjének megállapítására számos módszer elérhető mára: humán immunpróbák, ideértve automatizált biokémiai próbákat, latex agglutinációs tesztek és enzimhez kötött immunszorbens vizsgálat (ELISA-kat); illetve fajspecifikus próbák is léteznek, amelyek pontosabb eredményekkel képesek szolgálni: kutya CRP-re kifejlesztett ELISA, vagy például kutya CRP-re kifejlesztett monoklonális ellenanyagot használó immun-kromatográfia. [21]

Ahogy azt korábban említettem a CRP kutyáknál a major APP csoportba tartozik, ennek megfelelően igen jó diagnosztikai potenciállal rendelkezik. Amely lehetőséget számos kutatás ki is használt és meg is erősített. Az eredményeknek köszönhetően mára kiemelkedő szerepet szerzett a mindennapos klinikai felhasználás terén, szemben az eddig kisebb hangsúlyt szerző fehérjékkel. Az alábbiakban néhány példát szeretnék felhozni alkalmazhatóságáról, az ebek egészségének világából.

2020-ban Trub és munkatársai discospondylitisben szenvedő kutyákat vizsgálva találták úgy, hogy a szérum CRP szint szenzitívebben jelezte a patológias folyamat jelenlétét, mint a láz, hyperglobulinaemia, leukocytosis vagy akár a neutrophilia. [22]

Egy másik kutatásban megfigyelték, hogy *Dirofilaria immitis* fertőzöttség esetén a megemelkedett APP szint pulmonalis hipertenziót és endothelialis arteritist jelez. [23] Elmondható az is, hogy idiopathicus polyarthritist diagnózisának nagyszerű kiegészítése

lehet a CRP plazmaszint-mérése, hiszen a betegségben szenvedő egyedeknek jelentősen megemelkednek az értékei, illetve jól monitorozható vele a megkezdett kezelés hatásossága és ezt követően megjósolható a hosszú távú kimenetele is. [24] Ezek mellett megemlíteném még a CRP és a később tárgyalt SAA, illetve Hp jelentős megemelkedését akut bakteriális pneumóniában, ami lehetővé teszi diagnosztikai paraméterként való hasznosításukat e kórképben is. Ami a C-reaktív proteint a másik fehérjék közül kiemeli, hogy segítségével az antimikrobiális kezelés hatása monitorozható és a gyógyszerek elhagyásának ideje pontosabban megállapítható, így csökkenthető a használati idejük, és ez által felhasznált mennyiségük. [25]

Az akut pancreatitis, ahogyan az a nevéből is látszik a szervezetben zajló gyulladással járó folyamat, amely kutyák viszonylag gyakori megbetegedése. Magáról a kórképről egy későbbi fejezetben szeretnék leírást adni. A patológiai folyamat jellegéből adódóan az akut fázis reakció megindulását vonja maga után, ezzel pedig a korábban említettekhez hasonlóan CRP termelődését, amelynek szérumszintje a betegeknél jelentősen megemelkedik. [26] A hospitalizált betegeknél elmondható, hogy a harmadik és negyedik napon mért CRP értékek szignifikánsan eltérnek a később túlélő és elhullott állatok csoportjai között, ami azt sejteti, hogy alkalmas lehet a betegség lezajlásának nyomon követésére is. [27] Ez utóbbi hipotézist azonban Keany és munkatársai 2021-ben sem tudták maradéktalanul megerősíteni. [28] A mért CRP értékeket nem sikerült minden esetben statisztikailag párhuzamba állítani a klinikai benyomáson alapuló már kidolgozott pontrendszerekkel (canine acute pancreatitis clinical severity index = CAPCSI, illetve modified canine activity index =MCAI), amit annak tudtak be, hogy a vizsgált egyedeknél egyéb patológiai folyamatok is zajlottak a hasnyálmirigy gyulladás mellett, illetve, hogy a vizsgálati idő nem fedte le a CRP-érték maximális normalizálódási idejét (3-14 nap). Ezen körülményeket tisztázva, azonban a kutatási eredmények továbbra is azt sugallják, hogy alkalmas lehet a beteg állapotváltozásának objektív monitorozására is.

2.2. Szérum amyloid-A

A szérum amyloid-A (SAA) a magas sűrűségű lipoprotein (HDL) apolipoproteinje amely főként a HDL3-as csoport molekuláihoz kötődik. Több izotípust különböztethetünk meg, amelyek közül APP szerepet az 1-es és a 2-es töltenek be, ezen molekulák génjei igen jól konzerváltak, alátámasztja ezt, hogy az összes eddig vizsgált gerinces fajban megtalálták vagy magukat a fehérjéket, vagy az őket kódoló mRNS-eket. Az akut fázis reakció során feltételezhetően a HDL-koleszterol transzportot is befolyásolják, amelynek okára több

hipotézis is fennáll. Így az egyik szerint a szöveti károsodás miatt felszabaduló többlet koleszterolt szállítja el, míg egy másik szerint pont a sérülés helyére szállítódik a regenerációs folyamatok igényeinek fedezésére. [29] Emellett immunstimuláns szerepet is betölt Th-1-es típusú IL-ok expressziójának indukálásával [30], illetve extracelluláris mátrixot degeneráló enzimeket szabadít fel, mint a mátrix-metalloproteinázok és a kollagenáz. [31]

Az akut fázis reakcióban betöltött szerepe mellett megemlítenéd, hogy a SAA az amyloid-A fehérje prekuzora, amely révén az amyloidosis patológiás elváltozás létrejöttében és egyéb krónikus gyulladási folyamatok kialakulásában is szerepet játszik. [32]

A CRP-hez hasonlóan a szérumban amyloid-A is a major APP-khez tartozik többek között kutyáknál is. Azonban a klinikumban viszonylag kisebb szerepet kapott, amit az is okoz, hogy mérésére kevesebb eljárást fejlesztettek ki. Ezen hiány pótlására 2012-ben Christensen és munkatársai több fajra (ló, kutya, macska) teszteltek humán monoklonális SAA ellenanyagban alapuló automatizált latex agglutinációs turbidimetriás (LAT) immunpróbát, annak analitikai felhasználhatóságának tekintetében, amelyet mindhárom fajnál megbízhatónak ítélték. [33] Emellett a legelfogadottabb eljárásnak a korábbi fejlesztésű ELISA tesztek számítanak. Christensen és munkatársai 2012-ben az LAT mérési technikát felhasználva bizonyították kutyáknál, hogy a SAA szisztémás gyulladás esetén szenzitív és specifikus marker. Sőt az általánosan vizsgált gyulladási paramétereknél, úgy mint a láz, szegmentált és band (stab) neutrophilok mennyisége és a leukociták számánál specifikusabb diagnosztikai jelzőnek bizonyul, ugyanis kevésbé függ az állat stressz szintjétől. Azonban lokális gyulladási folyamatokra nem érzékeny jelző, illetve benignus és malignus daganatok elkülönítésére sem alkalmas. [34] Christensen és kutatócsoportja 2014-ben további vizsgálati eredményeket publikált a SAA LAT technikán alapuló mérésének köszönhetően. Több száz (N=500) kutya vérszérumának retrospektív vizsgálatával megerősítették, hogy mind a CRP, mind a SAA kiváló diagnosztikai paramétere a szisztémás gyulladásoknak, azonban a szérumban amyloid-A szélesebb határokon belüli változásainak, illetve eleve magasabb koncentrációjának köszönhetően már kisebb patológiás irányba mutató eltéréseket is érzékeltet, ezáltal nagyobb diagnosztikai potenciált hordoz magában, mint a CRP. [35]

E mellett akadnak egyéb kutatások, amelyekben bizonyos kórképeknél vizsgálták a SAA szérumszintjét remélve, hogy diagnosztikai és/vagy monitorozási célokra felhasználható paraméterre találnak benne. Ezekből szeretnék az alábbiakban párat kiemelni.

Ahogy azt a CRP bemutatásánál is megjegyeztem a SAA kitűnően alkalmazható akut bakteriális pneumónia diagnosztizálására. A nagyobb értékhatárok és jelentősebb mennyiségi változások miatt még jobban, mint a másik kettő fehérje és ugyanezen okokból általánosságban jobban követhető vele a betegség lefolyása is. [25] Ehhez hasonló eredményeket kaptak Lowrie és munkatársai 2009-ben publikált kutatásuk során, amelyben szteroid-reszponzív meningitis arteritises (SRMA) kutyák APP-jéit vizsgálták. A vizsgált paraméterek a CRP, SAA mellett Hp és AGP voltak. Közülük jelentős emelkedést a CRP és a SAA mutattak, utóbbi szérumszintje jóval többszörösére nőtt, ezáltal ugyancsak jobb diagnosztikai lehetőségeket hordozva magában. A betegség felismerése mellett ez a két paraméter a kórkép lefolyásának monitorozásra is alkalmas lehet, mivel koncentrációjuk csökkenni kezdett a kezelés megkezdését követően. [36]

Több kutatás zajlott pyometrában szenvedő kutyák SAA szintjét illetően is. 2009-ben Hagman és munkatársai leírták, hogy a kórképben az APP szérumszintje igen markáns, nagyjából 160-szoros emelkedést mutatott (igaz a mérést későbbi kutatások szerint kevésbé pontosnak bizonyuló ELISA teszttel végezték). Ez köszönhető részben a máj fehérjetermelésének, részben azonban a méh is képes SAA-t előállítani, így a szerv megbetegedése miatt az itt található, APP-t kódoló gének is upregulálódnak. [37] Ezt az emelkedést támasztják alá többek között Jitpean és kutatócsoportjának eredményei is (2013). [38] Eredeti reményüket, miszerint az APP-ket felhasználva biztosabb prognózis mondható ki a pyometrás betegekre, nem sikerült beváltani sem a vizsgált SAA-val, sem a CRP-vel.

Továbbá Milanovic és munkatársai 2018-ban *Babesia canis*-sal fertőzött kutyáknál találták úgy, hogy SAA szintjük megemelkedett, míg a koleszterol és HDL frakciók aránya csökkent, a HDL molekulák méretének növekedése mellett. [39] Ezek mögött a változások mögött több patofiziológiai folyamatot, illetve összefüggést feltételeznek, azonban megerősíteni még egyik hipotézist sem sikerült, így ezen a téren további vizsgálatok lesznek szükségesek.

2.3. Haptoglobin

A Haptoglobin (Hp) egy alfa2-globulin, amelynek szervezetben betöltött legfontosabb feladata a szabad hemoglobin (Hb) megkötése. Ez több okból is kiemelkedően előnyös: egyrészt a szabad hemoglobin vazoaktív anyag révén, illetve a felszabaduló hem részecskék és

vas ionok oxidatív tulajdonságaik révén, komoly oxidatív károsodást okoznak elsősorban a vascularis rendszerben, megkötve a NO-ot mint lényeges antioxidánst. Ezzel pulmonalis hipertenziót, perifériás vasculopathiát és több szervi károsodást előidézve. Továbbá a szabad hemoglobin megkötésével bakteriosztatikus hatást is elér, mivel megakadályozza a Gram-negatív baktériumok vASFelvételét, amely azok szaporodásához elengedhetetlen lenne. A Hp-Hb kötés az élő szervezetben az egyik legerősebb fehérje-fehérje kapcsolatnak bizonyul, amelyből arra lehet következtetni, hogy kialakulására igen nagy evolúciós szükség volt. Együtt egy nagy molekula tömegű komplexet alkotnak, amelyet a makrofágok a CD163-as receptor segítségével ismernek föl, majd takarítanak el. Ebből ugyanakkor az is következik, hogy fokozott erythrolysis esetén a Hp szintje jelentősen csökkenhet a fokozott felhasználás miatt, ami ilyen kórképek esetén megzavarhatja a Hp-on alapuló diagnosztikát. [40, 41, 42]

Az APP további funkciója, hogy serkenti az angiogenezist, amellyel a gyulladással járó szöveti károsodás helyreállítását segíti, illetve a helyi ischaemiát kompenzálja. [43] Illetve immunstimuláns szerepet is betölt granulocyták, monocyták, T- és NK-sejtek egy részéhez való direkt receptorális kötődéssel. [44]

A haptoglobin koncentráció mérésére jó utat biztosít az affinitása a Hb-hoz, amely révén spektrofotometriás eljárások alkalmazhatóak, illetve humán felhasználású immunpróba is mutatott kereszt reaktivitást a kutya Hp-nal, azonban e módszer kevésbé használt. [14]

A haptoglobin az APP-k mérsékelt csoportjába tartozik, így esetében, ellentétben a CRP-vel és a SAA-val, nem számíthatunk olyan jelentős emelkedésre az APR során. Ennek ellenére több kutatásnak is része a szérumban haptoglobin mérése, amelyekből szintén szeretnék egy párat alább megosztani.

Nem iatrogén úton kialakuló hypercortisolismusban (Cushing-szindróma) szenvedő kutyák trilosztánnal való kezelésének monitorozására a 12 vizsgált diagnosztikai paraméterből a Hp szérumszint bizonyult a legmegbízhatóbbnak Golinelli és munkatársainak kutatásai során. [45] Erre az ad lehetőséget, hogy a Hp szint hypercortisolaemiás állatoknál megemelkedik, így amennyiben a kezelés megfelelő módon csökkenti a glükokortikoid szintet a Hp koncentráció arányosan követi a változást.

Hasonlóan biztató eredményeket mutatott a Hp szint emelkedés diabetes mellitusos (DM) kutyák szérumban vizsgálatainál. Ahol 16 protein közül a haptoglobin koncentrációja mutatta a legnagyobb eltérést az egészséges kontrollcsoporttal való összehasonlítás során. Az

előzőhöz hasonlóan ezen eredmény ugyancsak rendelkezik klinikai aspektussal, hiszen alátámasztja egy újabb lehetséges biomarker használatát DM diagnózisánál. [46]

A megelőző alfejezetekben is említésre került kutatás, amely párhuzamosan vizsgálta a Hpt CRP-vel és SAA-val. Így történt a Mylonakis és munkatársai által 2011-ben publikált méréseinél is, ahol *Ehrlichia canis* okozta canine monocytás ehrlichiosisban (CME) vizsgálták az állatok APP szérumszintjeit. Eredményül azt kapták, hogy a felsorolt APP-k alkalmasak a CME diagnózisára, illetve az enyhébb (akut), nem myelosuppressziós forma és a súlyosabb (krónikus), myelosuppresszióval járó forma elkülönítésére. Azonban nem használhatók az egyes állatoknál betegség kimenetelének megjóslásában. [47]

3. Negatív akut fázis fehérjék

A negatív akut fázis fehérjék, molekulák azon csoportját képezik, amelyek szérumkoncentrációja az akut fázis reakció során lecsökken. Minden fajnál elmondható, hogy a legjelentősebb negatív APP az albumin. Biológiai funkciója igen jelentős, a szérumproteinek 35-50%-át teszi ki, ezzel biztosítva az intravasalis kolloid onkotikus nyomás nagyjából 75%-át, illetve nagy mennyiségű aminosav forrását jelentheti. Koncentrációjának csökkenését okozhatja a veséken (fehérje veszteses vesebetegségek) vagy az emésztőszervrendszeren (fehérje veszteses bélbetegségek) keresztüli vesztese, vagy a májbéli szintézis visszaesése. Utóbbinak fő oka a gyulladás során felszabaduló IL-1, amely gátolja a képzési folyamatokat. Az így fel nem használt aminosavakat a szervezet mozgósíthatja a pozitív APP-k szintézise során.

Az albuminon kívül jelentős negatív APP a transferrin, amely glükoprotein alapvető feladata a vasionok transzportja és megkötése a vérkeringésben, ami által csökkenti a kórokozók számára felvehető szabad állapotú vas mennyiségét. Mellette plazmakoncentráció csökkenés mutatható ki a kortizol kötő globulin, a transztiretin és a retinol kötő fehérje esetében. Ezen paraméterek csökkenése arra utal, hogy a gyulladásos folyamatok során ligandjaik koncentrációja megnő, amelyekhez kötődve ezen APP-k szabad frakciója így párhuzamosan csökken. [15, 16, 17, 32]

A negatív akut fázis fehérjék, mint biomarkerek kutatása is folyamatosan zajlik. 2020-ban Franco-Martínez és munkatársai publikálták eredményeiket, amelyek szerint kutyák emlő tumoránál ígéretes diagnosztikai jelző lehet a szérum albuminszint csökkenése. [48]

4. Akut pancreatitis

4.1. A fiziológiás hasnyálmirigy

A pancreas vagy más néven hasnyálmirigy egy intraperitonealis lokalizációjú, összetett feladatot ellátó, két lebenyre (jobb és bal), illetve a kettő között elhelyezkedő testre osztható szerv. Kutyaánál a bal lebeny a gyomor nagy görbületétől caudalisan, a colon transversustól cranialisan helyeződik, míg a jobb lebeny a proximalis duodénumtól mediálisan, a test pedig a kettő között található. Funkcióját tekintve a szerv két fő részre osztható: az 1-2%-ot kitevő endokrin feladatot ellátó Langerhans-szigetekre, illetve a maradék 98-99%-ot adó exokrin sejtekre. A Langerhans-szigetek szerkezetüket és ezzel együtt funkciójukat nézve további négy részre tagolhatók: az alfa sejtek termelik a glükagont, a béta sejtek az inzulint, a gamma sejtek a szomatosztatint és végül a delta sejtek, amelyek a pancreas polipeptidet állítják elő. Ezen szekrétumok a glükóz és valamelyest a lipid metabolizmusban játszanak fontos szerepet. Az exokrin rész ductalis és acinaris sejtekből tevődik össze. Utóbbiak feladata az enzimek, mint alfa-amiláz, lipáz, esterázok és nucleázok, illetve inaktív proenzimek, mint a tripszinogén, kimotripszinogén, proelasztáz, prokarboxipeptidázok és profoszfolipáz termelése, amelyek létfontosságú szerepet töltenek be a zsírok, fehérjék és szénhidrátok emésztése során. Fontos megjegyezni, hogy fiziológiás körülmények között a proenzimek, másnéven zimogének az acinaris sejtekben, zimogén granulumokban tárolódnak, majd a duodénumba jutva válnak aktív működésűvé, az enteropeptidáz kefeszegély-enzim működése révén. Ez a mechanizmus azért kiemelkedő fontosságú, mert a működőképes enzimek a szervezet saját szöveteit is képesek megemészteni, amelyet természetesen meg kell akadályozni. További védelmet jelent az önemésztődéssel szemben, hogy a hasnyálmirigy egy úgynevezett tripszin inhibitor is termel, amely leállítja a tripszin működést, ha az a pancreasban indulna meg. [49] A ductalis sejtek működésük során bikarbonátot juttatnak a hasnyálba, amely a béllumen megfelelő pH-ját tartja fent. Az exokrin rész végterméke két vezetéken (fő és mellék) keresztül jut a duodénumba, amelyek beszájadzása a papilla duodeni major és a papilla duodeni minor. [50]

4.2. Akut pancreatitis patofiziológiája

A pancreatitis, ahogy nevéből is látszik, a hasnyálmirigy gyulladással járó kórképét jelenti, amelyet Dr. Reginald Fitz írt le elsőként 1889-ben. Akut és krónikus formáját különböztethetjük meg, amelyekből az alábbiakban a heveny formával szeretnék részletesen foglalkozni.

A folyamat elindítója a tripszinogén acinaris sejten belüli aktivációja tripszinné, ehhez hozzájárul az esetleges hypotensio: a pancreas funkciója révén igen bő vérellátottságú, így ennek kis zavara is jelentős vasodilatációval és következményesen az acinaris sejtek duzzadásával járhat. E mellett szerepet játszik még a sejten belüli alacsony pH és a magas kalcium szint is. A túlzott mennyiségben aktiválódó enzimekkel a szervezet védekező mechanizmusai nem tudnak lépést tartani, így azok a sejtek károsodását fogják okozni. Ezzel lokális gyulladásos folyamatok indulnak meg, kapillárisfal tágulat és permeabilitás növekedés. Felszabaduló gyulladásos citokinek hatására beindul a granulocyták vándorlása a hasnyálmirigy interstitiumába, amelyhez az aktiválódott tripszin és kimotripszin közvetlen módon hozzájárul. A neutrofilek degranulációja során felszabaduló reaktív oxigénszármazékok (ROS) tovább károsítják a pancreas szövetét, fokozva a sejtek nekrozisának arányát az apoptózissal szemben, amely folyamat szintén további roncsolódáshoz vezet, hiszen az aktív sejtalkotók felszabadulnak a sejt közötti térbe. [51] Továbbá elmondható, hogy a kinin-kallikrein rendszernek, a NO-nak, a substance P-nek és a komplement rendszernek is szerepe van az akut pancreatitis kialakulásában, azonban a pontos mechanizmusok megállapításához még további kutatások szükségesek. [52]

A hasnyálmirigy gyulladás miatt lezajló folyamatok a szervezet többi részére is hatással vannak. Így a kialakuló hypovolaemia és intravascularis coagulopathia miatt csökken a renalis perfúzió, amely heveny vesebetegséghez vezethet, illetve a peritoneumon keresztül közvetlenül is a vesékre terjedhet a gyulladás. [52] A kiválasztó szervrendszer mellett a tüdő is károsodhat Gori és munkatársai 2020-ban [53] az általuk vizsgált pancreatitis kutyák többségében találtak elváltozásokat a tüdőben. A hasnyálmirigy szöveti károsodása során magának a hasnyálmirigynek is sérülhetnek a funkciói, így alakulhat ki következményes exokrin pancreas insufficientia (EPI) vagy akár diabétesz mellitus az érintett egyedekben. [54]

4.3. Akut pancreatitis tünetei

A betegségben szenvedő állatok általános klinikai képére jellemző a hirtelen megjelenő anorexia, hányás, letargia, illetve az epigastriális fájdalom, amely jeleként az állat „imádkozó testtartást” vehet fel. Továbbá megjelenhet láz és hasmenés is. A csökkent folyadékbevitel, illetve a fokozott vízvesztés eredményeként az állatok dehidrálttá, súlyosabb esetben hypovolaemiássá, majd sokkossá válnak, amelynek jelei szintén megfigyelhetők lesznek. Így a tapadós nyálkahártyák, megnyúlt kapilláris újratelődési idő, tachycardia, gyenge pulzus, tachypnoe és a hypothermia. Ezek mellett az egyéb szervek

fellépő károsodásának tünetei is megfigyelhetők lehetnek, így a fent említett akut vesebetegségnek, tüdőbetegségnek. Az esetlegesen kialakuló EPI vagy diabetes mellitus inkább késői komplikációként jelentkeznek. [50]

4.4. Diagnosztika

A pancreatitis diagnosztikájának hagyományos „gold standardje” a biopsziás mintából készített hisztopatológia, amely eredményeként heveny pancreatitis esetében ödémát, neutrofil granulocytás infiltrációt és nekrozist láthatunk. Azonban ennél a vizsgálati módszernél hátrányt jelent, hogy a gyulladásos folyamatok sokszor lokalizáltan fordulnak elő, illetve a biopsziás mintavételhez sok esetben rizikót kéne vállalni, amit főként az állat altatási kockázatai tesznek ki.

Ami a képalkotókat, tehát a betegség további vizualizálási lehetőséget illeti, humán oldalon a legjobban használható CT sajnos kutyáknál több okból sem működik rutin diagnosztikai eszközként. Mindenképpen érdemes azonban megemlíteni a röntgenfelvételeket, amelyek elsősorban a differenciáldiagnózis szűkítésében segítenek. A kórképet elmosódott epigastriális kontúrok, esetleg balra tolódott gyomor és jobbra vagy lefelé tolódott duodenum formájában észlelhetjük. Állatok esetében a legjobban használható eszköz az ultrahang, amely képén megnagyobbodott, echoszegény pancreas és azt körülvevő echodús (helyi peritonitis miatt) környezetet láthatunk. Emellett észlelhetünk még lokalizált vagy generalizált hasúri szabad folyadékot, gyomor- és duodenumfal megvastagodást vagy a hasnyálmirigy állományán belül kialakult tályogokat és/vagy cisztákat.

Ami a szérumból kimutatható markereket illeti, hosszú időn át tekintették a lipáz (LIP) és amiláz (AMYL) szintet diagnosztikai értékűnek akut pancreatitis kimutatására. Azonban mára bebizonyosodott, hogy egyik sem specifikus és elég szenzitív a kórképre. A lipáz szint pancreasectomián átesett állatok esetében sem csökkent, mutatva ezzel, hogy számos egyéb szövetből származhat, így például a duodenumból vagy a gyomorból. Illetve szintje ugyanúgy megemelkedhet mind máj-, mind vesebetegségek esetén. Azonban az mégis elmondható, hogy alacsony szérum lipáz szint esetén alacsony a valószínűsége annak, hogy az adott állat pancreatitisben szenved, míg a magas érték valószínűsíti a betegség jelenlétét a szervezetben. Az amilázzal ugyanakkor elmondható, hogy szintje csökkent a pancreasectomián átesett állatokban. Ennek ellenére alacsony szintje nem zárja ki, magas értéke nem erősíti meg a pancreatitis diagnózist. [55]

A teljes szérum lipáz aktivitást azonban 2002-2003-ban sikerült részben szétbontani, köszönhetően két, ezekben az években publikált kutatásnak. Steiner és munkatársai [56] bebizonyították, hogy a kutya pancreas specifikus lipáz (cPL) csak a hasnyálmirigy acinaris sejtjeiben termelődik, ezáltal specifikus jelzője lehet az említett sejtek károsodásának. Majd ezt követően Steiner Williams-sel [57] sikeresen fejlesztett ki radioimmunoassay eljárást a cPL kimutatására, amely szenzitív és precíz jelzője a molekulának. Nem sokkal ez után már a cPL-re kifejlesztett ELISA tesztet is publikáltak, hasonlóan jó teljesítőképességgel. [58] Ezen módszerek létrehozása és elérhetővé tétele egy igen hasznos diagnosztikai markerrel egészítette ki az akut pancreatitis gyanújának megerősítését.

A fent említett enzimek mellett használható még a szérum tripszinszerű immunassay (TLI) is, amely magas specifitással, azonban csak nagyon rövid idejű emelkedése miatt alacsony szenzitivitással rendelkező módszer. A marker elsősorban az EPI diagnosztikájában használatos, azonban az akut pancreatitis kezdetén is rapid szérumszint emelkedése tapasztalható.

Végül kutatásunkhoz legszorosabban kapcsolódó, eddig használatos, ígéretes diagnosztikai marker a CRP, amelyre vonatkozó kutatási eredményeket a korábbi fejezetben ismertettem.

4.5. Gyógykezelés

Az akut pancreatitis kezelésének egyik legfontosabb alappillére a megfelelő folyadékpótlás, amely a betegek állapotára való tekintettel legoptimálisabban intravénásan történhet. Arra vonatkozóan, hogy melyik infúziós oldat a legjobb választás, nincs egyértelmű információ, kutatásonként változó ajánlások olvashatók. Továbbá rágcsálókkal ellentétben [59] sem humán, sem pedig a kutyák vonalán nincs megerősítve a plazmatranszfúzió szükségessége.

Kiemelkedő szerepet játszik még a fájdalomcsillapítás, hiszen maga a megnagyobbodott hasnyálmirigy által gyakorolt fizikai nyomás, illetve a felszabaduló gyulladáshatóanyagok által beindított kaszkádok is fájdalomérzetet alakítanak ki az állatban. Erre a célra kiváló választások lehetnek a morfin teljes vagy parciális agonisták mint például a buprenorfin. Továbbá a betegekben mind perifériás, mind centrális úton kialakul hányinger, amely csillapítása szintén nagyon fontos az ellátás során. Erre a célra kiválóan alkalmas a maropitant, amely neurokinin-1-receptor blokkoló, illetve substance-P felszabadulást gátló hatással is rendelkezik.

Fontos arról is megemlékezni, hogy a bélfunkciók jelentős hatással vannak a betegség lezajlására. Flint és Windsor [60] kutatásából kiderül, hogy nagy hangsúlyt kell fektetni a

gastrointestinalis traktus optimális működésének fenntartására, amelynek része a korai enterális táplálás, az antioxidánsok adása és antibiotikum, illetve a belek szelektív dekontaminációjára irányuló kúra. A táplálást illetően általánosan elfogadott, hogy alacsony zsírtartalmú táp használatos, azonban legjobb tudomásunk szerint, kutatásunk kezdetéig senki nem bizonyította, hogy a magasabb zsírtartalom előnytelenebb volna. Ami a gyomorvédelmet illeti, 2018-as konszenzusos megállapítás [61] szerint akut pancreatitisben alapvetően nincs indikációja a gyomorvédők használatának, ha csak nem áll fent gastroduodenalis fekélyesedés és erózió. [50, 62]

4.6. Akut pancreatitis kiváltása ceruleinnel

Leach és munkatársai [63] 1991-ben publikálták kutatási eredményeiket, mely szerint nagy dózisú kolecisztoxinin adagolása izolált pancreas acinaris sejtekben, stimulálja intracellularisan zimogének felszabadulását. Ebből kiindulva feltételezhetjük, hogy analógja, a cerulein is képes hasonló hatások kiváltására, amely hipotézist már több korábbi kutatás is alátámasztott. Lampel és Kern [64] 1977-ben írta le a cerulein akut pancreatitist kiváltó hatását patkányokon, többek között Niederau és munkatársai [65] 1985-ben egereken, Renner és Wisner [66] 1986-ban pedig kutyákon. A hatás kiváltására lehetséges subcutan, intravénás és intraperitonealis adminisztráció is, amelyek közül kormányozhatósága miatt a vénás eljárás javasolt. A beadást követően egy órával már észlelhető a hasnyálmirigy ödémája, amely csúcsát 12 órát követően éri el. [67]

A cerulein hatásmechanizmusa az alábbiakon alapszik: a pancreasban ROS vegyületeket szabadít fel NADPH oxidázok segítségével, az oxigénszármazékok fő célpontja a nuclear factor- κ B, amely gyulladáshoz vezető mediátorok, úgy mint az IL-1 β , IL-6 és TNF α expresszióját serkenti, amely vegyületek bizonyítottan vezetnek a hasnyálmirigy gyulladás kialakulásához és a kórkép súlyosbodásához.[68]

Célkitűzések

Kutatásunk céljaul tűztük ki, hogy a korai táplálás tápanyagösszetételének tanulmányozása érdekében mesterségesen kiváltott akut pancreatitises kutya betegek vérparamétereit 8 napon át monitorozzuk, és azokat egyéb klinikai vizsgálatokkal, úgymint: fizikális, illetve hasúri ultrahang vizsgálat eredményével összevessük. Téve mindezt annak érdekében, hogy ezzel választ tudjunk adni kérdéseinkre miszerint: Használható-e más akut fázis fehérje az eddig bizonyított CRP [28, 69] mellett a pancreatitis diagnózisának alátámasztására, illetve a betegség előre haladásának vagy a kezelés alkalmasságának monitorozására? Illetve, amennyiben előző kérdésünkre igenlő válaszhoz jutunk: hatékonyabb lehet-e valamelyik az eddig legjobban tanulmányozott CRP-nél? Kutatásunkban vizsgálat alá a SAA-t, illetve a haptoglobint vontuk, amelyek több fajban is meghatározó gyulladáshoz köthető markernek számítanak, ebből kiindulva pedig alkalmasak lehetnek kutyák akut pancreatitisének vizsgálatára is. További bizakodásra adhatott okot, hogy humán betegeknél korábban már leírták, a tüneteket mutató esetekben az első 24 órában az enyhe és súlyos esetek közt a SAA szint mérésével biztosabb különbség tehető, mint a CRP vizsgálatával. [70]

Anyag és módszer

5. A kísérlet alanyául szolgáló állatok

5.1. Felhasznált állatok

Vizsgálatainkat tíz, beagle fajtájú kísérleti célra tenyésztett kutyán végeztük, amelyek korábban kísérletben nem vettek részt. Egészségi állapotukat állatorvos hagyta jóvá fizikális vizsgálattal, valamint vérvizsgálattal ellenőrizte a vérképet, biokémiai paramétereket különös tekintettel a pancreatitis esetén megemelkedő amiláz és lipáz enzimekre, valamint a CRP-re.

A kísérletbe csak kifejlett egyedeket vontunk be, életkoruk egységesen kettő év volt. Kiegyenlített ivararányal dolgoztunk, annak érdekében, hogy az állományt két teljesen megegyező összetételű csoportra oszthassuk.

5.2. Felhasznált egyedek tartási körülményei, gondozása

Az állatok elhelyezésére az ATRC Aurigon Toxikológiai Kutatóközpont Kft. Dunakeszin található telephelye szolgált. A kísérlet megkezdése előtt 7 nappal kerültek ide a kutyák akklimatizáció céljából. Egyéni boxokban kaptak helyet, amelyek mérete 4,2 m² vagy 4,8 m², a fajtársakkal létesített vizuális, olfactorius illetve auditórikus kontaktus létesítésére mindvégig kaptak lehetőséget. Emberekkel naponta többször kerültek kapcsolatba, hiszen a kísérlet kivitelezése érdekében vérvételre, fizikális vizsgálatra és az etetések idejére is egy kezelőhelyiségbe vittük őket.

Az állatház mikroklímája központilag szabályozott, így a mérhető hőmérséklet végig 15 és 25 °C közötti, a légcseré 8-10-szeres, illetve a páratartalom is folyamatosan dokumentált. A megvilágítást mesterséges fényprogram adja, napi 12 óra világos- és 12 óra sötétidőszak biztosításával.

Az állatok gondozását a telephely megfelelő képesítésű és gyakorlattal rendelkező munkatársai biztosították.

A kísérlet folyamán a kutyák ad libitum bevizsgált minőségű ivóvizet kaptak itatótálakban.

5.3. Állatok táplálása

Az akklimatizációs időszakban (7 napig) a kutyák standard minőségi, élettani szükségleteiknek megfelelő tápot kaptak: Ecopet Natural Adult Medium (nyersfehérje 24%, nyerszsír 12%, nyersrost 3%, nyershamu 8,5%; energia érték: EM 14,37 MJ/Kg).

Mivel a kutyákon a korai enterális tápláláshoz alkalmazott tápösszetétel hatásának vizsgálata zajlott, az állatok etetése beültetett naso-oesophagealis tápszondán át történt. Ennek biztosítására fecskendő kényszertáplálást is alkalmazhattunk volna, azonban az állatokra érő stressz csökkentése érdekében a szondára esett a választás. A tápszonda bevezetése 0,2 mg/kg intravénás butorphanol, illetve az ornyílásnál lokálisan alkalmazott lidokain érzéstelenítés után történt. A szondát a bevett klinikai alkalmazás szerint, a nagyjából kilencedik bordaköznek megfelelően, a nyelőcső alsó harmadáig vezettük le, majd helyeződését fecskendő segítségével vákuum kiváltásával, valamint körülbelül 2 ml steril Salsol oldat szondán való lejuttatásával ellenőriztük. Amennyiben megfelelő helyen találtuk, a tápszondát az orrháthoz rögzítettük többszöri csomós varratokkal propofol bódításban. A szonda védelmének érdekében a kísérlet teljes ideje alatt az állatok védőgallért viseltek, azonban ezen próbálkozásunk ellenére is több alkalommal kellett új szondát behelyeznünk.

A kutyákat a fentebb említett kísérlet érdekében két csoportra osztva, két különböző összetételű, szobahőmérsékletű tápoldattal etettük, napi 3 adagra lebontva. A tápfolyadékok egyaránt milliliterenként 1,5 kcal-t tartalmaztak, azonban az egyik alacsony, míg a másik magas zsírtartalmú volt. A napi kalóriaigényt (RER) a $RER=(70*\text{testtömeg [kg]})^{0,75}$ képlet alapján számoltuk ki minden nap az egyedek aktuális testtömegével behelyettesítve.

6. Állatokon végzett beavatkozások

A kísérlet első napján általános fizikális vizsgálatot (klinikai összbenyomás, klinikai alapértékek felvétele, nyirokcsomók és has tapintása) és testtömeg mérést követően az állatoknak a vena cephalica antebrachii-ba 22 G-s vénakanült helyeztünk, a terület fölötti szőr lenyírása és a bőr fertőtlenítése után, annak érdekében, hogy a vénás utat biztosítsuk. A kísérlet folyamán a kanült maximum három naponként, de szükség esetén korábban is cseréltük, klinikai gyakorlatnak megfelelően a végtagok váltogatásával, természetesen minden alkalommal elvégezve a fertőtlenítési eljárást. A behelyezést követően a kanülon keresztül vettük az első vérmintákat (0. óra), 2-2 ml-t 2 darab szérumos és 2 darab EDTA-s csőbe. Az első nap folyamán az előző alkalomnak megfelelő mennyiségű vért vettünk a cerulein beadásától számított 6. és a 12. órában is a vénakanülhöz képest ellenoldali

végtagból, a kanül behelyezéséhez hasonlóan szörnyírást és fertőtlenítést követően. A kísérlet minden további napján reggel egyszeri fizikális vizsgálatra, és az elsővel azonos mennyiségű vér levételére került sor, utóbbi az elérhető vénák állapotának figyelembevételével történhetett a vena saphena lateralisból is.

6.1. Pancreatitis kiváltása

Az akut pancreatitist az irodalmi összefoglalóban leírt tudományos eredményekre alapozva cerulein injekció beadásával szeretnénk volna kiváltani. Az első adagot az első napon történt 0. órai vérvételt követően kapták meg az állatok 10 mikrogramm/testtömeg kilogramm dózisban. Majd a nap folyamán óránként további 5 alkalommal kaptak még azonos mennyiséget.

Az előzetes tervekkel ellentétben azonban a kísérlet ötödik napján este és hatodik napján reggel további egy injekciót kaptak a kutyák a korábbi dózisnak megfelelően, mivel az addigi vizsgálati eredmények azt mutatták, hogy a kívánt súlyosságú hasnyálmirigy-gyulladás nem áll fent náluk.

6.2. Alkalmazott kezelések

Minden kísérletben részt vevő kutyát a pancreatitis általános kezelési protokolljában részesítettünk. Ennek összetevői: az esetlegesen fellépő dehidráció ellen, a szöveti perfúzió biztosítására infúziós kezelés a behelyezett vénakanülon keresztül. Minden állatot egyénileg bíráltunk el hidrátsági állapotára nézve, majd amennyiben a dehidráció jeleit fedeztük fel, és megállapítottuk annak fokát, az alábbi képlet szerint: $\text{dehidráció \%} = \frac{\text{dehidráció \%}}{100} \cdot \text{testtömeg kg}$, kiszámítottuk a folyadék deficitet. Ezt követően a kapott értékből kivontuk a tápoldat mennyiségét, és az így kapott térfogategységnyi folyadékot Ringer-laktát infúzió formájában biztosítottuk az állatnak. A fennálló fájdalom csillapítására fentanil tartalmú Durogesic patch-et helyeztünk az állatok előzetesen leborotvált oldalára a negyedik napig. A tapasztok rögzítésének nehézségei miatt a fentanil hatásának lejártával a hatodik naptól napi 2-szeri morfínnal végeztük az analgesiát. A hányinger és az esetleges hányás csillapítására maropitant tartalmú Cerenia injekciót alkalmaztunk 0,1ml/ testtömeg kg dózisban. Az antibiotikus kezelés során amoxicillin/klavulánsav tartalmú Synulox injekciót használtunk 25 mg/ testtömeg kg dózisban.

Az általános kezeléseken felül egyes egyedek a klinikai állapotukra való tekintettel egyéb kiegészítő kezeléseket is részesültek.

7. Állatokon végzett vizsgálatok

7.1. Fizikális vizsgálat

A kutyák fizikális vizsgálatára, ahogy az korábban említésre került, minden nap reggel, az adott napi vérvétellel egybekötve került sor. Először a kennelek ellenőrzésével, illetve az állatgondozók kikérdezésével vettünk fel kórelőzményi adatokat arra vonatkozóan, hogy az adott ebnél jelentkezett-e hányás vagy hasmenés az előző vizsgálatától eltelt időn belül. Majd a kezelőhelységbe jutva megmértük az állatok aktuális testtömegét, amelyből kiszámítottuk az adott napi beadandó gyógyszer mennyiségeket, illetve a szükséges tápoldat mennyiségét. Ezután felvettük a klinikai alapértékeket, úgymint a hőmérséklet, érverés, légzésszám és kapilláris újratelődési idő. Majd a következő skála szerint pontoztuk az állapotukat paraméterenként: normális: 0 pont; enyhe: 1 pont; közepes: 2 pont; súlyos: 3 pont. A vizsgálati szempontok pedig a következők voltak: magatartás/aktivitás, étvágy, hányinger/hányás, hasi fájdalom, testtömegvesztés. A kapott pontszámokat összesítve minősítettük a klinikai elváltozásokat az alábbi értéktartományok szerint: 0-3: jelentéktelen; 4-5: enyhe; 6-7: mérsékelt; 8<: súlyos. Továbbá vizsgálva a bőrturgort, a nyálkahártyák nedvességét/tapadóságát illetve a szemek helyzetét, következtettünk az esetleges dehidráltási százalékra. Ebből a fent említett módszer segítségével meghatároztuk a szükséges infúzió mennyiségét, amelyet a vizsgálatot követően biztosítottunk az állat számára. Ezeken felül feljegyeztük az egyéb észrevételeinket egy-egy egyed kapcsán, amelyek akár a várt pancreatitisen felül befolyásolhatták a kapott vizsgálati eredményeket, így kofaktorokként később a paraméterek értelmezése során figyelembe vehettük őket. Feljegyzéseinkben az alábbiak szerepeltek: az „1”-es számú kutyánál a második napon enyhe fokú kötőhártya-gyulladás észleltünk, amelyet a hetedik napig Tobrex (tobramicin 3 mg/ml) szemcseppel kezeltünk; illetve a negyedik napon az inguinalis emlőtelepek duzzadtsága tűnt fel, ugyanekkorra a nyakon horzsolts seb keletkezett, amelyet szintén a hetedik napig Curiosa sebkezelő géllal láttunk el. Az „1”-es kutyához hasonló szemelváltozást találtunk a „2”-es számúnál is, szintén a második napon, ennek megfelelően ugyanabban a kezelésben részesítettük, mint a másik állatot. A „9”-es számúnál pedig, a hatodik napon kevés gennyes hüvelykifolyást figyeltünk meg, illetve a hetedik napra haematoma keletkezett a fülén, amit még aznap leszívtunk.

7.2. Ultrahangvizsgálat

Az első napon a cerulein beadását megelőzően és az azt követő 6. órában majd a harmadik és a hetedik napon hasi ultrahangvizsgálatot végeztünk, kiemelt figyelemben részesítve a

pancreas és környékét, illetve az akut pancreatitis által szövődményesen érintett szerveket, így a veséket és a májat. Az esetlegesen tapasztalt elváltozásokat szintén pontrendszer szerint osztályoztuk az alábbi módon: normál pancreas: 0 pont; határeset (egészen enyhe elváltozás), lehet normál variáció: 1 pont; egyértelmű, de enyhe: 2 pont; közepsúlyos, a pancreas környezete normál: 3 pont; súlyos elváltozás: 4 pont; nagyon súlyos (mesenterium és a környező belek is): 5 pont.

7.3. Vérvizsgálat

A fent említett módon az állatokból összesen 10 alkalommal vettünk vért, az első nap háromszor, utána napi egyszer. A vércsöveket hűtődobozban laboratóriumba küldtük, ahol az alábbi paramétereket vizsgálták: teljes haematologia és rutin biokémiai paraméterek (összfehérje, albumin, globulin, alanin-aminotranszferáz, aszpartát-aminotranszferáz, alkalikus foszfatáz, gamma-glutamil transzferáz, glutamát-dehidrogenáz, összbilirubin, alfa amiláz, kreatin-kináz, laktát dehidrogenáz, triglicerid, koleszterin, glükóz, fruktózamin, karbamid, kreatinin, nátrium, kálium, klorid, kalcium, foszfát, magnézium, vas). Ezekon kívül megmérték a kutya pancreas specifikus lipázt; továbbá a kísérlet szempontjából fő érdeklődésünket jelentő APP-k (CRP, SAA, Hp) vérbeli koncentrációját.

8. Eutanázia

Mivel a kísérlet kiértékeléséhez több szervből vett, nagyobb méretű mintára volt szükség annak érdekében, hogy megfelelő kórszövettani vizsgálatokat végezhesünk rajtuk, szükségszerű döntés volt, hogy az állatok a kísérlet végén végleges elaltatásra kerüljenek. Ezzel azt is lehetővé téve, hogy további kórbonctani vizsgálatokat is végezhesünk rajtuk. Az eutanázia ketamin-xylozin-midazolam kombinációs injekció alkalmazásával, a meglévő vénakanulón keresztül történt, az életjelek monitorozása mellett az állat halálának beálltáig.

9. Post mortem vizsgálatok – kórbonctan és kórszövettan

A leölés után a testeken makroszkópos kórbonctani vizsgálatot végeztek, amelynek eredményei szintén feljegyzésre kerültek. Ezt követte az elsődlegesen a pancreas jobb- és bal lebenyéből, illetve testéből vett szöveti minták kutyánkénti vizsgálata hematoxilin-eozin festéssel, amelyek kiegészítésre kerültek az elváltozást mutató szervek mintáival. Az így kapott eredményeket az alábbi módon osztályoztuk: 0 – nincs elváltozás; 1 – az adott tájék kevesebb, mint 25%-ában van jelen az elváltozás; 2 – 25-50%-ban van jelen az adott tájékon az elváltozás; 3 – a tájék több mint 50%-a érintett. Besorolást először lebenyenként kaptak

az elváltozások külön tekintve a gyulladást, az ödéma – liponekróztól, majd a két pontból a súlyosabbat kapta minden szerv egy-egy része és végül az egész szerv pontszáma az összes elváltozás közül a legsúlyosabbét.

10. Statisztikai kiértékelés

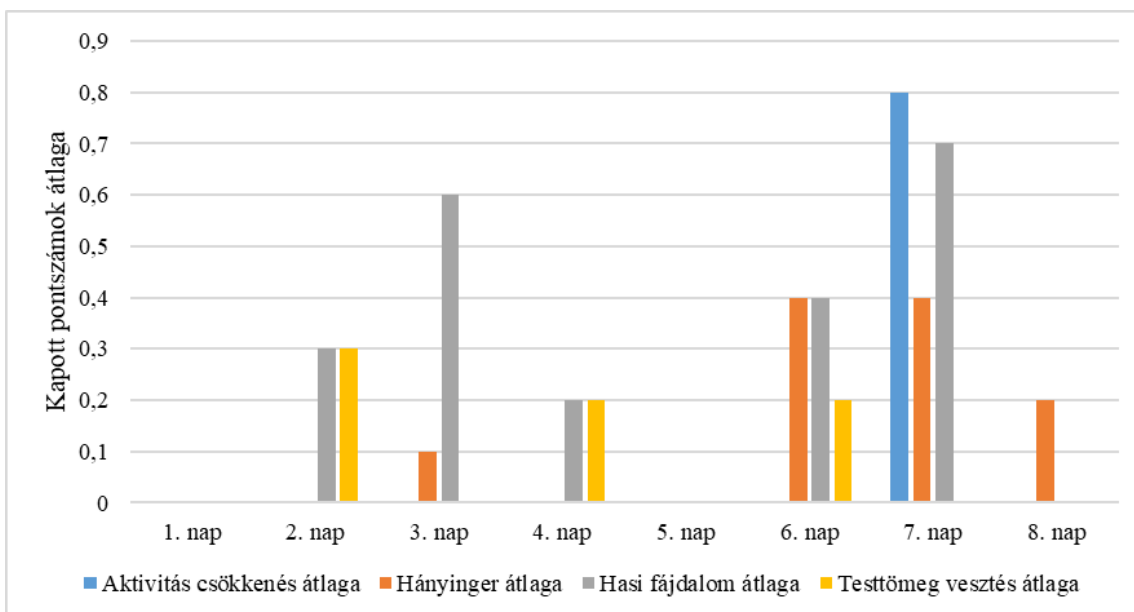
Az eredmények táblázatba rendezéséhez a Microsoft Excel 2016 programot, a kiértékeléshez leíró statisztikát használtunk szintén az Excel program segítségével.

Eredmények

Annak érdekében, hogy a labordiagnosztikai paraméterek jobban értékelhetőek legyenek először a fizikális- és ultrahangvizsgálatok, illetve az állatok leölését követő kórbonctani vizsgálatok eredményeit tárgyalom.

Az első napon a cerulein beadást követően az állatoknál nem volt észlelhető állapotromlás. A második napon 3-3 egyednél tapasztaltunk külön-külön enyhe hasi fájdalmat, illetve testtömeg vesztést. A harmadik napon négy állat mutatott enyhe hasi fájdalmat, egy pedig enyhe hányingert és közepes hasi fájdalmat. A negyedik napon két esetben tapasztaltunk enyhe hasi fájdalmat és egy kutyánál közepes mértékű (300 grammnyi) testtömegvesztést. Az ötödik napon nem tapasztaltunk elváltozást. Az ötödik és hatodik napon történt a második és harmadik cerulein beadás, ezt követően négy egyednél tapasztaltunk enyhe hányingert, amelyek közül egy esetben enyhe hasi fájdalom is jelen volt, ezen felül egy egyednél más tünet nélkül szintén enyhe hasi fájdalom mutatkozott, illetve egy kutyánál közepes mértékű hasi fájdalmat és testtömegvesztést tapasztaltunk. A hetedik napra az állatok nagy része (8 egyed) enyhe fokú aktivitás csökkenést mutatott, egy esetben romlott a hasi fájdalom enyhéről közepesre, így már három kutya mutatott közepes fokú hasi fájdalmat és egy további enyhét, illetve enyhe hányingert tapasztaltunk négy állatnál. Az utolsó (8.) vizsgálati napon azonban mindösszesen két kutya mutatott enyhe hányingert. A fizikális vizsgálatok pontszámait az **1. ábrában** foglaltam össze. Az elváltozásonként osztott pontszámok egy esetben sem haladták meg a 2, azaz közepes pontot, továbbá az összesített minősítés is csupán egy egyednél egyetlen napon, a második cerulein beadásának idején, érte el az általunk észlelt legmagasabb, 4-es pontszámot és ezzel az egyetlen enyhe besorolást. A többi esetben 3 vagy annál kevesebb pontot adtunk az állatok állapotára, amellyel a jelentéktelen klinikai elváltozások besorolásba kerültek.

Ami az ultrahangvizsgálatokat illeti (**1. táblázat**), a vizsgálatok során a legmagasabb pontszám 3 volt – tehát az elváltozás középsúlyos – amelyet egy egyednél hat órával az első cerulein beadását követően tapasztaltunk. A mérésenkénti átlag pontszámokat nézve, a legmagasabb eredményt a harmadik napon kaptuk 1,7 ponttal, amely szám a hetedik napra lecsökkent 1,2 pontra.



1. ábra – Klinikai elváltozások pontozása

A megfigyelt klinikai elváltozások vizsgálati napokra lebontva, az y tengelyen a 10 kutya elváltozásainak átlaga látható. Nincs elváltozás = 0 pont; enyhe elváltozás = 1 pont; közepes elváltozás = 2 pont.

Állat száma	0. óra	6. óra	3. nap	7. nap
1	1	1	1	1
2	0	1	2	0
3	2	2	2	1
4	1	2	2	1
5	1	2	2	2
6	1	1	1	1
7	0	3	2	2
8	2	2	2	2
9	1	1	1	1
10	0	1	2	1
Átlag pontszám	0,9	1,6	1,7	1,2

1. táblázat Az ultrahang vizsgálati eredmények alapján adott pontszámok az egyes egyedekre nézve és azok vizsgálatonkénti átlagai.

0 pont = normál pancreas; 1 pont = határeset (egészen enyhe elváltozás), lehet normál variáció; 2 pont = egyértelmű, de enyhe; 3 pont = középsúlyos, a pancreas környezete normál.

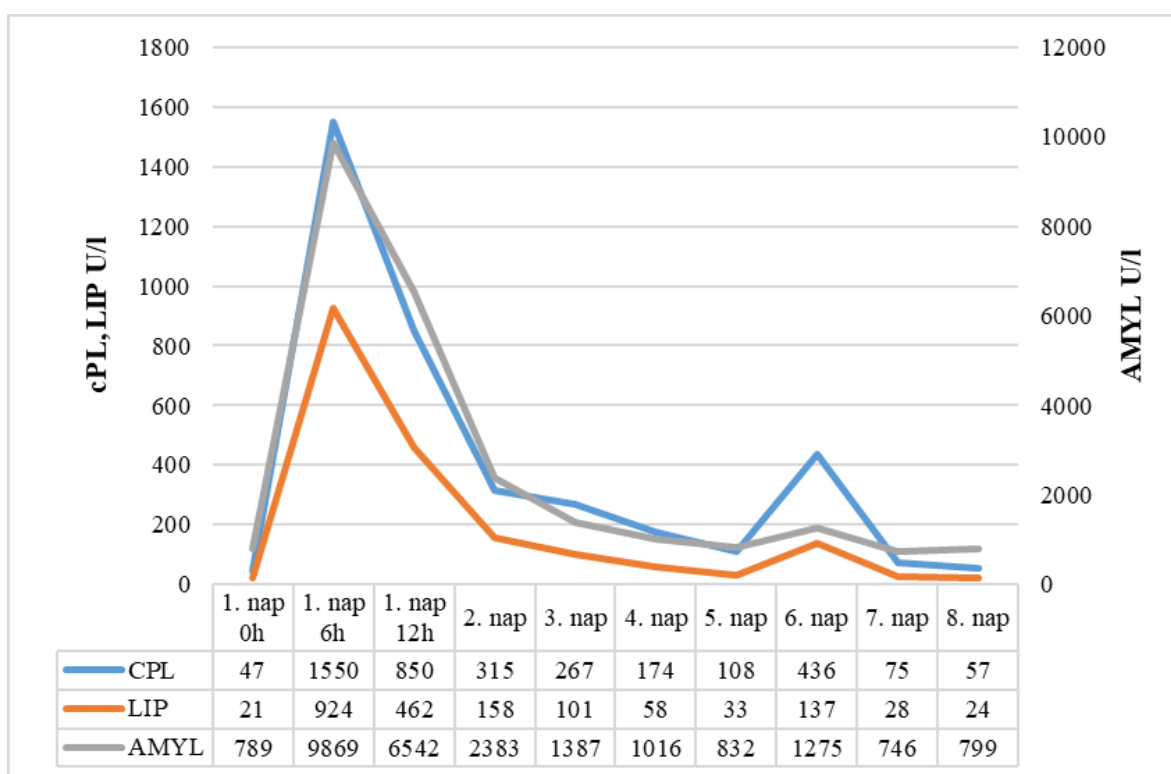
A hasnyálmirigy gyulladásra legjellemzőbb kórbonctani képet a kilences kutya mutatta, ahol a pancreas bal lebenyének kipirultsága volt megfigyelhető, emellett a tüdő széli részein sötétvörös területek voltak. A hasnyálmirigyen kívül az egyes számú állatnál két tüdőlebenyben találtunk 2 cm átmérőjű, sötétvörös, tömött tapintatú területeket és az epepapilla körül a nyálkahártya kipirult volt. A kettes, hármas és négyes számú kutyáknál a duodenum nyálkahártyája kipirult volt, az ötösnél pedig a vékonybelek gázzal teltek voltak. A hatos és hetes állatnál kóros elváltozás makroszkóposan nem volt észlelhető, míg a nyolcasnál a tüdő bal cranialis lebenyében voltak tömött tapintatú, hólyagszerű képletek. A tízes számú állatnál csupán híg béltartalmat találtunk. A pancreas kórszövettanának eredményeit nézve (**2. táblázat**) a hetes számú kutyánál voltak a legsúlyosabb elváltozások, ahol a bal lebenyben és a testben 1-es fokú (a tájék kevesebb, mint 25%-ában van jelen) ödémát, és ugyanezen területeken 2-es fokú (25-50%-ban van jelen az adott tájékon az elváltozás) és a jobb lebenyben 1-es fokú gyulladást mutatott. Mellette az egyes és a tízes számú kutyák hasnyálmirigyének teljes területén 1-es fokú gyulladás volt jelen. Továbbá 1-es fokú ödémát tapasztaltunk a kettes és hármas kutya pancreas testén, az ötös kutya teljes hasnyálmirigyen, illetve 2-es fokút a négyes kutya pancreasának teljes területén. Keverten fordult elő 1-es és 2-es fokú gyulladás és ödéma a nyolcas és kilences kutyáknál. Egy esetben, a hatos számú állatnál nem volt látható semmilyen elváltozás kórszövettanilag.

Állat száma	Bal lebeny	Test	Jobb lebeny	Összesített pontok
1	1 GY	1 GY	1 GY	1
2	0	1 Ö	0	1
3	0	1 Ö	0	1
4	2 Ö	2 Ö	2 Ö	2
5	1 Ö	1 Ö	1 Ö	1
6	0	0	0	0
7	2 GY, 1 Ö	2 GY, 1 Ö	3 GY	3
8	1 GY, 2 Ö	2 Ö	1 GY, 1 Ö	2
9	1 Ö	1 Ö	1 GY	1
10	1 GY	1 GY	1 GY	1

2. táblázat A hasnyálmirigy kórszövettanai elváltozásainak pontozása lebenyenként az egyes állatokban.

GY = gyulladás; Ö = ödéma. 0 pont = nincs elváltozás; 1 pont = az adott tájék kevesebb, mint 25%-ában van jelen az elváltozás; 2 pont = 25-50%-ban van jelen az adott tájékon az elváltozás; 3 pont = a tájék több mint 50%-a érintett. Összesített pontok: a szervben észlelt legsúlyosabb elváltozás pontszáma.

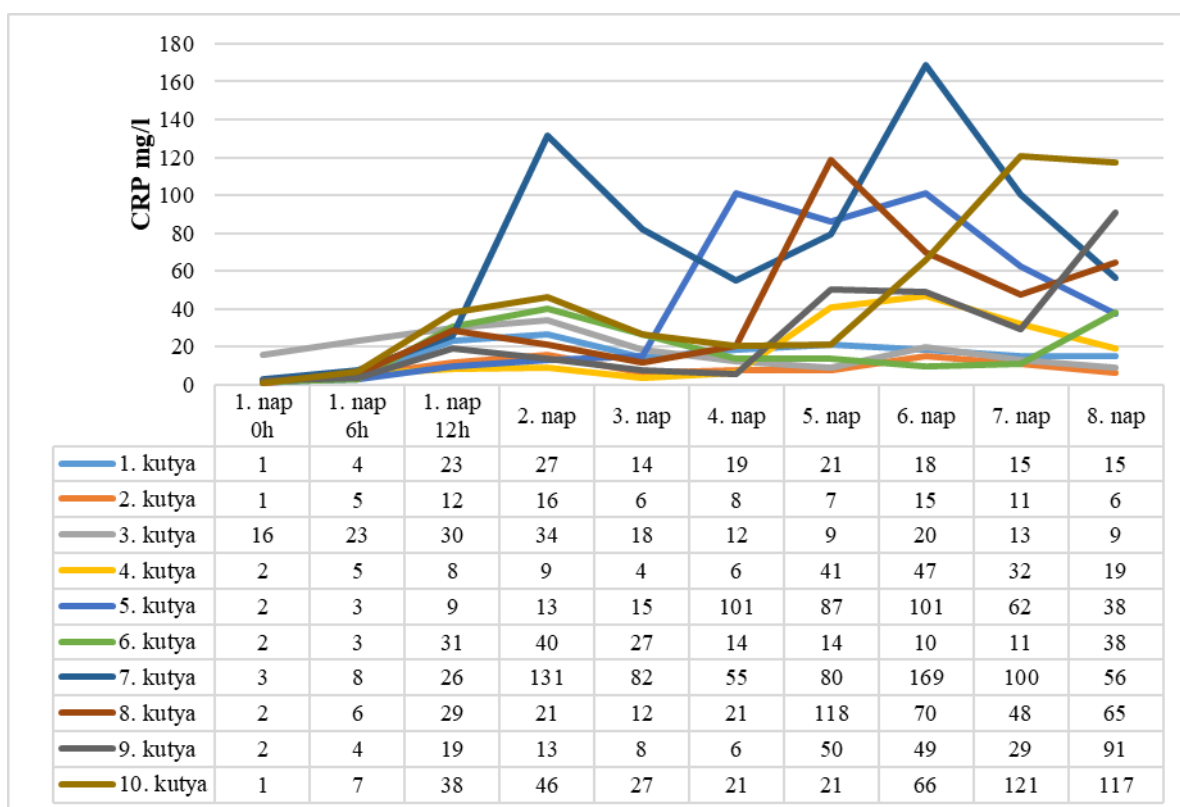
Ami a vizsgált labordiagnosztikai paramétereket illeti, ahogyan azt a **2. ábrán** is láthatjuk mindhárom vizsgált hasnyálmirigy enzim (amiláz, lipáz és kutya pancreas specifikus lipáz) szérumszintjei együtt mozogva követték a cerulein beadását és vele a betegség kialakulását. A legmagasabb koncentrációt mindhárom enzim az első injekciót követő 6. órában érte el, a cPL 33-szoros, a lipáz 45-szörös, az amiláz pedig 13-szoros emelkedést mutatott az első mérési eredményhez képest. Ezt követően az ötödik napig csökkenő tendenciát mutattak, a 6. órában mért csúcshoz képest a cPL 7 %-ára, a lipáz 4 %-ára és az amiláz 8 %-ára csökkent vissza, amely értékek azonban még mindig magasabbak voltak az első mérésnél feljegyzetteknél. A második cerulein beadás ismételten megemelte az enzimek szintjét a hatodik napon, a megelőző napi eredményekhez képest, a cPL és lipáz egyaránt 4-szeres, az amiláz pedig 1,5-szeres emelkedést mutatott.



2. ábra – Hasnyálmirigy enzimek (lipáz, amiláz, pancreas specifikus lipáz) napi mérési átlagai, alatta a vizsgálat során mért hasnyálmirigy enzimek napi átlag értékei a 10 vizsgált kutyánál, U/l-ben megadva.

Az akut fázisú proteinek közül a CRP-értékek a cerulein beadást követően, a gyulladás megjelenésével emelkedtek az összes egyednél. A változás igen korán, már 6 órával a beadást követően megfigyelhető. A csúcserőérték négy esetben (1., 2., 3., 6. kutya) a második napra érte el, ekkor a legnagyobb változás 66-szoros a 10-es kutyánál, átlagosan pedig 21-

szeres emelkedést tapasztaltunk az első méréshez képest. Majd az azt követő napokban összességében csökkenő tendenciát mutattak az értékek, az alkalmazott kezelések nyomán, párhuzamosan a javuló klinikai állapottal. A csökkenés százalékanak átlaga 46%, 47% és 51% sorra harmadik, negyedik és ötödik napokon a második napon mért értékekhez képest, nem számolva az 5. kutya növekvő értékeivel, továbbá az ötödik napon tapasztalt emelkedésekkel a 4., 8. 9. kutyánál. Később még egy csúcs figyelhető meg a második ceruleines kezelés következtében az ötödik és hatodik napon, amikor is szintén négy egyed (3., 4., 6., 10. kutya) legmagasabb értékeit kaptuk, a legnagyobb emelkedést az első méréshez képest itt is 10-es állatnál tapasztaltuk, ami 95-szörös volt, az átlagos növekedés pedig 35-szörös volt (**3. ábra**).

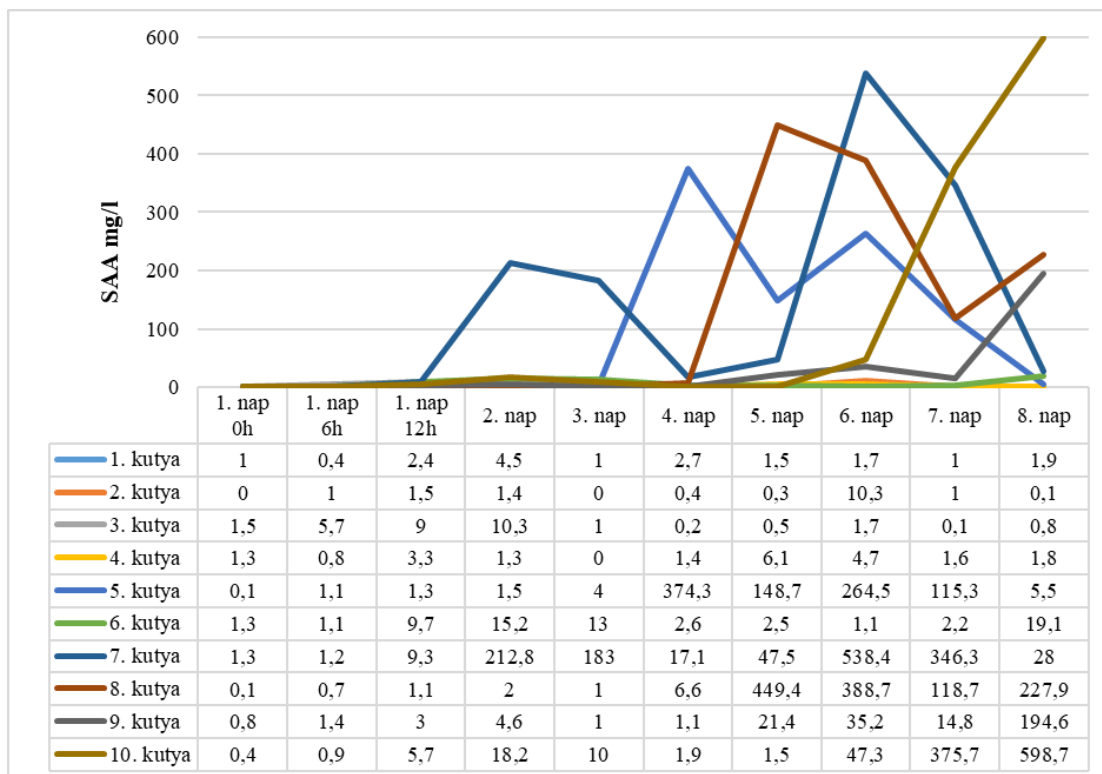


3. ábra – A c-reaktív protein (CRP) értékek változása vizsgált egyedenként

A mért CRP értékek mérésenkénti (x tengely) és egyedenkénti változásai mg/l-ben.

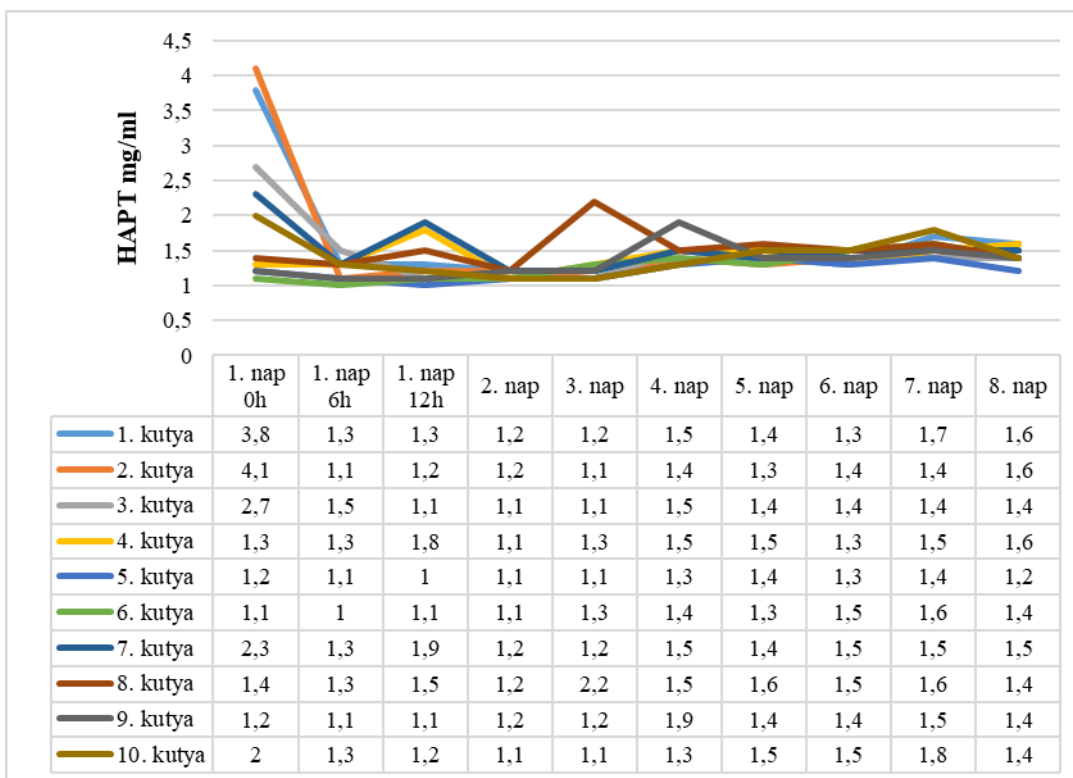
A SAA szérumszintjének értékein (**4. ábra**) látható, hogy nem emelkedett egységesen az egyes állatokban. Az első méréshez képest történő maximális emelkedés mértéke igen nagy szórást mutat, 4,5-szerestől (1. kutya a második napon) egészen 4494-szeres emelkedésig (8.

kutya az ötödik napon). A szérumban a koncentráció növekedése átlagosan a cerulein beadást követő 5. napon érte el a csúcspontját.



4. ábra – A szérumban a haptoglobinnal kötött amyloid-A (SAA) értékek változása vizsgált egyedenként és a mért SAA értékek mérésenkénti (x tengely) és egyedenkénti változásai mg/l-ben.

A kutya szérumban a haptoglobinnal kötött amyloid-A (SAA) koncentrációját (5. ábra) figyelve elmondhatjuk, hogy az első cerulein beadásakor ugyan két egyednél (1. és 2. kutya) emelkedett volt a szintje – tehát meghaladta a fiziológiás, maximum 3 mg/ml-t [71] -, azonban ez a hatodik órára le is csökkent, a normális értéktartományon belülre. Hasonló történt három, az élettani határon belüli, többihez képest relatív magasabb koncentrációval rendelkező (3., 7. és 10. kutya) állat esetében is, órákon belül a többi egyedhez hasonló eredményeket mutattak. Ezt követően az értékekben, jóval kisebb, szabálytalan ingadozások láthatóak - amelyek egyike sem közelíti meg a fiziológiás küszöbértéket - a vizsgálat teljes időtartama alatt, amelyek nem köthetők az állatok általunk vizsgált kórfolyamataihoz. Így nem látunk kiugró értéket a második cerulein beadásakor sem.



5. ábra – A haptoglobin (HAPT) értékek változása vizsgált egyedenként és a mért haptoglobin értékek mérésenkénti (x tengely) és egyedenkénti változásai mg/l-ben.

Megbeszélés

Kísérletünk eredményeivel nem sikerült bizonyítanunk a hipotézisünket, mely szerint a SAA vagy a HAPT jobb vizsgálati paraméter lenne az eddig használt CRP-nél akut pancreatitis diagnosztikájában. Azonban több korábbi kutatást sikerült megerősítenünk, amelyek nem csak az akut fázis fehérjék, hanem a hasnyálmirigy enzimeken alapuló diagnosztikát is illetik.

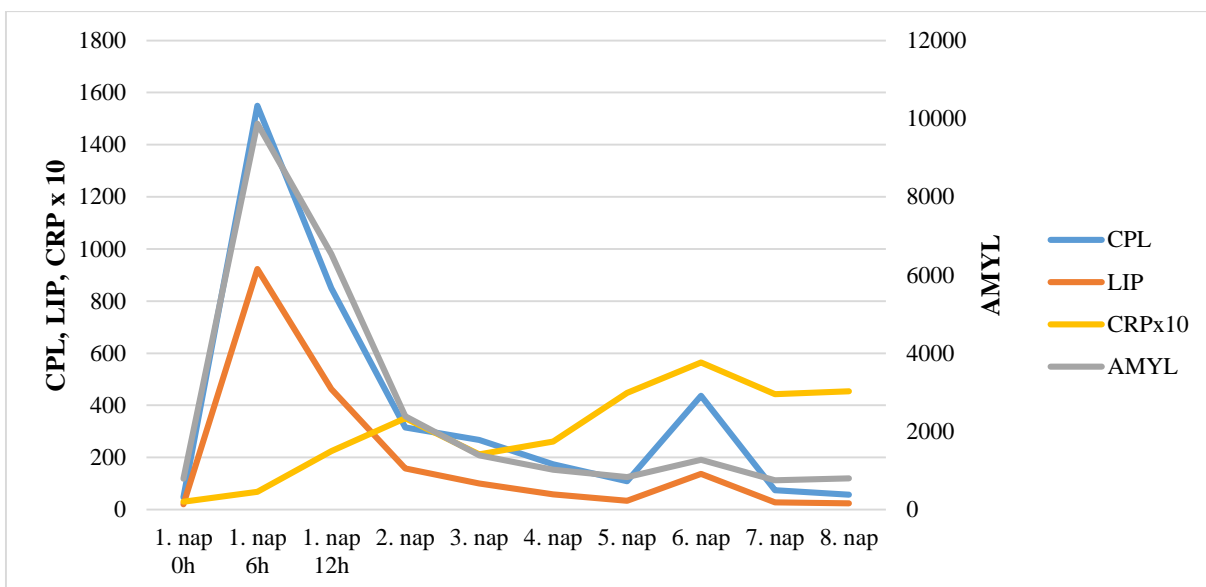
Kutatásunkban a kapott értékek, adatok egybevágóak több korábban elvégzett és általam is megemlített kísérlet eredményeivel, ezek mentén szeretném az alábbiakban sajátjainkat tárgyalni.

A CRP-értékekben tapasztalt változások előzetes várakozásainknak megfelelően, a cerulein beadást követően, a gyulladás megjelenésével emelkedtek az összes egyednél. A változás igen korán, már 6 órával a beadást követően megfigyelhető, a csúcserőértéket szinte minden esetben a második napra érte el. Majd az azt követő napokban csökkenő tendenciát mutattak, az alkalmazott kezelések nyomán, párhuzamosan a javuló klinikai állapottal. Illetve még egy csúcs figyelhető meg a második ceruleines kezelés következtében a hatodik napon, megerősítve ezzel az első beadásnál látott eredményeket. Ezek megerősítik Holm és munkatársainak eredményét, amellyel spontán kialakuló pancreatitisben mutattak ki szignifikánsan emelkedett CRP szintet a kontrollcsoporthoz képest, továbbá többszöri méréseiknek köszönhetően szintén kimutatták az érték csökkenését párhuzamosan a patológias állapot folyamatos enyhülésével. [26]

A kapott értékek alapján kijelenthetjük, hogy kísérletünk szerint a CRP szint jól használható már az akut pancreatitis korai diagnosztikájában, illetve szintjének monitorozásával követhető a betegség lezajlása (**6. ábra**).

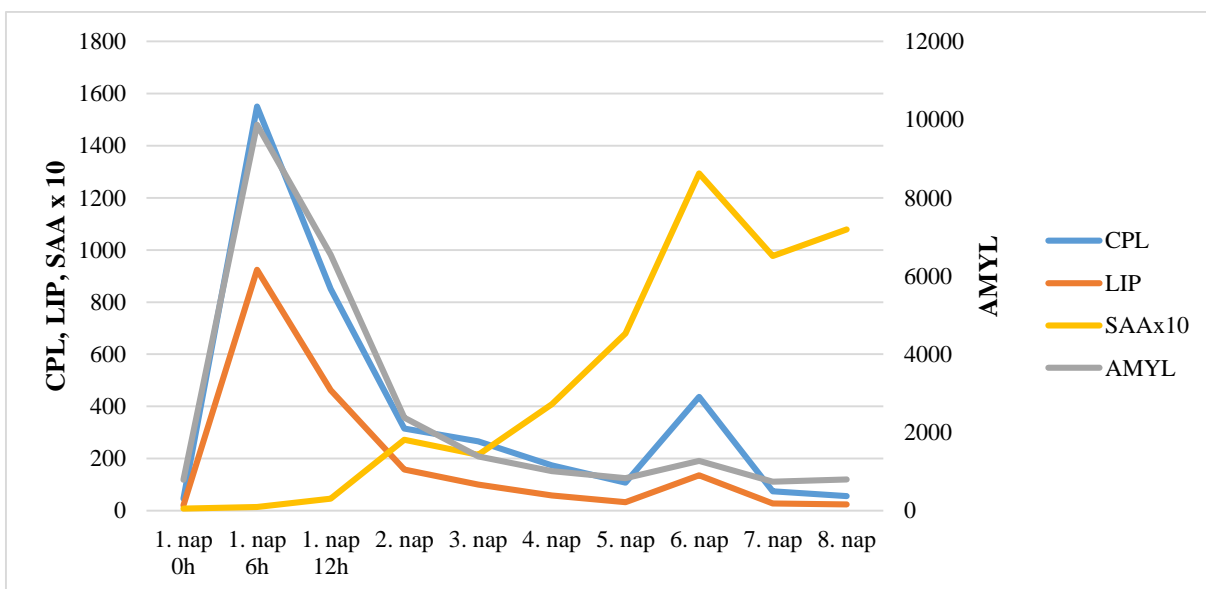
A SAA szintjét figyelve (**7. ábra**) látható, hogy nem emelkedett olyan egységesen minden egyednél, mint a CRP. Illetve azt is elmondhatjuk, hogy azon kutyáknál, ahol tapasztalható volt a szérumkoncentráció növekedése, a cerulein beadás nyomán kialakuló pancreatitist napokkal késleltetve jelezte, továbbá a második injekciós kezelés hatása nem rendelkezik megkülönböztethető ponttal a görbéken. Így megállapíthatjuk, hogy sem az akut betegség diagnosztizálására, sem annak lefolyásának nyomon követésére sem igazán alkalmas. Továbbá kísérletünk során azt sem tapasztaltuk, hogy a SAA szérumszintje nagyságrendekkel magasabbra emelkedett volna a CRP-nél, annak ellenére, hogy korábbi

kutatások ezt a jelenséget több kórképnél is kimutatták már. [35] Így azt sem sikerült bizonyítanunk, hogy a CRP-nél szenzitívebben jelezné az eltérő szintű patológiás állapotokat.



6. ábra – A pancreas enzimek átlagainak és a CRP átlagainak összehasonlítása

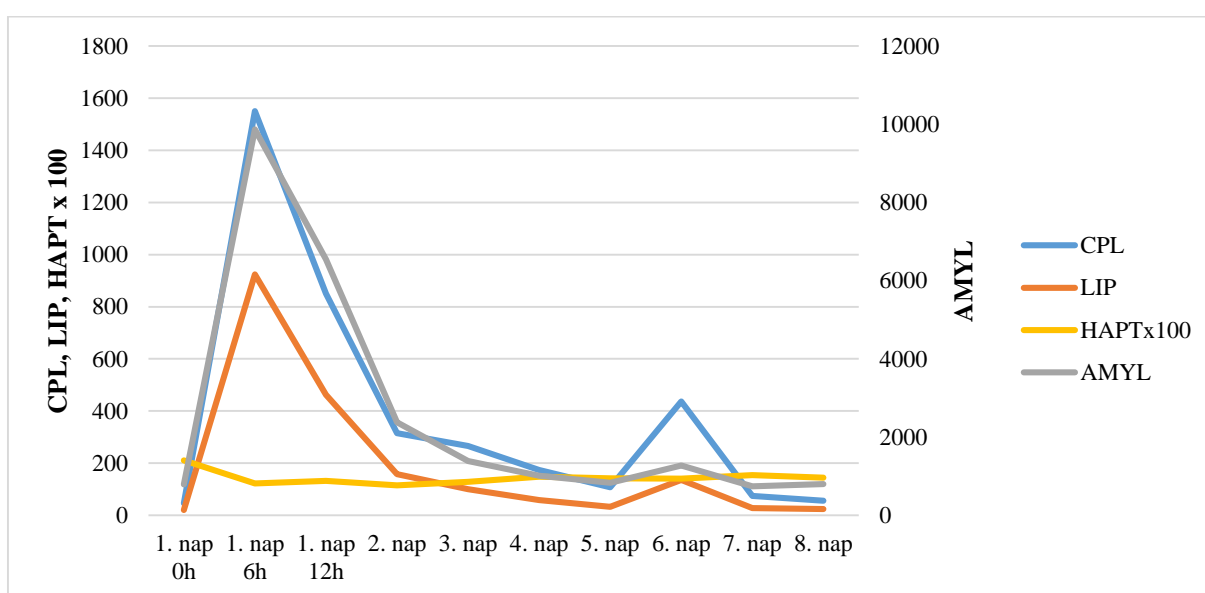
A diagramon a különböző paraméterek változásának összehasonlítása látható, annak érdekében, hogy az a lehető legszemléletesebb legyen, a napi CRP átlagok értékét 10-zel felszoroztam, illetve a skálabeosztás a CRP-nél mg/l-ben, míg az enzimeknél U/l-ben értendő.



7. ábra - A pancreas enzimek átlagainak és a SAA átlagainak összehasonlítása

A diagramon a különböző paraméterek változásának összehasonlítása látható, annak érdekében, hogy az a lehető legszemléletesebb legyen, a napi SAA átlagok értékét 10-zel felszoroztam, illetve a skálabeosztás a SAA-nál mg/l-ben, míg az enzimeknél U/l-ben értendő.

A kutyák szérumban haptoglobinnal koncentrációjában szabálytalan ingadozások láthatóak a vizsgálat teljes időtartama alatt, amelyek nem köthetők az állatok általunk vizsgált kórfolyamataihoz. Így nem látunk kiugró értéket a második cerulein beadásakor sem, ezáltal pedig meg is kérdőjeleződik, hogy vajon az első beadásakor tapasztalt magasabb értékek a beinduló hasnyálmirigy-gyulladás következményei-e. Mivel azonban korábbi kutatásokban több kórkép esetében mutattak ki szignifikáns emelkedést [45, 46, 47], feltételezhetjük, hogy kísérletünk kezdetén az emelkedés nem a pancreatitis miatt következett be. Ezt a hipotézist támasztja alá az a tény is, hogy a kóros tartományba a tíz kezelésen átesett kutyából mindösszesen kettő esett, bármilyen nemű emelkedést pedig mindösszesen öt állat mutatott, szemben a CRP-vel, ahol a változás az összes egyednél megfigyelhető (**8. ábra**).



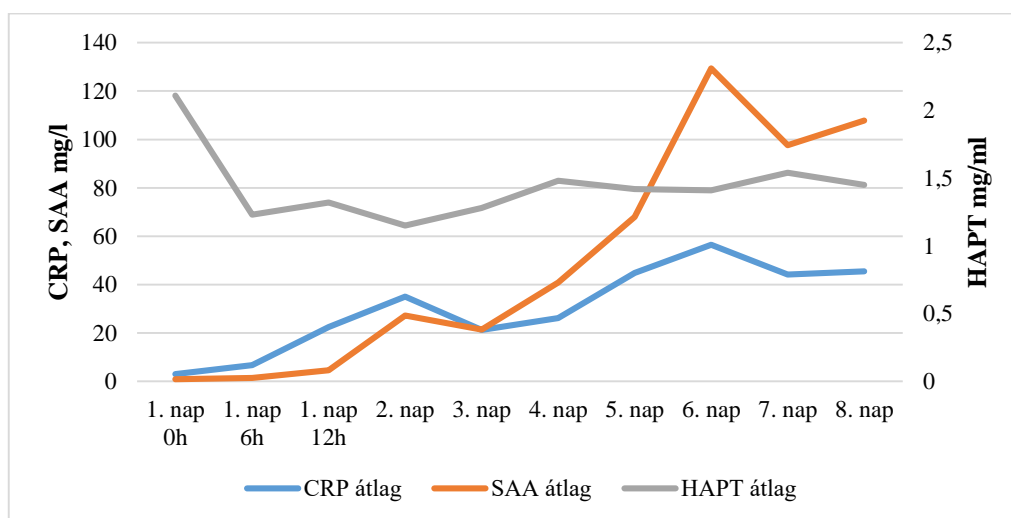
8. ábra - A pancreas enzimek átlagainak és a HAPT átlagainak összehasonlítása

A diagramon a különböző paraméterek változásának összehasonlítása látható, annak érdekében, hogy az a lehető legszemléletesebb legyen, a napi HAPT átlagok értékét 100-zal felszoroztam, illetve a skálabeosztás a HAPT-nál mg/ml-ben, míg az enzimeknél U/l-ben értendő.

Az akut fázis fehérjék mellett vizsgált hasnyálmirigy enzimek segítenek egyrészt értékelni az APP-k változásait, másrészt azonban önállóan velük kapcsolatos következtetéseket is engedtek levonni. Ahogyan azt a **2. ábrán** is láthatjuk mindhárom vizsgált enzim szérumban szintjei együtt mozogva követték a cerulein beadását és vele a betegség kialakulását. Annak ellenére, hogy több kutatás [55, 72], eredményei azt mutatják, hogy a lipáz és az amiláz nem elég specifikus és szenzitív az akut hasnyálmirigy-gyulladás kimutatására, eredményeink azt mutatják, hogy koncentrációjuk változása szépen követte a korábbi vizsgálatokban [72] jobb

eredményeket mutató cPL-t. Így kísérletünk alapján arra jutottunk, hogy ezen enzimek emelkedésével is diagnosztizálható a pancreatitis kutyáknál.

Amennyiben pedig együttesen figyeljük meg a pancreas enzimek és a gyulladásos markerek változásait (6., 7. és 8. ábra) láthatjuk, hogy a korábban leírtaknak megfelelően a CRP követte a legmegbízhatóbban a gyulladás lezajlását az enzimekkel párhuzamosan. Míg a SAA a folyamatok változását csak időben lemaradva követte a CRP-hez képest, a HAPT szintekből semmilyen összefüggés nem volt levonható a megfigyelt kórképre (9. ábra).



9. ábra – Az akut fázis fehérjék átlagainak összehasonlítása

A diagramon a három akut fázis fehérje napi átlaga látható, a CRP és a SAA mg/l-ben, míg a HAPT mg/ml-ben kifejezve.

Összefoglaló

Az akut fázis reakció a szervezetben összetett kaszkádszerűen lejátszódó folyamat, amely a szerzett védekezés részeként értelmezhető. Számos részből áll, mint a láz, leukocitózis, megváltozott hormonszintek, fokozott véralvadás és komplementrendszer-aktivitás, illetve plazmaproteinek és az akut fázisú fehérjék koncentrációjának változása. Utóbbiaknál beszélhetünk pozitív, illetve negatív markerekről annak megfelelően, hogy mennyiségük nő vagy éppen csökken a szervezeti válasz során. A szérumban a koncentrációk változásának mértéke több patológiás esetben párhuzamba állítható a kórkép súlyosságával. Ezáltal igen hasznosak lehetnek számos betegség diagnózisának felállításában, illetve azok lezajlásának monitorozására. Kuttyákban igen gyakori az akut pancreatitis előfordulása, amely súlyos kimenetelű, akár halálos megbetegedés is lehet.

Kutatásunkban az akut fázis fehérjék közül a C-reaktív protein, a szérumban amyloid-A-t (SAA) és a haptoglobin változását vizsgáltuk kuttyákban mesterségesen előidézett hasnyálmirigy-gyulladás során. A kísérlet során cerulein injekciós alkalmazásával váltottunk ki hasnyálmirigy-gyulladást tíz kísérleti beagle kuttyában, majd a beadás napján és további hét napig vettünk tőlük vérmintákat a biokémiai változások monitorozására.

Eredményeinkkel mi is megerősítettük a CRP, mint korai diagnosztikai paraméter alkalmasságát kuttyák heveny hasnyálmirigy-gyulladásának nyomon követésére. Kutatásunkban kimutattuk, hogy a SAA szint megemelkedik ugyan, de a betegség megjelenéséhez képest pár napos időbeni késéssel. Ez klinikai diagnosztikai szempontból nem kedvező, hiszen a minél jobb prognózis érdekében elengedhetetlen a korán megkezdett terápia. Továbbá azt sem tudtuk megerősíteni, – más kutatási eredményekkel ellentétben – hogy nagyobb szenzitivitással rendelkezne CRP-nél. A haptoglobin általunk mért, szinte csak pillanatnyi megemelkedése alkalmatlanná tette a kórkép lezajlásának monitorizálására.

Summary

The acute phase reaction is a complex, cascade-like procedure, which is a part of adaptive immunity. It consists of several parts such as fever, leucocytosis, altered hormone levels, increased haemostasis and complement system activity, and changes in concentration of plasma proteins and the acute phase proteins. Considering these last ones, we can talk about positive and negative proteins, depending on the direction of the change, and whether the

amount of them increases or decreases during the systemic response. In many pathological conditions, it is proven that the severity of their changes can be correlated to the severity of the diseases. This makes them really useful, in establishing the diagnosis of several illnesses and monitoring their progression. Acute pancreatitis is a common disease in dogs, which may have severe consequences, even death of the patients.

The aim of our research was to study the sequential changes of the following acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin during artificially induced pancreatitis in dogs. We induced the disease with cerulein injection in ten experimental beagles, and we monitored the haematological, and biochemical alterations by sampling blood from the dogs for eight days.

Our results supported the adequacy of CRP, as an early diagnostic parameter as well as a good marker for monitoring the progression of canine acute pancreatitis. We have shown that the SAA levels were elevated in the serums with a few days' delay, which is not optimal from the clinical point of view since early therapy is essential for a better prognosis. Furthermore, we could not support other researchers' findings – that it would have higher sensitivity than CRP. The temporary and minimal elevation of haptoglobin levels during the study suggests that haptoglobin is not suitable in the diagnostic or prognostic work-up of canine pancreatitis cases.

Bibliográfia

1. Janeway C (2001) Immunobiology: the immune system in health and disease ; [animated CD-ROM inside], 5. ed. Garland Publ. [u.a.], New York, NY
2. Koj A (1996) Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. *Biochim Biophys Acta* 1317:84–94. [https://doi.org/10.1016/s0925-4439\(96\)00048-8](https://doi.org/10.1016/s0925-4439(96)00048-8)
3. Laskin DL, Pendino KJ (1995) Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35:655–677. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.35.040195.003255>
4. Nilsen E, Johansen F, Jahnsen F, Lundin K, Scholz T, Brandtzaeg P, Haraldsen G (1998) Cytokine profiles of cultured microvascular endothelial cells from the human intestine. *Gut* 42:635–642
5. De L Karlson T, Whiting CV, Bland PW (2007) Proinflammatory cytokine synthesis by mucosal fibroblasts from mouse colitis is enhanced by interferon-gamma-mediated up-regulation of CD40 signalling. *Clin Exp Immunol* 147:313–323. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03267.x>
6. Koumas L, Smith TJ, Phipps RP (2002) Fibroblast subsets in the human orbit: Thy-1+ and Thy-1- subpopulations exhibit distinct phenotypes. *Eur J Immunol* 32:477–485. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200202\)32:2<477::AID-IMMU477>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200202)32:2<477::AID-IMMU477>3.0.CO;2-U)
7. Zhong WW, Burke PA, Hand AT, Walsh MJ, Hughes LA, Forse RA (1993) Regulation of cytokine mRNA expression in lipopolysaccharide-stimulated human macrophages. *Arch Surg* 128:158–163; discussion 163-164. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1993.01420140035006>
8. Ulich TR, Guo KZ, Remick D, del Castillo J, Yin SM (1991) Endotoxin-induced cytokine gene expression in vivo. III. IL-6 mRNA and serum protein expression and the in vivo hematologic effects of IL-6. *J Immunol* 146:2316–2323
9. Luster MI, Germolec DR, Yoshida T, Kayama F, Thompson M (1994) Endotoxin-induced cytokine gene expression and excretion in the liver. *Hepatology* 19:480–488. <https://doi.org/10.1002/hep.1840190229>
10. Baybutt HN, Holsboer F (1990) Inhibition of macrophage differentiation and function by cortisol. *Endocrinology* 127:476–480. <https://doi.org/10.1210/endo-127-1-476>
11. Heinrich PC, Castell JV, Andus T (1990) Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 265:621–636
12. Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PMH (2004) Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res* 35:163–187. <https://doi.org/10.1051/vetres:2004002>
13. Saper CB, Romanovsky AA, Scammell TE (2012) Neural circuitry engaged by prostaglandins during the sickness syndrome. *Nat Neurosci* 15:1088–1095. <https://doi.org/10.1038/nn.3159>
14. Cray C (2012) Acute phase proteins in animals. *Prog Mol Biol Transl Sci* 105:113–150. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394596-9.00005-6>
15. Cray C, Zaias J, Altman NH (2009) Acute phase response in animals: a review. *Comp Med* 59:517–526
16. Paltrinieri S (2008) The feline acute phase reaction. *Vet J* 177:26–35. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.06.005>
17. Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ (2005) Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B* 6:1045–1056. <https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B1045>
18. Tillett WS, Francis T (1930) SEROLOGICAL REACTIONS IN PNEUMONIA WITH A NON-PROTEIN SOMATIC FRACTION OF PNEUMOCOCCUS. *J Exp Med* 52:561–571
19. Pepys MB, Baltz ML (1983) Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol* 34:141–212. [https://doi.org/10.1016/s0065-2776\(08\)60379-x](https://doi.org/10.1016/s0065-2776(08)60379-x)
20. Mold C, Rodic-Polic B, Du Clos TW (2002) Protection from Streptococcus pneumoniae infection by C-reactive protein and natural antibody requires complement but not Fc gamma receptors. *J Immunol* 168:6375–6381. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.12.6375>
21. Waritani T, Cutler D, Chang J (2020) Development of canine C-reactive protein assays. *Acta Veterinaria Scandinavica* 62:50. <https://doi.org/10.1186/s13028-020-00549-9>
22. Trub SA, Bush WW, Paek M, Cuff DE (2021) Use of C-reactive protein concentration in evaluation of diskospondylitis in dogs. *J Vet Intern Med* 35:209–216. <https://doi.org/10.1111/jvim.15981>
23. Venco L, Bertazzolo W, Giordano G, Paltrinieri S (2014) Evaluation of C-reactive protein as a clinical biomarker in naturally heartworm-infected dogs: a field study. *Vet Parasitol* 206:48–54. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.018>
24. Ohno K, Yokoyama Y, Nakashima K, Setoguchi A, Fujino Y, Tsujimoto H (2006) C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis. *J Vet Med Sci* 68:1275–1279. <https://doi.org/10.1292/jvms.68.1275>

25. Viitanen SJ, Lappalainen AK, Christensen MB, Sankari S, Rajamäki MM (2017) The Utility of Acute-Phase Proteins in the Assessment of Treatment Response in Dogs With Bacterial Pneumonia. *J Vet Intern Med* 31:124–133. <https://doi.org/10.1111/jvim.14631>
26. Holm JL, Rozanski EA, Freeman LM, Webster CRL (2004) C-reactive protein concentrations in canine acute pancreatitis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 14:183–186. <https://doi.org/10.1111/j.1534-6935.2004.04010.x>
27. Sato T, Ohno K, Tamamoto T, Oishi M, Kanemoto H, Fukushima K, Goto-Koshino Y, Takahashi M, Tsujimoto H (2017) Assessment of severity and changes in C-reactive protein concentration and various biomarkers in dogs with pancreatitis. *J Vet Med Sci* 79:35–40. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0009>
28. Keany KM, Fosgate GT, Perry SM, Stroup ST, Steiner JM (2021) Serum concentrations of canine pancreatic lipase immunoreactivity and C-reactive protein for monitoring disease progression in dogs with acute pancreatitis. *J Vet Intern Med* 35:2187–2195. <https://doi.org/10.1111/jvim.16218>
29. Uhlar CM, Whitehead AS (1999) Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *European Journal of Biochemistry* 265:501–523. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00657.x>
30. He R, Shepard LW, Chen J, Pan ZK, Ye RD (2006) Serum amyloid A is an endogenous ligand that differentially induces IL-12 and IL-23. *J Immunol* 177:4072–4079. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.6.4072>
31. Mitchell TI, Coon CI, Brinckerhoff CE (1991) Serum amyloid A (SAA3) produced by rabbit synovial fibroblasts treated with phorbol esters or interleukin 1 induces synthesis of collagenase and is neutralized with specific antiserum. *J Clin Invest* 87:1177–1185. <https://doi.org/10.1172/JCI115116>
32. Filippo PAD, Sousa WMR, Fujimoto TAS, Mota FCD, Alves AE (2020) Acute Phase Proteins response and their clinical application in veterinary medicine. *Veterinária Notícias* 26:30–30. <https://doi.org/10.14393/VTN-v26n1-2020-53216>
33. Christensen M, Jacobsen S, Ichihyanagi T, Kjelgaard-Hansen M (2012) Evaluation of an automated assay based on monoclonal anti-human serum amyloid A (SAA) antibodies for measurement of canine, feline, and equine SAA. *Vet J* 194:332–337. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.05.007>
34. Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, Andreasen EB, Moldal E, Tvarijonaviciute A, Kirpensteijn J, Jakobsen S, Persson F, Kjelgaard-Hansen M (2013) Canine serum amyloid A (SAA) measured by automated latex agglutination turbidimetry is useful for routine sensitive and specific detection of systemic inflammation in a general clinical setting. *J Vet Med Sci* 75:459–466. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0404>
35. Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, Andreasen EB, Moldal E, Tvarijonaviciute A, Kirpensteijn J, Jakobsen S, Persson F, Kjelgaard-Hansen M (2014) Comparison of serum amyloid A and C-reactive protein as diagnostic markers of systemic inflammation in dogs. *Can Vet J* 55:161–168
36. Lowrie M, Penderis J, Eckersall PD, McLaughlin M, Mellor D, Anderson TJ (2009) The role of acute phase proteins in diagnosis and management of steroid-responsive meningitis arteritis in dogs. *Vet J* 182:125–130. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.05.001>
37. Hagman R, Rönnberg E, Pejler G (2009) Canine Uterine Bacterial Infection Induces Upregulation of Proteolysis-Related Genes and Downregulation of Homeobox and Zinc Finger Factors. *PLoS One* 4:e8039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008039>
38. Jitpean S, Holst B, Höglund O, Pettersson A, Olsson U, Strage E, Södersten F, Hagman R (2014) Serum Insulin-like growth factor-I, Iron, C-reactive protein and serum amyloid A for prediction of outcome in dogs with pyometra. *Theriogenology* 82:. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.02.014>
39. Milanović Z, Vekić J, Radonjić V, Ilić Božović A, Zeljković A, Janac J, Spasojević-Kalimanovska V, Buch J, Chandrashekar R, Bojić-Trbojević Ž, Hajduković L, Christopher MM, Kovačević Filipović M (2019) Association of acute *Babesia canis* infection and serum lipid, lipoprotein, and apoprotein concentrations in dogs. *J Vet Intern Med* 33:1686–1694. <https://doi.org/10.1111/jvim.15537>
40. Boretti FS, Buehler PW, D'Agnillo F, Kluge K, Glaus T, Butt OI, Jia Y, Goede J, Pereira CP, Maggiorini M, Schoedon G, Alayash AI, Schaer DJ (2009) Sequestration of extracellular hemoglobin within a haptoglobin complex decreases its hypertensive and oxidative effects in dogs and guinea pigs. *J Clin Invest* 119:2271–2280. <https://doi.org/10.1172/JCI39115>
41. Kato GJ (2009) Haptoglobin halts hemoglobin's havoc. *J Clin Invest* 119:2140–2142. <https://doi.org/10.1172/JCI40258>
42. Ascenzi P, Bocedi A, Visca P, Altruda F, Tolosano E, Beringhelli T, Fasano M (2005) Hemoglobin and heme scavenging. *IUBMB Life* 57:749–759. <https://doi.org/10.1080/15216540500380871>

43. Cid MC, Grant DS, Hoffman GS, Auerbach R, Fauci AS, Kleinman HK (1993) Identification of haptoglobin as an angiogenic factor in sera from patients with systemic vasculitis. *J Clin Invest* 91:977–985. <https://doi.org/10.1172/JCI116319>
44. El Ghmati SM, Van Hoeyveld EM, Van Strijp JG, Ceuppens JL, Stevens EA (1996) Identification of haptoglobin as an alternative ligand for CD11b/CD18. *J Immunol* 156:2542–2552
45. Golinelli S, de Marco V, Leal RO, Barbarossa A, Anibaldi C, Maietti E, Tardo AM, Galac S, Fracassi F (2021) Comparison of methods to monitor dogs with hypercortisolism treated with trilostane. *J Vet Intern Med* 35:2616–2627. <https://doi.org/10.1111/jvim.16269>
46. Franco-Martínez L, Gelemanović A, Horvatić A, Contreras-Aguilar MD, Mrljak V, Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Tvarijonavičiute A (2020) The Serum and Saliva Proteome of Dogs with Diabetes Mellitus. *Animals (Basel)* 10:2261. <https://doi.org/10.3390/ani10122261>
47. Mylonakis ME, Ceron JJ, Leontides L, Siarkou VI, Martínez S, Tvarijonavičiute A, Koutinas AF, Harrus S (2011) Serum acute phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. *J Vet Intern Med* 25:811–817. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0728.x>
48. Franco-Martínez L, Gelemanović A, Horvatić A, Contreras-Aguilar MD, Dąbrowski R, Mrljak V, Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Tvarijonavičiute A (2020) Changes in Serum and Salivary Proteins in Canine Mammary Tumors. *Animals (Basel)* 10:741. <https://doi.org/10.3390/ani10040741>
49. Mix K, Jones C (2006) Diagnosing acute pancreatitis in dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 28:226–234
50. Mushtaq S, Farooq I, Farooq I, Rashid SM, Rehman MU, Ali R, Shabir M, Mir MUR, Ahmad SB (2017) Acute pancreatitis in dogs: A review. *Pharma Innovation* 6:509–516
51. Bhatia M (2004) Apoptosis of pancreatic acinar cells in acute pancreatitis: is it good or bad? *J Cell Mol Med* 8:402–409. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2004.tb00330.x>
52. Mansfield C (2012) Pathophysiology of acute pancreatitis: potential application from experimental models and human medicine to dogs. *J Vet Intern Med* 26:875–887. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00949.x>
53. Gori E, Pierini A, Ceccherini G, Citi S, Mannucci T, Lippi I, Marchetti V (2020) Pulmonary complications in dogs with acute presentation of pancreatitis. *BMC Vet Res* 16:209. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02427-y>
54. Watson PJ (2003) Exocrine pancreatic insufficiency as an end stage of pancreatitis in four dogs. *J Small Anim Pract* 44:306–312. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2003.tb00159.x>
55. Strombeck DR, Farver T, Kaneko JJ (1981) Serum amylase and lipase activities in the diagnosis of pancreatitis in dogs. *Am J Vet Res* 42:1966–1970
56. Steiner JM, Berridge BR, Wojcieszyn J, Williams DA (2002) Cellular immunolocalization of gastric and pancreatic lipase in various tissues obtained from dogs. *Am J Vet Res* 63:722–727. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2002.63.722>
57. Steiner JM, Williams DA (2003) Development and validation of a radioimmunoassay for the measurement of canine pancreatic lipase immunoreactivity in serum of dogs. *Am J Vet Res* 64:1237–1241. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2003.64.1237>
58. Steiner JM, Teague SR, Williams DA (2003) Development and analytic validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the measurement of canine pancreatic lipase immunoreactivity in serum. *Can J Vet Res* 67:175–182
59. Leese T, West KP, Morton DB, Bell PR (1988) Fresh frozen plasma therapy in acute pancreatitis: an experimental study. *Int J Pancreatol* 3:437–447. <https://doi.org/10.1007/BF02788202>
60. Flint R, Windsor J (2003) The role of the intestine in the pathophysiology and management of severe acute pancreatitis. *HPB (Oxford)* 5:69–85. <https://doi.org/10.1080/13651820310001108>
61. Marks SL, Kook PH, Papich MG, Tolbert MK, Willard MD (2018) ACVIM consensus statement: Support for rational administration of gastrointestinal protectants to dogs and cats. *J Vet Intern Med* 32:1823–1840. <https://doi.org/10.1111/jvim.15337>
62. Watson P (2004) Pancreatitis in the dog: Dealing with a spectrum of disease. *In Practice* 26. <https://doi.org/10.1136/inpract.26.2.64>
63. Leach SD, Modlin IM, Scheele GA, Gorelick FS (1991) Intracellular activation of digestive zymogens in rat pancreatic acini. Stimulation by high doses of cholecystokinin. *J Clin Invest* 87:362–366. <https://doi.org/10.1172/JCI114995>
64. Lampel M, Kern HF (1977) Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 373:97–117. <https://doi.org/10.1007/BF00432156>

65. Niederau C, Ferrell LD, Grendell JH (1985) Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: protective effects of proglumide, benzotript, and secretin. *Gastroenterology* 88:1192–1204. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(85\)80079-2](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(85)80079-2)
66. Renner IG, Wisner JR (1986) Ceruletide-induced acute pancreatitis in the dog and its amelioration by exogenous secretin. *Int J Pancreatol* 1:39–49. <https://doi.org/10.1007/BF02795238>
67. Hue Su K, Cuthbertson C, Christophi C (2006) Review of experimental animal models of acute pancreatitis. *HPB (Oxford)* 8:264–286. <https://doi.org/10.1080/13651820500467358>
68. Yu JH, Kim H (2014) Oxidative stress and inflammatory signaling in cerulein pancreatitis. *World J Gastroenterol* 20:17324–17329. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i46.17324>
69. C-reactive protein concentrations in canine acute pancreatitis - Holm - 2004 - *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1534-6935.2004.04010.x>. Accessed 23 Mar 2023
70. Mayer JM, Raraty M, Slavin J, Kempainen E, Fitzpatrick J, Hietaranta A, Puolakkainen P, Beger HG, Neoptolemos JP (2002) Serum amyloid A is a better early predictor of severity than C-reactive protein in acute pancreatitis. *Br J Surg* 89:163–171. <https://doi.org/10.1046/j.0007-1323.2001.01972.x>
71. Eckersall PD, Duthie S, Safi S, Moffatt D, Horadagoda NU, Doyle S, Parton R, Bennett D, Fitzpatrick JL (1999) An automated biochemical assay for haptoglobin: Prevention of interference from albumin. *Comp Haematol Int* 9:117–124. <https://doi.org/10.1007/BF02600369>
72. Cridge H, Twedt DC, Marolf AJ, Sharkey LC, Steiner JM (2021) Advances in the diagnosis of acute pancreatitis in dogs. *J Vet Intern Med* 35:2572–2587. <https://doi.org/10.1111/jvim.16292>

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni hálás köszönetemet témavezetőimnek Dr. Manczur Ferencnek és Dr. Kanyorszky Eszter Tündének, hogy támogatták a dolgozatom elkészülését szakmai tudásukkal, tapasztalatukkal és biztatásukkal. Továbbá a Belgyógyászati Tanszék munkatársainak, akik segítettek kísérletünk kivitelezése során.

Végül pedig szeretném megköszönni párom, családom és barátaim bátorító szavait és türelmét TDK dolgozatom elkészülésének ideje alatt.

Témavezetői nyilatkozat TDK dolgozathoz

Alulírott**Manczur Ferenc**....., mint témavezető nyilatkozom, hogy (név).....**Babits Emma Léda**....., ...**VI**..... évfolyamos hallgató „...**Akut fázisú fehérvék összehasonlítása akut pancreatitis során experimentális kutya modellben**.....” című dolgozatát átolvastam és jóváhagytam, részvételét támogatom az Állatorvostudományi Egyetem 2023.... . évi Tudományos Diákköri Konferenciáján. Továbbá nyilatkozom, hogy a feltöltött TDK dolgozat plágiumellenőrzésen sikeresen átesett és az esetlegesen feltárt egyezőség az Egyetemi iránymutatásoknak/szabályoknak megfelel.

Budapest, 2023 év...október....hó 20nap.





Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Babits Emma Léda

Neptun-kódja: WQYJUC

A témavezető neve és beosztása: Dr. Manczur Ferenc - egyetemi docens; Dr. Kanyorszky Eszter Tünde – klinikai állatorvos

Tanszék: Belgyógyászati Tanszék

A diplomadolgozat címe: Akut fázisú fehérjék összehasonlítása akut pancreatitis során experimentális kutya modellben

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2023.	02.	02.	A téma kidolgozásának átbeszélése	
2.	2023.	02.	09.	Az irodalmi összefoglaló megbeszélése	
3.	2023.	03.	01.	Egyeztetés az irodalmi áttekintésről	
4.	2023.	03.	30.	További irodalmi adatok feldolgozása	
5.	2023.	04.	06.	További irodalmi adatok feldolgozása	

Érdemjegy az első félév végén:**5**.....

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2023.	08.	10.	Az irodalmi áttekintés véglegesítése	
2.	2023.	08.	17.	A statisztikai elemzés kiértékelése	
3.	2023.	09.	01.	Az eredmények áttekintése	
4.	2023.	10.	02.	A diszkusszió átbeszélése	
5.	2023.	10.	20.	A végleges dolgozat áttekintése leadás előtt	

Érdemjegy a második félév végén:**5**.....

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



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

A diplomamunka befogadható, védeésre alkalmasnak találtam.

témavezető aláírása

Hallgató aláírása:

Tanszéki előadó aláírása: Átvétel dátuma: 2023. 11. 15.

NYILATKOZAT

Alulírott BABITS EMMA LÉDA..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe
AKUT FAZISÚ FEHÉRBEK ÖSSZEHASONLÍTÁSA AKUT PANCREATITIS
SORÁN EXPERIMENTÁLIS KUTYA MODELLBEN..... tartalmi és formai
szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2023..... évi TDK konferencián
szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2023. 11. 15.....

BABITS EMMA LÉDA

RE MU

a hallgató neve és aláírása