

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Kaposvári Campus

Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Molekuláris Ökológia Tanszék

A doktori iskola vezetője: Dr. Szabó András, MTA doktora, tanszékvezető, egyetemi tanár

Témavezető(k): Dr. Molnár Tamás Gergely, egyetemi tanár

Dr. Gál János, MTA doktora, tanszékvezető, egyetemi tanár

Tenyésztett pisztrángfélék daganatos megbetegedéseinek vizsgálata

Készítette:

Dr. Hoitsy Márton György

Kaposvár

2022

Tartalom

1. A kutatás előzményei, célkitűzés	2
2. Anyag és módszer	4
A beteg példányok kiválogatása és terepi diagnosztikája	4
CT-MRI képalkotó vizsgálatok	4
Kórboncolás.....	5
Kórszövetteni vizsgálat	5
Immunhisztokémiai vizsgálat.....	6
Vírus metagenomika, újgenerációs szekvenálás és bioinformatikai elemzés	7
Elektronmikroszkópos vizsgálat.....	8
3. Eredmények.....	9
Képalkotó diagnosztikai vizsgálatok.....	9
Kórboncolás makroszkópos eredményei.....	10
Kórszövetten és immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei.....	13
Virologiai vizsgálatok eredményei.....	14
Az elektronmikroszkópos vizsgálat eredményei.....	16
4. Következtetések.....	17
5. Új kutatási eredmények	23
6. Javaslatok	24
7. Az értekezés témaköréből írt tudományos közlemények	25

1. A kutatás előzményei, célkitűzés

A kutatás előzményei

A világ rohamosan növekvő népességének élelmiszerigényét és fehérjeszükségletét nagy részben előreláthatólag az akvakultúra tudja majd fedezni, ahogy erre az Állatorvostudományi Egyetemen tartott előadásában Horn Péter akadémikus, és számos tanulmány is rámutatott. Kutatásunk célkeresztjében a szivárványos pisztráng (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) állt, ami Észak-Amerikában, a nyugati parton található hegységek folyóiban őshonos. Európában az egyik legnagyobb mennyiségben tenyésztett halfajnak számít, fogyasztása egyre nagyobb szerepet képvisel a táplálkozásunkban.

Az akvakultúrában betöltött szerepe megkérdőjelezhetetlen, és éppen ezért egészségvédelme csöppet sem elhanyagolható. Napjainkra a szivárványos pisztráng számít a legszélesebb körben elterjesztett lazacfélének. A tógazdaságokban az anyaállományok betegségektől való mentessége nagyon fontos kritérium. A nagy értékű tenyészállatok egészségvédelme jelentős szerepet játszik a telepeken. Az állatokat 2-3 éves korukban vonják be a tenyésztésbe, és 3-4 szeznon keresztül szaporítják őket. Egy anyahal akár 3000–4000 ikrát is leadhat a téli ivási időszak alatt. Ez idő alatt tartásuk, takarmányozásuk, állatorvosi kezelésük komoly költségeket von maga után, emiatt az elváltozások minél korábbi azonosítása jelentős tényező lehet a halak szelektálásában.

A halakat megtámadó vírusok, baktériumok, gombák és paraziták mellett a daganatok kialakulása egy újabb veszélyforrást jelent az állományokra nézve. Ennek tükrében az anyaállományban előforduló tumorok okozta elhullások csöppet sem elhanyagolhatóak. A lazacfélék daganatainak vizsgálata napjainkban úttörő kutatási tevékenységnek számít. Kialakulásuk okai sok esetben mindmáig tisztázatlanok. A halakban előforduló tumorok típusai, áttétképző képessége, valamint az érintett szervek mind új oldalról világíthatják meg az onkológia témakörét. Az elváltozások tanulmányozása jelentős információval szolgálhat mind az állatorvosi, mind pedig a humán rákkutatásban. A szivárványos pisztráng, mint modellállat megkérdőjelezhetetlen szerepet tölthet be a jövőbeli vizsgálatok során. Magyarországon ez idáig senki nem vizsgálta ilyen mélyre ható részletességgel a halak daganatait és azok hatásait.

Vizsgálataink középpontjában a tenyésztett lazacfélék, köztük is kifejezetten a szivárványos pisztráng daganatos elváltozásainak képalkotó diagnosztikai, kórbonctani,

kórszövettani, immunhisztokémiai, valamint molekuláris biológiai és elektronmikroszkópos vizsgálatai álltak.

Célkitűzések

- Vizsgálataim során célul tűztem ki a Magyarországon tenyésztett, daganatos megbetegedésekkel érintett szivárványos pisztráng állományok alapos állatorvosi kivizsgálását.
- Kutatásaim során a tumorok kórszövettani, immunhisztokémiai módszerekkel történő azonosítása és differenciálása elengedhetetlen cél volt.
- Munkám során kitűzött terveim között szerepelt a neoplasztikus elváltozások esetleges vírusos eredetének vizsgálata.
- Törekedtem egy olyan optimális képalkotó diagnosztikai eljárás kidolgozására, mely segítheti a tenyésztőket és a velük dolgozó állatorvosokat a daganatok korai fázisban való felismerésében.

2. Anyag és módszer

A beteg példányok kiválogatása és terepi diagnosztikája

A vizsgált anyaállomány (800 db szivárványos pisztráng) a piaci haltól teljes mértékben elkülönítve, külön medencében található. A kutatási periódus alatt makroszkóposan átvizsgálásra kerültek az egy nyaras és piaci (1–1,5 éves) egyedek is. Haltenyészetek esetében napi etetések során történik meg az állomány egészségi állapotának felmérése. A beteg halak színe és viselkedése megváltozik, besötétednek, a medence szélénél magányosan helyezkedtek el. Lesoványodnak, a faroknyél területén az izomtömeg csökkenése látható, miközben néhány egyednél a hastájéki rész kidomborodik. Az ilyen viselkedést és tüneteket mutató halakat fogtuk ki. Az érintett szivárványos pisztrángok altatása 0,2 ml/L koncentrációjú 2-phenoxyethanol altatószerrel történt. Az eutanázia kellő körültekintéssel, a jogszabályban/törvényben (1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről, 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet az állatkísérletekről) előírtak szerint történt. A feldolgozásra kerülő egy-másfél éves halakat (piaci állomány) a napi rutintevékenységek során makroszkópos vizsgálatoknak vetettük alá, mely során a belszerveket tüzetesen átvizsgáltuk daganatok kialakulásának nyomait kutatva. Ez a kutatási periódus ideje alatt évi 40 tonna halat jelentett.

A halakat altatásban fizikális vizsgálatnak vetettük alá, ellenőriztük a kopoltyú állapotát, áttapintottuk a hasüreget. Ahol tömött tapintatú, daganatszerű képletet éreztünk, azokon az állatokon ultrahang vizsgálatokat végeztünk. Hordozható ultrahang készülékek segítségével (Mindray M9Vet, C5-1s konvex transducer, 1.4-5.1 MHz bandwidth) igazoltuk az elsődleges diagnózist. A pozitívnak nyilvánított halak túlalattatásra kerültek 2 ml/L 2-phenoxyethanol segítségével.

Azokban az esetekben, amikor CT és MRI vizsgálatot is alkalmaztunk, a teljes testet 10% pufferolt formalinban fixáltuk. A konzerválószer a testüregbe is befecskendezésre került a jobb szöveti penetráció elérése végett.

CT-MRI képalkotó vizsgálatok

A CT vizsgálatok során Siemens Somatom Definition AS+ berendezést (Siemens, Erlangen, Németország) használtunk. A halakról teljes testet lefedő, harántsíki felvétel készült az alábbi beállításokkal: 120 kV; 200 mAs; kollimáció 128*0,6 mm; spirál adatgyűjtési mód 0,6-os pitch; 0,6 mm-es szeletvastagság. Az egymást átfedő felvételeket

iteratív módszerrel rekonstruáltuk, az alábbi paraméterekkel: 200 mm látómező (FOV), 0,6 mm szeletvastagság, I49s kernel. A használt szoftver Syngo CT VA48A (Siemens, Erlangen, Németország) volt. Az MR vizsgálatokat Siemens Biograph mMR 3T készülékekkel végeztük. T2-súlyozott, turbo spin echo felvételeket készítettünk transversalis síkban, az alábbi paraméterekkel: TR (repetíciós idő) 8000 ms, TE (echó idő) 100 ms, 3 mm-es szeletvastagság, 3,6 mm-es szeletek közötti távolság, 3 átlag, 256x256-os mátrix, flip angle (billentési szög) 160°, látómező (FOV) 250 mm. A felvételsorozatokot DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) formátumban mentettük el.

A szabadforráskódú 3D Slicer szoftver segítségével kerültek előállításra a modellek. A szoftverben kézzel és félautomata módszerekkel szegmentáltam a képleteket. A szervek vagy szervrendszerek határait a szövettípusra jellemző denzitásértéket kiválasztva rajzoltam be. A körülhatárolt rétegekből a program egy 3D modellt épített fel.

Kórboncolás

A boncolásra váró, véglegesen túlaltatott egyedeket a jobb oldalukra fektettük, hogy az állatok feje a bal kezünk felé nézzen. A végbélnyílástól kiindulva a testüreg középvezetékében egy hosszanti metszést ejtettünk egészen a garat tájáig. Ezután az állatok bal oldalán a végbélnyílástól a fej irányába ív alakban metszettük fel az állatot úgy, hogy az oldalvonal felett 1–1,5 cm távolságban haladjon a metszés, ami a mellűző előtt tért vissza az első metszésünkhöz. Az így kapott részt leemelve teljes egészében megnyílt az állatok testürege. A belső szerveket kiemeltük a testüregből. Az emésztő szervrendszert hosszában a garattól egészen a kloáka végéig felvagtuk. A gyomorban és a bél több pontján (pilórus tájék, középbél szakaszai) a megnyitás után daganatszerű képletek váltak megfigyelhetővé. A máj és a vese is érintett volt a neoplasticitást mutató malformációkkal. A kopoltyúfedő felemelése után a kopoltyú lemezei között, a kopoltyúíveken, szintén daganatszerű képleteket találtunk számos esetben. Az elváltozásokról makroszkópos képeket készítettünk Nikon D7000 fényképezőgéppel. Az érintett szöveteket kimetszettem, és 10%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltam.

Kórszöveti vizsgálat

A mintákat szobahőmérsékleten, 24 órán át, 10%-os pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk, majd szövetelőkészítő automatával tettük alkalmassá a további feldolgozásra. A paraffinos beágyazást követően a paraffinos blokkokból 3–4 µm

vastagságú metszeteket készítettünk, amelyeket hematoxilinnal és eozinnal festettünk meg automata segítségével. A metszeteket Nikon Optiphot-2 típusú fénymikroszkóppal vizsgáltuk.

Immunhisztokémiai vizsgálat

Az indirekt immunhisztokémiai vizsgálatot Ventana-immunfestő automata segítségével végeztük. Az immunhisztokémiai reakciókat avidin-biotin immunperoxidáz rendszerrel (DAKO LSAB2 Kit) és DAB (diamino-benzidin) chromogennel tettük láthatóvá. A kontrasztfestés hematoxilinnel történt. A negatív kontroll metszeteket az elsődleges antitestek kihagyásával készítettük. Az immunhisztokémiai reakciók kiértékelése során külső pozitív kontrollokat használtunk. A metszetek deparaffinizálására xilént és felszálló alkohol sort használtunk. A feltárás során oldatban 6-os pH-n 30 percig a mikrohullámú sütőben voltak a metszetek. Ezekre szobahőmérsékleten kerültek rá az elsődleges antitestek: E-cadherin (1:100 hígítás, monoclonalis egér, DAKO), cytokeratin AE1-AE3, claudin-5 (monoclonalis egér, 1:100 hígítás, DAKO), vimentin (monoclonalis egér, 1:200 hígítás, DAKO), α -smooth muscle actin (α -SMA), (monoclonalis egér, 1:8000 hígítás, SIGMA), s-100 protein (polyclonalis nyúl, 1:50 hígítás, DAKO), c-kit/CD117 (polyclonalis nyúl, 1:100 hígítás, DAKO) és pancitokeratin (monoclonalis egér, 1:100 hígítás, DAKO). Sztreptavidin-peroxidáz módszert alkalmaztunk az immunhisztokémiai festési eljárás során. Az antigénhez kötődött elsődleges antitestek detektálására avidin-biotin-peroxidáz komplexet (LSAB2 Kit, DAKO) használtunk. A kromogén szubsztrát diamino-benzidin (DAB) volt. Máyer féle hemalumoldattal történt a háttérfestés. A negatív kontroll metszeteit az elsődleges antitestek nélkül festettük meg. Pozitív kontrollként kutya bőr intakt epidermális rétegét használtuk E-cadherin esetén, és tumorsejteket kutya emlőkarcinómájából pancitokeratinra nézve. Az elkészült kórszövettani és immunhisztokémiai metszeteket Panoramic MIDI II (3DHitech, Budapest) metszetszkennel segítségével digitalizáltuk. A képeket CaseViewer (3DHitech) program segítségével készítettük.

Vírus metagenomika, újgenerációs szekvenálás és bioinformatikai elemzés

A neoplasztikus elváltozással érintett szervekből 5×5×5 mm szövetdarab került kivágásra, melyeket ezután natívan eppendorf csövekben -80°C-on tároltunk a minták további feldolgozásáig. A vizsgálatok során három pisztrángból származó minta került feldolgozásra, melyek között egy egyedi és 2 poolozott bél adenokarcinóma szövetdarab volt. A metagenomikai analízis első lépéseként a mintákból random (RT-)PCR segítségével a benne található virális örökítőanyag feldúsításra került (Phan et al., 2013; Victoria et al., 2009). A PBS hozzáadásával készült szövethomogenizátumok a virális részecskék feldúsításának érdekében egy 0,45-mm méretű szűrőn (Millipore) átszűrésre kerültek, majd egy DNáz és RNáz enzimeket (Turbo DNase [Ambion], Baseline-ZERO [Epicentre], Benzonase [Novagen] és RNase [Fermentas]) tartalmazó emésztőenzim mix hozzáadásával a szennyező, nem virális nukleinsavaktól is megtisztítottuk. Ezt követően a nukleinsav kivonást a QIAamp oszlopos nukleinsav kivonó kit (Qiagen, Hilden, Németország) segítségével végeztük, majd a kivont nukleinsavat szekvencia független random PCR vagy random RT-PCR segítségével feldúsítottuk. A virális cDNS könyvtárak a ScriptSeq™ v2 RNA-Seq Library Preparation Kit (Epicentre) segítségével készültek. A PCR/RT-PCR amplikonok szekvenálását Illumina MiSeq készülék segítségével a gyártó ajánlása alapján végeztük. Az újgenerációs szekvenálás során kapott 250bp hosszúságú paired-end readeket Linux alapú bioinformatikai analízisnek vetettük alá. A kapott readeket a hg38 humán referencia genomhoz és bakteriális szekvenciákhoz mappeltük a Bowtie 2 segítségével. Az adapter és primer szekvenciák levágása a VecScreen szoftver alapbeállításával valósult meg. Az eukarióta és bakteriális eredetű szekvenciáktól megtisztított readekből *de-novo* assembly (Ensemble Assembler) segítségével hosszabb szekvenciákat (contigokat) készítettünk. Az így készült, 100bp-nál hosszabb méretű contigokat egy saját virális proteom adatbázishoz és a GenBank nukleotid adatbázisához hasonlítottuk a BLASTx és a BLASTn segítségével. A virálishoz hasonló contigokat egy saját, nem-vírus-nem-redundáns univerzális proteom adatbázishoz hasonlítottuk a DIAMOND segítségével. A virális találatokhoz tartozó taxonómiai információkat pedig a webalapú grafikus felület segítségével jelenítettük meg.

Elektronmikroszkópos vizsgálat

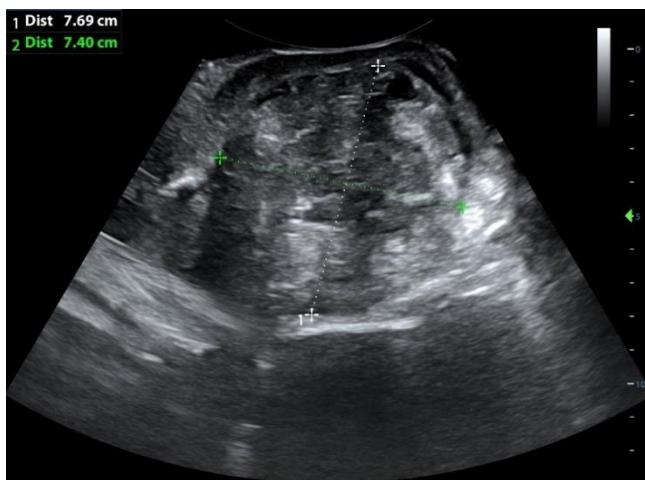
A vizsgálatok során az elváltozást mutató daganatszövetből, valamint egészséges halak ugyanazon szöveteiből is, mintavétel történt. A bél, kopoltyú, máj és vesetumorokból 1—5 mm³ darabok kerültek kimetszésre a daganatos szövetből, valamint az ép és elváltozást mutató terület határáról. A makroszkóposan ép szervekből megismételtük a mintavételt az előbb említett módon. A szöveteket frissen elkészített (24 órán belül) fixáló oldatba helyeztük (0,2% glutáraldehid, 4% formaldehid), úgy, hogy azokat a folyadék ellepje. A fixált mintákat hűtőben tároltuk 4°C-on egy éjszakán át. A harmadik nap után ezek a minták a törzsoldatból 4% formaldehid oldatba kerültek, elkerülve ezzel a glutáraldehid szövetkeményítő hatását. A szövet kivágása és beágyazása általános elektronmikroszkópos módszer szerint történt (Marcello et al., 2018). Az 50 nm vastagságú metszeteket ultramikrotommal (Leica Microsystems, Reichert Ultracut S) készítettük el, és 3%-os ólom-citrát oldattal kontrasztoltuk. A metszeteket transzmissziós elektronmikroszkóp (JEOL, JEM-1011) segítségével vizsgáltuk. A képeket a mikroszkóppal kombinált digitális kamerával (Mega-View-III) készítettük. A metszetek kvalitatív képelemzése pszeudo-random módszerrel történt.

3. Eredmények

A vizsgálat ideje alatt (2015–2022) a szivárványos pisztráng anyaállományból (évek folyamán konstans 820 db) összesen 51 db egyedben találtunk elváltozásokat. A kutatás során megfigyelhető volt, hogy az érintett állatok elkülönültek a többiektől, a medence alján, esetleg a befolyó közelében tartózkodtak. Az előrehaladott állapotú halak izomzata sorvadt volt, kachexia volt megfigyelhető. A súlyos fokú tünetek megjelenése után néhány nappal az agonizáló egyedek oldalukra dőltek, kiegyenesedtek, röviddel ezután elpusztultak. A külső vizsgálatok során az állatok bőre ép volt, sérülés egyedül a farok és mellúszók tetején volt megfigyelhető, amelyet a rivalizálás során szerzett harapások okozhattak. A mikroszkóppal végzett külső parazitákra irányuló vizsgálatok negatív eredménnyel zárultak. A szájüregekben kóros elváltozást nem tapasztaltunk. A telepen napi szinten 100–150 kg piaci hal (egy-másfél éves) kerül feldolgozásra, ezek egyikében sem találtunk daganatos elváltozásokat makroszkópos vizsgálattal.

Képalkotó diagnosztikai vizsgálatok

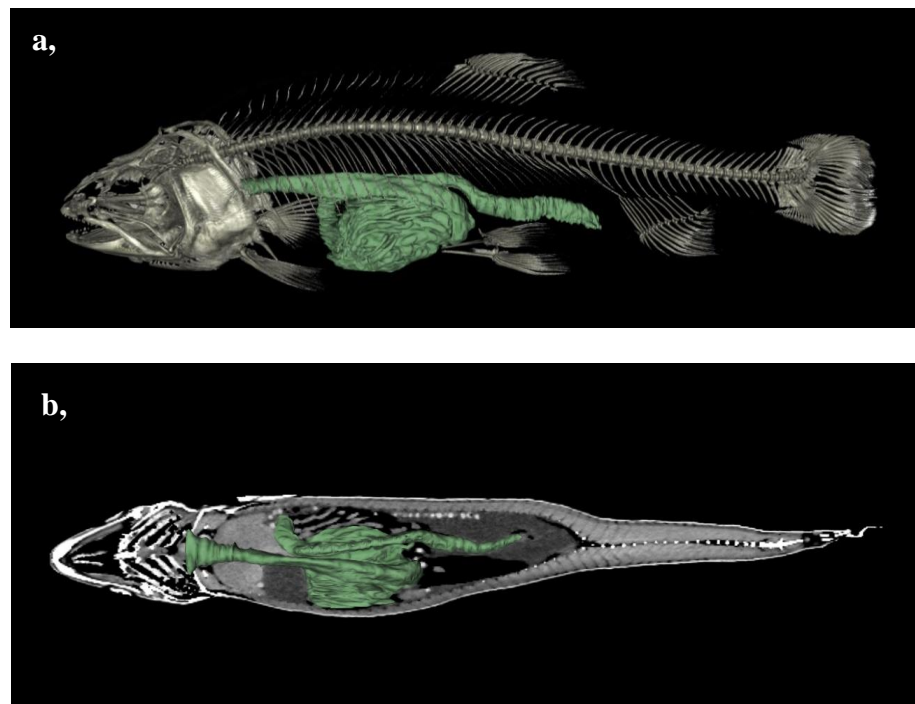
A lesoványodott, atrophias izomzattal rendelkező, vagy kitágult testüregű állatokon ultrahang vizsgálatokat végeztünk. Néhány esetben már a fizikális vizsgálat során tömött tapintatú képletet észleltünk. Az egyik esetben ultrahang kép alapján egy lebenyezett, heterogén szerkezetű, gömbölyded képlet volt megfigyelhető a középbél elülső szakaszán. A növedék 7,69 cm és 7,4 cm átmérővel rendelkezett. (**1. ábra**). A többi belső szerv ultrahang képe nem mutatott kóros elváltozást.



1. ábra: A középbélben található daganatos elváltozás keresztmetszeti képe szivárványos pisztráng ikrás egyedben

A további ultrahang vizsgálatok segítségével azonosítottunk a gyomor- és a bélrendszer meghatározott területein, valamint a máj állományában előforduló daganatokat más halakban.

A CT és MRI képek rekonstrukciója igazolta az ultrahang vizsgálat eredményét. A jól kirajzolódó légyszöveti képlet a testüreg alsó középső részén helyezkedett el, a máj mögött és a lép előtt. A szagittális és transzverzális síkok képein, valamint a 3D CT képeken jól látható a daganatszerű légyszöveti elváltozás a középbel első szakaszában, ahol annak jelentős megnagyobbodását okozta (**2. ábra**).



2 a-b. ábra: A 3D rekonstrukció segítségével láthatóvá vált kóros elváltozás a pilórus bél területén, a b, ábra szagittális síkban került elmetzésre

Kórboncolás makroszkópos eredményei

Az egynyaras és piaci szivárványos pisztráng állomány egyik egyedében sem találtunk makroszkópos vizsgálattal neoplasztikus kórfolyamatok eredményeit. Az anyaállomány érintett egyedeinél a testüreg megnyitása után a gasztrointesztinális rendszer számos pontján (gyomor, bél, pilórus függelékek) egyből szembetűnő elváltozásokat lehetett megfigyelni. Az emésztő traktus a petefészkekkel és úszóhólyaggal együtt történő kiemelését követően láthatóvá vált a vékonybél elülső szakaszán található invagináció. Ez a vizsgálataink során 10 esetben fordult elő. A vékonybél proximális

szakasza (*intussusceptum*) csúszott be a disztálisabb részbe (*intussusciens*). Az invaginációk területén a vénák összenyomódtak, kialakult egy passzív, pangásos bővérűség, melynek hatására a bél megduzzadt, fibrines izzadmány lépett ki, és ez a két bélszakaszt tovább rögzítette.

A bél alakja eltorzult, lumene beszűkülte, tapintata tömöttebb volt a betüremkedett területen. Az ilyen bélszakaszok megnyitása során sokszor több helyen is előfordultak daganatszerű elváltozások, ezt követően a betüremkedett bélszakasznál rendszerint 1 cm³, vagy azt meghaladó méretű daganatokat találtunk (**3. ábra**).



3. ábra: A invaginációban található tumor

A neoplasztikus elváltozásokra rávágva a metszéspapjuk szürkésfehér színű, szalonnás fényű, csökkent nedvtartalmú, szerkezetük egynemű volt. A nagyobb képletekben élénkpiros, szabálytalan alakú góccok voltak, melyek között szürkésfehér áthidaló gerendákat figyeltünk meg. Az elváltozások állományában előfordultak vérzések területek. Egy esetben a bélben lévő daganatos elváltozás fekélyt és arrodációt is okozott, mely áttörte a bélfalat. A pilórus függelékek átmérője szemmel láthatóan megvastagodott. Keresztmetszeti képükön jól látható daganatos elváltozás türemkedett elő a lumenből. A máj állományában változatos méretű tumorszerű malformációk voltak megfigyelhetők. A daganatszövet sokszor szinte teljesen uralta a máj állományát, a máj eredeti szövete elvékonyodva a perifériára szorult. Néhány esetben a vesében szintén hasonló neoplasztikus elváltozásokat találtunk. A vese állományában elszórtan, 0,5×0,2×0,3 cm-től 1,5×1,3×1,0 cm-es nagyságig megfigyelhetőek voltak a daganat áttétek. A kopoltyúfedő felemelése után, a kopoltyú ívek és kopoltyú lemezek között daganatszerű, a kopoltyú színétől elütő, szürkésfehér góccok voltak láthatók. A makroszkópos vizsgálat során megfigyeltük, hogy a kopoltyú áttétek környékén elhelyezkedő, valamint a velük

összefüggésben lévő kopoltyúlemezek károsodtak. Az állatokban talált daganatok változatos mérete 0,1×0,2×0,1 cm-től 5×6×4 cm-es nagyságúig terjedt, makroszkópos leírásuk megegyezett a korábban tapasztaltakkal. A halak adatait és a daganatok lokalizációs helyeit a **2. táblázat** tartalmazza.

1. táblázat: Daganatos elváltozásokkal érintett pisztrángok

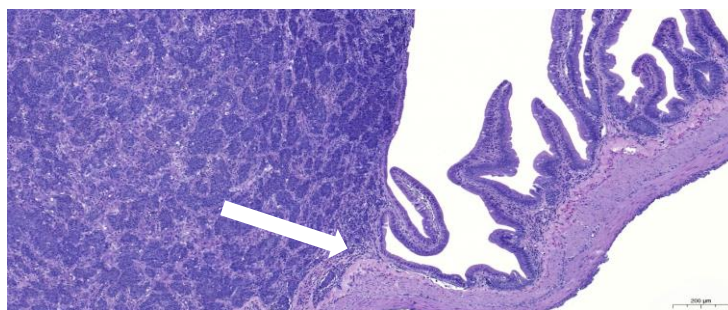
Sorszám	Faj	Ivar	Súly (kg)	Dátum	Elváltozás helyeződése
1.	Szivárványos pisztráng	ikrás	0,67	2015.08.23	bél
2.	Aranypisztráng	ikrás	1,57	2015.08.04	bél, kopoltyú
3.	Aranypisztráng	ikrás	1,2	2015.09.06	bél
4.	Aranypisztráng	ikrás	1,2	2015.09.06	bél
5.	Aranypisztráng	ikrás	1,1	2015.09.06	bél
6.	Szivárványos pisztráng	ikrás	1	2017.11.23	gyomor
7.	Szivárványos pisztráng	ikrás	2	2017.12.19	bél
8.	Szivárványos pisztráng	ikrás	1,9	2017.12.22	bél
9.	Aranypisztráng	ikrás	1,5	2017.12.23	bél, pilorus függelék, máj
10.	Aranypisztráng	ikrás	1,5	2017.12.23	máj, pilorus, bél
11.	Szivárványos pisztráng	tejes	1,5	2017.12.25	bél, invaginatio
12.	Szivárványos pisztráng	ikrás	2,5	2017.12.25	vese, bél
13.	Aranypisztráng	ikrás	3,1	2018.01.07	gyomor
14.	Szivárványos pisztráng	ikrás	4,5	2018.02.10	bél
15.	Aranypisztráng	ikrás	2	2018.02.11	bél, máj
16.	Aranypisztráng	ikrás	2,5	2018.02.11	bél, kopoltyú
17.	Aranypisztráng	tejes	1,5	2018.03.14	bél
18.	Szivárványos pisztráng	ikrás	1,7	2018.03.19	bél
19.	Aranypisztráng	ikrás	2	2018.04.13	bél
20.	Szivárványos pisztráng	tejes	2,1	2018.04.19	bél
21.	Aranypisztráng	ikrás	1,16	2018.04.21	bél
22.	Aranypisztráng	ikrás	0,85	2018.04.21	bél
23.	Palomino pisztráng	ikrás	0,8	2018.04.21	bél, pilorusfüggelék
24.	Palomino pisztráng	tejes	1,2	2018.05.02	bél
25.	Palomino pisztráng	ikrás	1,3	2018.05.22	bél, máj
26.	Palomino pisztráng	tejes	1	2018.05.29	bél
27.	Szivárványos pisztráng	ikrás	1,7	2018.06.01	bél, pilorus,
28.	Aranypisztráng	ikrás	3,1	2018.06.01	máj, bél
29.	Szivárványos pisztráng	tejes	1,5	2018.06.03	máj, bél
30.	Szivárványos pisztráng	ikrás	1,3	2018.06.29	kopoltyú, bél
31.	Palomino pisztráng	tejes	1,2	2018.07.12	bél
32.	Palomino pisztráng	tejes	0,8	2018.07.23	bél
33.	Szivárványos pisztráng	tejes	1,6	2018.08.19	pilorus, bél
34.	Szivárványos pisztráng	ikrás	2	2018.08.20	bél
35.	Szivárványos pisztráng	ikrás	3,1	2018.09.16	vese, pilorus

36.	Szivárványos pizstráng	tejes	2,8	2018.09.24	bél
37.	Szivárványos pizstráng	ikrás	3,2	2018.10.08	gyomor
38.	Aranypizstráng	ikrás	1,09	2019.08.20	bél, gyomor, máj
39.	Aranypizstráng	ikrás	0,68	2019.08.31	bél
40.	Szivárványos pizstráng	tejes	1,5	2019.09.20	gyomor, kopoltyú
41.	Aranypizstráng	ikrás	0,7	2019.10.06	vese, bél, pilorus, gyomor
42.	Aranypizstráng	ikrás	2,25	2020.12.12	vese, máj, gyomor
43.	Aranypizstráng	ikrás	2,18	2020.12.12	bél, vesse
44.	Aranypizstráng	tejes	0,5	2020.12.12	bél
45.	Szivárványos pizstráng	ikrás	3	2021.01.12	bél, pilorus, máj, kopoltyú
46.	Szivárványos pizstráng	ikrás	1,9	2021.01.24	bél
47.	Aranypizstráng	ikrás	3,5	2021.01.23	bél
48.	Szivárványos pizstráng	tejes	0,99	2021.05.05	gyomor
49.	Szivárványos pizstráng	tejes	1,9	2021.05.12	bél
50.	Szivárványos pizstráng	ikrás	3,06	2021.07.11	bőr, bél
51.	Aranypizstráng	ikrás	2,2	2022.05.08	bél, máj

A vizsgálataink alapján 6% volt a daganatok prevalenciája a szivárványos pizstráng anyaállományban.

Kórszövettan és immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei

Kórszövetteni vizsgálattal a gastrointestinalis traktus különböző szakaszain a hámrétegből kiinduló, az alaphártyát több helyütt is áttörő adenokarcinómát mutattunk ki (**5. ábra**). A tumor jellegzetes sejtjei változatos morfológiájú, a vékonybél szerkezetére kevésbé emlékeztető acinaris szerkezetet alakítottak ki, amelyben mirigyvégkamrákra emlékeztető, és alaphártyával határolt átmetszeteket azonban alig láttunk, inkább a fészkes elrendeződés volt a meghatározó. Az adenocarcinoma sejtek polyomorf magjai eukromatikusak voltak, a maghártya mentén kifejezett hyperkromatózissal és prominens magvacskával rendelkeztek. Gyakoriak voltak az osztódó alakok, amelyek a malignitás magas fokát jelezték.



5. ábra: Ép és daganatos terület határa (nyíllal jelölve), H.E. (61X) Bar=200 µm

Immunhisztokémiai vizsgálatokkal E-cadherin és pancitokeratin markerekkel pozitív lett a pizstráng bél eredetű karcinómája, valamint az áttétek is. Claudin-5-pozitívítást mutattak a peritumorális erek endothel sejtjei is. Negatív eredményre vezetett az anti-vimentinnel, az anti-alfa-simaizom actin, az anti-S-100 protein és c-KIT antitestekkel végzett immunhisztokémiai vizsgálat.

A metasztázisok megtalálhatók voltak a kopoltyúban, a májban, valamint új észlelésként a vesében is.

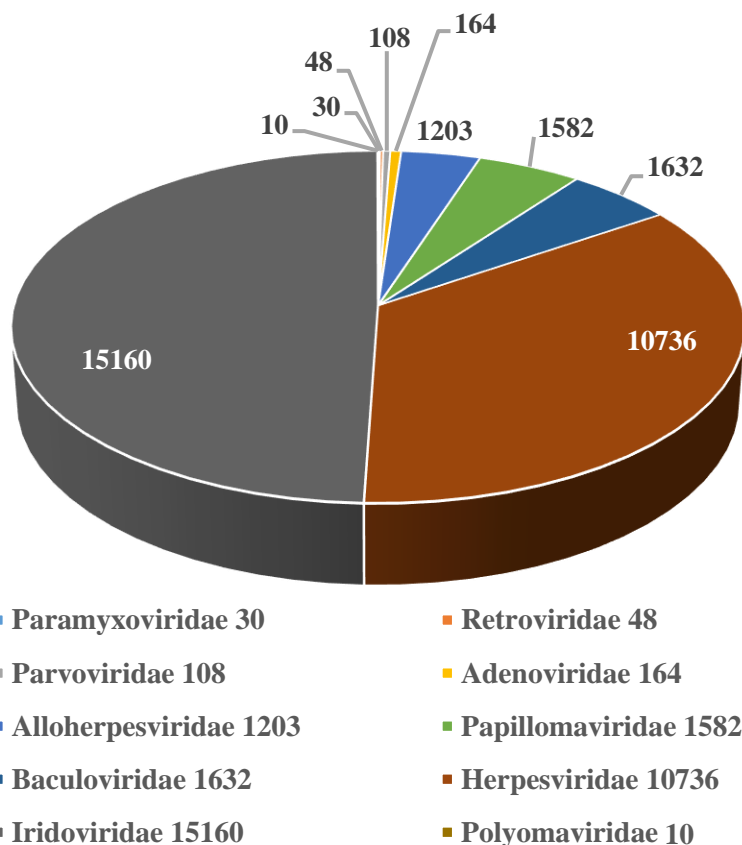
A veséből származó minta fénymikroszkópos vizsgálata során a vese alapszövetét infiltráló és destruáló, mirigyhám-eredetű, malignus szövetburjánzást észleltünk. A tumor kb. 80%-nyi arányban szolid szöveti szerkezetű, szabálytalan alakú, különböző méretű, multicellularis sejszigetektől, sejt-fészekből épült fel. Kisebb arányban tubularis és pseudosolid szerkezetű területeket is észleltünk. Az egymáshoz szorosan kapcsolódó tumorsejtekre a mérsékelt fokú sejtpolimorfizmus és a nagy, polymorf, ovalis, éles határú mag volt a jellemző, granularis chromatin-állománnyal, prominens magvacskával. A mitotikus index: kb. 8–10 osztódó sejt/10 nagy nagyítású látómezőnek (NNL) bizonyult. Osztódási anomáliákat nem figyeltünk meg. Mérsékelt számban apoptoticus testeket is észleltünk. A daganatgóc centrumában areaktív, coagulációs necrosis jeleit észleltük. A daganatban mérsékelt mennyiségben figyeltünk meg stroma-képződést és daganat-indukált neoangiogenesisist. Az invazív front szabálytalan elnyúlt daganatsejt kötegek formájában infiltrálta az eredeti tubulusok és vesetestecskék közötti, szövetközi teret, enyhefokú lymphocytás reaktivációt indukálva. A peritumoralis területen vascularis invasio jeleit észleltük. A kórszövet-tani, valamint immunhisztokémiai leírás alapján egyértelműen bebizonyosodott a vékonybél-adenocarcinoma intrarenalis metastasisa. A daganat áttétképződését szövettanilag vizsgálva a kopoltyú, a máj és a vese távoli metasztázisaiban a béldaganat sejtjeivel megegyező formákat figyeltünk meg, ami a gyors áttétképződés egyértelmű bizonyítéka, így a daganatot a grade III (legsúlyosabb) csoportba soroltuk be.

Virologiai vizsgálatok eredményei

Az újgenerációs szekvenálás eredményeként a mintákban számos daganatképződéssel összefüggésbe hozható víruscsaládot találtunk. A mintákban legnagyobb mennyiségben *Iridoviridae* (22,5%), *Herpesviridae* (15,93%) család tagjaira

utaló szekvenciákat mutattunk ki. Magas kópiaszámmal voltak jelen még *Baculoviridae* (2,24%), *Papillomaviridae* (2,34%), *Alloherpesviridae* (1,78%), *Adenoviridae* (0,24%), *Parvoviridae* (0,16%), *Retroviridae* (0,07%), valamint *Paramyxoviridae* (0,04%) víruscsaládok tagjaira jellemző szekveneciák, melyeket az össz kópiaszámhoz viszonyítva vizsgáltunk (**1. diagram**).

1. diagramm: Potenciális onkogén vírusok és kópiaszámaik



Az elektronmikroszkópos vizsgálat eredményei

A vizsgálatok során vírusalakokat, valamint vírusszerű részecskéket nem találtunk. A kvalitatív analízis során vizsgáltuk a primer béldaganat sejtjeit, valamint a vese áttét sejtjeit is. A bél neoplasztikus elváltozásából készített elektronmikroszkópos metszeteken az epitheloid sejtekben abnormális citoszkeletális alkotók voltak megfigyelhetők. A megnövekedett mennyiségű eukromatin a sejt megnövekedett aktivitására utal. A sejtmembrán megvastagodott, a citoplazmában található világos (electrolucens) és sötét (electrodenz) vakuólumok szintén a sejtaktivitás magasabb szintjére engednek következtetni, az abnormális megjelenés mellett. A sejteket a normál bélsejtekkel összehasonlítottuk, melyekben makroszkópos, kórszövettani és elektronmikroszkópos módszerekkel sem találtunk rendellenes elváltozást. A kontrol szövet apikális epitheliális sejtjeinek felületes luminális kefeszegélye normálisnak mutatkozott vizsgálataink során. Prominens elektrodenz sejt illeszkedések voltak megfigyelhetők. Kehelysejtek vegyültek a felületes epitheliális sejtek közé, melyekben prominens elektrolucens vakuólumok voltak. A kontrol és a daganatos elváltozást mutató sejtek képének azonos nagyításon és helyen történő elemzése és összehasonlítása során a következő eredményeket kaptuk: a daganatsejtek a felületes mukóza, szubmukóza rétegekben nem mutattak differenciálódást, valamint a kefeszegély/mikrovillusok teljes hiánya volt látható. Az elváltozást mutató minta kóros sejtjei rendellenesen és hiányosan kapcsolódtak egymáshoz a strómában. A neoplasztikus mintából származó sejtek közül szinte mindegyikben nagyszámú riboszóma volt. Más sejtek elektrolucens anyaggal teli vakuólumokat hordoztak magukban. Nagy számban volt megfigyelhető olyan sejt, amely rendellenes (homályos, nem kivehető, hullámos) citoszkeletális elemeket tartalmazott. A veseáttét daganatsejtjeiben nagy mennyiségű eukromatin, valamint nagy, amorf, változatos elektrodenzitással rendelkező struktúrák is megfigyelhetők voltak. A tumor malignitási fokára jellemzően itt is gyakoriak voltak az osztódó alakok.

4. Következtetések

Kutatásunk során szívárványos pisztráng tenyészállományban vizsgáltuk a gyomor-bél eredetű, metasztázist is képző adenokarcinómákat képalkotó diagnosztikai, kórszövettani, immunhisztokémiai és virológiai módszerekkel. A halak daganatos megbetegedéseiről egyre több ismeretanyag halmozódik fel, és egyre több publikáció születik a témában. Kutatásunk során a szívárványos pisztrángban talált gyomor-bél eredetű adenokarcinóma előfordulása nem egyedi, Gombač és munkatársai (2021) hasonlóról számoltak be. Esetükben előfordult áttét a májban, amiről mi is beszámoltunk, viszont elsőként írtak le szívben képződött metasztázist. Tumorokat kizárólag 3–4 éves ivarérett halakban találtunk. Ennek oka az lehet, hogy a daganatok kialakulásához, még az ilyen rövidebb élettartamú állatokban - ahol 8–11 év már idősnek számít - is idő kell. A megvizsgált szívárványos pisztráng anyaállományban a daganatok prevalenciája esetünkben 6% volt. Munkánk során képalkotó diagnosztikai módszerekkel azonosítottuk a kóros elváltozásokat a tüneteket mutató halakban. Az ultrahang vizsgálatok hordozhatóság és költséghatékonyság szempontjából ígéretesnek minősültek, alkalmazásuk a mindennapokban is kivitelezhető. A képminőség és áttekinthetőség, valamint a feldolgozhatóság szempontjából az MRI és CT vizsgálatok jobbnak bizonyultak. Azonban magas a bekerülési és fenntartási költségük, valamint az eszközök helyhez kötöttsége és a vizsgálatok hossza miatt a technika jelenlegi állása szerint a telepeken diagnosztikai céllal nem alkalmazhatók. MRI vizsgálat esetén - ami jó minőségű képet készít a légyszövetekről - a beavatkozás hossza a 20 percet is meghaladhatja. A pisztráng magas igényei (hideg, oxigéndús víz) a vizsgálat során nehezen biztosíthatók, mindamelllett, hogy a gép közelében nem lehet semmilyen fém eszköz (szivattyú, felnyomó pumpa). Ez utóbbiak viszont az altatás során nélkülözhetetlenek az állat életben tartásához. A CT vizsgálatok gyorsasága már megfelelő lehet halak esetében. A vizsgálatoknál jó tartalmú kontrasztanyagot adva kapható megfelelő kép az altatásban végzett eljárások során. Hordozhatósága azonban ennek a szerkezetnek is nehézkes, költségei az MRI gépekhez hasonlóan alakulnak. Ez utóbbi készülékek inkább a *post mortem* vizsgálatok és kutatások során alkalmazhatók. A neoplasztikus elváltozásokból készített szövettani

metszeteken a kehelysejtek megnövekedett száma figyelhető meg. A nagyszámú sejt fokozott nyálkatermelést idéz elő. A bél ürege mucinózus nyálkával kitelt az ilyen halaknál, a kloákából fehér fonálszerű pseudofeces lóg ki. A nagy mennyiségű, kehelysejtek által termelt váladék a bélbeli felszívódás zavarát idézheti elő.

A kutatás során néhány esetben arrodáció alakult ki a bélben, ami miatt megszűnt a hámréteg folytonossága. A sérült bélhámnak csökken a fertőzésekkel szembeni védő funkciója. Az átmaródások területén megnyíló bemeneti kapun keresztül baktériumok juthatnak a szövetek mélyebb rétegeibe, illetve az érpályába is, ami szeptikémiához vezethet.

A daganatokban és a fekélyes területekben megakadhatnak idegentestek vagy akár takarmánydarabok is. A perisztaltikus mozgások miatt a beékelődött idegentestek a bél falát átszúrhatják. Amint ez bekövetkezik, a perforálódott szövetek közé bejutó baktériumok vérmérgezést okoznak, és ez az állatok pusztulásához vezethet. Az intesztinális szakaszon betüremkedő daganatok a bélmozgás hatására tovább haladnak a kloáka felé magukkal húzva az előttük található bélszakaszt is. Ezáltal a bél önmagába csúszik bele, ahol a lezajló kóros folyamatok miatt rögzül. A pangásos bővérűség miatt felborul a keringés, és az állat elpusztul. Pisztrángból daganat okozta invaginációt korábban nem írtak le, habár harcában és tilápia hibridben is beszámoltak már bakteriális okokra visszavezethető elváltozásról.

Az immunhisztokémiai vizsgálatokkal bebizonyítottuk, hogy a pisztrángokban talált daganatok adenokarcinómák voltak. Az egér és nyúl antitestekkel (pancitokeratin és E-cadherin) végzett pozitív eredményt adó vizsgálatok is azt bizonyítják, hogy a halak daganatos betegségei szinte semmiben sem különböznek a magasabb rendű melegvérűekben, például kutyában és macskában ezekkel az antitestekkel azonosított elváltozásoktól. Ebből levonható az a következtetés, miszerint az adenokarcinóma már az evolúció korai szakaszában is jelen lehetett. A halakban talált daganatok malignitási foka minden esetben grade III volt. Ez azt jelenti, hogy a daganatsejtek a normálistól teljesen eltérnek, növekedésük és terjedésük is gyorsabb az alacsonyabb differenciáltsági fokú daganatokétól (grade I-II) halakban. Abban az esetben, ha a daganatok csak grade I

vagy II stádiumúak lettek volna, a daganatok növekedése lassabb lett volna, esetlegesen nem képez áttéteket, és lehet, hogy csak a „tenyésztés korból” való kiöregedés után okoz komolyabb problémát.

A vírus diagnosztika során talált 9 víruscsalád számos faja rendelkezik onkogén tulajdonságokkal. Természetesen olyan víruscsaládok szekvenciái is kimutatásra kerültek a mintákból, melyek környezeti vagy takarmány eredetűek is lehetnek. Köztük találtunk algákból vagy gerinctelen fajokból származó vírusokat is. A polyomavírusok közül jó néhány faj okozhat daganatos elváltozásokat, ahogy erre többek között fekete medvében és aranyhórcsögben is volt már példa. A madaraknak, kétéltűeknek és hüllőknek, de még a halaknak is megvannak a maguk polyomavírusai. Habár fekete tengeri sügérben, *Trematomus pennellii*-ben (Regan, 1914), valamint gitárhalkan is leírták, pontos szerepe és kórlefolyása még nem tisztázott. A *Paramyxoviridae* családba is tartozik néhány, halakat is fertőzni képes faj, ahogy erről számos kutatás beszámol. Az atlanti lazac paramyxovírus kopolyúban okoz proliferatív elváltozást. Ugyan a *Retroviridae* család kópiaszáma alacsony volt, azonban onkogén vírusfajokban bővelkedik. Lazacfélék között is akad szarkómát kiváltó retrovírus, de számos más halfajban leírták már daganatkeltő hatásukat. A *Parvoviridae* család néhány fajának kórlefolyása jól ismert magasabb rendű gerincesekből. Azonban azt kevesen tudják, hogy daganatképzéssel is összefüggésbe hozták már lajhármakikban. Halakból, többek között süllőből és tilápiából is leírásra kerültek már parvovírusok, ami nem zárja ki esetleges károkozó szerepüket esetünkben sem. Az *Adenoviridae* családra jellemző szekvenciák is megtalálhatók voltak a mintákban a korábbi családoknál nagyobb arányban. Jól ismert az állatvilágban a károkozásuk. Számos halfajban (tokfélék, tőkehalfélék, lepényhalfélék, stb.) okozhat megbetegedést, melyek közül néhányban hyperplastikus elváltozásként jelenik meg. Az *Alloherpesviridae* víruscsaládban beszámoltak alacsonyabb gerinceseket érintő vírusos eredetű daganatokról. A kétéltűekben megtalálható Ranid herpesvirus 1 vese adenokarcinómát vált ki leopárd békákban (*Rana pipiens*, Schreber, 1782). Halakban is okoznak tumorokat, ahogy azt korábban az irodalmi áttekintésben taglaltuk. A pontyokban himlős elváltozást okozó Cyprinid herpesvirus 1, amely daganatkeltő hatással rendelkezik. Az ide tartozó Salmonid herpesvirus 2 a lazacfélékben idéz elő daganatos

elváltozásokat. A mintákban mintegy 2%-ban volt jelen a többi vírus. Potenciális okozója lehet esetünkben is daganatoknak, noha bélbeli neoplasztikus elváltozást eddig nem írtak le a vírussal fertőzött halak kapcsán. Tovább növekedett a korábban említett vírusokhoz képest a *Papillomaviridae* család vírus kópiáinak száma a mintában. Halakban előforduló papillómák hátterében is állhatnak számos esetben vírusok, ahogy azt Roberts (2012) is megemlíti. Gazdasági haszonhalak, de díszhalak éppúgy fertőződhetnek, és a kültakarón kialakuló papillómák fejlődhetnek ki. A rovarvírusok közé tartoznak a *Baculoviridae* család tagjai. Halakból eddig nem írtak le általuk okozott patogén hatást, rovarokban azonban bizonyított az apoptosist gátló hatásuk (Hughes, 2002). Természetes sejthalál hiányában nem hal el annyi sejt, mint amennyi keletkezik. A felboruló egyensúly következtében egyre több sejt jön létre az adott szövetben vagy szervben, fokozva ezzel a daganatok kialakulásának esélyét a fogékony fajokban. A mintákból az egyik legnagyobb számú kópiát produkáló víruscsalád a *Herpesviridae* volt. Habár humán vonalon összefüggésbe hozták daganatos megbetegedéssel (nasopharyngealis karcinóma, a 8-as típusú humán herpeszvírus által okozott Kaposi szarkóma, Epstein-Barr vírus indukálta limfóma, illetve epiteliális eredetű daganat), állatoknál egyelőre kevés példa van onkogén hatásukra. Egyik ilyen vírusfaj a Marek-betegséget okozó Gallid herpeszvírus 2, mely limfoid daganatokat képez madarakban. Ezek alapján akár egy herpeszvírus faj is állhat a vizsgált daganatos elváltozások mögött. A legnagyobb kópiaszámot produkáló víruscsalád az *Iridoviridae* volt. Számos fajban, köztük halakban is okoznak megbetegedéseket. Legyen az édesvízi vagy tengeri környezet, mindkettőben iridovírusok okozzák a lymphocystis nevű megbetegedést, mely a bőr fibroblast sejtjeit érinti. A sejtek akár 100 ezerszer is nagyobbak lehetnek normális méretüknél. A grouper iridovírus genomja tartalmaz egy antiapoptotikus B-sejtes lymphoma-2-like gént. Ez expresszállóva - megszakítva a sejtek múlandóságát - akár daganatképződéshez is vezethet. Felmerül tehát a feltételezés, miszerint az előbb említett családokba tartozó hasonló rokon vírusok akár szivárványos pisztrángban is okozhatnak daganatos elváltozásokat.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok során ugyan vírusalakok nem voltak kimutathatók a daganatszövet sejtjeiből, azonban ez nem zárja ki azok jelenlétét. Az ép és daganatos sejtek összehasonlítása során eltérések voltak megfigyelhetők.

Napjainkban a kvalitatív elektronmikroszkópos diagnosztikai eljárások továbbra is használatosak. A molekuláris biológiai eljárások, mint a metagenom módszer gyorsabbak és pontosabbak is lehetnek, viszont vizuális képet csak az előbb említett vizsgálattal kaphatunk a virális kórokozóról. Valójában a vírusdiagnosztikai módszerek közül mind a sejttenyésztés, mind az elektronmikroszkóp, mind pedig a molekuláris biológiai módszerek is alkalmazásra kerülnek, sokszor akár párhuzamosan is. Egyik módszer igazolhatja, kiegészítheti a másikat, ezáltal pontosítva a diagnózist.

Az esetlegesen elpusztult halak miatt csökkenhet az egyedszám és nőhet a beltenyésztettség veszélye az állományban. Felmerül a kérdés, hogy beszélhetünk-e öröklődő hajlamról a pisztrángok intesztinális adenokarcinómájánál? Amennyiben igen, akkor egy sikeres szaporítás esetén, ha a tejes vagy az ikrás örökíti ezt a hajlamot, a heterozigóta utódokban a daganatok elfordulásának gyakorisága megnőhet. Erre még nagyobb lehet az esély az esetleges homozigóta egyedeknél.

Valószínűsítjük, hogy számos esetben a halak takarmányának komoly szerepe van a daganatok kialakulásában, ahogy azt Dale és munkatársai (2009) is leírták. Felmerül a kérdés a One Health jegyében, hogy a növényi és állati eredetű takarmányok a halakba kerülve, bennük esetlegesen rákot okozva továbbjuthatnak-e az emberi szervezetbe? Átkerülhetnek-e olyan anyagok a szervezetünkbe, amelyek fedett hatással rendelkeznek? Az Európai Unióban jelenleg tilos az állati eredetű vágóhídi hulladék és melléktermék feletetése bármilyen formában is az étkezési célra szánt ragadozó halakkal. Bizonyos halfajoknál érdemes lenne kidolgozni egy alternatív takarmányozási módot, ami kiválthatja a nagy hányadban növényi részeket tartalmazó pelleteteket etetését. Jó eredmények vannak már a rovarfehérje és más alacsonyabb rendű szervezetek alkalmazására a haltakarmányozás terén. A dolgozat keretében vizsgált eseteinknél azonban a takarmányok (AquaGarant, Alltech Coppens) ellenőrzött beszállítóktól származnak, és komoly szűrővizsgálatokon mennek át a gyártás több pontján is. Mindkét vállalat igazolta a takarmányok mikotoxin mentességét.

A tenyészállomány komoly értéket képvisel a tógazdaságokban. Ők biztosítják a termelés folytonosságát, az új generációt. Az állatok 3–4 éves korukra

érik el az ivarérettséget. Egy ikrástól élete során több tízezer ikrát lehet lefejteni, amiből piaci hal, illetve a következő anyaállomány lesz. A női ivarú tenyészállatok pusztulása komoly gazdasági veszteséget jelent a halgazdaságoknak. Az ivarérésig eltelt 3 év alatt a nevelésére, táplálására és az esetleges gyógykezelésére fordított összeg ilyenkor mind veszteségként jelenik meg.

A halak neoplasztikus elváltozásainak kutatása nemrég kezdett el kibontakozni. Kutatásunk úttörő tevékenységnek számít nem csak hazai, hanem nemzetközi téren is. Vizsgálataink fontos, új eredményeket hoztak a pisztrángok daganatos megbetegedései terén, azonban egyes részletek tisztázásához további vizsgálatok szükségesek.

5. Új kutatási eredmények

Vizsgálataink alapján az alábbi új tudományos eredmények születtek:

1. Képképző diagnosztikai eljárások segítségével új daganatszűrési módszer került kidolgozásra a hazai halgazdaságokban. A kutatás során Mindray M9Vet ultrahang, Siemens Somatom Definition AS+ CT berendezés és Siemens Biograph mMR berendezés felhasználásával azonosítottuk a kóros elváltozásokat. A módszerek összehasonlítása során a CT és MRI berendezések segítségével elsőként végeztünk pisztrágon ilyen jellegű vizsgálatokat Magyarországon. A terepi diagnosztika során az ultrahang vizsgálat bizonyult a leghasznosabbnak. A beavatkozás alatt az állatok altatásban kerültek átvizsgálásra, mely nem több mint a szaporításnál alkalmazott gyakorlat.
2. Kórbonctani vizsgálatokat végeztünk, majd kórszövettani és immunhisztokémiai módszerekkel azonosítottuk az elváltozásokat. Elsőként publikáltunk szivárványos pisztrágon előforduló béldaganat okozta invaginációt. Elsőként találtunk és írtunk le szivárványos pisztrágon gastrointestinalis adenokarcinóma áttétképződést az állatok veséjében.
3. Bizonyítottuk kórszövettani és immunhisztokémiai módszerekkel a gyomor-bél traktusban található primer daganat áttétképzését a májban, kopolyúban és a vesében, melyek pancitokeratin és E-cadherin pozitivitást mutattak.
4. Magyarországon elsőként vetettünk vírusvizsgálat alá szivárványos pisztráng daganatokat, melyhez újgenerációs szekvenálás módszereit alkalmaztuk. Ennek során 9 potenciálisan onkogén víruscsoportot azonosítottunk.
5. Elektronmikroszkópos vizsgálatoknak vetettük alá a daganatszövetet, melyet ebben a fajban, ennél a daganattípusnál Magyarországon más még nem csinált. Morfológiai eltéréseket írtunk le az ép és a tumor szövet sejtjei között.

6. Javaslatok

A vizsgálatok alapján az érintett állományban minél hamarabb ki kell szűrni a daganatos betegségben szenvedő halakat. A beteg állatokra fordított költségek (takarmányozás, munkaerő, tartástechnológia, állatorvos) minimalizálása szükséges. Ez csak úgy érhető el, ha rendszeres szűrővizsgálatokat végeznek a halgazdaságokban. Erre megfelelő módszer az ultrahang vizsgálat, mely során nem szükséges a hal életét kioltani. A rutin ellenőrzés részeként altatásban történő beavatkozás megfelelő képet adhat a tumorok előfordulásáról. Ezáltal még gazdaságosabbá és biztonságosabbá tehető e termelés.

7. Az értekezés témaköréből írt tudományos közlemények

- Hoitsy, Márton ; Hoitsy, György ; Jakab, Csaba ; Molnár, Tamás Gergely ; Baska, Ferenc,; Gastrointestinalis eredetű daganatok azonosítása szivárványos pisztrángban (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA 142 : 1 pp. 55-64. , 10 p. (2020)
- Márton Hoitsy, György Hoitsy, Csaba Jakab, Tamás Molnár, János Gál, Ferenc Baska, Intussusception caused by intestinal neoplasia in mature rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum 1792) J Fish Dis, 2021, DOI: 10.1111/jfd.13347
- Hoitsy, Márton, Molnár, Tamás Gergely, Baska, Ferenc, János Gál, Halakat érintő daganatos megbetegedések, ACTA AGRARIA KAPOSVÁRIENSIS (Elfogadott, 2022)