

# T-2 TOXINNAL KÜLÖNBÖZŐ KONCENTRÁCIÓBAN SZENNYEZETT TAKARMÁNY RÖVIDTÁVÚ ETETÉSÉNEK HATÁSA TOJÓTYÚKOK GLUTATION REDOX RENDSZERÉRE ÉS LIPIDPEROXIDÁCIÓS FOLYAMATAIRA

BÓCSAI A.<sup>1</sup> – FERNYE CS.<sup>1</sup> – ZÁNDOKI E.<sup>2</sup> – ANCSIN ZS.<sup>1</sup> – ERDÉLYI M.<sup>1</sup> – MÉZES M.<sup>1</sup> – BALOGH K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Szent István Egyetem, Mezőgazdaság és Környezettudományi Kar, 2100 Gödöllő, Páter Károly u. 1.

<sup>2</sup> MTA-Kaposvári Egyetem Mikotoxinok az élelmiszerláncban Kutatócsoport, 7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.

## Összefoglalás

Kísérletünkben a különböző dózisu T-2 toxinterhelés tojóttyúkokra gyakorolt rövidtávú hatását kívántuk felmérni. Vizsgálatunkat 49 hetes Bovans Goldline tojóhibridekkel végeztük. Egy kontroll és három különböző dózisu mikotoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoport került kialakításra. A 12 órás mikotoxin terhelést követően vett máj, lép és vese mintákból a glutation redox rendszert és a lipidperoxidációs folyamatokat jellemző paramétereket mértünk. A T-2 toxin terhelés hatására a májban a lipidperoxidációs folyamatok iniciációs szakaszát jelző konjugált dién és –trién tartalom dózisufüggő emelkedést mutatott. A T-2 toxin terhelés fokozott szabadgyök-képződést indukált a májban, mely aktiválta a glutation redox rendszert, szignifikáns mértékben megnövelve annak mennyiségét (redukált glutation koncentráció) és aktivitását (glutation-peroxidáz aktivitás).

## Bevezetés

A tojóttyúkok teljesértékű takarmánykeverékeinek fő komponensei, a gabonamagvak gyakran lehetnek mikotoxinnal szennyezettek. Európa területén, így hazánkban is leggyakoribb a trichotecén-típusú mikotoxinok általi szennyezettség. Ebbe a toxincsoportba tartozik a T-2 toxin, amely a mérsékelt éghajlati övben széleskörűen elterjedt *Fusarium sporotrichioides* gomba másodlagos anyagcsereterméke (Binder et al., 2007). A takarmányban jelenlevő T-2 toxin dózisufüggő módon termelésesökkenést okoz és toxikus hatású tojóttyúkok esetében (Diaz, 2005); az egyik legmérgezőbb trichotecén-toxinként tartják számon (Bamburg et al., 1968). A T-2 toxin hőstabil molekula, így a takarmány-, illetve élelmiszerfeldolgozás során változatlan formában jelen marad a termékben (Lancova et al., 2008). A T-2 toxin egy 12,13-epoxi-trichotecén molekula. Reaktív epoxi-csoportja révén elősegíti a szabad oxigényökök kialakulását, mely oxidatív stresszt okoz a szövetekben (Iwahashi, 1982). A reaktív oxigényökök által elindított láncreakciót gyökfogó antioxidáns molekulák (pl. redukált glutation) vagy enzimatisus folyamatok (pl. glutation-peroxidáz) képesek fiziológiás szinten tartani (Davies, 1995). A T-2 toxin által indukált oxidatív stresszt a hosszútávú kísérletek során képződött lipidperoxidációs termékek mennyiségi mérésével bizonyították. Kevés adat van ezzel szemben rövidtávú és alacsonyabb mikotoxin koncentrációkkal végzett terheléssel kapcsolatban.

Jelen kísérletünk célja T-2 toxinnal mesterségesen szennyezett takarmány lipidperoxidációra, és a glutation redox rendszer mennyiségére, illetve aktivitására gyakorolt rövidtávú hatásának vizsgálata volt tojóttyúkokban.

## **Anyag és módszer**

A tojástermelésük 90%-os szintjén termelő, 49 hetes Bovans Goldline tojóhibrideket (n=24) véletlenszerűen 4 kísérleti csoportra osztottunk: kontroll, valamint 5,10, illetve 15 mg/kg T-2 toxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportra. 12 óra éheztetést követően az mikotoxinnal szennyezett takarmány etetésének időszaka 12 órán át tartott. A rövidtávú terhelés miatt az alkalmazott mikotoxin-dózis a tojótyúkokra vonatkoztatott NOAEL értéknél (0,7 mg T-2 toxin/kg) (EFSA, 2011) lényegesen magasabb volt. A takarmányt *Fusarium sporotrichioides* NRRL 3299 törzs által Fodor et al. (2006) módszerével termelt T-2 toxinnal mesterségesen szennyeztük. Az etetett takarmányok T-2 toxin tartalma HPLC-eljárással, Trebstein et al. (2008) módszere szerint került lemérésre.

A kísérlet 12. órája után az összes állatot extermináltuk, majd *post mortem* máj-, lép- és vesemintát vettünk.

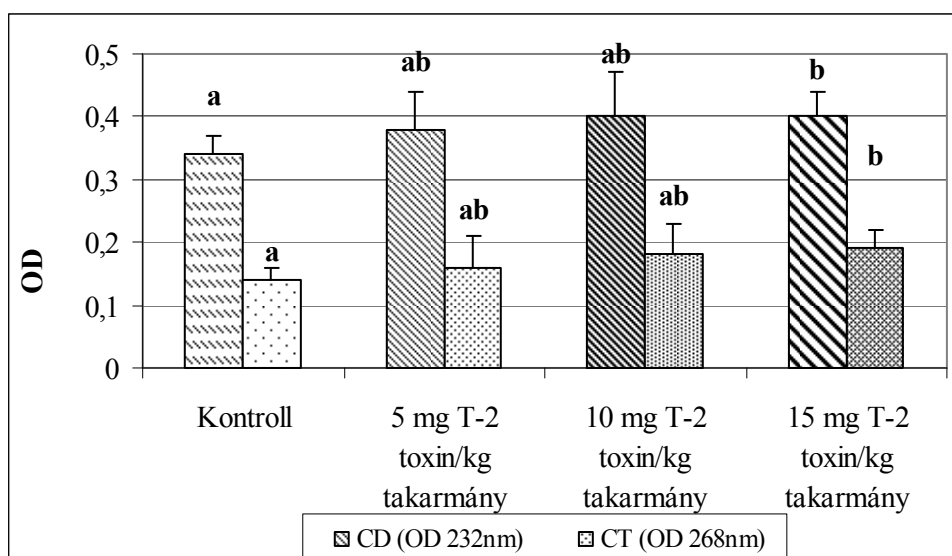
A konjugált diének (CD) és -triének (CT), azaz a lipidperoxidáció iniciációs fázisát jelző markerek meghatározásához az AOAC (1984) módszerét alkalmaztuk: 2,2,4-trimetil-pentánban történő kivonás után a minták abszorbanciáját 232, illetve 268 nm-en mértük. A malondialdehid (MDA) – a lipidperoxidációs folyamat terminációs fázisát jelző metastabil vegyület – koncentrációját a különböző szövetek natív homogenátumában Mihara et al. (1980) módszerével határoztuk meg.

A minták redukált glutation (GSH) tartalmát Sedlak és Lindsay (1968) módszere szerint, glutation-peroxidáz (GPx) aktivitását Lawrence és Burk (1976) módszere alapján vizsgáltuk, a szövethomogenizátumok 10000g felülúszó frakciójában. A GSH tartalmat és a GPx aktivitást fehérjetartalomra vonatkoztattuk. A szövethomogenizátumok 10000g felülúszó frakciójának fehérjetartalmát Lowry et al. (1951) módszerével határoztuk meg.

Az adatok statisztikai értékelését (egytényezős variancia-analízis Tukey-féle post-hoc teszt, átlag és szórás számítás) GraphPad InStat 3.05 szoftver (GraphPad Software, San Diego) segítségével végeztük.

## **Eredmények és értékelés**

A kísérlet időtartama alatt a T-2 toxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó tojótyúkok takarmányfelvétele dóziszfüggően csökkent, a kontroll csoportban mért értéknél 7,2, 8,7, illetve 18,9%-al kisebb értéket mutatva, megerősítve a trichotecén-vázás mikotoxinok, így a T-2 toxin jól ismert hatását a takarmány-visszautasítással kapcsolatban (Osweiler et al., 1985). A kísérlet végén, a mikotoxin expozíció 12. órájában, a máj homogenizátumok esetében a lipidperoxidációs folyamatok kezdeti (iniciációs) szakaszát jelző CD és CT tartalom dóziszfüggő emelkedést mutatott, jóllehet statisztikailag is igazolható ( $p < 0,05$ ) eltérés kizárólag a legnagyobb dózisu (15 mg T-2 toxin/kg takarmány) kezelés esetében mutatkozott a kontroll csoporthoz viszonyítva (1. ábra). A kapott eredmények azt mutatják, hogy az alkalmazott dózissal végzett T-2 toxin terhelés a májban dóziszfüggő módon fokozza a lipidperoxidációs folyamatok intenzitását.



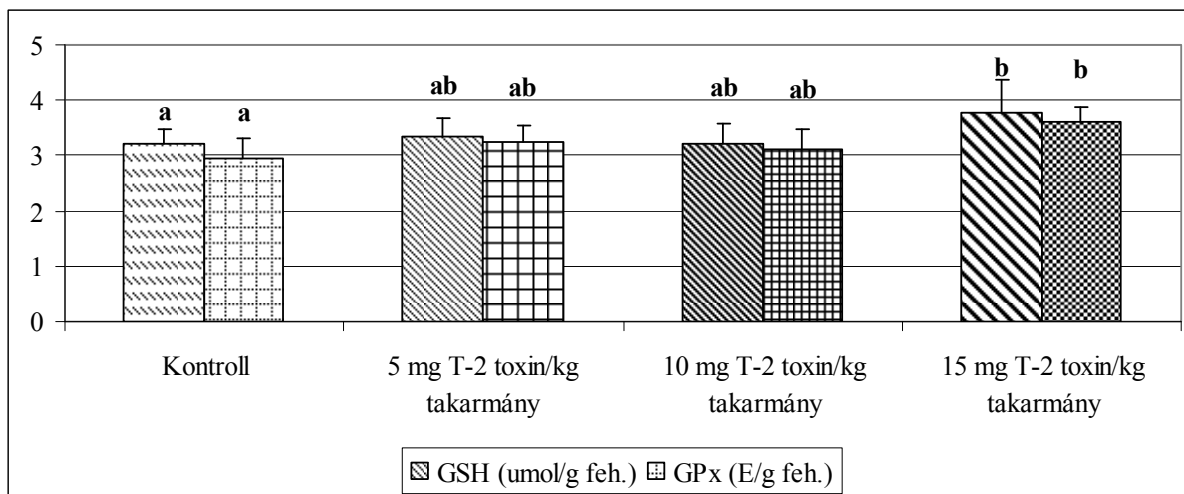
1. ábra A rövidtávú T-2 toxin terhelés hatása tojtyúk májának konjugált dién (CD) és -trién (CT) tartalmára

Ugyanakkor a lipidperoxidációs folyamatok befejező (terminációs) szakaszában keletkező végtermék, a MDA koncentrációja a májban a kísérlet időtartama alatt nem mutatott a kontroll csoportban mért értéket statisztikailag is igazolhatóan meghaladó mennyiséget. Ez arra utal, hogy az antioxidáns védőrendszer képes volt a fokozott mértékben keletkező szabad gyököket közömbösíteni, így a folyamat nem jutott el a terminációs fázisig.

A másik két vizsgált szövet (lég, vese) esetében is hasonló, a kontroll csoport értékét szignifikáns mértékben nem meghaladó MDA koncentrációkat mértünk.

A májban a GSH tartalomban szignifikáns mértékű növekedést tapasztaltunk a legnagyobb dózisú (15 mg T-2 toxin/kg takarmány) kezelés hatására (2. ábra), mely alátámasztja feltételezésünket, miszerint a fokozott szabadgyök-képződés, melyet a megemelkedett CD és CT tartalom jelez, aktiválja az antioxidáns védelmi rendszert, így a GSH szintézisét is.

A redukált glutation a szelénfüggő glutation-peroxidázok kizárólagos ko-szubsztrátja. A GSH koncentráció jelentős emelkedése az enzimaktivitás hasonló mértékű és irányú változásával járt együtt a májban, mely ugyancsak a legnagyobb dózissal végzett terhelés esetében mutatott szignifikáns mértékű ( $p < 0,05$ ) eltérést a kontroll csoporthoz képest (2. ábra).



2. ábra A rövidtávú T-2 toxin terhelés hatása tojóttyúk májának redukált glutation (GSH) koncentrációjára és glutation-peroxidáz (GPx) aktivitására

A T-2 toxin szerkezeten belüli raktározásában szerepet játszó lép, valamint annak kiválasztásában részt vevő vese esetében a kísérlet időtartama alatt nem tapasztaltunk hasonló mértékű változásokat a glutation redox rendszer mennyiségében és aktivitásában.

### Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/261/13), valamint az OTKA (PD-104823) támogatásával valósult meg.

### Irodalomjegyzék

1. BAMBURG, J.R. - RIGGS, N.V. - STRONG, F.M. (1968): The structure of toxins from two strains of *Fusarium tricinctum*. *Tetrahedron Lett.* 24: 3329-3326.
2. BINDER, E.M. - TAN, L.M. - CHIN, L.J. - HANDL, J. - RICHARD, J. (2007): Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137: 265-282.
3. DAVIES, K.J.A. (1995): Oxidative stress, the paradox of aerobic life. In: Rice-Evans, C. - Halliwell, B. - Land, G.G. (Eds.), *Free Radical and Oxidative Stress: Environment, Drugs and Food Additives*. London, Portland Press, pp. 1-31.
4. DIAZ, D.E. (ed.) (2005): *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham University Press, Nottingham
5. EFSA (2011): Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA J.* 9: 2481-2668.
6. FODOR, J. - KAMETLER, L. - KOVÁCS, M. (2006): Practical aspects of fumonisin production under laboratory conditions. *Mycotox. Res.* 22: 211-216.
7. IWAHASHI, M. (1982): Mechanism of cytotoxic effect of T-2 toxin on a protozoa. *Proc. Assoc. Jpn. Mycotoxin* 4: 23-30.
8. LANCOVA, K. - HAJŠLOVA, J. - KOSTELANSKA, M. - KOHOUTKOVA, J. - NEDELNIK, J. - MORAVCOVA, H. - VANOVA, M. (2008): Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: milling and baking. *Food Addit. Contam.* 25A: 650-659.

9. LAWRENCE R. - BURK R. (1978): Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *J. Nutr.* 108: 211-215.
10. LOWRY, O.H. - ROSENROUGH, N.J. - FARR A.L. - RANDALL R.J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
11. MIHARA, M. - UCHIYAMA, M. - FUKUZAWA, K. (1980): Thiobarbituric acid value of fresh homogenate of rat as parameter of lipid peroxidation in ageing, CCl<sub>4</sub> intoxication and vitamin E deficiency. *Biochemical Medicine* 23: 302-311.
12. TREBSTEIN, A. - SEEFELDER, W. - LAUBER, U. - HUMPF, H.-U. (2008): Determination of T-2 and HT-2 toxins in cereals including oats after immunoaffinity cleanup by liquid chromatography and fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem*, 56: 4968-4975.
13. OSWEILER, D. - CARSON, T. - BUCK, B. - VAN GELDER, A. (1985): *Veterinary toxicology*. 3rd ed. Kendal, Hunt.
14. SEDLAK I. - LINDSAY, R.H. (1968): Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissues with Ellmann's reagent. *Anal. Biochem.* 25: 192-205.