

## EGYÜTTESEN ELŐFORDULÓ *FUSARIUM* MIKOTOXINOK RÖVIDTÁVÚ TERHELÉSÉNEK HATÁSA A BROJLERCSIRKE GLUTATION REDOX RENDSZERÉRE ÉS LIPIDPEROXIDÁCIÓS FOLYAMATAIRA

KULCSÁR SZABINA - KÖVESI BENJÁMIN - MÉZES MIKLÓS - BALOGH KRISZTIÁN - ZÁNDOKI ERIKA - ANCSIN ZSOLT

### ÖSSZEFOGLALÁS

Korábbi kutatások szerint a *Fusarium* fajok által termelt mikotoxinok hatására fokozódik az állati szervezetben a reaktív oxigén gyökök képződése, következményesen lipidperoxidáció indukálódik, amely kihat a biológiai antioxidáns rendszer működésére, ezen belül az általunk vizsgált glutation rendszerre. *In vivo*, rövid távú (72 óra) T-2/HT-2 toxin+ DON+ fumonizin B<sub>1</sub> terheléses vizsgálatot végeztek brojler csirkével, két dózist alkalmazva: egy alacsony, az EU javaslati határértékkel megegyező mennyiséget (0,25 mg T-2+HT-2 toxin, 5 mg DON és 20 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány), valamint egy magas, az EU javaslati határérték négyszeres mennyiségét (1 mg T-2+HT-2 toxin, 20 mg DON és 80 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány). Biokémiai módszerekkel meghatározták a lipidperoxidációs folyamat iniciációs fázisa során létrejövő konjugált diének, és triének, valamint a terminációs fázisban keletkező malondialdehid koncentrációját a májban, az utóbbi paramétert a vérplazmában is. Megállapították, hogy a vérplazmában nem változott a malondialdehid koncentráció, a májban viszont szignifikánsan kisebb volt a konjugáltdién-tartalom az alacsony dózis hatására a terhelés 48. órájában, valamint kisebb volt a malondialdehid-tartalom a terhelés 72. órájában szintén az alacsony dózis hatására. A glutationredox-rendszer paraméterei közül mérték a redukált glutation mennyiségét és a glutation-peroxidáz aktivitását. Megállapították, hogy a redukált glutation mennyisége és a glutation-peroxidáz aktivitása szignifikáns mértékben nagyobb volt a vérplazmában a terhelés 72. órájában a magas dózis hatására, a májban azonban nem változott. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az egyes mikotoxinok jól ismert oxidatív stresszt kiváltó hatása a multi-mikotoxin terhelés hatására nem jelentkezett, ennek alapján tehát közöttük antagonistá hatás feltételezhető.

### SUMMARY

Kulcsár, Sz. - Kövesi, B. - Mézes, M. - Balogh, K. - Zándoki, E. - Ancsin, Zs.: EFFECT OF CO-OCCURRING *FUSARIUM* MYCOTOXINS ON THE GLUTATHIONE-REDOX SYSTEM AND ON LIPID PEROXIDATION IN BROILER CHICKEN

It is well known that *Fusarium* mycotoxins in single application induce the formation of reactive oxygen substances in the animals, and it consequently causes oxidative stress and lipid peroxidation, which can be neutralized by the glutathione system. An *in vivo* study was performed with broiler chicken in a short-term (72 hours) feeding trial with a low dose, equivalent to the recommended EU limit (0.25 mg T-2+HT-2 toxin, 5 mg DON and 20 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed) and a high dose, quadruple the recommended EU limit (1 mg T-2+HT-2 toxin, 20 mg DON and 80 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed) multi-mycotoxin exposure. The markers of the initiation and termination phases of lipid peroxidation, conjugated dienes and trienes, and malondialdehyde levels were measured in the liver and the latter parameter was measured in the blood plasma. It was found that malondialdehyde content did not change in blood plasma. Still, conjugated diene level was lower than control at the 48 hours of treatment as an effect of low dose in the liver, and the malondialdehyde content in the liver was also lower than control at the 72 hours of mycotoxin exposure. Among the glutathione redox parameters reduced glutathione content, and glutathione-peroxidase activity was measured. It was found that reduced glutathione content and glutathione peroxidase activity were significantly higher as compared to control at the 72 hours of mycotoxin exposure in blood plasma as an effect of the higher dose, but did not change in the liver. The results show that the well-known oxidative stress-inducing effect of the investigated mycotoxins did not occur in multi-mycotoxin exposure, even at a high dose, therefore an antagonistic effect among them would be suggested.

## BEVEZETÉS

A mikotoxinok a fonalas gombák másodlagos metabolizmus termékei, amelyek a takarmányokat szennyezve gazdasági állatoknál dóziszfüggően termeléskiesést, illetve toxikus válaszreakciót váltanak ki (Díaz, 2005). A *Fusarium* penészek általában hűvös és párás környezetben (Wood, 1992) számos, eltérő kémiai struktúrával rendelkező mikotoxint termelnek. Ezek közül gyakoriságuk szempontjából leginkább jelentős a T-2/HT-2 toxin, a deoxinivalenol (DON) és a fumonizin B<sub>1</sub> (Battilani és mtsai, 2008).

A klímaváltozás kedvező környezetet teremt a világszerte előforduló mikotoxin termelő gombák szaporodására, így az elmúlt években számos kutatás vizsgálta a penészgomba toxinok hatásmechanizmusát. A közzétett publikációk többségében azonban csak egy mikotoxin expozíciót vettek figyelembe, ami eltérő a természetben előforduló szennyezéstől, ugyanis általában egyidejűleg többféle mikotoxin van jelen (Smith és mtsai, 2016). A közelmúltban *in vitro* és *in vivo* kísérletben vizsgálták a mikotoxinok közötti kölcsönhatásokat. Így felmérték a *Fusarium* penészek által termelt mikotoxinok együttes előfordulását takarmány-alapanyagokban és takarmányokban (Streit és mtsai, 2012), továbbá egyes trichotecénvázas mikotoxinok (T-2 toxin és DON) együttes hatását baromfiban (Pelyhe és mtsai, 2018), a fumonizin, a DON és a zearalenon együttes hatását nyúlban (Szabó-Fodor és mtsai, 2015), valamint patkányban (Szabó-Fodor és mtsai, 2019). Az egyes mikotoxinok közötti kölcsönhatásokkal kapcsolatban azonban még kevés adat áll rendelkezésre ahhoz, hogy pontosan meg lehessen becsülni a szervezetben kialakuló toxikus, ezen belül a lipidperoxidációs folyamatokra és az antioxidáns védőrendszerre kifejtett hatást. Az eddigi eredmények alapján a mikotoxinok kölcsönhatása különböző. Lehet additív, ekkor azok hatása az egyes vizsgált toxinok egyedi hatásainak összege alapján számítható. Ezenkívül lehet szinergista, amikor az egyedi hatásoknál jelentősebb lesz a kombinált hatás, valamint antagonista, amikor a mikotoxin kombináció hatása kisebb az egyedi hatásoknál (Smith és mtsai, 2016). Jelen kísérletben a vizsgált *Fusarium* toxinok együttes expozíciója is különböző interakciókat eredményezhet, amely a fentiek alapján lehet szinergens, additív vagy antagonista.

A T-2/HT-2 toxin és a DON a máj mikroszomális xenobiotikum transzformáló enzimrendszere hatására, a terhelés mértékétől és annak időtartamától függően, hatékonyan és gyorsan metabolizálódnak (Ványi és mtsai, 1989). A DON-t emellett egyes állatfajoknál, így például baromfiban, a bélcsatornában élő baktériumok átalakíthatják (Greiner és Applegate, 2013). A T-2/HT-2 toxin és a fumonizin B<sub>1</sub> viszont, részben lipidperoxidációt indukáló hatásuk révén, csökkenthetik a máj mikroszómák működését (Guerre és mtsai, 2000), amely viszont gátolhatja a xenobiotikum transzformáló (citokróm P450) rendszert is (Mézes és mtsai, 1996). A xenobiotikum transzformációban a citokróm P450 enzimrendszer mellett a biológiai antioxidáns védőrendszer, kifejezetten a glutation-redoxrendszer, egyes elemeinek mennyisége és aktivitása is jelentős mértékben változhat az oxidatív stressz mértékének függvényében.

Korábbi kutatások (Mézes és mtsai, 1998; Surai és mtsai, 2002) alapján elmondható, hogy a sejtekben zajló biokémiai változásokkal összefüggésben a trichotecénvázas mikotoxinok hatására fokozódik az állati szervezetben a

lipidperoxidációs folyamatok intenzitása, amely kihat a biológiai antioxidáns rendszer működésére is, így feltehető, hogy azokat együtt alkalmazva fokozzák, vagy éppen gátolják, egymás hatását. A vizsgálat célja a fentiek alapján annak feltárása volt, hogy az említett mikotoxinok eltérő mennyiségével mesterségesen szennyezett takarmány rövid távú etetése milyen hatást vált ki a mikotoxinok metabolizációjában, és azok szállításában fontos szervekben a lipidperoxidációs folyamatok iniciációs és terminációs fázisaira, valamint ezzel párhuzamosan a glutation redox rendszer egyes paramétereinek mennyiségére és aktivitására.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatokat a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Takarmányozástani Tanszékén végeztük. A mikotoxinokkal végzendő vizsgálatokhoz a szükséges állatkísérleti engedéllyel rendelkezünk (NÉBIH Pest Megyei Élelmiszerlánc Biztonsági és Állategészségügyi Igazgatóság, XIV-1-001/1880-5/2011).

*In vivo* modellként brojlersirkét, mint a *Fusarium* toxinokra érzékeny gazdasági állatfajt, alkalmaztunk. Cobb 500 napos kakasokat a kísérleti takarmányok etetésének megkezdése előtt faforgács almon neveltük a Cobb technológiai előírásoknak megfelelően. Az egyes kísérleti csoportokat 20 napos életkorban alakítottuk ki, amelynek során egyedi mérlegeléssel meghatároztuk az egyes csoportokba kerülő madarak testtömegét, ügyelve arra, hogy az egyes kísérleti csoportok között az átlagos testtömeg ne térjen el 5%-nál nagyobb mértékben. Az egyes kísérleti csoportokba tartozó madarakat (n=24/csoport) alomanyagként fenyőfa forgácsot tartalmazó fülkékben helyeztük el. Az ivóvizet és a takarmányt a madarak *ad libitum* fogyaszthatták, folyamatos megvilágítás mellett. A takarmányok mikotoxin szennyezése eltérő multi-mikotoxin koncentráció tartományokban történt. A kontrollcsoport takarmánya a kimutathatósági határérték alatti mennyiségben tartalmazta a vizsgált mikotoxinokat. Az egyik mikotoxinnal szennyezett csoport takarmányának tervezett multi-mikotoxin terhelési értéke megfelelt az EU javaslati határértékeknek (EU, 2006): T-2 + HT-2 toxin: 0,25 mg; DON: 5 mg; fumonizin B<sub>1</sub>: 20 mg/kg takarmány. A másik mikotoxinnal szennyezett csoport takarmányának tervezett mikotoxin-tartalma az EU javaslati határérték négyszeres mennyisége volt (T-2 toxin/HT-2 toxin: 1 mg; DON: 20 mg; fumonizin B<sub>1</sub>: 80 mg/kg takarmány). A takarmányok mikotoxin-tartalmának meghatározása immunoaffinitás oszlopon történő előtisztítást követően HPLC/MS módszerrel történt a kutatócsoportunk

1. táblázat

**A brojlersirkékkel végzett kísérletben felhasznált takarmányok mikotoxin-tartalma (mg/kg takarmány)**

| Kísérleti csoport (1) | T-2/HT-2  | DON   | FB <sub>1</sub> |
|-----------------------|-----------|-------|-----------------|
| Kontroll (2)          | <0,02     | <0,02 | <0,02           |
| Alacsony dózis (3)    | 0,20/0,03 | 4,07  | 21,44           |
| Magas dózis (4)       | 0,78/0,09 | 10,68 | 75,16           |

Table 1. Mycotoxin content of feed used in the experiment (mg/kg feed)

experimental group (1); control group (2); low dose group (3); high dose group (4)

által korábban leírt módszerrel (Szabó-Fodor és mtsai, 2015). A takarmányok mért mikotoxin-tartalmát az 1. táblázat mutatja.

A kísérlet során a multi-mikotoxinnal szennyezett takarmány etetésének megkezdését követő 24. 48. és 72. órában véletlenszerűen kiválasztott, kísérleti csoportonként 6-6 állatból máj- és vérmintát gyűjtöttünk (n=18). A madarakból az elvéreztetést követően a teljes vért összegyűjtöttük, majd *post mortem* májmintát vettünk a biokémiai vizsgálatokhoz. A májmintákat lefagyasztásig (maximum 2 óra) jégen tartottuk, majd a felhasználásig -70°C-on tároltuk. A vérvétel heparinozott vérvételi csövekbe (0,005 ml Heparin ad us vet injekció; 125 NE heparin-Na) történt. A vérmintákat hűtött környezetben (+4°C) szállítottuk a laboratóriumba, ahol az alakos elemeket 10 percig történő centrifugálással (1500 fordulat/perc) elválasztottuk a vérplazmától. A vérplazmamintákat a vizsgálatok elvégzéséig -70°C-on tároltuk.

Meghatároztuk a májban a lipidperoxidációs folyamat iniciációs fázisa során keletkező konjugált diének, és -triének, valamint a májban és a vérplazmában a terminációs fázis során keletkező metastabil végtermék, a malondialdehid koncentrációját, valamint a glutation redox rendszer egyes elemeinek, a redukált glutation (GSH) mennyiségét és a glutation-peroxidáz (GPx) aktivitását. A konjugált diének és triének meghatározása a májminták lipidtartalmának trimetil-pentánban való kivonását követően az abszorpciós spektrum alapján történt (AOAC, 1984). A malondialdehid-tartalmat savanyú közegben, magas hőmérsékleten való komplex képzéssel, 2-tiobarbitursavval határoztuk meg (Botsoglou és mtsai, 1994). A redukált glutation-tartalmat: Rahman és mtsai (2007) módszerével, a glutation-peroxidáz aktivitást pedig Lawrence és Burk (1976) módszere alapján mértük. Az eredmények statisztikai értékelését GraphPad Prism for Windows 5.04 szoftverrel (GraphPad Software Inc. San Diego, USA) végeztük. A program használatával alap statisztikai számításokat, t-próbát, valamint variancia-analízist végeztünk.

## EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A lipidperoxidációs folyamatok iniciációs szakaszát jelző konjugált diének (CD) (2. táblázat) mennyisége a multi-mikotoxin terhelés hatására csak kismértékben változott a kontrollhoz viszonyítva a májban. Egyedül a mikotoxinokkal szennyezett takarmány etetésének megkezdését követő 48. órában tapasztaltunk szignifikáns mértékű csökkenést ( $p < 0,01$ ) az EU javaslati határértékeknek megfelelő mennyiségben mikotoxinokkal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban a kontrollhoz viszonyítva, míg a magas dózis esetében nem volt eltérés (1. ábra).

Ennek a csökkenésnek a hátterében a mikotoxin-terhelés hatására bekövetkező, a májszövetlipidek zsírsav-összetételében bekövetkező változás állhat, amelyet fumonizin B<sub>1</sub> és T-2 toxin individuális terhelés hatására korábban nyúlban már kimutattak (Szabó és mtsai, 2016). A megváltozott zsírsavösszetétel ugyanis befolyásolhatja a lipidek oxidáció iránti érzékenységet, azaz a reaktív oxigén gyökök hatására bekövetkező lipidperoxidációs folyamatokat (Holman, 1954).

A lipidperoxidációs folyamatok terminációs szakaszát jelző malondialdehid (MDA) koncentrációja (2. táblázat) a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan kisebb volt ( $p < 0,05$ ) a mikotoxinokkal szennyezett takarmány etetését követő 72. órában az alacsony dózissal kezelt csoportban, de tendenciájában, bár nem szignifikáns

mértékben, a magas dózissal terhelt csoport értékei is csökkentek a kontrollhoz képest (2. ábra).

Ez az eredmény is alátámasztja a CD esetében leírt feltételezésünket, mely szerint a mikotoxin-terhelés dóziszfüggően befolyásolhatja a májszövet zsírsav-összetételét, ennek révén a lipidperoxidációs folyamatok intenzitását is, amely a 48. órában még csak a folyamat iniciációs szakaszát jelző CD, míg egy nappal később már a terminációs szakaszra utaló MDA koncentrációban is kimutatható volt.

A glutation redox paraméterek közül a redukáltglutathion (GSH)-tartalom a vérplazmában szignifikánsan nagyobb volt a magas dózis hatására a mikotoxin-terhelés 72. órájában (3. táblázat).

A 24. órában is tendenciaszerűen nagyobb értékeket mértünk, de akkor a kisebb dózis hatására (3. ábra). Ez alapján feltételezhetjük, hogy mivel a T-2 toxin és a DON közel azonos dózisban történt individuális adagolásakor a GSH-tartalom nőtt (Nakade és mtsai, 2018), ezért az azok együttes adagolásakor kimutatott változás

2. táblázat

**A vérplazma és a májhomogenizátum lipidperoxidációs paramétereinek változása eltérő dózisu T-2/HT-2 toxin, DON és fumonizin B<sub>1</sub> együttes adagolásának hatására (n=6; átlag±SD)**

| Vérplazma (1)        |                 |                 |                 |                             |                             |                              |                              |                              |                               |
|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                      | 24. óra (2)     |                 |                 | 48. óra (3)                 |                             |                              | 72. óra (4)                  |                              |                               |
|                      | Kontroll (5)    | L (6)           | H (7)           | Kontroll                    | L                           | H                            | Kontroll                     | L                            | H                             |
| MDA (μmol/l)         | 5,32<br>± 1,02  | 4,40<br>± 0,76  | 5,12<br>± 1,26  | 5,00<br>± 0,67              | 4,35<br>± 0,49              | 4,21<br>± 1,10               | 5,05<br>± 0,76               | 5,08<br>± 1,44               | 4,13<br>± 1,18                |
| Májhomogenizátum (8) |                 |                 |                 |                             |                             |                              |                              |                              |                               |
| CD (OD 232nm)        | 0,25<br>± 0,03  | 0,22<br>± 0,02  | 0,24<br>± 0,02  | 0,25 <sup>B</sup><br>± 0,02 | 0,22 <sup>A</sup><br>± 0,01 | 0,25 <sup>AB</sup><br>± 0,01 | 0,23<br>± 0,02               | 0,25<br>± 0,02               | 0,26<br>± 0,02                |
| CT (OD 268nm)        | 0,13<br>± 0,01  | 0,12<br>± 0,01  | 0,12<br>± 0,01  | 0,14<br>± 0,01              | 0,13<br>± 0,01              | 0,13<br>± 0,01               | 0,13<br>± 0,01               | 0,10<br>± 0,01               | 0,15<br>± 0,01                |
| MDA (nmol/g)         | 22,75<br>± 4,84 | 20,52<br>± 7,35 | 19,65<br>± 7,36 | 20,06<br>± 2,05             | 17,40<br>± 4,33             | 20,49<br>± 8,55              | 25,52 <sup>A</sup><br>± 7,49 | 17,33 <sup>B</sup><br>± 2,41 | 18,45 <sup>AB</sup><br>± 2,58 |

L: alacsony dózis - 0,25 mg T-2 toxin, 5 mg DON és 20 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány (6); H: magas dózis - 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON/kg és 80 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány (7)

MDA - malondialdehyd (9); CD - konjugált dién (10); CT - konjugált trién (11)

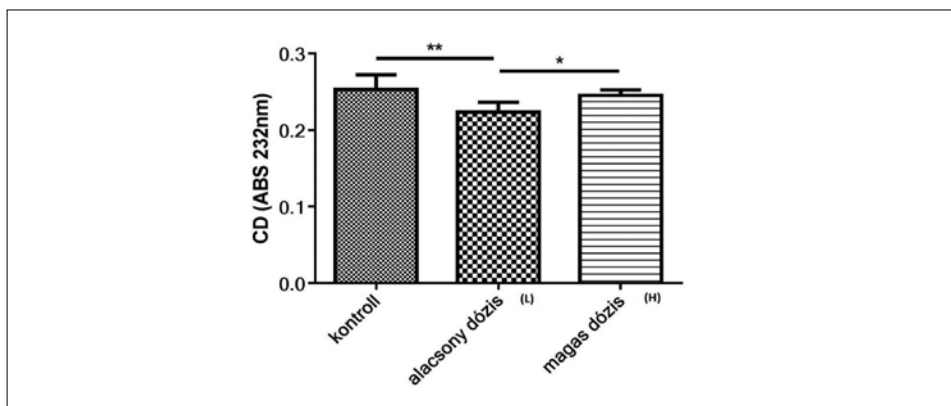
A, B - az eltérő betűvel jelölt átlagértékek azonos mintavételi időpontban szignifikáns mértékben különböznek (p<0,05)

Table 2. Effect of different doses of T-2/HT-2 toxin, DON and fumonisin B<sub>1</sub> co-exposure on the lipid peroxidation parameters of blood plasma and liver homogenates (n=6; mean±SD)

blood plasma (1); 24th hour (2); 48th hour (3); 72nd hour (4); control (5); low dose: 0.25 mg T-2/HT-2 toxin+5 mg DON+20 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed (6); high dose: 1 mg T-2/HT-2 toxin+20 mg DON+80 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed (7); liver homogenate (8); MDA - malondialdehyde (9); CD - conjugated dienes (10); CT - conjugated trienes (11)

A, B – different superscripts in the same row at the same sampling time mean significant difference (p<0.05)

**1. ábra** T-2/HT-2 toxin, DON és fumonizin B<sub>1</sub> együttes adagolásának hatása a májszövet konjugált dién (CD) tartalmára a mikotoxin-terhelés 2. napján (48 óra) (n=6; átlag±SD)

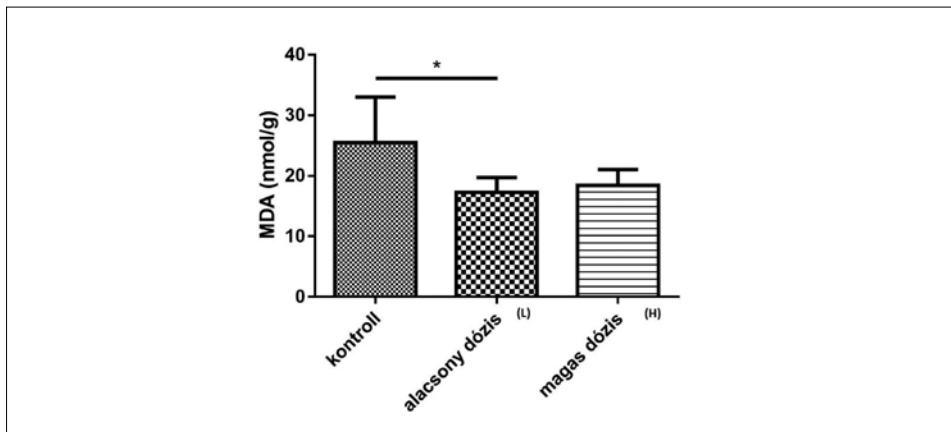


Alacsony dózis: 0,25 mg T-2 toxin, 5 mg DON és 20 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; Magas dózis: 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON és 80 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány. \*p<0,05; \*\*p<0,01

Figure 1. Effect of T-2 toxin, DON and fumonisin B<sub>1</sub> co-exposure on the amount of conjugated dienes of liver homogenates collected on 48th h of the trial (n=6; mean±SD)

low mix (L): 0.25 mg T-2 toxin, 5 mg DON and 20 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed, high mix (H): 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON and 80 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed. \*p<0.05; \*\*p<0.01

**2. ábra** T-2/HT-2 toxin, DON és fumonizin B<sub>1</sub> együttes adagolásának hatása a májszövet malondialdehid (MDA) koncentrációjára (nmol/g) a 72. órában történt mintavétel során (n=6; átlag±SD)



Alacsony dózis: 0,25 mg T-2 toxin, 5 mg DON és 20 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; Magas dózis: 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON és 80 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; \*p<0,05

Figure 2. Effect of T-2/HT-2 toxin, DON and fumonisin B<sub>1</sub> co-exposure on the amount (nmol/g) of malondialdehyde of liver homogenates collected on the 72nd h of the trial (n=6; mean±SD)

Low mix (L): 0.25 mg T-2 toxin, 5 mg DON and 20 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed, high mix (H): 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON and 80 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed; \*p<0.05

3. táblázat

**A vérplazma és a májhomogenizátum glutation redox paramétereinek változása T-2/HT-2 toxin, DON és fumonizin B<sub>1</sub> együttes adagolásának hatására (n=6; átlag±SD)**

| Vérplazma (1)        |              |              |              |             |              |              |                           |                            |                           |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                      | 24. óra (2)  |              |              | 48. óra (3) |              |              | 72. óra (4)               |                            |                           |
|                      | Kontroll (5) | L (6)        | H (7)        | Kontroll    | L            | H            | Kontroll                  | L                          | H                         |
| GSH (μmol/g feh.)    | 8,46 ± 0,87  | 9,00 ± 2,21  | 8,16 ± 1,13  | 7,14 ± 0,24 | 8,13 ± 1,08  | 7,55 ± 1,31  | 8,12 <sup>B</sup> ± 0,88  | 8,84 <sup>AB</sup> ± 0,91  | 9,75 <sup>A</sup> ± 0,59  |
| GPx (E/g feh.)       | 9,90 ± 1,05  | 11,05 ± 2,27 | 10,50 ± 1,72 | 9,85 ± 1,33 | 11,50 ± 2,70 | 12,39 ± 4,39 | 10,33 <sup>B</sup> ± 0,58 | 11,89 <sup>AB</sup> ± 3,34 | 15,73 <sup>A</sup> ± 3,55 |
| Májhomogenizátum (8) |              |              |              |             |              |              |                           |                            |                           |
| GSH (μmol/g feh.)    | 7,93 ± 0,93  | 8,70 ± 1,46  | 8,52 ± 1,25  | 6,38 ± 0,78 | 6,74 ± 1,17  | 7,24 ± 1,02  | 6,50 ± 1,07               | 6,95 ± 0,74                | 6,69 ± 0,83               |
| GPx (E/g feh.)       | 7,10 ± 0,94  | 7,86 ± 1,28  | 7,37 ± 1,04  | 6,55 ± 1,50 | 7,55 ± 0,49  | 6,32 ± 0,96  | 8,37 ± 1,50               | 8,37 ± 1,73                | 8,53 ± 1,01               |

L: alacsony dózis - 0,25 mg T-2 toxin, 5 mg DON és 20 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; H: magas dózis - 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON/kg feed and 80 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg feed

A, B – az eltérő betűvel jelölt átlagértékek azonos mintavételi időpontban szignifikáns mértékben különböznek (p<0,05)

Table 3. Effect of different doses of T-2/HT-2 toxin, DON and fumonisin B<sub>1</sub> co-exposure on some glutathione redox parameters of blood plasma and liver homogenates

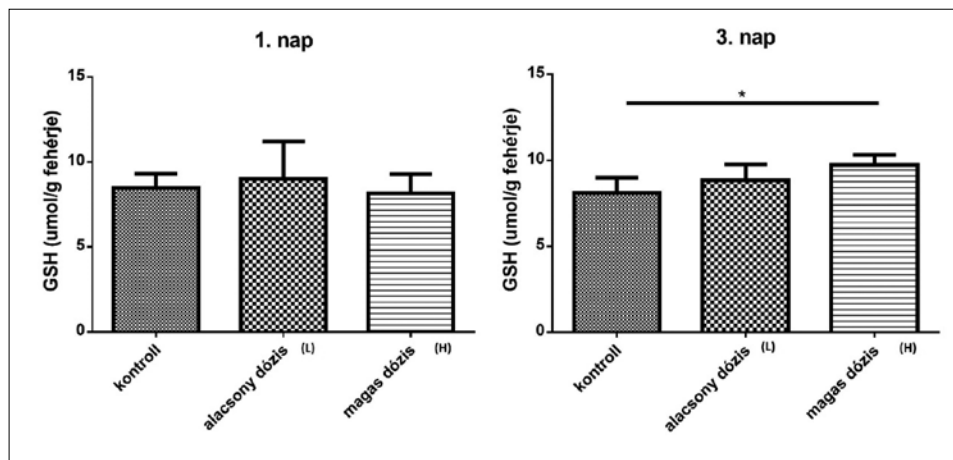
blood plasma (1); 24th hour (2); 48th hour (3); 72nd hour (4); control (5); low dose: 0.25 mg T-2/HT-2 toxin+5 mg DON+20 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed (6); high dose: 1 mg T-2/HT-2 toxin+20 mg DON+80 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed (7); liver homogenate (8)

A, B – different superscripts in the same row at the same sampling time mean significant difference (p<0.05)

is antagonista hatást valószínűsít. A májban ugyanakkor a GSH-tartalomban nem volt kimutatható mértékű változás (3. táblázat).

A glutation-peroxidáz (GPx) aktivitás a vérplazmában a mikotoxin-terhelés 72. órájában mutatott dózis-hatás összefüggést (3. táblázat). A kisebb mikotoxin-dózis hatására is tendenciaszerűen nagyobb volt, mint a kontroll, de még nem szignifikáns mértékben, míg a nagyobb mikotoxin-dózzal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban már szignifikáns eltérés volt kimutatható (4. ábra). Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a nagyobb mértékű mikotoxin-terhelés hatására mérsékelt oxidatív stressz alakult ki, amelynek hatására aktiválódott a glutation-redoxrendszer, amely azonban csak a vérplazmában volt kimutatható. Ezt a hatást T-2 toxin és DON individuális terhelése során baromfiban korábban már megfigyeltük (Nakade és mtsai, 2018). A májban ugyanakkor a GPx aktivitás nem változott, amely arra utal, hogy a multi-mikotoxin terhelés hatására nem alakult ki olyan mértékű oxidatív stressz, amely a májban is kimutatható változást indukált volna. Miután a T-2 toxin és a DON közel azonos dózissal történt individuális terhelés során a májban is nőtt a GPx aktivitás (Nakade és mtsai, 2018), ezért feltételezhető, hogy multi-mikotoxin terhelés hatására antagonista hatás lép fel az oxidatív stressz indukciójában.

**3. ábra** T-2/HT-2 toxin, DON és fumonizin B<sub>1</sub> együttes adagolásának hatása a vérplazma redukált glutation (GSH) koncentrációjára az első és a harmadik mintavételi napon (n=6, átlag ±SD)

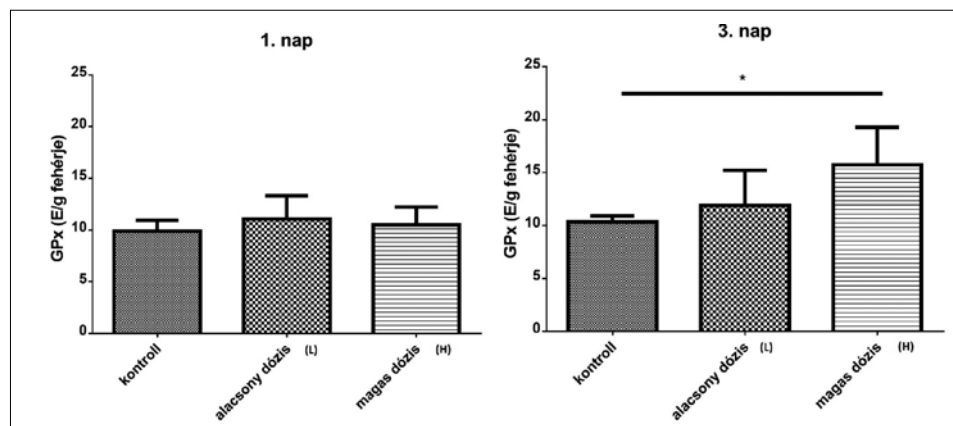


Alacsony dózis: 0,25 mg T-2 toxin, 5 mg DON és 20 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; Magas dózis: 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON és 80 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; \*p<0,05

Figure 3. Effect of T-2/HT-2 toxin, DON and fumonisin B<sub>1</sub> co-exposure on the amount (μmol/g protein) of reduced glutathione content of blood plasma on days 1 and 3 (n=6, mean±SD)

Low mix (L): 0.25 mg T-2 toxin, 5 mg DON and 20 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed, high mix (H): 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON and 80 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed; \*p<0.05

**4. ábra** T-2/HT-2 toxin, DON és fumonizin B<sub>1</sub> együttes adagolásának hatása a vérplazma glutation-peroxidáz aktivitására az első és a harmadik mintavételi napon (n=6; átlag±SD)



Alacsony dózis: 0,25 mg T-2 toxin, 5 mg DON és 20 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; Magas dózis: 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON és 80 mg fumonizin B<sub>1</sub>/kg takarmány; \*p<0,05

Figure 4. Effect of T-2/HT-2 toxin, DON and fumonisin B<sub>1</sub> co-exposure on the activity (E/g protein) of glutathione peroxidase of blood plasma on days 1 and 3 (n=6, mean±SD)

Low mix (L): 0.25 mg T-2 toxin, 5 mg DON and 20 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed, high mix (H): 1 mg T-2 toxin, 20 mg DON and 80 mg fumonisin B<sub>1</sub>/kg feed; \*p<0.05

## KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A vizsgálatok eredményei szerint a brojlercsirkék májszövetében a T-2/HT-2 toxin, DON és fumonizin B, mikotoxinok együttes hatására csökkentek a lipidperoxidációs folyamatok: a kísérlet 48. órájára az EU javaslati határérték alkalmazásakor az iniciációs fázist jelző konjugált diének, míg a 72. órájára a folyamat terminációs fázisát jelző malondialdehid koncentrációja csökkent. Az eredmény háttérében az egyes mikotoxinok között antagonizmus feltételezhető, amely nem növeli, hanem mérsékelten csökkenti az oxidatív stressz mértékét, másrészt az is ismert, hogy a jelen vizsgálat során alkalmazott mikotoxinok befolyásolhatták a zsírok zsírsav-összetételét, így azok oxidáció iránti érzékenységet.

A glutation-redoxrendszer a vizsgált *Fusarium* mikotoxinok hatására aktiválódott a vérplazmában, ugyanakkor érdemben nem változott a májban. A kísérlet 3. napjára a redukált glutation mennyisége és a glutation-peroxidáz aktivitása is nőtt a három mikotoxin, négyszeres EU javaslati határértékű dózissal történt egyidejű terhelésének hatására a vérplazmában. Ennek alapján feltehető, hogy a nagyobb dózisu terhelés hatására mérsékelt oxidatív stressz alakult ki, amely azonban a májban még nem érte el azt a kritikus értéket, amely a glutation-redoxrendszer érdemi aktiválódását váltotta volna ki. Az eredmények alapján levonható az a következtetés, hogy a vizsgált *Fusarium* mikotoxinok együttes expozíciójakor azok individuális hatása mérséklődött az oxidatív stressz indukciója szempontjából, amelynek alapján az egyes vizsgált mikotoxinok között antagonista hatás feltételezhető.

## KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

A kutatást az NVKP\_16-1-2016-0016, GINOP-2.2.1-15-2016-00021 és az Európai Unió valamint az Európai Szociális Alap által támogatott EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 projektek támogatták.

## IRODALOMJEGYZÉK

- AOAC (1984): Official Methods of Analysis (28.054) 14th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 243.
- Battilani, P. - Costa, L. G. - Dossena, A. - Gullino, M. L. - Marchelli, R. - Galaverna, G. - Pietri, A. - Dall'Asta, C. - Giorni, P. - Spadaro, D. - Guala, A. (2008): Scientific information on mycotoxins and natural plant toxicants. Scientific/ Technical Report submitted to EFSA. CFP/EFSA/CONTAM/2008/01, EFSA, Parma, 26.
- Botsoglou, N. A. - Fletouris, D. J. - Papageorgiou, G. E. - Vassilopoulos, V. N. - Mantis, A. J. - Trakatellis, A. G. (1994): Rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. J. Agric. Food Chem., 42. 1931–1937.
- Diaz, D. E. (2005): The Mycotoxin Blue Book. Nottingham University Press, Nottingham, 125.
- EU (2006): A Bizottság 2006/576/EK ajánlása a deoxinivalenol, a zearalenon, az ochratoxin-A, a T-2, a HT-2 és a fumonizinek állati takarmányozásra szánt termékekben való előfordulásáról. EU Hiv. Lapja, L229. 7.
- Guerre, P. - Eeckhoutte, C. - Burgat, V. - Galtier, P. (2000): The effects of T-2 toxin exposure on liver drug metabolising enzymes in rabbit. Food Addit. Contam., 12. 1019–1026.
- Greiner, B. - Applegate, T. J. (2013): Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: Meta-analysis of published experiments in animals. Toxins, 5. 396–430.

- Holman, R. T. (1954): Autoxidation of fats and related substances. In: Progress in chemistry of fats and other lipids, Vol. 2. Eds.: Holman, R. T. - Lundberg, W. O. - Malkin, T., Pergamon Press, London, 51–98.
- Lawrence, R. A. - Burk, R. F. (1976): Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. Biochem. Biophys. Res. Commun., 71. 952–956.
- Mézes, M. - Virág, Gy. - Barta, M. - Abouzeid, A. D. (1996): Effect of lipid peroxide loading on lipid peroxidation and on the glutathione and cytochrome systems in rabbits. Acta Vet. Hung., 44. 443–450.
- Mézes, M. - Barta, M. - Nagy, G. (1998): Comparative investigation on the effect of T-2 mycotoxin on lipid peroxidation and antioxidant status in different poultry species. Res. Vet. Sci., 66. 19–23.
- Nakade, M. - Pelyhe, Cs. - Kövesi, B. - Balogh, K. - Kovács, B. - Szabó-Fodor, J. - Zándoki, E. - Mézes, M. - Erdélyi, M. (2018): Short-term effects of T-2 toxin or deoxynivalenol on glutathione status and expression of its regulatory genes in chicken. Acta Vet. Hung., 66. 28–39.
- Pelyhe, Cs. - Kövesi, B. - Zándoki, E. - Kovács, B. - Erdélyi, M. - Kulcsár, Sz. - Mézes, M. - Balogh, K. (2018): Multi-trichothecene mycotoxin exposure activates glutathione-redox system in broiler chicken. Toxicon, 153. 53–57.
- Rahman, I. - Kode, A. - Biswas, S. K. (2007): Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulphide levels using enzymatic recycling method. Nat. Protoc., 1. 3159–3165.
- Smith, M. C. - Madec, S. - Coton, E. - Hymery, N. (2016): Natural co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects. Toxins, 8. 94.
- Streit, E. - Schatzmayr, G. - Tassis, P. - Tzika, E. - Marin, D. - Taranu, I. - Tabuc, C. - Nicolau, A. - Aprodu, I. - Puel, O. - Oswald, I. P. (2012): Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed—focus on Europe. Toxins, 4. 788–809.
- Surai, P. F. - Dvorska, J. E. - Sparks, N. H. C. - Jaques, K. A. (2002): Impact of mycotoxins on the body's antioxidant defence. In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries, Eds: Lyons, T. P. - Jaques, K. A. Nottingham University Press, Nottingham, 131–142.
- Szabó, A. - Szabó-Fodor, J. - Fébel, H. - Mézes, M. - Bajzik, G. - Kovács, M. (2016): Oral administration of fumonisin B1 and T-2 individually and in combination affects hepatic total and mitochondrial membrane lipid profile of rabbits. Acta Physiol. Hung., 103. 321–333.
- Szabó-Fodor, J. - Kachlek, M. - Cseh, S. - Somoskői, B. - Szabó, A. - Blochné Bodnár, Zs. - Tornay, G. - Mézes, M. - Balogh, K. - Glávits, R. - Hafner, D. - Kovács, M. (2015): Individual and combined effects of subchronic exposure of three Fusarium toxins (fumonisin B, deoxynivalenol and zearalenone) in rabbit bucks. J. Clin. Toxicol., 5. 4. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0495.1000264>
- Szabó-Fodor, J. - Szabó, A. - Kócsó, D. - Marosi, K. - Bóta, B. - Kachlek, M. - Mézes, M. - Balogh, K. - Kövér, Gy. - Nagy, I. - Glávits, R. - Kovács, M. (2019): Interaction between the three frequently co-occurring Fusarium mycotoxins in rat. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 103. 370–382.
- Ványi, A. - Sályi, G. - Majoros, G. - Glávits, R. - Sándor, G. - Bagó, Gy. (1989): A T-2 fuzáritoxin és a monenzin közötti kölcsönhatás vizsgálata coccidiumokkal fertőzött brojlersírkében. Magy. Állatorv. Lapja, 44. 293–298.
- Wood, G. E. (1992): Mycotoxins in foods and feeds in the United States. J. Anim. Sci., 70. 3941–3949.

Érkezett: 2020. február

Szerzők címe: Kulcsár Sz. - Kövesi B. - Mézes M. - Balogh K. - Zándoki E. - Ancsin Zs.  
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,  
Takarmányozástani Tanszék

Authors' address: Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental  
Sciences, Department of Nutrition  
H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.  
szabina.kulcsar@gmail.com