



MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

**EGYES *FUSARIUM* MIKOTOXINOK EGYÜTTES HATÁSÁNAK
VIZSGÁLATA A HÁZI TYÚK LIPIDPEROXIDÁCIÓS
FOLYAMATAIRA ÉS GLUTATION REDOX RENDSZERÉRE**

Doktori értekezés tézisei

Kulcsár Szabina

Gödöllő

2023

A doktori iskola

megnevezése: Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola

tudományága: Mezőgazdaság-tudomány

vezetője: Dr. Mézes Miklós

egyetemi tanár, az MTA rendes tagja

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és
Takarmányozástani Intézet, Takarmánybiztonsági Tanszék

Témavezetők: Dr. Mézes Miklós

egyetemi tanár, az MTA rendes tagja

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és
Takarmányozástani Intézet, Takarmánybiztonsági Tanszék

Dr. Balogh Krisztián

egyetemi docens, PhD

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és
Takarmányozástani Intézet, Takarmánybiztonsági Tanszék

.....
Az iskolavezető
jóváhagyása

.....
Témavezető (Dr Mézes Miklós)
jóváhagyása

.....
Társ-témavezető (Dr Balogh Krisztián) jóváhagyása

1 A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

1.1 A kutatás előzményei

A mikotoxinok előfordulása a takarmányban és az élelmiszerekben világméretű probléma, ami növekvő állat- és humánegészségügyi veszélyt, valamint gazdasági veszteségeket idéz elő az élelmiszer- és takarmányiparban. A takarmány alapanyagok és kész takarmányok mikotoxin szennyezettségének az elmúlt években történt felmérései alapján elmondható, hogy Európában leggyakrabban a *Fusarium* mikotoxinok előfordulásával kell számolni, amelyek közül a legjelentősebbek a T-2/HT-2 toxin, a dezoxinivalenol (DON) és metabolitjai (3-AcDON, 15-AcDON) valamint a fumonizin B1 (FB1). A monitoring vizsgálatok azt is kimutatták, hogy természetes körülmények között ezek a mikotoxinok többnyire együtt fordulnak elő. A mikotoxinok közötti kölcsönhatásokat vizsgálva megállapították, hogy a legtöbb mikotoxinkeverék additív vagy szinergista hatást fejt ki, amely alátámasztja a multi- mikotoxin keverékekkel végzett kísérletek fontosságát.

A mikotoxinokkal kapcsolatos eddigi kutatások *in vitro* és gazdasági állatokkal végzett *in vivo* kísérletekben a különböző toxinok dózistól és expozíciós időtől függő hatásait mutatják be. Ezek között azonban kevés az alacsony dózisu kölcsönhatás vizsgálat, illetve a *Fusarium* toxinok együttes hatásának elemzése. Kísérleteimben ezért a hazánkban leggyakrabban előforduló *Fusarium* penészgombák által termelt mikotoxinok kölcsönhatásaira fókuszáltam. Olyan mértékű expozíciókat alkalmaztam, amelyek határérték körüliek, így gyakorlati körülmények között gyakran előfordulhatnak.

Az említett mikotoxinok a madarak szervezetére, ezen belül az általam vizsgált glutation redox rendszerre és lipidperoxidációs folyamatokra kifejtett hatásairól viszonylag kevés információval rendelkezünk. Ennek okán kísérleteimhez modell szervezetként a gazdaságilag jelentős brojlercsirkét és tojótyúkot választottam. Egyes *Fusarium* toxinok jól ismert módon oxidatív stresszt indukálnak, amelynek hatására az állati szervezetben fokozódik a lipidperoxidációs folyamatok intenzitása, amely kihat a biológiai antioxidáns rendszer működésére. Feltehető a kérdés, hogy a T-2 toxin, a DON és a FB1 mikotoxinokat együtt alkalmazva fokozzák, vagy gátolják egymás hatását az antioxidáns védekező mechanizmusokra a tojótyúkok és a brojlercsirkék szervezetében?

1.2 Célkitűzések

1. Vizsgálataim fő célkitűzése az volt, hogy a három *Fusarium* mikotoxin, a T-2 toxin és annak hasonlóan toxikus metabolitja, a HT-2 toxin, a DON és annak toxikus metabolitjai [3-acetil DON (3-AcDON), 15-acetil DON (15-AcDON)] és a FB1 együttes hatását vizsgáljam rövid távú (72 órás) etetési kísérletekben brojlercsirkében és tojótyúkban. A kezelések során a toxin koncentrációkat úgy határoztam meg, hogy azok az Európai Unióban (EU) által megállapított, takarmányokra vonatkozó javaslati határértékeket (2006/576/EK), illetve annak kétszeres és négyszeres mennyiségét túlrözzék.

2. Céлом volt felmérni, hogy a vizsgált mikotoxinok együttes alkalmazása egyszeri expozíciót követő hatása rövidtávon milyen irányban és mértékben befolyásolja a tojótyúkok és a brojlercsirkék lipidperoxidációs folyamatait jelző markereket, a glutation redox rendszer egyes elemeit, valamint azok szabályozásáért felelős egyes transzkripciós faktorokat kódoló gének expresszióját.

A vizsgálatok során az alábbi paramétereket vizsgáltam:

- a) testsúly, elhullás, takarmányfogyasztás
- b) klinikai biokémiai paraméterek:
 - a lipidperoxidációs folyamatok esetében az iniciációs szakasz markereit (konjugált dién [CD] és konjugált trién [CT]), valamint a terminációs szakasz metastabil végtermékének (malondialdehid [MDA]) mennyiségét, a glutation redox rendszer működését jelző paramétereit (glutation-peroxidáz [GPx] aktivitását, valamint a redukált glutation [GSH] tartalmat
 - c) a glutation redox rendszer egyes elemeit kódoló gének (glutation-peroxidáz-4 [GPX4], glutation-szintetáz [GSS], glutation-reduktáz [GSR]), illetve a Nrf2/Keap1-ARE (*nuclear factor E2-related factor 2/kelch-like ECH-associated protein 1*/ Antioxidáns válaszelem) útvonalat kódoló egyes gének (*Keap1* és *Nrf2*) expressziós változásait.

2 ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1 A kísérletek során alkalmazott mikotoxinok és a mesterségesen szennyezett takarmányok elkészítése

2.1.1 A takarmányok kísérletes mikotoxin szennyezése

A kísérletekhez felhasznált takarmányt a kukoricadara szubsztráton termelt mikotoxinok hozzákeverésével állítottuk elő olyan módon, hogy az ismert mikotoxin tartalmú szubsztrát-penészgomba keveréket az adott kísérleti csoport számára szükséges mennyiségét kevertük a takarmányhoz. Az alacsony dózisu keverékben az alkalmazott mikotoxin koncentrációk az EU javaslati határértéknek feleltek meg (T-2 és HT-2 toxin: 0,25 mg/kg [2013/165/EU ajánlás]; DON + 3-acetil DON + 15-acetil DON): 5 mg/kg [2006/576/EK ajánlás]; FB1: 20 mg/kg [2006/576/EK ajánlás]. Ezek a szennyezettségi értékek a mérsékelt éghajlaton előforduló időszakos szennyeződést tükröznek, míg a közepes és magas dózisu kísérleti csoportok takarmánya a gyakorlati szennyezettségi szintnél 2x, illetve 4x többet tartalmazott abból a célból, hogy rövid időn belül is jól detektálható változásokat idézhessen elő.

2.2 Kísérleti protokoll és mintavételezés

Vizsgálataimhoz *in vivo* modellként brojlercsirkét (Cobb 500 kakas, 21 napos életkor) és tojótyúkot (Tetra SL, 49 hetes életkor, átlagos napi tojástermelés $\cong 90\%$) alkalmaztam. A mikotoxinok egyéni hatásainak vizsgálatokor (n=78) a T-2/HT-2 toxin, DON/2-AcDON/15-AcDON és FB1 mikotoxinokkal mesterségesen szennyezett takarmánnyal etettem az állatokat. A kísérlet 0. napján abszolút kontrollként vettünk mintát (n=6). A kísérleti csoportok következőképpen alakultak: kontroll csoport (n=18) és különböző mikotoxinokkal kezelt 3 db csoport (T-2 toxin: n=18; DON: n=18; FB1: n=18). Az egyes kísérleti csoportokba tartozó madarakat két alcsoportra (n=9) bontva helyeztük el a kísérlet helyszínéül szolgáló teremben. A multi mikotoxin vizsgálatokban (n=60) a három napos akklimatizációs időt követően a kísérlet 0. napján abszolút kontrollként kísérleti csoportonként 2-2 állatból (n=6) mintát vettünk majd 12 órás takarmánymegvonást követően megkezdtük a 3 napos etetési kísérletet egy kontroll (mikotoxin kiegészítést nem tartalmazó, n=18) és két különböző mikotoxin mennyiséggel kiegészített takarmány etetésével (n=36).

2.3 Biokémiai vizsgálatok

A CD-ek és CT-ek meghatározása a májminták lipid tartalmának 2,2,4-trimetil-pentánban való kivonását követően az abszorpciós spektrum (CD: 232 nm; CT: 268 nm) alapján történt.

A MDA koncentrációt savanyú közegben, magas hőmérsékleten való komplex képzéssel, 2-tiobarbitursavval határoztam meg. Az abszorbancia mérése a felülúszóból a reagens vakkal szemben 535 nm hullámhosszon történt.

A minták redukált glutation koncentrációjának meghatározását Sedlak és Lindsay (1968) módszerével végeztem. A módszer alapja a glutation szabad SH- csoportjának szulfhidril-reaktív vegyülettel való színes komplexképző reakciója.

A GPx aktivitás meghatározásának alapja, hogy a GSH a GPx enzim hatására glutation-diszulfiddá oxidálódik reaktív oxigéngyökök jelenlétében. A GSH mennyiségének csökkenését 5,5-ditiobis-(2-nitro-benzoészav) -val képzett komplex fényelnyelésének 412 nm hullámhosszon történt abszorbancia mérésével határoztam meg.

2.3 Génexpressziós vizsgálatok

2.3.1 RNS tisztítás és reverz transzkripció

A kísérleti állatok májmintáiból NucleoZOL reagenssel teljes RNS-t tisztítottam, majd a genomi DNS szennyeződést DNáz I kezeléssel távolítottam el. Az RNS-ből kezelési csoportonként poolokat hoztam létre, egyedenként azonos mennyiségű RNS-ből (n=6), majd 1000 ng poolozott RNS-ből random nonamerrel (9-mer) reverz transzkripció során cDNS-t készítettem, amelyből a qPCR méréseket végeztem.

2.3.2 Real-time PCR vizsgálatok

A *GPX4*, a *GSS*, a *GSR*, az *Nrf2* és *Keap1* célgének, valamint a glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz (*GAPDH*) belső (háztartási) kontroll gén expresszióját real-time PCR-rel, duplex qPCR módszerrel határoztam meg. A vizsgálatokhoz felhasznált primereket a szakirodalom alapján választottam ki. A mérésekhez a Step One Plus™ Real-Time PCR készüléket használtam. Minden mérés alkalmával primer páronként beállítottam egy non-template kontrollt is. A qPCR hőmérsékleti profil a következő volt: a *GPX4*, *GSS*, *GSR* és *Keap1* génekre 95 °C 10 perc elődenaturáció, majd 95°C 15 sec, 58°C 30 sec és 72°C 30 sec, 45 cikluson keresztül ismételve. Az *Nrf2* célgének esetében pedig 95°C 10 perc elődenaturáció, majd 95°C 15 sec, 60°C 30 sec és 72°C 30 sec, 45 cikluson keresztül. A VIC és

FAM jelet 72°C-on olvasta le a berendezés minden ciklusban az extenzió-lépésének végén.

2.3.3 Real-time PCR eredmények kiértékelése

A PCR termék specifikitását és a primer dimerek jelenlétét gélelektroforézis és olvadási görbe (*melting-curve*) analízis segítségével ellenőriztem. A Ct értékeket a cél- és kontroll gének esetén is a StepOne™/ StepOnePlus™ (v2.2) szoftverrel határoztam meg és számítottam ki a delta Ct (ΔCt) és a delta-delta Ct értékeket ($-\Delta\Delta Ct$), végül az RQ (relatív kvantifikáció; $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$) értékeket.

2.4 Statisztikai értékelés

A kísérleti eredmények statisztikai értékeléséhez leíró statisztikai számításokat, egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) végeztem. Az eredmények normál eloszlását Kolmogorov-Smirnov teszttel, a variancia homogenitását pedig Bartlett teszttel ellenőriztem. A számítások GraphPad Prism 7.0 szoftverrel történtek.

3 EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

3.1 T-2/HT-2 toxin, DON/2-AcDON/15-AcDON és fumonizin B1 mikotoxinok rövidtávú egyéni hatásainak vizsgálata tojótyúokban

Első lépésként az egyes mikotoxinokkal egyéni vizsgálatot végeztem, amelynek során felmértem a T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON és a FB1 terhelés során a lipidperoxidációs folyamatokat és a glutation redox rendszer változásait. Az *in vivo* rövid távú (3 napos) etetési kísérletben az említett mikotoxinok EU-ban javasolt maximális mennyiségének (2006/576/EK, 2013/165/EU) kétszeresét alkalmaztam annak érdekében, hogy jól mérhető változásokat kapjak (1. táblázat).

1. táblázat: A kísérlet során etetett takarmányok mért mikotoxin tartalma az egyes csoportokban (mg/kg takarmány)

<i>Kísérleti csoport</i>	<i>T-2/HT-2</i>	<i>DON/3-AcDON/15-AcDON</i>	<i>FB1</i>
Kontroll	<0,02	<0,02	<0,02
T-2/HT-2 toxinnal kezelt csoport	0,45/0,36	<0,02	<0,02
DON-nal kezelt csoport	<0,02	8,68/0,11/0,05	<0,02
FB1-el kezelt csoport	<0,02	<0,02	38,10

Az eredmények alapján a vizsgált mikotoxinok egyike sem indított el számottevő mértékű lipidperoxidációt. Ennek alapján feltehető, hogy az alkalmazott dózis még enyhe oxidatív stresszt sem idézett elő tojótyúkok májában rövidtávú (72 óra) terhelés során. Ezzel szemben mindhárom vizsgált mikotoxin hatására a lipidperoxidáció iniciációs szakaszát jelző CD mennyiségének szignifikáns csökkenése, a DON/3-AcDON/15-AcDON hatására pedig a lipidperoxidáció terminációs szakaszát jelző MDA koncentráció jelentős csökkenése volt megfigyelhető. Ezeknek a csökkent értékeknek háttérében a mikotoxin expozíció hatására a májszöveti lipidek zsírsavösszetételének változása állhat.

A glutation redox rendszer markerei, a GSH mennyisége és a GPx aktivitása szintén csökkent a kontrollhoz képest a vizsgálat végén a FB1 hatására, míg a T-2/HT-2 toxin és a DON/3-AcDON/15-AcDON

esetében nem tapasztaltam változást. Ez a különbség feltehetően a glutation redox rendszer gyors aktiválódásának volt köszönhető FB1 hatására, amely hatékonyan gátolta ugyan a lipidperoxidációt, de egyúttal a glutation redox rendszer gyors kimerülését eredményezte. Ennek alapján úgy tűnik, hogy nem állt rendelkezésre elegendő idő a glutation-diszulfid regenerációjára és *de novo* szintézisére és/vagy a GPx poszttranszlációs aktiválására. A GSH tartalom csökkenése ugyanakkor csökkenti a GPx aktivitását is, lévén az enzim koszubsztrája, így annak hiányában annak aktivitása is csökken. A DON/3-AcDON/15-AcDON, valamint a T-2/HT-2 toxin az alkalmazott dózisban ugyanakkor nem befolyásolta érdemben a glutation redox rendszert, feltehetően az oxidatív stressz hiánya miatt.

A mikotoxin expozíció eredményeként ugyanakkor szignifikáns mértékű különbségeket találtam a glutation redox rendszert szabályozó gének relatív expressziójában. A *GPX4* indukció volt detektálható a T-2/HT-2 toxinnal és a DON/3-AcDON/15-AcDON-nal terhelt csoportokban 24 órás mikotoxin expozíció után, amely viszont a FB1-gyel terhelt csoportban nem volt megfigyelhető. Ez az eredmény arra utal, hogy a trichotecén-vázis mikotoxinok, így a T-2 toxin és a DON génexpressziós szinten gyorsan aktiválták az antioxidáns védekező rendszert, megakadályozva ezzel a lipidperoxidációs folyamatok kiteljesedését, még abban az esetben is, ha az adott mikotoxin egyébként ROS képződést indukál. Az FB1 nem minden esetben aktiválta a glutation redox rendszert génexpressziós szinten, ami arra utal, hogy a FB1 kisebb mértékű ROS képződést, azaz redox változásokat idéz elő a sejtekben. A *GSS* gén relatív expressziója azonban nőtt tojótúkok májában a 2. napon az FB1-terhelt csoportban és a 3. napon T-2/HT-2 toxin hatására. Ez a változás összefüggésben lehet a GSH tartalom csökkenésével FB1 hatására a 3. napon, ami arra utal, hogy a *GSS* génexpresszió fehérje, azaz enzimaktivitás, szinten csak később jelentkezik. A Keap1-Nrf2 szabályozási útvonalban szerepet játszó gének génexpressziós változása a 2. és a 3. napon jelentkezett a mikotoxinokkal terhelt csoportokban. A *Keap1* génexpressziójának növekedése a T-2/HT-2 toxinnal terhelt csoportban arra utal, hogy a három vizsgált mikotoxin közül a T-2/HT-2 hatására következett be legkorábban és legnagyobb mértékben redox változás a sejtben, lévén a Keap1 redox szenzitív fehérje. Az *Nrf2* második napon megfigyelt növekedése mindhárom kezelt csoportban az oxidatív stressz hierarchikus modellje alapján arra utal, hogy az alkalmazott dózisok mellett alacsony mennyiségű ROS képződött a tojótúkok májában. Az *Nrf2* indukciójával keletkezett Nrf2 fehérje bejut a sejtmagba és az Nrf2-ARE útvonalon

keresztül aktiválja az antioxidáns gének expresszióját, amely magyarázhatja a *GPX4* fokozott expresszióját.

Az eredmények arra utalnak, hogy a rövid távú mikotoxin-expozíció elérte néhány, de nem mindegyik általam vizsgált antioxidáns gén expressziója aktiválásának küszöbét, amely a 3 napos vizsgálat során csak mRNS-szinten volt kimutatható, de fehérje expresszió, azaz enzimaktivitás szinten még nem.

3.2 T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON és fumonizin B1 terhelés rövidtávú együttes hatásának vizsgálata tojóttyúkban

A kísérlet során a T-2/HT-2 toxin, a DON/3-AcDON/15-AcDON és a FB1 rövid távú (72 óra) együttes hatását vizsgáltam a glutation redox rendszer egyes elemeire, valamint a rendszer szabályozásáért felelős gének expressziójára. Az oxidatív stressz hatására kialakuló lipidperoxidációs folyamatok felmérésére mértem annak iniciációs és terminációs szakaszainak markereit. A takarmányok mikotoxin tartalmát a 2. táblázatban tüntettem fel, azok laboratóriumi mérési eredményei alapján.

2. táblázat A kísérlet során etetett takarmányok mért mikotoxin tartalma az egyes csoportokban (mg/kg takarmány)

<i>Kísérleti csoport</i>	<i>T-2/HT-2</i>	<i>DON/3-AcDON/15-AcDON</i>	<i>FB1</i>
Kontroll	<0,02	<0,02	<0,02
Alacsony dózis	0,26/0,36	4,78/0,59/1,55	19,21
Közepes dózis	0,43/0,31	9,11/0,09/0,06	41,20

A multi-mikotoxin expozíció hatására bekövetkező biokémiai változások alapján levonható az a következtetés, hogy tojóttyúkok májában lipidperoxidációs folyamatok indukálódtak, amit annak terminációs szakaszában keletkező metastabil végtermék, az MDA, mennyiségének változásával bizonyítottam a kísérlet első napján. Az eltérés azonban csak az alacsony dózissal terhelt csoportban jelentkezett, azaz nem mutatott dóziszfüggő összefüggést. Ennek oka az lehetett, hogy a mikotoxinok kisebb mennyisége gyorsabban és hatékonyabban szívódott fel a bélcsatornából, a nagyobb dózis hatására azonban feltételezhetően a membráncsatornák telítődése miatt ezek a folyamatok lassabban következtek be. A következő két napban ez a lipidperoxidációs marker a kontroll szintre csökkent, ami az antioxidáns védelem korai aktiválódását jelzi, hatékonyan gátolva a további lipidperoxidációt. Ez az eredmény korai ROS képződésre és lipidperoxidációra utal, főképp a vizsgált mikotoxinoknak az EU javaslati határértékeivel megegyező szennyezési szintek alkalmazásakor. A korai ROS képződés és a lipidek peroxidációja aktiválta az antioxidáns glutation redox rendszert, amit a megnövekedett GSH mennyiség és a GPx aktivitás támasztott alá az

alacsony dózissal terhelt csoportokban a kísérlet első napján. Ezek a változások az alacsony dózisban mikotoxinokkal szennyezett takarmányok etetése során voltak megfigyelhetőek (EU javaslati határértékeket alkalmazva), ami viszont arra utal, hogy az egyes mikotoxinok között szinergista hatás állhat fenn az antioxidáns rendszer aktiválása tekintetében. Ezt támasztják alá az egyedileg alkalmazott mikotoxinokkal végzett kísérletem eredményei is, ahol az EU által megállapított határérték kétszeres mennyiségét alkalmazva a T-2/HT-2 toxin, a DON/3-AcDON/15-AcDON és a FB1 szintén nem növelte a glutation redox rendszer mennyiségét (GSH) vagy aktivitását (GPx).

A *GPX4*, *GSS* és *GSR* gének relatív expressziója szignifikáns mértékben nagyobb volt az első napon mind az alacsony, mind a közepes dózissal terhelt csoportban a kontrollhoz képest. Ez az eredmény arra utal, hogy a *Fusarium* multi-mikotoxin expozíció redox változásokat indukált a sejtekben ROS képződés révén, ami aktiválta az antioxidáns fehérjéket kódoló gének expresszióját. Ezeknek a géneknek fokozott mértékű expressziója azonban nem nyilvánult meg fehérje szinten (GSH és GPx) a közepes dózissal terhelt csoport esetében. Az eredmények alapján időbeli eltolódásra lehet következtetni a gének megnövekedett mértékű expressziója és a GSH és a GPx szintézisére gyakorolt hatás között, amely a fehérjeszintézishez szükséges teljes időtartamot figyelembe véve egyértelműnek tűnik. A génexpressziós vizsgálat eredményei ugyanakkor alátámasztották azt a hipotézist, hogy a kisebb dózisban alkalmazott mikotoxin kombináció hamarabb szívódik fel és éri el a májat, mint a nagyobb mennyiség. Ez lehetett az oka annak, hogy a közepes dózissal kezelt csoportokban annak hatására az első napon csak génexpressziós változásokat lehetett mérni, amely fehérje expresszió szinten még nem jelentkezett. Az antioxidáns enzimek génjeinek expressziója a harmadik napra megnövekedett az alacsony dózisú mikotoxin expozíció következtében, amit a mikotoxinok metabolizációja idézhet elő, mert ennek során további ROS képződés is bekövetkezhetett. Az alkalmazott mikotoxin kombináció sem alacsony, sem közepes dózisban nem aktiválta a Keap1/Nrf2/ARE útvonalat. Ebből arra lehet következtetni, hogy a kialakult oxidatív stressz mértéke nem érte el azt a szintet a májban, amelynek hatására bekövetkezett volna az antioxidáns válaszelem aktivációja a vizsgált időtartam (72 óra) alatt, vagy a hierarchikus oxidatív stressz modell

alapján átlépett egy olyan küszöbértéket, amelynek hatására már nem elsősorban az Nrf2-ARE útvonal aktiválódása következett be.

A változások többsége az alacsony dózissal terhelt csoportban volt megfigyelhető, amiből arra következtethetünk, hogy a 3 napos multi-mikotoxin expozíció során a *Fusarium* mikotoxinok között szinergista hatás van az antioxidáns enzimek génexpressziós szintű aktivációjának, illetve a glutation redox rendszer egyes tagjainak mennyisége/aktivitása tekintetében.

3.3 T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON terhelés rövidtávú együttes hatásának vizsgálata tojóttyúkban

A két trichotecén-vázás fuzáriotoxin együttes hatását is megvizsgáltam a FB1 nélkül a glutation redox rendszer egyes elemeire, valamint a rendszer szabályozásáért felelős gének expressziójára tojóttyúkban. Az oxidatív stressz kialakulásának felmérésére mértem a lipidperoxidációs folyamatok iniciációs és terminációs szakaszának markereit. A kezelésekhöz felhasznált takarmányok mikotoxin tartalmát a 3. táblázatban tüntettem fel a mesterségesen szennyezett takarmány mikotoxin tartalmának laboratóriumi mérési eredményei alapján.

3. táblázat A kísérlet során etetett takarmányok mért mikotoxin tartalma az egyes csoportokban (mg/kg takarmány)

<i>Kísérleti csoport</i>	<i>T-2/HT-2</i>	<i>DON/3-AcDON/15-AcDON</i>	<i>FB1</i>
Kontroll	<0,02	<0,02	<0,02
Alacsony dózis	0,24/0,10	4,68/1,21/0,36	<0,02
Közepes dózis (2x)	0,41/0,21	9,14/0,04/0,11	<0,02

A trichotecén-vázás mikotoxinok, így a T-2 toxin és a DON, közös tulajdonsága, hogy szerkezetükre jellemző az epoxi csoport jelenléte, amely miatt különösen reaktívak, így képesek ROS képződést indukálni. Ugyanakkor kevés rövid távú gazdasági állatokkal végzett kísérlet ismert, amelyekben a trichotecén-vázás mikotoxinokat együtt alkalmazták.

A lipidperoxidációs folyamatok kezdetét jelző markerek mennyisége a multi-mikotoxin terhelés hatására csökkent a kísérlet első napján, amely a későbbiekben közel azonos volt, mint a kontroll értéke. Az itt megfigyelt tendenciák hasonlóak voltak a korábbi, tojóttyúkokkal végzett a mikotoxinokat egyedileg alkalmazott kísérletben tapasztaltakhoz. A lipidperoxidációs folyamatok terminációs szakaszát jelző MDA koncentrációja a 2. napon mutatott nagyobb értéket a kontrollhoz viszonyítva az alacsony dózissal terhelt csoportban. Ennek a változásnak a hátterében a lipidperoxidációs folyamatok fokozódása állhat, amely növelte a MDA tartalmát a 2.

napon már az EU javaslati határértékkel megegyező dózisok alkalmazásánál.

A multi-mikotoxin vizsgálat során a tojótűk májának glutation redox állapotában is mértem változást, amelyet a MDA tartalom növekedésére, azaz a lipidperoxidációra adott antioxidáns válaszként értékeltem. A GSH tartalom szignifikáns mértékben nagyobb volt a kísérlet első két napján a közepes dózis hatására, ahogyan a GPx aktivitás tekintetében is hasonló változás jelentkezett ugyanebben a kísérleti csoportban. A mikotoxin terhelés 72. órájában a kezelt csoportok értékei visszatértek a kontroll csoportban mért szintekre. Az előzőleg bemutatott DON és T-2 toxin egyéni hatásvizsgálatban viszont nem mértem a glutation redox rendszer markereinek változását, emiatt az antioxidáns rendszer aktivációja tekintetében szinergista kölcsönhatásra következtettem.

A glutation redox rendszer szabályozásában a T-2 toxin és a DON terhelés szignifikáns mértékű idézett elő. A *GPX4* génexpressziója csökkent az alacsony dózissal terhelt csoportban az első napon, a 48. órára pedig a *GSS* génexpressziója csökkent mindkét terhelt csoportban. A kísérlet végére viszont az adott gének expressziója már nem mutatott eltérést a kontroll csoporthoz képest a terhelt csoportokban. A korábban elvégzett egyedi mikotoxinokkal végzett kísérletben a T-2/HT-2 toxin hatására a kísérlet végén a *GSS* gén expressziójának növekedését mértem, ennek alapján a kombinációban alkalmazott T-2/HT-2 toxin és DON/3-AcDON/15-AcDON expozíció a *GSS* gén aktivációja tekintetében antagonistá hatásként feltételezhető. A *Keap1* és *Nrf2* gének expressziója az első és második napon azonos mértékben és irányban változott a közepes dózis hatására. A vizsgálat végére viszont fokozott mértékű *Nrf2* génexpressziót mértem, míg a *Keap1* gén esetében nem tapasztaltam eltérést.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a 3 napos *Fusarium* multi-mikotoxin expozíció feltehetően ROS képződést eredményezett, amely együttes hatásaik révén a glutation redox rendszer aktiválásában mutatkozott meg. A második napon kialakult oxidatív stresszt, amely lipidperoxidációs folyamatokat indított el a tojótűk májában a glutation redox rendszer a 3. npra hatékonyan eliminálta.

3.4 T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON és fumonizin B1 terhelés rövidtávú együttes hatásának vizsgálata brojlercsirkében

In vivo modellként brojlercsirkét választottam, mert az Európai Unió baromfihús termelésének legjelentősebb hányadát a vágócsirke teszi ki. Az alkalmazott mikotoxin dózisok megegyeztek az előző kísérletben leírtakkal. A takarmányok mért mikotoxin tartalmát a 4. táblázatban tüntettem fel.

4. táblázat A kísérlet során etetett takarmányok mért mikotoxin tartalma az egyes csoportokban (mg/kg takarmány)

<i>Kísérleti csoport</i>	<i>T-2/HT-2</i>	<i>DON/3-AcDON/15-AcDON</i>	<i>FB1</i>
Kontroll	<0,02	<0,02	<0,02
Alacsony dózis	0,20/0,03	4,07/0,23/0,55	21,44
Közepes dózis (2x)	0,47/0,15	10,68/0,12/1,25	37,78

A brojlercsirkékkel folytatott, 3 napig tartó multi-mikotoxin terheléses kísérlet során dóziszfüggő, kismértékű takarmányvisszautasítást mértem, amely a trichotecén-vázás mikotoxinok jól ismert hatása. Ez a hatás még a FB1-gyel kombinálva is mérhető volt. A lipidperoxidációs folyamatok iniciációs szakaszát jelző CT-ek mennyisége nőtt az első napon az alacsony multi-mikotoxin terhelés hatására. A kísérlet végére azonban ez a kezdetben nagyobb koncentráció már csökkent a kontroll értékekhez képest. Ez az eredmény arra utal, hogy már az első napon lipidperoxidációs folyamatok aktiválódhattak a brojlercsirkék májában, a 3. npra viszont a folyamat során keletkező oxidálódott zsírsavak, valamint a máj membrán lipid-zsír sav összetételének változása miatt csökkent a lipidperoxidáció, feltehetően az oxidációra különösen hajlamos többszörösen telítetlen zsírsavak mennyiségének csökkenése miatt. A lipidperoxidációs folyamatok iniciációs fázisának markereihez hasonló változások voltak kimutathatók a glutation redox rendszer elemeinek változásában is. Az első napon oxidatív stressz alakult ki, amely lipidperoxidációs folyamatokhoz vezetett. Az MDA tartalom ugyanakkor nem változott ebben az időszakban, ami arra utal, hogy a lipidperoxidációs folyamatok feltételezhetően nem jutottak el a terminációs szakaszba, mert az antioxidáns rendszer eliminálta a képződő oxigén szabadgyököket, ezzel megakadályozva láncreakció

kialakulását. A kísérleti időszak végére emellett a megváltozott zsírsav-összetétel miatt feltehetően kevesebb lipid hidroperoxid is termelődött, így a csökkenő oxidatív stressz miatt csökkent a GSH mennyisége, és a GPx aktivitása is.

Szignifikáns mértékű különbségeket tapasztaltam a génexpressziós értékekben is, amely valamennyi vizsgált gén esetén hasonló tendenciát mutatott. A *GPX4* génexpressziója az első napon kisebb volt az alacsony dózissal kezelt csoportban a kontrollhoz viszonyítva, amely a redox állapot megváltozását jelzi a májsejtekben. A *GSS* génexpressziója a kísérlet kezdetén nagyobb volt, de nem az alacsony, hanem a közepes dózissal kezelt csoportban. Peptid (GSH) szinten ugyanakkor nem volt változás. A relatív génexpresszió ezek szerint a közepes dózissal terhelt csoportban is indukálódott, de az oxidatív stressz mértéke ebben a csoportban még nem ért el olyan szintet, amely aktiválta volna az antioxidáns, ezen belül a glutation redox rendszer, általam vizsgált elemeit. A glutation-diszulfid (GSSG) redukciójáért felelős *GSR* gén a 3. napon aktiválódott az alacsony dózissal kezelt csoportban, ugyanakkor ebben az időpontban a GSH tartalom csökkenését mértem, így ez a növekedés a sejt válaszreakciója volt a csökkent GSH tartalomra, de ez a hatás enzim fehérje szinten még nem nyilvánult meg. A *Keap1* és *Nrf2* gének expressziója részben azonos mértékben és irányban változott az alkalmazott dózisok hatására. Az első napon a kezelt csoportokban növekedést, majd a 2. napon csökkenést, a 3. napon pedig ismét emelkedést figyeltem meg. A 2. napon mért csökkenés azonban, ahogy erre a korábbiakban már utaltam, az *Nrf2* gén esetében összefüggésben van a kontroll csoportban mért kiemelkedően nagy értékkel. Amennyiben ettől a változástól eltekintünk, úgy az *Nrf2* gén expressziója tendenciaszerűen és folyamatosan nőtt a mikotoxin-terhelésben részesült csoportokban a kísérlet teljes időtartama alatt. A Keap-1/Nrf2 szabályozási útvonal aktiválódása mindkét mikotoxin dózis esetén kismértékű oxidatív stresszre utal.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a 3 napos *Fusarium* multi-mikotoxin expozíció ROS képződést eredményezett, amelyre mindkét dózissal kezelt csoportban génexpressziós szinten határozott válasz volt kimutatható. A génexpressziós változások azonban nem mutattak összefüggést a GSH mennyiségével és a GPx aktivitásával.

3.5 Emelt dózisú T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON és fumonizin B1 terhelés rövidtávú együttes hatásának vizsgálata brojlercsirkében

A 21 napos brojlercsirkékkel végzett etetéses kísérlet során az Európai Unió által javasolt határértékek négyszeres mennyiségét alkalmaztam annak érdekében, hogy az előző kísérletben tapasztaltaknál nagyobb mértékű változásokat kapjak. A kísérletes szennyezéshez felhasznált takarmányok mikotoxin tartalmát a 5. táblázatban tüntettem fel, a szennyezett takarmány mikotoxin tartalmának laboratóriumi vizsgálati eredményei alapján.

5. táblázat A kísérlet során etetett takarmányok mért mikotoxin tartalma az egyes csoportokban (mg/kg takarmány)

<i>Kísérleti csoport</i>	<i>T-2/HT-2</i>	<i>DON/3-AcDON/15-AcDON</i>	<i>FBI</i>
Kontroll	<0,02	<0,02	<0,02
Alacsony dózis	0,23/0,12	4,56/1,89/0,40	18,59
Magas dózis (4x)	0,78/0,09	18,68/1,05/0,98	75,16

A lipidperoxidációs folyamatok iniciációs szakaszát jelző CD mennyisége a 48. órában szignifikánsan kisebb volt az EU javaslati határértékekkel megegyező dózisok alkalmazásakor a kontroll csoporthoz viszonyítva. Ennek a csökkenésnek a hátterében a mikotoxin terhelés hatására a májszövet lipid-zsírsav összetételében bekövetkező változás állhat. Az MDA koncentrációja a kontrollhoz viszonyítva szintén csökkent a mikotoxinokkal szennyezett takarmány etetését követő 72. órában az alacsony dózissal kezelt csoportban. Ez az eredmény is alátámasztja azt, a CD esetében leírt, feltételezésemet, amely szerint a mikotoxin terhelés dóziszfüggően befolyásolja a májszövet zsírsav-összetételét. Ennek révén befolyásolta a lipidperoxidációs folyamatok intenzitását, 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 GSH mennyisége és a GPx aktivitása nagyobb volt a vérplazmában a magas dózissal terhelt csoportban a kontroll csoporthoz képest a kísérlet végére (72. óra). Ez az eredmény arra utal, hogy a nagyobb

mértékű mikotoxin terhelés hatására mérsékelt oxidatív stressz alakult ki, amelynek hatására aktiválódott a glutation redox rendszer, amely azonban csak a vérplazmában volt kimutatható. A májban ugyanakkor a GSH mennyisége és a GPx aktivitása nem változott, ami arra utal, hogy a multi-mikotoxin terhelés hatására nem alakult ki olyan mértékű oxidatív stressz, amely a májban is kimutatható mértékű változást eredményezett volna.

A *GPX4* gén aktivációjának elmaradása magyarázatot adhat arra, hogy miért nem történt meg a glutation redox rendszer aktivációja fehérje szinten a májban. A *GSS* és a *GSR* génexpressziója azonban emelkedést mutatott a kísérlet 48. órájára az alacsony dózissal terhelt csoportban, amely kismértékű oxidatív stresszre utal. Ez lehet a magyarázata a GSH tartalom nem szignifikáns mértékű változásának a májban, amely a GSH szintézisében és redukciójában szerepet játszó enzimeket kódoló gének expressziója szintjén igen, de fehérje, azaz enzim, szinten már nem jelentkezett. Az alkalmazott mikotoxin kombináció magas dózisban csökkentette a *Keap1* és *Nrf2* génexpresszióját a második napon, a harmadik napra viszont növekedést mértem, de csak az *Nrf2* gén esetében. Ebből arra következtettem, hogy a kísérlet végére a magas dózissal terhelt csoportban kialakult oxidatív stressz mértéke a májban elérte azt a szintet, amelynek hatására bekövetkezett az *Nrf2*-indukált antioxidáns válaszelem aktiváció, ami viszont fehérje szinten még nem volt mérhető a kísérlet rövid időtartama alatt.

4 KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1 Következtetések

Kísérleteimet az egyes mikotoxinok egyedi hatásvizsgálatával kezdtem tojóttyúkokkal a fent említett mikotoxinokkal. A rövid távú (72 óra) etetési kísérletben az EU-ban javasolt maximális mennyiségek kétszeresét alkalmaztam (T-2/HT-2 toxin: 0,5 mg/kg; DON/3-AcDON/15-AcDON: 10 mg/kg; FB1: 40 mg/kg takarmány). Az eredmények főképp a T-2 toxin és a DON hatására mutattak szignifikáns mértékű változást, génexpresszió szinten már az első napon aktiválták az antioxidáns védelmi rendszert, megakadályozva a lipidperoxidációs folyamatok kialakulását. A következő vizsgálatban a három mikotoxint együttesen alkalmaztam és két dózisban vizsgáltam azok hatását: alacsony dózisban (EU javaslati határértékekkel megegyező mennyiségek) és közepes dózisban (a határértékek kétszeres mennyiségei). A lipidperoxidációs és a glutation redox rendszer tagjainak értékeiben a változások többnyire az alacsony dózissal kezelt csoportban voltak megfigyelhetők, amely a mikotoxinok között fennálló szinergista kölcsönhatásra utal. Egy további kísérletben két trichotecén-vázis mikotoxin (T-2 toxin, DON) együttes hatását vizsgáltam tojóttyúkokban. Az alkalmazott dózisok az EU javaslati határértékek egyszeres és kétszeres mennyisége voltak. A három napos expozíció oxidatív stresszt idézett elő tojóttyúkok májában, amire a lipidperoxidációs folyamatok terminációs fázisában keletkező malondialdehid tartalom növekedése alapján lehet következtetni. Az antioxidáns rendszer aktivációja azonban a kialakult oxidatív stresszt hatékonyan semlegesítette.

Egy további kísérletben 21 napos brojlercsirkék oxidatív paramétereit vizsgáltam az előbbi mikotoxin dózisok alkalmazásakor. A génexpresszió szinten kimutatott változások ROS képződésre utalnak, de ez fehérje szinten az elvégzett rövidtávú kísérlet során nem érvényesült. A kismértékű változások miatt egy következő kísérletben nagyobb mikotoxin koncentrációkat alkalmaztam brojlercsirkében: a magas dózissal terhelt csoport az EU javaslati határértékek négyszeres mennyiségű mikotoxin expozícióban részesült. A glutation redox rendszer vizsgált elemeinek értékei, a GSH tartalom és a GPx aktivitás nagy dózissal terhelt hatására a vérplazmában nőttek, de a májban nem változtak. Ennek alapján feltételezhető, hogy nagy dózissal terhelt hatására mérsékelt oxidatív stressz alakult ki, amely azonban a májban még nem érte el az a

kritikus értéket, amely a glutation redox rendszer érdemi aktiválódását váltotta volna ki.

Kísérleteim eredményei alapján a vizsgált mikotoxinok befolyásolták a glutation redox rendszer enzimjeit kódoló egyes gének relatív expresszióját, ez a hatás viszont az általam elvégzett rövidtávú kísérletekben nem jelentkezett a redukált glutation mennyiségének és a glutation-peroxidáz aktivitásának szintjén. A három napos kísérletek alatt az oxidatív stressz kialakulása az alkalmazott dózistól és a terhelési időtől függött, de a keletkező reaktív oxigén szabadgyököket a glutation redox rendszer a vizsgálati időszak végére többnyire semlegesítette. A legtöbb változás multi-mikotoxin terhelés esetén az Európai Unió által javasolt határértékek alkalmazásánál volt mérhető, ezért javasolható a határértékek felülvizsgálata.

4.2 Javaslatok

A T-2/HT-2 toxin, a DON/3-AcDON/15-AcDON és a FB1 rövid távú hatásai baromfi esetében csak részben ismertek, a ROS képződésre gyakorolt hatásuk pedig ellentmondásos. A vizsgált mikotoxinok már az EU javaslati határértékek alkalmazásánál is oxidatív stresszt okoztak a tojótyúkوك szervezetében. A keresztszennyezések gyakorisága miatt egyre fontosabbá válnak az együttesen előforduló mikotoxinok kölcsönhatásának kutatása. Ennek alapján, eddigi eredményeimre alapozva javaslom a kutatások folytatását akár új célgénekkkel együtt, illetve az általam vizsgált gének expressziós változásainak nyomon követését más kémiai szerkezetű mikotoxinok vonatkozásában is.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Az elvégzett kísérletek alapján a következő megállapításokat tettem az alkalmazott dózisok és a vizsgált 24 órás időtartam kapcsán:

1. Tojóttyúkokkal végzett rövidtávú (72 óra) etetési kísérlet során megállapítottam, hogy a T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON és FB1 mikotoxinokat az EU által javasolt határérték mennyiségben együttesen alkalmazva a májban egyes lipidperoxidációs folyamatok indukálódtak, amelyre válaszként aktiválódott glutation redox rendszer, ami azt bizonyítja, hogy oxidatív stressz alakult ki. Az egyes vizsgált mikotoxinok egyedi hatásához képest a multi-mikotoxin hatás kifejezettebb volt, ami szinergista kölcsönhatásra utal.
2. Megállapítottam, hogy tojóttyúkokban vizsgált *Fusarium* toxinok az EU javaslati határérték kétszeres mennyiségének alkalmazása esetén az egyedi hatások eltérőek voltak azok együttes alkalmazásánál tapasztaltaktól.
3. Megállapítottam, hogy T-2/HT-2 toxin és a DON/3-AcDON/15-AcDON együttes hatásai eltérőek voltak attól, ha hármas kombinációt T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON, FB1 alkalmaztam. A mikotoxin kombinációban a FB1 jelenléte felerősítette a két trichotecén-vázás mikotoxin oxidatív stressz generáló hatását tojóttyúokban.
4. Megállapítottam, hogy brojlercsirkében a T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON és FB1 mikotoxinok együttes expozíciójának hatására az *Nrf2* és *Keap1* gének relatív expressziója az EU javaslati határérték egyszeres és kétszeres mennyisége esetén is növekedett, ami mérsékelt oxidatív stressz kialakulására utal.
5. Megállapítottam, hogy T-2/HT-2 toxin, DON/3-AcDON/15-AcDON és FB1 mikotoxinok az EU javaslati értékeinek négyszeres mennyiségének alkalmazásának hatására a brojlercsirkék vérplazmájában nőtt a glutation redox rendszer mennyisége/aktivitása, amelynek háttérében az *Nrf2* gén aktivációja állhat a májban.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK

Tudományos közlemények folyóiratban:

Kulcsár S, Kövesi B, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs, Mézes M. (2020): Együttesen előforduló *Fusarium* mikotoxinok rövidtávú terhelésének hatása a brojlercsirke glutathion redox rendszerére és lipidperoxidációs folyamataira. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 2020. 69. 4.

Kulcsár S, Kövesi B, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs, Balláné M, Mézes M. (2021): Effects of *Fusarium* Mycotoxin Exposure on Lipid Peroxidation and Glutathione Redox System in the Liver of Laying Hens. *Antioxidants (Basel)*. 10(8):1313.

Kulcsár, S.; Kövesi, B.; Balogh, K.; Zándoki, E.; Ancsin, Z.; Erdélyi, M.; Mézes, M. The Co-Occurrence of T-2 Toxin, Deoxynivalenol, and Fumonisin B1 Activated the Glutathione Redox System in the EU-Limiting Doses in Laying Hens. *Toxins* 2023, 15, 305.

Tudományos folyóiratban megjelent konferencia absztraktok:

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E. (2019): The *Fusarium* mycotoxins effect on glutathione system in broiler chicken, *TOXICOLOGY LETTERS* 314 pp. S113-S114. 2 p. /conf. 55th Congress of the European-Societies-of-Toxicology (EUROTOX) - Toxicology - Science Providing Solutions

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Ancsin Zs, Zándoki E, Balogh K. (2021): Short-term effects of some *Fusarium* mycotoxins on the lipid peroxidation processes and the glutathione redox system of broiler chicken, *TOXICOLOGY LETTERS* 350 pp. S183-S184. /conf. 56th Congress of the European-Societies-of-Toxicology (EUROTOX) - Toxicology - Science Providing Solutions

Konferencia kiadványban megjelent közlemények:

Kulcsár Sz, Kövesi B, Miklós M, Balogh K, Zándoki E. (2018): Combined effect of some *Fusarium* mycotoxins on lipid peroxidation and glutathione redox systems in poultry. LX. Georgikon Napok. Keszthely, p. 90 (ISBN 978-963-9639-91-1)

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs, (2018): Egyes *Fusarium* mikotoxinok együttes hatásának vizsgálata a baromfi lipidperoxidációs folyamataira és glutathion rendszerére. Magyar Toxikológusok Társasága TOX'2018 Konferencia, Lillafüred

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E. (2019): Common effect of *Fusarium* mycotoxins on the glutathione-redox system and on lipid peroxidation in broiler chicken. LXI. Georgikon Napok. Keszthely, p. 54 (ISBN 978-963-396-129-2)

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E. (2019): Effect of multi-mycotoxin exposure of Fusarium mycotoxins on glutathione redox system in poultry, 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture: Book of Abstracts, pp. 38 ISSN: 2459-5551

Kulcsár S, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs. (2019) Individual effects of some Fusarium mycotoxins on the lipid peroxidation and glutathione-redox system in poultry; 42st Mycotoxin Workshop, online

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E. (2019): Egyes Fusarium mikotoxinok rövidtávú terhelésének hatása a baromfi glutation rendszerére és annak szabályozására. Magyar Szabadgyök-kutató Társaság X. kongresszusa, Szeged, p. 31

Mézes M, **Kulcsár Sz, Kövesi B, Zándoki E, Balogh K. (2019):** Fusarium mikotoxinok együttes hatásának vizsgálata rövidtávú terhelés során a baromfi glutation redox rendszerére és annak szabályozására, Magyar Toxikológusok Társasága TOX'2019 Konferencia, Szeged, p. 60.

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E. (2019): Három együttesen előforduló Fusarium mikotoxin rövidtávú terhelésének hatása a brojlercsirke lipidperoxidációs folyamataira és glutation rendszerére, Magyar Toxikológusok Társasága TOX'2019 Konferencia, Szeged, p. 108

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E. (2019): Egyes Fusarium mikotoxinok együttes hatásának vizsgálata a baromfi glutation redox rendszerére; XXIII. Tavasz Szél Konferencia 2019, Debrecen

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs. (2020): Individual effects of Fusarium mycotoxins on the glutathione-redox system and lipid peroxidation in poultry. LXII. Georgikon Napok. Keszthely, p. 74 (ISBN 978-963-269-941-7)

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs. (2021) Együttesen előforduló Fusarium mikotoxinok egyedi hatása a baromfi glutation rendszerére és lipidperoxidációs folyamataira; XXIV. Tavasz Szél Konferencia 2021, online

Kulcsár Sz, Kövesi B, Zándoki E, Ancsin Zs, Balogh K, Mézes M. (2022): A T-2/HT-2 toxin és a dezoxinivalenol együttes hatása a lipidperoxidációs és a glutation redox rendszerre baromfiban. Magyar Toxikológusok Társasága TOX'2022 Konferencia, Zalakaros, p. 42

Kulcsár S, Kövesi B, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs, Mézes M. (2022) Combined effect of T-2/HT-2 toxin and deoxynivalenol mycotoxins on poultry lipid peroxidation and glutation redox systems; 43rd Mycotoxin Workshop, Toulouse, Franciaország, Conference Abstracts. p.104

Könyvfejezet

Kulcsár Sz, Kövesi B, Mézes M 2019 Aflatoxins, oxidative stress and regulation of glutathione redox system In: Kintzios, S., Mavrikou, S. (eds.) Aflatoxins: Biochemistry, Toxicology, Public Health, Policies and Modern Methods of Analysis. Hauppauge (NY), USA, Nova Science Publishers, pp. 29-50.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ NEM KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Tudományos közlemények folyóiratban:

Baranyi, M., Porceddu, P. F., Göloncsér, F., **Kulcsár, S.**, Otrókocsi, L., Kittel, Á., Pinna, A., Frau, L., Huleatt, PB., Khoo, ML., Chai CLL., Dunkel, P., Mátyus, P., Morelli, M., Sperlágh, B. (2016): Novel (Hetero) arylalkenyl propargylamine compounds are protective in toxin-induced models of Parkinson's disease. *Molecular neurodegeneration*, 11(1), 1-21.

Pelyhe C, Kövesi B, Zándoki E, Kovács B, Erdélyi M, **Kulcsár S**, Mézes M, Balogh K (2018): Multi-trichothecene mycotoxin exposure activates glutathione-redox system in broiler chicken. *Toxicon*;153:53-57. doi: 10.1016/j.toxicon.2018.08.010

Balogh K, Kövesi B, Zándoki E, **Kulcsár S**, Ancsin Z, Erdélyi M, Dobolyi C, Bata-Vidács I, Inotai K, Szekeres A, Mézes M, Kukolya J (2019): Effect of Sterigmatocystin or Aflatoxin Contaminated Feed on Lipid Peroxidation and Glutathione Redox System and Expression of Glutathione Redox System Regulatory Genes in Broiler Chicken. *Antioxidants (Basel)*. 2019 Jun 28;8(7). pii: E201. doi: 10.3390/antiox8070201.

Kövesi B, **Kulcsár S**, Zándoki E, Szabó-Fodor J, Mézes M, Balogh K, Ancsin Zs, Pelyhe Cs (2020): Short-term effects of deoxynivalenol, T-2 toxin, fumonisin B1 or ochratoxin on lipid peroxidation and glutathione redox system and its regulatory genes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) liver. *Fish Physiol Biochem*. 2020 Jul 2. doi: 10.1007/s10695-020-00845-1.

Mézes M, **Kulcsár S**: Az antibiotikumok felhasználásának takarmánybiztonsági problémái és lehetőségek azok kiváltására. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 2020. 69. 1.

Kövesi B, **Kulcsár S**, Ancsin Zs, Zándoki E, Erdélyi M, Mézes M, Balogh K. (2021): Individual and Combined Effects of Aflatoxin B1 and Sterigmatocystin on Lipid Peroxidation and Glutathione Redox System of Common Carp Liver. *Toxins (Basel)*. 2021 Feb 2;13(2):109. doi: 10.3390/toxins13020109.

Kövesi B, **Kulcsár Sz**, Cserháti M, Erdélyi M, Ancsin Zs, Zándoki E, Mézes M, Balogh K. (2021) : Modification of the effects of aflatoxin B1 on the glutathione system and its regulatory genes by zeolite. Acta Vet Hung. 2021 Mar 24. doi: 10.1556/004.2021.00002.

Konferenciakiadványban megjelent közlemények:

Balogh K, Zándoki E, Ancsin Zs, Kövesi B, **Kulcsár Sz**, Erdélyi M, Mézes M, Dobolyi Cs, Kukolya J, 2019 Aflatoxinnal és szterigmatocisztinnel szennyezett takarmány hatása brojlercsirkék glutation redox és lipidperoxidációs paramétereire. Magyar Szabadgyök-kutató Társaság X. kongresszusa, Szeged, p. 28

Kövesi B, **Kulcsár Sz**, Zándoki E, Mézes M, Balogh K. (2019): Ochratoxin A hatása a glutation-redox rendszerre valamint annak szabályozására brojlercsirkében, Magyar Toxikológusok Társasága TOX'2019 Konferencia, Szeged, p. 120

Kövesi B, **Kulcsár Sz**, Zándoki E, Erdélyi M, Ancsin Zs, Balogh K, Mézes M. (2022): Ochratoxin és a kurkuma hosszú távú hatásainak vizsgálata az antioxidáns rendszer szabályozására brojlercsirkében. Magyar Toxikológusok Társasága TOX'2022 Konferencia, Zalakaros, p. 36

Kövesi B, **Kulcsár Sz**, Zándoki E, Erdélyi M, Ancsin Zs, Balogh K, Mézes M. (2022): Long term effects of ochratoxin and turmeric on the regulation of the antioxidant system in broiler chickens. „FIBOK 2022”: Fialat Biotechnológusok V. Országos Konferenciája, Gödöllő: MATE Genetika és Biotechnológia Intézet (2022) 125 pp. 120, 125

Tóth M, Erdélyi M, Pap T.I, **Kulcsár Sz**, Szabó R. T, Bagó Zs, Gyurcsó G, Kolozi G, Szarka D, Kovács-Weber M. (2022): Talpfekély előfordulásának felmérése hazai brojlercsirke állományban. VIII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap: Előadások és poszterek összefoglaló kötete, Gödöllő, Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem, p. 52

Kulcsár, Sz. Balogh, K. Zándoki, E. Omeralfaroug, A. Szabó, A. Mézes,, M. (2023): Correlation between the effects of individual Fusarium mycotoxins and their metabolites on lipid peroxidation and membrane lipid composition in poultry. 44th Mycotoxin Workshop, 2023. június 5-7. Hannover, Németország

Kulcsár, Sz., Omelfaroug, A., Szabó, A., Balogh, K., Erdélyi, M., Zándoki, E., Mézes, M. (2023): Fusarium mikotoxinok együttes hatása a lipidperoxidációra és ennek összefüggése a zsírsav összetétellel tojójújk májban Magyar Szabadgyökkutató Társaság XII. Kongresszusa, 2023. augusztus 24-25. Agrártudományi Kutatóközpont, Mezőgazdasági Intézet, Martonvásár

Kulcsár, Sz., Omelfaroug, A., Szabó, A., Balogh, K., Zándoki, E., Mézes, M. (2023): Összefüggés az egyes Fusarium mikotoxinok és metabolitjaik

lipidperoxidációra kifejtett hatása, valamint membrán-lipid összetétele között baromfiban. TOX'2023 Tudományos Konferencia, 2023. október 11-13. Sárvár

Könyvfejezet

Kövesi B, **Kulcsár Sz**, Balogh K 2020 Egyes mikotoxinok által előidézett oxidatív stressz és annak hatásai az antioxidáns rendszerre, valamint annak szabályozására pontyban (*Cyprinus carpio* L.) In: Poór P., Mézes M., Blázovics A. (szerk.) Oxidatív stressz és antioxidáns védekezés a növényvilágtól a klinikumig, Budapest, Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság, 146-151.