



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

**TOXIKUS HATÁSÚ GYOMIRTÓSZER-KÉSZÍTMÉNY ÉS
ÖSSZETEVŐINEK VIZSGÁLATA *IN VITRO* KÍSÉRLETI
RENDSZEREKBEN**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Oláh Marianna

Gödöllő

2025

A doktori iskola

Megnevezése: Környezettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Környezettudomány

Vezetője: Csákiné Prof. Dr. Michéli Erika
egyetemi tanár, intézetigazgató,
Magyar Agrár és- Élettudományi Egyetem
Környezettudományi Intézet

Témavezető: Dr. Székács András
egyetemi tanár, kutatóközpont-vezető,
intézetigazgató-helyettes,
Magyar Agrár és- Élettudományi Egyetem
Környezettudományi Intézet,
Agrár-környezettudományi Kutatóközpont

.....

Az iskolavezető jóváhagyása

.....

A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1.	A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK _____	1
2.	ANYAG ÉS MÓDSZER _____	4
3.	EREDMÉNYEK _____	6
4.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK _____	14
5.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK _____	16
6.	AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK _____	19

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

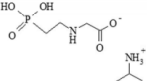
Az elmúlt évtizedekben az ipar és a mezőgazdaság fejlődésével egyre nagyobb mennyiségben állítanak elő különféle nem várt hatásokat is kifejtő vegyi anyagokat. A növényvédőszer-készítmények alkalmazását valamint használatukból eredő humán expozíció lehetőségeit az utóbbi évtizedben összefüggésbe hozták számos toxikus hatással, köztük a rákkeltő hatással is. A kockázatbecslés feladata a veszélyes anyagnak való kitettség következményeként jelentkező, egészséget és környezetet károsító hatás megvalósulási valószínűségének meghatározása és a tudományos ismeretek bővülésével időszakos újraértékelése, tehát a lehetséges veszélyek azonosítása és az expozíciók becslése fontossá vált a növényvédőszer-készítmények kockázatértékelése során. A piacvezető, gyomirtószer, a *glyphosate* (*GLY*) hatóanyag és a *GLY*-alapú gyomirtószer-készítmények (*GBH*-k) jelentős hatást gyakorolnak környezetünkre, és hatással lehet különböző nem célzott szervezetekre. A *GLY* és szermaradékainak jelenléte a különböző környezeti mátrixokban az emberi szervezetek nem szándékos expozícióját is előidézheti. A *GLY* és formázott készítményeinek mellékhatásait (pl. citotoxikus, genotoxikus, apoptotikus hatások) több tanulmányban igazolták már az elmúlt évtizedekben, így a terhelő tudományos eredmények alapján megfogalmazott igen erős kritika következtében a *GLY* (és formázott készítményének, a ROUNDUP CLASSIC [R] készítménynek) beütemezett Európai Uniói regisztrációs felülvizsgálatát többször is elhalasztották. A *GLY* emberi egészségre gyakorolt hatásaival kapcsolatban nincs egységes álláspont, mivel az Egyesült Államok Környezetvédelmi Ügynöksége és az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság a *GLY* hatóanyagot az „emberen valószínűleg nem rákkeltő” anyagok közé sorolta, míg a Nemzetközi Rákkutatási

Ügynökség a „valószínűleg emberre rákkeltő” (2A) anyagok közé sorolta. Jelenleg a GLY 2033. december 15-ig engedélyezett az Európai Unióban.

Vizsgálataim során különböző sejtvonalakon vizsgáltam a GLY hatóanyag, egy GBH és az utóbbiban található felületaktív anyag, a polietoxilált faggyúamin (POE-15) (1. táblázat) életképességre, DNS-károsodásra, apoptózisra és sejtciklusra gyakorolt hatásait.

Munkám során olyan tesztekert választottam, melyek világszerte széles körben elterjedtek és megbízhatóak. A sejtleletképességi vizsgálatot áramlási citométer és 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolium-bromid (MTT) szubsztrátumot alkalmazó teszt (MTT-teszt) segítségével végeztem, míg a genotoxicitást áramlási citométerrel és comet-teszt módszerrel vizsgáltam, majd a vizsgálatokat össze is hasonlítottam egymással. Az apoptózisra és a sejtciklusra gyakorolt hatások vizsgálatát áramlási citometriás módszerrel végeztem.

1.táblázat A vizsgált GLY hatóanyag és GLY-tartalmú növényvédő szer, valamint formázószer összetétele és jellemzői

Hatóanyag megnevezése	CAS szám	Aktív hatóanyag koncentrációja	Szerkezeti képlet	Adalékanyag koncentrációja	Fizikai megjelenés
glyphosate - izopropilammónium-só (GLY-IPA-só)	38641-94-0	62%		—	vízoldható emulzió
		(486 g/l GLY szabad sav)			
Növényvédőszer- készítmény megnevezése	Aktív hatóanyag	Az aktív hatóanyag koncentrációja	Adalékanyagok	Adalékanyag koncentrációja	Formuláció típusa
Roundup Classic	GLY- IPA-só	41,5% (360 g/l GLY szabad sav)	polietoxilált faggyúaminok keveréke (POEA)	15,50%	flyékony vízoldható koncentrátum
Formázóanyag megnevezése	CAS szám	A formázóanyag koncentrációja	A formázóanyag szerkezeti képlete	Adalékanyag koncentrációja	Formuláció típusa
Emulson AG GPE 3SS	POE-15 (CAS 61791-26-2)	100%		—	vízoldható emulzió

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

Szakirodalmi adatok igazolták, hogy a *GLY* hatást gyakorol különféle emlőssejtvonalakra, ezért mi olyan, emlősökből származó sejtvonalakon kívántuk vizsgálni a *GLY*, *R* és *POE-15* hatását, amelyeket az eddigi szakirodalom nem, vagy csak kevésszer említ. Választásunk két egyedi, egérezetű sejtvonalra esett. Nagyfokú érzékenysége miatt választottuk a neuroektodermális NE-4C idegi őssejtvonalat, melynek egyedi sajátossága, hogy hiányzik belőle a funkcionális p53 tumorszupresszor fehérje és idegi differenciációját a retinsav jelentős mértékben indukálja. Másik emlőssejtvonalként az előbbinél valamivel kevésbé érzékeny MC3T3-E1 sejtvonalat választottuk, részint mert ez a sejtvonal is összefüggésbe hozható a retinsavas jelátadási mechanizmussal, részint pedig, mert előzetes megfigyeléseink szerint a *GLY* hatékonyan gátolta ennek a spontán transzformáció útján képződött csontképző prekursor (preoszteoblaszt) sejtnak a felületre történő letapadási képességét, mely végül elvezetett a *GLY* specifikus integringátló hatásának felismeréséhez.

A *GLY* és a *POE-15* vizsgálatokban alkalmazott koncentrációi többféle alakban is megadhatók: az adott reagens tömegkoncentrációjában (pl. g/l), százalékos koncentrációban (pl. g/100 ml), moláris anyagmennyiség-koncentrációban (pl. mol/l, M), illetve a *R* azon hígításában/koncentrációjában, amelyben az adott összetevő az adott koncentrációban van jelen (ez utóbbit neveztem a Roundup Classic készítményre vonatkoztatott ekvivalens koncentrációnak, más néven Roundup-ekvivalens koncentrációnak).

Vizsgálataink során – az MTT-teszt kivételével – a sejteket 6-lyukú sejtenyészítő lemezekre ültettem le, $1,5 \times 10^5$ sejt/lyuk sűrűséggel. A sejtek 24 órás inkubálását követően különböző koncentrációjú *GLY-IPA*-, *R*- vagy

POE-15-kezelést végeztem, MEM vagy α -MEM tápközegben. Az MTT-teszt során az NE-4C és MC3T3-E1 sejteket 5×10^4 sejt/ml koncentrációban, 96-lyukú sejttenyésztő edénybe ültettem, 200 μ l/lyuk mennyiségben. A kezelések időtartama 24 óra volt. A mérési eredmények alapján összehasonlítottuk az alkalmazott sejtvonalak és a különböző vizsgálati módszerek érzékenységét.

3. EREDMÉNYEK

Az MTT vizsgálatok eredményei alapján, a vizsgált vegyületek gátló hatást gyakoroltak a sejtek életképességére, különösen az NE-4C sejtek esetében. A vizsgálatokban kiszámított IC_{50} -értéket a 2. táblázat mutatja be részletesen. Az NE-4C sejtek esetében a *POE-15* citotoxicitása 200-szor magasabbnak bizonyult a hatóanyaghoz képest. Az áramlási citometria eredményei szerint is magasabb citotoxicitás volt megfigyelhető a *POE-15* és a készítmény esetében is a hatóanyag citotoxikus hatásaihoz képest. Az NE-4C sejtek 1,1–2-szer érzékenyebbek voltak az MC3T3-E1 sejtvonalnál az életképességi vizsgálatok alapján.

A genotoxicitási vizsgálatok eredményeiben bevezettük a legalacsonyabb genotoxikus dózis (LGD) értéket tekintettel arra, hogy a genotoxicitási vizsgálatoknál nem tudunk IC_{50} -értéket megállapítani. Az LGD-érték azt a legalacsonyabb dózist jelenti, amelynél a vizsgált anyag pozitív választ indukál a genotoxicitási vizsgálatban. A DNS-károsodások értékelése során a comet-teszt eredményei 2910-szer, illetve 2247-szer magasabb DNS-migrációt jeleztek a *POE-15* esetében, mint a *GLY-IPA*, illetve a R vizsgálata során. Az MC3T3-E1 sejtek kevésbé érzékenyek bizonyultak a DNS-károsító hatásokkal szemben az NE-4C sejtekhez képest. Az MC3T3-E1 sejtek esetében a *POE-15*, R és *GLY-IPA* kezelést követően meghatározott LGD-értékek 271-szer, 120-szor és 3,2-szer magasabbak voltak az NE-4C sejteknél meghatározott értékekhez képest. Vizsgálataink során DNS-károsodást figyeltünk meg a negatív kontrollban is, ami a p53 tumorsuppresszor fehérje hiányával magyarázható az NE-4C sejtvonal esetében. Az NE-4C sejtek vizsgálata során a comet-teszt vizsgálati módszer érzékenyebbnek bizonyult. Az MC3T3-E1 sejtvonal LGD-értékeinek alakulása megfelelt az NE-4C sejtek esetében megfigyelhető tendenciának. A

GLY-IPA és a készítmény hatásaihoz képest a *POE-15* esetében az NE-4C sejtekre 401-szer, az MC3T3-E1 sejtekre 8,4-szer magasabb volt a DNS-károsodás mértéke.

Az apoptózis vizsgálata során, mind az annexinszintek, mind a kaszpáz 3/7-aktivitási mérések alapján igazoltuk a kezelések hatásait. Az NE-4C sejtek esetében a *POE-15* kezelésnél 2,6-szor és 273-szor magasabb volt az apoptotikus sejtek aránya a *GLY-IPA* és R kezelésekhez képest. Az MC3T3-E1 sejtvonalon meghatározott apoptotikus sejtek aránya *POE-15* kezelést követően volt a legmagasabb. A 24-órás kezeléseket követően az elhalt sejtek aránya nőtt, míg az életképes sejtek száma dóziszfüggő módon lecsökkent. Eredményeink alapján a *POE-15* a R-hez képest alacsonyabb koncentrációkban is apoptózist indukált. Az apoptózisra gyakorolt hatások értékelése során alkalmazott vizsgálati módszerek között különbség volt megfigyelhető.

A sejtciklus-analízis alapján elmondható, hogy a negatív kontrollban az NE-4C sejtek többsége (~46%) növekedési (G_0/G_1) fázisban volt a 24-órás expozíciót követően. A vizsgált vegyületek esetében jóval alacsonyabb arány volt megfigyelhető a kontrollhoz képest, és a csökkenés dóziszfüggést mutatott. A DNS-replikáció kezdeti szakaszát (S-fázis) nem befolyásolta a hatóanyaggal történő kezelés, azonban a készítmény és a *POE-15* esetében lecsökkent a sejtek aránya az S-fázisban. A sejtosztódási, G_2/M -fázisban ezzel szemben a sejtarány növekedése volt megfigyelhető a kezeléseket követően, ahol a legnagyobb mértékű növekedést a *GLY-IPA* legalacsonyabb vizsgált koncentrációjánál tapasztaltuk, majd a koncentráció növekedésével a sejtarány fokozatos csökkenését tapasztaltuk. A *GLY-IPA* növelte az NE-4C sejtek arányát, azonban a sejtek növekedése a nem optimális körülmények miatt a G_0/G_1 -fázisban megállt, és a sejtek csak kis része jutott át az ellenőrzőpontra, majd került át az S-, illetve G_2/M -fázisokba, ezért ezekben a

fázisokban a sejtarány alacsonyabb volt a kontrollhoz képest. A negatív kontrollban magasabb sejtarányt (~80%) detektáltunk a G₀/G₁-fázisban az MC3T3-E1 sejtvonal esetében, mint az NE-4C sejteknél. A nyugalmi (G₀) és az első növekedési (G₁) fázisokban a sejtek magas relatív aránya jellemző az MC3T3-E1 sejtek esetében, de a G₀/G₁-fázisban a sejtarány lecsökkent a R és POE-15-kezelt sejtekben. A vizsgált vegyületek az MC3T3-E1 sejtek esetében sem befolyásolták az S-fázisban lévő sejtek arányát, míg a kezeléseket követően a sejtek arányának növekedése volt megfigyelhető a G₂/M-fázisban.

Vizsgálataink eredményénél a toxicitási tendencia minden vizsgálatban a következő volt: *GLY-IPA* << *R* < *POE-15*.

2.táblázat. A GLY, a polietoxilált faggyúamin (POE-15) és a Roundup Classic esetében meghatározott 50%-os gátló koncentráció (IC₅₀) a citotoxicitás és az apoptózis, valamint a legalacsonyabb genotoxikus dózis (LGD)* értékei a genotoxicitási vizsgálatok esetében, az NE-4C és MC3T3-E1 sejtvonalakon.

IC ₅₀ és LGD értékek (Roundup Classic-kal ekvivalens koncentrációban (%)) és µg/ml értékben kifejezve) ^a								
NE-4C ^b								
		GLY-IPA		POE-15		R ^c		
		(%)	(µg/ml)	(%)	(µg/ml)	(%)	GLY-IPA (µg/ml)	POE-15 (µg/ml)
Sejt életképesség								
MTT-teszt		0,652±0,006	3168,72	0,00315±0,00007	5,72	0,00995±0,00010	48,36	18,06
Életképesség vizsgálati készlet (Muse)		0,595±0,009	2891,7	0,00115±0,00007	2,09	0,00469±0,00008	22,79	8,51
DNS károsodás								
Comet-teszt		0,0259	125,87	0,0000089	0,043	0,00002	0,09	0,03
DNS károsodás vizsgálati		0,0376	182,55	0,000295	0,54	0,00117	5,68	2,12
Programozott sejthalál								
Apoptózis vizsgálati készlet		0,246±0,134	1195,56	0,00092±0,00005	1,67	0,00238±0,00003	11,57	4,32
Kaspáz 3/7 vizsgálati készlet (Muse)		0,568±0,043	2760,48	0,00099±0,00002	1,8	0,00748±0,00012	36,35	13,58

MC3T3-E1 ^b							
	GLY-IPA		POE-15		R ^c		
	(%)	(µg/ml)	(%)	(µg/ml)	(%)	GLY-IPA (µg/ml)	POE-15 (µg/ml)
Sejt életképesség							
MTT-teszt	0.7256±0.0068	3526,42	0.00639±0.00003	11,60	0.0101±0.0004	49,09	18,33
Életképesség vizsgálati készlet (Muse)	1.2495±0.0024	6072,57	0.00936±0.00085	16,99	0.0187±0.0007	90,88	33,94
DNS károsodás							
Comet-teszt	1.2624±0.0604	6135,26	0.09686±0.00102	175,82	0.2307±0.0083	1121,20	418,76
DNS károsodás vizsgálati készlet (Muse)	1.8864±0.1121	9167,90	0.02576±0.00047	46,76	0.2091±0.0034	1016,23	379,55
Programozott sejthalál							
Apoptózis vizsgálati készlet (Muse)	0.2731±0.0045	1327,27	0.01169±0.00048	21,22	0.0167±0.0013	81,16	30,31
Kaspáz 3/7 vizsgálati készlet (Muse)	0.6412±0.0339	3116,23	0.00649±0.00012	11,78	0.0073±0.0001	35,48	13,25

* Az LGD-érték az a koncentráció, ahol a genotoxikus hatás megfigyelhető a kontrollkezeléshez képest.

^a A vizsgálati anyagok megfelelő koncentrációját tartalmazó hígított Roundup Classic tömegszázalékos koncentrációja.

^b Sejtvonalak - NE-4C: egy neuroektodermális őssejtvonal, amit egy 9-napos egér embrió agyi vezikulumából izoláltak, melyből hiányzik a funkcionális p53 gén; MC3T3-E1: Mus musculus (egér) koponyából származó csontvelő prekursor sejtvonal.

^c A Roundup Classic-ban a GLY hatóanyag és a formázószer POE-15 százalékos koncentrációi, valamint a hatóanyag és a formázószer tényleges koncentrációi az adott tömeg/térfogat koncentrációban vannak feltüntetve.

A *GLY* és az élelmiszeripari adalékanyagok, illetve élelmiszer-szennyezőként ismert genotoxikus anyagok közötti kapcsolat új megközelítésben mutatja be a felhalmozódott szermaradékokat, különösen az élelmiszerbiztonság és a közegészség szempontjából. Mára a *GLY* vegyületet hatalmas mennyiségben használják gyomirtó szerek hatóanyagaként, így jelenléte a mezőgazdasági termékekben és élelmiszerekben aggodalomra adhat okot, mivel a maradványai potenciálisan bekerülhetnek az élelmiszerláncba. Mind a *GLY*, mind számos élelmiszer-adalékanyag vagy élelmiszer-szennyező anyag (például akrilamid, benzoesav és citromsav) genotoxikus hatásokkal bírnak, amelyek közé tartozik a DNS károsodása és a kromoszómaaberráció. A genotoxikus anyagok által kiváltott DNS-károsodás hozzájárulhat a sejtek rosszindulatú átalakulásához, így ezek az anyagok potenciális rákkeltők lehetnek. A *GLY* elsősorban mezőgazdasági növényekről kerülhet az élelmiszerekbe, míg az adalékanyagok, mint például a benzoesav és a citromsav, közvetlenül az élelmiszer-feldolgozás során jutnak az élelmiszertermékekbe. A humán expozíció szintje befolyásolja a kockázat mértékét. Bár a *GLY* jelenléte az élelmiszerben alacsony szinten is kérdéseket vet fel a hosszú távú egészségügyi hatásokkal kapcsolatban, az adalék- és szennyező anyagokat szigorú szabályozás alatt tartják, hogy minimalizálják a kockázatokat. A *GLY* és az élelmiszer-adalékanyagok, közötti kapcsolat rávilágít arra, hogy a mezőgazdasági vegyszerek és élelmiszer-adalékanyagok maradványainak jelenléte az élelmiszerekben milyen potenciális egészségügyi kockázatokat jelenthet. Az ilyen anyagok genotoxikus hatásai hosszú távon hozzájárulhatnak a rák kockázatának növekedéséhez, és ezért fontos a szigorú szabályozás és a folyamatos kutatás ezekre vonatkozóan. A kitettség minimalizálása érdekében mind a mezőgazdasági gyakorlatokat, mind az élelmiszer-feldolgozási folyamatokat optimalizálni kell, hogy a fogyasztók egészségét megóvják.

Az ökotoxikológiai vizsgálatok gyakorta elsősorban a hatóanyagokra összpontosítanak, miközben az élő szervezetek valós körülmények között összetett növényvédőszer-készítményeknek vannak kitéve. A nem célszervezetekre gyakorolt hatások széleskörűek, ami ellentétben áll azzal a feltételezéssel, hogy a gyomirtó szerek specifikusak és csak a célnövényekre hatnak. Mind a *GLY*, mind a *GBH*-k nem szándékolt mellékhatásokkal járnak számos szárazföldi és vízi fajokra, ilyenek a nem célzott növények, mikroorganizmusok, rovarok, pókok, földigiliszták, különböző vízi gerinctelenek és nem utolsósorban a gerincesek. E negatív hatások; főként az oxidatív stressz, egészségi és egészségkárosító hatású folyamatok megváltozásáról számoltak be, ahol a genotoxikus és citotoxikus hatás is fellelhető.

Az intenzív felhasználás következtében a *GLY* széles körben jelen van a környezetben, és – ahogy korábban is hangsúlyoztam – olykor káros hatást gyakorol a nem célszervezetekre. Emellett bekerülhet az ivóvízbe és az élelmiszerláncba is. Az emberek esetében több egészségügyi problémával, például rákkal és hormonális zavarokkal hozták összefüggésbe, bár ezek hatásainak mértéke továbbra is vitatott. A kutatások folyamatosan zajlanak, miközben egyre több szakmai ajánlás szorgalmazza a *GLY* használatának mérséklését és biztonságosabb alkalmazási szabályozását.

Az értekezésben bemutatott számos bizonyíték arra utal, hogy a *GLY*, illetve a *GBH*-k jelentős hatást gyakorolhatnak a talajlakó és vízi ökoszisztémák nem célzott szervezeteire is. Fizikai-kémiai tulajdonságai révén a *GLY* könnyen eljut a vízi környezetbe. Ugyanígy, a *GLY* és a *GBH*-k többféle káros hatása a szárazföldi ökoszisztémák esetében is egyre több kutatási eredménnyel alátámasztott. A vízi növényi és állati szervezetekkel végzett vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy a *GBH*-k egyik fő toxikus hatásmechanizmusa az oxidatív stressz, amely szorosan összefügg az általunk

vizsgált apoptotikus folyamatokkal, DNS-károsodással és citotoxicitással is. Mivel ezek a hatások sejtszinten zajlanak, az *in vitro* vizsgálatok kulcsfontosságúak a pontos mechanizmusok feltárásához.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A három vizsgálati anyagra vonatkozóan mindkét életképességi módszernél hasonló nagyságrendű arányokat, de az MC3T3-E1 sejtvonal esetében magasabb értékeket mértem, mint az NE-4C sejtvonalnál. Ugyanakkor megállapítottam, hogy az NE-4C sejtvonal érzékenyebbnek mutatkozott az áramlási citométeres vizsgálatban, hiszen az MTT-teszt eredményei 91%, 36% és 47%-kal (átlagosan $58\% \pm 29\%$ -kal) magasabbak, mint az áramlási citométerrel mért értékek. Az MC3T3-E1 sejtvonal esetében fordított összefüggést állapítottam meg, hiszen a sejtvonal az MTT tesztben bizonyult érzékenyebbnek 58%, 68% és 54%-kal (átlagosan $60\% \pm 7\%$ -kal) az áramlási citométerrel mért értékeknél.

2. A genotoxicitási vizsgálataink LGD-értékei alapján az NE-4C sejtvonal átlagosan két nagyságrenddel érzékenyebbnek bizonyult a comet-tesztben az MC3T3-E1 sejtvonalnál, mely egyértelműen a p53 tumorszupresszor fehérje és ezáltal a DNS-károsodásokat javító mechanizmusok hiányából ered az előbbi sejtvonalban. Az MC3T3-E1 sejtvonal esetében a DNS-károsodást vizsgáló áramlási citometriás vizsgálati készlet eredményezett érzékenyebb kimutatást, ahol az LGD-értékek 44%, 3% és 35%-át (átlagosan $27\% \pm 22\%$ -kal) voltak alacsonyabbak a comet-teszthez képest.

3. Az NE-4C sejtvonal esetében átlagban 55%-kal érzékenyebb volt, az apoptózis vizsgálat, mely az összes apoptotikus sejtet határozta meg, a kaszpáz 3/7 vizsgálati készlethez képest, mely az apoptotikus és halott sejteket detektálta. Vizsgálatomból megállapítható, hogy az NE-4C sejtvonal a *POE*-

15 esetében átlagban 9-szer érzékenyebben reagált mindkét apoptózis vizsgálatra az MC3T3-E1 sejtvonalhoz képest.

4. Az NE-4C sejtek sejtciklus vizsgálata során a *GLY-IPA* kezelés hatására, a sejtek a G_0/G_1 -fázisban maradnak, hiszen nem érzékelnek optimális körülményeket a növekedéshez és el sem érik az első restrikciós pontot, meglepő módon a legalacsonyabb koncentrációnál a legmagasabb a G_0/G_1 -fázisban lévő sejtek aránya, ahol szignifikáns különbséget mutattunk ki a kontroll kezeléshez képest ($p < 0,05$). R- és a *POE-15*-kezelés hatására a G_0/G_1 -fázisban lévő sejtek aránya csökken monoton dóziszfüggő módon 0,0007-0,0026% (Roundup Classic-ekvivalens koncentrációban). A R-kezelésnél a legkisebb koncentráció kivételével és a *POE-15*-kezelésnél szignifikáns különbséget ($p < 0,001$) mutattam ki az S és a G_2/M -fázisban a kontrollhoz képest. MC3T3-E1 sejtek sejtciklus vizsgálata során a kontrollban a G_0/G_1 -fázisban tartozkodó sejtek aránya átlagban 57 %-kal magasabb, mint az NE-4C esetében, ez az arány a kezelések hatására csökken. Az S-fázisban lévő sejtek arányát nem befolyásolta a kezelés, míg a G_2/M -fázisban lévő sejtek aránya növekszik a 24-órás kezelést követően.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A vizsgálatok során szerzett adatokból világosan kirajzolódott, hogy a különböző módszerek különböző érzékenységgel és információtartalommal bírnak. Az MTT-teszt az általános sejtműködés, míg az áramlási citometria a részletesebb sejtfiziológiai paraméterek vizsgálatára alkalmas. A comet-teszt előnye a vizuális információ, az áramlási citometriás DNS-vizsgálat pedig a kvantitatív és objektív adatszerzés. A kombinált vizsgálatok azt is megmutatták, hogy egyes sejtvonalak eltérő érzékenységgel reagálnak ugyanazon vegyületekre. Ez különösen fontos volt a *POE-15* toxikus hatásainak vizsgálatakor, mivel az eredmények azt mutatták, hogy ez a vegyület önmagában is nagyságrendekkel toxikusabb, mint a *GLY-IPA* önmagában.

Általánosságban a dolgozatomban felhasznált vizsgálati anyagokról (*GLY-IPA*, *R* és *POE-15*) elmondható, hogy mindegyik vizsgálatban gátló hatást mutattak a kontroll kezelésekhez képest, ezek mértéke eltérő volt, melyet az eredményekben ki is fejtettem. Vizsgálatainkban a legnagyobb gátló hatást a *POE-15* idézett elő, ez egyáltalán nem meglepő, hiszen 2016-ban azokat a *GLY*-tartalmú készítményeket betiltották az EU-ban, amelyek *POE-15* formázószert tartalmaztak, ami jelentős lépés volt a növényvédő szerek biztonságosabbá tétele érdekében.

A *GLY* és a nyirokrendszer sejteit érintő non-Hodgkin limfóma (NHL) közötti kapcsolat az egyik legvitatottabb kérdés a *GLY* biztonságosságával kapcsolatban. Az évek során számos tanulmány vizsgálta ezt a lehetséges összefüggést, és míg néhány kutatás azt sugallja, hogy a *GLY* expozíció növelheti a non-Hodgkin limfóma kockázatát, más tanulmányok nem találtak erre meggyőző bizonyítékot. A Nemzetközi Rákkutatási Ügynökség (IARC) különösen hangsúlyozta, hogy a mezőgazdasági

munkások körében nagyobb a betegség kockázata, mivel ők hosszú távon és nagyobb mennyiségben vannak kitéve a vegyszereknek. Ezeknek a fényében a bemutatott vizsgálataimból több megállapítás is levonható, a R és a *POE-15* toxikusabb, mint a *GLY-IPA* mindkét vizsgált egérsejtvonalra, a neuroektodermális, őssejttípusú NE-4C sejtekre és az MC3T3-E1 preoszteoblaszt sejtekre egyaránt. A két sejtvonal minden kísérletünkben jellegzetes különbségeket mutatott, mivel vizsgálataimban az NE-4C sejtek legalább 2,5-szer érzékenyebbnek bizonyultak a vizsgált anyagokkal szemben. A *GLY* és az élelmiszer-adalékanyagok közötti összefüggés rávilágít arra, hogy a mezőgazdasági vegyszerek és az élelmiszer-adalékanyagok maradványainak jelenléte az élelmiszerekben jelentős egészségügyi kockázatot hordozhat. Ezen anyagok genotoxikus hatása hozzájárulhat a daganatos megbetegedések kialakulásának kockázatához, így elengedhetetlen a szigorú szabályozás és a folyamatos kutatási tevékenység. Az expozíció csökkentése érdekében nemcsak a mezőgazdasági gyakorlatoknak kell változniuk, hanem az élelmiszer-feldolgozási folyamatokat optimalizálni kell, úgy, hogy a fogyasztók egészsége is védve legyen. A kutatások arra is rámutattak, hogy a különböző élelmiszer-adalékanyagok szinergens hatással lehetnek a *GLY*-re, ami még nagyobb egészségügyi problémákat okozhat. A modern élelmiszeriparban alkalmazott technológiák szintén hozzájárulhatnak az ilyen anyagok jelenlétéhez, ezért a gyártási folyamatok újraértékelése is szükséges lehet. Az élelmiszerbiztonság terén dolgozó szakemberek egyetértenek abban, hogy a fogyasztók hosszú távú egészségének védelme érdekében a szabályozásnak lépést kell tartania a tudományos felfedezésekkel. Fontos szempont, hogy alternatív megoldások is rendelkezésre álljanak, mint például a biogazdálkodás elterjedése, amely csökkentheti a vegyi anyagok használatát. Összességében a *GLY* és az élelmiszer-adalékanyagok kérdése globális probléma, amely alapos vizsgálatot és hatékony intézkedéseket

igényel. A fogyasztók tudatosabb döntései, a fenntartható mezőgazdasági gyakorlatok elterjedése és a folyamatos kutatási eredmények segíthetnek minimalizálni a kockázatokat. A dolgozatomban elvégzett vizsgálatokkal és leírt eredményekkel is ehhez szeretnék hozzájárulni.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

1. TUDOMÁNYOS FOLYÓIRATCIKKEK:

a) *Idegen nyelvű, lektorált tudományos folyóiratban megjelent*

- Klátyik, S., Simon, G., Takács, E., **Oláh, M.**, Zaller, J. G., Antoniou, M. N., Benbrook, C., Mesnage, R., Székács, A. (2025). Toxicological concerns regarding glyphosate, its formulations, and co-formulants as environmental pollutants: a review of published studies from 2010 to 2025. *Archives of Toxicology*. doi:10.1007/s00204-025-04076-2, D1, IF: 4,8
- Najam, M., Javaid, S., Iram, S., Pasertsakoun, K., **Oláh, M.**, Székács, A., Aleksza, L. (2025). Microbial biodegradation of synthetic polyethylene and polyurethane polymers by pedospheric microbes: towards sustainable environmental management. *Polymers*, 17(2), 169. doi:10.3390/polym17020169, Q1, IF: 4,1
- Klátyik, Sz., Simon, G., **Oláh, M.**, Mesnage, R., Antoniou, M. N., Zaller, J. G., Székács, A. (2024) Aquatic ecotoxicity of glyphosate, its formulations, and co-formulants: evidence from 2010-2023. *Environmental Sciences Europe*, 36: 22. doi:10.1186/s12302-024-00849-1, Q1, IF: 5,481
- Klátyik, Sz., Simon, G., **Oláh, M.**, Mesnage, R., Antoniou, M. N., Zaller, J. G., Székács, A. (2023) Terrestrial ecotoxicity of glyphosate, its formulations, and co-formulants: evidence from 2010–2023. *Environmental Sciences Europe*, 35: 51. doi:10.1186/s12302-023-00758-9, Q1, IF: 5,481
- Oláh, M.**, Farkas, E., Székács, I., Horvath, R., Székács, A. (2022) Cytotoxic effects of Roundup Classic and its components on NE-4C and MC3T3-E1 cell lines determined by biochemical and flow cytometric assays. *Toxicology Reports*, 9: 914-926. doi:10.1016/j.toxrep.2022.04.014, Q2
- Farkas, E., Szekacs, A., Kovacs, B., **Oláh, M.**, Horvath, R., Szekacs, I. (2018) Label-free optical biosensor for real-time monitoring the cytotoxicity of xenobiotics: a proof of principle study on glyphosate. *Journal of Hazardous Materials*, 351: 80-89. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.02.045, D1, IF:6,7
- Klátyik, Sz., Darvas, B., **Oláh, M.**, Mörtl, M., Takács, E., Székács, A. (2017) Pesticide residues in spice paprika and their effects on environmental and food safety. *Journal of Food and Nutrition Research*, 56(3): 201-218. (ISSN 1336-8672), Q3, IF: 0,687

b) *Idegen nyelvű, nem impakt faktoros folyóiratban Külföldi kiadású*

- Kónya, É., Szabó, E., Bata-Vidács, I., Deák, T., **Ottucsák, M.**, Adányi, N., Székács, A. (2016) Quality management in spice paprika production as a synergy of internal and external quality measures. *Intl. J. Biol. Biomol. Agric. Food Biotech. Engineer.*, 10(3), 160-166.

Klátyik, Sz., Darvas, B., Mörtl, M., **Ottucsák, M.**, Takács, E., Bánáti, H., Simon, L., Gyurcsó, G., Székács, A. (2016) Food safety aspects of pesticide residues in spice paprika. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, **10**(3), 156-159.

c) *Magyar nyelvű, nem impakt faktoros hazai folyóiratban*

Oláh, M., Farkas, E., Székács, I., Horvath, R., Klátyik, Sz., Székács, A. (2022) A Roundup Classic gyomirtó szer és összetevői citotoxikus hatásainak vizsgálata *Ökotoxikológia* 4(3-4.), 54-60.

Gémes, B., Klátyik, Sz., **Oláh, M.**, Takács, E., Gyurcsó, G., Krifaton, Cs., Darvas, B., Székács, A. (2022), Összegző áttekintés a glyphosate biokémiai és ökotoxikológiai hatásainak kimutatására végzett in vitro és in vivo vizsgálatainkról. *Ökotoxikológia* 4(3-4), 67-74.

Oláh, M., Farkas, E., Székács, I., Horvath, R., Székács, A. (2021) A Roundup Classic és összetevőinek citotoxikus és genotoxikus hatásai NE-4C és MC3T3-E1 sejtvonalakon *Ökotoxikológia* 3(2) 18-19.

Darvas, B., Varga, Cs., Gyurcsó, G., Takács, E., Klátyik, Sz., **Oláh, M.**, Mörtl, M. és Székács, A. (2017) Hormonmodulánsok a környezetünk-ben. *bioKontroll* 8(2), 4-34.

Ottucsák, M., Kocsis, Zs., Tarnóczai, T., Marcsek, Z., Major, J. (2015) Ösztrogénreceptorra ható vegyületek vizsgálata in vitro rendszerben, *Egészségtudomány*, LIX. (2)92.

Ottucsák, M., Kocsis, Zs., Tarnóczai, T., Kelemen, K., Marcsek, Z., Major, J. (2014) Ösztrogén receptor transzkripció aktivációs vizsgálat a HeLa9903 sejtvonalon, az OECD TG 455 alapján, GLP rendszerben *bioKontroll* 5. évfolyam 2. Szám 75-76.

2. KONFERENCIA-ÖSSZEFOGLALÓK:

a) *Nemzetközi konferencia-összefoglalók:*

Oláh, M., Farkas, E., Székács, I., Horvath, R., Székács, A. (2022) Detailed cytotoxicity assessment of the formulated herbicide Roundup classic and its constituents. *Proceedings of the 28th International Symposium on Analytical and Environmental Problems* (Szeged, Hungary), 269-273.

Gémes, B., Klátyik, Sz., **Oláh, M.**, Takács, E., Krifaton, Cs., Székács, A. (2022) *In vivo* and *In vitro* tests for the detection of biochemical and ecotoxicological effects of the herbicide active ingredient glyphosate. *Proceedings of the 28th International Symposium on Analytical and Environmental Problems* (Szeged, Hungary), 152-156.

Kotlan, B., Liszkey, G., Csuka, O., Toth, J., **Oláh, M.**, Kasler, M., Szekacs, A., (2017) Reduced tumor-associated glycosphingolipids in cell membrane lipid rafts and a diminished proliferation rate in mammary breast carcinoma cultures after incubation with glyphosate-based formulations, In: Society, for

Immunotherapy of Cancer (szerk.) SITC 2017 Abstract Book: 238-239
(konferencia, absztrakt)

Ottucsák, M., Klátyik, Sz., Gyurcsó, G., Mörtl, M., Darvas, B., Székács, A. (2015) Environmental monitoring of glyphosate and assessment of its combined cytotoxicity with adjuvants. *Proceedings of the 21st International Symposium on Analytical and Environmental Problems* (Szeged, Hungary), 64-67.

b) hazai konferencia-összefoglalók:

Klátyik, Sz. Simon, G., **Oláh, M.**, Takács, E., Robin, M., Michael, A., Johann, G. Z., Székács A. (2023) A *glyphosate* ökotoxikológiai megítélése az elmúlt évtized eredményei alapján. *XIII. Ökotoxikológiai Konferencia* (Darvas B. szerk.), ISBN 978-963-89452-8-0, 63-64.

Oláh, M., Farkas, E., Székács, I., Horvath, R., Klátyik, Sz., Székács, A. (2022) A Roundup Classic gyomirtó szer és összetevői citotoxikus hatásainak vizsgálata, *XII. Ökotoxikológiai Konferencia* (Darvas B. szerk.), ISBN 978-963-89452-8-0 54-60.

Oláh, M., Takács, E., Kocsis, Zs., Darvas, B., Székács, A. (2017) *Glyphosate*-tartalmú készítmények hatása sejtvonalakon. *Abs. VII. Ökotoxikológiai Konferencia* (Darvas B. szerk.), ISBN 978-963-89452-8-0, 29-30.

Gyurcsó, G., Simon, L., Bohus, P., Mörtl, M., Takács, E., **Oláh, M.**, Fejes, Á., Székács, A., Darvas, B. (2017) *Glyphosate* és formázó anyagainak hatása a *Danio rerio* embrionális fejlődésére. *Abs. VII. Ökotoxikológiai Konferencia* (Darvas B. szerk.), ISBN 978-963-89452-8-0, 15-16.

Ottucsák, M., Mörtl, M., Székács, A., Darvas, B. (2016) Ökológiai termesztésű és vegyszeres növényvédelmet alkalmazó paprikatermesztési területekről származó termény- és környezeti minták vizsgálata. *Abs. VI. Ökotoxikológiai Konferencia* (Darvas B. szerk.) ISBN 978-963-89452-6-6, 28-29.

Ottucsák, M., Kocsis, Zs., Bíró, A., Tolnai, Á., Darvas, B., Székács, A. (2016) A comet-assay alkalmazhatósága növényvédőszer-hatóanyag, -készítmény és formázó anyag toxicitásvizsgálatában. *Abs. VI. Ökotoxikológiai Konferencia* (Darvas B. szerk.), ISBN 978-963-89452-6-6, 27-28.

Ottucsák, M., Takács, E., Klátyik, Sz., Darvas, B., Székács, A. (2015) A környezet- és élelmiszer-biztonsági kockázatok súlyozása a *glyphosate* gyomirtó-hatóanyag és adjuvánsai példáján, *Abs. V. Ökotoxikológiai Konferencia* (Darvas B. szerk.) 28-29. ISBN 978-963-89452-5-9

Összesített impakt faktor: 27,249