



A fumonizin B₁ sejtmembrán károsító hatásának vizsgálata emlősökben



**Szabó András^{1,2}, Fébel Hedvig³, Omeralfaroug Ali², Mézes Miklós⁴,
Balogh Krisztián⁴, Kovács Melinda^{1,2}**

¹ MTA-KE-SzIE Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, Kaposvár, Guba
S. u. 40., 7400.

² Kaposvári Egyetem, Agrár- és Környezettudományi Kar, Kaposvár, Guba S. u. 40.,
7400.

³ NAIK - Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet, Herceghalom,
Gesztenyés u. 1., 2053.

⁴ Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Takarmányozástani Tanszék, Gödöllő, Páter K. u. 1., 2100.

TOX'2019 Tudományos Konferencia

2019.10.09.

Szeged

Felszívódás, metabolizmus, kiürülés

Felszívódás: 3-6%

Gyors eloszlás és elimináció.

Akkumuláció: májban < vese (50% FB₁, 20% PHFB₁, 30% AP₁)

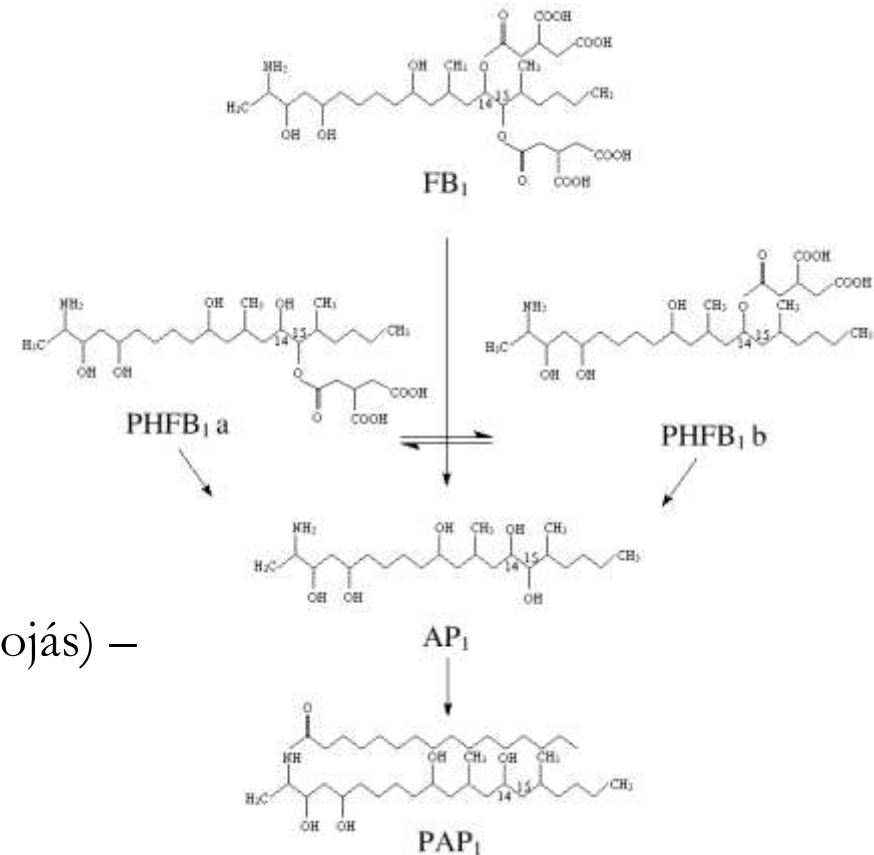
Metabolizáció: máj, emésztőkészülék.

Kiürülés:

- bélsár 68% (40% FB₁, 60% hidrolizált)
(mikrobiális hidrolízis !)

- vizelet 1,5% (65% FB₁, 35% hidrolizált)

Állati termékek (tej, baromfi és sertéshús, tojás) –
nincs maradvány.



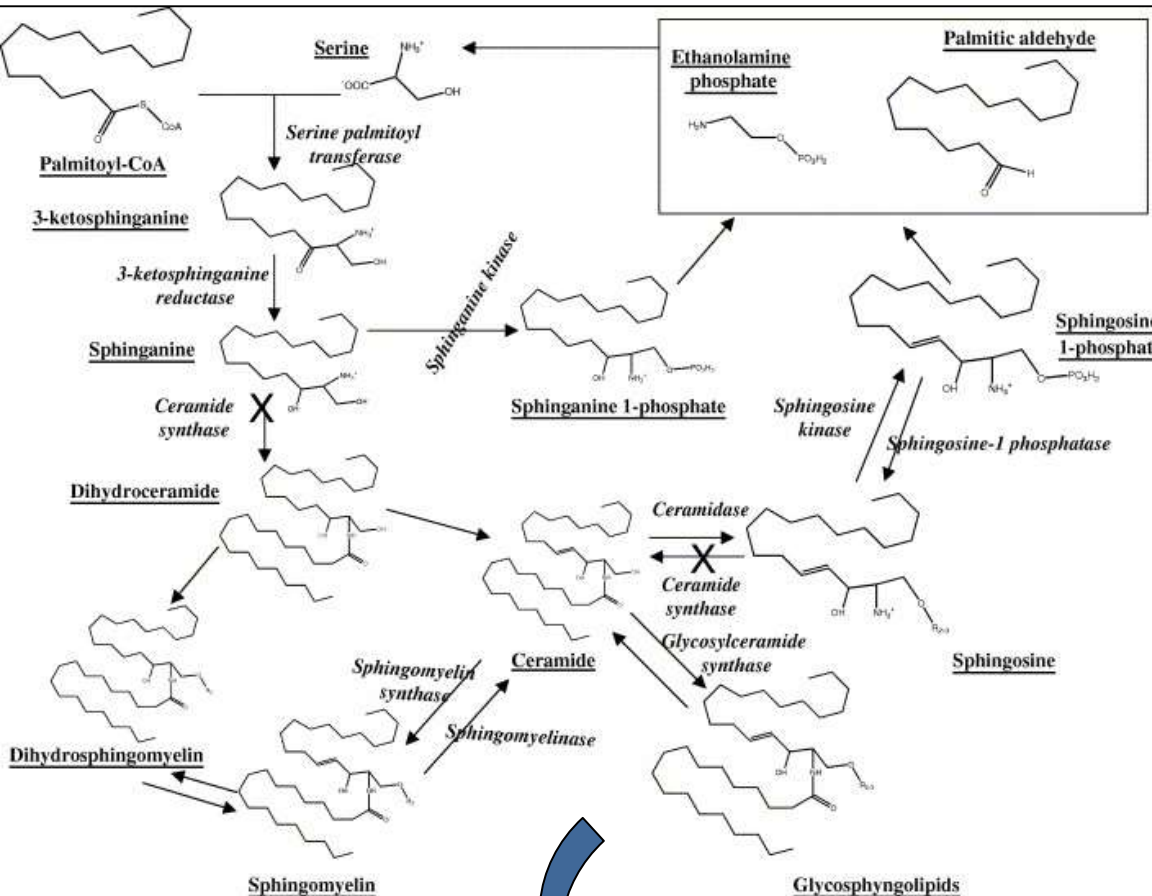
„Fumonizin paradoxon”

Az alacsony fokú felszívódás ellenére súlyos elváltozásokat okoz.

- ismeretlen társ-szennyező toxin hatása;
- dózis-függő hatás (alacsonyabb dózisban jobb biológiai hasznosulás);
- aktív metabolitokká való átalakulás (szintén dózis-függő);
- akkumuláció;
- FB₁ származékok jobb felszívódása (majd ezek átalakulása FB₁-é, illetve metabolitjává).

(Shier, 2000)

A szfingolipidek anyagcseréje - A FB₁ hatásmechanizmusa



A szfinganin szerkezeti analógja.

Specifikus gátlója a ceramid szintetáz enzim-nek.

X – FB₁ által kifejtett gátlás

Komplex szfingolipidek hiánya, a citotoxikus szfinganin akkumulációja.

A foszfolipidek és a többszörösen telítetlen zsírsavak metabolizmusának megváltozása.

Soriano et al.: Progress in Lipid Research, 2005. 44:6. 345–356.

Protein kináz aktivitás, sejt növekedés és differenciálódás, apoptózis, carcinogenitás és lipidperoxidáció

A fumonizin B₁ által előidézett főbb kórképek



Agylágyulás (equine leukoencephalomalacia, ELEM)

(*Kellerman et al., 1990*)

Nyelőcsőrák (oesophageal cancer, OC)

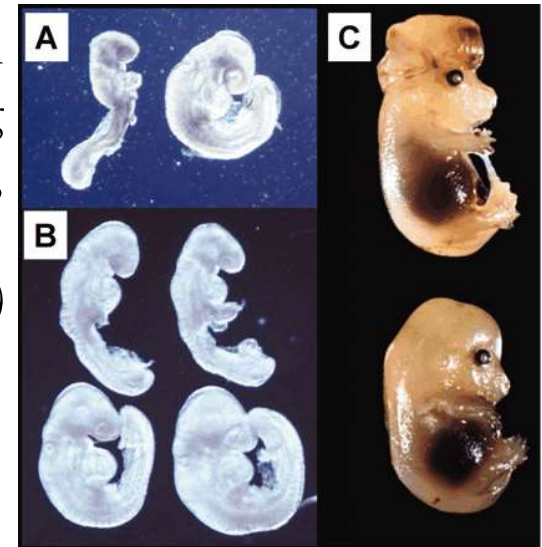
(*Rheeder et al., 1992*)



Tüdőödéma (porcine pulmonary edema, PPE) (*Harrison et al., 1990*)

Idegcső záródási rendellenesség (neural tube defect, NTD)

(*Marasas et al., 2004*)



A gyakorlatban tapasztalt elváltozások

Sertés

Tüdővizenyő, mellvízkór, tüdőfibrózis (PPE)

Cardiovasculáris problémák

Májkárosodás

Nyelőcsőgyulladás, gyomorfekély

5-20 ppm

LOAEL: 0,2 mg/testsúly kg/nap



Baromfi

Csökkent súlygyarapodás és romló FCR

Májkárosodás

Immunszuppresszív hatás

50-600 ppm

LOAEL: 2 mg/testsúly kg/nap



Kérődzők

Csökkent takarmányfelvétel és tejtermelés

Máj- és vesekárosodás

20-150 ppm

NOAEL (borjú): 0,6 mg/testsúly kg/nap

LOAEL (szm): 2,4 mg/testsúly kg/nap



A gyakorlatban tapasztalt tünetek

Ló

ELEM (10 ppm)

Cardiovasculáris problémák

Vese- és májkárosodás

NOAEL: 0,01mg/testsúly kg



Nyúl

LEM, vérzések az agyban

Vesekárosodás



Hal

Harcsa (súlycsökkenés, májkárosodás, csökkent immunválasz, módosult vérkép)

20-700 ppm

Ponty (máj, vese, agyvelő, szív) 10 ppm

NOEL (harcsa, nílusi tilápia) 20 ppm



Interakció a FB₁ és más mikotoxinok között

FB₁ & T-2 (Grenier és Oswald, 2011)

-Termelési paraméterek: **additív**.

-Májkárosodás: szinergizmus / antagonizmus (!)

FB₁ & DON (Grenier és Oswald, 2011)

-Termelési paraméterek: szinergizmus / kisebb mint additív / nincs interakció.

-Immunválasz: kisebb mint additív / antagonista.

MTA-KE-SzIE Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport

Saját eredmények rágcsálók esetében

Rövidtávú kezelés patkányon: akut hatás.

Multitoxin hatás patkányon: interakciók elemzése.

Dózis és expozíciós idő függés vizsgálata patkányon.

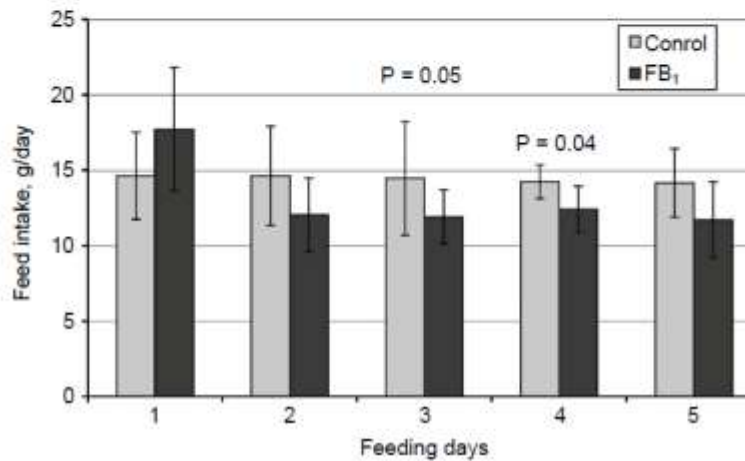
Hematotoxikus hatás és két toxin interakciója, nyúlban.

Patkány, 50 ppm, 5 nap



Somatic traits	Control group (mean ± SEM)	Fumonisin B ₁ (mean ± SEM)	P (t-test)
Initial body weight, g	210.4 ± 12.4	242.3 ± 10.0	NS
Final body weight, g	217.3 ± 13.1	223.7 ± 23.0	NS
Liver, g →	6.16 ± 0.30	7.50 ± 0.74	0.004
Kidneys, g	1.46 ± 0.15	1.67 ± 0.19	NS
Relative liver weight, %	2.85 ± 0.29	3.83 ± 0.45	0.049
Relative kidney weight, %	0.67 ± 0.10	0.75 ± 0.11	NS
Body weight gain, g →	6.92 ± 2.55	-18.6 ± 24.8	0.05

NS = not significant



Fatty acid composition of hepatic phospholipids	Control group (mean ± SEM)	Group fed fumonisin B ₁ (mean ± SEM)	Difference P (ANOVA)
C14:0	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.09	NS
C15:0	0.21 ± 0.04	0.17 ± 0.06	NS
C16:0	16.3 ± 7.60	19.6 ± 3.68	NS
C16:1 n7	1.09 ± 0.15	0.97 ± 0.47	NS
C17:0 →	0.53 ± 0.10	0.41 ± 0.02	0.017
C18:0	19.1 ± 1.58	19.6 ± 2.85	NS
C18:1 n9	5.40 ± 0.76	4.39 ± 0.76	NS
C18:2 n6	14.2 ± 2.18	14.00 ± 1.55	NS
C18:3 n3 →	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.038
C20:1 n9	0.10 ± 0.03	0.10 ± 0.02	NS
C20:2 n6	0.53 ± 0.07	0.32 ± 0.20	NS
C20:3 n6	1.25 ± 0.15	0.91 ± 0.35	NS
C20:4 n6	31.4 ± 2.49	31.8 ± 1.84	NS
C22:5 n3 →	1.09 ± 0.20	0.75 ± 0.23	0.032
C22:6 n3 →	8.33 ± 0.75	6.67 ± 1.19	0.025
Σ saturated	36.5 ± 6.10	40.1 ± 1.70	NS
Σ unsaturated	63.5 ± 6.07	59.9 ± 1.74	NS
Σ monoenoic	6.56 ± 0.81	5.41 ± 1.20	NS
Σ polyenoic	57.0 ± 5.38	54.5 ± 2.17	NS
Σ n3 →	9.54 ± 0.92	7.52 ± 1.33	0.019
Σ n6	47.4 ± 4.72	47.0 ± 1.09	NS
Σ n6 / Σ n3	4.99 ± 0.40	6.43 ± 1.28	0.039
UI	220.8 ± 19.2	207.4 ± 12.8	NS
ACL	18.66 ± 0.23	18.52 ± 0.17	NS

Hepatic antioxidant parameters	Control group (mean ± SEM)	Group fed fumonisin B ₁ (mean ± SEM)	Difference* P (ANOVA)
GSH (micromoles/g protein)	3.90 ± 0.26	3.76 ± 0.12	0.045
GPX (IU/g protein)	2.97 ± 0.32	2.87 ± 0.09	NS
MDA (micromoles/g)	15.4 ± 1.66	18.71 ± 1.37	0.06
Conjugated dienes (ABS 232 nm)	0.25 ± 0.005	0.22 ± 0.004	0.007
Conjugated trienes (ABS 268 nm)	0.12 ± 0.003	0.11 ± 0.002	0.008

NS = not significant; UI = unsaturation index; ACL = average fatty acyl chain length

Patkány, 14 nap, multitoxin kezelés (FB₁, DON, ZEA)

(ZEA; 15 µg/állat/nap), (DON; 30 µg/állat/nap), (FB₁; 150 µg/állat/nap)

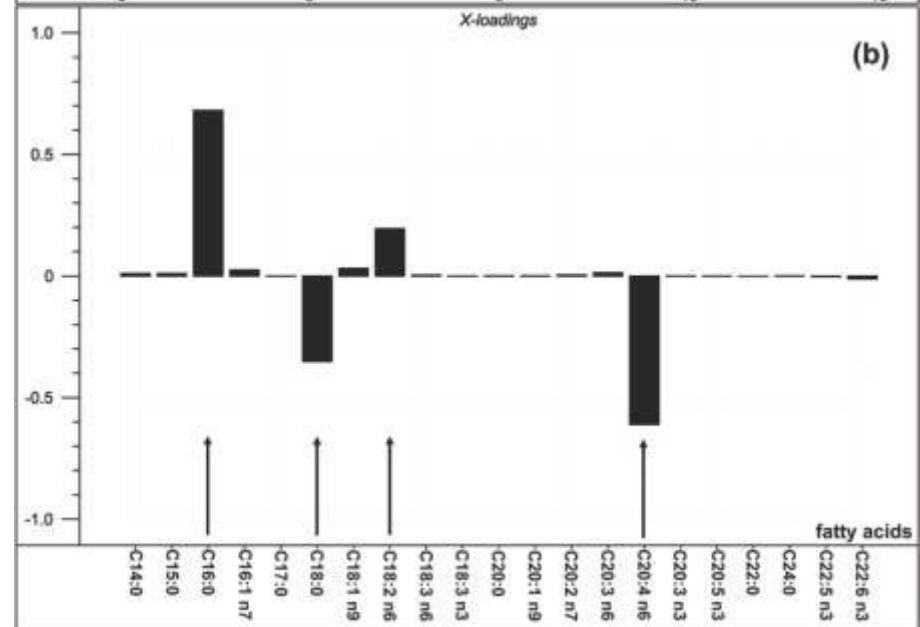
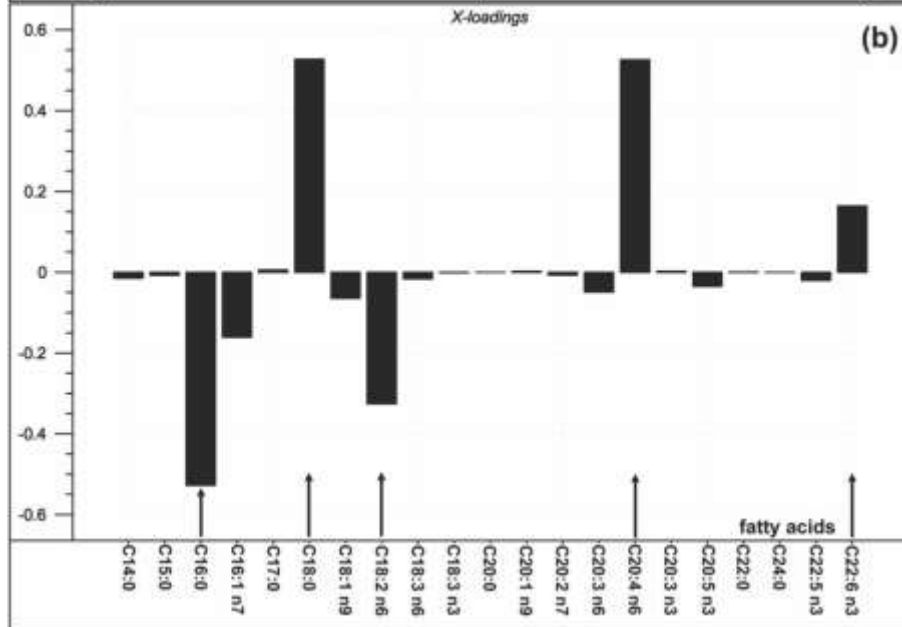
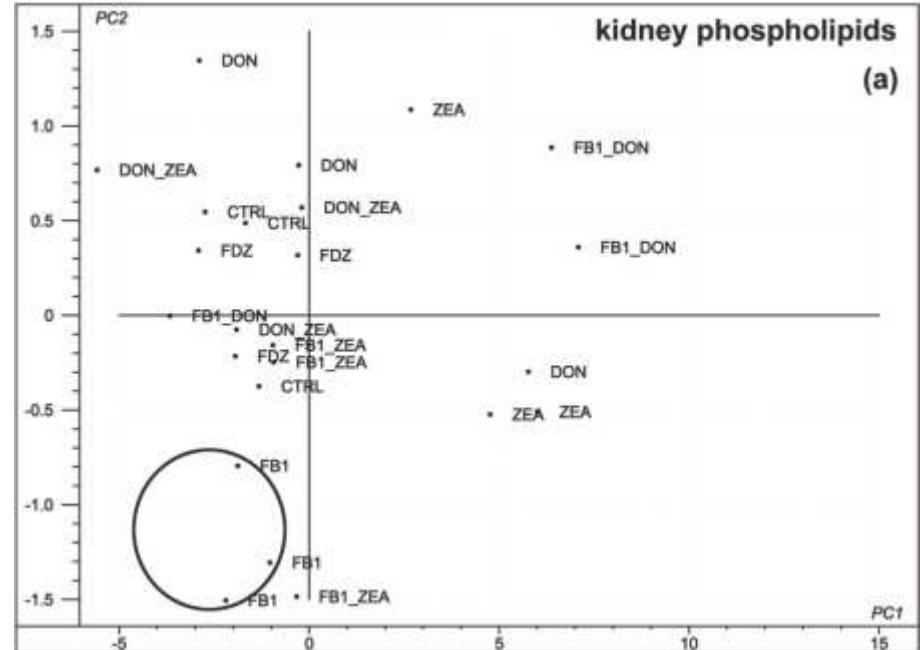
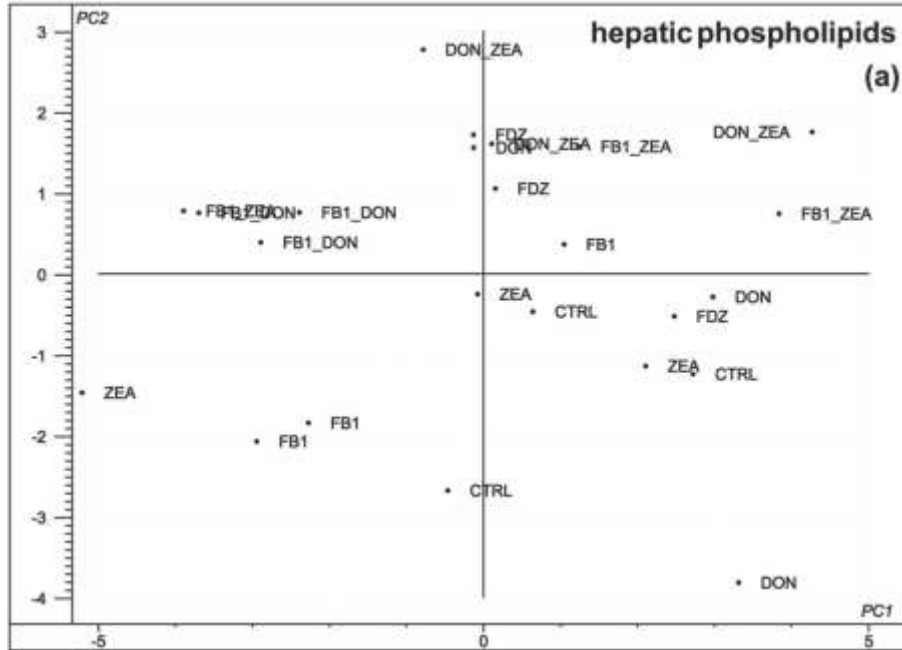
Group	Control	FB ₁	DON	ZEA	FD	FZ	DZ	FDZ
<i>Somatic traits</i>	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
BW initial (g)	307.2 ± 14.9	306.4 ± 9.49	299.6 ± 4.20	317.9 ± 15.9	304.3 ± 1.56	307.5 ± 10.8	289.7 ± 23.3	296.8 ± 11.6
BW final (g)	326.9 ± 19.9	361.2 ± 13.8	344.5 ± 44.2	392.7 ± 27.5	350.0 ± 8.59	357.7 ± 28.9	348.7 ± 40.8	331.9 ± 35.6
BW gain (total in 14 days)	19.7 ± 10.6	54.9 ± 6.86	44.9 ± 44.8	74.9 ± 17.2	45.7 ± 8.61	50.2 ± 19.5	59.0 ± 34.6	35.1 ± 25.7
BW gain (g/day)	1.41 ± 0.76	3.92 ± 0.49	3.21 ± 3.20	5.35 ± 1.23	3.26 ± 0.61	3.59 ± 1.40	4.22 ± 2.47	2.50 ± 1.83
liver weight (g)	11.3 ± 0.85 ^{ab}	13.5 ± 0.38 ^{ab}	10.2 ± 2.06 ^a	14.8 ± 1.27 ^b	12.7 ± 1.33 ^{ab}	12.8 ± 1.25 ^{ab}	13.1 ± 2.08 ^{ab}	11.5 ± 2.54 ^{ab}
kidney weight (g)	2.17 ± 0.12 ^{ab}	2.23 ± 0.12 ^{ab}	2.23 ± 0.06 ^{ab}	2.63 ± 0.23 ^b	2.20 ± 0.10 ^{ab}	2.30 ± 0.26 ^{ab}	2.37 ± 0.31 ^{ab}	2.07 ± 0.12 ^a
spleen weight (g)	0.67 ± 0.06 ^a	0.77 ± 0.12 ^{ab}	0.67 ± 0.06 ^a	0.93 ± 0.06 ^{ab}	0.83 ± 0.15 ^{ab}	0.83 ± 0.06 ^b	0.97 ± 0.12 ^{ab}	0.70 ± 0.10 ^{ab}
relative liver weight (%)	3.45 ± 0.09 ^{ab}	3.75 ± 0.23	2.93 ± 0.23 ^a	3.78 ± 0.14 ^b	3.61 ± 0.29 ^b	3.59 ± 0.13 ^{ab}	3.76 ± 0.20 ^b	3.45 ± 0.39 ^{ab}
relative kidney weight (%)	0.67 ± 0.07	0.62 ± 0.05	0.66 ± 0.08	0.67 ± 0.01	0.63 ± 0.02	0.65 ± 0.10	0.68 ± 0.08	0.63 ± 0.04
relative spleen weight (%)	0.20 ± 0.01 ^{ab}	0.21 ± 0.03 ^{ab}	0.19 ± 0.02 ^a	0.24 ± 0.03 ^{ab}	0.24 ± 0.04 ^{ab}	0.23 ± 0.04 ^b	0.28 ± 0.02 ^b	0.21 ± 0.03 ^{ab}
Σ feed intake (g/14 days/ind.)	336.1 ± 6.41	405.8 ± 40.0	358.4 ± 43.1	448.7 ± 67.3	359.2 ± 2.71	382.2 ± 44.3	395.4 ± 69.1	363.7 ± 39.9

^{ab} different small uppercase indices mean significant ($p < 0.05$) inter-group differences by ANOVA (bodyweight: BW).



Group	Control	FB ₁	DON	ZEA	FD	FZ	DZ	FDZ
<i>Peroxidation traits, LIVER</i>	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
GSH (micromol/g protein)	2.11 ± 0.09 ^a	2.60 ± 0.26 ^{abc}	2.42 ± 0.52 ^{ab}	3.34 ± 0.33 ^{bc}	3.52 ± 0.13 ^c	3.24 ± 0.35 ^{bc}	3.38 ± 0.46 ^{bc}	3.27 ± 0.43 ^{bc}
GSHPx (IU/g protein)	0.99 ± 0.28 ^a	1.53 ± 0.57 ^{ab}	1.79 ± 0.55 ^{ab}	1.70 ± 0.34 ^{ab}	2.33 ± 0.29 ^b	1.81 ± 0.22 ^{ab}	1.82 ± 0.56 ^{ab}	1.58 ± 0.39 ^{ab}
MDA (micromol/g)	16.2 ± 0.34	17.6 ± 2.91	15.6 ± 3.99	15.6 ± 1.89	16.6 ± 1.52	15.0 ± 1.35	13.47 ± 0.71	16.0 ± 1.85
<i>Peroxidation traits, KIDNEY</i>								
GSH (micromol/g protein)	1.49 ± 0.24	1.76 ± 0.80	2.14 ± 0.50	1.98 ± 0.31	1.88 ± 0.25	1.99 ± 0.96	1.30 ± 0.32	1.92 ± 0.74
GSHPx (IU/g protein)	0.44 ± 0.11	0.59 ± 0.42	0.54 ± 0.15	0.42 ± 0.44	0.91 ± 0.57	0.93 ± 0.27	0.37 ± 0.23	0.73 ± 0.47
MDA (micromol/g)	4.13 ± 0.58 ^{ab}	4.41 ± 0.35 ^{ab}	5.78 ± 1.50 ^b	5.02 ± 0.97 ^{ab}	4.31 ± 0.30 ^{ab}	3.67 ± 0.14 ^a	3.49 ± 0.49 ^a	4.44 ± 0.26 ^{ab}

Főkomponens analízis





Patkány, máj, vese, dózis és expozíciós idő függés (0-20-50-100 mg/kg eq. dózis), vese és máj P-kolin, P-etanolamin és P-szerin zsírsavprofil

Kidney PC		5 days			10 days			
Compound	Slope	Constant	R ²	Compound	Slope	Constant	R ²	
C16:0	30.3	1.78	0.635	C16:0	0.156	0.108	0.639	
C20:4 n6	-2.74	21.6	0.639	C18:1 n9	1.359	2.565	0.721	
C22:6 n3	-0.198	1.24	0.672	C20:1 n9	0.082	0.027	0.733	
PUFA	-3.63	31.1	0.639	C20:3 n6	-0.238	1.193	0.628	
Σ n3	-3.38	29.2	0.633	MUFA	1.413	3.02	0.719	
Σ n6	-0.236	1.69	0.689					
UI	-13.8	116.8	0.641					
ACL	-0.106	17.9	0.656					

Kidney PI		5 days			10 days		
Compound	Slope	Constant	R ²	Compound	Slope	Constant	R ²
C18:0	1.728	43.7	0.645	C20:3 n6	-0.175	0.715	0.616
PUFA	-3.6	21.3	0.725				

Liver PE		5 days			10 days		
Compound	Slope	Constant	R ²	Compound	Slope	Constant	R ²
				Σ n3	2.23	6.66	0.617

$$n = 6 \text{ állat} \times 4 \text{ dózis} \times 2 \text{ exp. idő} \times 2 \text{ szerv} \times 3 \text{ frakció} = 288$$

Bodyweight data of the rabbits at 35 days of age and 2 and 4 weeks after the toxin feeding (all data are means of 6 individual measurements).

Bodyweight (g)	At 35 days of age		After 2 weeks		After 4 weeks	
	Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE	
T-2	951.0 ± 59.4	a	1562.5 ± 84.3	ab	2280.0 ± 82.6	A
FB ₁	998.8 ± 28.2	a	1701.5 ± 44.5	b	2695.2 ± 84.1	B
T-2 + FB ₁	941.0 ± 36.5	a	1464.8 ± 52.3	a	2221.0 ± 81.7	A
Control	949.8 ± 34.9	a	1592.7 ± 32.4	ab	2653.0 ± 69.0	B

a, b; a, b; A, B: difference between treatments at 3 different measurement times

Nyúl, T-2 és FB₁ interakció

2 és 10 ppm

4 hét



Organ weight data of the rabbits at the end of trial, after 4 weeks (all data are means ± SE of 6 individual measurements).

Organ weight (g)	Heart		Liver		Kidney		Spleen	
	Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE	
T-2	6.65 ± 0.0301	a	219.2 ± 3.37	b	14.6 ± 0.268	a	1.65 ± 0.05	a
FB ₁	6.68 ± 0.188	a	75.8 ± 4.35	a	15.1 ± 0.62	a	1.82 ± 0.254	a
T-2 + FB ₁	6.7 ± 0.0207	a	72.8 ± 4.35	a	15.3 ± 0.402	a	1.7 ± 0.202	a
Control	6.94 ± 0.375	a	91.0 ± 8.39	a	15.1 ± 0.571	a	1.49 ± 0.182	a

a, b: difference within the weight of one given organ among the treatments, after 4 weeks.

The Na⁺/K⁺ ATPase activity (liberated nmol Pi/mg protein/h) of the red cells of toxin fed and control groups, as compared within treatment and the comparison at the two samplings (all data are mean ± SE of 6 individual measurements performed in 3 analytical replicates).

RBC sodium pump activity (nmol Pi/mg protein/h)	After 2 weeks		After 4 weeks		P (2 vs. 4 wks)
	Mean ± SE		Mean ± SE		
T-2	5557.3 ± 1079.9	a	748.5 ± 328.7	A	<0.001
FB ₁	3473.3 ± 1042.0	a	9447.5 ± 1462.9	C	<0.001
T-2 + FB ₁	4029.1 ± 819.0	a	3334.4 ± 1302.4	B	>0.05
Control	3647.0 ± 1168.4	a	2709.2 ± 824.9	B	>0.05

a, b; A, B: difference between treatments at the 2 different sampling times, P: probability.

Konklúzió

FB₁:

- Szinte azonnal károsító hatású;
- Indukál oxidatív károsodást;
- A membránlipideket főleg az oxidatív stressz károsítja;
- Hatékony interakció más *Fusarium* toxinokkal;
- A jelentősen hosszabb expozíciós idő sem fokozza erősebben a hatást;
- Alacsony, természetben is előforduló dózisa is káros.