

# Szarvasmarha hígtrágya EDC (Endocrine Disrupting Compound) tartalma és a telepen alkalmazott ivarzás indukáló gyógyszerek közötti összefüggések vizsgálata

## 1. BEVEZETÉS

Az intenzív mezőgazdasági technológiák következtében az endokrin rendszert károsító vegyületek (EDC) jelenléte a környezetünkben egyre nagyobb aggodalomra ad okot. Ezek az anyagok nagyon alacsony koncentrációban káros hatással lehetnek az élő szervezetekre. A talajvízbe és a talajba kerülve pedig bejuthatnak a táplálékláncba, így az emberi szervezetre is veszélyt jelenthetnek. A mezőgazdasági melléktermékek (istállótrágya, hígtrágya) nagy mennyiségű természetes és szintetikus hormonokat és különféle vegyi anyagokat tartalmazhatnak, melyek ellenőrizetlenül kerülnek mezőgazdasági területekre. Tanulmányunk kiterjedt a telepen felhasznált ivarzás indukáló gyógyszerek felhasználására 2017-től 2020-ig. 2017-től rendelkezésünkre állnak a telepen keletkezett hígtrágya ösztrogénhatású anyagtartalomra vonatkozó adatai. Statisztikai értékelésekkel pedig meghatároztuk milyen összefüggések vannak a gyógyszerfelhasználás, a szaporodásbiológia és a hígtrágya ösztrogénhatású vegyülettartalma között.

## 2. KÖRNYEZETI ÖSZTROGÉNEK

A fitoösztrogének (növényi eredetű ösztrogének) és a xenoösztrogének (antropogén eredetű ösztrogének) tartoznak a környezeti ösztrogének közé. Ezek az anyagok előfordulnak a bennünket körülvevő környezetben, melyek a természetes hormonok analójaként képesek befolyásolni az élőlények endokrin

---

[1] SZE Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszertudományi Multidiszciplináris Doktori Iskola, PhD-hallgató. Témavezetők: Prof. Dr. Szakál Pál, Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár; Dr. Plutzer Judit, Nemzeti Népegészségügyi Központ, Budapest, Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár.

rendszerének a működését. Befolyással lehetnek bizonyos létfontosságú élettani funkciókra, mint például a szaporodás, növekedés, egyedfejlődés.<sup>[2]</sup>

A xenoösztrogének (ubiquiter) mindenütt jelenlevő szennyező vegyületek, megtalálhatók vízben, talajban, levegőben is. Ellenállnak a biológiai és kémiai degradációnak, ezért hosszú ideig jelen maradnak a szennyeződés helyén.<sup>[3]</sup> Olyan organoklorin vegyületek is tartoznak ebbe a csoportba, melyek a levegő porszemcséihez tapadva eljutnak iparilag érintetlen területekre is.<sup>[4]</sup> Idetartoznak bizonyos növényvédőszeresek, mint például a diklór-difenil-triklórétán (DDT), a hexaklór-ciklohexán (HCH),<sup>[5]</sup> metoxiklór, endoszulfán, lindán, toxafén<sup>[6]</sup> a műanyag lágyítók közül a biszfenol-A (BPA), ftalátok, tartósítószeresek és különböző felületaktív anyagok.<sup>[7]</sup> Világszerte csökkennek az élőlények egyedszámai. Ennek számos oka van: a természeti erőforrásaink túlhasználata, élőhelyek elvesztése, éghajlatváltozás, különböző betegségek és szennyezőanyagok jelenléte a környezetünkben. Több kutatás is azt mutatja, hogy az EDC szennyezés potenciálisan hozzájárul a vadon élő állatok csökkenéséhez.<sup>[8]</sup> A több mint 7 milliárd ember a földön körülbelül 30 000 kg/év természetes szteroid ösztrogéneket (E1, E2, E3) és további 700 kg/év szintetikus ösztrogént (EE2) juttat a természetbe. Az állattartásból származó ösztrogén kibocsátás sokkal nagyobb mennyiséget tesz ki. Az Európai Unió és az Egyesült Államok állatállományának éves ösztrogén kiválasztódása 83 000 kg/

---

[2] ANKLEY, G. T. – JOHNSON, R. D. – TOTH, G. – FOLMAR, L. C. – DETENBECK, N. E. – BRADBURY, S. P.: Development of a research strategy for assessing the ecological risk of endocrine disruptors, in: *Environmental Toxicology*, 1997/1., 231–267.; KAVLOCK, R. J. – DASTON, G. P. – DE ROSA, C. – FENNER CRISP, P. – GRAY, L. E. JR. – KAATTARI, S. – LUCIER, G. – LUSTER, M. – MAC, M. J. – MACZKA, C. – MILLER, R. – MOORE, J. – ROLLAND, R. – SCOTT, G. – SHEEHAN, D. M. – SINKS, T. – TILSON, H.: Research needs for the assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors, in: *Environmental Health Perspectives*, 1996/104., 715–740.

[3] SOHÁR PÁLNÉ – MATYOSOVSKY K. – PÁLDY A. – VASKÖVI BÉLÁNÉ: A POP-ok környezet-egészségügyi jelentősége, élelmiszerekben mérhető szintjeik és egészségügyi kockázatuk, in: *Fodor József Országos Közegészségügyi Központ összefoglaló (FJOKK)*, 2003, Budapest.

[4] FISHER, B. E.: Most unwanted, in: *Environmental Health Perspectives*, 2009/107., 18–23.

[5] SHEKHAR, P. V. – WERDELL, J. – BASRUR, V. S.: Environmental estrogen stimulation of growth and estrogen receptor function in preneoplastic and cancerous human breast cell lines, in: *Journal of the National Cancer Institute*, 1997/89., 1774–1782.

[6] VAN DER LINDEN, S. C. – HERINGA, M. B. – MAN, H. Y. – SONNEVELD, E. – PUIJKER, L. M. – BROUWER, A. – VAN DER BURG, B.: Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays, in: *Environmental Science & Technology*, 2008/42(15), 5814–5820.

[7] GOMEZ, E. – PILLON, A. – FENET, H. – ROSAIN, D. – DUCHESNE, M.J. – NOCOLAS, J.C. – BAGLAGUER, P. – CASELLAS, C.: Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines: parabens, UV screens, and musks, in: *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 2005/68., 239–251.; NIMROD, A.C. – BENSON, W.H.: Environmental estrogenic effects of alkylphenol ethoxylates, in: *Critical Reviews in Toxicology*, 1996/26., 335–364.

[8] Mills L. J. – Chichester, C.: Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? in: *Science of the Total Environment*, 2005, 343., 1–34.

év, ami az emberi kibocsátás több mint kétszerese.<sup>[9]</sup> Az ösztrogének bomlás ideje nagymértékben függ a degradációs körülményektől. Az emberekben és állatokban kiválasztódó szteroidális ösztrogének (E1,E2,E3) rövid felezési idejűek, míg a szintetikus ösztrogén hosszabb idő alatt bomlik le. Az E1,E2,E3 vizes fázisokban és üledékes közegben 2-6 nap alatt bomlik. Az E2 és EE2 aerob körülmények között 2-81 nap alatt bomlik le, míg anaerob körülmények között nem bomlanak le. Becslések szerint egy tejelő tehén átlagosan 384 mg 17 $\beta$ -ösztradiolt (E2) juttat naponta a környezetébe csupán a vizelettel és a széklettel, míg egy vemhes koca 700-17 000 mg öszttront (E1) üríthet a vizelettel napi szinten.<sup>[10]</sup>

### 3. TEJELŐ TEHENÉSZETEK SZAPORODÁSBIOLOGIÁJA

A reprodukciót közvetett és közvetlen módon sokféle hormon szabályozza. Közvetlenül hat a szaporodásra a hypothalamusból kiválasztódó gonadotropin felszabadító hormon (GnRH), az agyalapi mirigyből kiválasztódó follikulusztimuláló hormon (FSH) és a luteinizáló hormon (LH), a tüszőkből kiválasztott ösztrogének, a sárgatestből kiválasztódó progeszteron, valamint a méh belsejében lévő endometriumból felszabaduló prosztoglandinok (PGF2 $\alpha$ ). Az összes felsorolt hormonnak külön szerepe van és hatással vannak a többi hormontra a tehén teljes reprodukciós ciklusa során.

Dobson et al. 2008 szerint az elmúlt 30-50 évben az álló ivarzást mutató tehenek 80%-ról 50%-ra, az időtartam 15 órától 5 órára csökkent. Az első termékenyítések vemhességi aránya 70%-ról 40%-ra csökkent. Ez egy tejelő telepnek veszteséget jelent, nemcsak a megnövekedett ellés intervallumok, de a spermaköltség miatt is. Ezek a számok alátámasztják, hogy a tehenek ivarzásának az észlelése és a tehenek vemhessége kiemelten fontos feladat egy modern tejtermelésben.<sup>[11]</sup> A tejhasznú szarvasmarha-állományokban egyre gyakoribb a fel nem ismert ivarzás, ezért célirányos tenyésztési programokat alkalmaznak. Az ivarzó állatok kiválogatására számos módszer terjedt el. Napjainkban is alkalmaznak újabb módszereket, ami azt bizonyítja, hogy a legjobb megoldást még nem sikerült megtalálni. Ez is közrejátszik abban, hogy világszerte elkezdték a PGF2 $\alpha$  alkalmazásán alapuló módszert használni, amely ivarzásindukciót idéz elő. A cél az volt, hogy olyan eljárásokat alakítsanak ki, melynek segítségével meghatározott időpontban, az ivarzás ész-

---

[9] SHRESTHA, S. L. – CASEY, F. X. – HAKK, H. – SMITH, D. J. – PADMANABHAN, G.: Fate and transformation of an estrogen conjugate and its metabolites in agricultural soils, in: *Environmental Science & Technology*, 1996/ 46., 11047–11053.; LAURENSEN, J. P. – BLOOM, R. A. – PAGE, S. – SADRICH, N.: Ethinyl Estradiol and Other Human Pharmaceutical Estrogens in the Aquatic Environment, in: *The AAPS Journal*, 2014/16(2).

[10] YING, G-G. – KOOKANA, R. – RU, Y-J.: Occurrence and Fate of Hormone Steroids in the Environment, in: *Environment International*, 2003/28(6), 545–551.

[11] DOBSON, H. – WALKER, S. L. – MORRIS, M. J. – ROUTLY, J. E. – SMITH, R. F.: Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows?, in: *Animal*, 2008/8., 1104–1111.

lelése nélkül „vakon” lehessen termékenyíteni. Az időhöz kötött termékenyítésknél az ivari ciklusba kell hatékonyan beavatkozni, erre a tüszőfejlődés idején vagy a sárgatest fázisban van lehetőség. A ciklus szinkronizálására proszttaglandin, progeszteron, ösztrogén és gonadotropreleasing hormon (GnRH) készítmények alkalmasak. Európában az ösztrogénkezelés tiltott, a gesztagénkészítmények (implantátumok) alkalmazása kissé bonyolult és drága, ezért a tüszőnövekedés és fejlődés befolyásolására elsősorban GnRH készítményeket használnak.<sup>[12]</sup>

#### 4. ALKALMAZOTT MÓDSZER LEÍRÁSA

Vizsgálatainkat az ISO 19040<sup>[13]</sup> szabvány szerint végeztük, mely a víz, szennyvíz és üledékek ösztrogén potenciáljának meghatározására szolgál a *Saccharomyces cerevisiae* BJ 3505 genetikailag módosított élesztő törzsszel. A módszert adaptáltuk a gyógyszermintáink tesztelésére. A YES (Yeast Estrogen Screen) egy riportergén analízis, mely a humán ösztrogénreceptor-alfa (hER $\alpha$ ) aktiválódásának mérésére szolgál ösztrogén hatásokat kiváltó vegyületek jelenlétében.

A YES-teszttel kapott EEQ koncentráció azt mutatja, hogy az adott minta ösztrogénaktivitása ekvivalens egy egyenlő koncentrációjú E2-oldat ösztrogén aktivitásával.<sup>[14]</sup>

A hormonhatású készítmények EDC értékeit Pearson- féle korrelációval elemeztük (2. ábra), melynek értékei -1 és +1 közöttiek. A két változó (folyékony és iszap része a hígtrágyának) közötti korreláció 0, ha nincs összefüggés, +1-hez közele, ha erős pozitív és -1-hez közele, ha az összefüggés erős, de ellentétes irányú.

#### 5. EREDMÉNYEK

Minden egyes hormonkészítményt 6 különböző mennyiségben (20 $\mu$ L; 10 $\mu$ L; 5 $\mu$ L; 1 $\mu$ L; 0,5 $\mu$ L; 0,1 $\mu$ L) vizsgáltunk. Az eredményeket a hat mennyiségből kapott értékek átlaga adta. Az öt gyógyszerben három hatóanyag (D-Phe6-Gonadorelin, Kloprosztenol és Dinoproszt-trometamin), található meg két kísérő vegyülettel, a (benzil-alkohol és klórkrezol). A 0,1  $\mu$ L volt az a legkisebb mennyiség, melynél az összes minta értéke negatív lett. A *Kloprosztenol* hatóanyagot vizsgálva az *Alfaglandin* készítmény tartalmazott legnagyobb mennyiségben (0,250 mg/ml), míg a *PGF* készítmény (0,0092 mg/ml) tartalmazott ebből a hatóanyagból. A vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a *PGF* ösztrogénhatása magasabb, mint az *Alfaglandin*é. Bár az ösztrogén aktivitás mértéke az *Alfaglandin* ese-

---

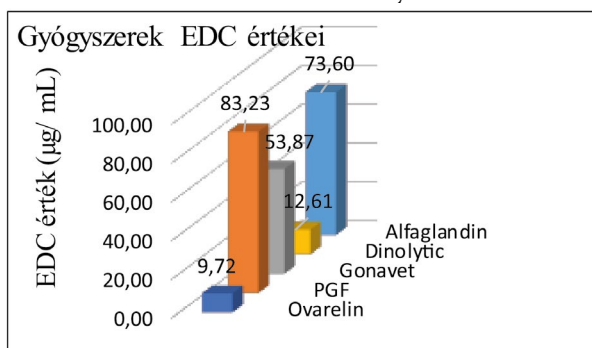
[12] GÁBOR, G. – TÓTH, F. – ÓZSVÁRI, L. – ABONYI-TÓTH, ZS. – SASSER, R. G.: Factors Influencing Pregnancy Rate and Late Embryonic Loss in Dairy Cattle, in: *Reproduction in Domestic Animals*, 2008/43., 53–58.

[13] ISO 19040-1:2018 Waterquality – Determination of the estrogenic potential of water and wastewater – Part 1: Yeast estrogen screen, *Saccharomyces cerevisiae* (2018).

[14] FINDLAY, J. W. A. – DILLARD, R. F.: Appropriatecalibrationcurve fitting in ligand binding assays, in: *The AAPS Journal*, 2007/9(2), E260–E267.

tén alacsonyabb volt, 0,5  $\mu\text{L}$  mennyiségben, csak ez a minta mutatott pozitívítást, ami azt jelenti, hogy nagyobb hígításban is megmaradt az ösztrogénhatása. A *D-Phe6-Gonadorelin* hatóanyagot vizsgálva, mely az *Ovarelin* és a *Gonavet* készítményekben található 0,050 mg/ml mennyiségben, arra a következtetésre jutottunk, hogy a *Gonavet* ötször magasabb ösztrogénhatású, mint az *Ovarelin*. A *Dinoproszt-trometamin* teszteléséhez egy készítmény, a *Dinolitic* állt rendelkezésünkre, melyet 5 mg/ml mennyiségben tartalmazott. A kísérőanyag benzil-alkohol volt és az eredmények (EEQ) értékei az *Ovarelin* értékeivel hasonlóak. Az 1. ábrán láthatjuk a kapott eredményeket  $\mu\text{g}/\text{mL}$  értékben.

1. ábra: Hormonhatású készítmények EDC értékei

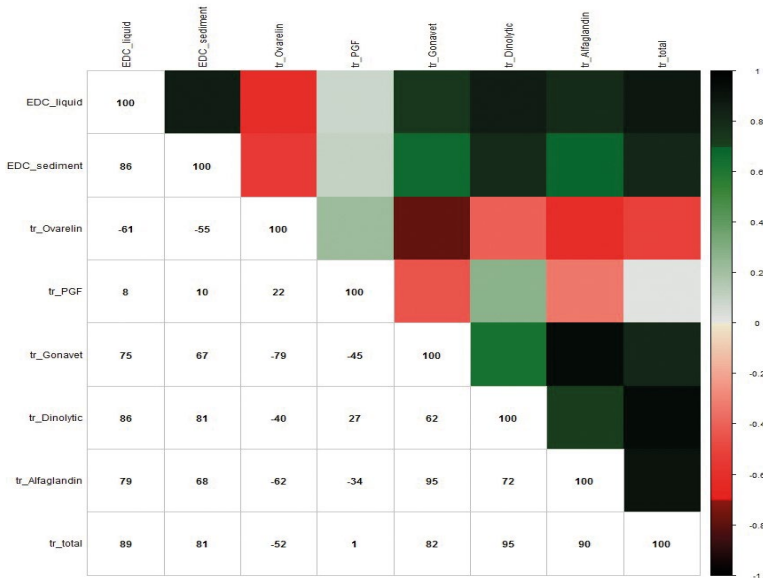


Forrás: Saját szerkesztés

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK

Kutatásunk során megvizsgáltunk 5 db ivarzás indukáló készítményt, melyek közül mind ösztrogénhatásúnak bizonyultak. A gyógyszerek hatására különféle hormonális változások zajlanak le a kezelt állatoknál, mely a természetes eredetű hormonok kiválasztását is fokozhatja. Emellett pedig a gyógyszer ürülése az állati szervezetből is ösztrogén terhelést jelent a környezetre. A vizsgált anyagokat nagy mennyiségben használják fel a telepen. Elemezve, statisztikailag értékelve a telep kezeléseit, termékenyítéseit, a felhasznált gyógyszerek mennyiségét és a hígtrágya ösztrogén hatását, kijelenthetjük, hogy összefüggések figyelhetők meg egyes időszakok gyógyszerfelhasználása, a hígtrágya ösztrogéntartalma és a telep szaporodásbiológiája között. A hígtrágyát a szántóföldre történő kijuttatás előtt számos egyéb ok mellett a hormontartalma és gyógyszer tartalma miatt is új kezelési módszerekkel kellene ellátni. Magyarországon ez az első tanulmány, mely az ivarzás indukáló készítmények és a hígtrágya ösztrogéntartalma között keres összefüggéseket. A teljes vizsgálat eredményeit (hormonhatású készítmények, hígtrágya EDC értékei és a telep szaporodásbiológiai mutatói) szeretnénk egy nemzetközileg elismert angol nyelvű folyóiratban megjelentetni.

2. ábra: Pearson- féle korrelációs együtthatók



Forrás: Saját szerkesztés

## FELHASZNÁLT IRODALOM

- ANKLEY, G. T. – JOHNSON, R. D. – TOTH, G. – FOLMAR, L. C. – DETENBECK, N. E. – BRADBURY, S. P.: Development of a research strategy for assessing the ecological risk of endocrine disruptors, in: *Environmental Toxicology*, 1997/1., 231–267.
- DOBSON, H. – WALKER, S. L. – MORRIS, M. J. – ROUTLY, J. E. – SMITH, R. F.: Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows?, in: *Animal*, 2008/8., 1104-1111.
- FINDLAY, J. W. A. – DILLARD, R. F.: Appropriate calibrationcurve fitting in ligand bindingassays, in: *The AAPS Journal*, 2007/9(2.), E260–E267.
- FISHER, B.E.: Most unwanted, in: *Environmental Health Perspectives*, 2009/107., 18–23.
- GÁBOR, G. – TÓTH, F. – ÓZSVÁRI, L. – ABONYI-TÓTH, Zs. – SASSER, R. G.: Factors Influencing Pregnancy Rate and Late Embryonic Loss in Dairy Cattle, in: *Reproduction in Domestic Animals*, 2008/43., 53–58.
- GOMEZ, E. – PILLON, A. – FENET, H. – ROSAIN, D. – DUCHESNE, MJ. – NOCOLAS, JC. – BALAGUER, P. – CASELLAS, C.: Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines: parabens, UV screens, and musks, in: *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 2005/68., 239–251.

- KAVLOCK, R. J. – DASTON, G. P. – DEROSA, C. – FENNER CRISP, P. – GRAY, L. E. JR. – KAATTARI, S. – LUCIER, G. – LUSTER, M. – MAC, M. J. – MACZKA, C. – MILLER, R. – MOORE, J. – ROLLAND, R. – SCOTT, G. – SHEEHAN, D. M. – SINKS, T. – TILSON, H.: Research needs for the assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors, in: *Environmental Health Perspectives*, 1996/104., 715–740.
- LAURENSEN, J. P. – BLOOM, R. A. – PAGE, S. – SADRIEH, N.: Ethinyl Estradiol and Other Human Pharmaceutical Estrogens in the Aquatic Environment, in: *The AAPS Journal*, 2014/16(2).
- VAN DER LINDEN, S. C. – HERINGA, M. B. – MAN, H. Y. – SONNEVELD, E. – PUIJKER, L. M. – BROUWER, A. – VAN DER BURG, B.: Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays, in: *Environmental Science & Technology*, 2008/42(15), 5814–5820.
- MILLS, L. J. – CHICHESTER, C.: Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations?, in: *Science of the Total Environment*, 343 (2005), 1–34.
- NIMROD, AC. – BENSON, WH.: Environmental estrogenic effects of alkylphenol ethoxylates, in: *Critical Reviews in Toxicology*, 1996/26., 335–364.
- SHEKHAR, P. V. – WERDELL, J. – BASRUR, V. S.: Environmental estrogen stimulation of growth and estrogen receptor function in preneoplastic and cancerous human breast cell lines, in: *Journal of the National Cancer Institute*, 1997/89., 1774–1782.
- SOHÁR PÁLNÉ – MATYOSOVSKY K. – PÁLDY A. – VASKÖVI BÉLÁNÉ: A POP-ok környezet-egészségügyi jelentősége, élelmiszerekben mérhető szintjeik és egészségügyi kockázatuk, in: *Fodor József Országos Közegészségügyi Központ összefoglaló (FJOKK)*, 2003, Budapest.
- SHRESTHA, S. L. – CASEY, F. X. – HAKK, H. – SMITH, D. J. – PADMANABHAN, G.: Fate and transformation of an estrogen conjugate and its metabolites in agricultural soils, in: *Environmental Science & Technology*, 1996/ 46., 11047–11053.
- YING, G-G. – KOOKANA, R. – RU, Y-J.: Occurrence and Fate of Hormone Steroids in the Environment, in: *Environment International*, 2003/28(6), 545–551.