REVIEW

AFLATOXINY – TOXICKÉ ÚČINKY U ČLOVĚKA

Aflatoxins – toxic effects in man

František Malíř¹, Vladimír Ostrý²

¹Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta, katedra biologie

²Státní zdravotní ústav Praha, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně

Summary

Aflatoxins are secondary metabolites of toxinogenic fibrous microscopic fungi (moulds) of the genus *Aspergillus*, particularly of the species *Aspergillus flavus* (producer of aflatoxin B₁/ (henceforth AFB₁/ and AFB₂) and *Aspergillus parasiticus* (producer of AFB₁, AFB₂, AFG₁ and AFG₂), which occur in foodstuffs and forages. Aflatoxins are obviously most known and most thoroughly examined mycotoxins worldwide. In terms of their chemical nature, they are polycyclic, unsaturated, high-substituted coumarins. About 20 aflatoxins have been still identified, among which only AFB₁, AFB₂, AFG₁ and AFG₂ occur in nature. AFB₁ occurs most frequently and is most important in terms of toxicology. The mechanism of its action is rather complicated. It becomes toxic only after a metabolic activation with microsomal cytochrome P-450-dependent oxidases to active metabolite AFB₁-8,9-epoxide. This form is very reactive and is bound to cellular macromolecules – proteins, RNA and DNA. In the case of DNA, it exerts preference binding to the site of N7-guanine and forms a stable adduct with this base, which is responsible for AFB₁ mutagenic and carcinogenic effects. The development of primary hepatocellular carcinoma after nutritional exposure to AFB₁ is obviously caused by the point mutation of codone 249 of the tumour suppressor gene *p53*. In addition, aflatoxins are associated with different diseases – aflatoxicoses in farm animals, domestic animals and man. The contamination of food raw materials and foodstuffs with aflatoxins occurs in natural ways and cannot be prevented or completely eliminated before the harvest, after the harvest and in technology processing even when adhering to the good agricultural and technology practice. Higher attention is being paid to aflatoxins compared to other mycotoxins, particularly given the fact that their carcinogenicity and acute toxic effects were demonstrated in susceptible laboratory animals and humans. The medicine Oltipraz [5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione] considerably blocks the aflatoxin B₁-mediated carcinogenesis in the liver of laboratory rats in the course of their exposure. Oltipraz has not yet been sufficiently tested as a medicine for the treatment of aflatoxin B₁-induced hepatocarcinoma in humans.

Key words: aflatoxins – moulds – toxicity – aflatoxicosis – mechanism of action – carcinogenicity – therapy – Oltipraz

Souhrn

Aflatoxiny jsou sekundární metabolity toxinogenních vláknitých mikroskopických hub (plísní) rodu *Aspergillus*, zejména druhů *Aspergillus flavus* (producent aflatoxinu B₁/dále AFB₁/ a AFB₂) a *Aspergillus parasiticus* (producent AFB₁, AFB₂, AFG₁ a AFG₂), které se vyskytují v potravinách

a krmivech. Aflatoxiny jsou patrně nejvíce známé a nejvíce vědecky prozkoumané mykotoxiny na celém světě. Chemicky se jedná o polycyklické, nesaturované, vysoce substituované kumariny. Dosud bylo identifikováno přibližně 20 aflatoxinů, z toho běžně a přirozeně se vyskytují pouze AFB₁, AFB₂, AFG₁ a AFG₂. AFB₁ se vyskytuje nejčastěji a je toxikologicky nejvýznamnější. Jeho mechanismus účinku je poněkud komplikovaný. Toxickou sloučeninou se stává až po metabolické aktivaci mikrozomálními cytochrom P-450 dependentními oxidázami na aktivní metabolit AFB₁-8,9-epoxid. Tato forma je velmi reaktivní a váže se na buněčné makromolekuly, bílkoviny, RNA a DNA. V případě DNA se váže preferenčně na pozici N7-guaninu a vytváří stabilní adukt s touto bází, který je zodpovědný za mutagenní a karcinogenní účinky AFB₁. Vznik primárního hepatocelulárního karcinomu po dietární expozici AFB₁ je zřejmě způsoben bodovou mutací kodonu 249 tumor supresorového genu *p53*. Navíc jsou aflatoxiny spojovány s rozličnými onemocněními – aflatoxikózami u hospodářských zvířat, domácích zvířat a člověka. Ke kontaminacím potravinových surovin a potravin aflatoxiny dochází přirozeně a nelze jim zamezit nebo je úplně odstranit před sklizní, po sklizni a při technologickém zpracování ani při dodržování správné zemědělské a technologické praxe. Aflatoxinům se věnuje větší pozornost než ostatním mykotoxinům vzhledem k tomu, že byla prokázána jejich karcinogenita a akutní toxické účinky u vnímavých laboratorních zvířat a člověka. Lék Oltipraz [5-(2-pyrazinyl)-4-metyl-1,2-dithiol-3-thion] výrazně blokuje aflatoxinem B₁ zprostředkovanou kancerogenezi v játrech laboratorních potkanů během jejich expozice. Oltipraz je zatím nedostatečně vyzkoušeným léčivem pro léčbu aflatoxinem B₁ navozeného hepatokarcinomu u člověka.

Klíčová slova: aflatoxiny – plísně – toxicita – aflatoxikóza – mechanismus účinku – karcinogenita – terapie – Oltipraz

ÚVOD

Vláknité mikroskopické houby (plísně) a mykotoxiny kontaminují suroviny, krmiva a potraviny, ohrožují lidské i zvířecí zdraví a také způsobují významné ztráty úrody. Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity toxigenních vláknitých mikroskopických hub a jsou považovány za jedny z nejzávažnějších přírodních kontaminantů, jejichž výskyt může každoročně kolísat (Malíř, Ostrý, 2003). Odhaduje se, že toxigenními vláknitými mikroskopickými houbami je kontaminováno přibližně 25 % zemědělských plodin. V současnosti je identifikováno více než 400 mykotoxinů (Etzet, 2002), z toho v lidském okolí se ve významných množstvích vyskytuje přibližně 20 mykotoxinů (Malíř, Ostrý, 2003). I když nejsou mykotoxiny tak toxické jako např. botulotoxin (Patočka, 2010), je třeba jim věnovat příslušnou pozornost. O tom, že nás mykotoxiny provázejí od vývoje lidského rodu, není pochyb.

Už ve Starém zákoně v Bibli se podle některých badatelů objevují zmínky o ergotismu (Schoental, 1984). Ergotismus, vzniklý kontaminací žita námelem, si r. 944 ve Francii, v oblastech Akvitánie a Limoges, vyžádal na 40 000

lidských životů (onemocnění známé jako „Mal des Ardents“) (Baudrimont, 1995).

Nástup opravdového vědeckého bádání na poli mykotoxinů se datuje rokem 1960, kdy byly ve Velké Británii „objevyeny aflatoxiny“, poté co způsobily úhyn asi 100 000 kusů vánočních kroců krměných moučkou z brazilské podzemnice olejné (Heathcote, Hibbert, 1978). Onemocnění způsobená aflatoxiny jsou především charakterizována chorobami jater. Není pochyb, že ještě dnes jsou např. aflatoxiny příčinou chorob, utrpení a smrti, a to zvláště v tropických a subtropických rozvojových zemích. Akutní toxické účinky aflatoxinů jsou v současnosti pozorovatelné pouze ve výjimečných situacích. Přesto ale k akutním intoxikacím dochází. Mezi známé otravy, způsobené např. aflatoxiny, patří otrava z r. 1988 v Malajsii, kdy během pořádání čínské slavnosti zasvěcené „Bohům devíti císařů“ zemřelo 13 dětí z celkem 45 osob, které požíly nudle kontaminované aflatoxiny (Chao et al., 1991). K jedné z nejtěžších otrav aflatoxiny pak došlo v dubnu 2004 v Keni. Bylo prokázáno 317 případů akutních a subakutních otrav s následkem 125 úmrtí po konzumaci aflatoxiny kontaminované kukuřice (Lewis et al., 2005).

Toxické účinky aflatoxinů na lidské (a zvířecí) zdraví jsou *akutní* s rychlým nástupem a jasně viditelnou toxickou odpovědí, kdy se příznaky zasažení organismu aflatoxiny podle rychlosti rozvoje klinického obrazu otravy projeví buď bezprostředně, nebo jako *chronické* – charakterizované nízkodávkovou expozicí v dlouhém časovém období (Bennet, Klich, 2003). I když kvůli globalizaci potravinového trhu může i u nás dojít k akutním expozicím aflatoxinů, jsou v našich podmínkách aflatoxiny nebezpečnější spíše z důvodu tzv. pozdních následků (mezi něž patří vznik nádorových onemocnění apod.), způsobených spíše jednorázovými nebo dlouhodobými expozicemi nízkým hladinám aflatoxinů z potravinového řetězce (Malíř, Ostrý, 2003). Je známo, že aflatoxiny účinkují na organismus i tzv. bezprahovým působením, a tedy neexistuje žádná bezpečná hladina expozice, což se týká jejich karcinogenních (s latencí cca 20 až 30 let) a z tzv. genotoxických účinků ještě mutagenních a teratogenních účinků (Klaassen, 2008). I nízké koncentrace aflatoxinů v potravinách (jako např. 1 ng/kg t.hm/den a nižší) mohou být příčinou vzniku nádorů jater. Pouze „nulová“ expozice aflatoxinům zaručuje nulové riziko vzniku nádorů. Bylo také prokázáno, že konzumace aflatoxinu B₁ v kukuřici a potravinách na arašídovém základě byla z hlediska rizika rakoviny jater významnější oproti přívodu aflatoxinu M₁ v mléce a mléčných výrobcích (Weidenbörner, 2001).

Toxický vliv aflatoxinů na zdraví lidí (zvířat) závisí především na jejich toxicitě, velikosti a délce expozice, věku a stavu výživy, individuálním zdravotním stavu člověka (zvířete) nebo na případném synergistickém spolupůsobení dalších chemických látek, kterým je jedinec vystaven (Stejskalová, 2011). Pozornost této práce je zaměřena především na aflatoxikózy, patologické stavy způsobené aflatoxinem B₁, který vykazuje škodlivý vliv na lidský (ale i zvířecí) organismus, vyvolává onemocnění, popřípadě smrt (Malíř, Ostrý, 2003). Aflatoxikózy mohou být jak akutní, tak chronické.

Obecně jsou v rozvinutých a vyspělých zemích u lidské populace menší expozice aflatoxinům než v rozvojových zemích. Ve vyspělých zemích jsou dostupné četné, bohaté a diverzifikované potravinové zdroje, dále ochranné technologie (včetně analýzy kritických bodů) a strojové zpracování surovin a potravin a konečně se

provádí i pravidelná kontrola kvality potravin na obsah aflatoxinů včetně jejich regulace a případné restrikce s cílem minimalizovat dietární expozici a zdravotní dopady především u člověka (tzv. řízení rizika) (Malíř, Ostrý, 2003; Wu, 2004).

Producenti aflatoxinů

Při produkci aflatoxinů se uplatňují především vláknité mikroskopické houby rodu *Aspergillus* ze sekce *Flavi*, např. *Aspergillus bombycis*, *A. flavus*, *A. nomius*, *A. parasiticus*, *A. pseudotamarii*, *A. zhaoqingensis*. Bylo prokázáno, že v tropických a subtropických oblastech jsou aflatoxiny produkovány především toxinogenními vláknitými mikroskopickými houbami *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*, které patří mezi toxinogenní vláknité mikroskopické houby s celosvětovou důležitostí. Za určitých podmínek (vlhkost, teplota) *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus* rostou a tvoří aflatoxiny téměř na každém organickém substrátu (včetně všech zemědělských komodit), z toho aflatoxin B₁ se vyskytuje nejvíce (Malíř, Ostrý, 2003). Suroviny rostlinného původu jsou nejdůležitější potenciální zdroje aflatoxinů ve výživě ve srovnání s potravinami živočišného původu. Potravin vyrobene z kukuřice, arašídů, dalších ořechů a dále vybrané koření jsou více náchylné ke kontaminaci aflatoxinů. Obiloviny (ječmen, žito, rýže a oves) a sójové boby nejsou v našich podmínkách hlavním zdrojem dietární expozice aflatoxinům, pokud jsou vhodně skladovány a nedojde-li k sekundární kontaminaci (Weidenbörner, 2001; Malíř, Ostrý, 2003).

Chemická charakteristika aflatoxinů

Aflatoxiny jsou polycyklické, nenasycené, vysoce substituované kumariny. Postupně byly identifikovány 4 přirozeně se vyskytující typy aflatoxinů, a to aflatoxin B₁ (dále AFB₁), AFB₂, AFG₁ a AFG₂. Dosud bylo identifikováno přibližně 20 aflatoxinů (např. AFB₁, AFB₂, AFB_{2a}/AFB₁ hemiacetyl, aflatoxin W/, AFB₃/parasitikol/, AFD₁, AFG₁, AFG₂, AFG_{2a}, AFGM₁, AFM₁, AFM₂, AFM₄, AFP₁, AFQ₁, AFR₀/aflatoxikol/) (Weidenbörner, 2001).

AFB₁ je nejvýznamnější z aflatoxinů, nejčastěji se vyskytuje v potravinách a krmivech a je považován za nejvíce karcinogenní (Klaassen, 2008).

AFB₁

CAS (Chemical Abstracts Services Registry)
No.: 1162-65-8

Název podle Chemical Abstracts: (6aR-*cis*)-
2,3,6a,9a-tetrahydro-4-methoxy-cyclopenta[c]
furo[3' 2':4,5]furo[2,3-*b*][1]benzopyran-1,11-dione

Jiný název: 6-methoxydifurokumaron

Sumární vzorec: C₁₇H₁₂O₆

Molekulová hmotnost: 312,3

Obrázek 1 Strukturní vzorec AFB₁

Toxické účinky AFB₁

Mezi hlavní toxické účinky AFB₁ patří hepatotoxicita, imunotoxicita, mutagenita, karcinogenita, teratogenita (Malíř, Ostrý, 2003). Játra jsou primární cílový orgán po dietární expozici AFB₁. Otravy AFB₁ se u lidí poměrně obtížně diagnostikují. První klinické příznaky jsou anorexie, pocity neklidu, horečka s nízkými teplotami, úbytky hmotnosti. AFB₁ je spojen s hepatocelulárním poškozením a nekrózou, cholestázou, periportální fibrózou, hemoragií, žloutenkou, steatózou jater, dále např. jaterní cirhózou u špatně živěných dětí a onemocněním Kwashiorkor. Je také prokázán transplacentární přenos AFB₁ na lidský zárodek (Magnipudy, Mehendale, 2005). Vzestup sérové alkalické fosfatázy je dobrý indikátor toxicity AFB₁ (Wild, Turner, 2002; Mishra, Das, 2003). Akutní aflatoxikóza může progradovat až do letální akutní hepatitidy se zvracením, bolestí břicha, hepatitidy až smrti (Etzel, 2002). Akutní letální dávka pro dospělého údajně činí 10–20 mg AFB₁ (Pitt, 2000). Akutní toxicita AFB₁ je velmi dobře zdokumentovaná, nicméně je třeba si uvědomit, že mnohem větší globální riziko představuje riziko chronické expozice AFB₁ pro navození primárního hepatocelulárního karcinomu (Charlton, Holstege, 2010). U chronické aflatoxikózy do-

chází k rozvoji rakoviny, potlačení imunity aj. pomalým patologickým účinkům (Hsieh, 1988). V rozvojových zemích je výskyt rakoviny jater mnohem vyšší ve srovnání s rozvinutými zeměmi (Henry et al., 1999; Pitt, 2000; Bennett, Klich, 2003). V rozvojových zemích riziko karcinomu jater významně koreluje s dietárním přívodem AFB₁ (Pitt, 2000). Aflatoxikózu může zesílit vitaminová deficeience (např. pyridoxinu), podvýživa, alkoholismus a infekční onemocnění (Malíř, Ostrý, 2003). Je odhadováno, že celosvětově je exponováno AFB₁ prostřednictvím dietární expozice přibližně 4,5 miliardy lidí (Williams et al., 2004) a na základě epidemiologických studií ve světě umírá více než 600 000 lidí na rakovinu jater, především v Číně, jihovýchodní Asii a subsaharské Africe, v těchto oblastech navíc často dochází k synergickému kokarcinogennímu spolupůsobení s hepatitidou typu B (Henry et al., 2002; Grintborg et al., 2006; Parkin, 2006; Kew, 2010). Je odhadnuto, že riziko karcinomu se zvyšuje 10× vlivem AFB₁ a infekční hepatitida typu B zvyšuje rizikový faktor také 10×. Jestliže však uvedené faktory spolupůsobí současně, zvyšuje se riziko karcinomu až 100× (Philp, 2001). Naopak synergické spolupůsobení není zatím prokázáno u hepatitidy typu C a AFB₁ (Kuang et al., 2005;

Chen et al., 2007). Také cirhóza účinkuje jako promotor v hepatokarcinogeneze (Kew, Popper, 1984). U 80–95 % pacientů v rozvinutých průmyslových zemích se rozvíjí nádor jater u cirhotických jater (Kew, Popper, 1984; Fattovich et al., 2004), způsobených především alkoholismem a chronickou hepatitidou (Kew, 2010).

Toxikokinetika aflatoxinu B₁

U lidí je AFB₁ velmi dobře absorbován a dostává se do krve, odkud je rychle eliminován (Magnipudy, Mehendale, 2005); 65 % vstupní dávky AFB₁ je odstraněno z krve během 90 min. a vyloučí se primárně do žluče. Plazmatický poločas AFB₁ je krátký. Na lidském homogenátu jater byl odhadnut poločas AFB₁ přibližně na 13 minut. AFB₁ je metabolizován mikrozomálními cytochrom P-450 dependentními oxidázami na aktivní metabolit AFB₁-8,9-epoxid, který je velmi reaktivní formou (Magnipudy, Mehendale, 2005). Experimenty zrealizované na lidských jaterních mikrozomálních preparátech potvrzují, že cytochrom P450 (Cyp) 3A4 je z velké části zodpovědný za metabolizaci AFB₁ na genotoxický metabolit 8,9-*endo*-epoxid. Cyp1A2 tvoří také tento epoxid, ale méně aktivně a navíc rovněž tvoří i jiné negenotoxické metabolity, proto může hrát roli v detoxifikaci. Bylo experimentálně potvrzeno, že α -naftoflavon, inhibitor Cyp1A2, zvýšil tvorbu 8,9-epoxidu. *Exo*-epoxid AFB₁ (např. tvořený již před příjmem požitím) je detoxifikován konjugací s glutathionem (Philp, 2001). Studie *in vitro* jaterního metabolismu prokázaly 5 různých typů metabolických přeměn AFB₁, a to redukci, hydroxylaci, hydrataci, *O*-demetylací a epoxidací. Všechny tyto metabolity obsahují hydroxidové skupiny, což jim umožňuje detoxifikaci konjugací s kyselinou glukuronovou a sulfáty (Magnipudy, Mehendale, 2005). Po orálním, intraperitoneálním nebo intravenózním příjmu se AFB₁ kumuluje v játrech. Majoritní exkreční cesta je žlučový systém, minoritní množství se vylučuje ledvinami (Pitt et al., 2000).

Toxicita AFB₁

AFB₁ je biologicky nejvýznamnější aflatoxin pokládáný za jeden z nejsilnějších přirozených známých karcinogenů (Pitt, 2000; Pitt et al., 2000; Weidenbörner, 2001), přinejmenším tak

silný jako tetrachlordibenzo-p-dioxin, což bylo prokázáno v experimentálních studiích na zvířatech (Philp, 2001). Je akutně toxický pro všechny studované druhy s LD₅₀ v rozsahu od 0,5 mg/kg u kachně až do 60 mg/kg u myši. K úmrtí dochází vlivem hepatotoxicity (Wogan, 2000). Toxickou a karcinogenní sloučeninou se AFB₁ zejména stává po metabolické aktivaci mikrozomálními cytochrom P-450 dependentními oxidázami (Pitt et al., 2000) na aktivní metabolit AFB₁-8,9-epoxid. Tato forma je velmi reaktivní. Meziidruhové rozdíly jsou v reakci na expozici AFB₁ a aflatoxinů celkově dány částečně i rozdíly v biotransformaci a citlivosti na iniciační biochemické poškození (Monroe, Eaton, 1987; Klaassen, 2008). Experimentálně je prokázáno, že meziidruhové rozdíly v toxicitě jsou odpovědné rozdíly v rychlosti a rozsahu konjugace s glutathionem. Zatímco jaterní cytosol potkanů je konjugovaný na *endo*-epoxid, myši jaterní cytosol je téměř výhradně konjugovaný s *exo*-epoxidem a oba byly aktivnější než cytosol lidských jaterních buněk. Mukózní buňky střeva také vytvářejí 8,9-epoxid, ale protože se často odlupují, tak to nepředstavuje rizikový faktor pro vznik nádoru (Philp, 2001). IARC označil AFB₁ za lidský jaterní karcinogen (Wogan, 2000). U inhalačních expozic AFB₁ bylo navíc prokázáno zvýšené riziko plicního karcinomu (Van Vleet et al., 2002).

Mechanismus toxického účinku AFB₁

AFB₁ a jeho metabolity se váží na DNA i proteiny, z čehož plynou jejich toxické účinky (Pitt 2000; Bennett, Klich 2003; Klaassen, 2008). AFB₁ se slučuje s DNA (preferenčně se váže na pozici N⁷-guaninu) a potlačuje DNA a RNA syntézu, což vede ke strukturálním změnám v buňce jádérka a snížení syntézy proteinů. Tvorba reaktivních DNA aduktů pak způsobuje rakovinu (Miller, 1978; IARC, 2002; Klaassen, 2008). Mechanismus karcinogeneze – vznik primárního hepatocelulárního karcinomu po dietární expozici AFB₁ je zřejmě způsoben bodovou mutací kodonu 249 tumor supresorového genu *p53* (Pitt, 2000; Malíř, Ostrý, 2003). IARC WHO klasifikuje AFB₁ jako prokázaný karcinogen (IARC, 1998). Příklady vybraných akutních aflatoxikóz způsobených dietární expozicí především AFB₁ jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1 Příklad vybraných akutních aflatoxikóz způsobených dietární expozicí AFB₁

Koncentrace toxinu/země	Dietární expozice zdroj/délka expozice	Počet zasažených/ zemřelých	Příznaky	Histopatologické nálezy jater	Literatura
1,7 mg/kg/Uganda	Maniok jedlý/ 5–30 dní	1/1	bolesti břicha, edém dolních končetin (DK), nekróza, hmatná játra, na EKG prolongace P-R intervalu, blokáda pravého raménka, smrt	centrilobulární polymorfojaderná infiltrace a fibrin v sinusoidách, steatóza jater	Serck-Hanssen, 1970
6,25–15,6 mg/kg/Indie	kukuřice/více než 1 měsíc	397/106	krátká horečnatá epizoda, vomitus, anorexie, edém DK, žloutenka, ascites břicha, masivní GIT krvácení, smrt	proliferace žlučovýchodů s peridukální fibrózou, mnohojaderné obrovské buňky, zpevněná cytoplazma, cholestáza ve žlučovýchoděch, dilatace žlučových kanálků	Krishnamachari et al., 1975a, b
0,01–1,1 mg/kg/Indie	kukuřice/několik týdnů	994/97	horečka, zvracení, edém dolních končetin, žloutenka, ascites břicha, hepatomegalie, splenomegalie, smrt	cholangiolární proliferace, perivenozní kolagenóza, uprávání cév, rozsáhlá fibróza, obrovská buněčná transformace hepatocytů, mírná až silná cholestáza a proliferace cholangiolů	Tandon et al., 1977
3,2–12 mg/kg/Keňa	kukuřice/několik týdnů	20/12	krátká horečnatá epizoda, vomitus, břišní nevolnosti, anorexie, žloutenka, edém DK, ascites, tachykardie smrt	výrazná centrilobulární nekróza, lehká tuková infiltrace, žádná proliferace žlučovýchodů	Ngindu et al., 1982
1,6–2,7 mg/kg/Keňa			zvětšená citlivost jater, melena, GIT krvácení		
Čistý AFB ₁ celková dávka 5,5 mg/USA	mladá žena – pokus o sebevraždu/2 dny	1/0	nesvědivá skvrnitá vyrážka, pocity na zvracení, bolesti hlavy	biopsie – normální nález	Willis et al., 1980
opět za 6 měsíců Čistý AFB ₁ celková dávka 35 mg/USA	mladá žena – znovu pokus o sebevraždu/14 dní	1/0	nauzea	Pozn.: ani za 14 let nebyly potvrzeny žádné příznaky onemocnění nebo pokazení – mnohonásobným laboratorním testováním krve, moči, počítačovou tomografií, ultrazvukovými metodami – játra, břicho, slezina – normální nálezy	
?/Malajsie	nudle „Loh See Fun“ / akutní expozice dětí	45/13	vomitus, průjem, bolesti břicha, anorexie, delší horečnatý stav, záchvaty, závratě, kóma, smrt	rozsáhlá nekróza jater, proliferace žlučovýchodů – metaplasie, obrovské buňky, stáza žluče, steatóza, žilní skleróza	Chao et al., 1991
1 ug/kg–46 mg/kg/Keňa	kukuřice/1–3 týdny 55 % vzorků >20 ug/kg 35 % vzorků >100 ug/kg 7% vzorků >1 mg/kg	317/125	anorexie, pocit neklidu, mírná horečka, vomitus, bolesti břicha, žloutenka, prudce probíhající poškození jater, smrt	–	Aziz-Baumgartner et al., 2005; Lewis et al., 2005

Možnosti prevence a terapie

Oltipraz (4-methyl-5-[2-pyrazinyl]-3H-1,2-dithiol-3-thion; obr. 2) je originálně vyvinuté léčivo k léčbě schistosomiázy. V experimentálních studiích na zvířatech (např. u hlodavců a jiných druhů) bylo prokázáno, že blokuje a snižuje tvorbu aduktů aflatoxinů (např. DNA aduktů) a hepatokarcinogenezu (Roebuck et al., 1991; Groopman et al., 1992; Kensler et al., 1997; Li et al., 2000) a vykazuje anticirhotické účinky (Kim et al., 2011). U zvířat dále protektivně účinkuje proti chemicky navozené karcinogenezi

v plicích, průdušnici, žaludku, střevu, prsu, kůži, játrech a močovém měchýři (Kensler et al., 1992). Protektivní účinek léčiva spočívá v indukci elektrofilních detoxifikačních enzymů, např. glutathion-S-transferasy (Morel et al., 1993; Kensler et al., 1997) a následně vede např. ke zvýšené močové exkreci AFB₁-merkapturová kyselina (derivát glutathionového konjugátu), což bylo konkrétně prokázáno v randomizované epidemiologické studii u obyvatelstva města Qidongu, v provincii Jiangsu, v ČLR (Kensler et al., 2011).

Obrázek 2 Strukturální vzorec oltiprazu

Vedle modulace metabolismu aflatoxinu zamezuje oltipraz tvorbě (či snižuje tvorbu) reaktivního AFB₁-8,9-epoxidu inhibicí cytochromu P-450 1A2 (Langouët et al., 1995) nebo zvyšuje rozklad reaktivního AFB₁-8,9-epoxidu a dále indukuje 2. fázi biotransformace – konjugaci a detoxikaci (Helzlsouer, Kensler, 1993; Glintborg et al., 2006). Jako nadějně léčivo se jeví i pro léčbu perorální a inhalační intoxikace AFB₁ a také plicního karcinomu (Charlton, Holstege, 2010).

Poměrně nedávno byla provedena a publikována 24týdenní randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná pilotní klinická studie fáze II (vysvětl.: v této fázi klinického zkoušení jde o ověření bezpečnosti a předpokládaného terapeutického účinku léčivého přípravku u nemocných) s cílem předběžně prošetřit účinnost léčby oltiprazem u fibrózy jater a jaterní cirhózy (Kim et al., 2011). U pacientů léčených oltiprazem došlo ke snížení krevního markeru fibrózy-TGF-β1 (tzv. transformujícího růstového faktoru β1) a zvýšení histopatologického indexu jaterní fibrózy a celkově ke zlepšení nálezů u fibrózy (Kim et al., 2011). Na zvířecích modelech a v klinických studiích bylo zjištěno, že značné množství oltiprazu je metabolizováno

na pyrrolopyraziny, např. M2, tj. 7-methyl-6,8-bis(methylthio)H-pyrrolo [1,2 α] pyrazin. Studie zkoumala s ohledem na hypoxii, zda pyrrolopyrazinové metabolity oltiprazu inhibují indukcii HIF-1 α (faktor růstu nádoru). Právě M2 s pyrrolopyrazinovou strukturou a jeho 7-ethyl kongener tuto schopnost vykazují (Kang et al., 2012).

LITERATURA

1. Azziz-Baumgartner E, Lingblade K, Giesecker K, Rogers HS, Kieszak S, Njapau H, Schleicher R, McCoy LF, Misore A, De Cock K, Rubin K, Slutsker L (2005). Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. *Environ. Health Perspect.* 113/12: 1779–1783.
2. Baudrimont I (1995). Variation de la nephrotoxicité de l'ochratoxine A sous l'effet de facteurs métaboliques et nonmétaboliques. Thèse pour le Doctorat (No. 2). Bordeaux, Université II. France. p. 1–236.
3. Bennett JW, Klich M (2003). Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.* 16/3: 497–516.
4. Etzel R (2002). Mycotoxins. *J Am Med Assoc.* 287/4: 425–427.
5. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F (2004). Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology.* 127/2: 35–50.
6. Glintborg B, Weimann A, Kensler TW, Poulsen HE (2006). Oltipraz chemoprevention trial in Qidong, People's Republic of China: Unaltered oxidative biomarkers. *Free Radical Biol Med.* 41/6: 1010–1014.

7. Groopman JD, De Matos P, Egner PA, Love-Hunt A, Kensler TW (1992). Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-N-7guanine and serum aflatoxin-albumin adducts predicts chemoprotection by 1,2-dithiole-3-thione in rats. *Carcinogenesis*. 13/2: 101–106.
8. Heathcote JG, Hibbert JR (1978). Aflatoxins: chemical and Biological Aspects. Pathological effects. Elsevier Scientific Publishing Compan. Amsterdam. Oxford, New York, 1. ed. p. 83–111.
9. Helzlsouer KJ, Kensler TW (1993). Cancer chemoprotection by oltipraz: experimental and clinical considerations. *Prev Med*. 22/5: 783–795.
10. Henry SH, Bosch FX, Troxell TC, Bolger PM (1999). Reducing liver cancer – global control of aflatoxin. *Science*. 286/5449: 2453–2454.
11. Henry SH, Bosch FX, Bowers JC (2002). Aflatoxin, hepatitis and worldwide liver cancer risks. In: DeVries JW, Trucksess MW, Jackson LS (ed.). *Mycotoxins and food safety*. Kluwer Academic/Plenum Publications. New York, p. 229–320.
12. Hsieh D (1988). Potential human health hazards of mycotoxins. In: Natori S, Hashimoto K, Ueno Y (ed.). *Mycotoxins and phytotoxins*. Third Joint Food and Agriculture Organization/W.H.O./United Nations E. Program International Conference of Mycotoxins. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, vol. 988, p. 69–80.
13. Chao TC, Maxwell SM, Wong SY (1991). An outbreak of aflatoxicosis and boric acid poisoning in Malaysia: a clinicopathological study. *J. Pathol*. 164/3: 225–233.
14. Charlton NP, Holstege ChP (2010). The Myco-Agents of Bioterrorism. In: Rai M, Varma A (eds.). *Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p. 357–359.
15. Chen CH, Wang MH, Wang JH, Hung CH, Hu TH, Lee SC, Tung HD, Lee CM, Changchien CS, Chen PF, Hsu MC, Lu SN (2007). Aflatoxin exposure and hepatitis C virus in advanced liver disease in a hepatitis C virus endemic area in Taiwan. *Am. Trop. Med. Hyg.* 7/7: 674–752.
16. IARC (International Agency for Research on Cancer) (1998). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Lists of IARC evaluations. IARC, Lyon, p.1–41.
17. IARC (International Agency for Research on Cancer) (2002). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Lyon, France. IARC Press. p. 171.
18. Kang SG, Lee WH, Lee YH, Lee YS, Kim SG (2012). Hypoxia inducible factor-1 α inhibition by a pyrrolopyrazine metabolite of oltipraz as a consequence of micro RNAs ^{199a-5p} and ^{20a} induction. *Carcinogenesis*. 2012. doi.org/10.1093/carcin/bgr320.
19. Kensler T, Styczynski P, Groopman J, Helzlsouer K, Curphey T, Maxuitenko Y, Roebuck BD (1992). Mechanisms of chemoprotection by oltipraz. *J. Cell Biochem. Suppl*. 161: 167–172.
20. Kensler TW, Gange SJ, Egner PA, Dolan PM, Munoz A, Groopman JD, Rogers AE, Roebuck BD (1997). Predictive value of molecular dosimetry: individual versus group effects of oltipraz on aflatoxin – albumin adducts and risk of liver cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 6/8: 603–610.
21. Kensler TW, Roebuck BD, Wogan GN, Groopman JD (2011). Aflatoxin: A 50-year odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Tox Sci*. 120/S1: 28–48.
22. Kew MC (2010). Interaction Between Aflatoxin B1 and Other Risk Factors in Hepatocarcinogenesis. In: Rai M, Varma A (eds.). *Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, p. 93–111.
23. Kew MC, Popper H (1984). Relationship between hepatocellular carcinoma and cirrhosis. *Semin Liv Dis*. 4: 136–146.
24. Kim SG, Kim YM, Choi JY, Han JY, Jang JW, Cho SH, Um SH, Chon ChY, Lee DH, Jamg JJ, Yu E, Lee YS (2011). Oltipraz therapy in patients with liver fibrosis or cirrhosis: a randomized, double blind, placebo-controlled phase II trial. *Jof Pharmacy and Pharmacology*. 63/5: 627–635.
25. Klaassen CD (2008). Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons. McGraw-Hill. Medical Publishing Division, New York, Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, San Juan, Seoul, Singapore, Sidney, Toronto, 7th edition, p. 1219–1220.
26. Krishnamachari KAVR, Bhat RV, Nagarajan V, Tilak TBG (1975a). Hepatitis due to aflatoxicosis – An outbreak in western India. *Lancet*. 1/1–2: 1061–1063.
27. Krishnamachari KAVR, Bhat RV, Nagarajan V, Tilak TBG (1975b). Investigations into an outbreak of hepatitis in parts of Western India. *Indian. J. Med. Research*. 63/5: 1036–1048.
28. Kuang SY, Lekawanvijit S, Maneenkarn N, Thongswat S, Brodovicz K, Nelson K, Groopman JD (2005). Hepatitis B 762T/1764A mutations, hepatitis C infection and codon 249 p53 mutations in hepatocellular carcinomas in Thailand. *Cancer Epidemiol. Biomarkers*. 14/5: 380–384.
29. Langouet S, Coles B, Morel F, Becquemont L, Beaune P, Guengerich FP, Ketterer B, Guillouzo A (1995). Inhibition of CYP1A2 and CYP3A4 by oltipraz results in reduction of aflatoxin B1 metabolism in human hepatocytes in primary culture. *Cancer Res*. 55/3: 5574–5579.
30. Lewis L, Onsongo M, Njapau H, Schurz-Rogers H, Lubber G, Kieszak S, Nyamongo J, Backer L, Dahiye AM, Misore A, DeCock K, Rubin C (2005). Kenya Aflatoxicosis Investigation Group. Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. *Environ. Health Perspect.* 113/12: 1763–1767.
31. Li Y, Su J, Qin L, Egner PA, Wang J, Groopman JD, Kensler TW, Roebuck BD (2000). Reduction of aflatoxin B(1) adduct biomarkers by oltipraz in the tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*). *Cancer Lett*. 154/2: 79–83.
32. Magnipudy RJ, Mehendale HM (2005). Aflatoxins. In: Wexler P, Anderson B, de Peyster A et al. (eds.). *Encyclopedia of Toxicology*, Elsevier, Academic Press. 2nd edition, 1: 54–55.
33. Malíř F, Ostrý V (eds.) (2003). *Vlákňité mikromycety (plísňě), mykotoxiny a zdraví člověka*. NCO NZO, Brno, s. 5–349.

34. Miller EC (1978). Some current perspectives on chemical carcinogens in human and experimental animals: Presidential address. *Cancer Res.* 38/7: 1479–1483.
35. Mishra HN, Das CA (2003). A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 43/3: 245–264.
36. Monroe DH, Eaton DL (1987). Comparative effects of butylated hydroxyanisole on hepatic *in vivo* DNA binding and *in vitro* biotransformation of aflatoxin B1 in the rat and mouse. *Toxicol Appl Pharmacol.* 90/3: 401–402.
37. Morel F, Fardel O, Meyer DJ, Langouet S, Gilmore KS, Meunier B, Tu CP, Kensler TW, Ketterer B, Guillouzo A (1993). Preferential increase of glutathione S-transferase class alpha transcripts in cultured human hepatocytes by fenobarbital 3-methylcholanthrene, and dithiolethiones. *Cancer Res.* 53/5: 231–234.
38. Ngindu A, Johnson BK, Kenya PR, Ngira JA, Ocheng DM, Nandwa H, Omondi TN, Jansen AJ, Ngare W, Kawiti JN, Gatei D, Singok TA (1982). Outbreak of acute hepatitis by aflatoxin poisoning in Kenya. *Lancet.* 1/5: 1346–1348.
39. Parkin DM (2006). The global health burden of infection – associated cancers in the year 2002. *Int. J. Cancer.* 118/12: 3030–3044.
40. Patočka J (2010). Trendy v terapii botulismu. *Kontakt.* 12/2: 207–211.
41. Philp RB (2001). Aflatoxins. *Ecosystems and Human Health. Toxicology and Environmental Hazards.* Lewis Publishers, CRC Press LLC, Boca Raton, London, New York, Washington, 2nd edition, p. 227–228.
42. Pitt JI (2000). Toxigenic fungi: which are important? *Med. Mycol. Supplement.* 38/1: 17–22.
43. Pitt JI, Basílico JC, Abarca ML, Lopez C (2000). Mycotoxins and toxigenic fungi. *Med Mycol. Supplement.* 38/1: 41–46.
44. Roebuck BD, Liu YL, Rogers AE, Groopman JD, Kensler TW (1991). Protection against aflatoxin B₁-induced hepatocarcinogenesis in F344 rats by 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiole-3-thione (oltipraz): predictive role for short-term molecular dosimetry. *Cancer Res.* 51/9: 5501–5506.
45. Serck-Hanssen A (1970). Aflatoxin-induced fatal hepatitis? A case report from Uganda. *Archives of Environmental Health.* 20/7: 729–731.
46. Schoental R (1984). Mycotoxins and the Bible. *Perspect. Biol. Med.* 28/1: 117–120.
47. Stejskalová G (2011). Vybrané mykotoxiny a jejich případný vliv na lidské zdraví. *Bakalářská práce.* Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, p. 1–43.
48. Tandon BN, Krishnamurthy L, Koshy A, Tandon HD, Ramalingaswami V, Bhandari JR, Mathur MM, Mathur PD (1977). Study of an epidemic of jaundice presumably due to toxic hepatitis in North West India. *Gastroenterology.* 72/7: 488–494.
49. Van Vleet TR, Klein PJ, Coulombe RA (2002). Metabolism and cytotoxicity of aflatoxin b1 in cytochrome p-450-expressing human lung cells. *J Toxicol Environ Health. Part A.* 65/12: 853–867.
50. Weidenbörner M (2001). *Encyclopedia of Food Mycotoxins.* Springer: Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Paris, Singapore, Tokyo, p. 1–294.
51. Wild CP, Turner PC (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis.* 17/6: 471–481.
52. Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am. J. Clin. Nutr.* 80/5: 1106–1122.
53. Willis RM, Mulvihill JJ, Hoofnagle JH (1980). Attempted suicide with purified aflatoxin. *Lancet.* 3: 1198–1199.
54. Wogan GN (2000). Impacts of chemicals on liver cancer risk. *Semin Cancer Biol.* 10/3: 201–210.
55. Wu F (2004). Mycotoxin risk assessment for the purpose of setting international regulatory standards. *Environ Sci Technol.* 38/9: 4049–4055.

František Malíř, Vladimír Ostrý
frantisek.malir@uhk.cz