

SINDROM TOKSIČNOG ULJA

Š. Djarmati i D. Djarmati

Fakultet narodne odbrane, Beograd i Zavod za zaštitu zdravlja Srbije, Beograd

(Primljeno 28. XI. 1985)

Opisani su tok i karakteristike epidemije trovanja jestivim uljem u Španiji 1981. godine, poznatije kao sindrom toksičnog ulja (TOS). Data je patogenezna s opisom karakterističnih simptoma akutne i hronične faze bolesti. Hemijske analize eliminisale su čitav niz poznatih toksičnih agenasa i ukazale na anilide masnih kiselina kao najverovatnije uzročnike trovanja. S obzirom na to da su toksikološka istraživanja samo delimično potvrdila toksične osobine anilida, iznalaženje druge supstance ili supstanci, koje bi dale potpuniju sliku patogeneze sindroma toksičnog ulja, ostaje i dalje otvoreno.

Dramatični događaji vezani za trovanje jestivim uljem koji su u Španiji imali razmere epidemije, alarmantno su odjeknuli ne samo u Evropi nego i šire. Iako je otkrivanje uzročnika masovnog trovanja predstavljalo internacionalni izazov, on je do dana današnjih ostao nepoznat. Cilj ovog rada je da osim hronološkog pregleda događaja upozna sa simptomima trovanja i da informiše o dosadašnjim rezultatima istraživanja preduzetih radi otkrivanja specifične supstance ili supstanci, uzročnika toksičnog ulja (toxic oil syndrome - TOS).

TOK, KARAKTERISTIKE I GEOGRAFSKA LOKACIJA EPIDEMIJE

Epidemija trovanja toksičnim uljem bila je eksplozivna, nagla i masovna. Simptomi trovanja - bolesti prvi put su otkriveni 1. maja 1981. godine kod jednog osmogodišnjeg dečaka koji je ubrzo zatim umro od akutne plućne insuficijencije. Dečak je pripadao osmočlanoj madridskoj porodici u kojoj je od iste bolesti obolelo još šest članova (1).

Za razliku od nekih prethodnih slučajeva u kojima je mnogo više ljudi obolelo pre nego što se uspeo otkriti pravi uzrok, sindrom toksičnog ulja je odmah okarakterisan kao nova bolest.

O naglom toku epidemije TOS-a govori podatak po kojem je već 11. maja prijavljeno 150-200 slučajeva, dok je od 16. maja broj novih slučajeva rastao eksponencijalno. Epidemija je svoj vrhunac dostigla sredinom juna, kada se zdravstvenim ustanovama dnevno prijavljivalo oko 600 pacijenata. U toku maja i juna bilo je hospitalizovano 10.000 obolelih i registrovano 80 smrtnih slučajeva u akutnoj fazi bolesti (2).

Kao najverovatnije sredstvo trovanja ubrzo je naznačeno ilegalno prodavano de-denaturisano ulje repice, koje je odlukom španske vlade a na predlog Ministarstva zdravlja povučeno krajem juna 1981. godine i zamenjeno pravim maslinovim.*

Povlačenjem pomenutog ulja iz prometa epidemija je zaustavljena mada ne potpuno jer je i dalje otkriven određen broj hroničnih slučajeva.

U decembru 1982. godine broj registrovanih trovanja iznosio je 20.178. Tada je u bolnicama bilo još 85 pacijenata od kojih 10 na intenzivnoj nezi, dok je na rehabilitaciji bilo oko 2.250 otrovanih. Epidemija je odnela 336 ljudskih života (3).

Sumiranjem ostalih pokazatelja epidemije dolazi se do podataka koji govore o tome da je epidemijom bilo zahvaćeno ukupno 14 provincija severozapadno od španskog glavnog grada a da je u drugim delovima zemlje registrovano samo oko 200 slučajeva oboljenja. Broj otrovanih u seoskim bio je veći od broja otrovanih u gradskim sredinama. Epidemija je imala »porodični« karakter i nisu zabeležena trovanja na mestima masovne ishrane ljudi (restorani, fabričke menze). Uglavnom su obolevali pripadnici niže socijalno-ekonomske grupacije ali vrlo retko najsiromašniji sloj i Romi. Žene su obolevale češće (60%) a najveći broj slučajeva zabeležen je u starosnoj grupaciji od 30 do 60 godina, dok u uzrastu ispod 6 meseci oboljenje nije registrovano (2).

PATOGENEZA I KLINIČKI ZNACI TOS-a

Većina istraživača smatra da je toksični agens dospavao u organizam gastrointestinalnim traktom ili kombinovano, preko gastrointestinalnog i respiratornog trakta. Latentni period (inkubacija) od konzumiranja toksičnog ulja do pojave prvih simptoma varirao je u zavisnosti od unete količine i učestalosti konzumiranja ulja (2). Kod odraslih iznosio je 7-10 dana a kod dece 3-4 dana. Toksičnost ulja zavisila je i od oblika u kome je konzumirano. Upotrebljeno u salati bilo je toksičnije i bržeg dejstva od onog zagrejanog, što je u skladu sa rezultatima istraživanja (4) koji ukazuju na smanjenu toksičnost ulja nakon otparavanja izvrsnih supstanci pri zagrevanju ili njihovog termičkog razaranja, a time ujedno i objašnjavaju veću zastupljenost žena u epidemiji, koje su mogle tokom pripremanja jela direktno udisati isparljive komponente repičinog ulja.

TOS se akutno manifestovao najpre na plućima i koži (2). Izražena groznica, mialgija, limfadenopatija, eozinofilija i povišeni nivo imunoglobulina E (IgE) u prvom trenutku su upućivali na neku atipičnu eozinofilnu pneumoniju. Dalji razvoj kliničke slike i odsustvo pozitivnog mikrobiološkog nalaza ukazivalo je međutim da se radi o novoj bolesti. Nakon nekoliko meseci, kada su se razvili simptomi hroničnog sindroma toksičnog ulja, anoksična neuropatija, fibroza žlezda, sklerodermija, uočena je sličnost sa nekoliko već poznatih bolesti, kao što su hronična graft-versus-host bolest (GVHD – graft-versus-host disease), razni oblici vaskulitisa i toksična neuropatija (5).

Sprovedena istraživanja pretpostavljaju prvenstveno toksično dejstvo komponenata ulja, na koje se kasnije superponiraju alergijske manifestacije. U ovom smislu interesantna je spekulacija *M. Kamüllera* (6) koji povlači paralele između TOS-a i GVHD, sindroma izazvanog hemijskim faktorima (heterocikličnim supstancama tipa 1-fenil-5-vinil-2-imidazolidintiona, skraćeno fenilvinil-IZT). Ove heterocikličke supstance mogu nastati iz izocija-

* Ukupno su iz prometa povučene 3.000 tona ulja od koje količine veći deo nije imao nikakvih dodirnih tačaka sa toksičnim uljem.

nata u nerafinisanom repičinom ulju u prisustvu anilina. TOS se osim promena na plućima i koži akutno manifestovao i u vidu groznice i mialgije. Pored toga kao česti simptomi javljali su se povraćanje, glavobolja i dijareja (2).

U ovom stadijumu autopsije su ukazivale na difuzni septični edem, infiltraciju mononuklearnih ćelija, ljuštenje alveolarnog epitela, vaskularne promene, kao i promene na bubrežima u vidu difuznih endokapilarita i membranoproliferativnog i difuzno ekstrakapilarnog glomerulonefrita (8).

Akutna faza na koži se manifestovala egzantemom i edemom. Obrazi su često bili rumeni a u većini slučajeva promene na koži iščezavale su za desetak dana (7). Od imunoloških promena u akutnoj fazi registrovane su eozinofilija, povećanje IgE, povećana učestalost antinuklearnih, antipulmonalnih ili antilimfocitnih antitela i smanjenje broja T-limfocita (2).

U vreme trajanja akutne faze, gotovo 25% smrtnih ishoda uzrokovano je akutnom respiratornom insuficijencijom, a oko 20% pacijenata i pored terapije kortikosteroidima nije uspeo da se potpuno oporavi (9). Kod mnogih od ovih slučajeva dolazilo je s vremenom do razvoja plućne arterijske hipertenzije i respiratorne insuficijencije prouzrokovane slabošću respiratornih mišića (10).

Većina pacijenata oporavljala se spontano. Posle nedelju dana groznica bi iščezavala, a nestajale bi i radiografske promene na plućima.

U hroničnoj fazi je utvrđeno da i u plućima i u drugim organima dominiraju patološke promene na vaskularnom aparatu uz blage zapaljive procese čak i kod uznapredovalih slučajeva. Najozbiljniji razlozi hronične slabosti bili su neurološke prirode. Klinički znaci ukazivali su na bolove u mišićima i na njihovu slabost.

Mišići su bili pogođeni promenama u intersticijumu bez oštećenja samog parenhima, što potvrđuje blaga slabost i normalan nivo serumske kreatinin fosfokinaze. Ozbiljna oštećenja nervnog sistema ispoljavana su u hroničnoj fazi hipoksičnom neuropatijom ali bez značajnog oštećenja mijelina. Patološki, nervi su pokazivali vaskularne zapaljive promene praćene dubinskom intersticijalnom fibrozom. Infekcije nisu zabeležene. Dok se intersticijalne promene u mišićima i nervima najbolje mogu tumačiti vaskularnim promenama, većina simptoma objašnjiva je direktnim toksičnim dejstvom na neurone i njihove aksone (2).

Kod mnogih pacijenata razvijena je mialgija, arefleksija, parestezija i mišićna atrofija. S vremenom je mialgija polako nestajala, dok su se istovremeno grčevi i parestezija intenzivirali.

Mioklonus i tremor javljali su se u 25% slučajeva te stoga predstavljaju važne karakteristike celokupne slike bolesti u hroničnoj fazi sindroma toksičnog ulja.

U hroničnoj fazi su skoro svi oboleli ispoljavali i znake »sicca sindroma«. Njihova suva usta onemogućavala su normalno žvakanje i gutanje i time doprinosila razvijanju ozbiljnog, masovno zastupljenog karijesa.

Za vreme trajanja hronične faze razvijala su se i oštećenja na koži slična sklerodermiji (11), praćena stvaranjem kolagen antitela (12).

Kao što je već napomenuto, nivo kreatininske fosfokinaze u serumu je bio normalan i nisu uočene abnormalnosti u cerebrospinalnoj tečnosti, elektroencefalografiji i kompjuterskoj tomografiji mozga. Samo u 10% slučajeva biohemijski nalaz bio je poremećen zbog povećanja gama glutamil transpeptidaza, alkalne fosfataze i bilirubina (2). Hronična

faza koja se razvijala kod 5-15% pacijenata ostavila je otvoreno pitanje da li se adekvatnim lečenjem mogla sprečiti.

POREKLO I HEMIJSKA ANALIZA TOKSIČNOG ULJA

Potruga za toksičnim agensom jestivog ulja je dugo vremena bila bezuspešna. Istraživanja porekla ulja pokazala su da je uvezeno ulje repice (uvoznik je bila firma sa sedištem u San Sebastijanu) denaturisano za industrijske potrebe 2%-tnim anilinom u skladu sa važećim zakonskim propisima. Ovo ulje je zatim bilo de-denaturisano u dve male rafinerije u Madridu (50 tona) i Sevilji (60 tona), pri čemu je uklonjen gotovo sav anilin. Rafinisano ulje repice je zatim mešano sa 10 do 30% drugih semenskih ulja (među njima ulje semena grožđa), sa 30% životinjske masti i sa preko 5% maslinovog ulja lošijeg kvaliteta, ili sa hlorofilom u cilju postizanja željene boje. Prema postojećim podacima upotrebjeno je oko 100 tona rafinisanog ulja repice i ova količina poslužila je za pripremanje 250 tona finalne smeše, s obzirom na to da je ulje repice u njoj zastupljeno s oko 40%. Mešavina ulja prodavana je od strane uličnih i putujućih trgovaca u neetiketiranim plastičnim kanistrima zapremine 5 litara, i to kao maslinovo ulje (2).

Uzorci ulja podvrgnuti hemijskoj analizi sakupljeni su od strane sanitarnih inspektora ili su ih pak u laboratorije doneli rođaci otrovanih ili zabrinutih i uplašanih gradana.

Hemijske analize sprovedene u Nacionalnom centru za hranu i ishranu u Majadahondi, Institutu za masti i njihove derivate u Sevilji i u nekim poznatijim svetskim istraživačkim centrima, ukazale su na sledeće. Kao toksični agensi mogu se isključiti smeše mineralnih ulja slične onima koje su uzrokovala masovna trovanja u Maroku i na Jamajci i koje su sadržavale kontaminante tipa ortokrezol-fosfata. U ulju nisu nađeni ni mikotoksini, teški metali a ni anhidrid maleinske kiseline odgovoran za intoksikaciju margarinom u Holandiji (13). Kao toksični agensi odbačeni su i organofosfori insekticidi (zbog normalne aktivnosti holinesteraze), organohlorini insekticidi (zbog sasvim različite kliničke slike), parakvat (rastvorljiv u vodi), acetaldehid, anilin, nitrobenzol i ostale supstance koje uzrokuju methemoglobinemiju, jer ona nije konstatovana, kao i gorka ulja i cruka-kiselina čija je koncentracija bila ispod 0,5%.

Na osnovu analiza su kao mogući uzročnici trovanja eliminisane i komponente materijala plastičnih kontejnera (jer su se međusobno razlikovale) i mikotoksini, produkti gljivica semena grožđa. Takođe je odbačena i kombinacija dva agensa kao što su toksično ulje i mikoplazmatična infekcija zbog minimalnog dešavanja infekcije.

Posle ovih saznanja, kao mogući toksikanti razmatrani su anilidi masnih kiselina* (14) (pre svega zbog saopštenja o pojavi specifičnih IgE antitela kod nekih pacijenata), mada je sa teorijske tačke gledišta i na osnovu eksperimentalnih podataka jasno da pored njih mogu nastati i mnoga druga jedinjenja, naročito u prisustvu značajnih količina linoleinske kiseline, i to kako u procesu rafinacije tako i za vreme skladištenja finalnog proizvoda.

Rafinacija se odvijala u četiri stepena i dokazano je da obezbojavanje kao faza rafinacije dovodi do pojave proizvoda sa visokom toksičnošću. Naime, u Nacionalnom centru za hranu i ishranu u Majadahondi, *Pestana i Munoz* (15) su maseno-spektrometrijskom analizom identifikovali supstancu 2,5-dianilino-p-benzoiminohinon koja je veoma toksična za čelijske kulture i koja se može hidrolisati u benzohinonski derivat.

* Anilidi masnih kiselina nisu uklonjeni rafinacijom, mada je činjenica da su mogli nastati i za vreme skladištenja ulja repice koje je prodavano kao maslinovo ulje.

Moguće je da su toksični agensi nastajali i u toku pripremanja jela, jer je utvrđeno da se anilidi kiseline grejanjem mogu prevesti u fenilzocijanate ($C_6H_5-N=C=O$) za koje je pak ustanovljeno da mogu biti toksični za ćelijske kulture u koncentraciji od 10 mg/kg (16).

Analize ulja su pokazale da se sadržaj anilida masnih kiselina kao najverovatnijih toksičnih agenasa kreće u granicama od 1.000 do 2.000 mg/kg, dok su toksikološka istraživanja dokazala da miševi ispoljavaju određenu patološku reakciju posle intraperitonealnog injiciranja anilida masnih kiselina. Takođe je utvrđeno i to da ova jedinjenja ispoljavaju toksično dejstvo na CNS zečeva. Za razliku od ova dva eksperimenta – ostali nisu dali podršku efektima anilida masnih kiselina, tako da je pitanje njihove uloge u patogenezi sindroma toksičnog ulja ostalo otvoreno.

Noviji rezultati istraživanja ukazali su na neke nove moguće toksične agense kao što su to već pomenuti fenilvinil-IZT (6) ili oksidacioni proizvodi poput 4-hidroksinonenal-a (4).

Treba na kraju reći i to da neke komponente uljne smeše još nisu dovoljno detaljno proučene, tako da nalaz boljih indikatora toksičnosti od navedenih supstanci još uvek predstavlja naučni izazov.

Literatura

1. Tabuenca Oliver, J. M.: Toxic-allergic syndrome caused by ingestion of rapeseed oil denaturated with aniline, *Lancet*, 2 (1981) 567-568.
2. WHO, World Health Organization: Toxic oil syndrome. Report on a WHO meeting, Madrid, WHO, Geneva 1983.
3. Tabuenca Oliver, J. M. et al.: Algunos aspectos del estado actual de los conocimientos del síndrome tóxico. Nuevos archivos de la Facultad de Medicina, 41 (1983) 225-228 (cit. 2).
4. Wayman, E., Turner, E. W., Hill, R. H., Hannon, W. H., Bernet, J. T. Jr., Kilbourne, E. M., Bayse, D. D.: Bioassay Screening for Toxicants in Oil Samples from the Toxic-Oil Syndrome Outbreak in Spain, *Arch. Environ. Toxicol.*, 14 (1985) 261-271.
5. Posada de la Paz, M., Alonso Gordo, J. M., Castro García, M., Diaz de Rojas, F., Abuitua Borda, I., Tabuenca Oliver, J. M.: Toxic oil syndrome, scleroderma and eosinophilic fasciitis. *Arthritis Rheum.*, 27 (1984) 1200.
6. Kammüller, M. E., Penninks, A. H., Seinen, W.: Spanish Toxic Oil Syndrome and Chemically Induced Graft-Versus-Host-Like Reactions. *Lancet*, 2 (1984) 805.
7. Fonseca Capdevila, E. et al.: Manifestaciones cutáneas del síndrome tóxico por aceite adulterado. U: Simposium Nacional »Síndrome Tóxico«, Madrid 1982, Ministry of Health and Consumer Affairs, Madrid 1982, str. 338-345 (cit. 2).
8. Gúterrez Millet, V., Navas-Palacios, J., Gomez-Reino, J., Epifanio, J. L.: Renal involvement in toxic oil syndrome. *Lancet*, 1 (1982) 1120.
9. De la Cruz Rios, J. L., Oteo Ochoa, L. A., Sueiro Bendito, A.: Estudio evolutivo de la radiología torácica en el síndrome tóxico. Análisis de la respuesta al tratamiento corticoide (Developmental studies of thoracic radiology in the toxic syndrome. Analysis of results of corticoid treatment). *Revista clinica espanola*, 169 (1983) 37-41.
10. Gomez Recio, M., et al: Hipertension pulmonar en el síndrome tóxico. Nuevos archivos de la Facultad de Medicina, 41 (1983) 237-244 (cit. 2).
11. Vicario, J. L., Serrano-Rios, M., San Andrés, F., Arnáiz-Villena, A.: HLA-DR3, DR4 increase in chronic stage of Spanish oil disease, *Lancet*, 1 (1982) 276.
12. Pereira, R. S., Black, C. M., Arnáiz-Villena, A., Vicario, J. L., Gomez-Reino, J. J.: Collagen antibodies in toxic oil disease, *Lancet*, 2 (1985) 273.
13. Mali, J. W. H., Malten, K. E., van Neer, F. C. J.: *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 105 (1961) 801-816, prema C. A. 55 (1961) 15748f.
14. Fournier, E., Efthymiou, M. L., Lecorsier, A.: Toxic syndrome. *Toxicol. Eur.* 4 (1982) 107-112, prema C. A. 97 (1982) 108568h.
15. Pestana, A., Munoz, E.: Anilides and the Spanish toxic oil syndrome, *Nature*, 298 (1982) 608.
16. Arribas Jimeno, S.: The Spanish toxic syndrome. *Trends in analytical chemistry*, 14 (1982) 4-6.

Summary

TOXIC OIL SYNDROME

The paper deals with an epidemic poisoning with cooking oil, which took place in Spain in 1981, known as toxic oil syndrome (TOS). The clinical course of the illness with characteristic symptoms in acute and chronic phases is described. Chemical analyses pointed at fatty acid anilides as a probable cause of poisoning. As toxicological analyses confirmed only partly the toxic properties of anilides it remains to discover some other substances which would complete the picture of TOS pathogenesis.

*Faculty of National Defence, Belgrade,
Institute of Public Health, Belgrade*

*Received for publication
November 28, 1985*