

Arh. hig. rada, 26 (1975) 283.

AFLATOKSINI I JETRA

S. DURAKOVIĆ, Z. DURAKOVIĆ i O. POSPIŠIL

*Laboratorij za opću mikrobiologiju Tehnološkog fakulteta i
Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta, Zagreb*

(Primitljeno 15. VII 1974)

Opisana su kemijska i toksikološka svojstva aflatoksina koji se danas smatra jednim od karcinogenih spojeva, a proizvode ga neke vrste plijesni. Prikazan je štetan utjecaj aflatoksina na jetru u akutnoj ekspoziciji, pri čemu nastaju hemoragije i nekroze uz masnu infiltraciju jetre. Kao kronični učinak moguća je ciroza jetre. Također se navode primjeri indukcije karcinogeneze aflatoksinom, pa se stoga taj metabolit plijesni može razmatrati kao jedan od činilaca koji utječu na razvitak tumora u organizmu, napose malignih hepatoma.

Godinama je poznato da različite plijesni proizvode sekundarne metabolite (dakle u određenim uvjetima) koji mogu djelovati na žive organizme kao otrovi ili kao tvari koje koče rast i razmnožavanje.

Toksičkom djelovanju plijesni na više organizme dugo se nije pridavala gotovo nikakva pažnja. Smatralo se da su metaboliti plijesni korisni ili bar neškodljivi (na primjer korisni učinak penicilina i drugih antibiotika). Međutim, 1960. g. događaji na peradarskim dobrima u Velikoj Britaniji privukli su pažnju javnosti na taj problem. Te je godine za nekoliko mjeseci uginulo više od 100 000 pačića, purića i fazana od nepoznate bolesti, koja je nazvana bolest »X« (1). Ispitivanjima je utvrđeno da je sva uginula perad hranjena, kao dopunskim krmivom, brašnom od brazilskog kikirikija. Na temelju toga zaključeno je da je kikirikijevo brašno prijenosnik toksične tvari. Novootkrivena tvar dobila je naziv *aflatoksin*, prema *Aspergillus flavus*, prvobitno izoliranoj plijesni iz kikirikijeve brašna.

Prva su ispitivanja na pokusnim životinjama pokazala da kikirikijevo brašno, u kome ima plijesni *Aspergillus flavus*, može izazvati razvitak tumora u jetri u pokusnih životinja, kao i plućne metastaze (2). Već je prvim izolacijama utvrđeno da je aflatoksin skup veoma srodnih tvari,

sastavljenih vjerojatno od 8 komponenata (1), koje se međusobno bitno razlikuju u biološkoj aktivnosti prema višim organizmima. To je upućivalo na moguće postojanje i ostalih, do tada neodređenih gljivičnih metabolita, koji bi se zbog svoje toksičnosti mogli svrstati u mitotoksine.

Dvije godine nakon prvih izvještaja o izolaciji aflatoksina, *Allcroft* i *Carnagham* (3) otkrili su novu toksičnu tvar u mlijeku krava hranjenih hranom zagađenom aflatoksinima. Biološko djelovanje te tvari na pokusne pačice bilo je veoma slično djelovanju aflatoksina. Do danas je otkriven, izoliran i određen niz tvari koje sintetiziraju raznovrsne plijesni, a više su ili manje toksične za toplokrvne životinje (1). Toksične tvari najčešće nose imena prema vrstama gljiva koji ih proizvode, kao na primjer: okratoksin koji proizvodi plijesan *Aspergillus ochraceus*, sterigmatocistin proizvodi *Aspergillus versicolor*, rubratoksin proizvodi *Penicillium rubrum*, a fusarium toksine vrste iz roda *Fusarium* itd. (4). U toj velikoj skupini mikotoksina aflatoksini zauzimaju po otrovnosti prvo mjesto. Najviše ih proizvode plijesni *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*, iz kojih su prvobitno izolirani.

PLIJESNI KOJE PROIZVODE AFLATOKSINE

Plijesni su velika skupina gljiva kojih je tijelo građeno od gustog sustava cjevastih, besklorofilnih i obično bezbojnih stanica. Pojedine se stanice isprepliću i grade micelij, koji se rasprostire po površini hranjivog supstrata kao prašnjava ili paučinska prevlaka.

Vrste iz roda *Aspergillus* pripadnici su brojne skupine saprofitnih plijesni koje se najbolje razvijaju na škrobnim tvarima, kao što je sjemenje žitarica ili uljarica, na kruhu, mlječnim i fermentiranim proizvodima. Na tim tvarima razvijaju bujni micelij pokriven konidiosporama za razmnožavanje, pomoću kojih se brzo šire po okolnom supstratu. Pogoduje im srednja temperatura od 25 do 35°C, ali se mogu razvijati i pri temperaturama do 10°C. Stalna su opasnost za sjeme žitarica i uljarica u silosima i spremištima gdje je temperatura viša od 10°C, a količina vode u sjemenu veća od 15%. Kontaminirano i pljesnivo sjeme nije za upotrebu jer se ne može preraditi.

Aflatoksine ne proizvode samo vrste *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*, već i druge vrste iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium* i *Rhizopus*, kao što je prikazano u tablici 1. Ispitivanje mnogobrojnih izolata plijesni iz spomenutih vrsta pokazalo je da samo pojedini sojevi tih vrsta (oko 30%) imaju sposobnost sinteze aflatoksina (5, 6).

Za proizvodnju aflatoksina potrebni su nadalje i određeni vanjski uvjeti, na primjer optimalna temperatura, pH ili vlažnost, kao i prisutnost određenih specifičnih tvari koje tu proizvodnju pospješuju. U tablici 2. navedeni su neki od stimulatora i inhibitora sinteze aflatoksina.

Tablica 1.
Vrste plijesni koje proizvode aflatoksine (1)

Vrsta plijesni	Aflatoksini			
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
A. flavus	+	+	+	+
A. flavus var. columnaris		+		
A. oryzae	+	+		
A. parasiticus	+	+	+	+
A. parasiticus var. globosus	+	+	+	+
A. niger	+			
A. wentii	+			
A. ruber	+			
A. ostianus	+		+	
A. ochraceus	+			
Penicillium puberulum	+	+	+	+
P. variable	+			
P. frequentans	+			
P. citrinum	+			
Rhizopus sp.	+		+	

Tablica 2.

Neki spojevi odnosno ioni metala i nemetala koji utječu na stvaranje aflatoksina (1)

Pospješuju	Koče
Amonijev sulfat	K-nitrat
Glutamat	Alanin
Glikokol	Pepton
Saharoza	Ekstrakt kvasca
Fruktoza	Manoza
Glukoza	Glicerin
Škrob	Sorboza
Manitol	Ksiloza
Sorbitol	Maltoza
Galaktoza	Laktoza
Zn ⁺²	Mo ⁺²
Fe ⁺³	Cu ⁺²
Mn ⁺²	B ⁺³

STRUKTURA I KEMIJSKA SVOJSTVA AFLATOKSINA

Po kemijskoj strukturi aflatoksini su slični kumarinu, te imaju jake fluorescencije u UV svjetlosnom području. Dobro su topljivi u vodi, etanolu, metanolu i dimetilsulfoksidu, veoma se dobro otapaju u kloroformu, dok su u petroleteru netopljivi (1). Slabo su postojani u vodenim otopinama, a osjetljivi su prema vidljivom dijelu svjetlosnog spektra. Razara ih kromsumporna kiselina, natrijev hipoklorit ili koncentrirana natrijeva lužina. Postojanost aflatoksina u vodenim otopinama može se povećati dodatkom glicerola u koncentraciji od 30%. Prema *Kiermeieru* i suradnicima (7) ovakve vodene otopine ostaju stabilne do 9 sati.

Već prilikom početnih nastojanja izolacije toksina pokazalo se da je aflatoksin čak i nakon djelomičnog pročišćavanja kompleksna smjesa koja ostavlja 20 fluorescentnih mrlja na tankoslojnom kromatogramu. Dvije glavne komponente, od kojih jedna fluorescira plavo (B – prema »blue«), a druga zeleno (G – prema »green«) kada se izlože ultraljubičastom svjetlu, sastoje se od po još dviju komponenata, koje se međusobno razlikuju u Rf vrijednosti na tankoslojnom kromatogramu, pa su prema silaznoj Rf vrijednosti označeni kao aflatoksini B₁, B₂, G₁, G₂.

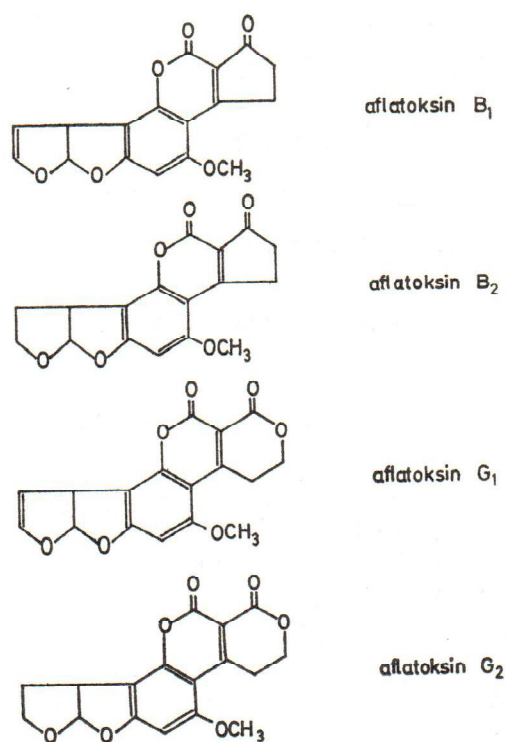
B ₁ (C ₁₇ H ₁₂ O ₆) m. t. 312	Rf 0,4 – 0,55
B ₂ (C ₁₇ H ₁₄ O ₆) m. t. 314	Rf 0,37 – 0,53
G ₁ (C ₁₇ H ₁₂ O ₇) m. t. 328	Rf 0,35 – 0,45
G ₂ (C ₁₇ H ₁₄ O ₇) m. t. 330	Rf 0,28 – 0,43

Infracrveni i ultraljubičasti apsorpcijski spektri pokazali su da su sva četiri spoja veoma srodne građe. Već 1963. g. uspjeli su *Büchi* i suradnici (8) utvrditi točnu kemijsku strukturu navedenih aflatoksina pomoću spektralnih analiza. Ta je struktura i potvrđena putem sinteze niza kumarina i uspoređivanjem spektralnih svojstava ključnog kumarina, tj. 5,7-dimetoksiciklopenten (C) kumarina. *Merve* i suradnici (9) dokazali su iste godine da su aflatoksini B₁ i B₂ dihidroderivati aflatoksina B₁ i G₁. *De Jongh* i suradnici (10) pokazali su 1964. g. s pomoću tankoslojne kromatografije na kremičkoj kiselini da toksična tvar iz mlijeka krava, u čijem je krmivu bilo aflatoksina, fluorescira plavo-ljubičasto i da ima Rf vrijednost mnogo nižu od aflatoksina B₁. Otkriveno je nadalje da se u ekstraktu kulture plijesni *Aspergillus flavus*, uzgojene na kikirikijevoj sačmi, nalazi komponenta identična pronađenom toksinu u mlijeku. *Allcroft* i *Carnaghan* (3) predložili su za taj toksin trivijalni naziv »aflatoksin M«, prema njegovu porijeklu (»milk toxin«). *Holzappel* i suradnici (1) uspjeli su 1966. g. pomoću papirne kromatografije razdvojiti aflatoksin M u dvije komponente, od kojih jedna, označena kao M₁, fluorescira plavo-ljubičasto, a druga označena kao M₂ pokazuje ljubičastu fluorescenciju i ima nešto nižu Rf vrijednost. Osim toga, utvrdili su pomoću spektralnih analiza i kemijskih reakcija da je aflatoksin M₁ 4-hidroksiaflatoksin B₁, a aflatoksin M₂ je 4-hidroksiaflatoksin B₂.

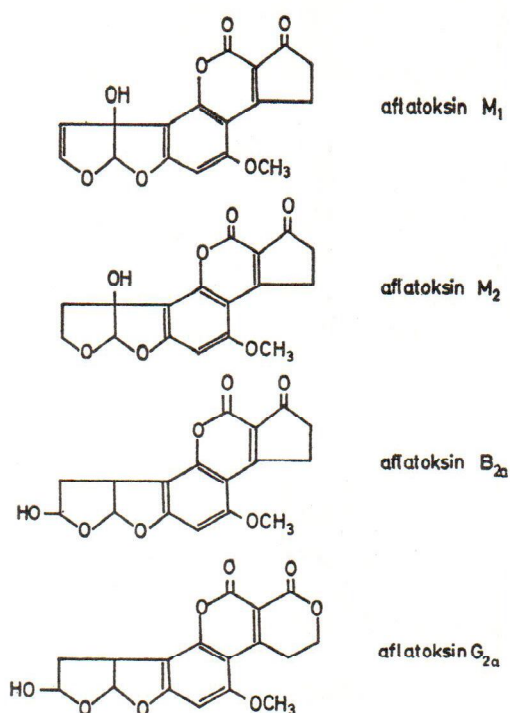
Dutton i Heathcote (12) otkrili su 1966. g. još dva aflatoksina, od kojih jedan fluorescira plavo, a drugi zeleno (izolirani su iz kulture plijesni *A. flavus*) i označili su ih kao aflatoksin B_{2a} i G_{2a}. Prema Purchaseu i Steinu (13) aflatoksin B_{2a} je izomer aflatoksina M₂ s hidroksilnom skupinom u položaju 2-(odnosno 2-hidroksiaflatoksin M₂), a aflatoksin G_{2a} je 2-hidroksiaflatoksin G₂.

M ₁ (C ₁₇ H ₁₂ O ₇)	M. t. 328	Rf 0,25 - 0,40
M ₂ (C ₁₇ H ₁₄ O ₇)	M. t. 330	Rf 0,20 - 0,35
B _{2a} (C ₁₇ H ₁₄ O ₇)	M. t. 330	Rf - 0,13
G _{2a} (C ₁₇ H ₁₄ O ₈)	M. t. 346	Rf - 0,10

U najnovije vrijeme iz *Aspergillus flavus* izolirana su dva neaflatoksina, a naziv im je flavotoksin (14).



Sl. 1. Strukturne formule aflatoksina B₁, B₂, G₁, G₂



Sl. 2. Strukturne formule aflatoksina M_1 , M_2 , B_{2a} , G_{2a}

IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA AFLATOKSINA

Jednostavne i brze metode za otkrivanje prisutnosti aflatoksina u namirnicama i krmivima prijeko su potrebne da bi se spriječilo miješanje »čistog« materijala s kontaminiranim (15, 16).

Obično se radi tako da se uzorak namirnice potpuno odmasti petrol-eterom, pri čemu aflatoksini ostaju netopljeni. Aflatoksini se nakon toga ekstrahiraju najčešće smjesom otapala kloroform-metanol pri čemu se još masti, preostale u petroleteru, otope u kloroformu. Ekstrakt se nakon toga upari u rotacijskom vakuum-uparivaču pri oko 50°C, otopi u petroleter-metanolu i odredi s pomoću tankoslojne kromatografije na silikagelu (17-19).

Intenzitet fluorescencije aflatoksina, kad se osvijetle UV svjetlom, omogućio je određivanje izvanredno malih količina toksina u namirnicama pomoću opisanih fizikalno-kemijskih metoda. Čak se i količine od

približno 10^{-4} μg (0,1 ng) mogu otkriti na tankoslojnom kromatogramu s pomoću fluorodenzitometra (20, 21).

Nepostojanje specifičnosti fluorescencije i R_f vrijednosti kromatografiranih mrlja zahtijeva potvrdu identifikacije. Takva potvrda prisutnosti aflatoksina postiže se razvijanjem kromatograma s različitim sustavima otapala i kemijsko-analitičkim pokusima.

Najčešće se upotrebljavaju ovi sustavi otapala (22):

a) kloroform-metanol	93 : 7
b) aceton-kloroform	1 : 9
c) benzen-etanol-voda	46 : 35 : 19
d) benzen-metanol-octena kiselina	24 : 2 : 1
e) toluen-etilacetat-mravlja kiselina (90%)	5 : 4 : 1
f) etilacetat-NH ₄ OH (10%) – gornja faza	1 : 1
g) benzen-etilacetat-mravlja kiselina (90%)	5 : 4 : 1
h) etilacetat-voda (gornja faza)	1 : 4

Za potvrdu kemijskih analitičkih postupaka upotrebljava se biološki pokus na pilećim embrionima (23).

AFLATOKSINI I TOKSIČNI HEPATITIS

U neposrednom djelovanju na organizam, aflatoksini izazivaju akutne aflatoksikoze, koje se očituju u izravnom toksičkom oštećenju jetre (24). *Tulpule* (25) našao je hiperemije i hemoragije u jetri riba, kojima je u hranu dodavan aflatoksin u količini većoj od 1 mg/kg tjelesne težine, u toku 5 dana. Akutno djelovanje aflatoksina sastoji se u oštećenju jetre različitih životinjskih vrsta (goveda, pilića, purana i drugih), ali isto tako aflatoksini mogu oštetiti i bubrege, pluća, gušteraču i druge organe. Histološki nalazi u tim slučajevima pokazuju nekrozu stanica i hemoragije.

Otrovnost aflatoksina označena je ovim redom: najotrovniji je aflatoksin B₁, zatim B₂, pa G₂ (25). Npr. LD₅₀ za aflatoksin B₁ za pačice stare jedan dan iznosi 18 μg , a LD₅₀ za iste pačice za aflatoksin G₂ iznosi 10 puta toliko (180 μg).

Odnosi pojedinih vrsta aflatoksina u kikirikijevu brašnu jesu: B₁ : B₂ : G₁ : G₂ = 40 : 1 : 50 : 1

Toksičnost aflatoksina za humane stanice *in vitro* iznosi (25):

LD₅₀ za aflatoksin B₁ = 1 ppm

LD₅₀ za aflatoksin G₁ = 5 ppm

LD₅₀ za aflatoksin G₂ = 16 ppm

AFLATOKSINI I MALIGNI HEPATOMI

Što se indukcije karcinogeneze tiče, veći broj publikacija (24, 31, 34, 38-44) upozorava na aflatoksin kao na jedan od karcinogenih agensa u razvitku primarnih karcinoma jetre. Npr. *Salmon* i suradnici (42) su u 16 od 73 štakora, koji su bili hranjeni kikirikijevim brašnom, ustanovili maligne hepatome. *Newberne* i suradnici (34) našli su hepatome u štakora koji su bili hranjeni kikirikijem, a aflatoksin je u toj hrani bio u dozi od 3,5 ppm. Na aflatoksin se upozorava kao na primarni ili sekundarni faktor u razvoju hepatoma (39). Opisuju se hepatomi u riba, koje su s hranom primale male doze aflatoksina. *Wogan* i suradnici (43) dokazali su u pokusima na štakorima da aflatoksin B₁ u dozi od 0,4 mg na kg tjelesne težine izaziva hepatome nakon razdoblja latencije od 82 tjedna. To potvrđuju pokusi *Carnaghana* i suradnika (44), koji su u štakora izazvali primarne karcinome jetre nakon jednokratnog davanja aflatoksina B₁ u dozi od 7 mg na kg tjelesne težine, u gotovo 50% životinja u pokusu. Neki autori (32, 36) smatraju da se možda karcinogeni učinak aflatoksina sastoji u antagonističkom djelovanju prema pirodoksinu, kako je to već navedeno (kod ciroze jetre). *Slifkin* i suradnici (4) ustanovili su u pokusu na štakorima razvoj hepatocelularnog karcinoma, hiperplastičkih nodula ili obiju promjena zajedno, kada je u hrani životinja bilo aflatoksina B₁ (ekspozicija u toku 15 tjedana).

S aspekta istraživanja malignih hepatoma u ljudi značajno je navesti da je nađena najviša incidencija malignih hepatoma u stanovnika Afrike, zatim južne Azije, južne Indije i Japana (45). Primjera radi treba navesti da je u Ugandi zastupljenost primarnih karcinoma jetre 10% od ukupno svih karcinoma, dok taj postotak u južnoj Africi iznosi 20% (45). Incidencija malignih hepatoma u crnačkog afričkog stanovništva viša je nego u crnačkog stanovništva u SAD (46). Prema *Butleru* (47) aflatoksin je najjači poznati agens koji izaziva hepatome. U Ugandi (48) nađena je ispitivanjem u razdoblju od 1963. do 1967. g. korelacija između ingestije hrane kontaminirane aflatoksinom i incidencije malignih hepatoma, što je prvi dokaz korelacije između karcinogenog utjecaja okoline i razvoja hepatoma. Navodi se (27) da je incidencija primarnog karcinoma jetre u Mozambiku, u Bantu crnaca, 500 puta viša(!) nego u SAD, a da je u Hong-Kongu nađen karcinom jetre u 30% autopsija. U jugozapadnom Tajlandu (49) incidencija primarnih karcinoma jetre bila je 6/100.000, a u južnom Tajlandu 2/100.000 stanovnika. U Tajlandu (50) primarni je karcinom jetre 4 puta češći u muškaraca nego u žena. U toj je zemlji visoka ingestija aflatoksina hranom i visoka incidencija karcinoma jetre.

Usprkos intenzivnom ispitivanju, mehanizam djelovanja aflatoksina nije još potpuno jasan. Smatra se da aflatoksini ometaju sintezu RNA, koče RNA polimerazu i mijenjaju strukturu DNA. Ne zna se međutim da li toksički učinak ovisi o aflatoksinu samome ili o metabolitima koji nastaju nakon razgradnje aflatoksina, ili ovisi o djelovanju tvari koje nastaju nakon djelovanja aflatoksina.

MAKSIMALNO DOPUŠTENA KONCENTRACIJA AFLATOKSINA
U NAMIRNICAMA

S obzirom na veliko značenje koje se svakim danom sve više pridaje aflatoksinu u razvoju nekih bolesti (toksičko oštećenje jetre, ciroza jetre i primarni karcinom jetre) izrađene su norme za maksimalno dopuštenu koncentraciju aflatoksina u namirnicama koje služe za ljudsku prehranu, a koja je dopuštena između 5–30 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Postoje propisi prema kojima maksimalno dopuštena koncentracija aflatoksina u namirnicama ne smije prijeći vrijednost od 30 ppm. Ovaj je propis donijela savjetodavna grupa FAO, SZO i UNICEF 1968. g. (1).

Literatura

1. Goldblatt, L. A.: Aflatoxin, Academic Press, New York—London, 1969.
2. Lancaster, M. C., Jenkins, F. P., Philp, J. L.: Toxicity Associated with Certain Samples of Groundnuts, *Nature*, 192 (1961) 1095.
3. Allcroft, R., Carnaghan, R. B. A.: Groundnut Toxicity: an Examination for Toxin in Human Food Products from Animals Fed Toxic Groundnut Meal, *Vet. Record*, 75 (1963) 259.
4. Pitt, J.: Mycotoxins, *Food Technol. Austr.*, 25 (1973) 291.
5. Clifford, J. J., Rees, K. R.: Action on Aflatoxin B₁ on the Rat Liver, *Biochem. J.*, 102 (1967) 65.
6. Edds, G. T.: Acute Aflatoxicosis: a Review, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 162 (1973) 304.
7. Kiermeier, F., Hemmerich, K., Ruffer, L.: Stabilisierung wässriger Aflatoxin-Lösungen für biochemische Versuche, *Z. Lebensm., Unters.-Forsch.*, 150 (1972) 155.
8. Büchi, G., Foulkes, D. M., Korono, M., Mitchell, G. F., Schneider, R. S.: Total Synthesis of Racemic Aflatoxin B₁, *J. Amer. Chem. Soc.*, 88 (1966) 4534.
9. Van der Merwe, K. J., Fourie, L., Scott, B.: The Structure of the Aflatoxins, *Chem. Ind., London*, 1963, pp. 1660.
10. Iongh, de H., Vles, R. O., van Pelt, J. G.: Milk of Mammals Fed as Aflatoxin Containing Diet, *Nature*, 202 (1964) 466.
11. Holzappel, C. W., Steyn, P. S., Purchase, I. F. H.: Isolation and Structure of Aflatoxin M (1) and M (2), *Tetrahedron Letters*, 25 (1966) 2799.
12. Dutton, M. F., Heathcote, J. G.: Two New Hydroxyaflatoxins, *Biochem. J.*, 101 (1966) 21.
13. Purchase, I. F. H., Stein, M.: Estimation of Aflatoxin M in Milk, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 50 (1966) 363.
14. Kirksey, J. W., Cole, R. J.: New Toxin from *Aspergillus Flavus*, *Appl. Microbiol.*, 26 (1973) 827.
15. Hara, S., Murakami, H., Sugama, Fennel, D. I., Hesseltine, C. W.: Mykologische Studien über aflatoxinproduzierender Stämme (japan.), *Rep. Res. Inst. Brew.*, 145 (1973) 1.
16. Hara, S., Fennel, D. I., Hesseltine, C. W.: Die Isolation von aflatoxinproduzierenden Stämmen aus Kornfeldern in den USA (japan.), *Rep. Res. Inst. Brew.*, 145 (1973) 8.
17. Pons, W. A., jr., Cucullu, A. F., Lee, L. S., Robertson, J. A., Franz, A. O., Goldblatt, L. A.: Determination of Aflatoxins in Agricultural Products, *J. A. O. A. C.*, 49 (1966) 554.

18. *Waltking, A. E., Bleffert, G., Kiernan, M.*: An Improved Rapid Physicochemical Assay Method for Aflatoxin in Peanuts and Peanut Products, *J. A. O. C. S.*, 45 (1968) 880.
19. *Cucullu, A. F., Lee, L. S., Pons, W. A., jr., Goldblatt, L. A.*: Determination of Aflatoxins in Peanut and Cottonseed Soapstocks, *J. A. O. C. S.*, 47 (1969) 226.
20. *Pons, W. A., jr., Cucullu, A. F., Franz, A. O., jr., Goldblatt, L. A.*: Improved Objective Fluorodensitometric Determination of Aflatoxins in Cottonseed Products, *J. A. O. C. S.*, 45 (1968) 694.
21. *Pons, W. A.*: Evaluation of Reflectance Fluorodensitometry for Measuring Aflatoxins on Thin Layer Plates, *J. A. O. A. C.*, 54 (1971) 392.
22. *Frank, H. K., Eyrich, W.*: Über den Nachweis von Aflatoxinen und das Vorkommen Aflatoxin-vertäuschender Substanzen in Lebensmitteln, *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.*, 138 (1968) 5.
23. *Verret, M. J., Marliac, J. P., Mc Laughlin, J., jr.*: Use of the Chicken Embryo in the Assay of Aflatoxin Toxicity, *J. A. O. A. C.*, 47 (1964) 436.
24. *Newberne, P. M.*: Chronic Aflatoxicosis, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 163 (1973) 1262.
25. *Tulpule, P. G., Madhavan, T. V., Gopalan, C.*: Effect of Feeding Aflatoxin in Young Monkeys, *Lancet*, 1 (1964) 962.
26. *Butler, W. H.*: Acute Toxicity of Aflatoxin B₁ in Rats, *Brit. J. Cancer*, 18 (1964) 756.
27. *Newberne, P. M., Butler, V. H.*: Acute and Chronic Effects on Aflatoxin on the Liver of Domestic and Laboratory Animals, *Cancer Res.*, 29 (1969) 236.
28. *Magwood, S. E., Annau, E., Corner, A. H.*: Induced Tolerance in Turkeys to Aflatoxin Poisoning, *Canad. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, 30 (1966) 17.
29. *Abrams, L.*: Mycotoxicoses, *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.*, 36 (1965) 5.
30. *Kordić, B., Maksimović, A., Rajić, I.*: Uticaj subtoksičke količine aflatoxina na prirast i konverziju hrane u prasadi, *Vet. Glasn.*, 27 (1973) 833.
31. *Cutherthson, W. F. J., Laursen, A. C., Pratt, D. A. H.*: Effect of Groundnut Meal Containing Aflatoxin on Cynologus Monkeys, *Brit. J. Nutr.*, 21 (1967) 893.
32. *Foy, H., Gillman, T., Kondi, A., Preston, J. K.*: Hepatic Injuries in Riboflavin and Pyridoxine Deficient Baboons — Possible Relations to Aflatoxin Induced Hepatic Cirrhosis and Carcinoma in Africans, *Nature*, 212 (1966) 150.
33. *Edwards, G. S., Wogan, G. N., Sporn, M. B., Pong, R. S.*: Structure-Activity Relationships in DNA Binding and Nuclear Effects of Aflatoxin and Analogs, *Cancer Res.*, 31 (1971) 1943.
34. *Newberne, P. M., Carlton, W. W., Wogan, G. N.*: Hepatomas in Rats and Hepatorenal Injury in Ducklings Fed Peanut Meal or Aspergillus Flavus Extract, *Pathol. Vet.*, 1 (1964) 105.
35. *Condy, A.*: The Possibility of Factors of Plants (Particularly Fungal) Origin in Ethiopia Liver Disease, *Ethiopian Mes.*, 3 (1965) 173.
36. *Nabrey, J., Burbage, M. B., Allcroft, R., Lewis, G.*: Metabolism of Aflatoxin in Sheep, Excretion Pattern in the Lactating Ewe, *Food Cosmet. Toxicol.*, 5 (1967) 11.
37. *Wogan, G. N.*: Chemical Nature and Biological Effects of the Aflatoxin, *Bacteriol. Rev.*, 30 (1966) 460.
38. *Rock, L. E., Harley, E. H., Cohen, A., Rees, K. R.*: The Mechanism of Action of Aflatoxin B₁, Observations on Virus-Infected Cells, *Chem.-Biol. Interactions*, 5 (1972) 107.
39. *Legator, M. S.*: Biological Effects of Aflatoxins in Cell Culture, *Bacteriol. Rev.*, 30 (1966) 471.
40. *Slifkin, M., Merkow, L. P., Pardo, M., Epstein, S. M., Leighton, J., Farber, E.*: Growth in Vitro of Cells from Hyperplastic Nodules of Liver Induced by 2-Fluorenyl-acetamide or Aflatoxin B₁, *Science*, 167 (1970) 285.
41. *Newberne, P. M.*: Mycotoxins in Foods, *Trace Subst. Environ. Conf.*, 2 (1969) 53.

42. *Salmon, W. D., Newberne, P. M.*: Occurrence of Hepatomas in Rats Fed Diets Containing Peanut Meal as a Major Source of Protein, *Cancer Res.*, **23** (1963) 571.
43. *Wogan, G. N., Newberne, P. M.*: Dose-Response Characteristics of Aflatoxin B₁ Carcinogenesis in the Rat, *Cancer Res.*, **27** (1967) 2370.
44. *Carnaghan, R. B. A.*: Hepatic Tumors and Other Chronic Liver Changes in Rats Following a Single Oral Administration of Aflatoxin. *Brit. J. Cancer*, **21** (1967) 811.
45. *Butler, W. H., Barnes, J. M.*: Carcinoma of the Glandular Stomach in Rats Given Diet Containing Aflatoxin, *Nature*, **209** (1966) 90.
46. *Dorn, H. F.*: The Incidence of Primary Cancer of the Liver in the Negro in Africa and the United States, *Schweiz. Z. Allgem. Pathol. Bacteriol.*, **18** (1955) 648.
47. *Butler, W. H.*: Liver Injury and Aflatoxin, sec: *Mycotoxicosis in Foodstuffs*, ed. G. N. Wogan, M. I. T. Press, Cambridge, Mass., 1965, pp. 175—186.
48. *Alpert, M. E., Hutt, M. S. R., Wogan, G. N., Davidson, C. S.*: Aflatoxin and Hepatomas, *Gastroenterology*, **62** (1972) 1094.
49. *Shank, R. C., Bhamarapravati, N., Gordon, J. E., Wogan, G. N.*: Dietary Aflatoxins and Human Liver Cancer-IV. Incidence of Primary Liver Cancer in Two Municipal Populations of Thailand, *Food Cosmet. Toxicol.*, **10** (1972) 171.
50. *Shank, R. C., Siddihichai, P., Subhamani, B., Bhamarapravati, N., Gordon, J. E., Wogan, G. N.*: Dietary Aflatoxins and Human Liver Cancer-V. Duration of Primary Liver Cancer and Prevalance of Hepatomegaly in Thailand, *Food Cosmet. Toxicol.*, **10** (1972) 181.

Summary

AFLATOXINS AND THE LIVER

The review deals with the chemical and toxicological aspects of aflatoxin which is produced mainly by *Aspergillus flavus* and seems to be one of the carcinogenic agents. In acute exposure aflatoxin can produce bleeding, necrosis and fatty infiltration of the liver. In chronic exposure it can cause liver cirrhosis. Examples of induction of carcinogenesis by aflatoxin are reported with reference to its role in the development of malignant hepatomas.

Laboratory of General Microbiology,
Faculty of Technology and Department of
Medicine, University Hospital, Zagreb

Received for publication
July 15, 1974.