

Maja PERAICA, Dubravka RAŠIĆ, Valentina GLUŠČIĆ
Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb
mperaica@imi.hr

UTJECAJ AFLATOKSINA NA ZDRAVLJE LJUDI

SAŽETAK

Aflatoksini su skupina toksina gljivica koji uzrokuju ozbiljna oštećenja zdravlja ljudi, ponajviše jetre. U nekoliko velikih epidemija akutnih otrovanja (aflatoksikoza) u tropskim krajevima uzrokovali su zatajenje jetre i veliku smrtnost. U tim su krajevima ljudi trajno izloženi velikim količinama aflatoksina, što, zajedno s izloženošću virusnom hepatitisu B i C, dovodi do znatno učestalije pojave primarnoga karcinoma jetre nego u drugim krajevima. Nije poznato kakav je učinak niskih koncentracija aflatoksina u krajevima s umjerenom klimom, no pokusi na laboratorijskim životinjama pokazuju da njihov učinak nije zanemariv zbog toga što su ljudi istovremeno izloženi i drugim mikotoksinima koji povećavaju njihovo toksično i karcinogeno djelovanje.

Ključne riječi: aflatoksikoze, aflatoksin B1, aflatoksin M1, hepatocelularni karcinom

UVOD

Mikotoksini su sekundarni metaboliti gljivica koji mogu uzrokovati bolesti ljudi i životinja. Gljivice mogu biti i korisne, naročito u industriji lijekova te u mesnoj i mliječnoj industriji. Hoće li se neki metabolit gljivica biti koristan antibiotik ili će se biti toksin ovisi o njegovoj toksičnosti. Tako se je mislilo da bi mikotoksin citrinin zbog izraženih antibakterijskih svojstava mogao poslužiti kao antibiotik dok nije utvrđeno da je nefrotoksičan. Zbog korištenja gljivica u različitim granama industrije, a naročito u proizvodnji antibiotika, dugo se mislilo da su gljivice korisne ili barem neškodljive. O štetom učinku gljivica uglavnom se pisalo nakon vizualnih ili organoleptičkih promjena, kao što su promjene mirisa, pojava plijesni na namirnicama. Često se, čak i u stručnoj literaturi poistovjećuje pojam plijesan i gljivica. Plijesan na namirnicama jest pojava (simptom), a uzrok toj pojavi su gljivice (Fungi).

Danas se epidemije otrovanja mikotoksinima, zvane mikotoksikoze, javljaju u tropskim krajevima, a tijekom povijesti epidemijama su povremeno bila zahvaćena velika područja Europe. O tome svjedoče slike i crteži srednjovjekovnih majstora na kojima su prikazani ljudi sa simptomima otrovanja toksinima glavice raži (ergotizma). To je gljivica koja parazitira na *Poaceama*, osobito na raži, a njezini toksini mogu uzrokovati neurološka oštećenja i oštećenja krvnih žila, najčešće u nogama, zbog čega nastaje nekroza i otpadaju udovi. U carskoj Rusiji povremeno se epidemijski pojavljivala bolest uzrokovana trihotecenima koje stvaraju *Fusarium* vrste. Ta je bolest, zvana

toksična alimentarna aleukija, bila dosta učestala četrdesetih godina prošloga stoljeća jer se žito zbog ratnih operacija nije moglo na vrijeme skupiti s polja, nego se sakupljalo tek u vrijeme otapanja snijega, upravo u vrijeme kada su povoljni uvjeti za sintezu trihotecena. U toj je epidemiji oboljelo više desetaka tisuća ljudi, a smrtnost je bila oko 60 %.

Unatoč tim spoznajama mikotoksinima se nije pridavla veća važnost značaj do šezdesetih godina prošloga stoljeća, kada je u Engleskoj nastao pomor purića i pataka hranjenih mljevenim kikirikijem. Mikološkom analizom kikirikija, korištenog za ishranu purića, nađeno je da su sjemenke kikirikija kontaminirane gljivicom *Aspergillus flavus* (Asplin & Carnaghan 1961). Nedugo nakon toga izoliran je i toksin (Coomes & Sanders 1963), koji je nazvan aflatoksin. Od tada je počelo moderno izučavanje mikotoksina.

Aflatoksini su toksični produkti gljivica *Aspergillus flavus* i *A. parasiticus*. Te gljivice naseljavaju žitarice prije žetve, tijekom skladištenja i prerade hrane i u svakom tom dijelu proizvodnje hrane mogu je kontaminirati aflatoksinima. Gljivice se nalaze po cijelomu svijetu i kontaminacija hrane i krmiva njihovim toksinima ne može se u potpunosti izbjeći. Budući da su aflatoksini termostabilni te se tijekom prerade hrane njihova količina tek neznatno smanjuje, važno je spriječiti njihovo nastajanje.

Poznato je dvadesetak aflatoksina, no najvažniji od njih jesu aflatoksin B1 (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁), G₂ (AFG₂) i M₁ (AFM₁). U hrani i krmivu najčešće se nalazi najtoksičniji i najjači karcinogen AFB₁. AFM₁ i AFM₂ nastaju hidrosilacijom AFB₁ i AFB₂ u jetri, a osnovne molekule i njihovi metaboliti mogu se naći u krvi i urinu, u majčinom i kravljem mlijeku te u mliječnim proizvodima. Prethodnik AFB₁ u sintezi je sterigmatocistin, a na laboratorijskim je životinjama dokazano da je on akutno toksičan i karcinogen.

Aflatoksini se metaboliziraju uglavnom u jetri, gdje nastaju visokoreaktivni kratkoživi spojevi zvani epoksidi. Oni se vrlo brzo vežu na albumine plazme i DNA pa nastaju adukti aflatoksina koji mogu dobro poslužiti kao pokazatelji izloženosti tim mikotoksinima. Albuminski adukti AFB₁ i DNA adukti AFB₁ pokazatelji su izloženosti osobe ili životinje u posljednja dva do tri mjeseca, a mjerenjem AFB₁, koji se brzo metabolizira u organizmu može dokazati samo nedavna izloženost tom toksinu.

Na pokusnim je životinjama utvrđeno da aflatoksini imaju izrazitu akutnu toksičnost, a njihova je toksičnost veća u mladim jedinki nego u odraslih životinja.

Bolesti koje uzrokuju mikotoksini nazivaju se mikotoksikozama. Mikotoksikoze uzrokovane aflatoksinima nazivaju se aflatoksikoze, a one mogu biti akutne ili kronične. Ciljni organ djelovanja aflatoksina jesu jetra, no aflatoksini nisu samo toksični za jetru nego imaju i druga neželjena svojstva imunosupresivnost, mutagenost, teratogenost i karcinogenost.

AKUTNE AFLATOKSIKOZE

Akutne se aflatoksikoze pojavljuju kao epidemije u tropskim krajevima, a

njihov je uzrok izloženost visokim koncentracijama aflatoksina u hrani. Epidemije se pojavljuju onda kada su ljudi i životinje prisiljeni, zbog ratova, gladi ili prirodnih katastrofa, hraniti se pljesnivom hranom, obično takvim žitaricama.

Prvi simptomi akutne mikotoksikoze obično su povišena temperatura, a za nekoliko se dana pojavljuje žutica koja brzo napreduje. Ubrzo se u trbušnoj šupljini počinje skupljati tekućina (ascites), a nakon prestanka sakupljanja tekućine u trbušnoj šupljini znatno se povećavaju jetra i slezena (hepatosplenomegalija). Ako su bolesnici i nakon pojave tih simptoma i dalje izloženi aflatoksinima, jetra se još više oštećuje, a pred smrt obično se pojavljuju masovna krvarenja. Smrtnost od aflatoksikoza vrlo je visoka (10-60 % u različitim epidemijama). Nakon prestanka izloženosti i nestanka simptoma akutnog oštećenja jetre, bolesnici se mogu potpuno oporaviti, no oštećenje jetre može postupno napredovati do ciroze ili hepatocelularnog karcinoma (HCC). U epidemiji aflatoksikoze u Indiji godine 1974. djeca do 5 godina nisu bila zahvaćena bolešću, a u epidemiji u Keniji 2004. godine 51 % bolesnika bilo mlađe od 15 godina. (Krisnamashari i sur. 1975, Obura 2013.).

KRONIČNE AFLATOKSIKOZE

U kroničnih aflatoksikoza ciljni organ također su jetra, no simptomi nisu tako brzo vidljivi. Dugotrajna izloženost niskim koncentracijama aflatoksina može uzrokovati kronične bolesti i maligne tumore jetre.

U tropskim su zemljama djeca od začeca izložena aflatoksinu. U Nigeriji su aflatoksini nađeni u 21% trudnica i u 12 % uzoraka krvi iz pupkovine (Lamplugh i sur. 1988). Tim je nalazom dokazano da aflatoksini prolaze kroz placentu. U Egiptu je provedeno istraživanje o povezanosti izloženosti aflatoksinima djece prije rođenja i porođajne težine. Nađena je značajna negativna korelacija koncentracije aflatoksina u krvi iz pupkovine i porođajne težine djece (Abudrazzaq i sur., 2003). U Gambiji je također nađena negativna korelacija parametara izloženosti aflatoksinima s napredovanjem djece u prvoj godini života (Turner i sur. 2007).

Procjenjuje se da se do 0,43 % aflatoksina u majčinoj hrani izlučuje kao AFM1 u mlijeku (Zarba i sur. 1992). U afričkim je zemljama vrlo čest nalaz aflatoksina u majčinom mlijeku pa je učestalost nalaza uzoraka koji su pozitivni na aflatoksine od 37 do 100 % (Jonsyn i sur. 1995; Adejumo i sur., 2013; Coulter i sur., 1984; Lamplugh i sur., 1988; El-Tras i sur., 2001). U istraživanju provedenom tijekom godine dana u Egiptu nađena je velika razlika učestalosti uzoraka koji su sadržavali aflatoksine (16-96 %) u različitim godišnjim dobima. Najveći je broj pozitivnih uzoraka nađen ljeti, to jest u doba suše (Polychronaki i sur., 2007). Velika učestalost uzoraka majčine krvi s aflatoksinom nađena je također u Turskoj (100 %), Iranu (98,1 %) i Ujedinjenim Arapskim Emiratima (92 %) (Gurbay i sur., 2010, Abdulrazzaq i sur., 2003, Sadeghi i sur., 2009). Nije jasno utječe li socijalna razina majke na izloženost aflatoksinima jer je u

Nigeriji nađeno da ovisi, a u Beninu i Togou da ne ovisi o tome (Adejumo i sur., 2013, Gong i sur., 2003).

Iako se u majčinom mlijeku u Africi vrlo često nalazi AFM1, djeca su u razdoblju dojenja ipak izložena manjim koncentracijama aflatoksina nego kada počnu uzimati hranu kojom se hrane odrasli. Naime, osnovna hrana za odrasle jest kukuruz i kasava, koji su vrlo često kontaminirani s AFB1, a majčino mlijeko može sadržavati AFM1 koji je manje toksičan i slabiji karcinogen (Zarba i sur., 1992; Gong i sur., 2003). U Europi su djeca mnogo manje izložena aflatoksinima u majčinom mlijeku. U istraživanjima provedenim u zemljama Europske unije utvrđeno je da je učestalost pozitivnih nalaza manja od 5 %. Koncentracije aflatoksina vrlo su različite, a u nekim slučajevima prelaze najveću dopuštenu granicu za dječju hranu (Tonon i sur., 2013; Marin i sur., 2013).

Poznato je da su aflatoksini imunotoksični, no nema epidemioloških istraživanja o povezanosti izloženosti tim spojevima s promjenama imunološkoga sustava. Izloženost aflatoksinima mogla bi smanjiti stvaranje antitijela nakon cijepjenja i biti razlog vrlo visoke smrtnosti djece od zaraznih bolesti u Africi. Aflatoksini su nađeni u plućima djece koja su umrla od upale pluća na Filipinima i u Africi pa su autori pretpostavili da bi izloženost aflatoksinima mogla biti uzrok fatalnom ishodu bolesti (Denning i sur., 1995; Oleyami i sur., 1997).

U nekim dijelovima Kine i u Africi učestalost heptatocelularnoga karcinoma (HCC) veća je dva do deset puta od njegove učestalosti u razvijenim zemljama, što je posljedica virusnih infekcija hepatitisom B i hepatitisom C, a posljedice tih infekcija puno su ozbiljnije ako su bolesnici izloženi aflatoksinima (Henry i sur., 1999). U kineskoj pokrajini Qidong provedeno je istraživanje na pacijentima s kroničnim hepatitisom B te je nađeno da se u tih pacijenata, ako imaju mjerljivu količinu aflatoksina u urinu, rizik nastanka HCC-a povećava 3,3 puta, a rizik nastanka ciroze jetre povećava se 2,8 puta. Ako je bolesnik zaražen još i virusom C hepatitisa, vjerojatnost nastanka HCC-a povećava se još 5,8 puta (Sun i sur., 1999). Budući da se izloženost aflatoksinima ne može izbjeći u tropskim krajevima, a vrlo je veliki broj onih koji su preboljeli ili imaju neki oblik kroničnoga hepatitisa, neke su zemlje počele cijepiti djecu protiv hepatitisa već u najranijoj dobi da bi spriječile nastanak HCC-a (Tsebe i sur., 2001).

Zbog promjene klimatskih uvjeta i globalnoga zatopljenja počeo se pojavljivati aflatoksin u žitaricama, mlijeku i mliječnim proizvodima i u umjerenim klimatskim područjima. Tako je i u opsežnom istraživanju mikotoksina u krmivu koje je provela Hrvatska agencija za hranu nađen aflatoksin u 20 % uzoraka (57/239), no koncentracija je samo u četiri uzoraka bila viša od $2,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Domaćinović i sur., 2012).

Osim hranom, ljudi mogu biti izloženi tim mikotoksinima i udisanjem prašine i spora gljivice. Postoji više izvješća o pojedinačnim slučajevima karcinoma pluća u ljudi koji su dugotrajno bili izloženi aflatoksinima u prašini u prerađivačkoj industriji hrane. Istraživanjem provedenim u Danskoj, kojim su

obuhvaćeni radnici kojima je radna anamneza praćena unatrag 24 godine u Danskom registru za rak, a radili su u 241 pogonu za proizvodnju stočne hrane, nađena je znatno veća učestalost karcinoma jetre i žučnog mjehura i žučovoda ali ne i karcinoma pluća (Olsen i sur., 1988).

Prirodni aflatoksini jedini su mikotoksini koje je Međunarodna agencija za istraživanje karcinoma svrstala u I. skupinu karcinogena (što znači da postoji dovoljno dokaza da su karcinogeni za ljude) (IARC 2002).

Zbog vrlo ozbiljnih oštećenja zdravlja koje u ljudi i životinja mogu uzrokovati ti mikotoksini, europski su zakonodavci postavili vrlo nisku dopuštenu granicu aflatoksina u hrani, a naročito u mlijeku jer je mlijeko osnovna namirnica u dječjoj dobi. Sir je čest izvor izloženosti ljudi toksinu AFM1, naročito u zemljama gdje se sir često konzumira jer se AFM1 koncentrira tijekom prerade mlijeka u sir. Naime, koncentracija AFM1 veća je oko tri puta u svježem siru i oko 5 puta u zreлом siru od koncentracije u mlijeku iz kojeg je sir proizveden. Europska unija za sada nema postavljene najviše granice za koncentraciju AFM1 u siru jer se pretpostavlja da se sir proizvodi iz strogo kontroliranog mlijeka (Anfossi i sur., 2012). Neke su zemlje uvele MDK za AFM1 od 250 ng kg⁻¹ sira, a MDK u Italiji jest 450 ng kg⁻¹ jer bi pri nižoj MDK parmezan bio zabranjen za prodaju.

Posebni je problem to što se aflatoksini nalaze u hrani zajedno s drugim mikotoksinima, a njihovo zajedničko djelovanje nije istraženo. U nekim je istraživanjima na pokusnim životinjama nađeno da učinak kombinacije mikotoksina nije zbroj učinaka pojedinačnih mikotoksina nego je učinak mnogo veći, to jest sinergistički. Moguće je da izloženost kombinaciji više mikotoksina uzrokuje i u ljudi sinergistički toksični i karcinogeni učinak.

SUMMARY

EFFECT OF AFLATOXINS ON HUMAN HEALTH

Aflatoxins are a group of mould toxins that can severely damage human health, particularly the liver. In several outbreaks in tropical regions, aflatoxins caused acute liver failure with high mortality. In these regions humans are continuously exposed to high levels of aflatoxins which, together with the infections with viral hepatitis B and C, results in the much more frequent primary liver carcinoma than in other regions. It is not clear what is the effect of low levels of aflatoxins that are found in food from regions with moderate climate. However, according to the experiments on laboratory animals, it is possible that such exposure is not negligible because humans are also simultaneously exposed to other mycotoxins that may potentiate their toxic and carcinogenic effects.

Key words: aflatoxicosis, aflatoxin B1, aflatoxin M1, hepatocellular carcinoma

LITERATURA

- Abdulrazzaq YM, Osman N, Ibrahim A.** (2003). Fetal exposure to aflatoxins in United Arab Emirates. *Ann Trop Paediatr*; 22: 3-9.
- Abdulrazzaq YM, Osman N, Yousif ZM, Al-Falahi S.** (2003). Aflatoxin M1 in breast-milk of UAE women. *Ann Trop Paediatr*; 23, 173-179.
- Adejumo O, Atanda O, Raiola A, Somorin Y, Bandyopadhyay R, Ritieni A.** (2013). Correlation between aflatoxin M1 content of breast milk, dietary exposure to aflatoxin B1 and socioeconomic status of lactating mothers in Ogun State, Nigeria. *Food Chem Toxicol*; 56: 171-177.
- Anfossi L, Baggiani C, Giovannoli C, D'Arco G, Passini C, Giraudi G.** (2012). Occurrence of aflatoxin M1 in Italian cheese: Results of survey conducted in 2010 and correlation with manufacturing, production season, milking animals, and maturation of cheese. *Food Control*; 25: 125-130.
- Asplin F.D., & Carnaghan R.B.A.** (1961). The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. *Vet. Rec.* 73: 1215-1219
- Coomes , T.J. and Sanders , J.S.** (1963). The detection and estimation of aflatoxin in groundnuts and groundnut materials. Part I. Paper-chromatographic procedure. *Analyst*, 88. 209-213.
- Coulter JB, Lamplugh SM, Suliman GL, Omer MI, Hendrickse RG.** (1984). Aflatoxins in human breast milk. *Ann Trop Paediatr*; 4: 61-66.
- Domaćinović M, Ćosić J, Klavec T, Peraica M, Mitak M.** Znanstveno mišljenje o mikotoksinima u hrani za životinje. Hrvatska agencija za hranu (HAH-Z-2012-05), Osijek, 1-43.
- El-Tras WF, El-Kady NN, Tayel AA.** (2011). Infants exposure to aflatoxin M1 as a novel foodborne zoonosis. *Food Chem Toxicol*; 49: 2816-2819.
- Gong YY, Egal S, Hounsa A, Turner PC, Hall AJ, Cardwell KF, Wild CP.** (2003). Determinants of aflatoxin exposure in young children from Benin and Togo, West Africa: the critical role of weaning. *Internat J Epidemiol*; 32: 556-562.
- Denning DW, Quiopo SC, Altman DG, Makarananda K, Neal GE, Camallere EL, Morgan MR, Tupasi TE.** (1995). Aflatoxin and outcome from acute lower respiratory infection in children in The Philippines. *Ann Trop Paediatr*; 15: 209-216.
- Gürbay A, Sabuncuoğlu SA, Girgin G i sur.** (2010). Exposure of newborns to aflatoxin M1 and B1 from mothers' breast milk in Ankara. Turkey. *Food Chem Toxicol*; 48: 314-319.
- Henry SH, Bosh FX, Troxell TC, Bolger PM.** (1999). Reducing liver cancer – global control of aflatoxin. *Science*; 286: 2453-2454.
- International Agency for Research on Cancer (IARC).** (2002). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol 82, Lyon: IARC.
- Krisnamashari KAVR, Bhat RV, Nagarajan V, Tilak TBG.** (1975). Hepatitis due to aflatoxicosis. *Lancet*; May 10, 1061-1063.
- Jonsyn FE, Maxwell SM, Hendrickse RG.** (1995). Ochratoxin A and aflatoxicosis in breast milk samples from Sierra Leone. *Mycopathologia*; 131: 121-126.
- Lamplugh SM, Hendrickse RG, Apeagyei F, Mwanmut DD.** (1988). Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood, and serum of pregnant women. *Brit Med J*; 298: 968.
- Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V.** (2013) Mycotoxins: Occurrence, toxicology and exposure assessment. *Food Chem Toxicol*; 60: 218-237.
- Obura A.** (2013). Aflatoxicosis: evidence from Kenya. *Focus* 20, brief 2,

Olsen JH, Dragsted L, Autrup H. (1988). Cancer risk and occupational exposure to aflatoxins in Denmark. *Br J Cancer*; 58, 292-396.

Oyelami OA, Maxwell SM, Adelusola KA, Aladekoma TA, Olyelese AO. (1997). Aflatoxins in the lungs of children with kwashiorkor and children with miscellaneous diseases in Nigeria. *J Toxicol Environm Health*; 51: 623-628.

Polychronaki N, West RM, Turner PC, Amra H, Abdel-Wahhab M, Mykkänen H, El-Nezami H. (2007). A logitudinal assessment of aflatoxin M1 excretion in breast milk of selected Egyptian mothers. *Food Chem Toxicol*; 45: 1210-1215.

Sadeghi N, Oveisi M, Jannat B i sur.. (2009). Incidence of aflatoxin M1 in human breast milk in Tehran, Iran. *Food Cont*; 2075-2078.

Sun Z, Lu P, Gail MH, Pee D, Zhang Q i sur. Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic hepatitis who have detectable urinary aflatoxin metabolite M1. *Hepatology* 1999; 30: 379-383.

Tsebe KV, Burnett RJ, Hlungwani NP, Sibara MM, Venter PA, Mphahlele J. (2001). The first years of universal hepatitis B vaccination in South Africa: evidence for elimination o HBsAg carriage in under 5-year-olds. *Vaccine*; 19: 3919-3926.

Zarba A, Wild CP, Hall AJ, Montesano R, Hudson GJ, Groopman JD. (1992). Aflatoxin M1 in human breast milk from Gambia, West Africa, quantified by combined monoclonal antibody immunoaffinity chromatography and HPLC. *Caracinogenesis*; 13:891-894.

Pregledni rad