

KBB/TOX – Toxikologie

(pro navazující studium)

Přednáška č.3 – toxikologie potravin 2

Radim Vrzal

Katedra buněčné biologie a genetiky

Toxiny z hub (plísňí) - Mykotoxiny

Ergotismus (ohněň svatého Antonína)



- 1100 př.n.l. – žito v Číně
- 1 st. Př.n.l. - legie Julia Cesara
- epidemie ergotismu v 11-13. st.n.l.
- 2001 – Etiopie



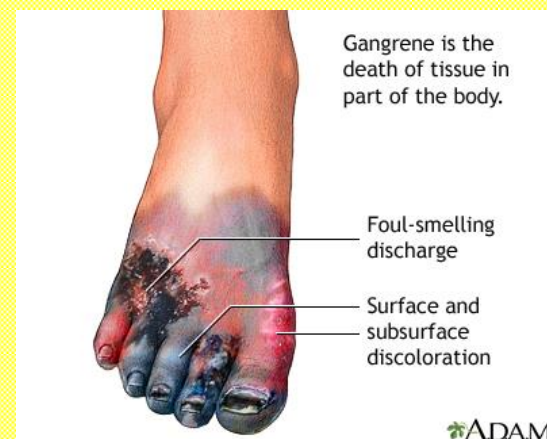
- Hippokrates – 370 př.n.l. – pozitivní účinky na krvácení po porodu (postpartum hemorrhage)
- Konzumace obilí – obvykle žita
- kontaminant *Claviceps purpurea* – **Paličkovice nachová**
- Tvorba námelu (sklerotia) – černá až fialová hmota dlouhá cca 6 cm – klidové stádium plísně pro období sucha

Gangrenozní typ ergotismu

– bolest, zánět, spálený vzhled akrálních částí těla (ztráta prstů či rukou v extrémních případech)

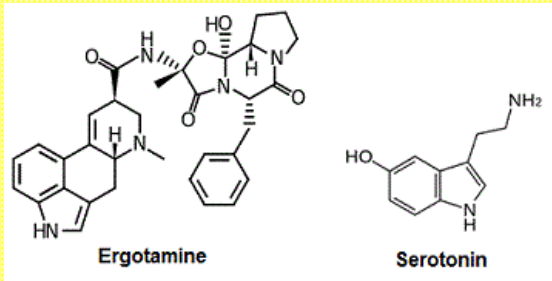
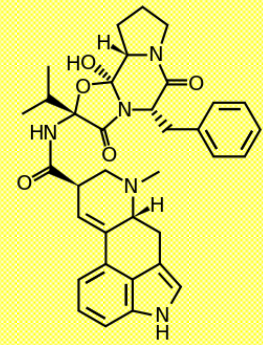
Křečovitý (convulsive) ergotismus

– neurologické symptomy (zkroucení dlaní, prstů, třes, necitlivost, slepota, křeče, halucinace)



Ergotismus (oheň svatého Antonína)

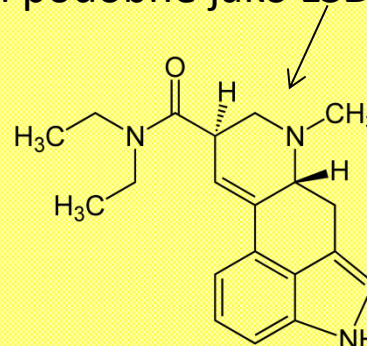
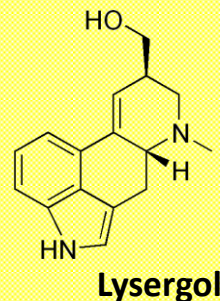
- **Fyziologická podstata** = konstrikce periferních cév → ischemie, mumifikace, ztráta prstů
- Indukována ergotaminem a ergokristinem



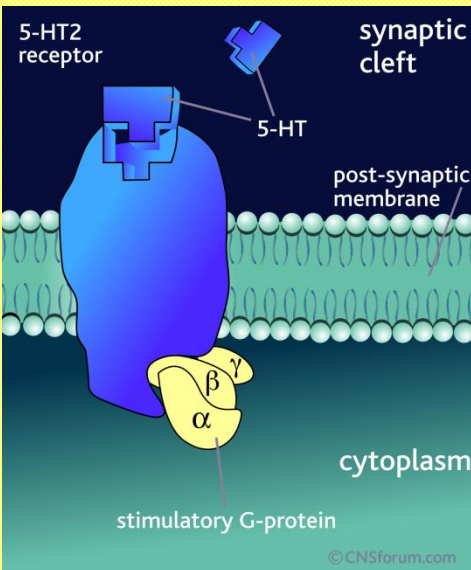
Ergotamin – izolace 1918 (Arthur Stoll) – strukturní podobnost s neurotransmitery (Ser, Dopa, Adrenalin)

- Aktivuje 5-HT₂ serotoninové a α -adrenergní receptory
- **Aktivace** stimuluje cévy hladkého svalstva a **vede k vasokonstrikci**
- Antimigrénový účinek nízkých dávek dán působením na 5-HT_{1B} receptory v cévách mozku a inhibicí transmise 5-HT_{1D} receptory

Křečové (konvulzivní) účinky způsobeny skupinou clavinových alkaloidů – agroclavine, **lysergol**, elymoclavine – psychoaktivní látky působící podobně jako **LSD** skrz až šest 5-HT receptorů

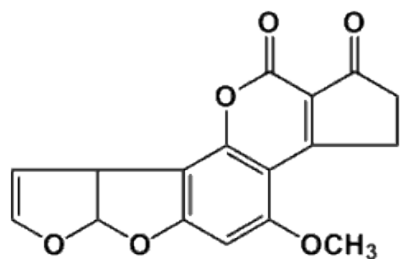


Výskyt jedné formy nad druhou – biosyntetická variabilita rodu *Claviceps* či parazitismus mikroorganismů na *Claviceps*

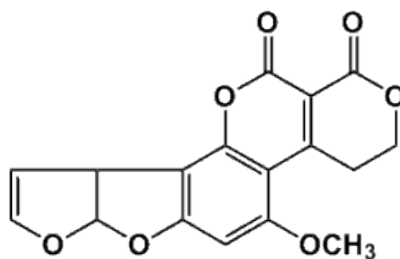


Aflatoxiny

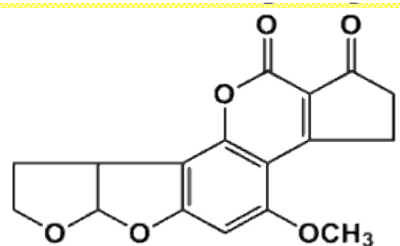
- plesnivá strava byla vždy spojována s nemocemi u domácího zvířectva
- **hepatitis-X disease** – nemoci jater detekovány veterináři u psů, dobytka, prasat
- vliv na lidské zdraví nedůležitý až do 60 let 20.st = cca 100 000 mladých krůtat v Anglii zemřelo na „**turkey X disease**“
- charakterizace = **nekróza jater**
- **příčina** = arašídý jako doplněk stravy - kontaminace *Aspergillus flavus*
- izolace sloučenin s označením aflatoxiny
- skupina bisfuranových polycyklických produktů plísní
- rozdělení dle modré (**B**) či zelené (**G**) fluorescence pod UV světlem



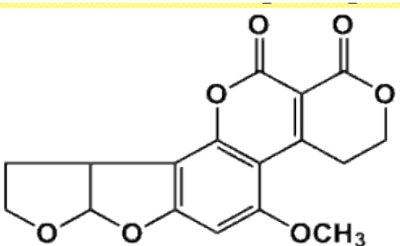
Aflatoxin B₁



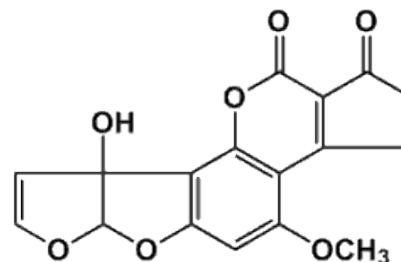
Aflatoxin G₁



Aflatoxin B₂



Aflatoxin G₂



Aflatoxin M₁

- Vše produkty plísní
- Rozpustné v tucích
- Stabilní při většině kuchařských procedur, včetně pražení

Aflatoxiny

Zdroje:

- *Aspergillus flavus*
- *Aspergillus parasiticus*



- běžná součást mikroflóry vzduchu a půdy



A. flavus

- způsobuje zkázu skladované pšenice, kukuřice, rýže, ječmene, mouky, arašídů, semen bavlny
- roste při **skladování za nízké vlhkosti**, která redukuje růst kompetujících plísní – *Penicillium* a *Fusarium*
- aflatoxiny přítomny v širokém množství potravin (např. suché špagety či pivo (zejména africké))

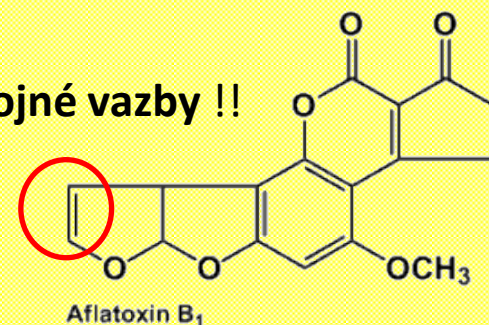
Akutní toxicita

- hlodavci – edém, proliferace žlučových, nekróza parenchymu v játrech
- rhesus monkey – infiltrace tuku, proliferace žlučových, portální fibróza

AFB1 – LD50 < 2 mg/kg tělesné hmotnosti pro králíky, prasata, pstruhy, káčátka – Per Os
> 9 mg/kg pro dospělé myši a křečky

AFB1 a AFG1 = toxičtější než AFB2 a AFG2 – důsledek přítomnosti **dvojnásobné vazby** !!

- citlivost závisí na expresi epoxidové hydrolázy (EH) – hydroxylace epoxidu
- a GST (mGST3A-3, GSTT1) – konjugace s GSH



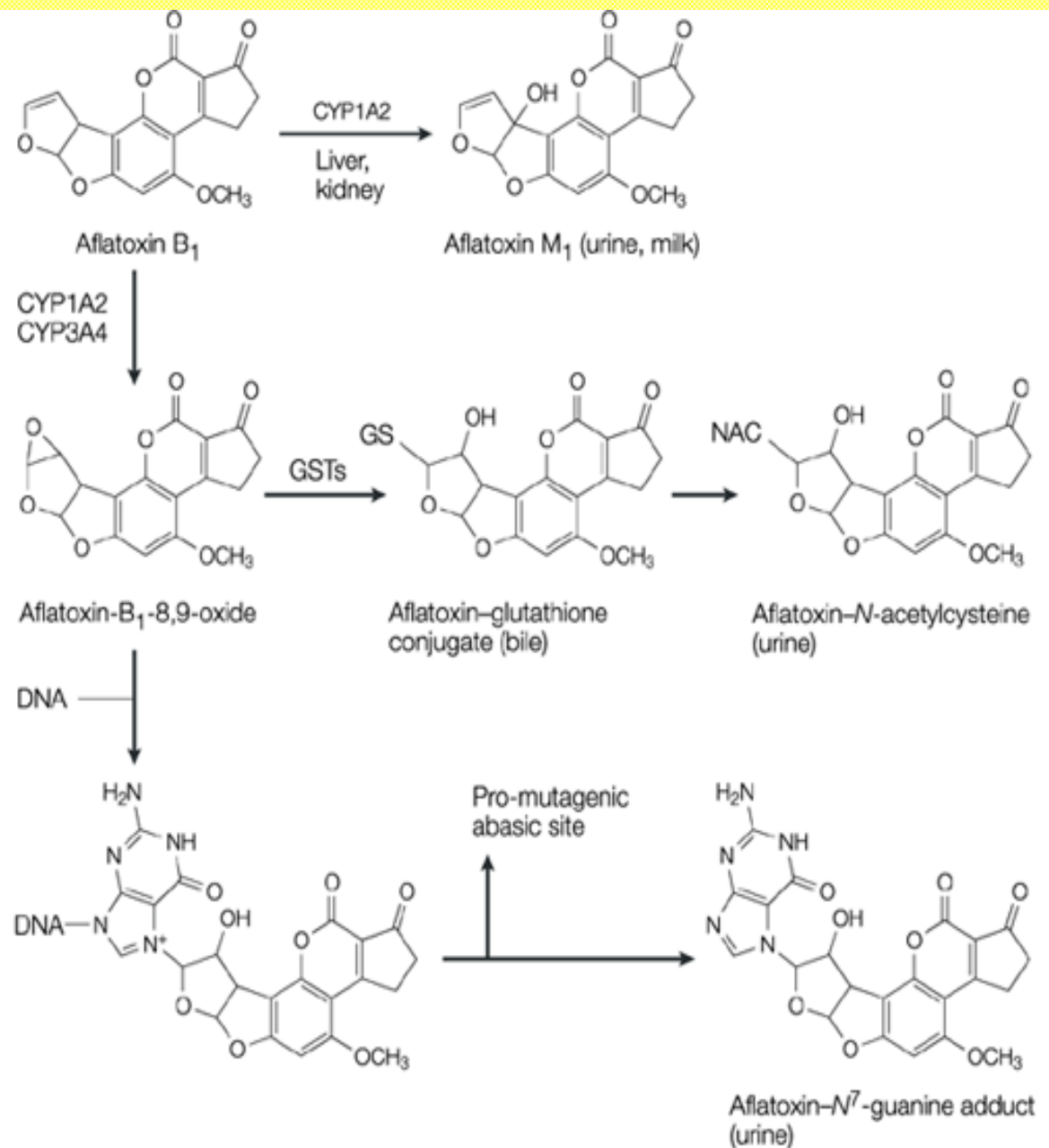
Aflatoxiny

Karcinogenní aktivita

(chronická toxicita)

-TD50 = 3, 8 a 20 $\mu\text{g/kg}$ pro indukci hepatocelulárního karcinomu u **potkanů**, makaka rhesus, makak jávský

- **V daném rozmezí žádný účinek na myši !!!**
- AFB1 je aktivován epoxidací na furanovém kruhu na **AFB1-8,9-oxid**
- Vazba na DNA+proteiny (albumin – marker)
- **Vazba na Guanin** vede k transverzi G $\rightarrow$ T
- **AFB1-N7-Gua** – biomarker expozice, korelace s tvorbou tumorů



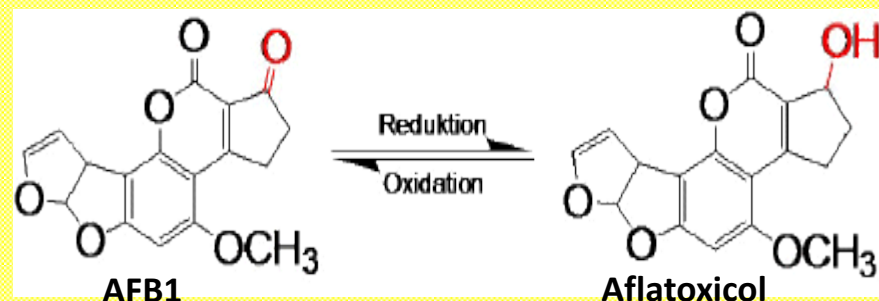
Aflatoxiny

AFB1 = karcinogen dle IARC

- Malý vliv na tempo rakoviny ve světě – nutný potencující účinek hepatitidy B
- Afrika/Asie – **HBV+AFB1 >> AFB1 = 15-krát vyšší riziko vzniku rakoviny** (HBV = tumor promoter)
- **Asociace inhalace AFB1 s rakovinou plic** – kontaminovaný prach ze zrní (až 52 ppm, FDA = 20ppb pro AFB1) – metabolizace CYP2A13 (nosní mukóza, plíce, průdušnice)
- V USA = 20 ppb pro potraviny a 0.5 ppb pro mléko
- V EU = 4 ppb a 0.05 ppb pro mléko

Metabolismus

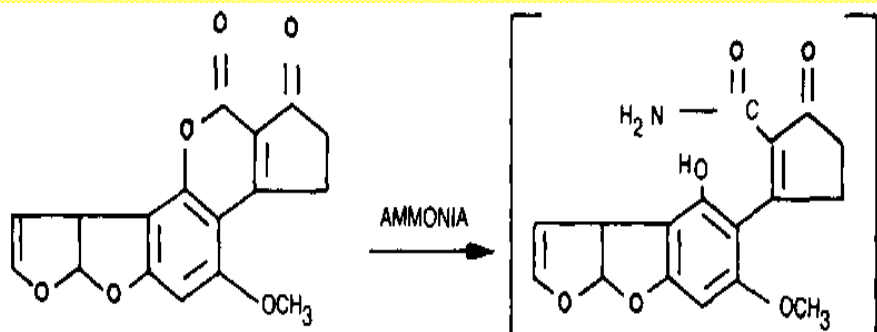
- **AFM1** - v mléce krav a ostatních savců včetně člověka, lze nalézt i v sýrech či jogurtu – karcinogenní potenciál = 2-10% z AFB1, akutní toxicita podobná s AFB1
- **Aflatoxicol** – hlavní metabolit, až 25% všech metabolitů, cca 20% mutagenní aktivity AFB1



Fyzická separace kontaminovaných surovin

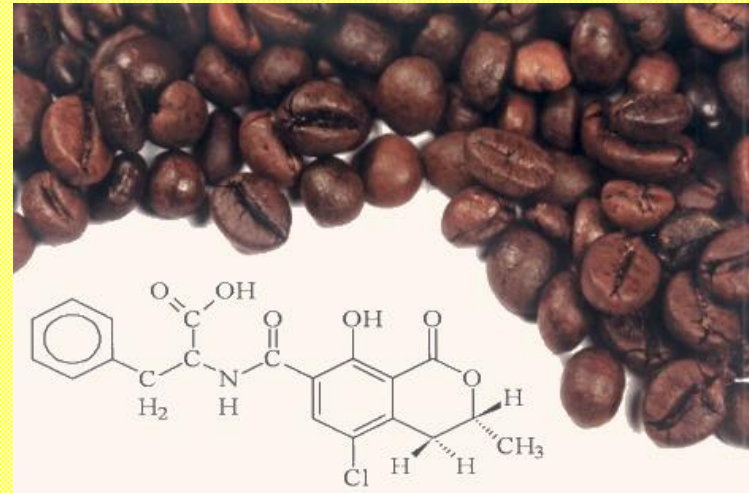
– *A.flavus* emituje žluto-zelenou fluorescenci pod UV

- **Pečení** snižuje obsah v arašídech o 80% po 30 minutách
- **Použití NH3** – převod na netoxickou formu – průmyslová dekontaminace



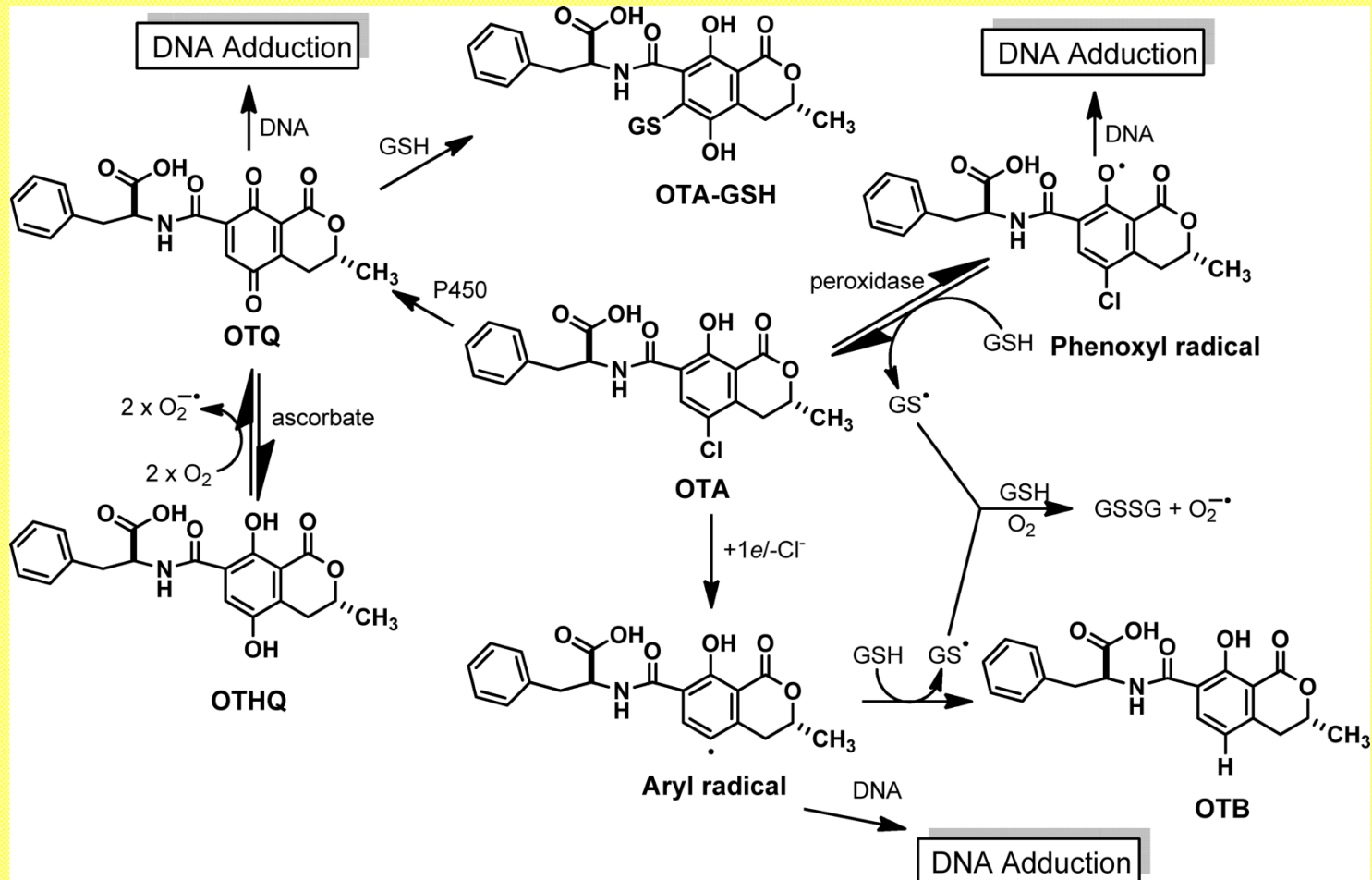
Ochratoxin A

- hlavní příčina **balkánské endemické nefropatie (BEN)** = nezánettivé chronické onemocnění ledvin
- Popsáno v oblastech Rumunska, Bulharska, Srbska, Chorvatska, Bosny
- **Producenti** - *Aspergillus* a *Penicillium*
- **Zdroje**: kukuřice, arašídy, zrní, zelenina v rozkladu, plesnivé cereálie, žito, ječmen, kávová zrna, chleba, mouka
- **Renální karcinogen** v hlodavcích (dle Národního toxikologického programu (NTP), <http://ntp.niehs.nih.gov/>) – polyploidie proximálních tubulů
- Dávka **70 µg/kg** → **39% samců a 4% samic potkanů** = **RAKOVINA** → samci citlivější
- Dle IARC – skupina 2B = možný lidský karcinogen
- Tolerovatelná denní dávka (TDI) = dle EFSA = **17 ng/kg tělesné váhy /den**



Ochratoxin A

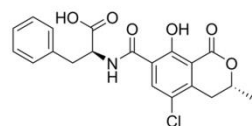
- Kontroverze k mechanismu účinku
- NTP označuje OTA jako „**Reasonably anticipated to be a human carcinogen**“
- **Protektivní účinek L-Phe** na vznik tumorů u **samců kuřat** ale ne u samic
- **Přímý genotoxický účinek** – bioaktivace a vznik **Guaninových adduktů** – 20-70 na 10^9 nukleotidů v 10 potkanech



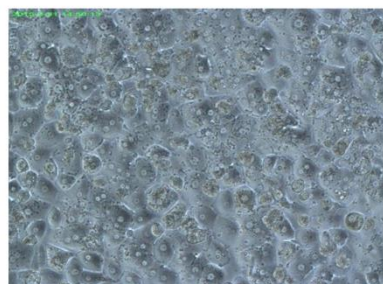
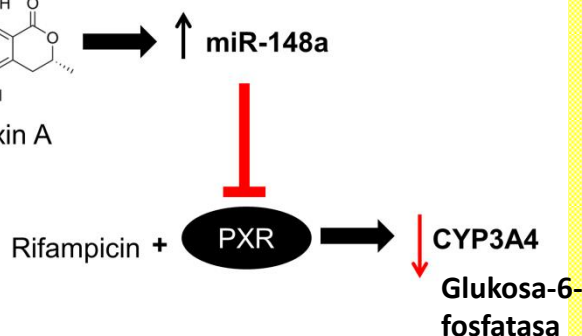
Ochratoxin A

Nepřímé účinky

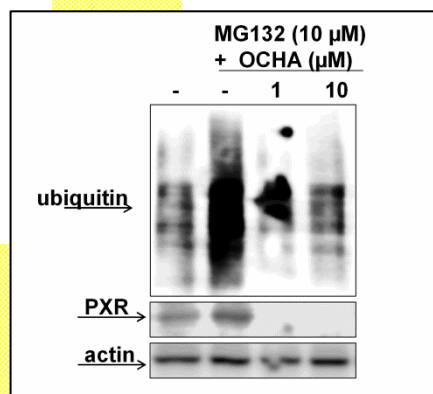
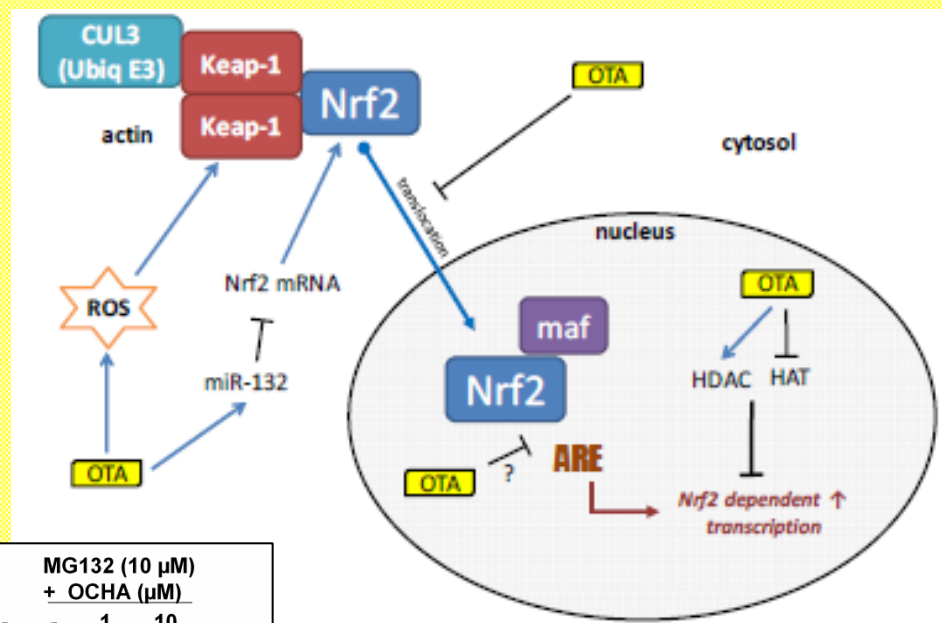
- **oxidativní stres** – vznik ROS a oxidativní poškození DNA - detekce 8-oxo-7,8-dihydro-2'- deoxyguanosine (dOG) → **redukce v antioxidační ochraně** skrze downregulaci exprese genů regulovaných Nrf2 (nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor)
- **indukce miRNA** – miR-132 či miR-148 a dalších
- **zastavení ubikvitinace** a degradace ???



Ochratoxin A



Primary cultures of human hepatocytes



Ochratoxin A

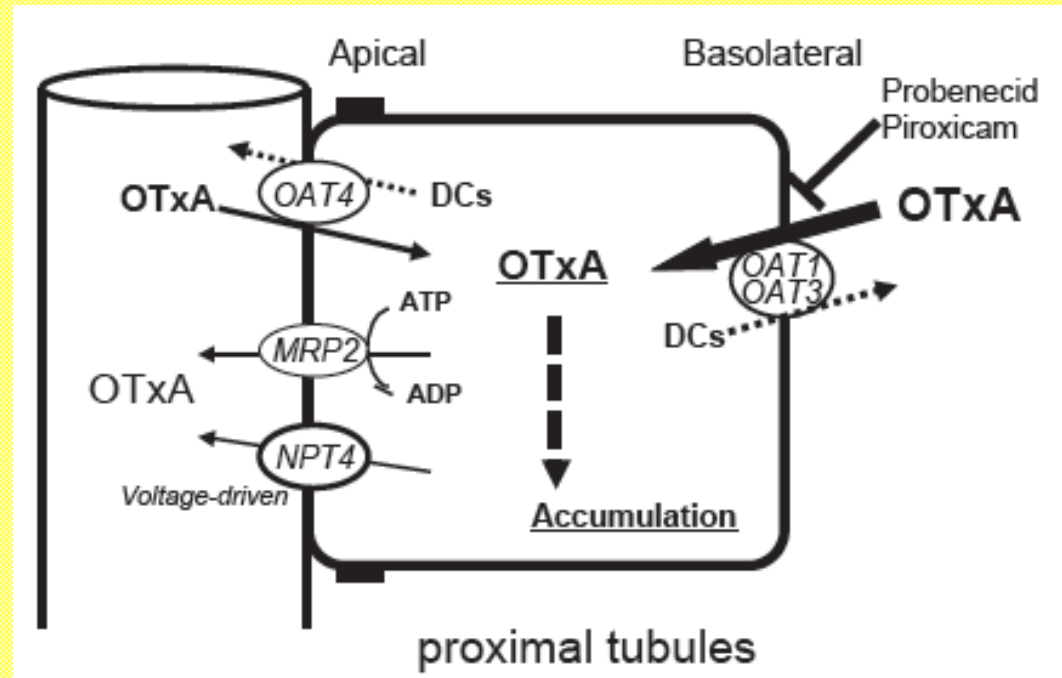
Příčiny tkáňově a pohlavně specifické toxicity Ochratoxinu A v proximálních tubulech u potkanů

- **exprese:** Oat1/Oat3 jsou více exprimovány u samců potkanů v důsledku vyšší exprese transkripčního faktoru BCL6 (B-cell CLL/lymphoma 6)

Citlivost u lidí dále určena

polymorfismy:

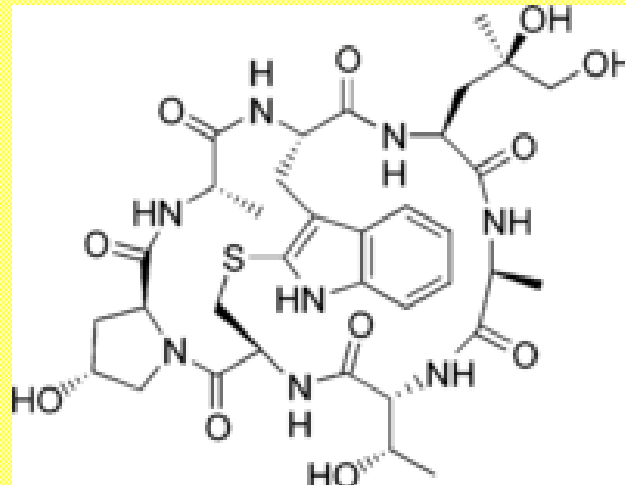
- NPT4 – SNP – V257F, G279R, P378L mají sníženou aktivitu
- MRP2 – SNP – S789F, A1450T – snížená funkce



Houby

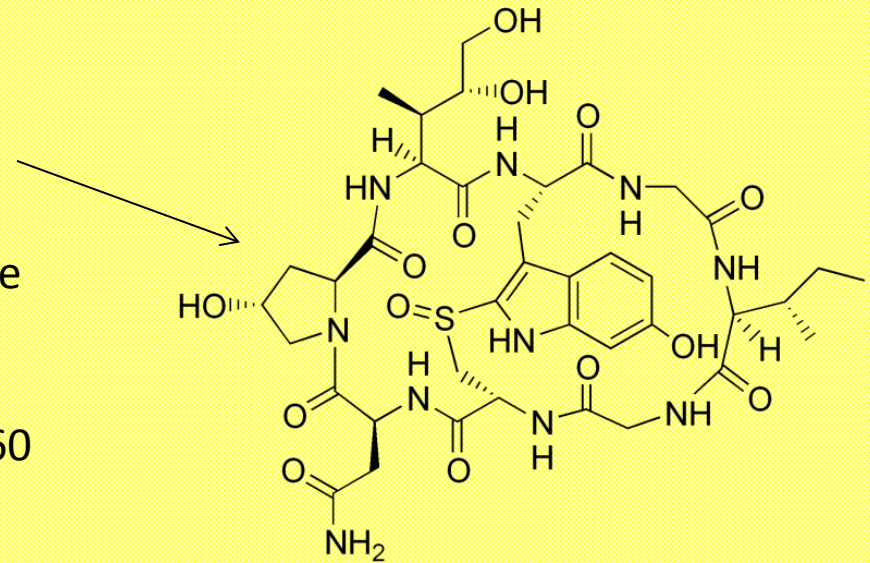
Amanita phalloides (Muchomůrka zelená)

- Známa Římanům a Řekům
- Řídká v USA až do 70let 20.st, černý pasažér z Evropy
- **Pozdní léto či podzim, výška kolem 20cm**
- Klobouk nazelenalo-hnědý až žlutý
- Obsahuje **cyklické peptidy** = toxicita
- **Phaloidiny** = hepatotoxikanty, špatně se vstřebávají *in vivo* v GIT – **vazba na aktin** a disrupce funkce cytoskeletu (heptapeptid)



Amanita phalloides (Muchomůrka zelená)

- **Amanitiny** = α -Amanitin (oktapeptid) – LD50 u hlodavců = 0.1 mg/kg (IV / Per Os)
- Cílem je **RNA-polymeráza II** → dezintegrace jadérka a neschopnost syntézy ribozomů
- α -amanitin - existuje jako komplex s polysacharidem (myriamanin) o velikosti 60 kDa
- Dochází k **destrukci jater** podobajícímu se vysokým dávkám ionizujícího záření
- Destrukce **tubulů ledvin**



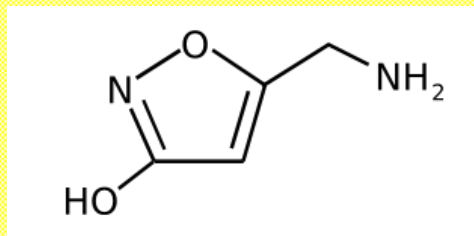
Průběh otravy:

- mnoho hodin po pozření hub
- průjem, zvracení, abdominální bolest – smrtelné v důsledku dehydratace
- 3-5 dní po pozření často smrtelné selhání jater a ledvin

Léčba otravy:

- plazmaferéza a transplantace jater
- houby obsahují 0.2-0.3 mg **α -amanitinu**/g čerstvé houby a pozření 50 g houby je letální pro dospělého!!!

Houby



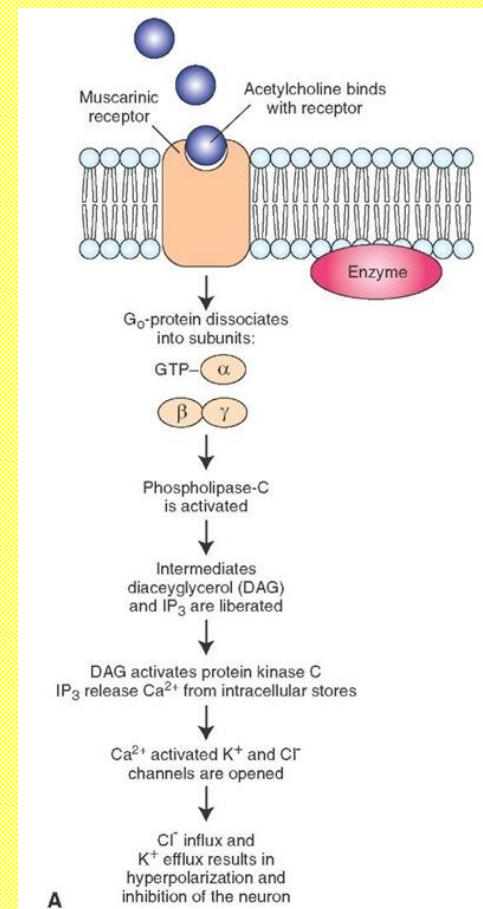
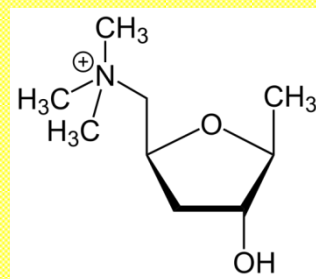
Amanita muscaria (Muchomůrka červená)

- Známa pro své psychotropní vlastnosti
- Látky zodpovědné za narkotickotoxické vlastnosti jsou isoxazoly - **muscimol** (0.2% sušiny)
- Neurologické symptomy nastupují během 30-90 minut po pozření
- 15 mg muscimolu vede ke stavu podobnému otravě alkoholem

Příznaky otravy:

- zmatek, nepokoj, vizuální poruchy, svalové křeče, delirium
- hluboký spánek s minimem paměti

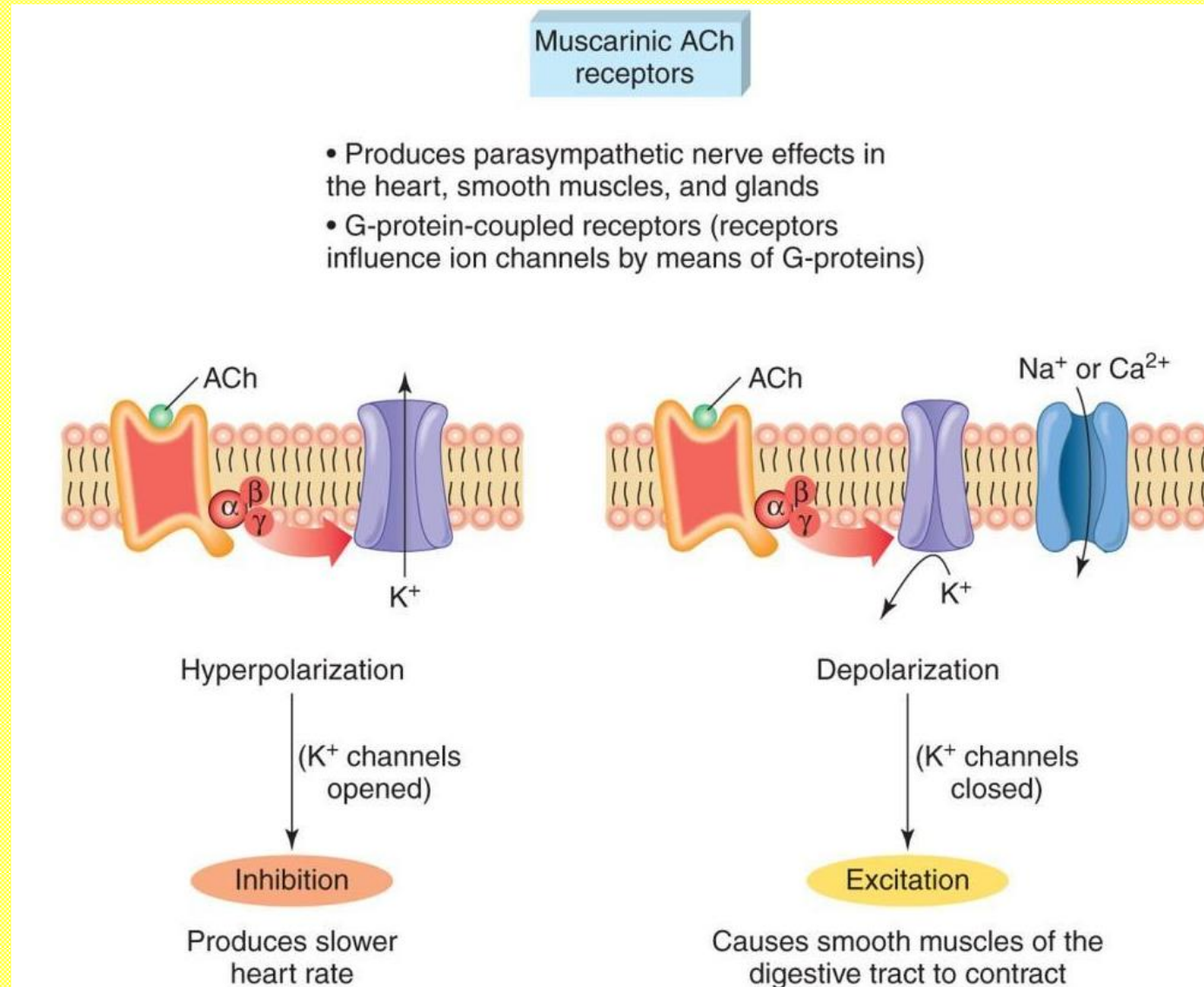
muskarin – agonista muskarinových receptorů
= parasymptomimetická látka



Amanita muscaria (Muchomůrka červená)

Muskarin

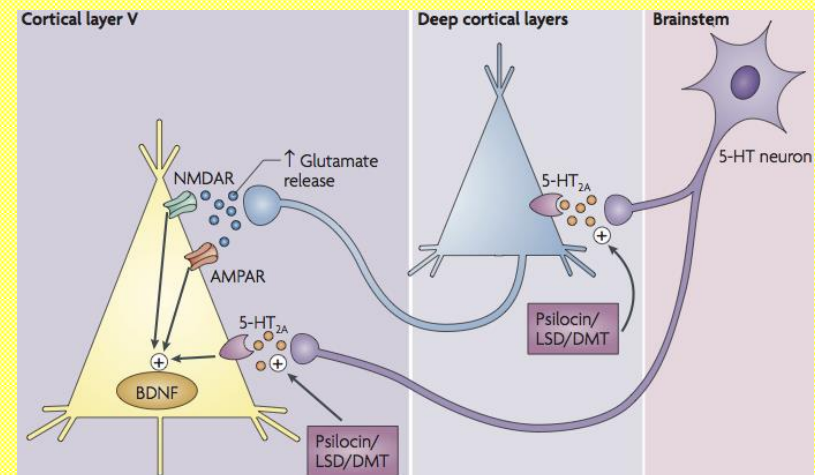
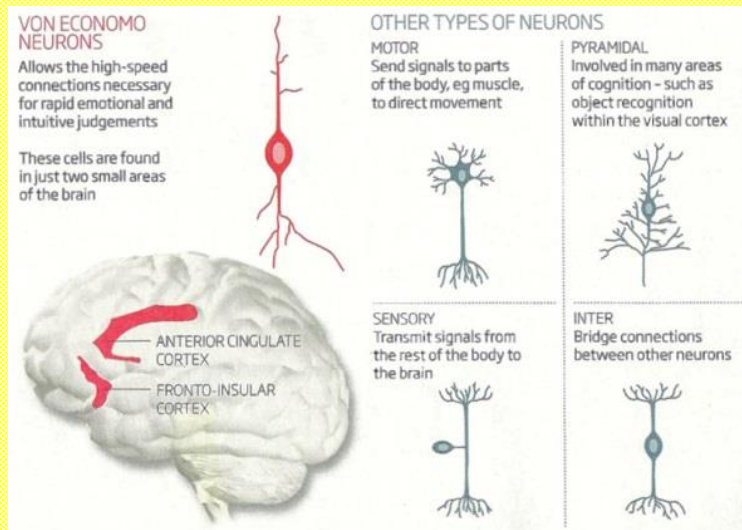
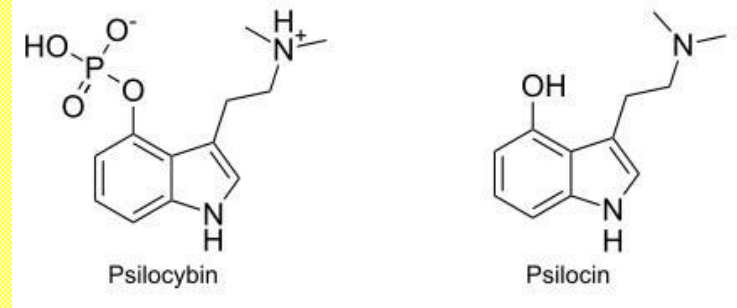
- Nemá vliv na CNS, **neprostupuje BBB**
- Do 30 minut – slinění, slzení, pocení
následované zvracením a průjmem
- Pomalý a nepravidelný puls
- Astmatické dýchání
- Použití atropinu vede k zlepšení



Houby

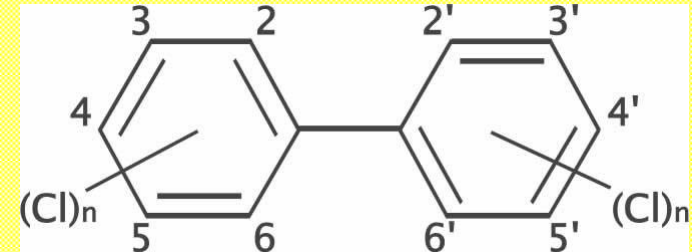
Psilocybe (Lysohlávky)

- Produkce halucinogenu **psilocybinu**
- Rychlý nástup který odezní do 2 hodin
- Výjimečně fatální následky
- V těle **defosforylován na psilocin**, který je agonista 5-HT_{2A} serotoninových receptorů v mozku
- Halucinogenní účinky psilocybinu srovnatelné s nízkými dávkami LSD
- Moduluje neurální obvody účastnící se poruch nálad



Potravní kontaminace z průmyslových vod

Polychlorované bifenyly (PCBs)



- Chlorované deriváty bifenyly
- Komerčně dostupné jsou směsi prodávané na základě procenta chloru
- V USA obchodní název **Aroclor 1242/1248/1260** – poslední 2 číslice = % chloru
- Teplotně stabilní, nehořlavé, nevedoucí elektřinu, viskózní kapaliny.
- Ideální pro elektro aplikace.

Environmentální dopad

- produkce PCBs začala v 1930 a vyvrcholila v 1970
- Našly využití v barvách, lubrikanty, izolačních páskách, nehořlavý materiál, inkoust, příprava pesticidů, propisovací papír
- USA – odhad víc jak miliarda tun vyprodukována a jen asi 600 miliónů tun zlikvidováno
- Likvidace do navážek/ vypouštěním do řek
- 60.letech 20.st – množství vzbudilo pozornost veřejnosti



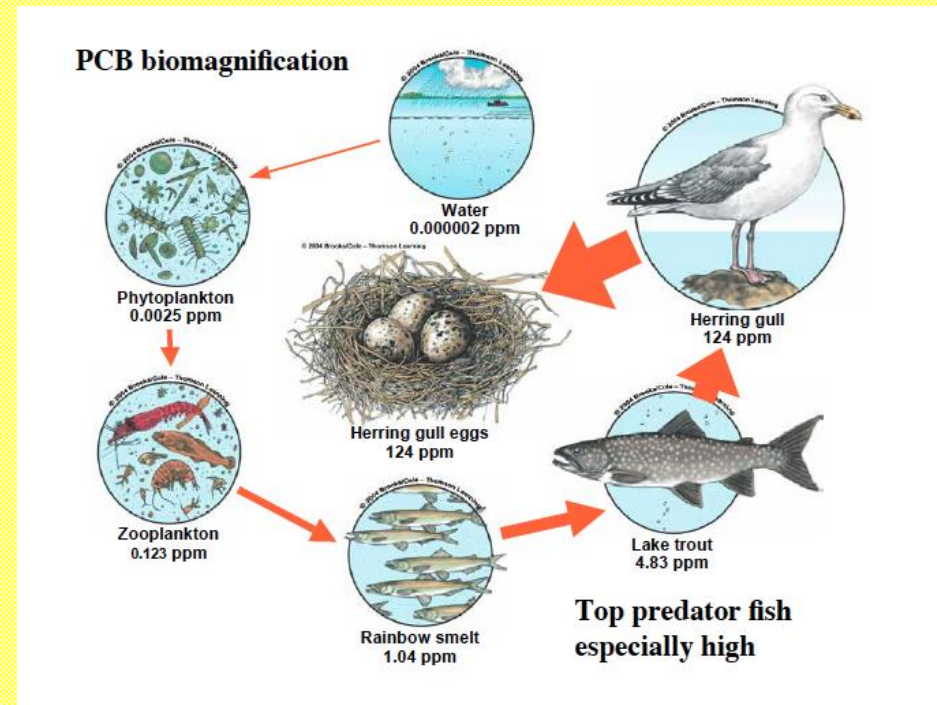
Potravní kontaminace z průmyslových vod

Polychlorované bifenyly (PCBs)

- Vysoce perzistentní → hromadění v potravním řetězci
- 1971/72 – v běžných potravinách kolem 15 ppb s výjimkou olejů (až 150 ppb)
- **USA – Michiganské jezero** – losos = 10-24 ppm, pstruh = 8-21 ppm
- Delfíny v blízkosti Kalifornie až 150 ppm dle tuku
- Vajíčka volavek z Nizozemí – 34-74 ppm
- Množství PCBs u lidí v **USA 0.1-3 ppm dle tuku**
- FDA zavedla limity: 2 ppm v rybách a korýších; 1.5 ppm v mléčných produktech; 0.3 ppm ve vejcích

Metabolismus PCBs

- Vysoká **absorbce v GIT**
- Uložení převážně v tukové tkáni
- **Poločas exkrece** = cca 8 týdnů pro samce potkanů/ 12 týdnů pro samice
- Značně ovlivněn rozsahem chlorinace
- Primárně se odbourávají na fenoly
- **Exkrece** převážně skrz výkaly ale **značná u krav (mléko)**



Potravní kontaminace z průmyslových vod

Polychlorované bifenyly (PCBs)

Fyziologická odezva

Záleží na druhu :

- kuřata – 50 ppm = nižší přírůstek váhy, edém, lapání po dechu, vnitřní krvácení
- prasata – 20 ppm = nižší nárůst váhy, pneumonie, gastrické léze
- Ovce – bez vlivu !!!
- Makak Rhesus – 250-400mg/kg → gastrická hypertrofie a hyperplazie, ztráta chlupů, edém, **akné**

Teratogenní účinky - kuřata s deformitami krku, zobáku, očí

- vajíčka z exponovaných slepic měla vyšší výskyt mrtvých embryí

Akutní toxicita pro potkany – PerOs - LD50 = 4000 mg/kg pro Arochlor 1221

Citlivým orgánem jsou játra – hypertrofie, proliferace ER, nárůst enzymové aktivity

- **Aktivace AhR** → zvýšená metabolická konverze skrze indukci biotransformačních enzymů

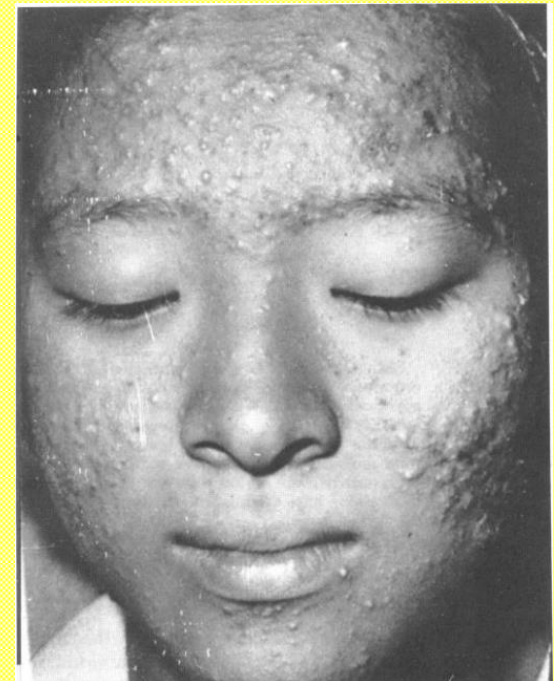
- PCBs vykazují kancerogenní účinky, dle NTP „ **Reasonably anticipated to be a human carcinogen**“ ale IARC = **Lidský karcinogen**

- Arochlor 1260 – chronická expozice 100 ppm samic potkanů → 26/184 tumory jater ve srovnání s 1/73 v kontrolní skupině

Potravní kontaminace z průmyslových vod

Polychlorované bifenyly (PCBs)

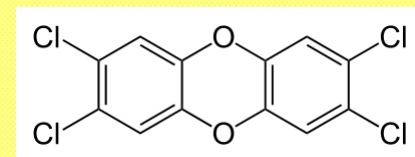
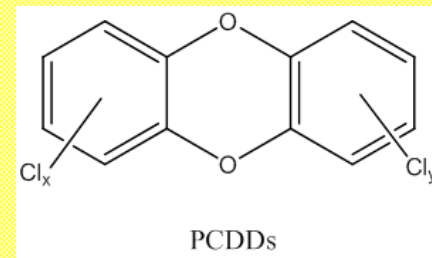
- V Japonsku – 1978 - **Yuosho disease** – kontaminovaný rýžový olej 2000-3000 ppm PCBs
- Vypouštění teplotně vodivostního média s obsahem PCBs do řek, kterými se zavlažovala rýžová pole
- Přes 1000 lidí vykázalo symptomy **chlorakné**, pigmentaci kůže a nehtů, zvracení, průjem, ztrátu hmotnosti
- Pacienti zkonsumovali až 2 g PCBs z kontaminované rýže za 2-6 měsíců



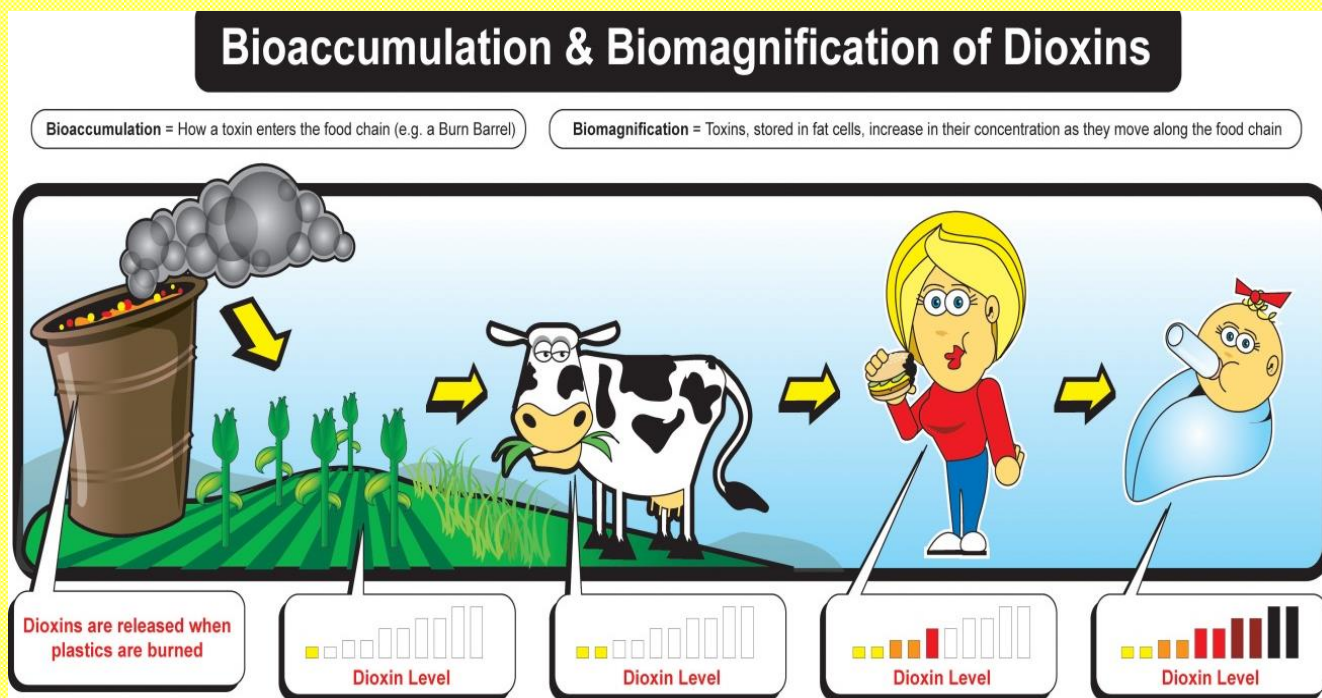
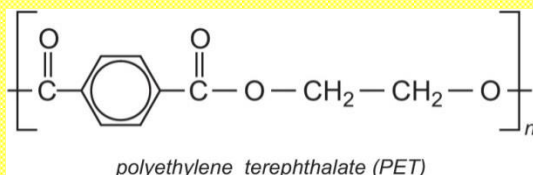
Potravní kontaminace z průmyslových vod

Polychlorované Dibenzo-p-dioxiny (PCDDs)

- Přírodní či syntetické látky obsahující atom kyslíku v etherové vazbě na atomy uhlíku benzenu
- Nejznámější **TCDD (2,3,7,8 –tetrachlodibenzo-p-dioxin)**
 - **karcinogen** – 3x potentnější než aflatoxin B1
 - bezbarvá krystalická sloučenina, rozkládá se až nad 700°C



- Dioxiny vznikají
hořením
chlorovaných
uhlovodíků (plastů
– PVC, PS, PET)



Potravní kontaminace z průmyslových vod

Polychlorované Dibenzo-p-dioxiny (PCDDs)

- Rozpustné v tucích, bioakumulace skrz potravní řetězec (TEQ = toxické ekvivalenty)
- Dioxiny vznikají kondenzací orthochlorofenolátů při syntéze **herbicidu 2,4,5-T**

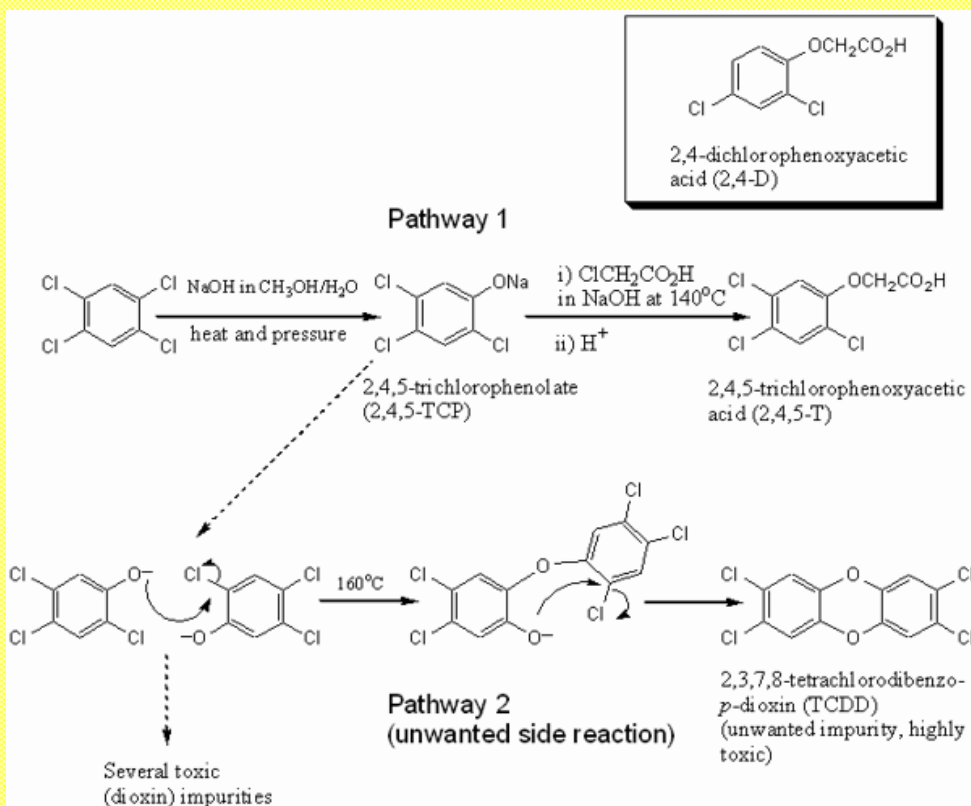
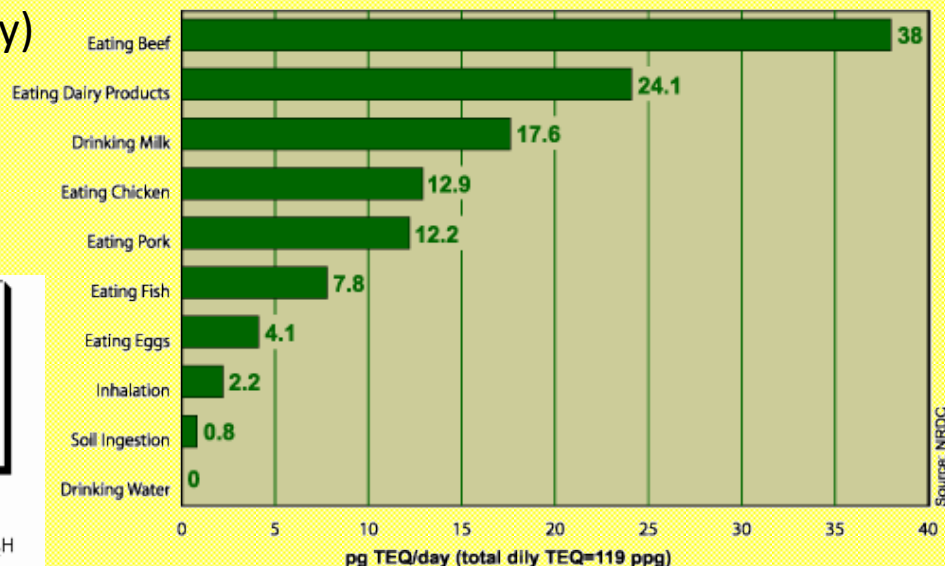


Figure 30
Background Dioxin Exposure in North America
(portion of total TEQ by pathway)



Congeners	TEF Value
Dibenzo-p-dioxins (PCDD)	
2,3,7,8-TCDD	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01

Potravní kontaminace z průmyslových vod

Polychlorované Dibenzo-p-dioxiny (PCDDs)

- TCDD**
- oral LD50 pro **morče** (guinea pig) = < 1 mg/kg
 - **křeček** (hamster) víc jak 10 000-krát vyšší LD50 !!!
 - **chlorakné** – králíci, myši, opice, člověk – vznik 2-3 týdny po expozici
 - hypotalamová atrofie, ztráta očních víček, nehtů na prstech, edém, suchá kůže
 - = **promoter karcinogeneze**
 - 10-100 ng TCDD/kg → nárůst počtu tumorů
 - **teratogen** u myši a králíků = **indukce potratů** !!!



Seveso, Itálie – náhodný incident s kontaminací TCDD – 37 000 pracovníků exponováno v 1976

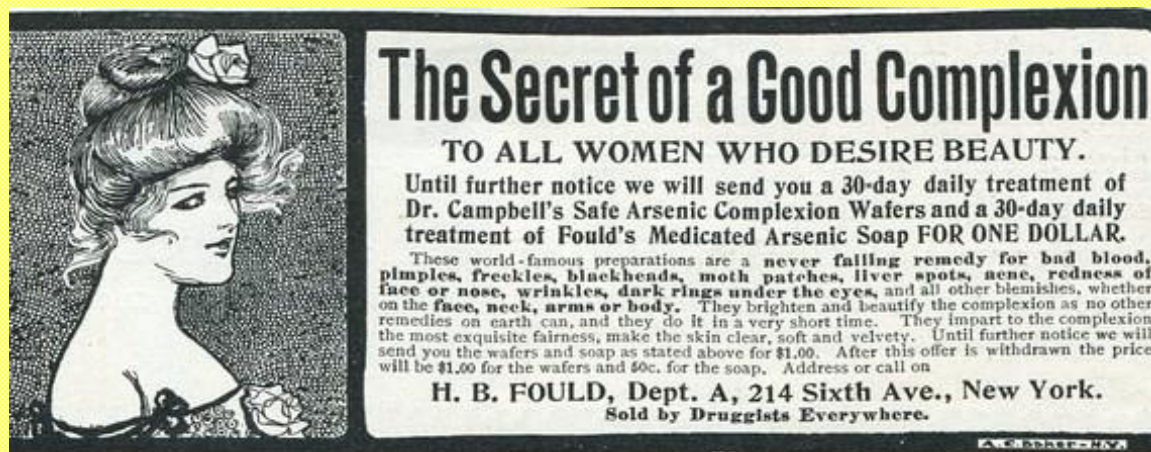
- **člověk méně citlivý než morče**, většinou jen chlorakné
- únava, snížená odpověď periferního nervového systému, zvětšení jater a změna hladiny mnoha enzymů

1982, Missouri, USA – odpadní chemikálie s obsahem TCDD použity jako) v koňských stájích proti tvorbě prachu – mnoho zvířat uhynulo ale žádná známka úmrtí člověka

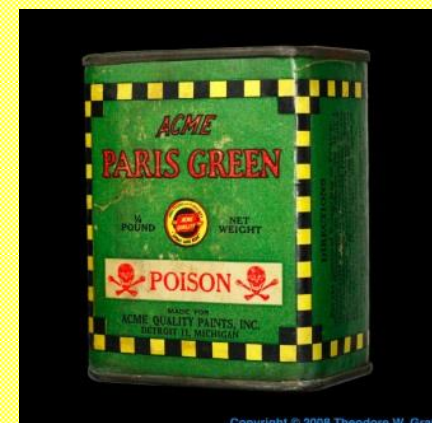
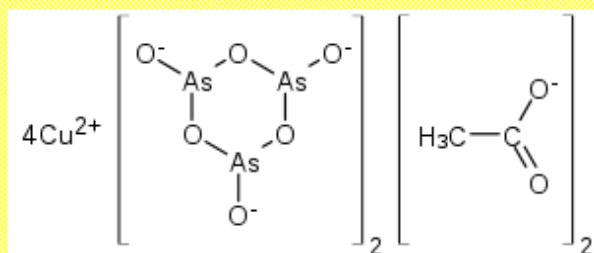
Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - As

- **Výskyt** - první zmínka 1250 (Albertus Magnus, Německo)
 - viktoriánská doba – **As míchán s octem a křídou** na zlepšení pokožky v obličeji → bledá tvář = nepracovala na polích !!!
 - 2005 – Čína je největším producentem „bílého arsenu“ = As_2O_3



Zemědělské insekticidy a jedy = Paris Green (aceto-arsenitan měďnatý), arseničitan vápenatý, hydrogenarsenan olovnatý



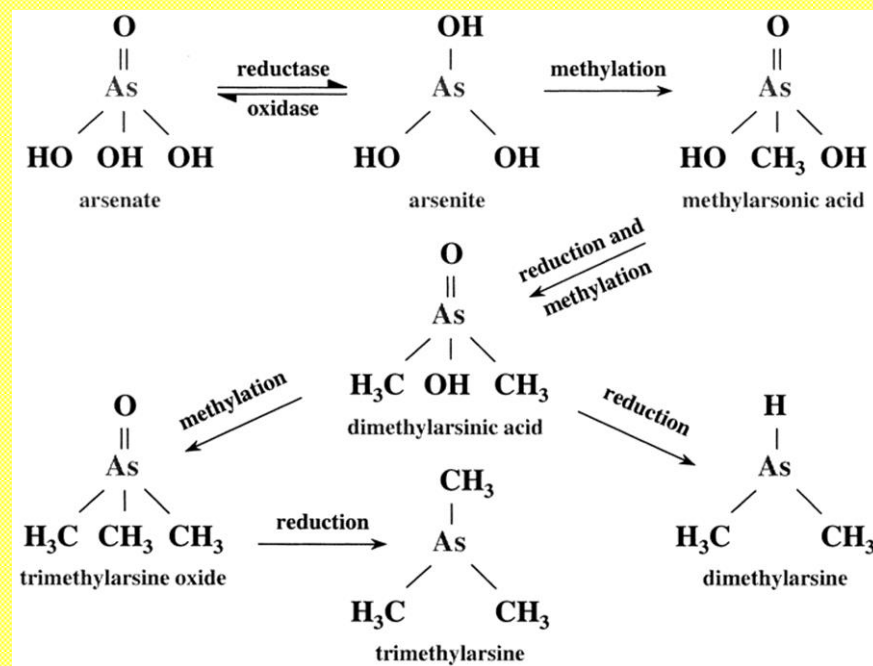
Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - As

As_2S_3 , AsS – pigmenty v barvách –
kvůli toxicitě se přestaly užívat



Anorganický As metabolizován na organický metylací plísněmi či bakteriemi !



Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - As

Závažná je kontaminace podzemní vody

- epidemie otravy Arsenem v Bangladéši
- Severní část USA – Michigan, Wisconsin, Minnesota – významné množství As ve vodě.

Příznaky akutní otravy: nauzea, zvracení, svalová slabost, hnědá pigmentace

Chronická otrava: multisystémové poruchy – zvětšení jater, anémie, redukce v bílých krvinkách

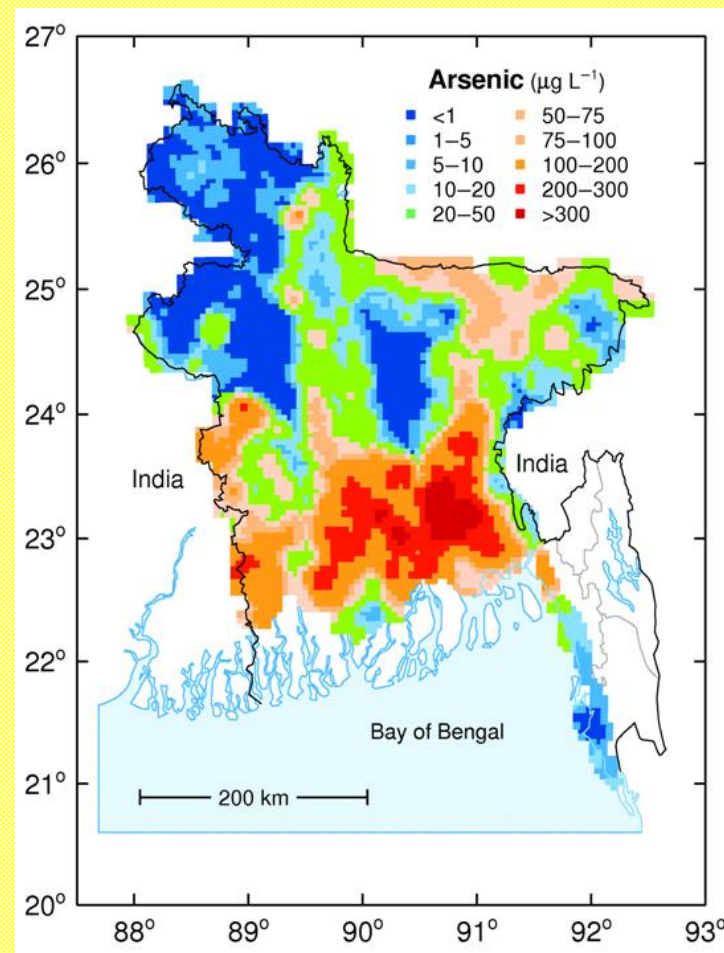
As = Lidský karcinogen

Většina stravy méně než $0.25 \mu\text{g}$ arsenu /g (výjimka ryby).

Vyšší hodnoty přes $100 \mu\text{g/g}$ nalezeny u korýšů.

Akumulace probíhá zejména u mořských živočichů.

Odhad denního příjmu = $10\text{--}200 \mu\text{g}/\text{den}$



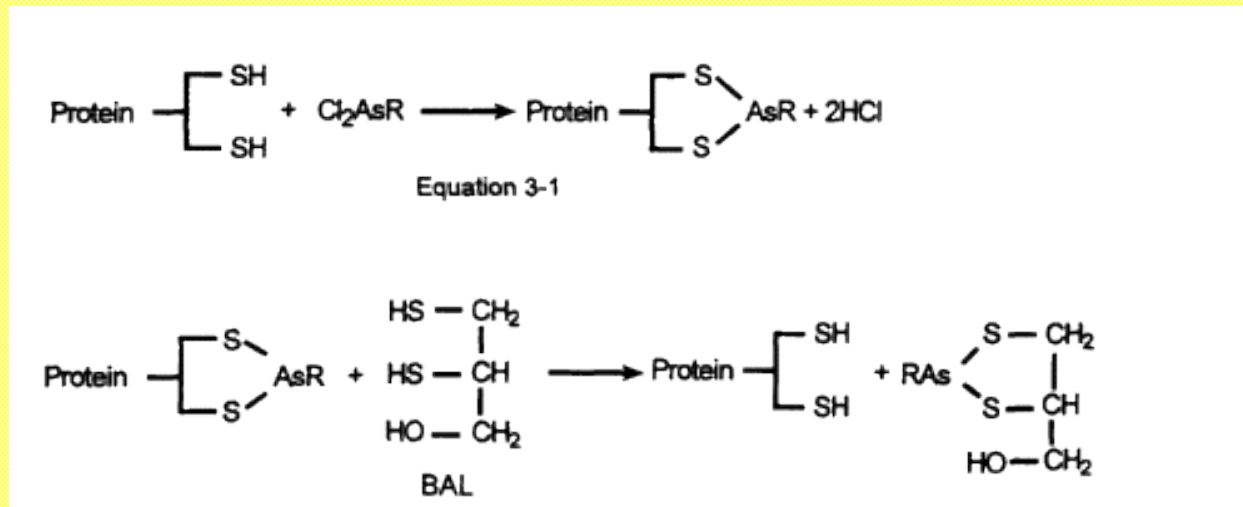
Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - As

- Absorbován zejména v tenkém střevě.
 - Inaktivuje kolem 200 enzymů (SH skupiny) podílejících v reparaci DNA a energetice buňky
 - Inhibuje pyruvát dehydrogenázu
 - Kompeticí s fosfátem rozpojuje oxidativní fosforylaci
 - Zvyšuje se tvorba H₂O₂ a ROS
- ➔ **Nekróza**

As je uvolňován ze sedimentů do podzemní vody v důsledku anoxických podmínek v pod povrchem.

- **Protijed: BAL**



Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - Pb

Výskyt :

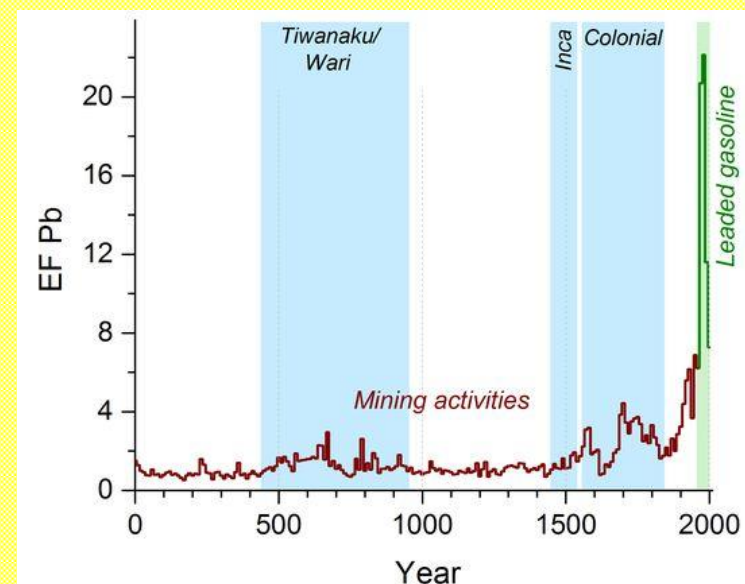
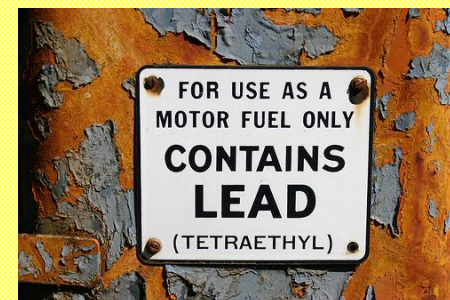
- PbS – největší výskyt z těžkých kovů v zemské kůře
- Používáno Egyptany, Řeky, Číňany – na tvorbu vodovodního potrubí, kuchyňských potřeb, nádob na kapaliny
- Nádoby s vínem obsahovaly 240-1000 mg olova/litr

Environmentální kontaminace:

- Baterie a additiva do benzínů (tetraethyl olovo)
- Odhad na 26 000 tun spotřebovaného olova/rok v Kalifornii v 70. letech 20. st

Potravní kontaminace:

- voda, strava
- **rostliny v blízkosti silnic a dálnic** mají vyšší obsah olova
- **zvířata mají největší hladiny Pb v kostech** (mořské plody 0.2-2.5 ppm)



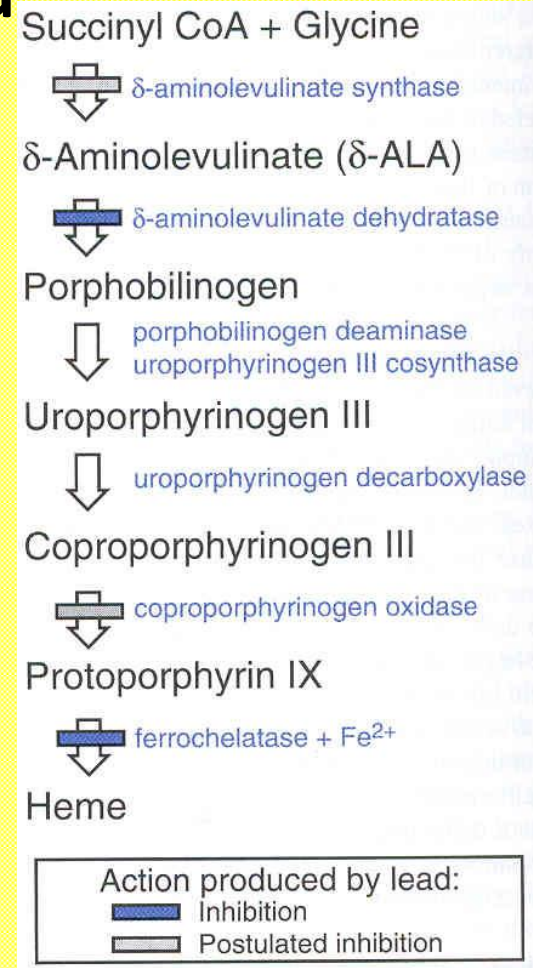
Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - Pb

GIT absorpce závisí na formě olova:

- Et₄Pb = z víc jak 90%
- anorganické Pb – nízká vstřebatelnost 5-10%, u dětí a novorozeňat je absorpce vyšší – 40-50%
- Půst a nízký Ca²⁺/Zn²⁺ zvyšují absorpci olova

Poločas Pb v těle cca 10 000dní – ve dnech s nízkým příjmem Ca²⁺ → uvolnění Pb z kostí = toxicita – významné pro starší lidi – demineralizace kostí !!!



3 stádia otravy olovem:

- 1) **Asymptomatické stádium (I)** – změna v krvi, olovo snižuje životnost Ery (inhibice syntézy hemu – ALA syntetáza, ALA dehydratáza, Ferrochelatáza – hladina ALA zvýšena)
- 2) **Symptomatické stádium (II)** - Anémie, poruchy CNS (hyperaktivita, impulsivní chování, *neklid, bolesti hlavy, ztráta paměti*)
- 3) **Stádium III** – selhání ledvin, křeče, kóma, smrt

Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - Hg



Výskyt:

- HgS, cinnabar (cinabarit, rumělka)

Kovová rtuť a soli – průmysl –
vypínače, nátěr, katalyzátory.
Organo-rtuťnaté sloučeniny –
diuretika (do jisté míry)

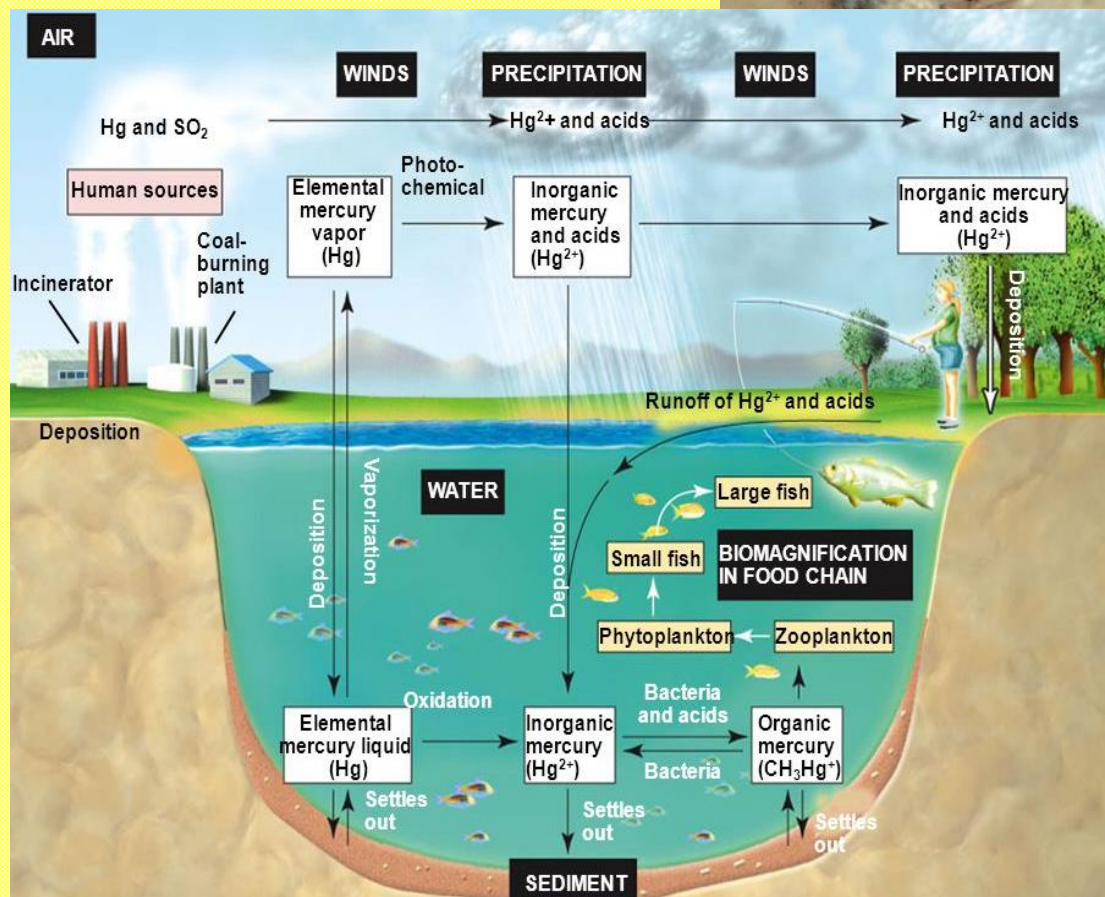
Kovová rtuť podléhá biokonverzi.

DialkylHg = těkává !!!

Kontaminace potravin:

- Hlavní zdroj = ryby – velký tuňák
cca 0.25ppm, podíl CH_3Hg roste
se stářím ryby

Dle WHO – příjem 300 μg /týden
jako tolerovatelný, ale jedinci
konzumující ryby jsou ohroženi !!!



Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - Hg

Absorbce

- dle chemické formy a místa vstupu
- < 0.01% kovové Hg se vstřebává skrz GIT
- Cca 80% inhalované Hg se vstřebá
- Od 2% HgCl_2 u myší až po 20% octan rtuťnatý u potkanů
- Cca 100% pro Methylrtuť

CH_3Hg se v plasmě váže na Ery a distribuuje se do ledvin, střeva, svalů.

Přesun přes BBB je pomalý, avšak z mozku se odstraňuje pomaleji oproti ostatním tkáním (10-krát více jak v krvi)

Exkrece Hg močí a výkaly. Poločas vyloučení pro methylrtuť je cca 80 dní v důsledku enterohepatální cirkulace.

Příznaky otravy – urémie, anurie, abdominální bolesti, nauzea, zvracení, krvavý průjem.

Dávka pro poškození ledvin = 175 ppm solí rtuti v jídle

Minamata disease – 1954-1970 – otrava 120 lidí, 50 smrt.

- Ztráta vnímání na koncích prstů a kolem úst, ztráta koordinace, tunelové vidění, ztráta sluchu
- CH_3Hg je teratogenní s podobnými symptomy

Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - Cd

Výskyt:

- Spolu se Zinkem
- Vedlejší produkt těžby Zn a Pb
- Ke galvanizování a do baterií

Zdroje kontaminací: voda, jídlo a tabákové výrobky

- jídlo: korýši a ledviny dobytka, prasat, kuřat
- Hladiny v ledvinách cca 10 ppm a v ústřicích až 200-300 ppm
- Hladiny v mase kolem 0.03ppm a v hamburgerech až 0.08 ppm

Absorbce

- Cca 5% Cd se vstřebává skrz GIT
- Nemá organoformu
- Novorození potkani absorbují i 10-krát více Cd než 6-týdnů staří jedinci
- Absorbci ovlivňuje např. konzumace mléka (**s mlékem VYŠŠÍ**)
- Absorbce Cd roste s deficiencí Zn, proteinů

Distribuce

- U potkanů do 48h do jater, sleziny, nadledvinek, 6-tý den maximu v ledvinách (10x víc jak v játrech)
- Biologický poločas 20-40let, pravděpodobně v důsledku vazby na metalothioneniny

Potravní kontaminace z průmyslových vod

Těžké kovy - Cd

Příznaky otravy:

- Zvýšená exkrece glukosy, proteinů, AA, vápníku
- Hyperglykémie, snížená cirkulace insulinu
- Při vyšších dávkách – atrofie varlat, nadledvinek, prostaty;

- Teratogen a karcinogen

Protektivní látky – Zn, Se, Cu, Fe, vitamin C

Světové otravy:

- Údolí řeky Jintsu v Japonsku – poškozené ledviny a skeletální poruchy s bolestmi = „**Itai-itai Byo**“ / ouch-ouch disease
- Podpůrné faktory pro vznik choroby – těhotenství, kojení, deficienze vápníku
- kontaminovaná rýže s obsahem 120-35 0ppm v popelu oproti 20 ppm

Case Study: Heavy Metal Poisoning -



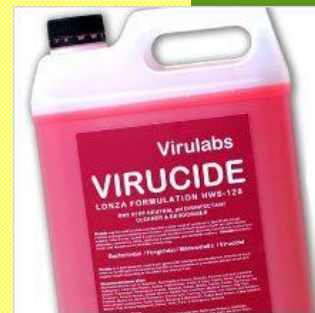
Rezidua pesticidů ve stravě

Pesticidy:

- Látka či směs látek používaných k prevenci, kontrole či zmenšení poškození způsobené škůdci

Dělení:

- Insekticidy
- Herbicidy
- Fungicidy
- Rodenticidy
- Baktericidy
- Acaricidy
- Molluscicidy
- Virucidy
- Nematicidy



Rezidua pesticidů ve stravě

Historie

- Sumerové, 4500 př.n.l – elementární síra k ochraně úrody
- 15.sts – Hg, As, Pb
- 17.st. – nikotin sulfát z listů tabáku
- 19.st. – pyrethrum, rotenone
- 1948 – Nobelova cena – P.H.Müller – objev insekticidální vlastností DDT



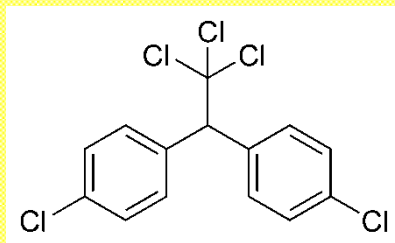
- 1944- syntéza Parathionu – Gerhard Schrader
- Použití DDT ke kontrole malárie
- 1962 -
 - od této doby emocionální a kontroverzní téma ve společnosti
 - Možné nežádoucí účinky, **bioakumulace v potravinách** a potravním řetězci
 - Dle studie FDA z 2003 – DDT, Malathion, Endosulfan – nachází se ve více jak 7% potravinách v koncentraci 0.1ppb až do 171ppb



Rezidua pesticidů ve stravě

DDT

- V USA zakázán 1972
- Stabilní, nepolární
- Použití na bavlnu, arašídý, sóju
- Koncentruje se v mléce



Toxicita

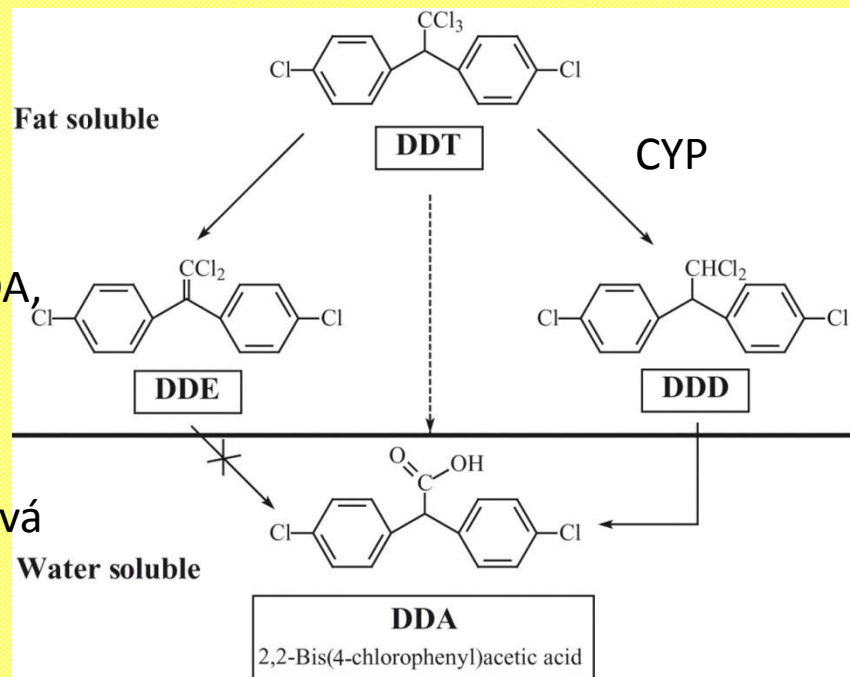
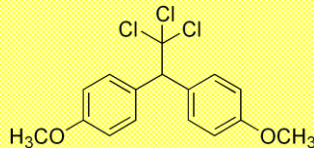
- Studie 1945 – 1 osoba - inhalace 100mg DDT/denně po dobu 11.5 měsíců a kontaminovanou vodu. Později i prášené jídlo rychlostí 2160mg/m² → **žádné účinky**
- **Endokrinní disruptor !!!**

Metabolismus

- Myši a křeček – močí se eliminuje glukuronid DDA, nalezeny i glycinový a alaninový konjugát

Analog – methoxychlor – neakumuluje se a nezůstává v prostředí

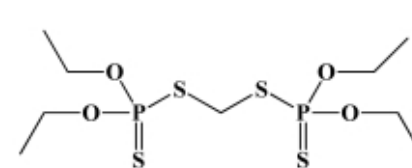
- LD50 > 5000mg/kg pro savce



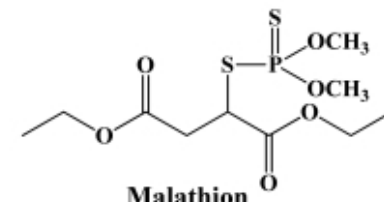
Rezidua pesticidů ve stravě

Organofosfáty

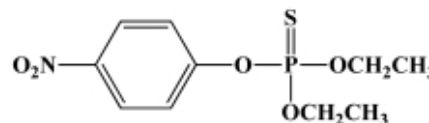
- Neakumulují se v těle, jsou rychle metabolizovány
- LD50 (parathion) = 10 mg/kg;
- Citlivé na různé reakce, např. malathion hydrolyzován esterasami → vyšší LD50 a nižší toxicita savčí toxicita !!
- Parathion je metabolizován na Paraoxon (LD50 = 0.6-0.8mg/kg potkani)
- **Inhibují AChE** → stimulace parasymptiku (SLUDGE)



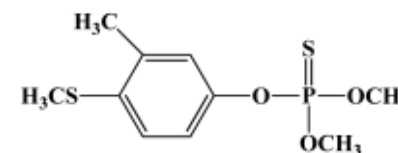
Ethion



Malathion



Parathion

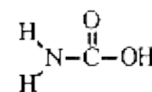


Fenthion

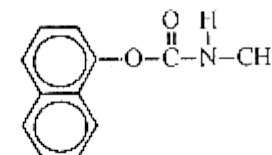
- **S** – Salivation
- **L** – Lacrimation
- **U** – Urinary incontinence
- **D** – Diarrhoea + diaphoresis
- **G** – GI upset
- **E** – Emesis

Karbamáty

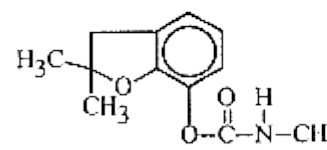
- Syntetické analogy alkaloidu fysostigminu z Bobu kalabarského
- Vysoce toxické i pro včely !!!
- Dermální toxicita nízká !!!
- 1985 – kontaminace vodních melounů v Kalifornii
- **Inhibují AChE** – slinění, slzení, křeče, smrt



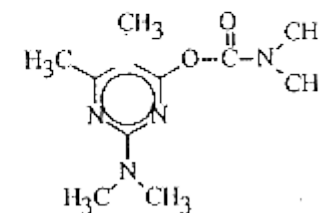
Carbamic acid



Carbaryl



Carbofuran



Pirimicarb

Rezidua pesticidů ve stravě

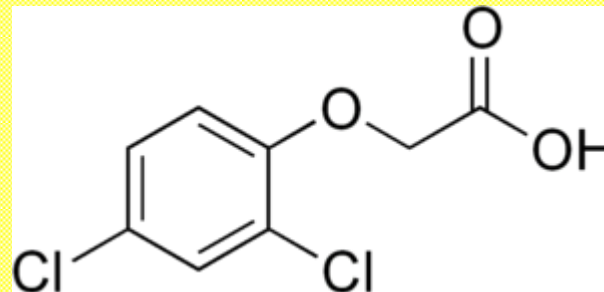
Herbicidy

- Estery kyseliny chlorofenyl octové
- 2,4-D (2,4-dichlorofenoxyoctová kyselina)
- Imitace rostlinného hormonu a narušení růstu plevelů a dřevin
- Nízká akutní orální toxicita – LD50 pro potkany je 375 mg/kg

Příznaky otravy:

- Tuhost svalů, paralýza, koma

Rychlá hydrolýza nezpůsobuje akumulaci v potravním řetězci !!!



Potravní aditiva

- látka či směs látek přidávaných do potravin za kontrolovaných podmínek

Konzervanty

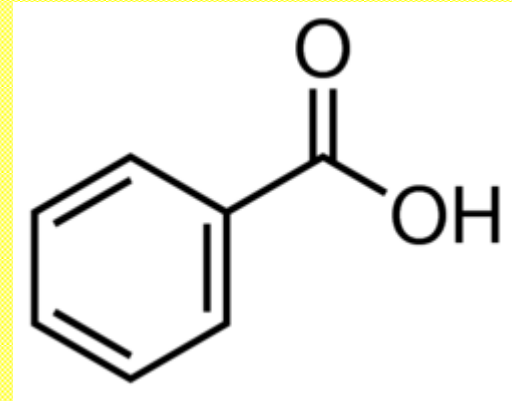
Kyselina benzoová

- Jako sodná sůl, antimikrobiální aditivum
- Sodná sůl méně toxická než kyselina !!
- **Subakutní toxicity u myši** - ztráta hmotnosti, průjem, dráždění vnitřních membrán, zvětšení jater a ledvin, paralýza a smrt
- Nevykazuje teratogenní účinky na potkanech

Do 6 hodin je exkretováno 75-80% celkové dávky !!!

Konjugace s glycinem – 90% jako **hippurová**

kyselina, zbytek jako glukuronid !!!

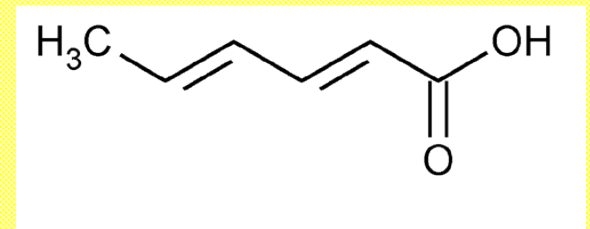


Potravní aditiva

Konzervanty

Kyselina sorbová a sorbát draselný

- Proti kvasinkám a plísním
- Použití: margarín, ryby, sýry
- Prakticky netoxické - orální LD50 v jednotkách gramů/kg
- Vyšší koncentrace vedou k zvýšenému růstu a velikosti jater = **substrát pro katabolismus v savcích !!!**

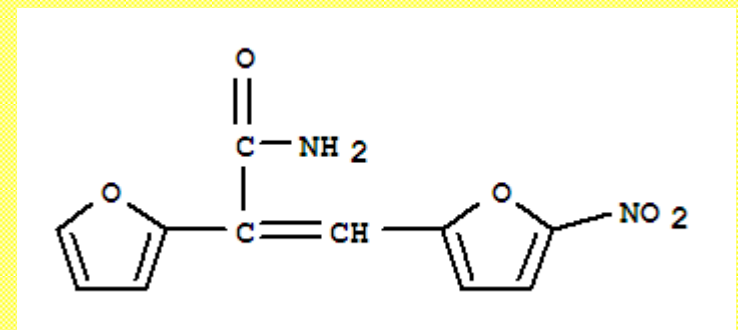


Peroxid vodíku

- K redukci bakterií v mléčných výrobcích
- Náhrada pasterizace a konzervant mléka
- Minimální toxicita (SC či IV) pro potkany

AF-2 (2-(furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)akrylamid

- Antibakteriální účinky
- V Japonsku přidáván do tofu, šunky, klobás
- 1973 – AF-2 mutagenní v in vitro testech
- Následně karcinogen !!!



Potravní aditiva

Antioxidanty

- Vitamin C

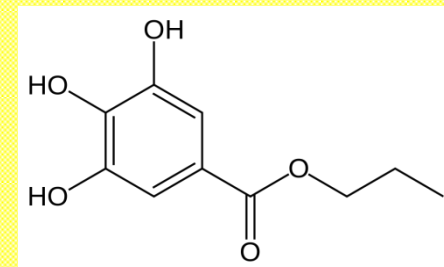
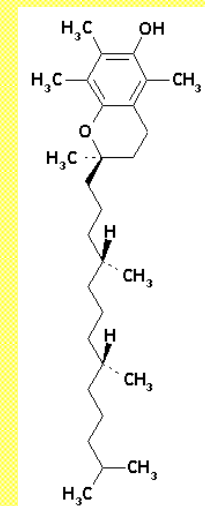
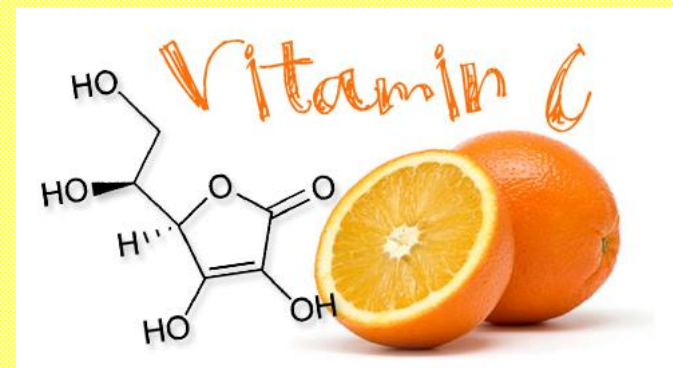
- kyselina L-askorbová (E300)
- nestabilní zejména v bazickém prostředí
- snižuje toxicitu kadmia ale nadměrné dávky prodlužují retenci organické rtuti
- **předávkování vede k pocení, nervovému napětí, nižšímu puls**
- snadno oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou
- toxicita není známa

- Vitamin E

- α -tocoferol
- na slunci se mění na temně hnědou
- nejednoznačná data: Per Os dávka 300mg/den → bolesti hlavy, nauzea, únava, závratě, rozostřené vidění
- chronická toxicita neznáma, WHO doporučuje 2mg/kg/den

- Propyl gallát

- n-propyl-3,4,5-trihydroxybenzoát (E310)
- 1.2-2.3% v potravě potkanů vede k ztrátě hmotnosti
- 10-16 měsíců -40% potkanů umřelo
- poškození ledvin

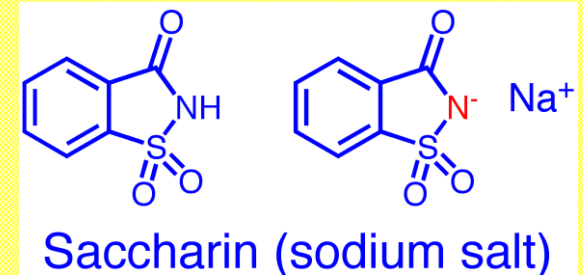


Potravní aditiva

Sladidla

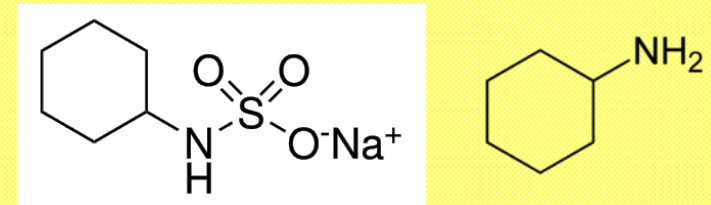
- Saccharin

- využití zejména pro diabetiky
- 300-500x sladší než sacharosa
- akutní toxicita Per Os pro hlodavce – cca 17 g/kg
- 1972 – 7.5% sacharinu v potravě vedlo k tvorbě rakoviny měchýře u druhé generace potkanů
- výsledky protichůdné, WHO doporučuje příjem do 0.5mg/kg



- Cyklamát sodný

- cca 30krát sladší než sacharosa
- in vivo konverze na cyclohexyl amine (LD50 Per Os potkani = 1.6g/kg)
- 1968 – FDA popsala teratogenicitu → zákaz v USA

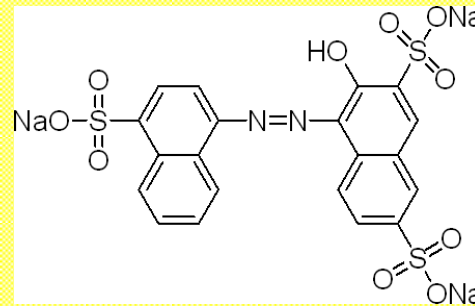


Potravní aditiva

Barvící činidla

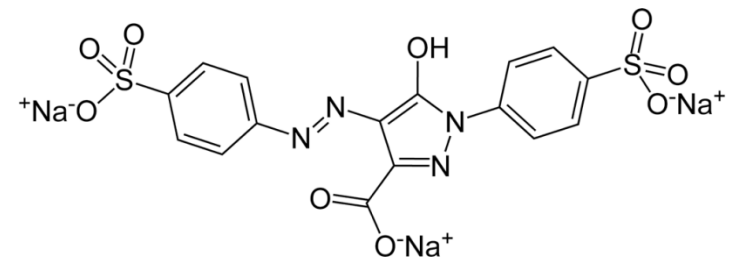
- Amaranth

- E123
- název odvozen od rostlin z rodu Laskavec (Amaranthus)
- 1976 zakázán FDA kvůli indikacím na tvorbu maligních nádorů u potkanů
- užití v limonádách, zmrzlinách, vínu, marmeládách



- Tartrazine

- E102
- používán od 1916
- LD50 Per Os myši = 12g/kg
- citlivost u lidí 1/10 000 → urticaria (kopřivka), astma
- 50mg vyvolá u cca 30% alergiků reakci
- FDA doporučuje ADI maximálně 7.5mg/kg

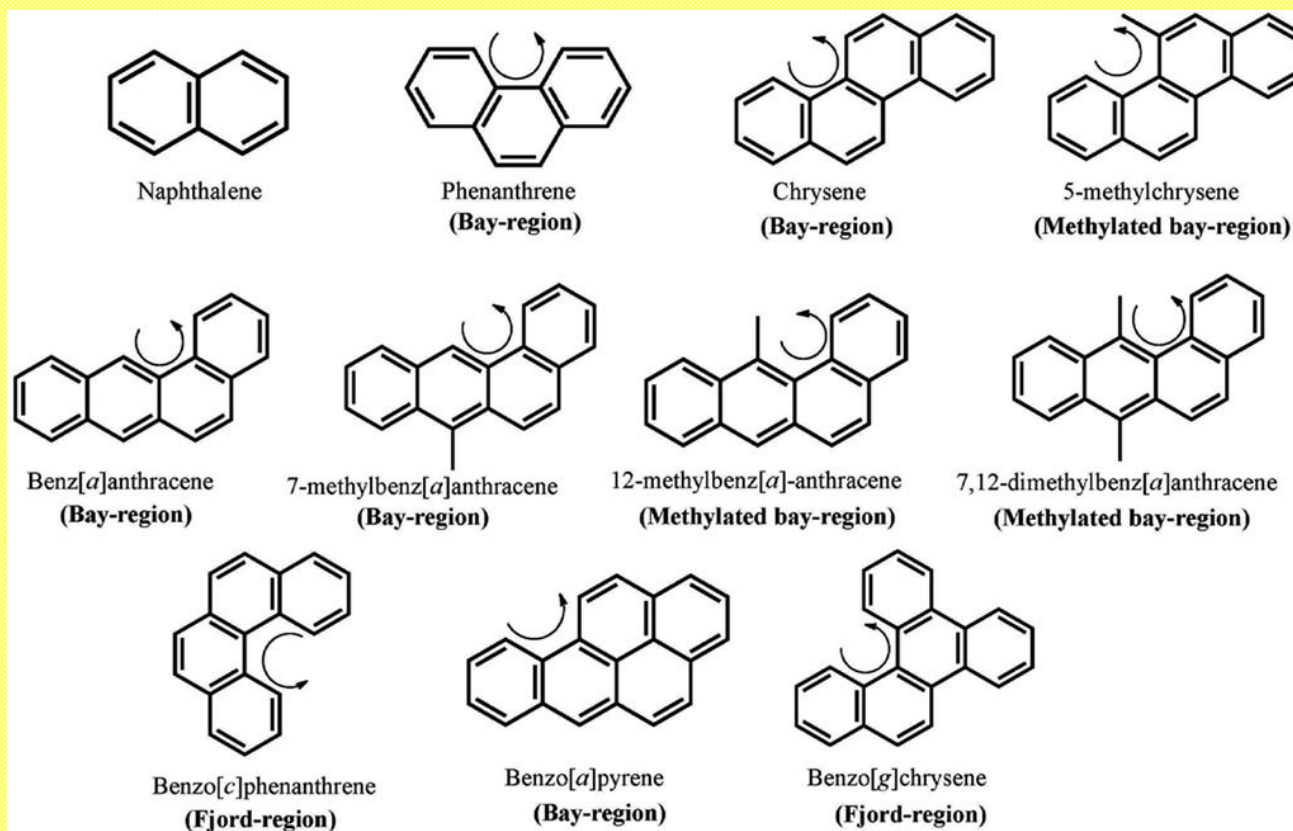


Škodliviny vznikající zpracováním potravin

Polyaromatické uhlovodíky (PAHs)

- 1775 – P.Pott, 1932 – izolace B[a]P
- grilování na dřevěném uhlí/uzení vede k tvorbě PAH
- tvorba v nepřítomnosti kyslíku za vysokých teplot
- větší vzdálenost grilovaného masa od uhlí vede k nižším

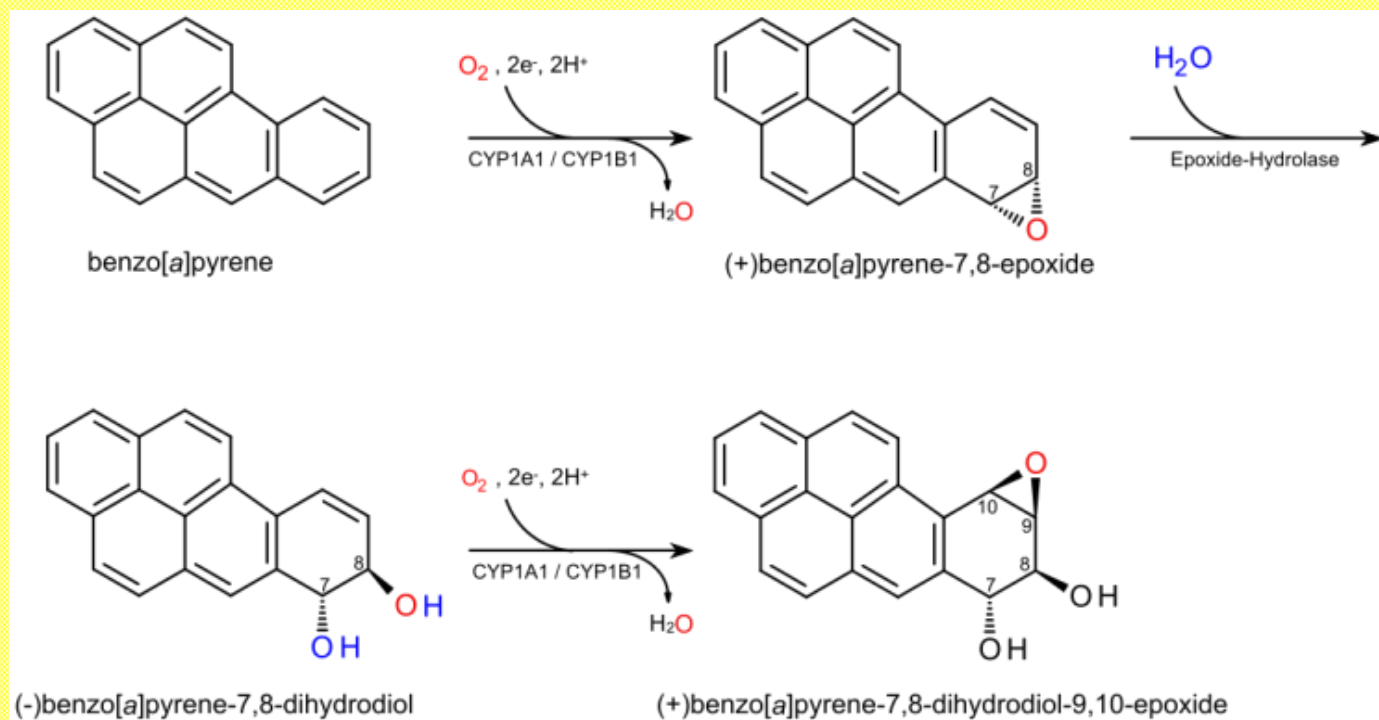
hodnotám PAHs



Škodliviny vznikající zpracováním potravin

Benzo[a]pyren – tvorba při cca 380°C/650°C → 0.7 ppb/17 ppb

- tvořen zejména z mastných kyselin a sacharidů
- karcinogen
- 25ppm ve stravě vede po 140 dnech vede k leukémii, plicním adenomům a nádorů žaludku u myši
- Aktivuje AhR, následně je metabolizován na diolepoxid = mutagenní/ karcinogenní

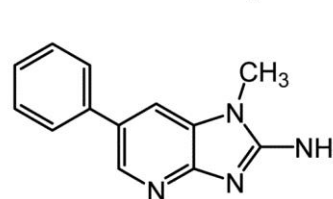


Škodliviny vznikající zpracováním potravin

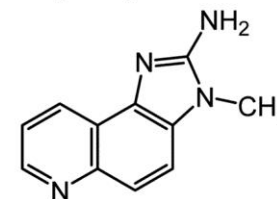
Polycyklické aromatické aminy

- Produkce primárně vařením proteinů bohatých potravin (sušený tuňák, sušená oliheň, hovězí, kuřecí)
- Pyrolyzáty tryptofanu či produkty cyklizace kreatinu
- Vysoce mutagenní ale málo karcinogenní u potkanů !!!
- Vysoká iniciační ale nízká promoční aktivita !!!
- Potenciální karcinogeny u lidí !!

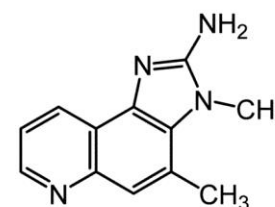
Heterocyclic aromatic amines (HAAs)



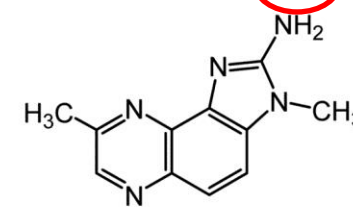
2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)



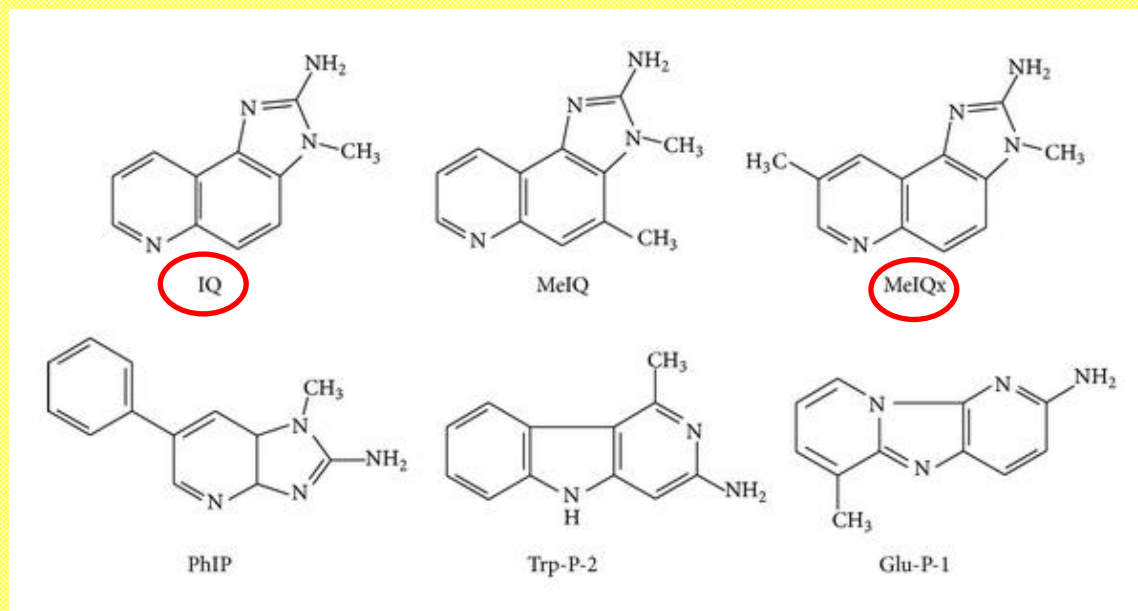
2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)



2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ)



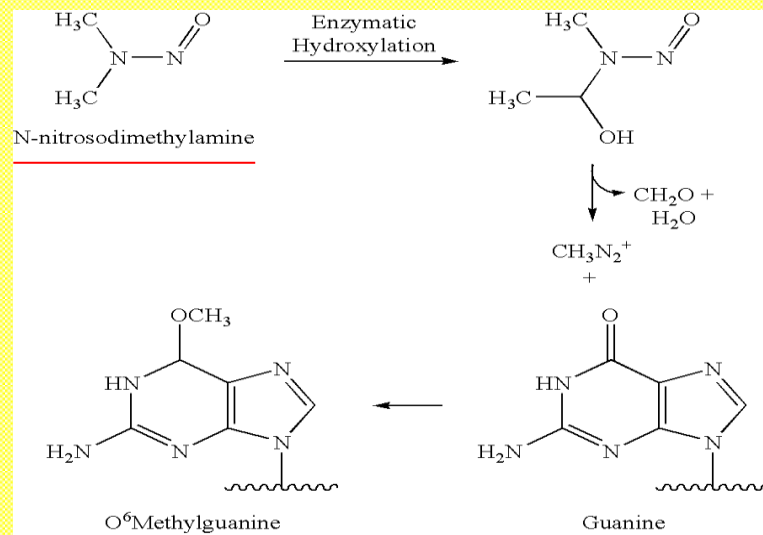
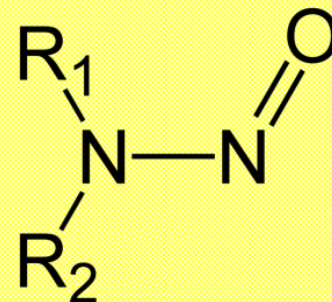
2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)



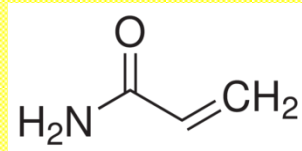
Škodliviny vznikající zpracováním potravin

N-Nitrosoaminy

- NaCl+NaNO₂ se přidávají do potravin
- NO₂⁻ - inhibice Clostridií, dodává červenou barvu masu (nitrosomyoglobin), dodávají konzervovanou chuť (klobásky, šunka, slanina)
- Nitrace aminů produkuje nitrosoaminy
- Nitrace je pH dependentní s vrcholem kolem 3.4
- Nitrace probíhá při vysokých teplotách u některých potravin (slanina)
- V zelenině vysoké hladiny (1000-3000 ppm)
- 1962 – Norsko - otrava ovcí nitrosoaminy ze slanečků – poškození jater, smrt
- Teplotní úprava ryb zvyšuje tvorbu nitrosaminů
- Karcinogenní – např. DMN – 50 ppm u krys vede k tumorům jater, následně ledvin
- Přídavek antioxidantů (vit. C) ke konzervační směsi vede k snížení či eliminuje vznik nitrosoaminů



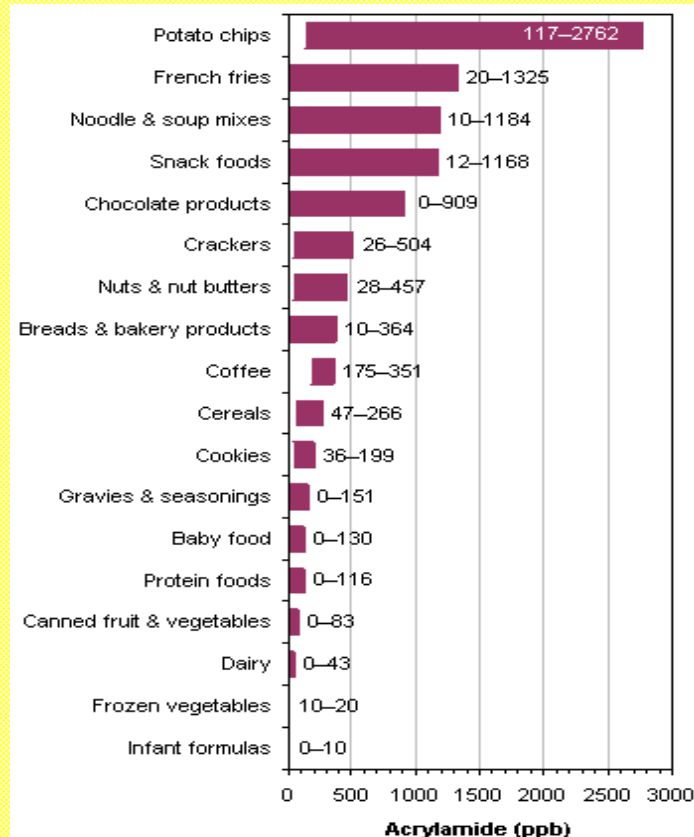
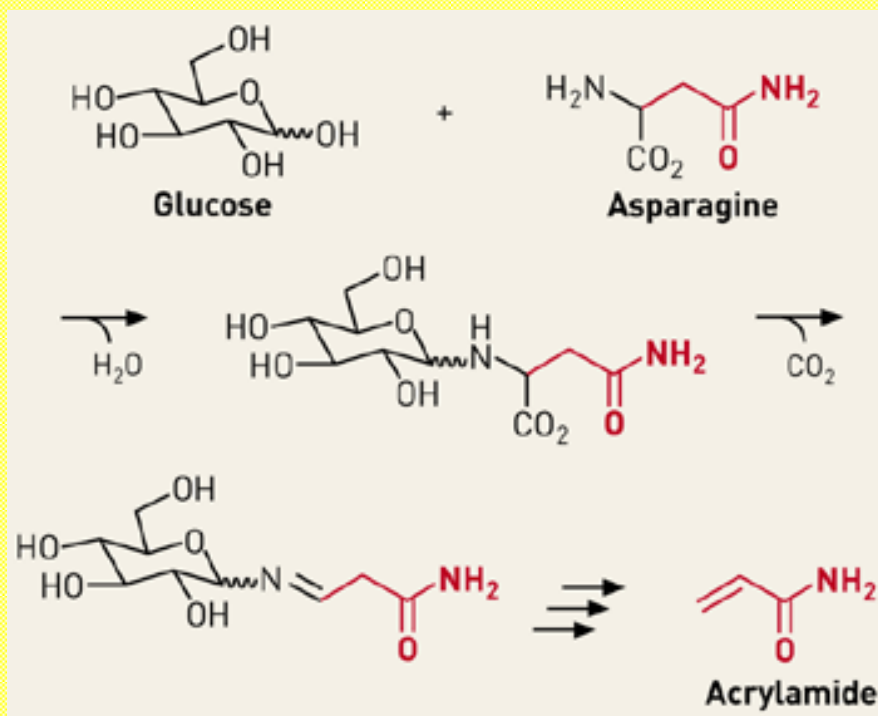
Škodliviny vznikající zpracováním potravin



Akrylamid

- V průmyslu k syntéze polyakrylamidu
- Možný lidský karcinogen (IARC 2B), neurotoxin
- **2002 – objev tvorby v čipsech a hranolkách**
- **Asparagin+glukóza/glyceraldehyd → akrylamid**
- LD50 Per Os pro potkany = 160-300mg/kg

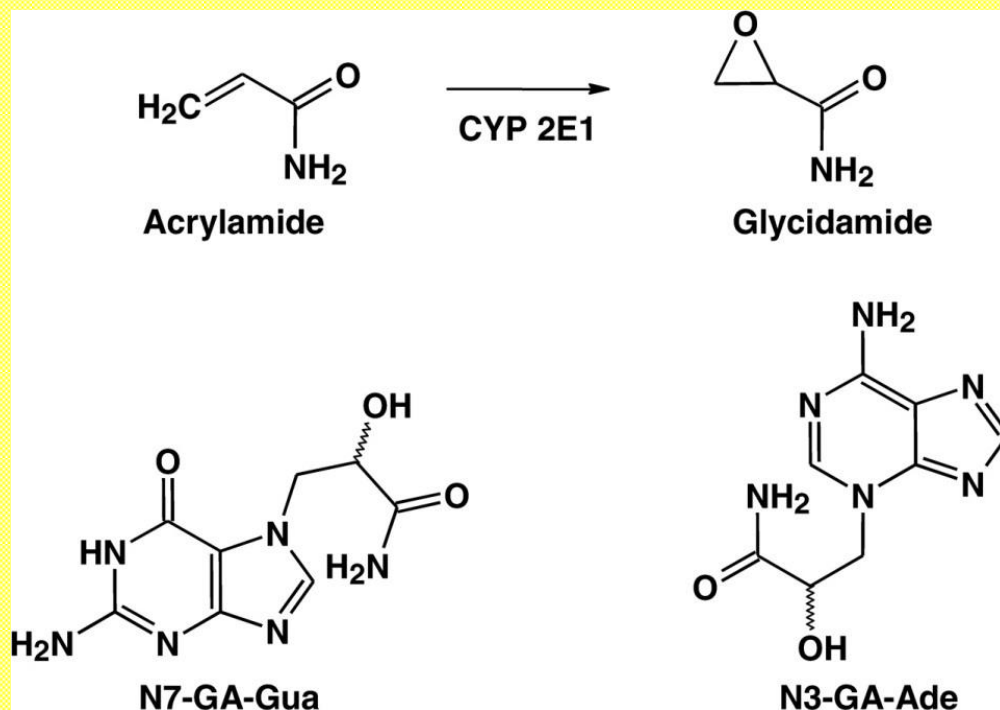
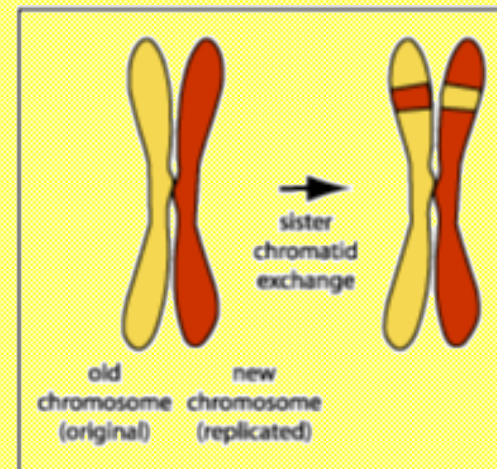
Foods Containing Acrylamide



Škodliviny vznikající zpracováním potravin

Akrylamid

- Vede k vysoké frekvenci výměny chromatid
- Není důkaz tvorby tumorů u lidí !!
- Reaguje s SH či NH₂ skupinami aminokyslin
- **Metabolizován CYP2E1 na glycidamid**
- WHO doporučuje nevařit jídlo nadbytečně dlouho ani při příliš vysokých teplotách – pod 150°C je tvorba výrazně omezena !!!



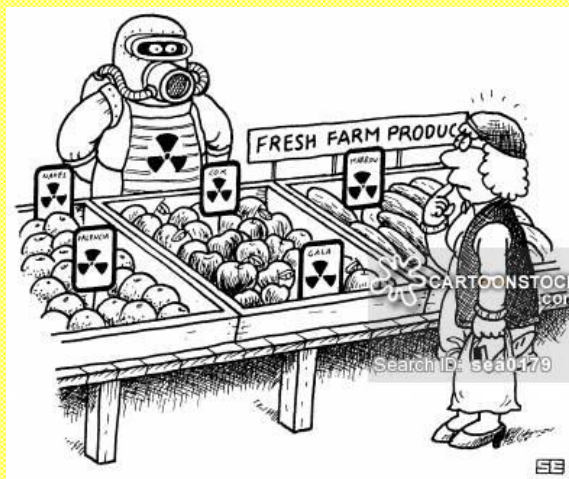
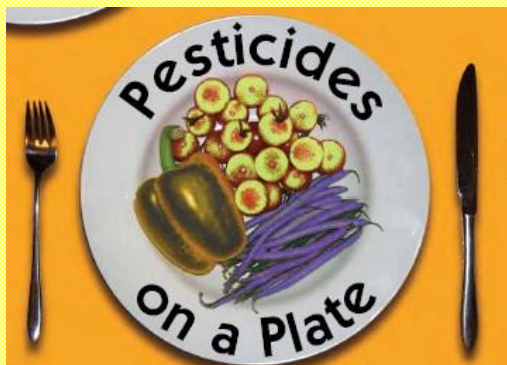
Slovo závěrem

Zdravě či nezdravě ?????

Tak si vyberte jíst či nejíst ?????



biofarma



Použitá literatura

- T.Shibamoto, L.F. Bjeldanes - Introduction to Food Toxicology, 2nd edition, 2009
- Anzai N et al.: Molecular mechanism of Ochratoxin A Transport in Kidney, 2010, Toxins
- Limonciel A a Jennings P: A review of the evidence of ochratoxin A is an Nrf2 inhibitor: Implications for Nephrotoxicity and Renal Carcinogenicity, 2014, Toxins
- Jutabha P et al.: A Novel Human Organic Anion Transporter NPT4 Mediates the Transport of Ochratoxin A, 2011, Journal of Pharmacological Sciences
- Dorcakova A a Vrzal R: A food contaminant ochratoxin A suppresses pregnane X receptor (PXR)-mediated CYP3A4 induction in primary cultures of human hepatocytes, 2015, Toxicology.
- Pfohl-Leszkowicz A a Manderville RA: An Update on Direct Genotoxicity as a Molecular Mechanism of Ochratoxin A Carcinogenicity, 2012, Chemical research in toxicology
- Wegner W et al.: Male-Dominant Activation of Rat Renal Organic Anion Transporter 1 (Oat1) and 3 (Oat3) Expression by Transcription Factor BCL6, 2012, PLoS ONE