

Mikotoksinler ve moleküler düzeydeki etkileri

Mycotoxins and its molecular effects

Öz

Mikotoksinler esas olarak protein yapısında ve antijen özelliğe sahip bakteriyel toksinlerin aksine, çok çeşitli kimyasal yapı ve biyolojik aktiviteye sahip olan moleküllerdir. Her şartta oluşabilmeleri ve birçok gıda maddesinde toksin oluşturabilmeleri, beslenme, inhalasyon ve deri teması yoluyla bulaşabilmeleri nedeniyle, mikotoksinler çok önemli doğal toksinler olarak kabul edilmektedir ve kontrol altına alınması gereken önemli sorunlardan biridir. Bu nedenlerle, mikotoksin türlerinin tanınması, önemini anlaşılması ve bu konuda toplumun bilinçlenmesi kontaminasyon riskini azaltmak ve önlem almak adına önem taşımaktadır. Bu derlemede mikotoksinlerin hücre düzeyindeki etkilerinin belirli literatürler ışığında ortaya konulması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Mikotoksin, mutajenik, karsinojenik

Abstract

Mycotoxins are molecules that have a wide variety of chemical structures and biological activities, unlike bacterial toxins, which are primarily protein and antigen specific. Mycotoxins are very important natural toxins and one of the important problems that need to be under control because they can be formed under all conditions and produce toxins in many foods and transmitted through nutrition, inhalation and skin contact. For these reasons, recognition of mycotoxin species, understanding of the importance and awareness of the community in this regard is important to reduce the risk of contamination and to take precautions. In this review, it is aimed to reveal the effects of mycotoxins at the cellular level in the light of certain literatures.

Key Words: Mycotoxin, mutagenic, carcinogenic

* Gülçin Yavuz Türel,
* Nilüfer Şahin Calapoğlu

* Süleyman Demirel Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,
Isparta

Yazışma Adresi:
Arş. Gör. Gülçin Yavuz Türel
Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Isparta
Tel: 0 246 2113311
e-mail: gulcinnyavuz@gmail.com

Giriş

Fungus türlerinin sekonder metabolizmaları sonucu sentezlenen toksik etkili bileşikler “**mikotoksin**” olarak adlandırılmaktadır (1).

Mikotoksinler esas olarak protein yapısında ve antijen özellikte olan bakteriyel toksinlerin aksine, çok çeşitli kimyasal yapı ve biyolojik aktiviteye sahip olan moleküllerdir. Her alanda bulunabilmeleri ve birçok gıda ve yem maddesinde gelişerek toksin oluşturabilmeleri, beslenme, inhalasyon ve deri teması yoluyla bulaşabilmeleri nedeniyle, mikotoksinler çok önemli doğal toksinler olarak kabul edilmektedir ve kontrol altına alınması gereken önemli sorunlardan biridir (2, 3).

Aflatoksinler

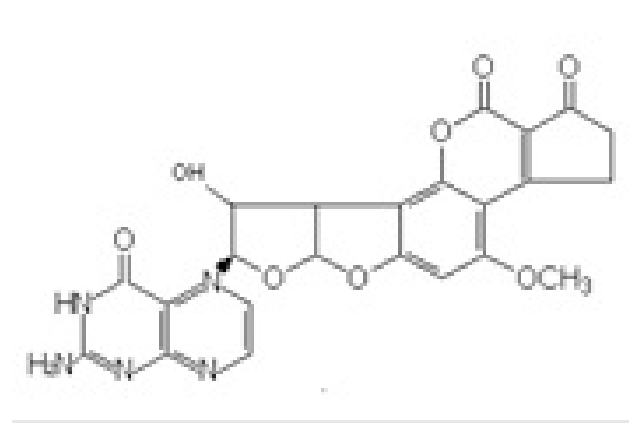
Üzerinde en çok çalışılmış mikotoksin grubu olan aflatoksinler, güçlü hepatotoksik etki gösterir. Başlıca *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. pseudotamarii*, and *A. bombycis* tarafından sentez edilmektedir (3). Genellikle süt, peynir, mısır, fıstık, pamuk tohumu, fındık, badem, incir, baharatlar ve diğer gıda ve yem çeşitlerinde bulunmaktadır (4).

Aflatoksinlerin B₁, B₂, G₁ ve G₂ olmak üzere dört temel fraksiyonu bulunmaktadır.

Aflatoksin B, *A. flavus* türleri ile kontamine olmuş ürünlerdeki biyolojik aktiviteden sorumlu iken, Aflatoksin G *A. parasiticus* kontaminasyonu sonucu görülmektedir. Bu dört aflatoksine ilaveten AM₁ ve AM₂ olarak adlandırılan önemli iki aflatoksin türeği daha bulunmaktadır. M toksinleri aflatoksinli yemle beslenen laktasyon dönemindeki memeli hayvanların sütlerinden ve idrarlarından izole edilmiştir (3).

Aflatoksinler, mikrozomal ve sitoplazmik oksijenaz enzim sistemleri tarafından metabolize edilmeleri sonucunda toksik etki gösterirler. Bu enzim sistemleri, esas olarak karaciğer hücrelerine ait endoplazmik retikulumda bulunan, sitokromla ilişkili enzimlerle birlikte O₂ ve NADPH bağımlı enzimlerin kompleks bir organizasyonudur. Çeşitli hidroksillenmiş türevlerin ve yüksek reaktif özelliğe sahip epoksid metabolitin oluşmasıyla sonuçlanan AB₁'in oksidatif metabolizmasını katalize etmektedirler. Bu elektrofilik epoksid DNA, RNA ve

protein moleküllerindeki çeşitli nükleofilik merkezlere kovalent olarak bağlanabilir. AB₁'in epoksi formu bu aktifleşme reaksiyonu sonucunda DNA ile birleşerek AFB₁-N-Guanil kompleksini oluşturmaktadır (Şekil 1). Bu kompleks, organizma için biyolojik bir tehlike oluşturmakla birlikte karsinojenik ve genotoksik etkilerin sorumlusu olarak ifade edilmektedir (5, 3). Aflatoksinler içerisinde en yüksek toksik etkiyi AB₁ molekülü göstermektedir. AM₁, AB₁'in hidroksillenmiş türevlerinden biridir ve karsinojenik gücünün AB₁'den 10 kat daha düşük olduğu belirtilmektedir (6, 7).



Şekil 1: AFB₁-N-Guanil kompleksi

AB₁, başta karaciğer olmak üzere insan tümörlerinin birçok çeşidi ile ilişkili bulunan p53 geninin 249. kodonunda arginin- serin mutasyona sebep olarak, ERK ve Akt yolları üzerinden IGF-2 reseptörünün anormal aktivasyonunu indüklemektedir (8, 9).

Okratoksinler

Okratoksinlerin en yaygın formu okratoksin A (OTA)'dır. OTA, bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* grubu küflerin farklı tür ve suşları tarafından üretilen, çeşitli hayvan yemlerinde, insan gıdalarında ve batı ülkelerinde insan kan örneklerinin %80'inde bulunmuş bir mikotoksindir. OTA özellikle bitkisel ürünlerin depolanması sırasında oluşmakta ve bu yolla besin zincirine dahil olmaktadır (10, 11).

OTA'nın moleküler düzeydeki etkileri; DNA kırılmaları, protein sentezinin inhibisyonu ve glikoneogenezis, lipid peroksidasyonu ve adipogenezin baskılanması,

mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun bozulması, kanın pıhtılaşmasının engellenmesi ve apoptotik etki olarak bilinmektedir. OTA tarafından protein sentezinin inhibisyonu ise organizma için önemli bir etki olup fenilalanin-tRNA sentetaz tarafından katalizlenen reaksiyonda fenil alanin ile yarışmalı olarak senteze girmesi ile gerçekleşmektedir (12, 13).

Toksinler ilk olarak karaciğerde metabolize edilir, daha sonra safrayla atılarak sistemik dolaşıma girer. Metabolizasyonun diğer önemli bir organı ise böbrektir (14). OTA proksimal tübül hücrelerinden geri emilir ve bu emilim sırasında oluşan düşük dozdaki maruziyetlerin tubulointersitisyel nefrite sebep olduğu ifade edilmiştir. Tubulointersitisyel nefrit patogenezinde, 1998 yılında Pennica ve arkadaşları tarafından tanımlanan onkogenik ve promitojenik bir protein olan WNT1 Aracılı İndüklenebilir Sinyal Yolu Protein (WISP1)'in rolü olduğu düşünülmektedir. WISP1 mRNA'sı böbrek, akciğer ve kalp olmak üzere birçok farklı organda eksprese edilmektedir. WISP1 promotor Wnt sinyalinden bağımsız şekilde de aktive olabilmektedir. Bu aktivasyon Extracellular signal regulated kinases (ERK1/2), cAMP response element binding protein (CREB) ve TNF- α tarafından gerçekleştirilebilir. Bu veriler, OTA aracılı tubulointersitisyel nefritin çeşitli moleküler yollarla gelişebileceğini düşündürmektedir (15).

Nefrotoksik, teratojenik, karsinojenik ve immunotoksik etkileri olduğu bilinen okratoksinler, karaciğer ve böbrek hücreleri mitokondri membranlarında taşıyıcı proteinlerin aktivasyonunu inhibe ederek mitokondriyal solunumu, anorganik fosfor transportu ve enerji dengesini bozarak mitokondride hasarlar meydana getirmektedir. Diğer yandan okratoksinler antiapoptotik bir mitokondri proteini olan Bcl-XL'nin aşağı yönlü regülasyonuna yol açarak da apoptozise sebep olabilmektedir (16, 17).

Trikotesenler

Trikotesenler, *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Trichoderma* ve *Trichothecium* grubuna dahil çok sayıda küf tarafından sentezlenirler. Bunlardan *Fusarium* türü küfler, tarım ürünlerinde sıklıkla çürümeye neden olurlar. Başta mısır olmak üzere bütün tahıllar, yağlı tohumlar bu mantar türü ile kontamine olabilir (18, 19).

Trikotesenler arasında T-2 toksini ve Deoxynivalenol (DON) bilinen en etkili mikotoksinlerdir ve kontamine besinlerin tüketiminde insan sağlığı açısından potansiyel risk oluşturmaktadırlar (20). T-2 toksin yapısında bulunan esterazlardan dolayı hızlı metabolize edilir. Yapılan çalışmalarda düşük konsantrasyonlarında ve kısa süreli maruziyetlerde, trikotesenlerin kemik iliği hücrelerinde önemli oranda azalmaya neden olduğu, protein ve DNA sentezini inhibe ederek apoptozu indüklediği bildirilmiştir. Toksinin primer hedefinin immun sistem olduğu ve lökosit sayısında değişme, kan hücrelerinde azalma, gecikmiş hipersensitivite ve antikor oluşumunu önleme gibi etkileri tespit edilmiştir. T-2 toksini ve metabolitlerinin serbest radikal üretimi ile lipid peroksidasyonunu indükleyerek membran yapısının bozulmasına ayrıca hücreler arası bağlantı birimlerinde tight junctionların ana proteinlerinden claudin-4'ün ekspresyonunu baskılayarak hücreler arası bağlantıların bozulmasına neden olduğu saptanmıştır. T-2 toksin ince bağırsakta metabolize olur ve metabolizması sırasında hidroliz, oksidasyon, redüksiyon ve konjugasyon gibi birçok biyotransformasyon reaksiyonu meydana gelir. Trikotesenler, plental transfer sonucu fetal dokularda da görülebilmektedir (21).

Hücre kültürü ve hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda trikotesenlerin, eIF-2 α üzerinden ve ribozomun 60S alt birimine bağlanarak peptidil transferaz aktivitesini inhibe ederek protein sentezini, immunglobulin sentezini, antikor yanıtı, kompleman aktivitesini ve hücresel yanıtı azalttıkları belirlenmiştir (22).

Trikotesenlerden DON, DAS, vomitoksin ve fusarenon formları RNA ve DNA sentezini, hücre döğüsünü ve mitozu bloke edebilme yeteneğine sahiptir. Yapılan çalışmalarda DON'un mikrotübül aktivasyonunu inhibe ederek mitoz bölünmeyi engellediği, aynı zamanda p2'in ifade düzeyinde artışına sebep olarak, G1 fazı ve G2/M kontrol noktası geçişleri üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir (22).

Fumonisinler

Fumonisinler doğal olarak *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F. anthophilum*, *F. dlamini* ve *F. napiforme* türleri tarafından üretilmektedir.

Fumonisinler genellikle aflatoksinler ile birlikte kontaminasyon özelliği gösterir ve aflatoksinlerin karsinogenik etkisini arttırdığı ifade edilmektedir (23). Fumonisinlerin organizmadaki etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Ancak en yaygın görülen ve bilinen en toksik etkili fumonisin türü olan FB1'in lipit metabolizmasında bazı değişikliklere sebep olduğu belirlenmiştir. FB1, hücre büyümesi, farklılaşması, apoptozis, nekrozis ve immün cevapta düzenleyici olarak rol oynayan sfingolipitlerin sentezini seramid sentetaz enzimine etki ederek değiştirmektedir (3). Yapılan çalışmalarda FB1'in karaciğer hücre hattı (HL-7702) üzerine uygulanan farklı dozlarının hücre döngüsünde S fazına geçişi sağlayan Siklin E proteininin ve kontrolünü sağlayan p21 proteinin ekspresyon düzeylerinde değişikliğe yol açtığı belirtilmiş ve FB1'in diğer hücre döngüsü ilişkili faktörler üzerine etkili olabileceği ifade edilmiştir (24). FB1 mitokondri iç zarında yer alan kompleks1 üzerinde inhibitör etki göstererek, mitokondriyal ve hücre solunum oranını düşürerek, mitokondri membranının depolarize olmasına sebep olmakta ve mitokondri aracılı kalsiyum sinyalizasyonunu da etkilemektedir (25).

Patulin

Patulin, elma çürüme küfü olan *Penicillium expansum* da dahil farklı *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri tarafından sekonder bir metabolit olarak üretilen ve sitotoksik, genotoksik ve mutajenik etki gösteren bir mikotoksin (26). Patulin, sülfidril grubuna yüksek afinite göstermesi nedeniyle birçok enzim üzerinde inhibitör etki gösterebilmektedir.

Yapılan invitro ve invivo çalışmalarda, Patulinin uygulanan artan dozlarında makrofaj aktivitesini inhibe ederek, dalaktaki T hücrelerinin aktivitesini indükleyerek ve serum immunglobulin düzeylerinde azalmalara sebep olarak immün yanıtın oluşmasında aksaklıklara yol açtığı ifade edilmektedir (3).

Patulinin serum alanin transaminaz (ALT) ve aspartate transaminaz (AST) aktivitelerinde sebep olduğu artış hepatotoksik etkisini ifade etmektedir. Patulin aracılı lipit peroksidasyonu thiobarbiturik asit reaktif substans (TBARS) seviyesindeki artış ile açıklanmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı ve glutatyon (GSH) düzeylerindeki azalma da

oksidatif hasar mekanizmasındaki rolünü ortaya koymaktadır (27).

Patulinin RNA polimeraz aktivitesini azaltarak RNA ve protein sentezini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Patulinin hücrede oksidatif hasara, kromozomal aberasyonlara ve membran üzerine olumsuz etkileri olduğu ve mitokondriden sitokrom c salınımını artırıp kaspas 3 ve 9'un aktivasyonunu sağlayarak apoptotik süreçte rol aldığı bilinmektedir (28, 29).

Farklı ortam şartlarına dirençli olmaları sebebiyle mikotoksinlerin oluşumu tam olarak engellenememektedir ancak çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler uygulanarak kontaminasyon düzeyi minimum seviyede tutulabilmektedir. Mikotoksinlerin toksik ve karsinogenik özellikte olmaları nedeniyle, kontamine olmuş ürünlerin insan ve hayvanlar tarafından tüketilmesi geçmişten günümüze önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır. DNA ve hücre solunum boyutunda çok farklı etkiler göstererek kansere kadar gidebilen birçok hastalığa neden olan mikotoksinlerin etkilerinin minimuma indirilebilmesi toplum sağlığı açısından da büyük öneme sahiptir.

Kaynakça

- 1- Yang J, Li J, Jiang Y, Duan X, Qu H, Yang B, et al. Natural occurrence, analysis, and prevention of mycotoxins in fruits and their processed products. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2014;54(1):64-83.
- 2- Küçük Ç, Kıvanç M, Kınacı E, Kınacı G. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji dergisi*, 2003;10:1-8.
- 3- Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem Toxicol*. 2013 Oct;60:218-37.
- 4- Özkaya Ş, Taydaş E E, Başaran A, Avcı B, Hızlı S. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Ankara İl Kontrol Laboratuvarı Aflatoksin Analiz Kurs Notları, 1999;7-14 Ağustos, Ankara.
- 5- Smela M, Currier S, Bailey A, Essigman J. The chemistry and biology of aflatoxin B1: from mutational spectrometry to carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 2001;22: 535-545.
- 6- Groopman, J.D. and Kensler, T.W., Aflatoxin Exposure in Human Populations: Measurements and Relationship to Cancer, *CRC Critical Review in Toxicology*, 1988;19(2):113-145.
- 7- Ueno, Y., The Toxicology of Mycotoxins, *CRC Critical Review in Toxicology*, 1985;14(2):99-132.

- 8- Yanli M., Qingbin K., Hui H., Ting L., Yangfu Jiang. Aflatoxin B1 Up-Regulates Insulin Receptor Substrate 2 and Stimulates Hepatoma Cell Migration, PLOS ONE, 2012; 7(10):e47961.
- 9- Kew MC. Aflatoxins as a cause of hepatocellular carcinoma. J Gastrointestin Liver Dis. 2013;22(3):305-10
- 10- Soyöz M., Özçelik N., Okratoksin A'nın Toksik Etkileri ve Eliminasyonu. T Klin Tıp Bilimleri.2002. 22;421-427
- 11- Khoury A., Atoui A. Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status, Toxins 2010;2:461-493.
- 12- Gaglianoa N., Donneb DL., Torri C., Miglioric M.,Grizzid F., Milzanib A et al. Early cytotoxic effects of ochratoxin A in rat liver: A morphological, biochemical and molecular study. Toxicology 2006;225; 214–224.
- 13- Lim S, Jang HJ, Kim JK, Kim JM, Park EH, Yang JH et al. Ochratoxin A inhibits adipogenesis through the extracellular signal-related kinases-peroxisome proliferator-activated receptor- γ pathway in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. Stem Cells Dev. 2011;20(3):415-26.
- 14- Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. European Journal of Endocrinology 1996;134:412-2.
- 15- Pennica D., Swanson T. A., Welsh J. W., Roy M. A., Lawrence D. A., Lee J., et al. WISP genes are members of the connective tissue growth factor family that are up-regulated in Wnt-1-transformed cells and aberrantly expressed in human colon tumors. Proc. Nat. Acad. Sci. 95: 14717-14722, 1998.
- 16-Assaf H., Azouri H., Pallardy M., Ochratoxin A Induces Apoptosis in Human Lymphocytes through Down Regulation of Bcl-XI. Toxicological Sciences. 2004;79; 335–344.
- 17- Wei YH., Lu CY., Lin TN., Wei RD. Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. Toxicology. 1985 Aug;36(2-3):119-30.
- 18-Kaleli, İ. Firavunun Laneti Küf: Stachybotrys Chartarum, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji A.B.D, Denizli,2007.
- 19- Sabuncuoğlu S., Baydar T., Giray B., Şahin G. Mikotoksinler: Toksik Etkileri Degredasyonları Oluşumlarının Önlenmesi ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 2008;1:63-92.
- 20- Wu QH, Wang X, Yang W, Nüssler AK, Xiong LY, Kuča K et al. Oxidative stress-mediated cytotoxicity and metabolism of T-2 toxin and deoxynivalenol in animals and humans: an update. Arch Toxicol. 2014;88(7):1309-26
- 21- Königs M., Mulac D., Schwerdt G., Gekle M., Humpf H. Metabolism and Cytotoxic Effects of T-2 toxins and its Metabolites on Human Cells in Primary Culture, Journal of Toxicology,2009;258:106-115
- 22- Arunachalam C., Doohan F.M. Trichothecene toxicity in eukaryotes: Cellular and molecular mechanisms in plants and animals. Toxicology Letters. 2013; 217(2);149–158.
- 23- Robinson A., Johnson NM., Strey A., Taylor JF., Marroquin-Cardona A., Mitchell NJ.et al. Calcium montmorillonite clay reduces urinary biomarkers of fumonisin B₁ exposure in rats and humans. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2012;29(5):809-18
- 24- Wang SK., Liu S., Yang LG., Shi RF., Sun GJ. Effect of fumonisin B₁ on the cell cycle of normal human liver cells. Mol Med Rep. 2013;7(6):1970-6.
- 25- Domijan AM., Abramov AY. Fumonisin B1 inhibits mitochondrial respiration and deregulates calcium homeostasis--implication to mechanism of cell toxicity. Int J Biochem Cell Biol.2011;43(6):897-904.
- 26- Boussema A., Pascussi JM., Rjiba K., Maurel P., Bacha H., Hassen W. The mycotoxin, patulin, increases the expression of PXR and AhR and their target cytochrome P450s in primary cultured human hepatocytes. Drug Chem Toxicol.2012 Jul;35(3):241-50.
- 27- Song E., Xia X., Su C., Dong W, Xian Y., Wang W., Song Y. Hepatotoxicity and genotoxicity of patulin in mice, and its modulation by green tea polyphenols administration. Food Chem Toxicol.2014;14:00284-1.
- 28- Reiß 1986. Schimmelpilze-Lebensweise-Nut zen-Schaden-Bekaempfung. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- 29- Wu TS, Liao YC, Yu FY, Chang CH, Liu BH. Mechanism of patulin-induced apoptosis in human leukemia cells (HL-60). Toxicol Lett. 2008;183(1-3):105-11.