

стандарт туберкулина PPD млекопитающих-лиофилизат. Биологическую активность и специфичность приготовленного препарата контролировали на морских свинках, искусственно сенсibilizированных туберкулезными палочками, а также на туберкулезном и здоровом скоте в соотношении к международному стандарту туберкулина PPD млекопитающих. Одна ампула приготовленного препарата содержит 2 мг PPD = 100 000 единиц туберкулина. Препарат является рабочим стандартом для контроля туберкулина PPD млекопитающих продуцируемого в Польше.

Spryszak A., Żórawski C., Wiśniewski Z. — **Polish standard of mammalian PPD tuberculin.**

Polish working standard of mammalian tuberculin in the lyophilized state has been prepared from the strains *M. humanum* C, DT, PN. Potency and specificity of the standard were tested on guinea-pigs sensitized with tubercle bacilli, and on tuberculous and free from tuberculosis cattle, using the international standard of mammalian PPD tuberculin. One ampoule contained 2 mg of PPD, e.g. 100 000 I.U. The preparation as a national standard of mammalian PPD tuberculin is used for control testing of the mammalian PPD tuberculin produced in Poland.

JULIAN ALEKSANDROWICZ, BOLESŁAW SMYK

Mykotoksyny i ich rola w onkogenezie ze szczególnym uwzględnieniem chorób krwi

Klinika Hematologiczna Instytutu Chorób Wewnętrznych
AM w Krakowie
Kierownik: prof. dr J. ALEKSANDROWICZ

Katedra Mikrobiologii Rolnej
WSR w Krakowie
Kierownik: prof. dr B. SMYK

Mikroorganizmy, a w szczególności grzyby eukaryotyczne klasy *Fungi imperfecti* — posiadają właściwość syntezy różnych substancji biologicznie czynnych (m.in. witamin, antybiotyków, toksyn). Występują one dość pospolicie w glebach, w wodzie powierzchniowej, w ściekach oraz na różnych substratach pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Znany jest m.in. udział metabolitów grzybów glebowych tzn. mykotoksyn np. *Thielaviopsis basciola* i in. w etiologii występującego w rolnictwie zjawiska patologicznego pod nazwą „złoczenia gleb” (nieurodzajności gleb).

Nasilenie tego zjawiska uzależnione jest w dużym stopniu od zaburzeń w równowadze mikrobiocenotycznej gleb uprawnych wywołanych czynnikami natury biologicznej i chemicznej. Makroskopowym wskaźnikiem jest spadek plonów w rolnictwie i ogrodnictwie.

FAO uznała, że zjawisko złoczenia gleb jest potencjalnie największym niebezpieczeństwem, zagrażającym współczesnemu rolnictwu światowemu. Przyjmuje się, że na przeszło 1.250.000.000 ha ziemi użytkowej rolniczo — roczna strata plonów w wysokości około 25% (spowodowana złoczeniem gleb) jest tak olbrzymia, że już poważnie zagraża perspektywnym planom zaopatrzenia w żywność 3,6 miliarda mieszkańców Ziemi.

Nie tylko gleba jest naturalnym środowiskiem rozwoju grzybów toksycznych. Występują one również na surowcach jak zboża, orzeszki ziemne (*Arachis hypogae*), ryż, sorgo, na produktach spożywczych oraz paszach pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, głównie w strefach oddziaływania klimatów tropikalnego i subtropikalnego, wywierając destruktywny wpływ na jakość i trwałość różnych produktów rolnych. Przejawia się to w zmianach barwy, smaku, degradacji składni-

ków pokarmowych: białek, aminokwasów, węglowodanów, tłuszczów, a przede wszystkim produkcją mykotoksyn o właściwościach rakotwórczych.

Obecnie zarówno FAO i jak i WHO poświęca wiele uwagi ich patogenetycznej roli. Upoważnia nas to do przedstawienia zarówno aktualnego stanu wiedzy jak i naszych własnych badań nad chorobami ludzi i zwierząt powodowanych trującym działaniem mykotoksyn czyli metabolitów grzybów.

Choroby te określa się mianem mykotoksykoz.

Zainteresowanie mykotoksynami wzrosło w ostatnim 10-leciu przede wszystkim wśród hodowców i agrotechników na skutek strat, jakie ponosi gospodarka wielu krajów przez masowe zatrucia drobiu i zwierząt hodowlanych, żywności spleśniałymi paszami pochodzenia roślinnego.

Ostatnio zainteresował się tymi zagadnieniami również i świat lekarski. Jest bowiem oczywiste, że skoro mykotoksyny są chorobotwórcze dla zimno- i ciepłokrwistych kręgowców — człowiek nie może stanowić wyjątkowo uprzywilejowanego gatunku odpornego na działanie mykotoksyn.

Grzyby (*Microfungi*) rozwijają się, jak wiadomo szczególnie obficie w środowiskach — substratach, w których wilgotność, odczyn, temperatura sprzyja ich metabolizmowi. Spotykamy je w nieodpowiednio przechowywanym zbożu, w paszach, w produktach spożywczych itp. Rozwijając się w glebie — zużywają ogromne ilości Mg potrzebnego do ich metabolizmu.

Do organizmów zwierząt domowych przedostają się wraz ze zakażoną paszą a tym samym do mleka, mięsa, jaj oraz sporządzanych z nich przetworów, — zagrażając zdrowiu człowieka. Jest oczywiste, że również bezpośredni

kontakt człowieka z tymi grzybami (lub produktami ich metabolizmu) w środowisku zamieszkania nie może być obojętny.

Mykotoksyny są szczególnie groźne nie tylko dlatego, że należą do jednych z najsilniej działających jądów, lecz i dlatego też, że są niezmiernie trudne do unieszkodliwienia. Działają już w minimalnych ilościach wyrażanych w „ppm” czyli milionowych częściach kg (1 mg/1 kg) albo nawet bilionowych „ppb” (1 mcg/1 kg), a ponadto swe chorobotwórcze działanie przejawiają wnikając do ustroju nie tylko drogą przewodu pokarmowego lecz i drogą narządu oddechowego i śródskórną.

Wg aktualnego stanu wiedzy wyodrębnia się dwie grupy chorób, wyzwalanych przez określone metabolity grzybów.

I-sza grupa obejmuje zespoły znamienne aplazją układów szpikowych w postaci erytro-, granul- i trombocytopenii. Konsekwencją tych stanów jest — jak wiadomo — niedokrwistość, zmniejszenie odporności powłok doprowadzające do martwicy śluzówek i skóry i często posocznicy, uwarunkowanej prawdopodobnie zmniejszoną odpornością z powodu niedoboru fagocytów, oraz skaza krwotoczna małopłytkowa.

Te kliniczne zespoły przypominają wstępne okresy białaczek ostrych. Grzyby wytwarzające myelotropowe mykotoksyny a więc wywołujące zespoły aplastyczne szpiku, należą do grupy *Fusarium* a to *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. lateritium*, *F. semitectum*, a ponadto *Cladosporium* sp., *Cladosporium epiphyllum*. Również i *Penicillia* są niekiedy groźne dla ustroju, a specjalnie *P. Steckii*, *P. citrinum*, *P. purpurogenum*, a naszym zdaniem również *P. meleagrimum*. Poza tym *Alternaris* sp., *Helminthosporium* sp., *Stachybotris* sp., *Mucor* sp. i zapewne wiele jeszcze nieznanymi gatunków grzybów stanowi poważne zagrożenie zdrowia ludzi i zwierząt.

Klinika chorób wyzwalanych u ludzi przez myelotropowe mykotoksyny poznana została przede wszystkim dzięki pracom Joffego oraz Forgacsa, Carla i innych. Pierwsze opisy podane przez tych autorów znane są pod nazwą Alimentarna Toksyczna Aleukia („ATA”).

Chorobę tę występującą niekiedy nawet endemicznie, obserwowano w carskiej Rosji jeszcze w XIX stuleciu. Najintensywniejsze jednak jej nasilenie zanotowano w czasie II wojny światowej na terenie Kazachstanu w rejonie Orenburga. Zapadali na nią masowo i umierali ludzie, których głód zmusił do spożycia ziarna prosa i jęczmienia, pozostawionego przez dłuższy okres zimowy w polu. Zespół kliniczny przebiegał pod postacią niedokrwistości, agranulocytozy i skazy krwotocznej, martwicy śluzówek i posocznicy, a więc zespołu przypominającego wstępne okresy białaczki ostrej. Być może, że gdyby wówczas znane były antybiotyki, które pozwoliłyby

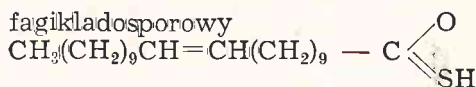
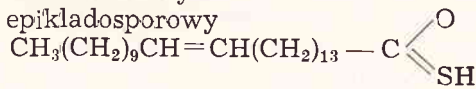
przeciwdziałać zakażeniu i tym samym przedłużyć życie chorych, nie pojawiłyby się przekształcenie mieloblastyczne a więc ostra choro-ba białaczkowa.

Joffe stwierdził występowanie grzybów w ziarnach zbóż znalezionych jeszcze po wielu latach w domach ludzi zmarłych na ATA, których mykotoksyny u doświadczalnych myszy wyzwały analogiczny zespół jak u ludzi. Podał on 28 myszom 0,5 g „porażonego” grzybami ziarna na dobę i po 30—40 dniach 24 myszy padły wśród objawów panmieloftyzy, nekroz śluzówki przewodu pokarmowego i wyczerpania kory nadnerczy.

Joffe znalazł w tym porażonym ziarnie grzyby, z których najbardziej toksyczne okazały się gatunki *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* oraz *Mucor*.

Poza wymienionymi grupami pleśni toksyczne okazały się również *Piptocephalis freseniana*, *Trichoderma lignorum*, *Rhizopus nigricans*, *Trichothecium roseum*, *Thamnidium elegans*, *Verticillium lateritium* oraz *Streptomyces griseus*.

Toksyny wyosobnione z *Fusarium* wykazują chemiczną strukturę steroidów. Z jednej z nich a mianowicie fusariogeniny a więc tej mykotoksyny, która jest — zdaniem Joffego — etiologicznym czynnikiem ATA, wyosobnił on dwa kwasy:



Odkrycie i wyosobnienie tych toksyn wytwarzanych przez grzyby zdolne do wyzwalania odczynów aplastycznych w szpiku, stanowi nowy etap poszukiwań biologicznych czynników wyzwalających chorobowe odczyny układu krwiotwórczego człowieka.

II grupa chorób wyzwalanych przez określone metabolity grzyba (głównie klasy *Fungi imperfecti*) obejmuje zespoły znamienne uszkodzeniem wątroby i to zarówno w zakresie mięszu, jak i przewodów żółciowych. Uszkodzenie to wyraża się albo zespołami przypominającymi miąższowe zapalenie wątroby, albo nowotworową proliferację.

Najlepiej dotąd poznano działanie niektórych hepatotropowych mykotoksyn jak np. metabolit *Aspergillus flavus* zwany aflatoksyną. Ponadto wiele innych grzybów wytwarza analogiczne mykotoksyny, a mianowicie: *Aspergillus parasiticus*, *A. chevalieri*, *A. clavatus*, *A. fumigatus*, *A. avenaceus*, *A. caruensis*, *Phitomyces chartarum*, *Penicillium islandicum*, *P. rugulosum*, *P. frequentans*, *P. toxicarium* oraz, naszym zdaniem, *Penicillium meleagrimum*. Szczegóły zebrane są w monografiach G. N. Wogan z 1965 r. oraz Borkera, Insałata, Levi i Witzemana z 1966 r.

Aflatoksyna wprowadzona do ustroju zwierzęcia powoduje hiperplazję nabłonków żółciowych doprowadzając ostatecznie do guza o typie cholangioma lub hepatoma.

Obecnie alfatoksyny uznawane są za jedne z najsilniej działających hepatokarcinogenów, które już w dawkach 5 μ /kg indukują powstawanie doświadczalnych nowotworów wątroby u pstrągów, szczurów, świnek morskich i kacząt.

Szczególnie wysokie wskaźniki zachorowalności na pierwotne raki wątroby stwierdzane u mieszkańców Mozambiku i Afryki Południowej wiąże się dziś z działaniem hepatokarcinogennym aflatoksyn.

Geograficzne badania Richarda Dolla nad rozmieszczeniem chorób nowotworowych w różnych częściach świata dowodzą, że pierwotny rak wątroby w południowej Afryce w regionie Lourenco Margues i Mozambiku występuje tak często jak rak płuc w Anglii i jest 100-krotnie częstszy niż w innych krajach Europy.

Przyjmuje się obecnie hipotezę, że hodowla orzeszków ziemnych rozpowszechniona w tamtych terenach stanowi znakomitą pożywkę dla tego kropidlaka. Ponadto konsumowanie w klimacie o znacznej wilgotności i temperaturze łatwo pleśniejących produktów spożywczych przysyłanych z Europy w ramach pomocy dla krajów rozwijających się, warunkuje częstość występowania tej postaci raka wątroby w tamtejszych terenach.

Zdaniem Kinosity i Shikaty szczególnie częsty rak żołądka w Japonii zdaje się być również powodowany aflatoksynami, jakie zawarte są w tradycyjnych przetworach alkoholowych pędzonych z ryżu i soji oraz w serach.

Znaczne różnice w zachorowalności na raka przewodu pokarmowego białej i czarnej ludności Stanów Zjednoczonych na niekorzyść czarnej zdaje się być związana z gorszymi warunkami zabezpieczania produktów konsumpcyjnych przed spleśnieniem, co z kolei uwarunkowane jest statusem ekonomicznym.

Działanie rakotwórcze aflatoksyn zostało potwierdzone na wielu gatunkach zwierząt. Najbardziej wrażliwe okazały się trocie, kaczęta, indyki, świnki morskie, króliki, psy, szczury, chomiki, świny, cielęta, krowy i mały. Oprócz tego względnie znoszące duże dawki aflatoksyn są myszy i owce.

Jest faktem stwierdzonym przez Wogana, że aflatoksyna B₁ wyznakowana ¹⁴C wprowadzona dootrzewnowo szczurom, zostaje szybko absorbowana zwłaszcza w wątrobie uzyskując tam stężenie 15-krotnie większe niż w innych tkankach, przy czym związana jest głównie z frakcją mikrosomalną hepatocytów. Doświadczenie to zdaje się potwierdzać hepato-karcinogeny wpływ aflatoksyn. Ponadto ścisły związek wątroby z hemapoieżą i hemostazą zdaje

się tłumaczyć patomechanizmy hemocytopatii występujących w toku zatrucia tą mykotoksyną.

Halver badał wpływ 13 klasycznych karcinogenów na dynamikę indukowanego raka wątroby u pstrąga czerwonego porównując ich działanie z aflatoksyną. Stwierdził on, że po karmieniu ryb acetylaminofluorenem, DDT, dietylstylbestrolem, rak wątroby pojawia się w 6—9 miesięcy, a po aflatoksynie B₁ już w ciągu 10 dni powstawało rozległe uszkodzenie wątroby lub zmiany proliferacyjne. Do doświadczeń używał on aflatoksynę B₁ w dawce od 0,5—80 ppb.

Znane są również masowe zachorowania zwierząt spowodowane mykotoksynami. Na Florydzie pojawiła się tzw. „Moldy corn toxicosis” po skarmianiu bydła ziarnem kukurydzy skażonym *Penicillium rubrum*, *citrinum* i *Fusarium graminearum*. W Wielkiej Brytanii pojawiła się „Turkey X Disease” po skarmianiu indyków śrutą arachidową pochodzenia brazylijskiego, zawierającą aflatoksynę. W ZSRR opisał Noskow i Szarapow masowy pomór świń, a w rok potem Burdiejew i Akułina opisali panmielofityzę po skarmianiu trzody chlewnej śrutą jęczmienną skażoną *Fusarium sporotrichioides*. Masowy pomór wystąpił po 42 dniach.

Mechanizm indukowania chorób nowotworowych przez aflatoksyny jest sprawą otwartą. Odnosi się wrażenie, że działa ona podobnie jak inne fizyczne czy też chemiczne tzw. karcinogeny aktywując latentne formy onkogennych wirusów. Nie bez znaczenia zdaje się być fakt używania do swego metabolizmu olbrzymich ilości Mg⁺⁺, którego działanie przeciwnowotworowe, jako aktywatora RNA-zy i systemu properdyny a więc enzymów przeciwdziałających inwazji onkogennych wirusów, jest znane. Ponadto z prac Goldberga znany jest również wpływ magnezu stabilizujący układy chromosomalne, przeciwdziałając tym samym mutacyjnemu wpływowi czynników środowiskowych.

Czy istnieje związek między niedoborem Mg w środowiskach o częstszym występowaniu chorób nowotworowych i rezerwuarami onkogennych grzybów zużywających ogromne ilości Mg, pozostaje sprawa wymagająca dalszych badań.

Badania nasze o wstępnym dotąd charakterze ograniczają się narazie do poszukiwań onkogennych grzybów i ich klasyfikacji w środowisku zamieszkania ludzi chorych na proliferacyjne i aplastyczne choroby krwi oraz choroby proliferacyjne innych narządów. Uwagę naszą skoncentrowaliśmy na miejscach zamieszkania, w których równocześnie pojawiała się choroba nowotworowa u 2 lub więcej osób.

Poszukiwania nasze skoncentrowaliśmy na 1) „małżeństwach nowotworowych”, 2) „ro-

dzinach nowotworowych”, 3) „domach nowotworowych”, 4) „ulicach i dzielnicach nowotworowych”, 5) „zagrodach, w których równocześnie ludzie i zwierzęta chorują na choroby nowotworowe”. Szczegółowe wyniki badań naszych będą ogłoszone w późniejszym okresie. Obecnie ograniczamy się jedynie do przedstawienia przykładów zaczerpniętych z dotychczasowej naszej kazuistyki.

Ad 1. Przykładem „małżeństw rakowych” jest:

Stanisław T, l. 69, oraz Maria T., lat 64, zamieszkali w jednorodziennym domku w Jaśle ul. Kruszyny 72. U Stanisława stwierdzono *ca hepatis* w Szpitalu w Jaśle (Nr hist. chor. 6006/4407). U Marii w kilka miesięcy później — *ca pancreatis* wśród zespołu przypominającego nietypową żółtaczkę miąższową wirusogenną z hiperglikemią powyżej 500 i kamicią pęcherzyka żółciowego. W czasie laparotomii rozpoznano raka trzustki (Nr hist. chor. 6742/69, Szp. Wojew. Rzeszów).

Badania mykologiczne środowiska zamieszkania i produktów spożywczych znalezionych w spiżarni wykazały jako dominującą florę *Aspergillus flavus*, *Penicillium meleagrimum*, *Cladosporium herbarum*.

Dalszym przykładem „małżeństwa rakowego” jest: S. Andrzej, l. 47 oraz Maria l. 46, zamieszkali w Liszkach Nr 156. U Andrzeja stwierdzono *ca penis* w Klinice Urologicznej AM w Krakowie (Nr hist. chor. 237/65). U Marii — *ca colli uteri* w Klinice Ginekologicznej AM w Krakowie (Nr hist. chor. 2773/67/).

Badania mykologiczne tynku zeszkobanego ze ścian pokoju mieszkalnego wykazały obecność *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium meleagrimum*, *Rhizopus nigricans*.

Ad 2. Przykładem „rodzin rakowych” jest: Rodzeństwo K. Maria, Alojzy, Wincenty zamieszkali w Osieku (pow. Jasło) w domach oddalonych od siebie o kilkanaście metrów. Maria l. 60 zmarła z powodu *ca hepatis* (Szpital Jasło Nr hist. chor. 6873/68), Alojzy l. 65 zmarł z powodu *ca ventriculi* (Szpital Jasło Nr hist. chor. 7613/68). Wincenty l. 62 zmarł z powodu *ca ventriculi* (Szpital Jasło Nr hist. chor. 129/3/69).

Badania mykologiczne w środowisku zamieszkania tych trojga rodzeństwa dowiodły istnienia jako dominujących *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizopus nigricans*, *Cladosporium epiphyllum*.

W domach sąsiednich zamieszkałych przez ludzi zdrowych pleśni tych nie stwierdzono.

Możnaby przypuszczać, że decydujący wpływ na rodzinną karcinogenezę wywarła predyspozycja gdyby nie fakt, że w tej samej osadzie zarejestrowano w okresie 11-letnim 10 chorób

nowotworowych u ludzi niespokrewnionych, dowodząc istnienia statystycznego zagęszczenia.

Badania mykologiczne we wszystkich środowiskach domowych wykazały obecność *Aspergillus flavus*, *Penicillium meleagrimum*, *Rhizopus nigricans* i *Cladosporium herbarum*.

Przykładem „rodziny”, „domu” i „zagrody rakowo-białaczkowej” jest dom przy ul. Robotniczej Nr 1/3 w osadzie Okocim-Pomianowa, który zamieszkiwała rodzina K. Stanisława.

K. Stanisław l. 64 zmarł z powodu *ca ventriculi* (Szpit. w Brzesku Nr hist. chor. 2708/65), jego córka P. Stefania l. 38 — *rabdomyosarcoma* (Klin. Ginekol. Kraków, Nr hist. chor. 4153/65), wnuczka P. Krystyna l. 10 — *ca ovari* (Szpit. w Brzesku Nr hist. chor.). W tymże samym domu i w najbliższym sąsiedztwie zmarł O. Józef l. 42, z powodu choroby nowotworowej (Inst. Onkol. Kraków, Nr hist. chor. 467349/65) i D. Maria l. 65 z powodu *ca uteri* (Szpit. w Brzesku Nr hist. chor. 2162/62).

W najbliższym sąsiedztwie położona jest obora, w której od wielu lat istnieje epizootia białaczek bydła.

Woda w rzece Uszwicy i w studni, z której korzystali mieszkańcy zawiera szczególnie niskie ilości magnezu, żelaza, wapnia, a wysokie potasu i krzemu. Wysokie wartości potasu, a niskie magnezu stwierdzono również w glebie, która ponadto jest szczególnie kwaśna. W sąsiednim gospodarstwie, w którym nie stwierdza się białaczek ani nowotworów, wartości te były prawidłowe (Radłów).

Szczególnie ciekawe wyniki dostarczyła analiza mykologiczna. Zarówno w środowisku zamieszkania ludzi jak i w stajni stwierdzono obecność *Aspergillus flavus*, *Penicillium*, *Rhizopus nigricans*, *Botryotrichum* sp.

Wstępne nasze badania mykologiczne dowodzą, że jakkolwiek *Fungi imperfecti* o onkogennych właściwościach dla zwierząt, są bardzo rozpowszechnione w biocenozie, to w środowiskach ludzi chorych na nowotwory występują wielokrotnie częściej niż u zdrowych.

Czy fakt ten posiada związek przyczynowy z onkogenezą ludzi — okażą dalsze badania.

Niemniej dziś już uważamy za szczególnie ważne zwrócenie bacniejszej niż dotąd uwagi na zagrożenie zdrowia ludzi przez bezpośredni kontakt z onkogennymi pleśniami.

Wnioski, jakie wysnują zarówno urbaniści i architekci organizujący nasze środowiska zabezpieczając je przed wilgocią i zagrzybieniem przez dobór odpowiedniego tworzywa i lokalizację domostw oraz wnioski jakie wysnują odpowiedzialni za żywienie ludzi winny znaleźć swój oddźwięk w poprawie zdrowia społeczeństwa.

Adres autora: prof. dr Julian Aleksandrowicz, Kraków, ul. Curie-Skłodowskiej 4.