

Patogenne działanie ochratoksyny A

KAMAL ROUIBAH, MAREK HOUSZKA, STANISŁAW DZIMIRA*

Pracownia Ekologii i Chorób Zwierząt Łownych, *Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej Katedry Patologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Rouibah K., Houszka M., Dzimira S.
Pathogenic effects of ochratoxin A

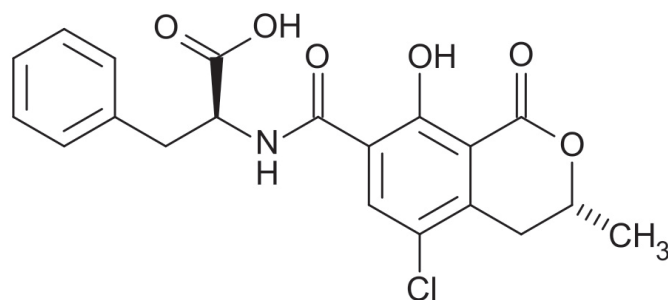
Summary

Some fungi in specific environmental conditions may produce mycotoxins, especially ochratoxin A. It is produced mainly by *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarium* and *Penicillium verrucosum*, and commonly occurs in foodstuff and feed products. Ochratoxin A is metabolized in the organism in the liver and excreted mainly by the urinary way as well as with bile and feces. After absorption by the organism, ochratoxin binds blood serum proteins, which retards its direct toxic action but elongates its half time. Ochratoxin A demonstrates a multifactorial pathological influence, especially nephrotoxic, hepatotoxic, immunotoxic and carcinogenic. By damaging the mechanism responsible for the organic anion transport in epithelial cells brush border of the proximal convoluted tubules it causes kidney dysfunction.

The disturbance of protein synthesis negatively influences mitotic divisions and differentiation of rapidly dividing cells in the immunologic system and mucus membrane of the digestive tract. Ochratoxin causes periodical inhibition of osteoblast proliferation, collagen fibers synthesis and bone mineralization. In humans ochratoxin is recognized as the main etiologic factor of Balkan Endemic Nephropathy, while in pigs it causes a disease named mycotoxicose nephropathy.

Keywords: mycotoxin, ochratoxin, pathology, nephrotoxicity, BEN

Grzyby występują w naturze jako heterotroficzne mikroorganizmy. Wytwarzają one węglowodany, kwas cytrynowy i szereg innych kwasów. Niektóre z nich, jak *Aspergillus*, *Penicillium* czy *Fusarium*, produkują ponadto wtórne metabolity zwane miktotoksynami (1). Ze względu na znaczne rozpowszechnienie miktotoksyn w paszach i w produktach żywnościowych stanowią one poważne zagrożenie dla zdrowia zarówno ludzi, jak i zwierząt (17). Ocenia się, że około 25%, a według niektórych szacunków nawet do 40% ziarna zbóż na świecie skażone jest co najmniej jedną miktotoksyną (8). Powoduje to znaczne straty ekonomiczne (16). Te specyficzne metabolity grzybów znane są od dawna, jednak możliwość ich patogenego wpływu na organizm zwierząt nie była brana pod uwagę, aż do czasu wystąpienia ostrego zatrucia u indyków w Anglii w 1960 r. Padło wówczas ponad sto tysięcy ptaków, a przyczyną zatrucia okazało się spożycie paszy skażonej aflatoksyną (8). Od tego czasu w wielu laboratoriach na całym świecie podjęto intensywne badania nad miktotoksynami. Aktualnie znanych jest około 400 miktotoksyn (8). Ze względu na swoją zróżnicowaną budowę chemiczną miktotoksyny wykazują różne działanie patogenne. Najczęściej działają one: nefrotoksycznie (10, 26, 30, 35), hepatotoksycznie (5, 11), cytotoksycznie (2-5), neurotoksycznie (5, 39), karcin-



Ryc. 1. Wzór strukturalny ochratoksyny

nogennie (4, 8, 34), estrogenie (39), immunosupresyjne (9, 22, 29), a także teratogeniczne (5, 25). Największe znaczenie z punktu widzenia toksykologicznego mają: aflatoksyna, ochratoksyna A, patulina, citrinina, rubratoksyna, fumonizyny (B1, B2, B3), zearalenon oraz trichoteceny grupy A i grupy B.

Ochratoksyna A (OTA) jest bezbarwną substancją krystaliczną dobrze rozpuszczalną w polarnych rozpuszczalnikach organicznych oraz wodnych roztworach o odczynie zasadowym. Słabo natomiast rozpuszcza się w wodzie (28). Posiada strukturę złożoną z jednej cząsteczki dihydroizokumaryny (7-karboksy-5-chloro-8-hydroksy-3,4-dihydro-3 R-metylizokumaryna) związanej wiązaniem peptydowym z L-β-feniloalaniną (ryc. 1) (2, 4, 5).

Jest ona wytwarzana przez jedenaście gatunków grzybów z rodzaju *Aspergillus* oraz dziesięć gatunków grzybów z rodzaju *Penicillium*. Obecnie uważa się, że głównymi gatunkami grzybów wytwarzających ochratoksynę A są: *Penicillium verrucosum* najczęściej spotykany w krajach strefy umiarkowanej oraz *Aspergillus ochraceus* i *Aspergillus carbonarium*, które rozwijają się w ciepłym klimacie krajów tropikalnych. Wzrost tych grzybów nie jest jednak równoznaczny z wytwarzaniem przez nie dużej ilości ochratoksyn, które zależy zarówno od szeregu czynników wewnętrznych, jak: aktywność wodna, pH oraz potencjał *redox*, jak i zewnętrznych, jak: wilgotność względna, temperatura, dostępność tlenu oraz skład substratu (8). Wzrost pH wpływa zdecydowanie hamująco na syntezę ochratoksyny.

Toksyczne metabolity grzybów *Aspergillus* mogą występować w wielu produktach spożywczych, między innymi w kawie, piwie, ziarnach zbóż oraz w przetworach mleczarskich. Średnie skażenie pasz ochratoksyną A kształtuje się na poziomie około 100-500 µg/kg, a w przypadku nieprawidłowych warunków przechowywania może osiągać wartości nawet powyżej 5000 µg/kg (7). W Polsce (w latach 1984-1985) na 368 badanych próbek chleba w 63 stwierdzono obecność ochratoksyny A w średnim stężeniu 1360 µg/kg, a na 215 badanych próbek mąki w 48 stwierdzono obecność ochratoksyny A o średnim stężeniu 4370 µg/kg (17). Była ona obecna także we krwi, wątrobie i nerkach zwierząt poddanych ubojowi (36). Badania przeprowadzone w krajach byłej Jugosławii i w Kanadzie wykazały obecność ochratoksyny A na poziomie 10-229 ng/ml we krwi loch poddanych ubojowi (36).

Według ustaleń FAO/WHO, 112 ng/kg masy ciała jest orientacyjną tolerowaną tygodniową dawką ochratoksyny, która odpowiada dawce dziennej na poziomie 16 ng/kg masy ciała. Dawka ta została obliczona na podstawie najniższego poziomu ochratoksyny powodującego uszkodzenie nerki świni, która jest najbardziej wrażliwym zwierzęciem gospodarskim. W krajach Unii Europejskiej maksymalne dopuszczalne stężenie ochratoksyny A wynosi 5 µg/kg w zbożach (ryż, jęczmień), 3 µg/kg dla produktów zbożowych i ziarna zbóż przeznaczonego bezpośrednio dla konsumpcji człowieka oraz 10 µg/kg dla suszonych owoców przeznaczonych do produkcji win (1). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakim (IARC), oceniając wpływ ochratoksyny A na organizm człowieka i zwierząt, uznała jej karcinogenne działanie i zakwalifikowała ją do grupy 2B karcinogenów (8, 13), jednak dzienne dawki 5 ng ochratoksyny/kg masy ciała nie wykazują działania karcinogennego (25).

Różną wrażliwość poszczególnych gatunków zwierząt na ochratoksynę A obrazuje tab. 1.

Mikotoksyny wnikają do organizmu najczęściej drogą pokarmową, rzadziej drogą oddechową, przez skórę bądź przez spojówki. Do płodu przenikają przez łożysko (5, 7), a potem wydzielane są z mlekiem mat-

ki (39). W przewodzie pokarmowym tylko niewielka ilość ochratoksyny A wchłaniana jest przez błonę śluzową żołądka w postaci niezjonizowanej na zasadzie dyfuzji biernej (13, 25). Głównym miejscem wchłaniania mikotoksyn, a w szczególności ochratoksyny A jest jelito cienkie, zwłaszcza początkowa część jelita czczego (13, 37). Wnika ona do komórek zarówno za pośrednictwem aktywnego transportu, jak i drogą biernej dyfuzji. Wnikanie to jest jednak redukowane przez aktywność pomp w błonie szczytowego obszaru enterocytów. Są to transportery anionów organicznych zwane białkami oporności wielolekowej MRP-2 (Multidrug Resistance Protein-2) (13). U świń w jelitach wchłaniane jest 66% pobranej ochratoksyny, u królików 56%, a u brojlerów 40% (13). Po wchłonięciu z krwią żyły wrotnej dostaje się ona do wątroby i dalszych narządów. W 99% zostaje związana z białkami surowicy krwi i tylko niewielka ilość pozostaje we krwi w postaci wolnej (8). W szczególności łączy się z albuminami surowicy oraz z makrocząsteczką o masie molekularnej 20 kDa (8, 13, 14, 25, 26). Mechanizm, poprzez który ochratoksyna A łączy się z albuminami, nie jest dokładnie wyjaśniony. Według niektórych doniesień łączy się ona w postaci di-anionów z podjednostkami IIA i IIB albumin surowiczych (13). Opóźnia to transport ochratoksyny A do narządów wewnętrznych i wydłuża jej okres półtrwania, prowadząc w konsekwencji do przewlekłych efektów toksycznych (25, 26). Połączenia OTA z albuminami mogą być jednak konkurencyjnie zastępowane innymi ligandami anionowymi, takimi jak: aminotransferazy, fenyloalanina oraz niektóre niesterydowe leki przeciwzapalne. Okres półtrwania OTA jest najdłuższy u ludzi i wynosi 30 dni. U małą wynosi on 21 dni, u świń tylko 75-120 godz., a u szczurów 55-230 godz. Stężenie ochratoksyny A i jej metabolitów w surowicy zależy od: wysokości dawki, czasu ekspozycji, drogi podania, okresu półtrwania, od tego, czy jest ona podana naturalnie w paszy, czy w postaci czystej oraz od stopnia wiązania z białkami surowicy (13). Około 30-40% ochratoksyny A wydalane jest drogą mocz-

Tab. 1. Dawka DL₅₀ ochratoksyny dla różnych gatunków zwierząt*

Gatunek zwierzęcia	DL ₅₀ (mg/kg masy ciała)	Droga podania
Mysz (samiec)	51÷68	doustnie
Mysz (samica)	22	dootrzewnowo
Szczur (samiec/samica)	12,6/14,3	dootrzewnowo
Brojler	3,3	doustnie
Indyk	5,9	doustnie
Świnia	1	doustnie
Pies	0,2	doustnie
Świnka morska (samiec/samica)	9,1/8,1	doustnie

Objaśnienie: * źródło: Faucet-Margquis V. (13)

wą. W nerkach jest ona filtrowana w kłębkach nerkowych i z moczem pierwotnym dostaje się do światła proksymalnych kanalików krętych, skąd może być częściowo reabsorbowana i ponownie wraca do krwi. Eliminacja poszczególnych ochratoksyn jest zróżnicowana. Badania przeprowadzone na szczurach przez Li i wsp. wykazały, że najdłuższy jest czas półtrwania ochratoksyny A – wynosi 103 godziny. Natomiast czas półtrwania metabolitów OTA wynosi: dla Op-OTA 50 godz., dla OT α 9,6 godz., dla 4-OH-OTA 6 godz., dla OTB 4,2 godz., a dla OTC 0,6 godz. (13, 24). Ochratoksyna A, ochratoksyna B oraz ochratoksyna α są eliminowane głównie drogą moczową (48%). Natomiast 4-OH-OTA jest eliminowana głównie drogą żółciową (41%) (13). *In vitro* ochratoksyna A jest hydrolizowana przy udziale enzymów trawiennych, tj. α chymotrypsyny i karboksypeptydazy do ochratoksyny α i fenyloalaniny (15, 39). Inkubacja ochratoksyny A z mikrosomami komórek wątrobowych szczura, świni i człowieka, a także w hodowli komórkowej nerki małp i nabłonka oskrzelowego człowieka prowadzi do powstania dwóch epimerów hydroksylowanych, tj. 4-R-hydroksyochratoksyny A (4R-OHOA) i 4-S-hydroksyochratoksyny A. Natomiast inkubacja ochratoksyny A z mikrosomami komórek wątrobowych królika lub nerki świni prowadzi do powstania 10-hydroksyochratoksyny A (10-OHOA) (13). Wszystkie te transformacje są zależne od systemu mikrosomalnego monoooksygenazy cytochromowej i CYP P-450 oraz peroksydazy. Niektórzy autorzy sugerują, że ochratoksyna A jest słabo metabolizowana przez białka enzymatyczne P-450, a jej toksyczne oddziaływanie wynika głównie ze stresu oksydacyjnego (2, 13), dlatego dodawanie do paszy witamin A, C i E – mających właściwości przeciwutleniające – zmniejsza jej patogenne działanie.

Ochratoksyna A wykazuje różnorodne działania patogenne, ale przede wszystkim działa nefrotoksycznie. Jest ona uznana za jeden z głównych czynników etiologicznych wielu chorób nerek o przebiegu ostrym i przewlekłym. U szczurów karmionych przez 8-12 tygodni dietą skażoną ochratoksyną A w stężeniu 2 mg/kg następuje zmniejszenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej, fosfatazy alkalicznej, leucyno-aminopeptydazy, gamma-glutamyl-transferazy oraz N-acetylo- β -D-glukozo-amidazy we krwi (13). Na Bałkanach występuje ona powszechnie w produktach żywnościowych oraz w paszach, a w surowicy krwi mieszkających tam ludzi stwierdza się około 50 nM ochratoksyny (14). Wywołuje tam chorobę zwaną bałkańską endemiczną nefropatią (BEN) (4, 5, 33, 34). Choroba ta została stwierdzona po raz pierwszy w latach 50. XX w. w Jugosławii, Rumunii i Bułgarii i była wiązana ze spożyciem owoców skażonych ochratoksyną A. Częstotliwość jej występowania w zagrożonych populacjach wynosi około 2-25%, a średni wskaźnik śmiertelności według oficjalnych statystyk w latach 1957-1984 wynosił 3% rocznie, przy czym kobiety okazały

się bardziej wrażliwe niż mężczyźni (25). Ostatnie badania wskazują, że na terenach dotkniętych bałkańską endemiczną nefropatią ochratoksyna A obecna jest we krwi 6-18% populacji ludzkiej. Choroba ma charakter przewlekły i rozwija się w ciągu kilku lat z postępującym rozlanym włóknieniem nerek (8). U jednego na trzech pacjentów umierających na bałkańską endemiczną nefropatię notowano także brodawczaki lub raki miedniczki nerkowej, moczowodów i pęcherza moczowego (25, 34). Badania mikrobiologiczne tych pacjentów wykazały obecność bakterii z rodzaju *Enterobacter*, *Proteus* oraz *E. coli* w moczu i kale (35).

U zwierząt ochratoksyna została uznana za główny czynnik etiologiczny przewlekłej miktotoksykozowej nefropatii świń (MPN) (35). Po raz pierwszy stwierdzono ją w Danii, a następnie w Bułgarii (36). Choroba rozwija się w ciągu kilku miesięcy, a jej najbardziej widoczną cechą jest powiększenie nerek, dlatego w Danii wszystkie świny wykazujące w rutynowych badaniach poubojowych powiększenie nerek badane są w kierunku obecności ochratoksyny A, a w przypadku stwierdzenia w nerkach ilości przekraczających 10 μ g/kg cała tusza podlega konfiskacie. Średnia zawartość ochratoksyny A w paszy wywołująca miktotoksykozową nefropatię świń wynosi około 200 μ g/kg. W 1994 r. w surowicy krwi świń pochodzących z tego regionu stwierdzano średnio 60,9 ng/ml ochratoksyny A, a w tkance nerkowej 42-427 ng/g. Zarówno bałkańska endemiczna nefropatia, jak i miktotoksykozowa nefropatia świń charakteryzują się zmianami zwyrodnieniowymi komórek nabłonka proksymalnych kanalików nerkowych oraz śródmiąższowym włóknieniem nerek (8, 26, 36). Klinicznymi konsekwencjami tych procesów są poliuria oraz zmiany parametrów biochemicznych i hematologicznych krwi. Działanie nefrotoksyczne polega na uszkodzeniu mechanizmu odpowiedzialnego za transport anionów organicznych w rąbku szczoteczkowym komórek nabłonka proksymalnych kanalików nerkowych (31). Uszkodzenie funkcji nerki, a w szczególności kanalików nerkowych prowadzi do zwiększenia ilości moczu (poliuria), zawartości glukozy (glikozuria) i białka (proteinuria) oraz przenikania do moczu gamma-glutamyl-transferazy, fosfatazy alkalicznej i leucyno-aminopeptydazy (enzymuria). Zarówno glikozuria, jak i proteinuria powstają na skutek zaburzenia reabsorpcji w proksymalnych kanalikach nerkowych (35).

Ochratoksyna A powoduje także uszkodzenie układu odpornościowego ptaków. U drobiu obserwowano zmniejszenie liczby limfocytów (18, 22) i osłabienie odpowiedzi typu komórkowego (12), a w niektórych przypadkach także odpowiedzi typu humoralnego (25, 35, 36). Sam mechanizm immunosupresyjnego działania miktotoksyn, a w szczególności ochratoksyny A nie jest do końca wyjaśniony. Wielu autorów sugeruje, że hamowanie przez OTA syntezy białek (2-5, 18) wpływa negatywnie na podział mitotyczny szybko dzielących się komórek układu immunologicznego

(18). Obniża ona także aktywność dopełniacza oraz osłabia aktywność makrofagów spełniających istotną rolę w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. Ostatnie badania ptaków karmionych paszą skażoną ochratoksyną A w stężeniu 2-4 mg/kg w okresie 21 dni wykazały spadek białka całkowitego surowicy krwi, liczby limfocytów oraz zmniejszenie masy narządów limfatycznych, jak: grasica, torba Fabrycjusza i śledziona (22, 30). Ptaki pobierają najczęściej paszę zawierającą niskie dawki mikotoksyn. Prowadzi to jednak do stopniowego osłabienia odporności organizmu, zwiększając podatność na różne choroby (33) bakteryjne, jak salmonelloza (12, 35), kolibakterioza (35), wirusowe, jak choroba Gumboro i choroba Mareka oraz pasożytnicze, jak kokcydioza (21). U indyków, a także u kurcząt brojlerów w przebiegu zatrucia ochratoksyną często notowane są zapalenia worków powietrznych (25).

Zaburzenia metaboliczne w ochratoksykozie związane są z upośledzeniem oddychania mitochondrialnego (13, 14, 25) w wyniku dysfunkcji transporterów fosforu w błonie mitochondrialnej oraz zaburzenia aktywności ATP-azy w wewnętrznej błonie mitochondrialnej (25). Dochodzi także do konkurencyjnego hamowania aktywności dehydrogenazy bursztynianowej i oksydazy cytochromowej C oraz hamowania aktywności enzymów cyklu Krebsa z obniżeniem produkcji ATP. Ważnym kierunkiem patogenicznego działania ochratoksyny jest peroksydacja nienasyconych kwasów tłuszczowych (2, 4, 5, 26, 32) tworzących struktury błon komórkowych. Uszkodzenie i wzmożona przepuszczalność struktur błonowych komórki prowadzi do zaburzenia homeostazy wapniowej ze wzrostem poziomu wolnego wapnia w cytoplazmie, aktywacji enzymów, a w następstwie uszkodzenia komórek i tkanek.

Klinicznym wyrazem hepatotoksycznego działania ochratoksyny A jest zmniejszenie poziomu białka całkowitego, albumin, cholesterolu (27, 33), trójglicerydów oraz zmniejszenie aktywności gamma-glutamylotransferazy i cholinesterazy w surowicy krwi (34). Wiązanie z albuminami (4, 5, 7, 14, 15, 17, 26), utrudnia przenikanie OTA z krwiobiegu do komórek wątrobowych oraz nerkowych, a w konsekwencji jej eliminację z organizmu (25, 26, 39). W celu utrzymania ochratoksyny A we krwi organizm może okresowo zwiększyć wytwarzanie albumin, co minimalizuje uszkodzenie narządów (27). Zaburzony zostaje także metabolizm węglowodanów (4, 5, 14, 39). OTA może hamować metabolizm zarówno glukozy, jak i insuliny, powodując gromadzenie glikogenu w wątrobie. Następuje zmniejszenie aktywności karboksykinazy-fosfoenolopirogronianu (PEPCK) ze znaczną redukcją procesu neoglukogenezy nerkowej (25, 39). Ochratoksyna A pierwotnie uszkadza enzymy związane z metabolizmem fenyloalaniny. Hamuje ona aktywność enzymów zaangażowanych w syntezę kompleksu fenyloalanina-t-RNA. Może również współreagować

z innymi enzymami, które używają fenyloalaniny jako substratu. Zajmuje miejsce fenyloalaniny i powoduje zaburzenie biosyntezy białek, głównie glikoprotein i lipoprotein budujących struktury błon komórkowych. Jako inhibitor biosyntezy białek powoduje między innymi destabilizację struktur błon plazmatycznych plemników (6). Zatrucie mikotoksynami powoduje powstawanie rodników nadtlenkowych (2), które uszkadzają błony plazmatyczne, DNA i RNA (34) oraz mitochondria (14, 32, 33). W następstwie rozpadu makromolekuł dochodzi do wzrostu malonylo-di-aldehydu (MDA), który stanowi końcowy produkt peroksydacji tłuszczów i uznawany jest za biomarker stresu oksydacyjnego oraz uszkodzenia komórki (14).

Ochratoksyna A poprzez łożysko trafia do płodu, gdzie ulega kumulacji. Wykazuje działanie teratogenne, powodując różne anomalie morfologiczne u szcureków i u embrionów kurzych (5, 8, 14) oraz karcinogenne (25, 34, 39).

Ponadto mikotoksyny, a w szczególności ochratoksyna A, powodują zahamowanie procesów proliferacyjnych kości, co prowadzi do znacznego ograniczenia kościotworzenia. Ma to bezpośredni wpływ na wytrzymałość kości jako narządu odpowiedzialnego za przenoszenie obciążeń mechanicznych. Zjawisko to jest szczególnie niebezpieczne dla będących w fazie szybkiego wzrostu kurcząt brojlerów, poddawanych intensywnemu tuczeniu, ponieważ kości relatywnie powoli dostosowują się do szybko wzrastającej masy kurczęcia. Prowadzi to do wykrzywienia oraz do złamań kości (12, 31).

Piśmiennictwo

1. Abarca M. L., Accensi F., Bragulat M. R., Castella G., Cabanes F. J.: *Aspergillus carbonarius* as the main source of ochratoxin A contamination in dried vine fruits from the Spanish market. *J. Food. Prot.* 2003, 66, 504-506.
2. Abdelraheim M. A., Meki A. A., Hussein A.: Melatonin reduces oxidative stress induced by ochratoxin A in rat liver and kidney. *Comp. Biochem. Physiol.* 2001, 130, 305-313.
3. Barisic K., Petric J., Rumora L., Ceplak I., Grubisic T. Z.: Expression of Hsp 70 in kidney cells exposed to ochratoxin A. *Arch. Toxicol.* 2002, 76, 218-226.
4. Baudrimont A. M., Betbeder, Creppy E. E.: Reduction of the ochratoxin A induced cytotoxicity in vero cells by aspartame. *Arch. Toxicol.* 1998, 71, 390-398.
5. Belmadani A., Tramu G.: Regional selectivity to ochratoxin A, distribution and cytotoxicity in rat brain. *Arch. Toxicol.* 1998, 72, 656-662.
6. Biro K., Barna-Vetra I., Pecsi T., Szabo E., Winkler G., Gremmels F., Solti J.: Evaluation of spermatological parameters in ochratoxin A – challenged boars. *Theriogenology* 2003, 60, 199-207.
7. Blank R., Rolfs J. P., Sudekum K. H., Frochlich A. A., Marquardt R. R., Wolfram S.: Effects of chronic ingestion of ochratoxin A on blood vessels and excretion of the mycotoxin in sheep. *J. Agric. Food. Chem.* 2003, 51, 6899-6905.
8. Brochard G., Le Bacle C.: Mycotoxines en milieu du travail. *Inst. Nation. Rech. Scient.* 2009, 119, 299-323.
9. Corrier D. E.: Mycotoxicosis: mechanism of immunosuppression. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1991, 30, 73-87.
10. Creppy E. E., Baudrimont I., Anne M.: How aspartame prevents the toxicity of ochratoxine A. *J. Toxicol. Sci.* 1998, 23, 165-172.
11. Creppy E. E., Chaker K.: The mycotoxin ochratoxin A is a substrat for phenylalanine hydroxylase in isolated rat hepatocytes and in vivo. *Arch. Toxicol.* 1990, 64, 279-284.
12. Elissalde M. H., Ziprin R. L., Huff W. E., Kubena L. F.: Effect of ochratoxin A on Salmonella challenged broilers chickens. *Poult. Sci.* 1994, 73, 1241-1248.

13. *Faucet-Marquis V.*: Ochratoxine A, contaminant alimentaire, est-elle un cancérogène genotoxique? Recherché des effets genotoxiques par la technique de post marquage de 1,AND au 32 P en relation avec la métabolisation de l'ochratoxine A. Inst. Nat. Pol., Toulouse 2005.
14. *Gautier J. C., Holzhaeuser D., Marković J., Gremaud E., Schilter B., Turetsky R. J.*: Oxidative damage and stress response from ochratoxin A exposure in rats. *Free Radic. Biol. Med.* 2001, 30, 1089-1098.
15. *Gekle M., Miedenberger S., Freuding R., Silberagl S.*: The mycotoxin ochratoxin A impairs protein uptake in cells derived from the proximal tubule of the kidney (opossum kidney cells). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994, 271, 1-6.
16. *Girish C. K., Smith T. K.*: Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with fuzarium mycotoxins on small intestinal morphology of turkeys. *Poult. Sci.* 2008, 87, 1075-1082.
17. *Goliński P.*: Ochratoxyna A w organizmie ludzkim jako wynik zanieczyszczenia żywności i pasz. *Zesz. Nauk. AR Poznań.* 1987, 1-62.
18. *Haubeck H. D., Lorkowski G., Kolsch E., Roschethaler R.*: Immunosuppression by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine. *Appl. Environ. Microbiol.* 1981, 41, 1040-1042.
19. *Huff W. E., Doerr J. A., Hamilton P. B., Hamann D. D., Peterson R. E., Ciegler A.*: Evaluation of bone strength during aflatoxicosis and ochratoxicosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 1980, 40, 102-107.
20. *Huff W. E., Wyatt R. D., Tucker T. L., Hamilton P. B.*: Ochratoxicosis in the broiler chicken. *Poult. Sci.* 1974, 53, 1585-1591.
21. *Koynarski V., Stoev S. D., Grozeva N., Mirtcheva T.*: Experimental coccidiosis provoked by *Eimeria adenoids* in turkey poults given ochratoxin A. *Vet. Arhiv* 2007, 77, 113-128.
22. *Kozaczyński W.*: Experimental ochratoxicosis A in chickens immunological studies. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 1994, 38, 1-8.
23. *Kubena L. F., Harvey W. E., Corrier D. E.*: Influence of ochratoxin A and T-2 toxin singly in combination on broilers chickens. *Poult. Sci.* 1989, 68, 867-872.
24. *Li S., Marquardt R. R., Frohlich A. A., Vitti G., Crow G.*: Pharmacokinetics of ochratoxin A and its metabolites in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997, 145, 82-90.
25. *Marquardt R., Frohlich A.*: A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *J. Anim. Sci.* 1992, 70, 3966-3988.
26. *Nedeljković J., Sinovec S., Sinovec Z.*: Patomorphological alterations and reparatory processes in the kidneys of broilers treated with ochratoxin A. *Acta Vet. Beograd* 2001, 51, 333-342.
27. *Nedeljković J., Trailovic J. S.*: Blood serum protein of broilers exposed to prolonged treatment with a low dose of ochratoxin A. *Acta. Vet. Beograd* 2000, 50, 13-22.
28. *Niemiec J.*: Wpływ ochratoxyny A na przebieg wzrostu, produkcję i reprodukcję kur. *Rozprawy Naukowe i Monografie.* Wyd. SGGW, Warszawa 1991, 135.
29. *Oswald I. P.*: Effects immunosupresseurs des mycotoxines chez le porc. *Journees Rech. Porcine* 2007, 39, 419-426.
30. *Rouibah K.*: Morfologiczne i czynnościowe wykładniki zatrucia kurcząt ochratoxyną A. *Praca dokt. Wydz. Med. Wet. UP, Wrocław* 2011.
31. *Sauvant C., Silberagl S., Gekle M.*: Exposure to ochratoxin A impairs organic anion transport in proximal tubule derived opossum kidney cells. *J. Pharm. Exp. Therap.* 1998, 287, 13-20.
32. *Schaff G. J., Nijmeijer S. M.*: The role of oxidative stress in the ochratoxin A mediated toxicity in proximal tubular cells. *Biochim. Biophys. Acta (Mol. Basis Dis.)* 2002, 1588, 149-158.
33. *Stoev S., Anguelov G., Pavlov D.*: Some antidotes and paraclinical investigations in experimental intoxication with ochratoxicosis and penicilic acid in chicks. *Vet. Arhiv* 1999, 69, 179-189.
34. *Stoev S. D.*: The role of ochratoxin A as a possible cause of BEN and its risk evaluation. *Vet. Human Toxicol.* 1998, 40, 352-360.
35. *Stoev S. D., Gondaszeva D., Mirtcheva T., Mantle P. G.*: Susceptibility to secondary bacterial infections in growing pigs as an early response in ochratoxicosis. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2000, 52, 287-296.
36. *Stoev S. D., Paskalev M.*: Experimental one year ochratoxin A toxicosis in pigs. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2002, 53, 481-487.
37. *Susumu K.*: Intestinal absorption and excretion of aflatoxin in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1989, 97, 88-97.
38. *Waldenstedt L.*: Nutritional factors of importance for optimal leg health in broilers. *A Review. Anim. Feed. Sci. Technol.* 2006, 126, 291-307.
39. *Yannikouris A., Jouany J. P.*: Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. *INRA. Prod. Anim.* 2002, 15, 3-16.

Adres autora: dr Kamal Rouibah, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław; e-mail: marek.houszka@up.wroclaw.pl