

ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

В процессе жизнедеятельности микроорганизмы (бактерии и микроскопические грибы) продуцируют различные токсины. Эти вещества крайне разнообразны по химической структуре, специфичности, механизму воздействия на организм жертвы, токсичности и ряду других показателей. Часто один вид микроорганизма способен синтезировать сложный комплекс токсических соединений, каждое из которых выполняет свои специфические функции.

Токсины микроорганизмов выполняют три основные функции:

- ✓ защита организма продуцента от поедания другими организмами;
- ✓ «оружие» для нападения на другие организмы;
- ✓ подавление развития конкурентов в борьбе за субстрат.

Первая функция токсинов достаточно очевидна сама по себе. Ни один организм не хочет быть съеденным другим организмом. Самый простой способ защиты – стать несъедобным, а еще лучше – ядовитым¹. Токсины этой группы достаточно распространены в микромире, особенно среди грибов и цианобактерий.

Вторая функция токсинов микроорганизмов может быть продемонстрирована на примере различных патогенных бактерий, к примеру, возбудителя сибирской язвы (*Bacillus anthracis*). С помощью своих токсинов такие бактерии часто убивают организм жертвы, а затем используют его как питательный субстрат для своего развития.

Третья функция токсинов хорошо прослеживается на примере антибиотиков, к примеру, пенициллина. Простому обывателю обычно непросто ответить на вопрос: для чего гриб пеницилл (*Penicillium chrysogenum*, устаревшее название *Penicillium notatum*) продуцирует антибиотик пенициллин? Вполне очевидно, что это происходит совсем не для того, чтобы лечить человека от ангины. Ведь какое грибу дело до нашей простуды?

Следует помнить, что между различными организмами в природе существует жестокая конкуренция за питательный субстрат. Обычно на одни и те же пищевые ресурсы претендует целый ряд живых организмов (бактерий, грибов, нематод, насекомых и т.п.). В борьбе за питание, плесневые грибы и актиномицеты издавна синтезируют различные антибиотики, которые угнетают развитие бактерий-конкурентов. Значительно позже человек научился использовать некоторые из этих веществ в своих целях, для лечения заболеваний бактериальной природы.

Действие токсинов микроорганизмов может быть направлено на различные группы живых существ (растения, животные, грибы, бактерии и т.п.). В рамках этой работы будет рассмотрена лишь небольшая часть существующих микробных токсинов, а именно токсины, действующие на человека и позвоночных животных.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ТОКСИНЫ

Бактерии являются продуцентами множества разнообразных токсичных веществ. Некоторые из бактериальных токсинов, к примеру, возбудителя ботулизма (*Clostridium botulinum*), входят в число наиболее смертоносных веществ на Земле. Полулетальная доза этого токсина для человека (LD₅₀) составляет 0,005-0,05 микрограмм/кг.

Еще в 1888 г. Е. Ру (E. Roux) и А. Йерсен (A. Yersin) выделили дифтерийный токсин и доказали, что именно это вещество является основным фактором вирулентности дифтерийной бактерии (*Corynebacterium diphtheriae*). Говоря более простым языком, этими учеными было доказано, что чистый токсин бактерии вызывает в организме жертвы такие же симптомы, что и заражение бактерией.

¹ Очень часто термины «несъедобный» и «ядовитый» неверно толкуются как синонимы. На самом деле, ядовитый объект всегда содержит токсические вещества и способен вызывать отравление. Несъедобный объект, напротив, не содержит токсинов и обычно не употребляется в пищу по какой-то иной причине (слишком твердый, колючий, горький и т.п.). Различия между несъедобным и ядовитым еще в 1 в. н.э. описал древнеримский ученый Плиний Старший.

В последующие годы подобная закономерность была продемонстрирована для других патогенных бактерий. Было установлено, что симптомы заболеваний, вызываемых *Bordetella pertussis* (коклюш), *Vibrio cholerae* (холера), *Bacillus anthracis* (сибирская язва), *Clostridium botulinum* (ботулизм), *Clostridium tetani* (столбняк) и энтерогеморрагической *Escherichia coli* (кровавая диарея и гемолитико-уремический синдром), являются результатом действия токсинов, продуцируемых перечисленными микроорганизмами.

Бактериальные токсины могут быть определены как растворимые вещества, которые изменяют нормальный метаболизм клеток хозяина и оказывают вредное влияние на организм жертвы. В отличие от токсинов плесневых грибов, подавляющее большинство бактериальных ядов это белки. Токсины небелковой природы (формальдегид, ацетальдегид, путресцин) встречаются у бактерий достаточно редко.

Белковая природа большинства бактериальных токсинов в значительной степени определяет специфику профилактики отравлений человека. Инактивированные токсины (токсоиды) многих патогенных бактерий часто используют для проведения вакцинации. У вакцинированного человека иммунная система способна своевременно распознавать появление этих веществ в организме и предотвращает заболевание.

Проявление действия бактериальных токсинов обычно наблюдается в двух случаях:

- ✓ при развитии бактериальной инфекции;
- ✓ при поедании пищи, колонизованной бактериями.

В качестве примера для первого случая можно привести возбудителя столбняка (*Clostridium tetani*). Эта бактерия обычно развивается в почве и может попасть в организм человека через рану. Уже в ране бактерия начинает интенсивно развиваться и синтезировать токсин. В результате действия этого токсина у человека развивается спастический паралич или столбняк.

Для иллюстрации второго случая можно привести возбудителя ботулизма (*Clostridium botulinum*). Этот вид бактерий также обычно развивается в почве и на растительном материале. В условиях дефицита кислорода бактерия синтезирует невероятно токсичное соединение. Человек может искусственно создать такие условия при некачественном консервировании продуктов. При поедании неправильно приготовленных консервов токсин попадает в организм человека и вызывает паралич мускулов (в частности, дыхательных) или ботулизм.

Механизм действия бактериальных токсинов:

- ✓ повреждают клеточные мембраны;
- ✓ ингибируют белковый синтез;
- ✓ активируют внутриклеточные сигнальные молекулы;
- ✓ нарушают высвобождение нейромедиаторов (нейротоксины);
- ✓ активируют иммунный ответ.

Токсины, повреждающие мембраны

Многие бактериальные экзотоксины способны повреждать плазматическую мембрану и экстрацеллюлярные структуры эукариотических клеток с помощью ферментативного гидролиза (литические) или в результате формирования пор (порообразующие).

Литические токсины представляют собой разнообразные ферменты: гиалуронидазы, коллагеназы и фосфолипазы. Примером таких токсинов могут служить **альфа-токсин** *Clostridium perfringens* (действует подобно фосфолипазе C), **стрептокиназа** *Streptococcus pyogenes* (гидролизует плазминоген до плазмина) и **кlostридиальные коллагеназы** (растворяют коллаген).

Порообразующие токсины формируют трансмембранные поры и нарушают селективный вход и выход ионов через плазматическую мембрану. Примером таких токсинов могут служить **RTX-токсины грамотрицательных бактерий**, **стрептолизин O** *Streptococcus pyogenes* и **альфа-токсин** *Staphylococcus aureus*.

Механизм действия порообразующих токсинов можно рассмотреть на примере альфа-токсина золотистого стафилококка. Различают три последовательные стадии повреждения клеточной мембраны под действием этого вещества:

1. протомеры токсина связываются с мембраной клетки-мишени;
2. связанные с мембраной протомеры олигомеризуются в нелигандный гептамерный (состоящий из семи мономеров) комплекс;
3. гептамер претерпевает ряд конформационных изменений, конечным результатом которых является формирование «ножки», которая проникает сквозь цитоплазматическую мембрану и служит трансмембранным каналом.

Через образовавшуюся пору происходит вход и выход небольших молекул и ионов, что ведет к набуханию и гибели клеток (осмотическому лизису).

Токсины, подавляющие синтез белка

Бактериальные токсины, объединенные во второй класс, поражают клетки-мишени в результате подавления синтеза белков. Субстратами для этих токсинов являются фактор элонгации и рибосомальная РНК. Подавление белкового синтеза данной группой токсинов приводит в конечном итоге к гибели клетки-мишени. В качестве примера токсинов этой группы можно назвать **дифтерийный токсин, экзотоксин А *Pseudomonas* spp. и Stx-токсины (токсины Шига или веротоксины).**

Первые два токсина нарушают синтез белка благодаря АДФ-рибозилированию фактора элонгации 2 (EF2). Stx-токсины продуцируются *Shigella dysenteriae* серотипа 1 и некоторыми другими бактериями (например, Stx-продуцирующие *Escherichia coli*). Они инактивируют рибосомальную РНК, нарушая ее взаимодействие с факторами элонгации.

Молекулярный механизм действия токсинов этой группы удобно проследить на примере Stx-токсинов. Они имеют типичную АВ-структуру, то есть ферментативно активная субъединица А нековалентно связана с субъединицей В, непосредственно взаимодействующей с мишенью. Субъединица А действует как N-гликозидаза, отщепляя единичный адениновый остаток от 28S рибосомальной РНК. Подобная депуринизация в конечном итоге подавляет синтез белка в пораженной клетке. При этом к действию N-гликозидазы одинаково чувствительны рибосомы про- и эукариот.

Рассматривая Stx-токсины, следует отдельно остановиться на Stx-продуцирующих штаммах кишечной палочки (*Escherichia coli*) или STEC. Они приобрели статус «проблемного» микроорганизма относительно недавно, в 1983 г. после вспышки геморрагического колита, вызванного употреблением гамбургеров, подвергнутых недостаточной термической обработке. По данным статистики STEC O157:H7 ежегодно вызывает в США около 20 тыс. случаев геморрагического колита, тысячу случаев гемолитико-уремического синдрома и 100 летальных исходов.

Токсины активаторы внутриклеточных сигнальных молекул

Бактериальные токсины могут нарушать функции различных клеточных белков, не вызывая непосредственной гибели клеток. Активация внутриклеточных мессенджеров под действием токсинов может обусловить значительные нарушения процессов передачи сигналов, имеющих критическое значение в поддержании разнообразных функций клеток. Примером токсинов этой группы могут служить **цитотоксические некротизирующие факторы** бактерий *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum* и *Bordetella* spp., а также **термостабильные энтеротоксины** *Vibrio cholerae*, *Vibrio mimicus*, *Yersinia enterocolitica*, *Citrobacter freundii* и *Klebsiella* spp.

Цитотоксические некротизирующие факторы (CNF токсины) подразделяются на два типа: CNF1 и CNF2. Эти токсины способны модифицировать Rho-белки – небольшое подсемейство ГТФ-связывающих белков, которые регулируют работу актинового цитоскелета. CNF1 токсин синтезируется как гидрофильный полипептид (115 кД). Он свободно плавает в цитоплазме и имеет связывающий (N-терминальная половина CNF1) и

ферментативный (С-терминальная половина CNF1) домены. В клетки организма-хозяина по всей видимости он попадает с помощью бактериального аппарата секреции III типа. Действуя на Rho-белки, CNF1-токсин дезаминирует остаток глутамина в позиции 63 с образованием глутаминовой кислоты. Такая модификация приводит к утрате способности Rho-белка гидролизовать связанный с ним ГТФ.

В эукариотических клетках, пораженных CNF1, развивается ряд характерных явлений: складчатость мембраны, фокальная адгезия и напряженные актиновые волокна, а также ДНК-репликация без клеточного деления, в результате чего образуются гигантские многоядерные клетки. *In vivo* CNF1 вызывает некроз кожи у кроликов после внутрикожной инъекции и персистирующее воспаление у мышей. Эпидемиологические данные подтверждают значение CNF1 как фактора вирулентности при внекишечных инфекциях у человека, однако прямые доказательства роли токсина в развитии данных заболеваний еще предстоит доказать.

Установлена критическая роль малых ГТФ-связывающих белков не только в регуляции цитоскелета (семейство белков Rho), но и в везикулярном транспорте (семейство Rab), и в регуляции роста и дифференциации клеток (семейство Ras). Поэтому не исключено, что существуют пока еще неизвестные нам бактериальные токсины, способные воздействовать на основные клеточные процессы через эти белки.

Термостабильные энтеротоксины (ST-токсины) продуцируются самыми разнообразными бактериями, вызывающими заболевания желудочно-кишечного тракта. Описано два семейства термостабильных токсинов (ST): STa (или STI) и STb (или STII).

Токсины, относящиеся к семейству STa, имеют на С-конце последовательность протяженностью 13 аминокислотных остатков, определяющую термостабильность токсина. Токсичность этой молекулы обуславливают шесть остатков цистеина, связанных между собой тремя дисульфидными «мостиками». Связывание STa со специфичным клеточным рецептором приводит к активации мембраноассоциированной гуанилатциклазы, которая в свою очередь превращает внутриклеточный ГМФ в циклический ГМФ. Такое увеличение концентрации цГМФ нарушает транспорт электролитов в кишечнике: подавляется абсорбция ионов натрия и повышается секреция ионов хлора. Изменения ионных потоков приводят к развитию секреторной диареи.

Рассматривая термостабильные энтеротоксины, следует особо отметить ST-продуцирующие штаммы *Escherichia coli* (ETEC, т.е. энтеротоксигенная *E. coli*). Именно они чаще всего вызывают «диарею путешественников», а также являются основным этиологическим фактором диареи у детей во всем мире.

Нейротоксины

Нейротоксинами принято называть токсины, которые нарушают высвобождение нейромедиаторов и, тем самым, нарушают нервно-мышечную передачу. Характерными примерами этих токсинов являются токсины *Clostridium botulinum* (**BoNT**) и *Clostridium tetani* (**TeNT**). Токсины BoNT наиболее часто связаны с ботулизмом у новорожденных и пищевым ботулизмом, токсины TeNT ответственны за возникновение столбняка.

BoNT существуют в виде больших комплексов, включающих собственно нейротоксин, а также один или несколько белков, которые обеспечивают защиту и стабильность молекулы токсина в желудочно-кишечном тракте. TeNT, синтезируемый в ранах вегетативными формами *C. tetani*, не формирует комплексов с белками.

Нейротоксины синтезируются в виде неактивных полипептидов с молекулярной массой до 150 кДа. Они высвобождаются при лизисе бактериальной клетки и активируются путем протеолитического расщепления незащищенной петли полипептида. Каждая активная молекула нейротоксина состоит из тяжелой (100 кДа) и легкой (50 кДа) цепочек, соединенных единичной бисульфидной связью. Тяжелая цепочка BoNT и TeNT содержит два домена: участок, ответственный за транслокацию токсина в N-концевой

части, и область на С-конце, регулирующая связывание токсина с клеткой. Легкие цепочки BoNT и TeNT представляют собой цинк-связывающие протеазы.

Клеточными мишенями BoNT и TeNT является группа белков, необходимых для высвобождения нейромедиаторов. BoNT связывается с рецепторами на пресинаптической мембране моторных нейронов периферической нервной системы. Протеолиз белков-мишеней в этих нейронах ингибирует высвобождение ацетилхолина, препятствуя мышечным сокращениям. BoNT/B, D, F и G разрушают везикулоассоциированный мембранный протеин и синаптобrevин; BoNT/A и E поражают синаптосомально-ассоциированный белок SNAP 25; BoNT/C гидролизует синтаксин и SNAP 25. Основным симптом отравления токсином BoNT – пониженный тонус мышц.

TeNT (альтернативное название тетаноспазмин) воздействует на центральную нервную систему и поражает два вида нейронов. Первоначально он связывается с рецепторами пресинаптической мембраны моторных нейронов, но затем с помощью обратного везикулярного транспорта перемещается в спинной мозг, где может внедриться в тормозные нейроны. Расщепление везикулоассоциированного мембранного протеина и синаптобrevина в этих нейронах блокирует высвобождение глицина и гамма-аминомасляной кислоты. В результате, происходит блокирование работы самих тормозных нейронов. Под действием токсина в организме человека начинаются неконтролируемые мышечные сокращения (судороги и контрактуры).

Судороги возникают спонтанно или при незначительных раздражениях (прикосновение, свет, голос). В зависимости от напряжения той или иной мышечной группы тело больного может принимать самые причудливые позы. В период между судорогами расслабления мышц не происходит. Спазмы мышц приводят к затруднению или полному прекращению функций дыхания, глотания, дефекации и мочеиспускания, расстройству кровообращения и развитию застойных явлений во внутренних органах, нарушению сердечной деятельности. Наиболее частой причиной смерти является асфиксия вследствие спазма дыхательных мышц, голосовой щели и диафрагмы, на втором месте – паралич сердечной мышцы. Токсин связывается с нейронами необратимо, поэтому функция нерва может быть восстановлена только благодаря возникновению новых нервных окончаний и синапсов.

Различия в клинических проявлениях интоксикации BoNT и TeNT – пониженный тонус мышц и спастический паралич, соответственно, являются прямым следствием воздействия данных токсинов на различные нейроны и блокирования различных нейротрансмиттеров.

Токсины – активаторы иммунного ответа

Некоторые бактериальные токсины действуют непосредственно на Т-клетки и антигенпрезентирующие клетки иммунной системы. Характерным примером таких токсинов служат **пирогенные токсины-суперантигены – PTSAg**. Продукентами этих токсинов являются различные стрептококки и стафилококки. Отличительная особенность пирогенных токсинов – мощное стимулирующее действие на клетки иммунной системы, пирогенность и усиление эндотоксического шока. В результате действия таких токсинов организм человека может убить себя с помощью собственной иммунной системы.

Эти термостабильные токсины с молекулярной массой от 22 до 30 кДа включают стафилококковые энтеротоксины серотипов AvE, G и H, пирогенные экзотоксины стрептококков группы А (серотипы AvC и F), суперантиген стрептококков группы А и стафилококковый TSST-1.

В целом мощное иммуностимулирующее свойство PSTAg является прямым результатом связывания токсина с различными участками снаружи от пептидсвязывающего участка молекул основного фактора гистосовместимости второго класса (расположенных на поверхности антигенпрезентирующих клеток) и специфических V-бета-элементов на рецепторах Т-клеток. К примеру, В домен TSST-1

связывается с альфа-цепочкой молекул человеческого лейкоцитарного антигена DR1, в то время как А домен специфически связывается с V-бета-2 элементами рецепторов Т клеток.

Связывание TSST-1 с V-бета-2 элементами рецепторов Т-клеток приводит к массивной пролиферации (до 20%) периферических Т-клеток. Т-клетки, образовавшиеся в результате пролиферации, могут существовать в состоянии анергии или подвергаются апоптозу. Пролиферация Т-клеток сопровождается массивным высвобождением лимфоцитарных (интерлейкин [ИЛ]-2, альфа-фактор некроза опухолей, гамма-интерферон) и моноцитарных (ИЛ-1, ИЛ-6, альфа-фактор некроза опухолей) цитокинов. Они вызывают гипотензию, высокую температуру тела и диффузную эритематозную сыпь, которые характерны для синдрома токсического шока.

На протяжении длительного времени TSST-1 рассматривают как ключевую субстанцию в развитии синдрома стафилококкового токсического шока, однако в последние годы его стали связывать и с развитием синдрома Кавасаки – основной причины приобретенных пороков сердца у детей в США.

Использование бактериальных токсинов в биологии и медицине

Принципиально неверно наделять бактериальные токсины исключительно негативными свойствами. Многие из них нашли свое применение в биологии и медицине. К примеру, холерный токсин, продуцируемый *Vibrio cholerae*, термостабильный токсин *Escherichia coli* и токсин *Bordetella pertussis* применялись при исследовании механизма активации аденилатциклазы, а также роли циклического АМФ как вторичного мессенджера в эукариотических клетках.

Некоторые бактериальные цитотоксины используются в терапии онкологических заболеваний. При этом они могут использоваться как непосредственно, так и в качестве компонентов иммунотоксинов.

В качестве примера непосредственного применения токсина в онкологии можно привести Stx-токсин. Установлено, что он связывается с гликолипидом CD77, который экспрессируется В-клетками некоторых В-клеточных лимфом. Это открытие послужило толчком к исследованиям, показавшим, что Stx-токсин может «очищать» костный мозг мышей (потенциально – и человеческий) от злокачественных CD77+ В-клеток перед пересадкой костного мозга.

Токсины, ингибирующие белковый синтез, такие, как дифтерийный токсин, экзотоксин А *Pseudomonas spp.* часто используются в качестве цитотоксических компонентов иммунотоксинов. Эти «волшебные пули», сочетающие в себе ферментативно активную часть молекулы токсина и моноклональные антитела (или рецептор), проходят клинические испытания для лечения больных с В-клеточными лимфомами, лейкозией и при трансплантации костного мозга.

Ботулинический нейротоксин типа А (BoNT/A), известный под коммерческим названием Ботокс, имеет несколько клинических показаний. Один из них – лечение мышечной гиперактивности. Микродозы инъекций очищенного токсина в определенные точки вызывают паралич мышцы-мишени и устраняют мышечный спазм. Впервые BoNT/A был применен для лечения нарушений функции глазодвигательных мышц. Эффективность BoNT/A показана также при многих других расстройствах, включая дистонию мышц шеи и гортани, писчий спазм, гемифасциальный спазм, тремор и тик. BoNT/A используется и в косметических целях для уменьшения глубоких морщин, вызванных контрактурой мышц лица.

Другой бактериальный токсин, используемый в медицине – стрептокиназа некоторых патогенных штаммов стрептококков, которая является активатором плазминогена. Протеолитическая активность стрептокиназы используется для восстановления проходимости тромбированных артерий при инфаркте миокарда.

МИКОТОКСИНЫ

Способность синтезировать токсические метаболиты присуща многим видам макро- и микроскопических грибов. Несмотря на то, что слово «микотоксин» дословно переводится как «грибной токсин», этот термин применим далеко не ко всем ядам грибного происхождения.

Для того чтобы какое-либо вещество можно было назвать **микотоксином**, оно должно соответствовать четырем требованиям. Это должно быть низкомолекулярное органическое вещество (1), которое продуцируется микроскопическими грибами (2), проявляет токсические свойства по отношению к человеку и другим позвоночным животным (3) и действует в относительно небольших концентрациях (4).

Антибиотик пенициллин это низкомолекулярное органическое соединение, которое синтезируется микроскопическим плесневым грибом *Penicillium chrysogenum* и проявляет токсические свойства в малых концентрациях. Однако мишенью для всех антибиотиков являются клетки бактерий, а не позвоночных животных. Поэтому пенициллин и другие антибиотики не относят к микотоксинам.

Этиловый спирт, который синтезирует дрожжевой гриб *Saccharomyces cerevisiae*, также токсичен для человека, но лишь в больших концентрациях. Поэтому его также не принято называть микотоксином.

Аналогичным образом, микотоксинами не являются токсичные вещества шляпочных грибов, к примеру, бледной поганки (*Amanita phalloides*), так как содержащие их грибы формируют макроскопические плодовые тела. Для наименования таких токсинов используется другой термин – **грибные яды**. Различия между микотоксинами и грибными ядами связано не только с размерами грибов, которые их синтезируют. Огромное значение имеет также причина попадания токсина в организм человека. Микотоксины практически всегда попадают случайно при употреблении в пищу заселенных грибами продуктов питания. При этом отравившийся человек обычно даже и не подозревает, что вместе с хлебом или вареньем он ел грибы. В противоположность этому, грибные яды любители «тихой охоты» обычно съедают осознанно в виде грибных блюд, перепутав плодовые тела съедобных грибов с их ядовитыми двойниками.

Патологические изменения в организме человека и животных, вызванные употреблением пищи, загрязненной микотоксинами, называют **микотоксикозами**. В зависимости от природы токсического вещества и механизма его воздействия на организм, клинические проявления микотоксикозов крайне разнообразны:

- ✓ **токсическое** (сопровождается угнетением или даже гибелью клеток организма);
- ✓ **мутагенное** (провоцирует мутации клеток);
- ✓ **канцерогенное** (провоцирует развитие онкологических заболеваний);
- ✓ **тератогенное** (провоцирует возникновение уродств);
- ✓ **эмбриотоксическое** (отравление плода у беременных);
- ✓ **аллергенное** (возникновение аллергических реакций);
- ✓ **иммуносупрессорное** (подавление иммунитета).

На проявление микотоксикоза влияет целый ряд факторов: тип токсина, его количество и продолжительность воздействия, а также возраст, пол и состояние конкретного отравившегося индивидуума (генетический и иммунологический статус, дефицит витаминов, алкогольное опьянение, сопутствующие заболевания и т.п.). Отравление одним и тем же веществом может протекать в **острой** или **хронической форме**.

Человек издавна сталкивается с отравлением микотоксинами, о чем свидетельствует ряд документальных источников. Одно из первых упоминаний микотоксинов датируется 6 веком до н.э. На Ассирийских табличках описаны «смертоносные наросты на зерне злаков». Вероятнее всего речь идет о «рожках» спорыньи (гриб *Claviceps purpurea*). Письменные упоминания микотоксинов содержатся в Ветхом Завете, литературе раннего буддизма, сельскохозяйственных трактатов Древнего Китая, Египта, Греции и Рима.

Наиболее известна гибель 14 тысяч жителей Парижа в 1129 г., вызванная **эрготоксинами спорыньи**. В Российской Империи часто наблюдались отравления человека и домашних животных зерном и хлебом, который содержал микотоксины возбудителя фузариоза *Fusarium graminearum* (так называемый «**пьяный хлеб**»). Разумеется, в то время никто не связывал отравления с грибами. На протяжении многих столетий люди были склонны искать мистические объяснения наблюдаемым явлениям: вселение злых духов, действие нечистой силы, проклятие и т.п.

Тот факт, что микотоксины являются постоянной и серьезной угрозой здоровью человека и животных люди осознали относительно недавно. Весомым стимулом, который спровоцировал всплеск токсикологических исследований в мире во второй половине XX в. стала загадочная гибель 100 тысяч индеек на одной из птицефабрик Великобритании в 1960 г. В результате проведенных исследований было установлено, что птицы отравились грибным токсином **афлатоксином**, который содержался в комбикорме. Токсин был синтезирован плесневым грибом *Aspergillus flavus*, который колонизовал плоды арахиса, импортированного из Бразилии. Арахисовая мука была одним из компонентов комбикорма, которым кормили индеек. Собственно говоря, и сам термин «микотоксин» был введен в научную литературу в 1962 г. после установления причин этого ветеринарного кризиса.

Период между 1960-1975 гг. можно назвать «микологической грибной лихорадкой». В это время огромное количество исследователей из различных научных центров мира занялись исследованиями в области микотоксикологии. В результате этих исследований было описано около 300 различных микотоксинов. С тех пор интерес к изучению микотоксинов не угасает. Многие опасные болезни человека, причины возникновения которых до недавнего времени не имели объяснения (хронические эндемические заболевания внутренних органов, некоторые иммунодефициты, онкологические заболевания), в наши дни находят научную трактовку. Доказано, что многие из них вызваны именно микотоксинами.

Хотя точное количество людей, которые страдают от микотоксинов, неизвестно, их опасность настолько высока, что эта проблема выходит за границы отдельных стран. Значительное внимание этой проблеме уделяют такие организации как ООН (ее продовольственный отдел ФАО), Всемирная организация охраны здоровья, Всемирная экологическая организация и др. Однако важно помнить, что снижение риска употребления микотоксинов зависит не только от международных организаций, а и от культуры нашего питания, а также соблюдения элементарной безопасности в быте. Ниже будут рассмотрены некоторые наиболее распространенные и опасные для человека микотоксины.

Афлатоксины

Основным продуцентом афлатоксинов является плесневый гриб аспергилл желтый (*Aspergillus flavus*). Собственно, от латинского названия этого гриба и происходит название всей группы токсинов. Способностью синтезировать афлатоксины обладают и другие виды рода *Aspergillus*.

По химической природе афлатоксины являются дифуранокумаринами. Группа афлатоксинов включает несколько близких по химической структуре соединений. Наиболее распространены четыре афлатоксина: B₁, B₂, G₁ и G₂. Названия групп афлатоксинов определяется их положением на хроматограмме и окраской в лучах ультрафиолета. К примеру, первая полоска синего цвета соответствует афлатоксину B₁ (от англ. «*blue*» – синий). Аналогичным образом, вторая полоска зеленого цвета соответствует афлатоксину G₁ (от англ. «*green*» – зеленый). Среди вышеперечисленных, наиболее распространенным и опасным для человека является афлатоксин B₁.

Афлатоксины накапливаются в различных продуктах растительного происхождения: зерне хлебных злаков и кукурузы, подсолнечнике, сое, арахисе, фруктах и овощах.

Современные исследования показали, что примерно четверть урожая зерновых культур в мире содержит афлатоксины. Нередко афлатоксины остаются и в продуктах переработки растительного сырья: пиве, соке и т.п.

Афлатоксины – одни из наиболее коварных микотоксинов, так как они способны накапливаться не только в растительных продуктах, но и в молоке. Установлено, что если корова ест заплесневелое сено, то часть афлатоксина В₁ трансформируется в афлатоксин М₁ (от англ. «milk» – молоко) и накапливается в молоке. Человек, который употребляет такое молоко, подвергается токсическому воздействию афлатоксина.

Воздействие афлатоксинов на организм человека достаточно разнообразно: токсигенное, мутагенное, тератогенное, канцерогенное и эмбриотоксическое. Основным поражаемый орган – печень. Установлено, что цитохром Р450-оксидаза печени человека переводит афлатоксины в форму 8,9-эпоксидов. В этой форме афлатоксины обладают высокой биологической активностью и способны необратимо связываться с ДНК и белками, что может привести к гибели клетки. Кроме того эпоксидная форма афлатоксина провоцирует ГЦ – ТА транверсии нуклеотидов в ДНК и необратимо блокирует ген подавления опухолей р53.

При остром афлатоксикозе наблюдается летальный исход, вызванный гибелью клеток печени. При хроническом наблюдается печеночная недостаточность, иммунная супрессия и, часто, рак печени. Доказано, что афлатоксины – основная причина возникновения рака печени у человека. В развивающихся странах с низкой культурой земледелия частота возникновения рака печени в 20 раз выше, чем в развитых. Вирусные инфекции печени (к примеру, гепатит В) многократно повышают вероятность возникновения рака печени при употреблении афлатоксинов.

Обезвреживание афлатоксинов в организме человека осуществляет глутатион-S-трансферазная система. Вероятно, варьированием активности этих ферментов и определяется различная восприимчивость разных людей к афлатоксинам. Средняя летальная доза афлатоксина В₁ для человека составляет 10-20 мг. Однако, имеются данные, когда женщина в попытке суицида приняла 40 мг афлатоксина и прожила после этого 14 лет.

Вспышки острого афлатоксикоза регулярно регистрируются в Кении, Индии, Малайзии и Таиланде. В 1974 г. эта болезнь была выявлена в 150 деревнях в западной Индии в результате чего 397 человек заболело и 108 человек погибло. Аналогичное происшествие было зарегистрировано в июле 2004 г. в Кении, когда было погибли 125 человек.

Цитринин

Микотоксин цитринин был впервые выделен из пеницилла лимонного (*Penicillium citrinum*), что и послужило основанием для его наименования. Позже этот яд был найден и в других видах рода *Penicillium*, а также *Aspergillus* и *Monascus*.

Этот токсин обычно встречается в зерне пшеницы, ржи, овса, ячменя, риса и кукурузы. Основным поражаемый орган – почки. Цитринин подавляет синтез РНК в клетках почек и провоцирует возникновение нефропатии.

Впервые это вещество было получено еще в 1940-е гг. как потенциальный антибиотик, аналог пенициллина. Однако, более детальные исследования позволили классифицировать это соединение как микотоксин.

Эрготоксины

Эрготоксины – наиболее изученная на сегодняшний день группа микотоксинов. Они продуцируются возбудителем спорыньи хлебных злаков, грибом клавицепс пурпурный (*Claviceps purpurea*). Под действием гриба отдельные пораженные зерна в колосе модифицируются в плотные темноокрашенные структуры – «спорыньевые рожки».

В таком виде гриб зимует. И именно в спорыньевых рожках накапливаются эрготоксины. Слово «эрготоксин» происходит от франц. слова «*ergot*», т.е. спорынья.

Эрготоксины представляют собой индольные алкалоиды со сложной структурой молекулы. Они представлены тремя типами соединений: клявинового типа, водорастворимыми производными лизергиновой кислоты и водонерастворимыми производными лизергиновой кислоты. Наиболее близким к эрготоксинам искусственным соединением является наркотик ЛСД – диетиламид лизергиновой кислоты.

Поражение организма человека, вызванное употреблением эрготоксинов, получило название «**эрготизм**». Как уже упоминалось выше, вспышки эрготизма известны очень давно. Известны вспышка эрготизма в Древнем Китае в 1100 г. до н.э. и в Ассирии в 6 в. до н.э. Наиболее массовое развитие эрготизма в Европе наблюдалось в период с VI до XVIII вв. В эти годы площади полей, занятые хлебными злаками уже стали значительными, а культура земледелия оставалась достаточно низкой. Совокупность этих факторов провоцировала регулярное массовое развитие спорыньи.

Эрготоксины нарушают передачу сигнала в нервах (как ЦНС, так и автономная нервная система) и гладких мышцах. При этом эрготизм может проявляться в трех формах:

- **галлюциногенная;**
- **конвульсивная;**
- **гангренозная.**

Галлюциногенная форма эрготизма обусловлена действием токсинов на определенные участки ЦНС.

Конвульсивная форма эрготизма издавна называется «злые корчи» или «огонь святого Антония». В таком состоянии у человека начинаются спонтанные конвульсии. В Средние века считалось, что человек начинает корчиться в судорогах, когда святой Антоний изгоняет из его тела нечистую силу. Поверия про святого Антония и нечистую силу нашли свое отражение в творчестве многих художников. К примеру, это отражено на картине Иеронима Босха «Искушение святого Антония» (1500 г.) и одноименной картине Сальвадора Дали (1946 г.).

Гангренозная форма эрготизма вызвана сужением капилляров. При этом значительно нарушается кровоснабжение и начинается покалывание и онемение конечностей. Чтобы избавиться от боли и усилить приток крови, человек начинает усиленно двигать руками и ногами. Такое проявление эрготизма имеет народное название «пляска святого Вита». Святой Вит – покровитель танца в Средневековой Европе. Нередко сужение капилляров приводит к развитию гангрены в конечностях и единственным способом остановить болезнь является их ампутация. Нищие, которые питались хуже всего, наиболее часто страдали от эрготизма и им чаще всего приходилось ампутировать руки или ноги. Это наглядно изображено на картине средневекового художника Питера Бруеля «Нищие» (1568 г.).

Явление эрготизма нашло рациональное объяснение лишь в середине XIX в. До этого времени заболевание трактовалось как проявление влияния нечистой силы. Предполагают, что причиной возникновения «охоты на ведьм» в Салеме в США в 1691 г. была именно вспышка эрготизма.

В Средние века при обнаружении вспышки эрготизма в какой-либо из деревень, часто все пораженное (как тогда считалось, проклятое) зерно изымалось в церковные амбары, чтобы изгнать из него нечистую силу или злых духов. Вместо него люди получали зерно из церковных запасов. Как это ни странно, такая процедура давала мгновенный позитивный эффект. Дело в том, что крестьяне обычно употребляли в пищу хлеб урожая прошлого года, а в церковных амбарах зерно сохранялось по много лет. При длительном хранении эрготоксины разрушаются и зерно становится безопасным.

Аналогичным образом, в СССР традиционно существовал огромный «зерновой запас» на случай неурожая, чрезвычайного происшествия или войны. При этом свежесобранный

урожай шел на обновление запаса, а урожай, собранный несколько лет назад использовали для изготовления муки. Такой «обмен» позволял избежать отравления человека эрготоксинами.

Фумонизины

Фумонизины были описаны и охарактеризованы в 1988 г. Свое название они получили от латинского названия гриба-продуцента – *Fusarium moniliforme* (современное название этого гриба *Fusarium verticillioides*)². В последующие годы этот класс токсинов был обнаружен у других представителей рода *Fusarium*, а также в грибе *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*.

Фумонизины могут быть обнаружены в различных продуктах растительного происхождения. Чаще всего это кукуруза, хлебные злаки, просо и сорго, колонизованные грибом *Fusarium verticillioides*, а также плоды томата, колонизованные грибом *Alternaria alternata*. Важно отметить что гриб *F. verticillioides* может развиваться в тканях растений как эндотроф, т.е. не вызывать каких-либо внешних признаков их заболевания. В связи с этим, отравление может возникнуть даже в случае употребления в пищу внешне «благополучных», т.е. неповрежденных грибами растений.

Наиболее распространенным и опасным представителем фумонизинов является фумонизин В₁. Это вещество нарушает синтез сфинголипидов. Сфинголипиды это один из классов липидов, которые участвуют в формировании мембран нервных клеток. Они играют важную роль передаче клеточного сигнала и в клеточном распознавании. Поэтому, употребление фумонизинов провоцирует ряд заболеваний нервной системы, в частности, лейкоэнцефаломалацию. Помимо этого, фумонизины – канцерогенные вещества, и могут спровоцировать возникновения рака кишечника. Показано, что частое употребление даже малых доз фумонизинов может вызвать умственную отсталость у детей.

Охратоксины

Охратоксины были впервые выделены из гриба *Aspergillus ochraceus* в 1965 г. В последующие годы они были обнаружены у множества видов рода *Aspergillus*, а также некоторых видов *Penicillium* (например, *Penicillium verrucosum*). Существует несколько различных охратоксинов (А, В и С). Наиболее опасен для человека охратоксин А.

Охратоксин А может накапливаться в различных растительных продуктах: зерне хлебных злаков, рисе, кофе, винограде. Соответственно, этот яд можно обнаружить в кружке с пивом, чашке кофе, в бокале вина...

Охратоксин А нарушает транспорт аминокислоты фенилаланина и синтез АТФ в митохондриях, а также стимулирует перекисное окисление липидов в мембранах. Основные повреждаемые органы – почки и печень. Относительно недавно было доказано, что именно охратоксин А является основной причиной так называемой «эндемической Балканской нефропатии» – хронического нефрита у жителей Румынии, Болгарии и бывшей Югославии. Это заболевание обусловлено частым употреблением жителями Балкан вин домашнего приготовления, которые содержат охратоксины. Кроме того, охратоксины являются мощными иммуносупрессантами, тератогенами и канцерогенами.

Патулин

Микотоксин патулин был впервые обнаружен в 1943 г. в культуральной жидкости гриба *Penicillium patulum*. Это вещество обладало антибактериальной активностью и некоторое время использовалось как антибиотик – аналог пенициллина. В 1960-е гг. патулин был признан микотоксином и снят с производства.

² Сумчатый гриб *Fusarium verticillioides* формирует половую стадию *Gibberella fujikuroi*. Именно в этом грибе были обнаружены фитогормоны «гиббереллины». Собственно и название данного класса гормонов происходит от латинского названия рода гриба-продуцента.

Основные продуценты этого токсина плесневые грибы *Penicillium patulum* и *Penicillium expansum*. Эти виды колонизируют преимущественно сочные фрукты и овощи. Соответственно, патулин обычно обнаруживается в соках: томатном, яблочном, персиковом и др. Не секрет, что для изготовления соков часто используют не вполне качественное сырье. «Красивые» яблоки или томаты обычно поступают на прилавки магазинов в свежем виде, а травмированные или подпорченные идут на изготовление соков. Вот такие продукты и представляют наибольшую опасность отравления патулином.

Токсин патулин ингибирует синтез белка, ДНК, РНК, а также ферменты, содержащие в активном центре SH-группы. Обладает высокими мутагенными свойствами.

Трихотецены

Трихотецены представляют собой наиболее обширный и разнообразный класс микотоксинов, который насчитывает около 80 разных ядов. Эти токсины синтезируются грибами из родов *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium* и др. Первый представитель этой группы токсинов был выделен в 1948 г. из гриба *Trichothecium roseum*. Все трихотециновые токсины являются сесквитерпенами и в зависимости от структуры молекулы подразделяются на 4 группы: А, В, С и D.

Группа А – Т-2 токсин, диацетокси-скирпенол и др.

Группа В – трихотексин, дезоксиниваленол, ниваленол и др.

Группа С – роридин А

Группа D – кротоцин

По механизму действия все трихотецены являются ингибиторами синтеза белка (пептидил-трансфераз и др.). Они оказывают общее цитотоксическое воздействие на организм и вызывают различные заболевания внутренних органов, а также неврологические, иммунологические, дерматологические болезни.

Трихотецены являются одними из наиболее опасных для человека микотоксинов. Более того, некоторые из них были взяты за основу при разработке оружия массового уничтожения. В 1974-1981 гг. они приобрели «дурную» славу как вероятный компонент биологического оружия, которое применял Советский Союз в Лаосе, Камбодже и Афганистане (так называемый «желтый дождь»).

Зеараленон

Зеараленон получил название от латинского названия гриба *Gibberella zeae*, который обычно колонизирует кукурузу (*Zea mays*). Этот гриб более известен в своей бесполой стадии *Fusarium graminearum*. Этот гриб способен колонизовать не только кукурузу, но и другие растения, преимущественно злаки.

По сравнению с другими микотоксинами, зеараленон – относительно малотоксичное соединение. Полулетальная доза этого токсина для млекопитающих (LD₅₀) составляет примерно 10 миллиграмм/кг. Поэтому, вероятность острого отравления человека этим токсином крайне мала. Тем не менее, зеараленон крайне опасен для человека. Этот токсин является структурным аналогом женских половых гормонов, так называемым микоэстрогеном (т.е. грибным эстрогеном). Этот токсин обладает выраженными противозачаточными и абортивными свойствами, значительно нарушает гормональный баланс, а также снижает фертильность у мужчин и женщин.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Супотницкий М.В. Микроорганизмы, токсины и эпидемии. М.: Ex Libris – 2000. – 376 с.
2. Шамрай С.М. Микотоксини – постійна загроза з боку «екологічно чистих» природних отрут // Науково-методичний журнал «Біологія». – 2005. – № 13 (97). – С. 1-8.

3. Шмитт К.К., Мейсик К.С., О'Бразн А.Д. Бактериальные токсины: друзья или враги // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 4-15.
4. Bennett J.W., Klich M. Mycotoxins // Clinical microbiology reviews. – 2003. – Vol. 16, N 3. – P. 497-516.
5. Fungi: Biology and Applications / Ed. K. Kavanagh. – John Wiley and Sons Ltd. – 2005. – 280 p.
6. Manahan S.E. Toxicological Chemistry and Biochemistry (3rd edition). – CRS Press Company. – 2003. – 425 p.
7. Mycotoxins in Fruits and Vegetables / Ed. R. Barkai-Golan, N. Paster. – Elsevier, Academic Press. – 2008. – 395 p.
8. The Aspergilli: Genomics, Medical aspects, Biotechnology and Research Methods / Ed. G.H. Goldman, S.A. Osmani / CRS Press Company. – 2008. – 551 p.