

AZASPIRACID – NOVÝ BIOTOXIN

Plk. ve výslužbě prof. Vratislav HRDINA, CSc., ¹prof. RNDr. Jiří PATOČKA, DrSc.,
²plk. ve výslužbě doc. RNDr. Vladimír MĚRKA, CSc., ³doc. MUDr. Radomír HRDINA, CSc.

¹Jihočeská univerzita, Zdravotně sociální fakulta, České Budějovice

²Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví v Hradci Králové

³Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Souhrn

Azaspiracidy (AZA) představují nové zástupce mořských fykotoxinů nalezených v roce 1995 na pobřeží Irska. V listopadu 1995 tam onemocnělo nejméně osm osob po konzumaci slávek jedlých (*Mytilus edulis*). Z masa těchto mlžů bylo později izolováno pět strukturně podobných látek: azaspiracidy AZA-1 až AZA-5 a později ještě také AZA-6 až AZA-11. AZA se liší od všech až dosud známých mořských toxinů. Ke klinickým projevům AZA patří poruchy zažívacího ústrojí, jater a slinivky, ale v pokusech na myších rovněž svalová paralýza, tedy i neurotoxické účinky. Navzdory značnému významu AZA pro lidské zdraví zůstává mechanismus jejich toxického účinku nejasný. V předkládané práci podávají autoři základní informace o chemické struktuře a nejdůležitějších projevech intoxikace těmito látkami.

Klíčová slova: Mořský toxin; Fykotoxin; Azaspiracid.

Azaspiracid – a New Biotoxin

Summary

Azaspiracids (AZAs) represent new members of phycotoxins discovered on the Irish coast in 1995. In November 1995, at least eight people became ill after eating mussels (*Mytilus edulis*). From the meat of these mussels five structurally similar compounds: azaspiracids AZA-1 to AZA-5 and afterwards also AZA-6 to AZA-11 were isolated. Azaspiracids differ from any of the previously known marine toxins. AZAs cause severe disturbances of the intestinal tract, liver and pancreas. A progressive muscular paralysis, i.e. neurotoxic effects, could be proved by the mouse bioassay. In spite of significant threat to human health the mechanism of AZAs toxic effects remain still unclear. Authors present fundamental information concerning a chemical structure and the most important intoxication syndromes caused by AZAs.

Key words: Marine toxin; Fycotoxin; Azaspiracid.

Úvod

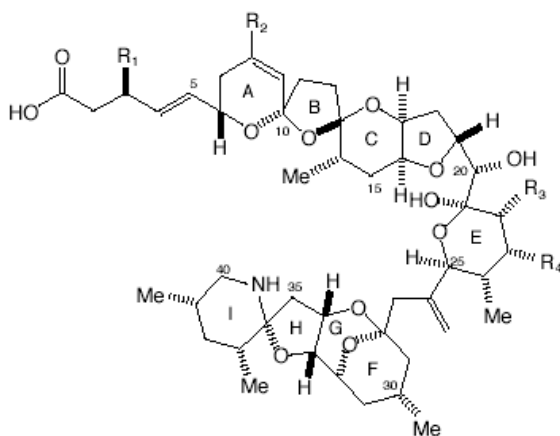
Otravu azaspiracidem (Azaspiracid Poisoning, AZP) lze charakterizovat jako nový toxický syndrom vyvolaný konzumací mořských mlžů. Je znám teprve od roku 1995, kdy byly poprvé zveřejněny informace o otravě lidí tímto mořským toxinem, v té době ještě neznámé etiologie a neznámé chemické struktury. Chemická struktura azaspiracidů (AZA) byla postupně objasňována až v letech 2001–2005 a zveřejňována v odborných časopisech japonskými, irskými a španělskými pracovníky (1, 7, 10). Autoři těchto článků, ale nejen oni, opakovaně upozorňovali, že plody moře je nutné vybírat a konzumovat jen s velkou obezřetností, neboť při nedostatku relevantních informací o jejich vlastnostech mohou vyvolat nečekaně prudké otravy. Taková

otrava osmi lidí v irském přístavu Killary, kteří jedli slávku jedlou (*Mytilus edulis*), byla i na počátku objevu azaspiracidu, a dokonce dala tomuto toxinu na krátkou dobu i jméno – Killary Toxin-3 (KT-3). Azaspiracidy představují nejen chemicky novou skupinu biotoxinů, ale také nové nebezpečí pro konzumenty plodů moře. A jako všechny biotoxiny, také ony představují látky s možným vojenským či teroristickým zneužitím (13).

Chemie

Chemická struktura azaspiracidu se liší od všech dosud známých mořských toxinů (14). Má unikátní strukturu složenou z osmi pěti- a šestičlenných kruhů, v nichž heteroatomem je kyslík (kruhy A až H),

a jednoho kruhu, v němž je heteroatomem dusík (kruh I) (11). Azaspiracid není jednotnou látkou, ale směsí několika strukturálně velmi podobných sloučenin. Struktura pěti nejvýznamnějších azaspiracidů, AZA-1 až AZA-5 je na obr. 1. V současné době je známo již jedenáct látek tohoto typu a toto číslo není pravděpodobně konečné. Azaspiracidy jsou produktem řas spp. *Protoperdinium* (8), které jsou součástí mořského planktonu a sekundárně se stávají toxiny mořských mlžů poté, co se řasy stanou jejich potravou. Je proto obtížné rozhodnout, které z nich jsou produktem metabolismu *Protoperdinií*, a které z nich jsou produktem metabolismu v organismu mlže.



Azaspiracid	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
AZA-1	H	H	Me	H
AZA-2	H	Me	Me	H
AZA-3	H	H	H	H
AZA-4	OH	H	H	H
AZA-5	H	H	H	OH

Obr. 1: Chemická struktura nejvýznamnějších azaspiracidů

Toxikologie

Mechanismus toxického účinku azaspiracidu není dosud znám. Intenzivní výzkum v této oblasti začal teprve nedávno, když se zjistilo, jak unikátní molekulu azaspiracid představuje. Protože slávka jedlá (*Mytilus edulis*), která je hlavním zdrojem toxinu, je ve velkém množství konzumována ve všech přímořských státech, mohl by nepříjemným způsobem narůst počet alimentárních otrav, o jejichž závažnosti je také známo jen velmi málo.

In vitro vykazuje AZA-1 cytotoxický účinek na savčích buňkách (17), ale na rozdíl od většiny jiných mořských toxinů neinhibuje proteinfosfatázu 2A. Byl u něj také prokázán teratogenní účinek (2). Ze skupiny AZA se poněkud vymyká AZA-4, který inhibuje Ca²⁺ kanály plazmatických membrán (1).

Tabulka 1

Toxicita nejvýznamnějších azaspiracidů.
Testováno na myších při i. p. podání (9)

Azaspiracid	LD ₅₀ (μg/kg)
AZA-1	200
AZA-2	110
AZA-3	140
AZA-4	470
AZA-5	1000

U myši vyvolávají azaspiracidy poškození zažívacího traktu, jater, slinivky břišní a nervového systému (4). Dlouhodobé podávání je provázeno vznikem pneumonie a rozvojem plicních tumorů (15). Satake se spolupracovníky (16) zjistili, že i. p. letální dávka čistého AZA-1 pro myš je 200 μg/kg. LD₅₀ pro myš při p. o. podání byla 500–600 μg/kg (5). Intraperitoneální letální dávka pro myš byla u AZA-2 110 μg/kg, u AZA-3 140 μg/kg (10), u AZA-4 470 μg/kg a u AZA-5 méně než 1000 μg/kg (10). Srovnání LD₅₀ všech pěti AZA provedené jednotnou metodikou (myš, i. p. podání) byla publikována Pracovní skupinou pro toxikologii DAS a AZP (Report of the meeting of the Working Group on Toxicology of DSP and AZP. Brussels, 21–23rd May 2001. p. 21) (9). Výsledky jejich měření jsou uvedeny v tabulce 1. Chování zvířat intoxikovaných AZA je odlišné než u jiných mořských toxinů. Myši po i. p. podání AZA-1 jsou pomalé a utlumené, sedí netečně v koutě, trpí paralýzou a obtížně a těžce dýchají. Malé dávky AZA-1 usmrcují zvíře během dvou až tří dnů.

Průběh intoxikace u lidí

Symptomy otravy AZA u lidí se projevují nauzeou, zvracením, úpornými průjmy a křečemi v žaludku, které silně připomínají průjemový typ otravy (diarrhoeic shellfish poisoning). Průzkum přítomnosti AZA prokázal jejich přítomnost ve všech

druzích mlžů využívaných jako lidská potrava na celém západním pobřeží Evropy (3). I když otravy lidí byly zatím zaznamenány jen u slávky jedlé, je na místě mít se na pozoru i při konzumaci jiných druhů (ústřice, hřebenatky, srdcovky) (6). První intoxikace AZA byly pozorovány v Irsku (1999), ale krátce nato také v Anglii, Francii a Španělsku (9). V Portugalsku sice nebyly dosud zaznamenány žádné intoxikace lidí AZA, ale malá množství tohoto toxinu se již začínají objevovat v mořských mlžích i tam (18). Slávka jedlá ovšem žije i na jiných místech, např. v Černém moři, stejně jako 14 toxických druhů řas, kterými se živí (12). Možná, že první otravy lidí v této oblasti na sebe nenechají dlouho čekat. Předpisy Evropské unie (direktiva 91/492/EEC), které určují maximálně přípustná množství biotoxinů v mořských produktech, byly v březnu 2002 rozšířeny také o azaspiracid (EC OJ 175/62 ze 16. 3. 2002). Vypočtená hodnota LOAEL (lowest observable adverse effect level) je 23 až 86 mg pro člověka s průměrnou hodnotou 51,7 mg/osoba.

Literatura

1. ALFONSO, A. – ROMAN, Y. – VIEYTES, MR., et al. Azaspiracid-4 inhibits Ca^{2+} entry by stored operated channels in human T lymphocytes. *Biochem. Pharmacol.*, 2005, vol. 69, p. 1543–1680.
2. COLMAN, JR. – TWINER, MJ. – HESS, P., et al. Teratogenic effects of azaspiracid-1 identified by micro-injection of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryos. *Toxicon*, 2005, vol. 45, p. 881–890.
3. FUREY, A. – MORONEY, C. – BRANA-MAGDALENA, A., et al. Geographical, temporal, and species variation of the polyether toxins, azaspiracids, in shellfish. *Environ. Sci. Technol.*, 2003, vol. 37, p. 3078–3084.
4. ITO, E. – SATAKE, M. – OFUJI, K., et al. Chronic effects in mice caused by oral administration of sublethal doses of azaspiracid, a new marine toxin isolated from mussels. *Toxicon*, 2002, vol. 40, p. 193–203.
5. ITO, E. – SATAKE, M. – OFUJI, K., et al. Multiple organ damage caused by a new toxin azaspiracid, isolated from mussels produced in Ireland. *Toxicon*, 2000, vol. 38, p. 917–930.
6. JAMES, KJ. – FIDALGO SAEZ, MJ. – FUREY, A. – LEHANE, M. Azaspiracid poisoning, the food-borne illness associated with shellfish consumption. *Food Addit. Contam.*, 2004, vol. 21, p. 879–992.
7. JAMES, KJ. – SIERRA, MD. – LEHANE, M., et al. Detection of five new hydroxyl analogues of azaspiracids in shellfish using multiple tandem mass spectrometry. *Toxicon*, 2003, vol. 41, p. 277–283.
8. KOFOID, CA. Dinoflagellata of the San Diego Region, III. Description of new species. Univ. Calif. Publ. Zool. 3: 299–304. 1907, present description: BALECH, E. El género *Protoperidinium* Bergh 1881 (*Peridinium* Ehrenberg 1831, partim). Rev. Mus. Argentina Cienc. Nat. "Bernardino Rivadavia" Inst. Nac. Invest. Cienc. Nat., *Hidrobiologia*, 1974, vol. 4, p. 1–79.
9. MAGDALENA, AB. – LEHANE, M. – KRYŠ, S., et al. The first identification of azaspiracids in shellfish from France and Spain. *Toxicon*, 2003, vol. 42, p. 105–108.
10. OFUJI, K. – SATAKE, M. – McMAHON, T., et al. Structures of azaspiracid analogs, azaspiracid-4 and azaspiracid-5, causative toxins of azaspiracid poisoning in Europe. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2001, vol. 65, p. 740–742.
11. OFUJI, K. – SATAKE, M. – McMAHON, T., et al. Two analogs of azaspiracid isolated from mussels, *Mytilus edulis*, involved in human intoxication in Ireland. *Nat. Toxins*, 1999, vol. 7, p. 99–102.
12. OKOLODKOV, Y.B. The global distributional patterns of toxic, bloom dinoflagellates recorded from the Eurasian Arctic. *Harmful Algae*, 2005, vol. 4, p. 351–369.
13. PATOČKA, J. – HRDINA, V. – MĚRKA, V. – HRDINA, R. Azaspiracid: a new marine toxin. *ASA Newsletter*, 2005, vol. 05–5, p. 16–19.
14. PATOČKA, J. – STŘEDA, L. Brief review of natural nonprotein neurotoxins. *ASA Newsletter*, 2002, vol. 02–2, p. 16–24.
15. RALOFF, J. Dead waters. *Sci. News*, 2004, vol. 165, p. 360–362.
16. SATAKE, M. – OFUJI, K. – NAOKI, H., et al. Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, vol. 120, p. 9967–9968.
17. TWINER, MJ. – HESS, P. – DECHRAOUI, MY., et al. Cytotoxic and cytoskeletal effects of azaspiracid-1 on mammalian cell lines. *Toxicon*, 2005, vol. 45, p. 891–900.
18. VALE P. Is there a risk of human poisoning by azaspiracids from shellfish harvested at the Portuguese coast? *Toxicon*, 2004, vol. 44, p. 943–947.

Korespondence: Prof. MUDr. Vratislav Hrdina, CSc.
Horova 1193
500 02 Hradec Králové

Do redakce došlo 2. 11. 2005