

# **Mykotoxine und ihr Einfluss auf die Immunreaktionen**

**Heike Köhler**

**Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz  
und Veterinärmedizin, Fachbereich 4, Jena**

# Ein Pilz im Kornfeld



*Fusarien sind Schimmelpilze, die Getreide befallen. Im Brot fanden wir ihre Gifte glücklicherweise nur in unbedenklichen Mengen.*

Wer genüsslich in eine Stulle beißt, denkt wohl kaum an Gifte von Getreidepilzen, die Fusarien-toxine. Zurzeit gibt es dafür auch keinen Anlass, wie unsere Untersuchung bestätigt: test wollte wissen, welche Mengen der unsichtbaren Schimmelpilze mit dem täglichen Brot in den Körper gelangen und ob dadurch eine

## Fusarien-toxine: Unsichtbare Giftzwerg

Fusarien-toxine entstehen schon auf dem Feld oder während der Lagerung des Korns. Sie werden von Kleinpilzen, den Fusarien, produziert. Fusarien befallen Getreideähren, zum Beispiel Weizen, Roggen, Mais und Gerste. Sie bilden die Gifte, um Nahrungskonkurrenten – etwa Insekten – fernzuhalten. Mit dem Korn gelangen die Toxine ins Brot; beim Backen werden sie nicht abgebaut. Mit bloßem Auge sind sie nicht zu erkennen. Der Nachweis gelingt nur per Analyse im Labor.

**Deoxynivalenol:** Dieses Toxin entsteht schon vor der Ernte auf dem Feld. In hohen Konzentrationen kann es das Immunsystem schwächen und die Nieren schädigen. Bei Tieren führt es zu Futterverweigerung, Erbrechen, sogar zu Totgeburten.

**Nivalenol:** Wird ebenfalls schon auf dem Feld gebildet. Nivalenol kann in hohen Mengen das Immunsystem schädigen und die Blutbildung beeinträchtigen.

**Zearalenon:** Entsteht auf dem Feld oder nach der Ernte bei schlechten, zum Beispiel zu feuchter Lagerung. Relativ schwach akut giftig, aber kann schon in geringen Konzentrationen das Hormonsystem beeinträchtigen. Die Wirkung von Zearalenon ähnelt der des Sexualhormons Östrogen.

**Zearelenon:** Entsteht auf dem Feld oder nach der Ernte bei schlechten, zum Beispiel zu feuchter Lagerung. Relativ schwach akut giftig, aber kann schon in geringen Konzentrationen das Hormonsystem beeinträchtigen. Die Wirkung von Zearelenon ähnelt der des Sexualhormons Östrogen.

## Kein Brot zu stark belastet

In fast einem Drittel der Brote wurden wir fündig. In elf Fällen war Deoxynivalenol nachweisbar, Nivalenol in fünf, Zearalenon fanden wir nicht. Beruhigend: Die nachgewiesenen Mengen sind weit davon entfernt, die Gesundheit zu gefährden. Das am stärksten belastete Brot enthielt 131 Mikrogramm Deoxyni-

Aus medizinischer Sicht ist es akzeptabel und völlig ungefährlich, wenn ein Mensch täglich 1 Mikrogramm je Kilogramm Körpergewicht aufnimmt. Wir haben berechnet, wie hoch ein Brot belastet sein darf, ohne diese Menge zu überschreiten. Das Ergebnis: Für einen Erwachsenen, der täglich durchschnittlich viel Brot isst (200 bis 300 Gramm

## **Was sind Mykotoxine?**

Mykotoxine sind natürliche, giftige Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, die in einer großen Anzahl von Lebensmitteln vorkommen können.

## Wie können Mykotoxine in die Nahrungskette gelangen?

- Bildung durch pflanzenpathogene oder apathogene Pilze, die Pflanzen besiedeln, während des Wachstums auf dem Feld
- Bildung durch sog. Lagerpilze während der Lagerung bzw. Verarbeitung pflanzlicher Produkte
- Carry-over ins tierischen Geweben (Leber, Niere, Blut, Milch, Muskulatur) nach Aufnahme Mykotoxin-kontaminierten Futters durch Lebensmittel-liefernde Tiere

# Aflatoxine

## Bildner

Aspergillus flavus, Aspergillus ssp.

## Vorkommen

Nüsse (Erdnüsse, Pistazien)

Getreide (Mais), Getreideprodukte

Getrocknete Früchte (Feigen)

Gewürze

Milch und Milchprodukte



## Toxizität

### B1

**Humankanzerogen der Klasse 1 (IARC)**

Hepatokarzinogen, genotoxisch, hohe akute Toxizität

### B2, G1, G2

kanzerogen, genotoxisch, schwächere Wirksamkeit und akute Toxizität als AFB1

### M1

hydroxyliertes Derivat von AFB1

Kanzerogenität beim Menschen nicht eindeutig bewiesen

# Ochratoxin A

## Bildner

Tropische und subtropische Regionen: - Mitglieder der *Aspergillus ochraceus*-Gruppe  
(*Asp. alutaceus* var. *alutaceus*)

- *Aspergillus* spp.

Gemäßigte Regionen:

- *Penicillium verrucosum*

- *Aspergillus niger*-Gruppe

- *Penicillium* spp.

## Vorkommen

Getreide, Getreideprodukte (Brot, Backwaren, Frühstückszerealien), Bier

Kaffee, Kakao

Trauben, Traubensaft, Wein

Gewürze

Nüsse

Säuglingsnahrung

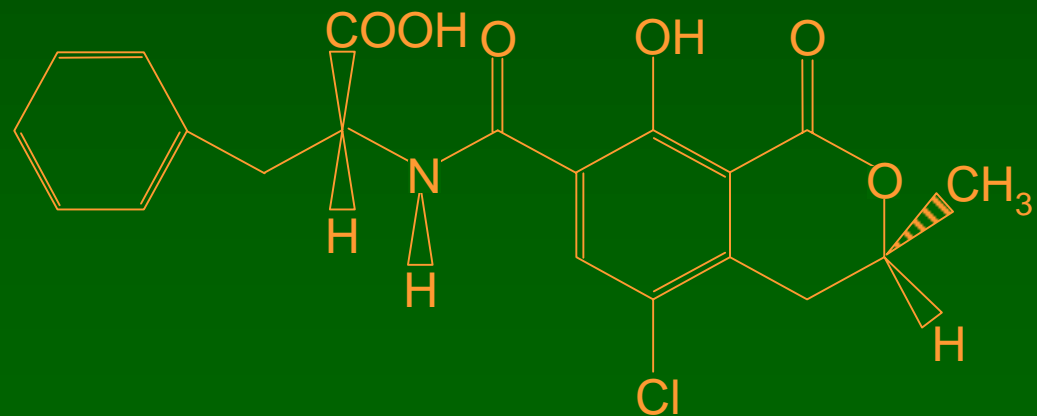
## Toxizität

nephrotoxisch, hepatotoxisch

kanzerogen

teratogen, immuntoxisch

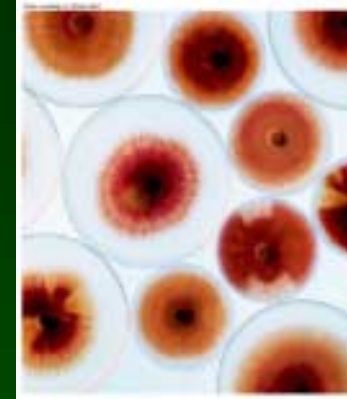
genotoxisch ?



## Deoxynivalenol (Vomitoxin)

### Bildner

*Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*



### Vorkommen

Getreide (Weizen, Gerste, Mais)

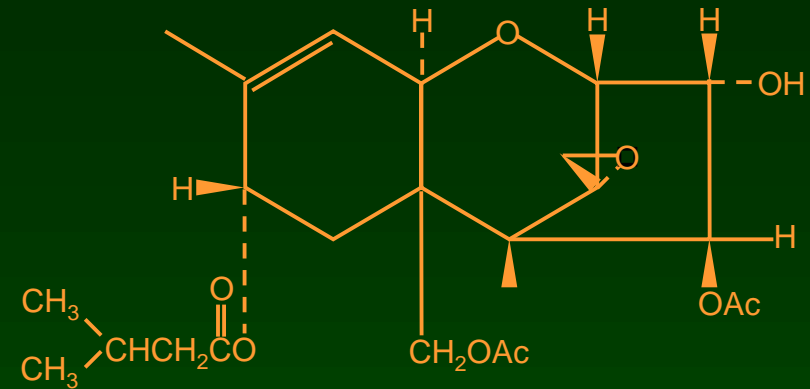
Getreideprodukte

### Toxizität

akute Toxizität: Erbrechen und Darmbeschwerden (gesteigerte zentrale  
serotoninerge Aktivität)

immunsuppressiv

## T-2 Toxin HT-2 Toxin



### Bildner

*Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium* ssp.

### Vorkommen

Getreide (Weizen, Mais, Hafer, Gerste, Reis)

### Toxizität

verminderte Futteraufnahme

Immunsuppression/ Immunmodulation

Hemmung der Proteinsynthese

nicht klassifizierbar hinsichtlich seiner Kanzerogenität beim Menschen

genotoxisch ?



## **Fumonisin B1, B2**

### **Bildner**

Fusarium moniliforme, Fusarium proliferatum

### **Vorkommen**

Mais, Produkte aus Mais

Frühstückszerealien

Bier

### **Toxizität**

hepatotoxisch, nephrotoxisch

kardiovaskuläre Effekte (Equine Leukoencephalomalazie,  
Lungenödeme beim Schwein)

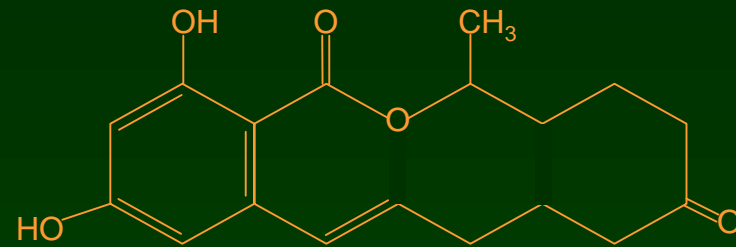
immunsuppressiv

kanzerogen

natürlicher Inhibitor der Sphingolipid-Synthese



## Zearalenon



### Bildner

Fusarium ssp.

### Vorkommen

Getreide (Gerste, Mais, Hafer, Reis, Roggen)

Bier, Brot, Frühstückszerealien

### Toxizität

akute Toxizität nicht beobachtet

Hyperöstrogenismus beim Schwein

schwach teratogen, mutagen

**Humankanzerogen der Klasse 2B (IARC)**

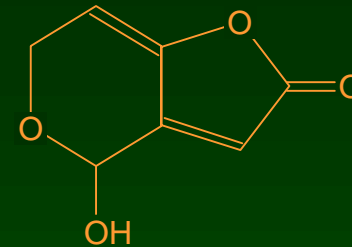
## Patulin

### Bildner

Penicillium expansum

Penicillium ssp.

Aspergillus ssp.



### Vorkommen

Früchte (Äpfel, Birnen, Pfirsiche)

Beeren (Heidelbeeren)

Marmelade

Traubensaft, Fruchtsäfte

### Toxizität

antibiotisch

fungizid

immunsuppressiv

neurotoxisch

mgw. teratogen, mutagen, kanzerogen

## Mittlere tägliche Aufnahme an Mykotoxinen durch den Menschen (Europa) in ng/kg KM

Mykotoxin	Produkte		Normal-Verzehrer	Viel-Verzehrer
Aflatoxine	Getreide/ Ölsaaten Nüsse		0,8	2,1 <sup>1)</sup>
Ochratoxin A	Gesamtdiät	Erw. Kinder	0,5 - 0,6 0,7 - 1,2	3 - 7 <sup>2)</sup> bis 15 <sup>2)</sup>
Trichothecene	Getreide	Erw. Kinder	40 70	70 <sup>1)</sup> 130 <sup>1)</sup>
Fumonisin B1	Mais/ Maisprodukte		6 - 7100 <sup>3)</sup>	
Patulin	Fruchtsäfte/ Kompott	Erw. Kinder	4 8	11 <sup>1)</sup> 24 <sup>1)</sup>

1) Thuvander et al., 2001, 2) Wolff et al., 2000, 3) EHC, 2000

# Verordnung über Höchstmengen an Mykotoxinen in Lebensmitteln (Mykotoxin-Höchstmengenverordnung - MHmV)

Vom 2. Juni 1999

Aflatoxine	Erzeugnis	Höchstmenge in oder auf Lebensmitteln in µg/kg
1. Aflatoxin B <sub>1</sub>	Lebensmittel	2
2. Summe der Aflatoxine B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>	a) Enzyme und Enzymzubereitungen, die zur Herstellung von Lebensmitteln bestimmt sind	0,05
	b) Lebensmittel	4
3. Aflatoxin M <sub>1</sub>	a) Milch	0,05
	b) getrocknete, verarbeitete oder aus mehreren Zutaten bestehende Milcherzeugnisse	0,05

## Verordnung zu Änderung der Mykotoxin-Höchstmengenverordnung und der Diätverordnung (in Vorbereitung)

Mykotoxine	Erzeugnis	Höchstmenge in oder auf Lebensmitteln in µg/kg
4. Ochratoxin A	löslicher Kaffee	6
	Röstkaffee	3
	Trockenobst, ausgenommen	2
	Weintrauben, getrocknet	
5. Deoxynivalenol	Speisegetreide, Getreideerzeugnisse und Teigwaren	500
	Brot und andere Backwaren mit einem Getreideanteil von mehr als 33%	350
6. Summe der Fumonisine B1 und B2	Mais und Maiserzeugnisse	500
	Cornflakes	100
7. Zearalenon	Speisegetreide, Getreideerzeugnisse und Teigwaren, Brot und andere Backwaren mit einem Getreidgehalt von mehr als 33%	50
8. Patulin	Apfelsaft, Apfelmus, Apfelkompott	25

# Dysregulation der Immunantwort

## Immunsuppression

### ➤ Infektionen

- vermehrt
- schwerer
- langwieriger

### ➤ Krebserkrankungen

## Überschießende Immunantwort

### ➤ Allergien

### ➤ Autoimmunerkrankungen

# Modelle zur Untersuchung immuntoxischer Wirkungen

## In vivo

- Belastung von Versuchstieren mit Prüfsubstanzen
- Erfassung der klinischen Symptomatik
- Effekte auf Immunisierungen und Modellinfektionen

## Ex vivo

- Belastung von Versuchstieren mit Prüfsubstanzen
- In-vitro-Testung von Immunfunktionen

## In vitro

- In-vitro-Belastung und Testung  
(Einsatz humaner Zellen und Zelllinien möglich)



## Endpunkte (ex vivo und in vitro)

### Funktionell

- Phagozytose
- NK-Zell-Aktivität
- zelluläre Zytotoxizität
- Proliferation
  - Lymphozyten
  - Monozyten/Makrophagen
- Antikörper-Produktion (ex vivo)

### Molekular

- Enzymaktivität
- Zytokin-Produktion
- Oberflächenmarker
- Reaktive Sauerstoffmetaboliten
- Intrazellulärer  $\text{Ca}_{2+}$ -Strom
- Transkriptionsfaktoren
- mRNS-Expression

# Beeinflussung des Immunsystems durch Mykotoxine

- Aflatoxine :
- Thymus-Aplasie
  - verminderte T-Zellfunktion
  - verminderte Antikörperantwort
  - Hemmung der Phagozytose-Aktivität
  - Komplement-Hemmung

# Beeinflussung des Immunsystems durch Mykotoxine

- Ochratoxin A
- erhöhte Empfänglichkeit gegenüber Infektionserregern
  - Hemmung der Lymphozytenproliferation
  - verminderte Antikörperreaktion
  - Hemmung der Phagozytose
  - verstärkte Bildung freier Sauerstoffradikale
  - Exposition von Muttertieren während der Trächtigkeit beeinträchtigt das Immunsystem der Nachkommen

# Beeinflussung des Immunsystems durch Mykotoxine

## Fumonisine

- verminderte Antikörperbildung
- verminderte Lymphozytenproliferation
- verminderte Phagozytose

## Beeinflussung des Immunsystems durch Mykotoxine

Zearalenon: - verminderte Lymphozytenproliferation

Patulin:

- verminderte IgA-Titer
- Neutrophilie
- Hemmung der Makrophagenfunktion

# Beeinflussung des Immunsystems durch Mykotoxine

Trichothecene - verminderte Resistenz gegen Infektionserreger

- hohe Dosen:

verstärkte Apoptose

Hemmung der Lymphozytenproliferation

Hemmung der humoralen Immunität

Hemmung der Phagozytose

spezifisch:

DON

- erhöhte IgA-Titer, IgA-Immunkomplexe und polymeres IgA

T-2 Toxin

- Immunsystem - primärer Angriffspunkt

# Beeinflussung des Immunsystems durch Mykotoxine

Trichothecene - niedrige Dosen

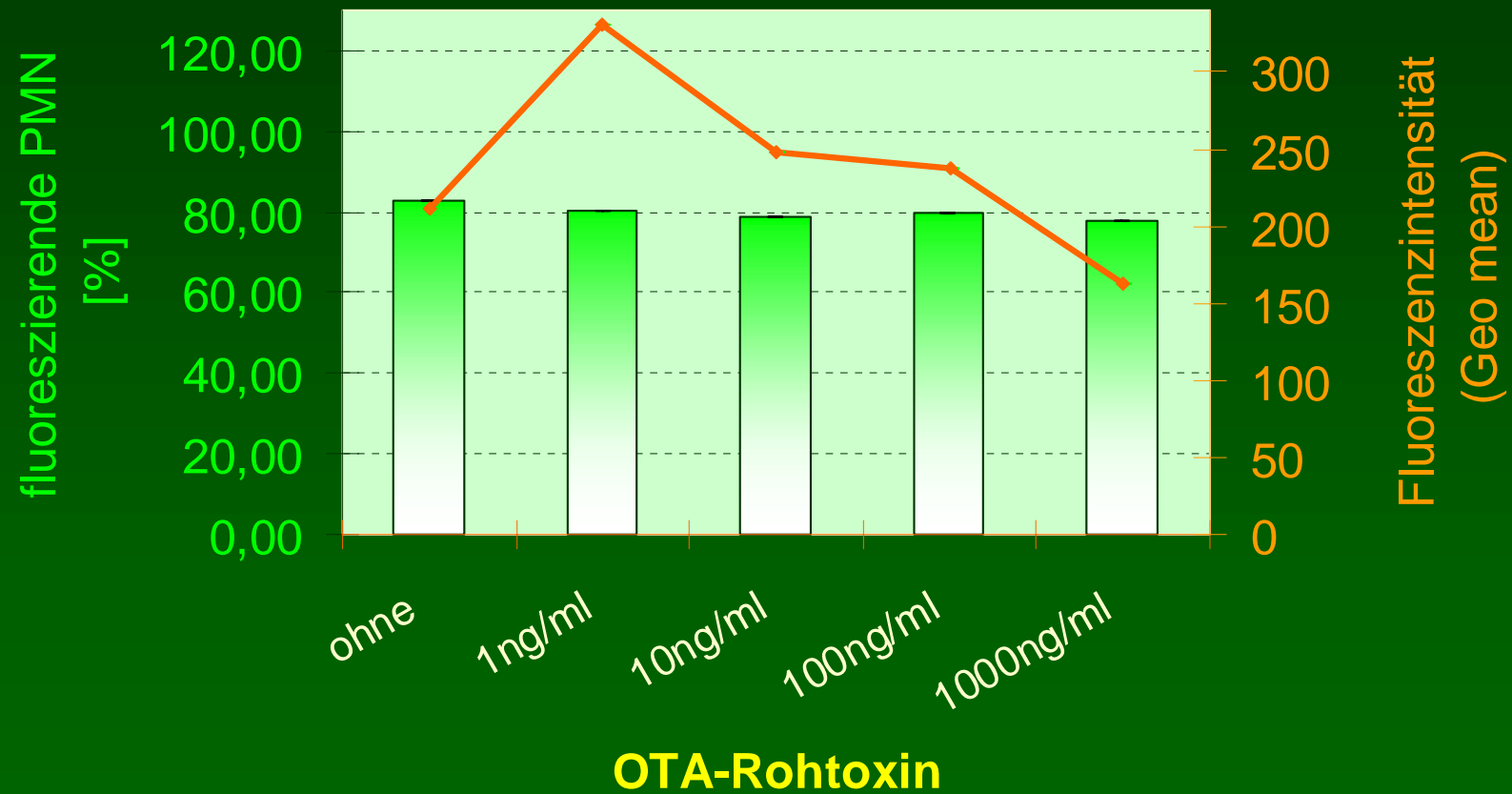
Superinduktion der Zytokin-Gen-Expression

Stimulation der Lymphozytenproliferation

Stimulation der humoralen Immunität

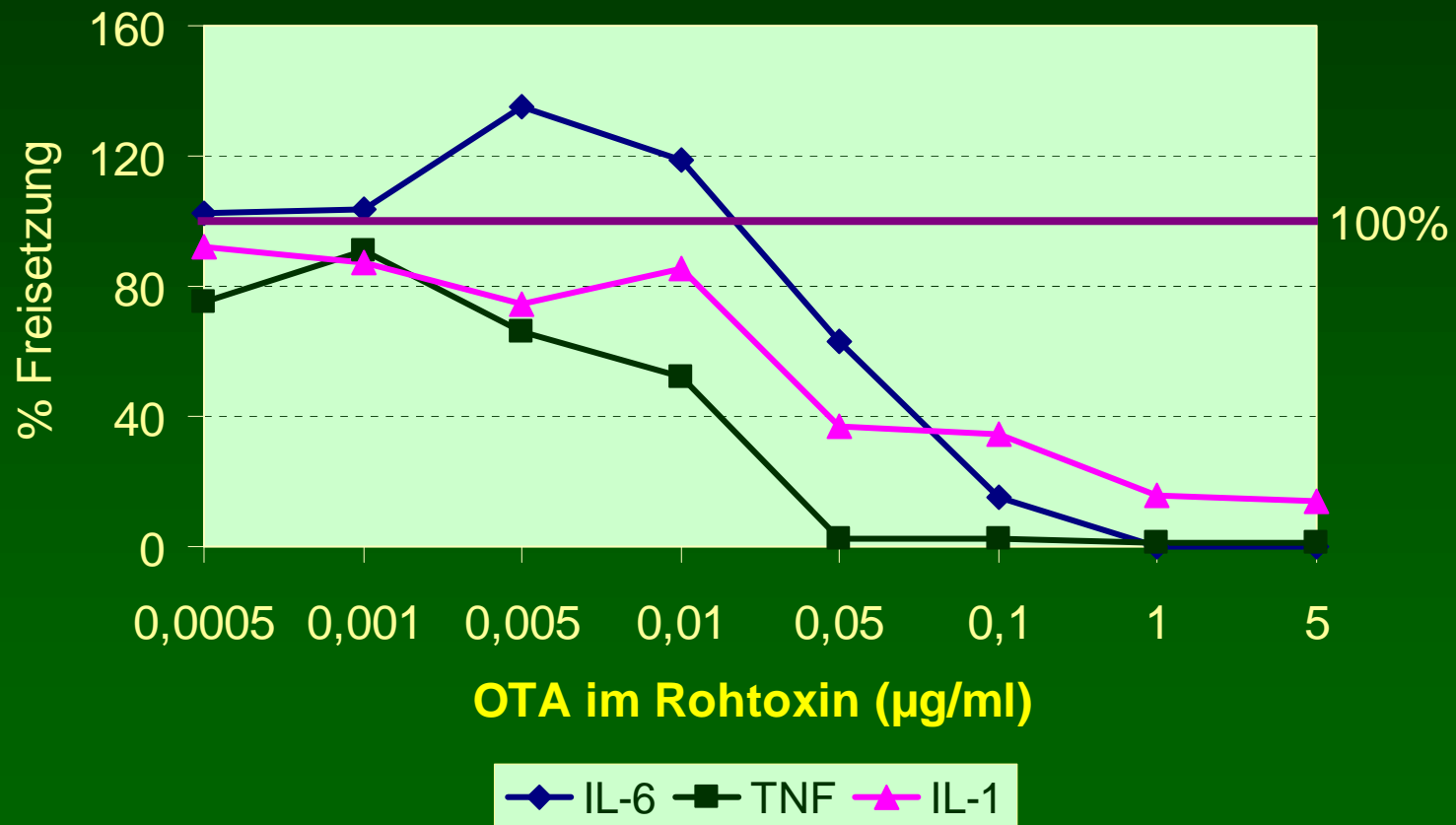
Stimulation der Phagozytose

## Oxidativer Burst von Granulozyten, stimuliert durch ops. Zymosan





## Freisetzung proinflammatorischer Zytokine durch porcine PBMC nach In-vitro- Stimulation mit LPS



## Zusammenfassung

- Mykotoxine können die verschiedenen Funktionen des Immunsystems auf unterschiedliche Weise beeinflussen, mit ambivalenten Dosis-Wirkungs-Beziehungen ist zu rechnen.
- In-vitro-Methoden ermöglichen die Untersuchung niedriger Mykotoxinkonzentrationen.
- Durch die Untersuchung der Wirkung von Mykotoxinen auf immunologische Parameter werden Gesundheitsrisiken für den Menschen erfasst, die durch klassische toxikologische Verfahren nicht erkannt werden können.

## **Tolerierbare tägliche Aufnahme an Mykotoxinen durch den Menschen\* (Provisional Tolerable Daily Intake - PTDI)**

Ochratoxin A	5 ng/kg KM/d
Fumonisin B1	2 µg/kg KM/d
Deoxynivalenol	1 µg/kg KM/d
T-2 Toxin/HT-2 Toxin	0,06 µg/kg KM/d
Zearalenon	0,2 µg/kg KM/d
Patulin	0,4 µg/kg KM/d

\* erarbeitet vom Wissenschaftlichen Lebensmittelausschuss der EU (SCF) unter Berücksichtigung der Empfehlungen der JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)

## Nachweismethoden

	Screening	Analytische Methoden
Aflatoxin M <sub>1</sub>	RIA, ELISA	TLC, LC
Ochratoxin A	ELISA, TLC	LC
Fumonisine	ELISA, TLC	LC
Deoxynivalenol	TLC, ELISA	GC-MS, LC, TLC
T-2 und HT-2 Toxin	ELISA	GC-MS, LC, TLC

RIA	- Radio-Immuno-Assay
ELISA	- Encyme-Linked-Immuno-Assay
GC-MS	- Gaschromatographie - Massenspektroskopie

TLC	- Dünnschichtchromatographie
LC	- Flüssigchromatographie