

Patogeni non batterici

- Funghi (muffe), Protozoi, Elminti, Alghe
 - I sintomi possono essere causati da:
 - componenti delle cellule, tossine, prodotti di scarto
 - Risposta allergica dell'ospite

Tossine fungali

- Le tossine fungali si dividono in due categorie principali:
 - Le tossine da muffe (micotossine):
 - prodotti naturali che evocano una risposta tossica quando introdotte a bassa concentrazione in vertebrati;
 - prodotti del metabolismo secondario: non essenziali per la crescita cellulare o per mantenere le funzioni vitali di base delle cellule
 - Le tossine da funghi (veleni)
- Non chiaro il ruolo biologico: possibili armi nei confronti di patogeni ambientali (battericidi o antibiotici).

Muffe contaminanti

- I maggiori organismi che producono micotossine appartengono ai generi:
 1. *Aspergillus*
 2. *Fusarium*
 3. *Penicillium*
- Le contaminazioni di alimenti possono avvenire in ogni punto della filiera produttiva: nella crescita in campo, durante il raccolto, nel trasporto o nell'immagazzinamento.
- Il problema delle muffe tossicogeniche è uno dei maggiori problemi in agricoltura e coinvolge i cereali, la frutta fresca e secca e prodotti derivati.

Micotossine

- Sono generalmente molto stabili chimicamente e, quindi, difficili da degradare con i comuni processi dell'industria alimentare;
- Possono causare effetti acuti (tossicità renale e/o epatica) e effetti cronici (carcinogenesi, difetti neonatali, neuro tossicità);
- Possono essere letali;
- Tre meccanismi di azione generali:
 - Mutageniche;
 - Teratogeniche;
 - Carcinogeniche.

Chi fa cosa

Organismo	Substrato	Micotossina
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. columnaris</i> e <i>A. nomius</i>	Mais, arachidi, cotone, semi da olio.	Aflatossine
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Orzo, grano.	Ocratossine
<i>Aspergillus carbonerius</i>	Uva, caffè.	
<i>Penicillium verrucosum</i>	Grano, orzo, mais.	Fumonisine
<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. verticillioides</i> e <i>F. proliferatum</i>		Tricoteceni (Tossina T-2), Zearalenone
<i>Fusarium spp.</i>		
<i>Claviceps purpurea</i>	Segale	Alcaloidi dell'Ergot
<i>Penicillium patulatum</i> , <i>P. claviforme</i>	Mele	Patulina
<i>Stachybotrys</i>	Fieno	Tricoteceni (Tossina T-2)

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

9

Chi fa cosa

Micotossina	Patologia
Aflatossine	Epatossiche, carcinogeniche.
Ocratossine	Nefrotossiche, immuno soppressive.
Fumonisine	Epatossiche, leucoencefalomalacia (cavallo).
Tricoteceni (Tossina T-2)	Citotossiche, inibiscono la sintesi di proteine e DNA.
Zearalenone	Micoestrogeni.
Alcaloidi dell'Ergot	Ergotismo: allucinazioni, fuoco di Sant'Antonio, ecc.
Patulina	Antibiotico e antitumorale, interviene nella sintesi di tRNA

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

10

Aflatossine

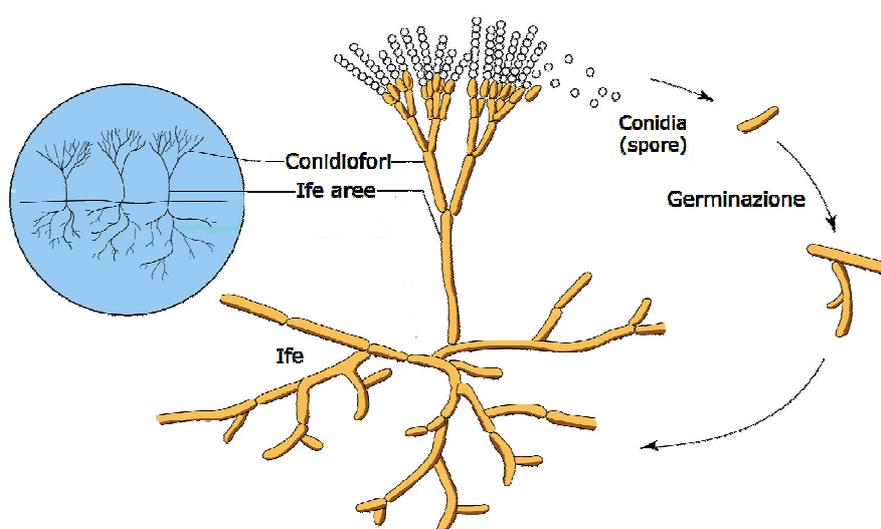
Aspergillus spp.

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

11

Ciclo vitale

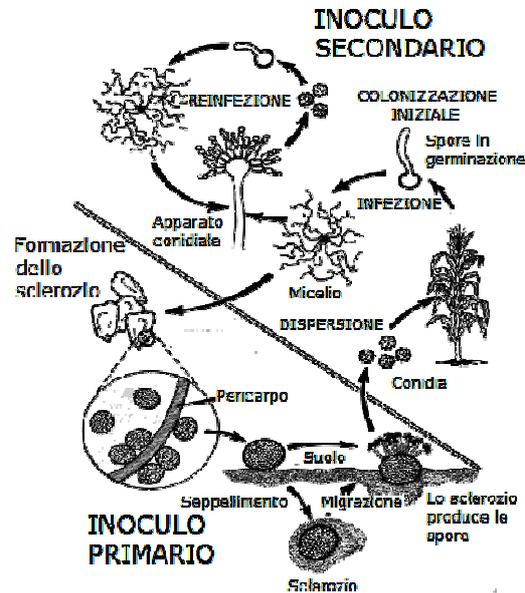


gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

12

Ciclo vitale si *Aspergillus*



gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

13

Aspergillus

- Genere comprendete più di 100 specie di cui almeno 50 producono micotossine.
- Tossine prodotte:
 - Aflatossine
 - Ocratossina A
 - Sterigmatocistina
 - Acido ciclopiazonico
 - Citrinina
 - Patulina
- *A. niger* è usato per produrre acido citrico usato nelle bibite.
- *A. oryzae* è usato per produrre salsa di soia e sakè.

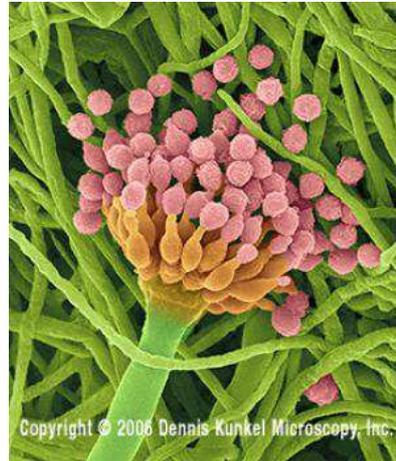
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

14

Aflatossine

- Sono un gruppo di tossine prodotte da *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. columnaris* e *A. nomius*.
- Quattro prodotti naturali:
 - Aflatossina B1, B2, G1 e G2 e due prodotti del loro metabolismo: Aflatossina M1 e M2
- È dimostrata la tossicità delle molecole è legata alle attività mutageniche indotte sul DNA con conseguente danno genetico.

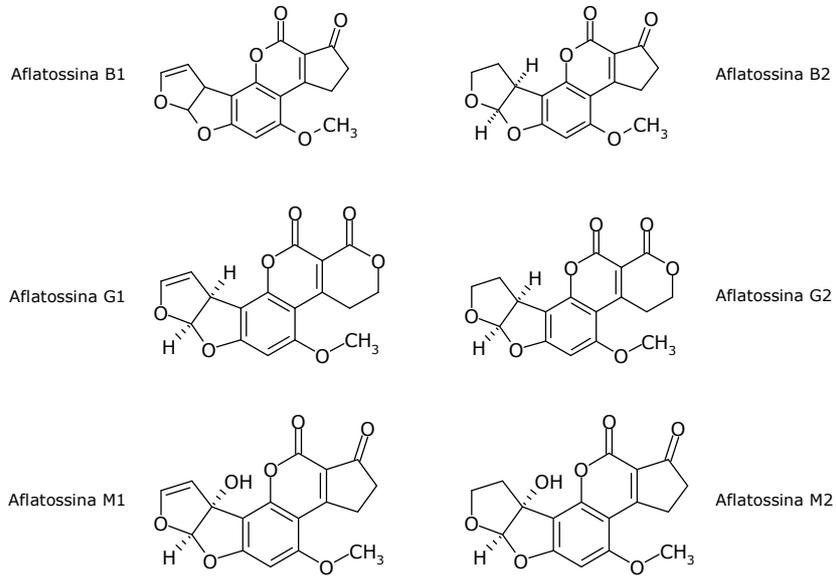


Prodotti interessati

- *Aspergillus flavus* è stato identificato nelle arachidi.
- *A. parasiticus* e/o *A. columnaris* sono stati identificati in avena, segale, riso, orzo, grano, miglio, mais, ceci, noci di pecan e cassava, patata dolce.



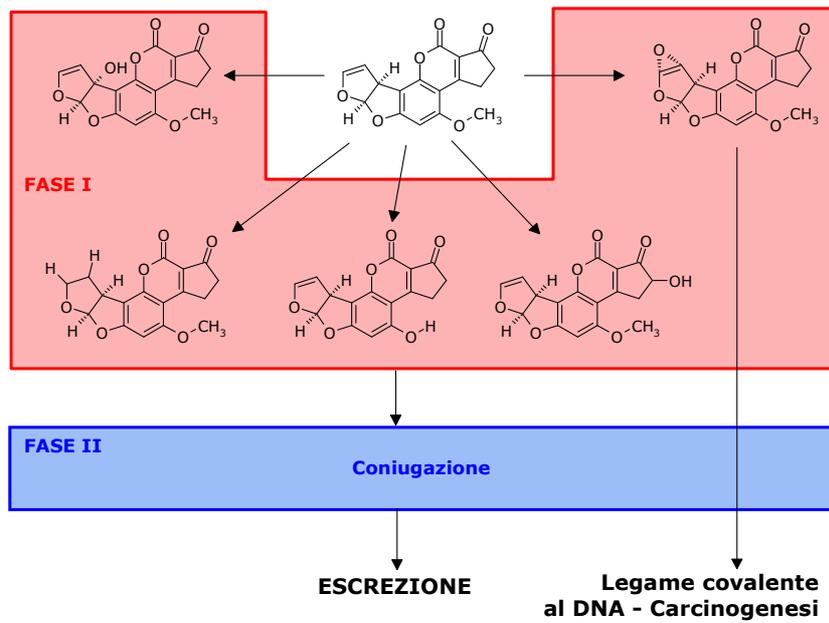
Aflatossine



gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

17



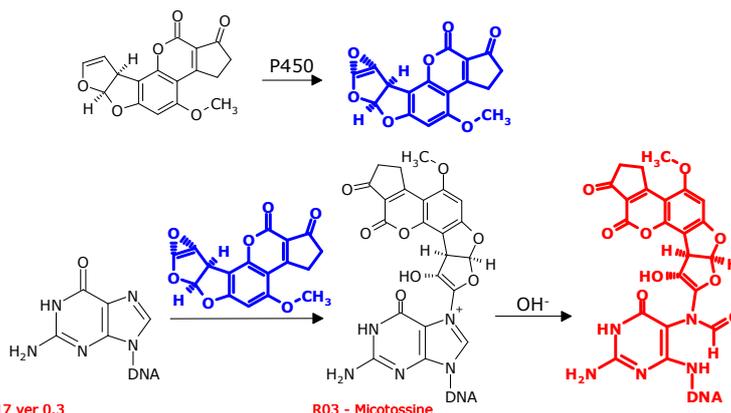
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

18

Meccanismo d'azione

- Aflatossina B1 (AFB1) è metabolizzata da vari citocromi P450, producendo **AFB1-*exo*-8,9-epossido**. L'epossido po' reagire con il N7 della guanina nel DNA per formare l'addotto AFB1-N7-dG.
- La reazione dell'addotto con una base induce l'apertura dell'anello della guanina formando l'addotto finale **AFB1-FAPY**.



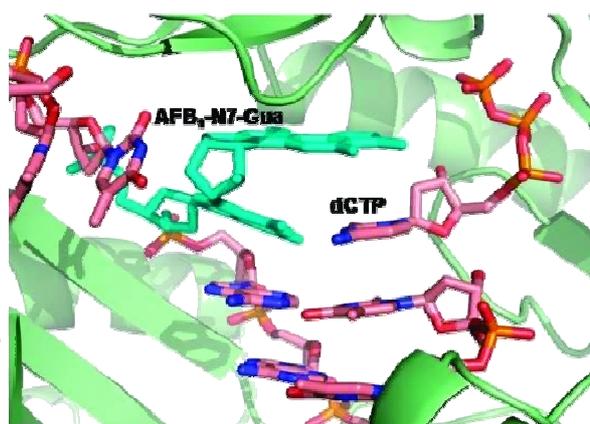
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

19

Meccanismo d'azione

Both **AFB(1)-N7-dG** and the β -anomer of the **AFB(1)-FAPY** adduct yield G→T transversions in *Escherichia coli*, but the latter is more mutagenic. We show that the *Sulfolobus solfataricus* P2 DNA polymerase IV (Dpo4) bypasses **AFB(1)-N7-dG** in an error-free manner but conducts error-prone replication past the **AFB(1)-FAPY** adduct, including misinsertion of dATP, consistent with the G→T mutations observed in *E. coli*.



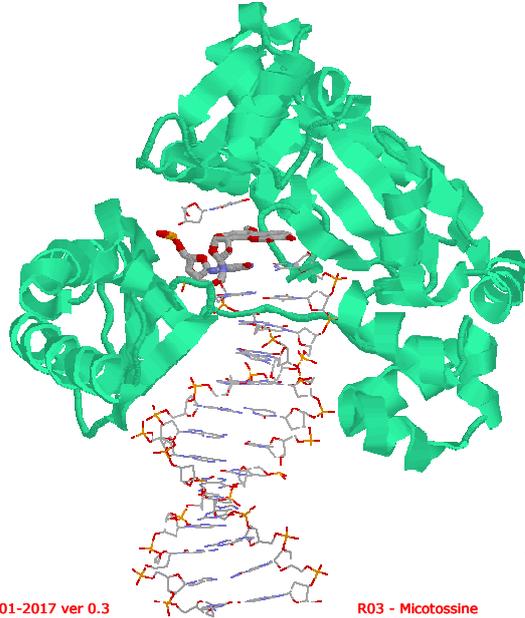
Bypass of aflatoxin B1 adducts by the *Sulfolobus solfataricus* DNA polymerase IV.
Banerjee S, Brown KL, Egli M, Stone MP.
J Am Chem Soc. 2011 Aug 17;133(32):12556-68

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

20

Meccanismo d'azione



Bypass of aflatoxin B1 adducts by the *Sulfolobus solfataricus* DNA polymerase IV.
Banerjee S, Brown KL, Egli M, Stone MP.
J Am Chem Soc. 2011 Aug 17;133(32):12556-68

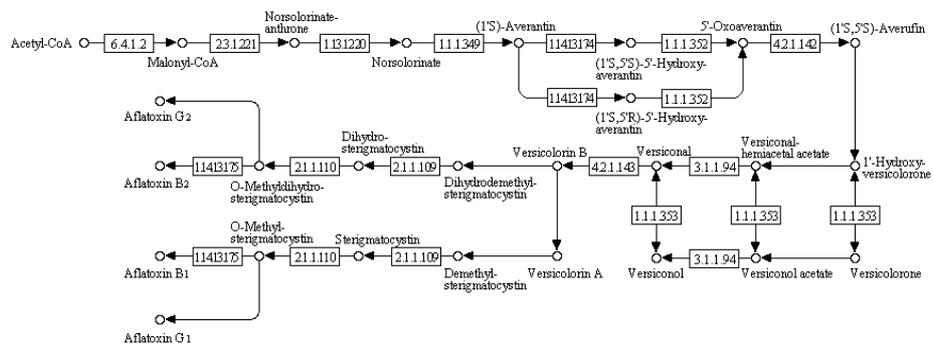
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

21

Biosintesi delle aflatossine

AFLATOXIN BIOSYNTHESIS



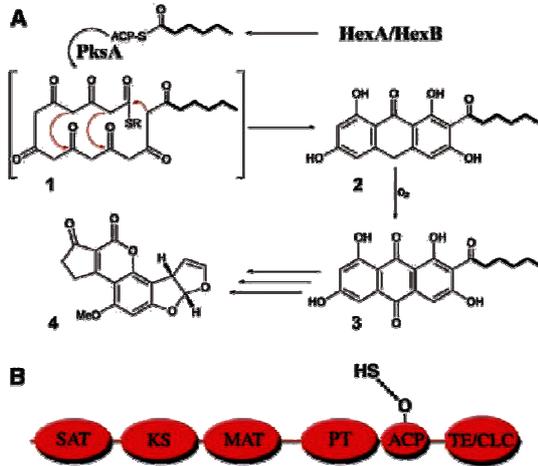
00254 10/21/13
(c) Kanehisa Laboratories

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

22

Biosintesi delle aflatossine



Aflatoxin B1 biosynthesis.

(A) Biosynthetic pathway. PksA accepts a C6 fatty acid from the associated fatty acid synthase subunits (HexA/HexB) and homologates acetyl units while attached to either the acyl carrier protein (ACP) or ketosynthase (KS) to a fixed chain length (octaketide), as shown in the hypothetical intermediate **1** (shown as the keto form), R = ACP or KS. PksA controls specific cyclization chemistry to release the norsolorinic acid anthrone, which is auto-oxidized in vitro to norsolorinic acid. **3** is processed through a series of oxidative rearrangements to aflatoxin B1.

(B) Fungal nonreducing PKS domain architecture (PksA). Domains include SAT, KS, malonyl-CoA:ACP transacylase (MAT), PT, ACP, and thioesterase/Claisen cyclase (TE/CLC). Many known and apparently homologous enzymes that share similar domain organization synthesize an assortment of products with alternative chain lengths and cyclization scaffolds.

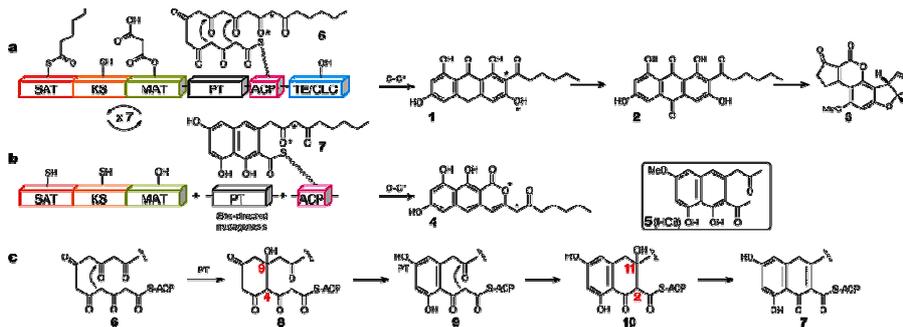
Deconstruction of Iterative Multidomain Polyketide Synthase Function
J. M. Crawford, P.M. Thomas, J.R. Scheerer, A.L. Vagstad, N.L. Kelleher, C.A. Townsend.
SCIENCE VOL 320 11 APRIL 2008

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

23

Biosintesi delle aflatossine



Biosynthesis of norsolorinic acid anthrone (1) by PksA

a, Native catalytic cycle. The SAT domain in PksA selects a hexanoyl starter unit. The MAT domain loads the free ACP with malonyl units. After seven successive condensation events with malonyl-ACP catalysed in KS, the linear ACP-bound polyketide **6** is cyclized (C4-C9 and C2-C11 cyclization events) and aromatized in the product template (PT) domain to give the bicyclic intermediate **7**. The TE catalyses C-C cyclization to release anthrone (**1**), which undergoes oxidation to the anthraquinone norsolorinic acid (**2**), to initiate the complex biosynthetic pathway to aflatoxin B1 (**3**). Asterisks denote the C and O nucleophiles involved in on-path and off-path cyclizations, respectively. **b**, In the absence of TE, the PT product **7** undergoes spontaneous O-C cyclization to norpyrone (**4**). The PT monodomain structure was solved with intermediate/product mimic **5** (HC8). **c**, Conversions from **6** to **7** via intermediates **8**, **9** and **10**.

Structure and function of an iterative polyketide synthase thioesterase domain catalyzing Claisen cyclization in aflatoxin biosynthesis
T.P. Korman, J.M. Crawford, J.W. Labonte, A.G. Newman, J. Wong, C.A. Townsend and Shiou-Chuan Tsa
PNAS (2010), vol. 107, no. 14

gs © 2001-2017 ver 0.3

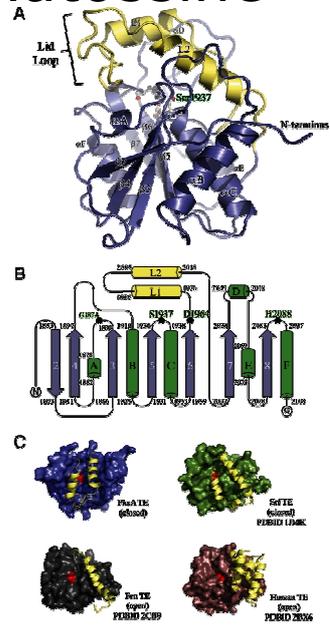
R03 - Micotossine

24

Biosintesi delle aflatossine

Overall structure of the PksA TE domain. (A) Ribbon diagram of the TE α/β -hydrolase fold with the core domain shown in blue and the unique lid in yellow. The location of the S1937-H2088-D1964 catalytic triad and the oxyanion site residue G1874 is shown in balls-and-sticks and labeled green. The position of the lid-loop, which presumably opens upon presentation of substrate by ACP, is closed. (B) Topology diagram of PksA TE showing the location of the catalytic triad residues along with G1874 (*Black Dots*), which is thought to act as the oxyanion hole for the reaction, and the lid region (*Yellow*) as an insertion between $\beta 6$ and $\beta 7$, a common feature of FAS, PKS and NRPS TE domains. The core sheets and helices are colored blue and green, respectively, and are numbered as the canonical α/β -hydrolase fold showing that PksA TE lacks the first *N*-terminal sheet necessary for dimerization. (C) Comparison of open and closed lid conformations found in TE crystal structures.

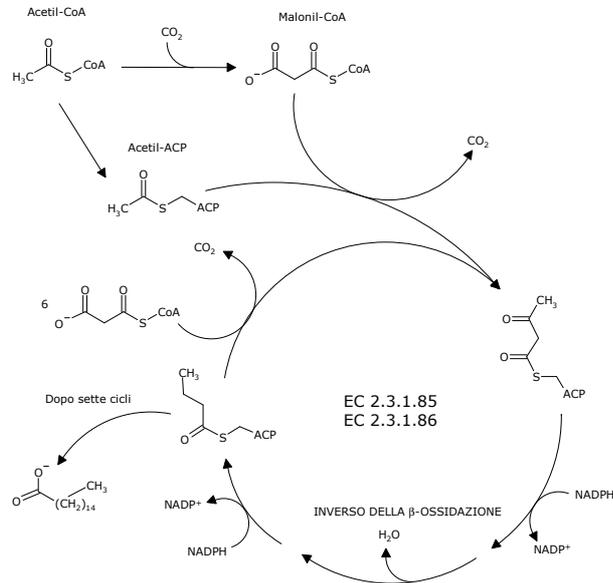
Structure and function of an iterative polyketide synthase thioesterase domain catalyzing Claisen cyclization in aflatoxin biosynthesis
 T.P. Korman, J.M. Crawford, J.W. Labonte, A.G. Newman, J. Wong, C.A. Townsend and Shiou-Chuan Tsa
 PNAS (2010), vol. 107, no. 14



Biosintesi degli acidi grassi

- Negli animali la sintesi è catalizzata da una serie di enzimi componenti del complesso acido grasso sintasi (EC 2.3.1.85 EC 2.3.1.86) mentre nelle piante e nei batteri gli enzimi sono separati
- La biosintesi usa come sistema redox il NADP⁺/NADPH (la degradazione usa il sistema NAD⁺/NADH).
- L'aggiunta dell'unità C₂ è alimentata dal ΔG negativo della decarbossilazione del malonil-CoA.
- L'allungamento è ripetuto fino alla formazione di C₁₆ (Acido palmitico).
- Altri enzimi catalizzano la ramificazione e l'insaturazione.

Strategia



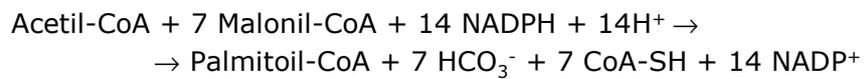
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

27

Energia

- La spinta è il potere riducente del NADPH



↓
Formazione di esteri

gs © 2001-2017 ver 0.3

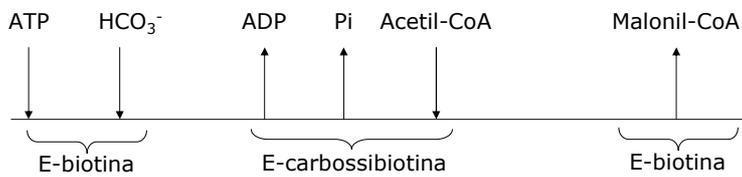
R03 - Micotossine

28

Formazione di malonil-CoA



- L'acetil-CoA carbossilasi (ACC) è un enzima biotina dipendente che funziona in modo simile alla piruvato carbossilasi,
- Non fa parte del complesso acido grasso sintasi,
- Ha un meccanismo a ping-pong:



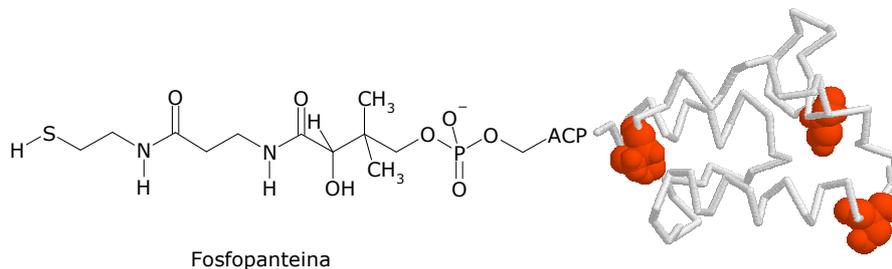
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Microssine

29

Acyl Carrier Protein (ACP)

- Il legame avviene attraverso la Ser terminale che lega il gruppo prostetico:

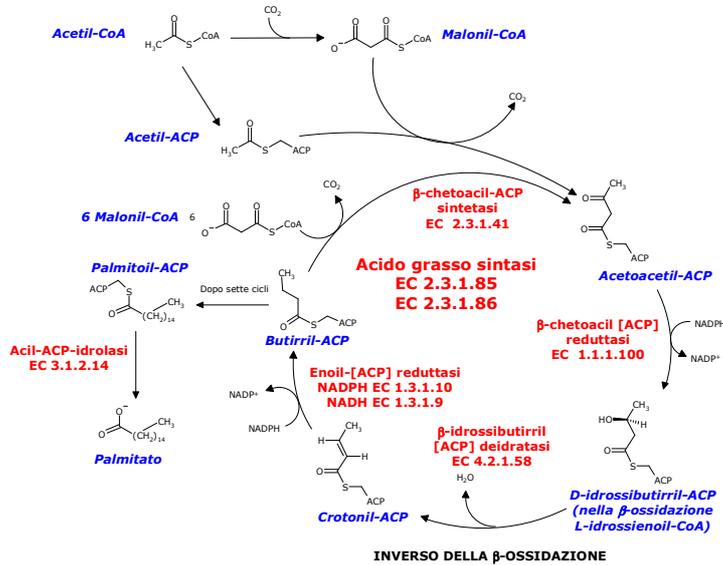


gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Microssine

30

Strategia



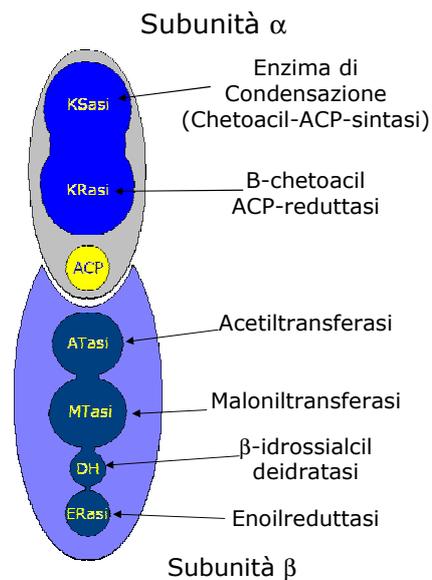
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

31

Acido grasso sintasi

- Il meccanismo è lo stesso sia per gli organismi superiori che per i batteri che le piante,
- È diversa l'organizzazione degli enzimi:
 - Nel lievito e nelle piante il complesso acido grasso sintasi è un complesso enzimatico $\alpha_6\beta_6$.



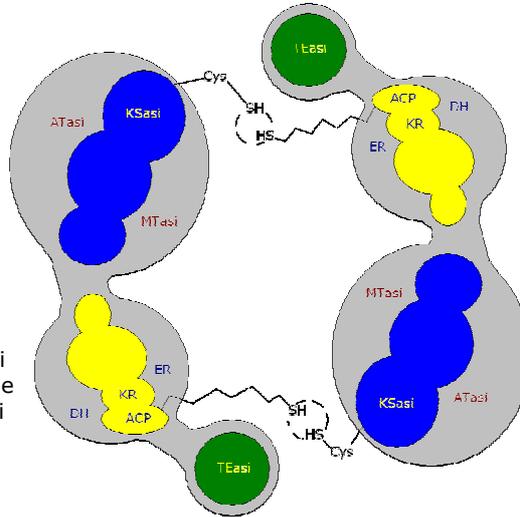
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

32

Acido grasso sintasi

- Il meccanismo è lo stesso sia per gli organismi superiori che per i batteri che le piante,
- È diversa l'organizzazione degli enzimi:
 - Negli animali è un dimerico nel quale ognuno dei monomeri contiene le attività enzimatiche della catena sintetica, i monomeri sono organizzati testa-coda in modo tale che il prodotto di una catena di reazioni entra nella successiva catena di reazioni

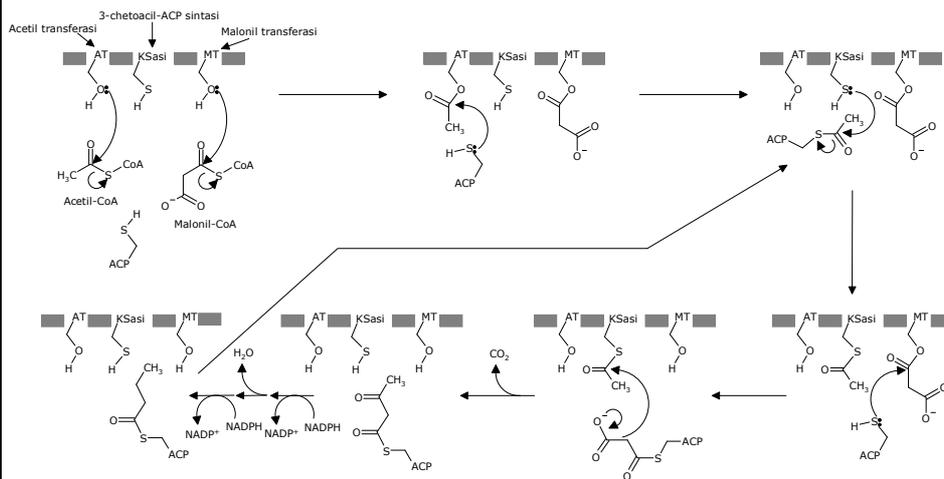


gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

33

Meccanismo



gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

34

Aspergillus spp. negli alimenti

- La presenza e lo sviluppo di *Aspergillus* nei prodotti alimentari è legato a diversi fattori:
 - Granaglie e alimenti da esse derivati immagazzinati in ambienti caldi e umidi;
 - Raccolti effettuati in stagioni piovose o prima della maturazione;
 - Contaminazione diretta da suolo;
 - Crescita in suoli con alti livelli di contaminazione fungina.

Aflatossicosi

- Causata da alte dosi in piccoli intervalli temporali o basse dosi per tempi prolungati.
- Nel 1961, ha causato la morte di oltre 100000 tacchini di allevamento (Turkey X disease) a causa di mangimi provenienti da arachidi brasiliane contaminate con aflatossina;
- Crescita migliore tra 25°C – 35°C (allevamento);
- La proliferazione può essere innescata e favorita anche su altri prodotti.



Aflatossina B-1

- Provoca il cancro in animali e, probabilmente, in umani;
- È teratogenica, causa difetti neonatali e, in adulti, può dare sintomi influenzali, convulsioni, paralisi, coma e morte;
- Bersaglio principale è il fegato dove può provocare cirrosi, necrosi e carcinoma epatico;
- Ha, come effetto secondario, quello di sopprimere la risposta immunitaria;
- In caso di consumo materno può provocare l'ittero neonatale;
- Non permane a lungo nell'organismo, viene escreta dagli animali in circa 96 ore.

Concentrazioni

- Sorgenti normative:
 - REGOLAMENTO (CE) N. 1881/2006 DELLA COMMISSIONE EUROPEA del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari
 - REGOLAMENTO (CE) N. 1126/2007 DELLA COMMISSIONE del 28 settembre 2007 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari per quanto riguarda le Fusarium - tossine nel granoturco e nei prodotti a base di granoturco

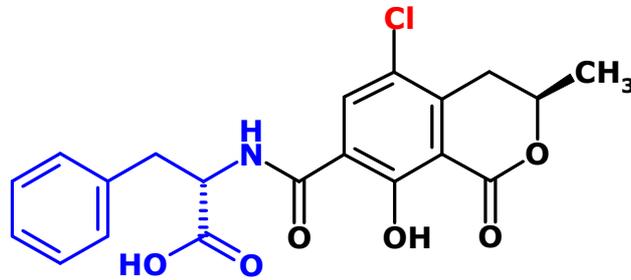
Prodotto	Tenore massimo µg/Kg (ppb)		
	B1	B1+B2+G1+G2	M1
Mais da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego come ingredienti di prodotti alimentari	5	10	
Alimenti per lattanti e alimenti di proseguimento, compresi il latte per lattanti e il latte di proseguimento			0.025
Latte crudo, latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte			0.050
Alimenti dietetici a fini medici speciali, destinati specificatamente ai lattanti	0.10		0.025

Test

1. Test immunoenzimatico (ELISA) su un campione rappresentativo
2. Test del peso (arachidi): densità (le arachidi infettate con *Aspergillus* sono più leggere delle arachidi sane)
3. Tecniche di campionamento

Ocratossina A *Aspergillus ochraceus*

Ocratossina A



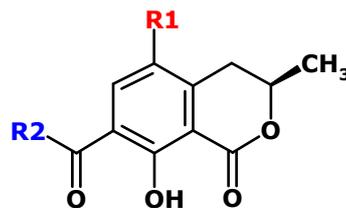
- *Aspergillus ochraceus* e altre specie comprese *Penicillium* spp. producono sette diverse tossine tra loro correlate, le ocratossine;
- Le ocratossine sono presenti in molti alimenti: cereali, soia, frutta secca, caffè, carne, pesce secco e latte;
- È una tossina epatotossica e nefrotossica ed è un potente carcinogenico;
- Il pollame può essere affetto da ocratossicosi con conseguente scarso accrescimento e scarse quantità e qualità delle uova.

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

41

Ocratossine



Ocratossina	R1	R2
A	Cl	
B	H	
C	Cl	

gs © 2001-2017 ver 0.3

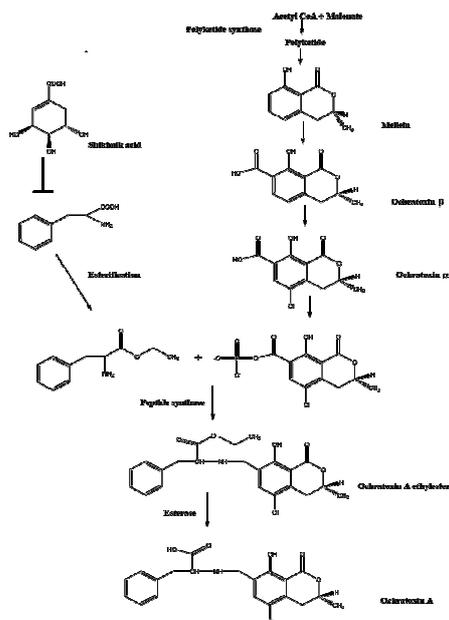
R03 - Micotossine

42

Nefropatia

- È il maggior effetto conosciuto dell'Ocratossina A in mammiferi non ruminanti;
- Studi epidemiologici nel nord Europa hanno dimostrato che riveste un ruolo importante nella eziologia della nefropatia porcina;
- È stata anche associata ad alcune nefropatie umane [*Balkan Endemic Nephropathy (BEN)* e *Tunisian Nephropathy (TCIN)*].

Figure 3. Schematic representation of the hypothetical OTA biosynthetic pathway as proposed by Eloff and Hamilton, [134].

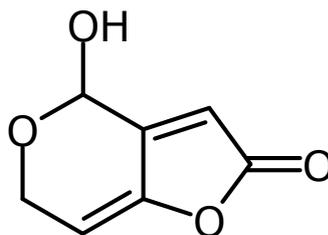


Patulina

Aspergillus clavatus, *A. giganteus*, *A. longivesica*,
Penicillium patulum, *P. clariform*, *P. carneum*, *P.*
clavigerum, *P. concentricum*, *P. coprobium*, *P.*
dipodomyicola, *P. expansum*, *P. glandicola*, *P. gladioli*, *P.*
griseofulvum, *P. marinum*, *P. paneum*, *P. sclerotigenum*,
P. vulpinum, *Byssochlamys nivea*, *Paecilomyces saturatus*

Patulina

- È presente nella frutta e derivati (succo di mela) oltre che nel pane e in insaccati;
- Per dare effetti tossici deve esser presente ad alti dosaggi
- È un carcinogenico responsabile del sarcoma sottocutaneo;
- Il limite è di 0.4 mg/kg di peso corporeo;
- Può esistere sia in fase vapore che in fase particolata quando rilasciata in aria, nella fase vapore viene degradata attraverso reazioni di fotoossidazione via radicale idrossile.



Meccanismo

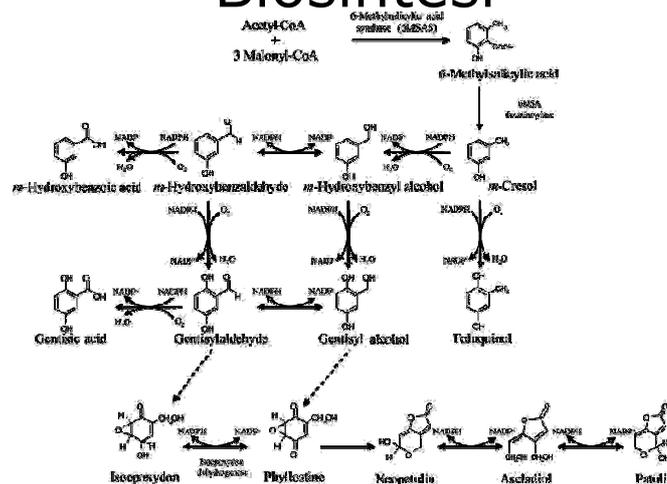
- Possiede una forte affinità per I gruppi sulfidrilici;
- Gli addotti che forma con la cisteina sono meno tossici del composto non modificato nella tossicità acuta e in quella cronica (attività teratogena e mutagenica);
- La sua alta affinità per i gruppi SH la rende un potente inibitore di molti enzimi.

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

47

Biosintesi



- Fedeshko R.W. 1992. Polyketide enzymes and genes in *Penicillium urticae*. PhD thesis, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada
- Artigot M.P., Loiseau N., Laffitte J., Mas-Reguieg L., Tadriss S., Oswald I.P., Puel O. Molecular cloning and functional characterization of two CYP619 cytochrome P450s involved in biosynthesis of patulin in *Aspergillus clavatus*. Microbiology. 2009;155:1738-1747
- Priest J.W., Light R.J. Applications of high-performance liquid chromatography to quantitation of metabolites and enzymes of the patulin pathway from *Penicillium patulum*. J. Chromatogr. 1990;513:237-246

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

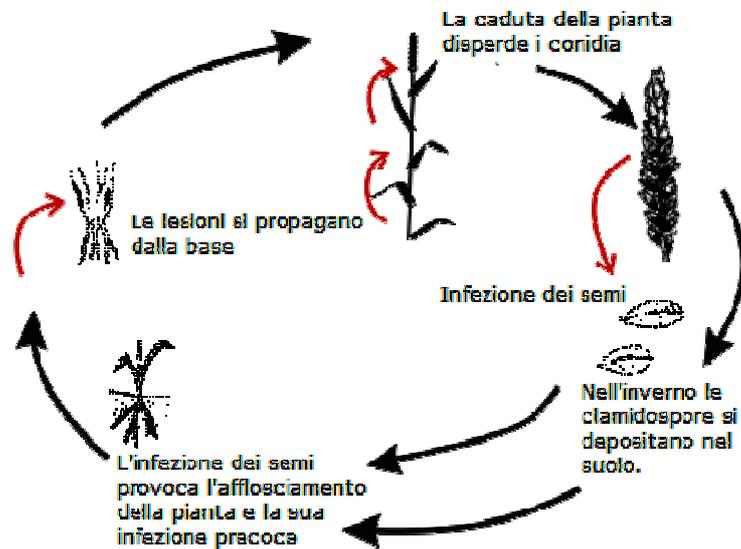
48

Fusarium spp.

Fusarium spp.

- Genere di funghi filamentosi largamente distribuito nel suolo e in associazione con i vegetali;
- Alcune specie producono micotossine in colture cerealicole (grano e mais) che possono avere effetti sulla salute umana e animale ed entrare nella catena alimentare;
- Le principali tossine prodotte sono le fumonisine e i tricoteceni.

Ciclo vitale di *Fusarium*



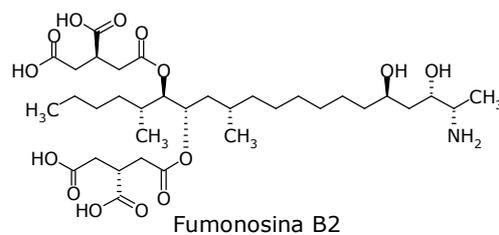
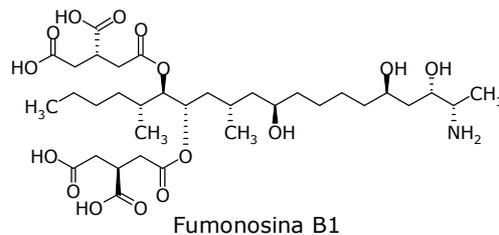
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

51

Fumonossine

- Sono prodotte da *Fusarium* che infetta il mais, i pomodori, gli asparagi e l'aglio;
- Sono molto idrosolubili non avendo nessun aromatico nella struttura;
- Sono molto stabili al calore a a molti processi chimici;
- È riportato che possono causare tumori all'esofago.



gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

52

Fumonosine

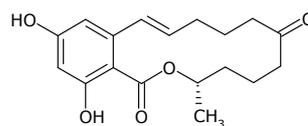
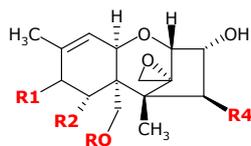
- I cavalli sono estremamente sensibili alle Fumonosine.
- Concentrazioni molto basse delle tossine possono causare leucoencefalomalacia (ELEM) o liquefazione del cervello, conosciuta come "malattia del cavallo pazzo"
 - I sintomi sono: cecità, atassia, disordini motori seguiti dalla morte.
- Nei suini attaccano il sistema cardiocircolatorio e respiratorio (polmoni) causando edema polmonare e lesioni epatiche e pancreatiche
- Negli umani le Fumonosine sono state correlate al cancro.

gs © 2001-2017 ver 0.3

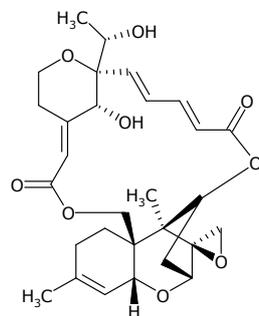
R03 - Micotossine

53

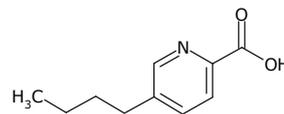
Tricoteceni e altre tossine



Zearalenone



Satratossina H



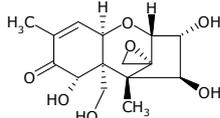
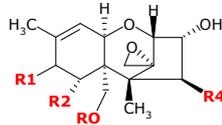
Acido Fusarico

gs © 2001-2017 ver 0.3

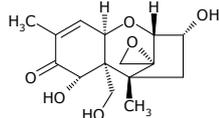
R03 - Micotossine

54

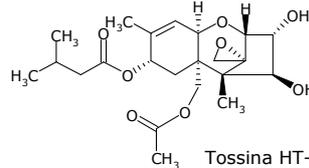
Tricoteceni



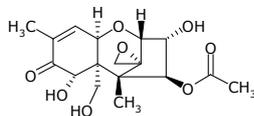
Nivalenolo



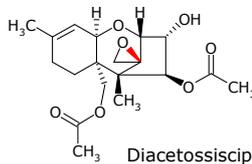
Deossivalenolo (DON)
Vomitossina



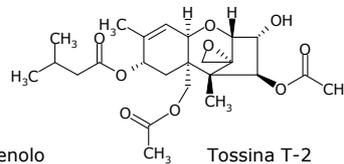
Tossina HT-2



Fusarenone X



Diacetossisciprenolo



Tossina T-2

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

55

Fusarium

- *F. graminearum*
 - Nel grano: danni all'involucro del chicco e ruggine della spiga;
 - Tossina: Deossivalenolo (DON)
 - Nel mais: marcescenza della pannocchia
 - Tossine: DON, Zearalenone e Tossina T-2
- *F. moniliforme*
 - *Patogeno del mais, si trova anche nel riso, sorgo noci e nel formaggio.*
 - Livello massimo 5 ppm mangimi

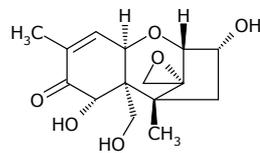
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

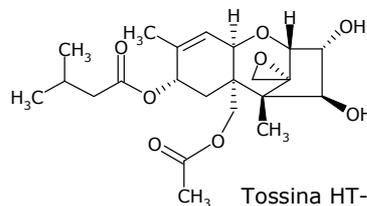
56

DON e Tossina T-2

- Causano necrosi ed emorragia del tratto digestivo, danni al midollo osseo con diminuita produzione di cellule del sangue e cambi al sistema riproduttivo
- Nel pollame causano ridotta produzione di uova, lesioni cornee (becco e piumaggio anormale).
- Il livello consentito di DON è 1 ppm.



Deossivalenolo
Vomitotossina



Tossina HT-2

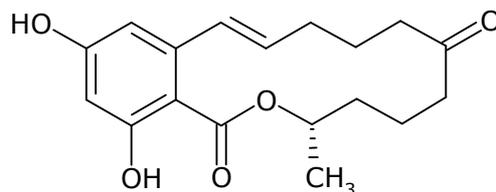
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

57

Zearalenone

- È un micoestrogeno che causa femminilizzazione negli animali maschi;
- Nelle femmine produce aborti, danneggia l'ovulazione e lo sviluppo fetale.
- Particolarmente sensibili sono i suini, meno sensibili il pollame e i bovini.



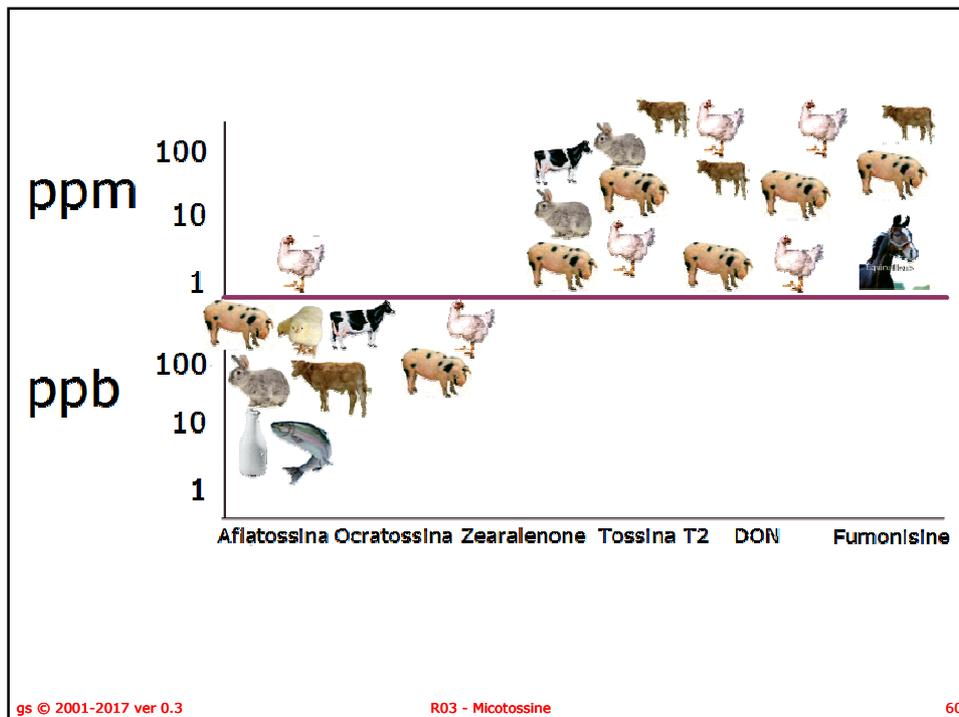
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

58

Aleuchia tossica alimentare (ATA)

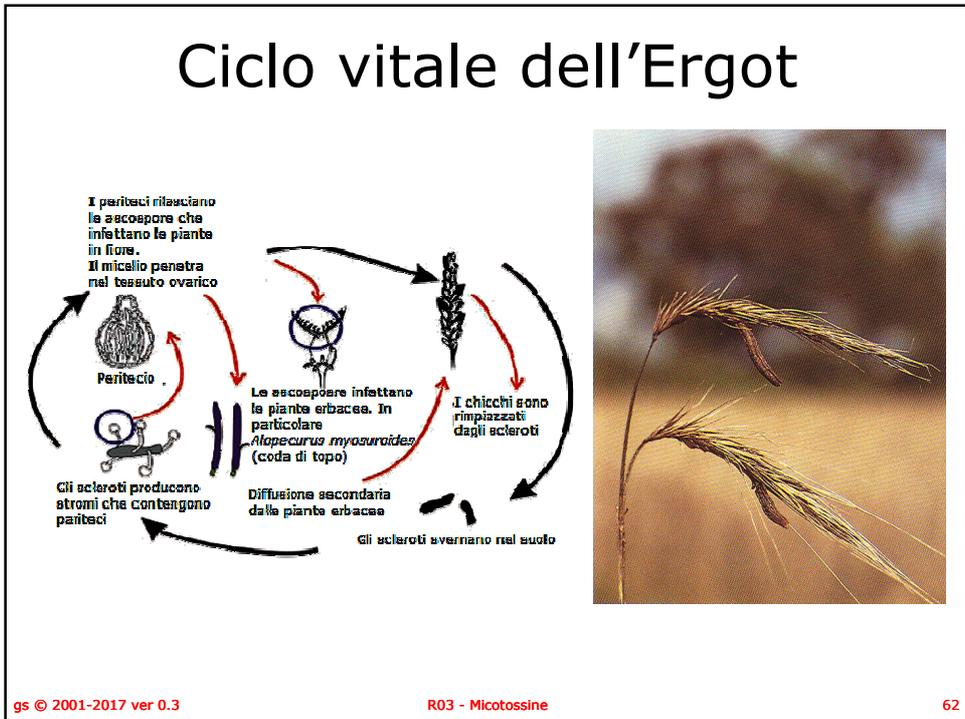
- Durante la II guerra mondiale nell'Unione Sovietica il mais lasciato in deposito durante l'inverno venne contaminato da *Fusarium* con produzione di tossina T-2 che produsse una severa micotossicosi;
- I sintomi erano bruciore all'apparato digerente (bocca, lingua, esofago e stomaco);
- Cessazione del funzionamento del midollo osseo con sviluppo di severa anemia;
- Emorragia al naso e allo stomaco.





Alcaloidi dell'Ergot

Claviceps purpurea



Tossine da *Claviceps*

- Sono alcaloidi molto stabili, resistono al calore, ai processi fermentativi e a lunghi periodi di quiescenza;
- Gli organi bersaglio sono il sistema circolatorio, il sistema nervoso e muscolare;
- Sintomi di intossicazione da alcaloidi dell'ergot:
 - Nell'uomo: sintomi parainfluenzali, convulsioni, confusione mentale e allucinazioni (LSD), paralisi degli arti, aborto, gangrena gassosa dovuta alla vasocostrizione, attacchi epilettici;
 - Nell'animale: gangrena secca, emorragie interne, vomito diarrea e aborto (nel maiale).

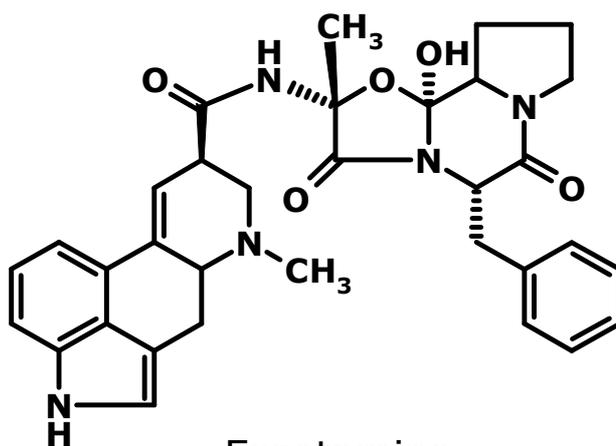
Tossine da *Claviceps*

- L'ergotismo è una tossicosi che ha provocato vittime fino dal 857 D.C. con proporzioni epidemiche;
- Derivato dal consumo di pane di segale contenente spore di *Claviceps* che attraverso le tossine provocavano, tra l'altro, il "Fuoco di Sant'Antonio", allucinazioni e altre patologie;
 - Il "Fuoco di Sant'Antonio" è stato chiamato in questo modo perché, scendendo a sud per il pellegrinaggio, le popolazioni nordiche cambiavano dieta passando dal pane di segale a quello di grano, graminacea meno sensibile alla contaminazione da *Claviceps*, e i sintomi si alleviavano.
- Altre tossicosi da Ergot sono avvenute in Russia (1926), Irlanda (1929), Francia (1953), India (1958) e Etiopia (1973).
- È una contaminazione che colpisce la segale, l'avena e il grano.
- La tossina principale è l'ergotamina.

Ergotismo

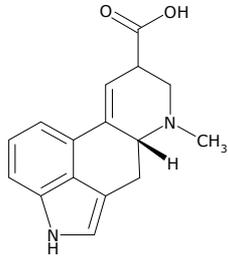
- Si manifesta con disturbi circolatori agli arti (vasocostrizione), fino alla cancrena delle estremità, nausea e vomito, convulsioni, allucinazioni, mutismo, confusione, attacchi di panico e angina pectoris;
- Il meccanismo patogenetico degli effetti sull'SNC, da parte degli alcaloidi della segale cornuta, passa attraverso un agonismo parziale e un antagonismo nei confronti dei recettori della dopamina;
- Albert Hofmann nel 1944 sfruttò la struttura centrale di tali alcaloidi (acido lisergico) con diverse sostanze e ne sintetizzò la dietilammide (LSD), come stimolante cardiorespiratorio: il 16 aprile 1943, dopo una autosomministrazione, Hofmann descrisse il "viaggio" da LSD;
- L'ergotamina è stata usata come farmaco per l'emicrania.

Alcaloidi dell'Ergot

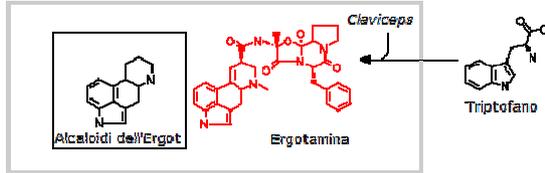


Ergotamina

Biosintesi



Acido Lisergico



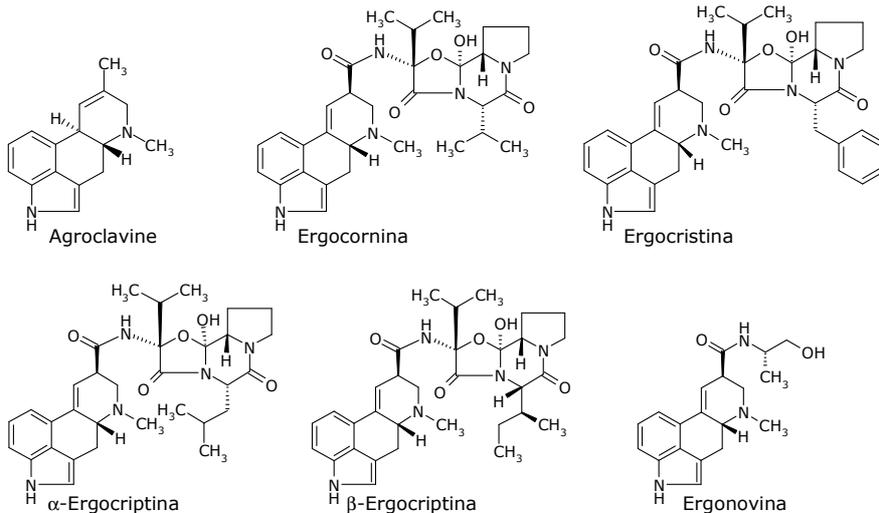
- La biosintesi dell'ergotamina richiede il triptofano e dimetiallilfosfato che sono substrati dell'enzima dimetilallil-triptofano sintasi (DMAT sintasi) che catalizza la prenilazione del triptofano
- Successive reazioni, che coinvolgono metiltransferasi e ossigenasi, portano alla sintesi di ergolina e acido lisergico acid (LA)
- LA è il substrato della lisergil-peptide sintetasi, una peptide sintetasi non ribosomiale che lega LA a Ala, Pro, Phe.
- Si ha poi la ciclizzazione (spontanea o catalizzata) che porta alla formazione di ergotamina.

gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

67

Altri alcaloidi dell'Ergot



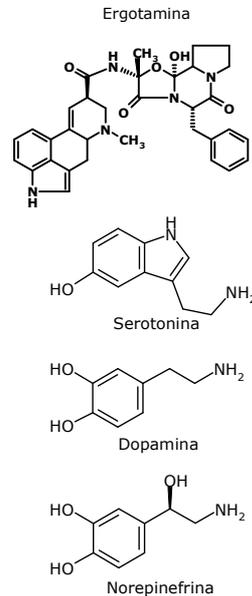
gs © 2001-2017 ver 0.3

R03 - Micotossine

68

Meccanismo d'azione

- L'ergotamina condivide similarità strutturali con diversi neurotrasmettitori: serotonina, dopamina, e epinefrina e si lega con diversi recettori come agonista;
- L'effetto anti-emicrania deriva dalla vasocostrizione dei vasi intracranici extracerebrali attraverso i recettori 5-HT1B e l'inibizione della neurotrasmissione trigemina attraverso l'interazione con i recettori 5-HT1D;
- L'ergotamina ha anche effetti sui recettori della dopamina e della norepinefrina che provocano gli effetti collaterali per azione sui recettori dopaminergici D2 e 5-HT1A.



Controllo di *Claviceps purpurea*

- Piante geneticamente modificate per resistere alla muffa
- Uso di sostanze per prevenire la crescita della muffa:
 - Ammoniaca
 - Acido propionico
 - Vapori di cloro
 - Acido sorbico

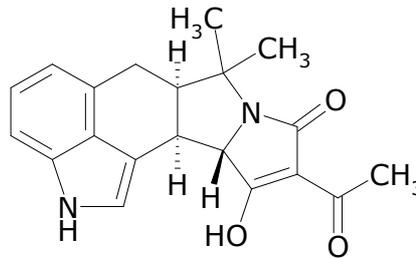
Penicillium spp.

Tossine da *Penicillium*

- Genere con più di 150specie;
- 100 specie producono micotossine di cui la più conosciuta è la penicillina con proprietà antibatteriche
- Ci sono nove specifiche tossine che hanno effetti sulla salute umana:
 - citreoviridina, citrinina, acido ciclopiazonico, ocratossina A, patulina, penitrema A, tossina PR, Roquefortina C e acido secalonico;
- Due gruppi:
 - Epatotossiche e nefrotossiche
 - Neuro tossiche: causano visibili tremori

Acido Ciclopiazonico (CPA)

- Isolato da mais e arachidi in Georgia;
- Maggior responsabile degli scarti caseari causati da *Penicillium*;
- Epatotossico e nefrotossico, causa degenerazione grassa nel fegato e nel rene
- Il pollame è particolarmente sensibile;
- Può agire sinergicamente con le aflatossine.



Appendice

Azioni contro le micotossine

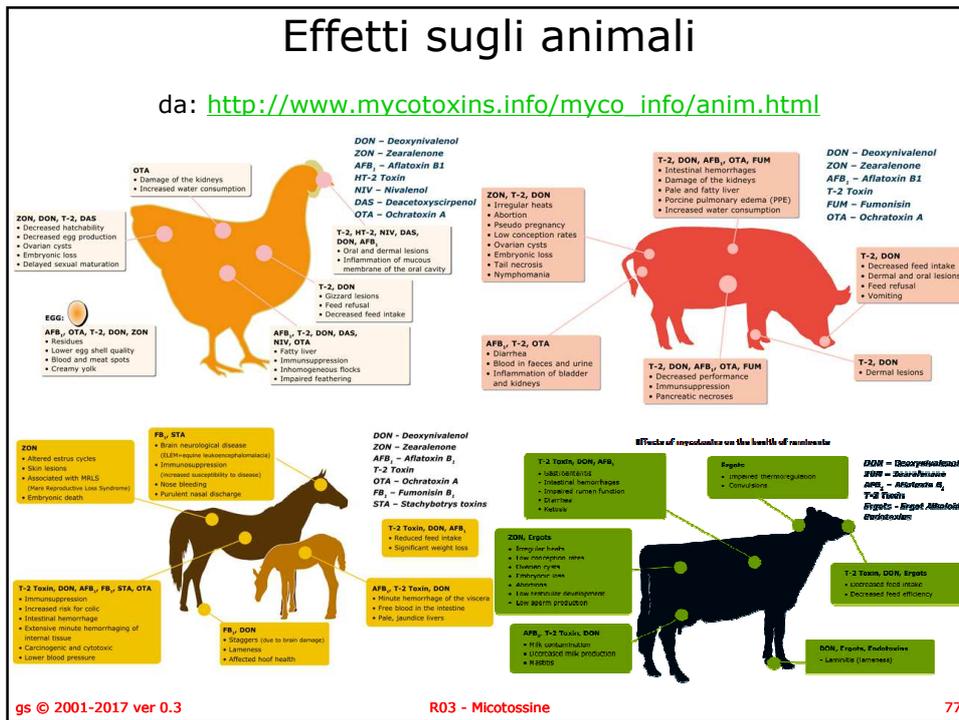
- Selezionare specie resistenti alla contaminazione da parte delle muffe;
- Piante geneticamente modificate;
- Uso di additivi in grado di sequestrare le tossine per prevenirne l'assorbimento gastrointestinale

Review degli effetti

Organo o Sistema coinvolto	Tossina
Vascolare	Aflatossina
Digestivo	Aflatossina, Tossina T-2, Vomitotossina (DON)
Respiratorio	Tricoteceni
Nervoso	
Cutaneo	
Urinario	Ocratossina A, Citrinina
Riproduttivo	Zearalenone, Tossina T-2
Immune	Tante

Effetti sugli animali

da: http://www.mycotoxins.info/myco_info/anim.html



Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

Riferimenti

- Handbook of Ecotoxicology - David J. Hoffman, Barnett A., Rattner G., Allen Burton, Jr., John Cairns, Jr. Eds. - LEWIS PUBLISHERS - 2003
- Environmental Toxicology - Biological and health effect of pollutants - II Edition - Ming-Ho Yu - CRC Press - 2005
- Environmental Stressors in Health and Disease - Jürgen Fuchs and Lester Packer Eds. - Marcel Dekker, Inc. - 2001

WEB

Vie metaboliche:
KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
Degradazione degli xenobiotici: <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>

Struttura delle proteine:
Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
Hexpasy <http://us.expasy.org>
Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/spot/>
Prosites (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosites/>
Enzyme (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>

Enzimi:
Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.gmw.ac.uk/iubmb/>
Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbdb.ahc.umn.edu/>
Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry <http://www.atsdr.cdc.gov>

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da: <http://www.qsartor.org/pro>

- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna

Giorgio Sartor

Ufficiale: giorgio.sartor@unibo.it
Personale: giorgio.sartor@gmail.com

Aggiornato il 20/03/2017 10:43:00