

Mikotoksini – treća generacija bojnih otrova

DANICA V. ĐARMATI, doc. dr ŠIMON A. ĐARMATI

Mikotoksini su veoma složena organska jedinjenja koja nastaju kao produkt biohemijskih aktivnosti kod svih vrsta gljiva u toku vegetativnog perioda. Imaju visoku akutnu toksičnost i svojim delovanjem oštećuju vitalne funkcije organizma. Stoga se mikotoksini sve više koriste u ratne svrhe. Interesovanja stručnjaka prvenstveno je usmereno na visokotoksične mikotoksine od kojih su trihoteceni zbog svojih hemijskih svojstava, po svemu sudeći, uvršćeni u treću generaciju bojnih otrova namenjenih za masovnu upotrebu.

Na osnovu podataka iz strane literature, sa sigurnošću se može tvrditi da su toksini gljiva – mikotoksini primenjivani u brojnim lokalnim ratovima vođenim posle drugog svetskog rata. S ozbirom na ispoljene izuzetne taktičko-tehničke i toksikološke osobine, uloga mikotoksina će i dalje biti vodeća u okviru toksina biološkog porekla, a možda i šire.

Gljive su velika i osobena grupa jednoćelijskih ili višećelijskih mikroorganizama kojih ima u izobilju na različitim biljnim supstratima, a ređe na supstratima životinjskog porekla. One se javljaju i kao aktivni učesnici razlaganja organskih ostataka. Takođe se nalaze u vazduhu, vodi i kod čoveka.

Sve vrste gljiva u toku vegetativnog perioda, kao rezultat biohemijskih aktivnosti, produkuju veoma složena organska jedinjenja koja uglavnom pripadaju grupi sekundarnih metabolita, što znači da nisu neophodna za održavanje života samih organizama. Prema načinu delovanja za održavanje života, ljude i životinje, ta jedinjenja se mogu podeliti na korisna, kao što su na primer antibiotici (penicilin) i ona koja svojim štetnim delovanjem na vitalne funkcije organizma mogu dovesti do smrti, a koja su poznata kao mikotoksini (grčki, mykes – gljiva i toxikon – otrov).

Visoku akutnu toksičnost mikotoksina uočili su stručnjaci koji se bave usavršavanjem i proširivanjem arsenala oružja za masovno uništavanje. Njihovo interesovanje bilo je prvenstveno usmereno na visokotoksične mikotoksine

od kojih trihoteceni imaju sve osobine bojnih otrova, pa su, po svemu sudeći, promovisani u novu grupu bojnih otrova za masovno uništavanje.

TRIHOTECENI

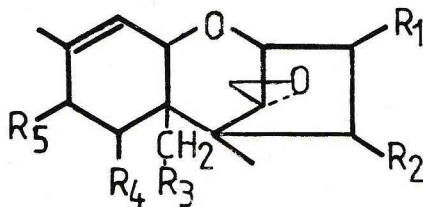
Trihoteceni čine grupu hemijski bliskih sekundarnih metabolita gljiva, izolovanih uglavnom iz kultura različitih vrsta Fungi imperfecti i to iz roda *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Verticimo*, *Nosporium* i *Stachybotrys* ili iz nekih viših biljaka. Prve supstance tipa trihotecena, verukarini, izolovane su za vreme potrage za antibioticima 1946. godine a diacetoksiskirpenol predstavlja prvi fitotoksični trihotecen.

Gljive koje produkuju trihotecene napadaju različite poljoprivredne proizvode kao patogeni ili biljni paraziti, a zbog svojih osobina, široke rasprostranjenosti i velike količine u namirnicima mogu dovesti do ozbiljnih intoksikacija kod ljudi i životinja.

Trihoteceni su seskviterpenoidi, prvobitno poznati kao skirpeni koji poseduju tetraciklični 12, 13-epoksitrihotec-9-enski skelet. Klasifikacija trihotecena na osnovu strukturnih karakteristika, kao i neki važniji predstavnici pojedinih struktura dati su u tabeli 1.

Tabela 1: KLASIFIKACIJA TRIHOTECENA

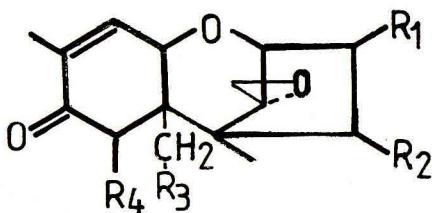
Opšta formula



Predstavnici	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
T-2 toksin	OH	OAc	OAc	H	OOCCH ₂ CH Me ₂
HT-2 toksin	OH	OH	OAc	H	OOCCH ₂ CH Me ₂
Neosolaniol	OH	OAc	OAc	H	OH

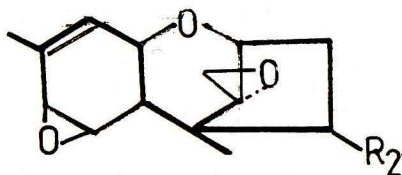
Nastavak tabele 1

Opšta formula



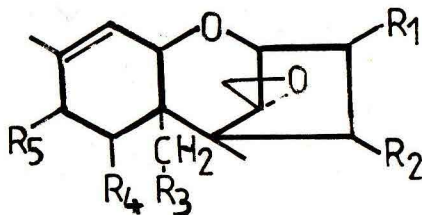
Predstavnici	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Nivalenol	OH	OH	OH	OH
Trihotecin	OH	OOCCHC-HMe	H	H
Diacetilnivalenol	OH	OAc	OAc	OH
Fusarenon X	OH	OAc	OH	OH

Opšta formula



Predstavnici	R ₂
Krotokol	OH
Krotocin	OOCCHCHMe

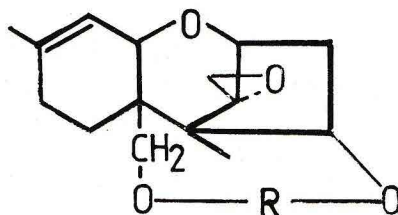
Opšta formula



Predstavnici	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Trihodermol	H	H	OH	H	H
Trihodermin	H	H	OAc	H	H
Skirpentriol	H	OH	OH	OH	H
Monoacetoksiskirpenol	H	OAc	OH	OH	H

Nastavak tabele 1

Opšta formula



Predstavnici	R
Verukarin A	$\begin{array}{c} \text{O} & & \text{O} & & \text{O} \\ \parallel & & \parallel & & \parallel \\ -\text{CCH}/\text{OH}/\text{CH}/\text{CH}_3/\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCCH}=\text{CHCH}=\text{CHC}- \end{array}$
Roridin A	$\begin{array}{c} \text{O} & & \text{CH}_3\text{CHOH} & & \text{O} \\ \parallel & & & & \parallel \\ -\text{CCH}/\text{OH}/\text{CH}/\text{CH}_3/\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCHCH}=\text{CHCH}=\text{CHC}- \end{array}$

Na osnovu dosadašnjih istraživanja smatra se da grupi trihotecena pripada oko 60 mikotoksina. Zahvaljujući stabilnosti njihovih supstanci, godinama se mogu čuvati na sobnoj temperaturi a da pri tome ne gube toksična svojstva, kao što ih zadržavaju i posle zagrevanja na 100°C u toku jednog sata. Trihoteceni se kao i drugi mikotoksini dobro rastvaraju u organskim rastvaračima a oni sa većim brojem hidroksilnih (OH) supstituenata rastvaraju se i u vodi.¹

Na osnovu ispitivanja toksičnosti celog niza trihotecena podvrgnutih različitim hemijskim reakcijama, došlo se do sledećih zaključaka: (1) derivati koji se nalaze u prirodi su uglavnom i najtoksičniji a deacilovanje ili acilovanje bilo koje alkoholne funkcije uglavnom smanjuje toksičnost; (2) svi derivati kod kojih je epoksidni prsten otvoren ili oni kod kojih je usled hemijske reakcije epoksidni prsten izloženiji nukleofilnom napadu nisu toksični; (3) zasićenje C-9 C-10 dvogube veze dovodi do smanjenja toksičnosti ali je ona i dalje evidentna, (4) rastvorljivost u vodi i mas-tima važan je preduslov toksičnosti, kao i stabilnost epoksidnog prstena.

Dobro proučene strukturne i hemijske karakteristike trihotecena bile su polazna osnova za nekoliko pokušaja njihove sinteze. Od nekoliko evidentiranih samo su neki bili uspešni, uz napomenu da su se odvijali u više faza koje su obuhvatale nekoliko složenih mehanizama a da je sve

¹ I.F.H. Purchase, *Mycotoxins in Human Health*, Mc Millow Press, Ltd., London and Basingstoke, 1971.

rezultiralo dobivanjem racemskih smeša nedefinisanih toksičnosti. Upravo stoga se dobivanje trihotecena za destruktivne svrhe i danas zasniva na biosintezi. Opsežna istraživanja upućuju na mevalonatni način sinteze, to jest sintezu koja teče preko tri molekula acetil-CoA uz nastajanje mevalonske kiseline.²

Toksikologija trihotecena

Trihoteceni pripadaju grupi visokotoksičnih mikotoksina a njihove akutne toksičnosti date su u tabeli 2.

Makrociklični trihoteceni, kao što su verukarin A i roridin A, jesu ujedno i najtoksičniji, dok su trihotecin, trihodermin i krotocin u poređenju sa drugim trihotecenima niske toksičnosti. S obzirom na to da nije zapažena značajnija razlika u letalnim dozama pri različitim načinima unošenja, moguć je zaključak da se oralno i intraperitonealno uneti toksini lako resorbuju kod navedenih eksperimentalnih životinja.

Rani simptom intoksikacije mačaka, pasa i svinja je povraćanje, dok pri intoksikaciji pačića već 0,1 mg/kg T-2

Tabela 2: AKUTNA TOKSIČNOST TRIHOTECENA

Trihoteceni	LD ₅₀ /mg/kg miša/			
	intraven. /iv/	subkutano /sc/	intraper. /ip/	peroralno /po/
T-2			5,2	7,0
HT-2 toksin			9,0	
Diacetoksiskirpenol	10,1		23,0	7,3
Neosolaniol			14,5	
Nivalenol			4,1	
Fusarenon X	3,4	4,2	3,4	4,5
Diacetilnivalenol			9,6	
Roridin A	1,0		0,5-0,7	
Verukarin A	1,5			

LD ₅₀ /mg/kg pacova/			
T-2 toksin			3,8
Diacetoksiskirpenol		0,75	
Trihodermin	500		
Fusarenon X			4,4
Trihotecin	250		
Krotocin	100		

² Betina, V., *Mycotoxins, Production, Isolation, Separation and Purification*, Elsevier Science Publishers B.A., Amsterdam, 1984.

toksina ili 1,0 mg/kg fusarenona X može izazvati povraćanje posle 5–10 minuta od subkutanog ili peroralnog unošenja. Taj karakterističan simptom kod pačica koristi se ujedno i kao biološki test pri ispitivanju kontaminiranog kukuruza. Pri intoksikaciji mačaka subkutanom dozom od 0,1 mg/kg T-2 toksina povraćanje se javlja 30 minuta posle unošenja otrova u organizam i ponavlja se u intervalu od 30 do 60 minuta u toku nekoliko sati.

Svi trihoteceni imaju kožno-nadražajno ili kožno-nekrotično delovanje. Prema istraživanjima australijskih autora, T-2 toksin je diacetoksiskirpenol uzrokuje duboke nekrotične rane na koži pacova u dozama od 2/ug, odnosno 6/ug po mrlji.³

Takođe, akutne ili hronične intoksikacije trihoteceni- ma izaziva i značajne hematološke promene. Subkutane doze od 0,1 mg/kg T-2 toksina, posle 30 do 60 minuta u organizmu mačaka izaziva leukocitozu. Produžena ekpozicija od 0,05, do 0,1 mg/kg T-2 toksina u toku nekoliko dana značajno smanjuje broj leukocita u njihovom organizmu što usled leukopenije na kraju dovodi do uginuća mačaka. Tokom ove subhronične intoksikacije javlja se i mehoragija pluća, intestinuma, kao i značajno oštećenje koštane srži. Kao značajan simptom javlja se i krvarenje meninge u mozgu a isti simptom zabeležen je i prilikom zimskih intoksikacija ljudi u Rusiji. S obzirom na to da su isti simptomi zabeleženi i pri trovanju verukarinom i nekim drugim trihoteceni- ma ovi se simptomima mogu smatrati karakteristikom trovanja trihoteceni- ma.⁴

Simptomi trihotecenskih mikotoksikoza jesu: (1) povraćanje, mučnina, tahikardija, dijareja; (2) hemoragija mukoznog epitela želudca i intestinuma; (3) hemoragija, edem i nekroza kože; (4) oštećenja hematopoetskih organa; (5) smanjenje leukocita u cirkulaciji; (6) krvarenje meninge u mozgu; (7) nervni poremećaji.

Toksikokinetika trihotecena

I pored značajne citotoksičnosti trihotecena detalji o njihovom delovanju u organizmu, kao i metabolizmu nisu još u potpunosti rasvetljeni. Eksperimenti sa C-13 fusare-

³ Crone, H.D., *The Response of Rats to Contaneous Dosing With Trichotecenes Mycotoxins*, Rep. Mater. Res. Lab. MRL-R-902, 19, 1983. (prema CA-100 133942p)

⁴ Ueno, Y, *Mode of Action of Trichotercenes*, Pure Appl. Chem., 49 (11) 1977, str. 1737.

nonom X na mišu pokazuju da 30 minuta posle unošenja otrova u organizam, najveća radioaktivnost je u jetri, zatim bubrežima, malom i velikom intestinumu. Nakon sledeća tri sata radioaktivnost je otkrivena samo u bubrežima a njena maksimalna jačina u tom organu registrovana je 12 sati posle unošenja otrova u organizam. Na osnovu istraživanja može se zaključiti da se fusarenon X brzo eliminiše preko bubrega.⁵ Kao što je već rečeno, pojedini trihoteceni imaju poseban vojni značaj. Zato je potrebno istaći njihove osnovne karakteristike.

T-2 toksin je toksični metabolit gljiva: *Fusarium tricinatum*, *Fusarium nivale*, *Fusarium poae*, *Fusarium solani* i *Trichoderma lignorum*. Svim navedenim gljivama iz roda *Fusarium* pogoduju niske temperature a najoptimalnije su one od 8 do 32°C. Zavisno od vrste snižavanja temperature ispod nule i povećana vlažnost mogu pospešiti produkciju ovog toksina. T-2 toksin se kristališe u obliku belih iglica na tački topljenja 151–152°C.

Srednja smrtna doza ovog toksina za miša je 5,2 mg/kg pri intraperitonealnom unošenju. Gljive producenti najbolje rastu na Georgyjevoj podlozi i na temperaturi od 8°C. Posle 30 dana rasta kultura se homogenizuje i liofilizuje a zatim ekstrahuje etilacetatom. Dobiveni ekstrakt ispira se 0,5 odsto rastvorom sumporne kiseline, koncentruje i tretira smešom metanol-voda. Ekstrakcija toksina iz vodenog rastvora vrši se smešom hlороform-etilacetat. Posle uparavanja rastvarača zaostalo mrko ulje prečišćava se hromatografijom na koloni silikagela. Čist T-2 toksin dobiva se prekriztalizacijom iz benzena.

HT-2 toksin je žuta uljasta supstanca koju produkuje gljiva *Fusarium tricinatum*. Srednja smrtna doza ovog toksina za miša je 9,0 mg/kg pri intraperitonealnom unošenju. Gljiva producent raste na Georgyjevoj podlozi na temperaturi od 27°C. Posle 2–3 nedelje rasta, kultura se homogenizuje i liofilizuje a zatim ekstrahuje etilacetatom. Posle uparavanja rastvarača, sirovo se ulje prečišćava na koloni silikagela i aluminijum oksida.

Nivalenol je bela, kristalna supstanca tačke topljenja 222°C koju produkuje gljiva *Fusarium nivale*.

Srednja smrtna doza ovog toksina za miša je 4,1 mg/kg pri intraperitonealnom unošenju. Gljiva producent

⁵ Matsumoto, H., Ito, T., Ueno, Y., *Toxicological Approaches to the Metabolites of Fusaria; Fate and Distribution of T-2 Toxin in Mice*, Japan J. Exp. Med., 48, 1978, str. 393.

raste na pirinču na temperaturi od 27°C. Posle tri nedelje, pigmenti se iz kulture odvajaju pomoću acetona a toksična frakcija ekstrahuje se 50 odstotnim vodenim rastvorom etanola. Dalje prečišćavanje vrši se na koloni karkoala, prečišćeni ekstrakt se rastvara u vreloom metanolu iz čega posle hlađenja dolazi do kristalizacije.

Diacetoksiskirpenol (DAS) je bela kristalna supstanca tačke topljenja 161°C, koju produkuju gljive *Fusarium equiseti*, *Fusarium scripi*, *Fusarium divesisporum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium tricinctum*, *Fusarium solani*, *Fusarium anguioides* i *Gibberella intricans*. Srednja smrtna doza ovog toksina za miša je 23 mg/kg pri intraperitonealnom unošenju. Gljive producenti najbolje rastu na podlozi Czapek-dox na temperaturi od 25°C. Posle 12 dana rasta, filtrat kulture se ekstrahuje hloroformom a rastvor uljastog ekstrakta crvene boje, kristališe posle izvesnog vremena iz dietiletra.

4-Dioksinivalenol, koji se kristališe u obliku finih iglica tačke topljenja 151–153°C produkuje gljiva *Fusarium roseum*. Srednja smrtna doza ovog toksina za miša je 70 mg/kg pri intraperiotonealnom unošenju. Toksin se izoluje iz buljona ekstrakcijom metanolom.

DOSADAŠNJA ISKUSTVA RATNE PRIMENE MIKOTOKSINA

Sa sigurnošću se može tvrditi da su toksini gljiva – mikotoksini do sada primenjivani u Laosu i Kampučiji, kao i u ratu Irana i Iraka, a sudeći prema simptomima trovanja i drugih pokazatelja i u drugim ratovima i sukobima počevši od već pomalo zaboravljenog jemenskog građanskog rata.

Tragajući za podacima o primeni mikotoksina u ratnim operacijama analizirali smo sadržaje većeg broja članaka čiji su autori poznati sovjetski i američki stručnjaci i komentatori.⁶

Prema sovjetskim izvorima, bojne otrove pa i one biološkog porekla koristili su Amerikanci u Laosu, Kampučiji i Vijetnamu a prema američkim izvorima, slično oružje, pored pomenutog područja, korišćeno je u Jemenu i Avga-

⁶ Ember, L., *New Data Weaken U.S. Yellow Rain Case*, Che. Eng. News, 64/23, 1986, str. 23, 99.

nistanu. Pošto je u takvim i sličnim međusobnim optuživanjima teško znati gde je istina, zadovoljili smo se konstatacijom da su bojni otrovi treće generacije⁷ upotrebljavani.

Za ilustraciju onoga što se događalo u Laosu i Kambudžiji navodimo najznačajnije podatke iz članka Watsona i saradnika.⁸ Prema tim autorima sporadični izveštaji o hemijskim napadima u Laosu koji su počeli pristizati 1974. godine, dve godine kasnije postali su redovni ukazujući na porast broja upotrebe bojnih otrova. Posebno se na udaru našlo seoce H'Mong poznato po razvijenim aktivnostima pripadnika pokreta otpora. Napadi u Laosu su skoro isključivo bili vazdušni i ostvarivani su raspršivanjem otrova iz aviona i helikoptera, pomoću bombi, odnosno raketa vazduh-zemlja. Između 1975. godine i decembra 1981. godine registrovana su 260 pojedinačna napada koja su odnela najmanje 6.500 ljudskih života.

Izveštaji o hemijskom ratovanju u Kambudžiji datiraju još iz 1978. godine učestaliji su posle invazije vijetnamskih trupa na tu zemlju. U periodu od 1978. do decembra 1981. godine zabeležena su 124 napada, pri čemu su primenjeni bojni otrovi uzrokovali smrt oko 1.000 ljudi.

Za razliku od Laosa, u Kambudžiji je arsenal sredstava za primenu bojnih otrova znatno proširen, pa su oni pored primene iz vazdušnog prostora primenjivani artiljerijskim udarima i hemijskim minama. Isto tako, bile su česte i namerne kontaminacije voda i životnih namirnica.

U oko 70 odsto izveštaja o hemijskim napadima u jugoistočnoj Aziji, toksični agens se opisuje kao žućkasta vlažna ili lepljiva, polučvrsta materija. Agens je obično primenjivan iz vazdušnog prostora a njegovo padanje na krovove podsećalo je na zvuk kiše, po čemu je i nastalo ime – žuta kiša. Većina izveštaja govori o 10 do 20 odsto smrtnosti populacije direktno izložene dejstvu žute kiše. Vreme umiranja kretalo se od nekoliko sati do nekoliko nedelja posle napada. Agens je u povoljnim meteorološkim uslovima (kada nije padala jaka kiša) pokazivao relativno dobru postojanost, registrovane su i sekundarne kontaminacije putem vode i životnih namirnica. Simptomi trovanja kod žrtava manifestovali su se u vidu povraćanja koje je

⁷ Prvu generaciju bojnih otrova čine gasovi (zagušljivci, krvni otrovi) primenjivani u prvom svetskom ratu a drugu nervoparalitički bojni otrovi.

⁸ Watson, S.A., Mirocha, C.J., Hayes, A.W., *Analysis for Trichothecenes in Samples from Southeast Asia Associated with »Yellow Rain«*, Fundam. Appl. Toxicol., 4, 1984, str. 700.

trajalo satima i danima. Povraćanje i gađenje često su praćeni osećajem intenzivne toplote, svrabom i pečenjem kože, vrtoglavicom, ubrzanim pulsom, boli u grudima. Posle nekoliko sati od napada, kod mnogih kontaminiranih javljali su se bol i crvenilo u očima, krvarenje iz desni i u većini slučajeva žrtve su povraćale krv. Takođe, često su se zapažale jake konvulzije i drhtanje. Činjenica da nije dolazilo do lučenja sluzi, suženja zenica i nevoljnog uriniranja ukazivala je da se ne radi o organofosfornim bojnim otrovima. Na koži mnogih žrtava stvarali su se mali plikovi ispunjeni teškom tečnošću ali samo na otkrivenim delovima tela, uglavnom po rukama, licu i vratu.

U većini slučajeva u povraćenoj masi je bilo krvi, često u visokim koncentracijama. Kod onih koji su direktno kontaminirani »žutom kišom« u toku nekoliko narednih sati dolazilo je do povremenih povraćanja posle čega u roku od pet do 15 minuta i do oštih bolova u želudcu (zbog čega su se mnogi grčili i držali za stomak) a zatim do lip-tanja krvi iz nosa i usta. Oni su obično umirali zbog »dav-ljenja u sopstvenoj krvi«.

Svi ovi simptomi, kao i rezultati autopsije ređe leševa ljudi a češće ostataka uginulih životinja, jasno su ukazivali na mikotoksine kao konstituente »žute kiše«. Rezultati hemijskih analiza prikupljenih uzoraka bili su završna karika u dešifrovanju »žute kiše«. Prvi uzorci koji su podvrgnuti analizi na postojanje trihotecena bili su biljnog porekla (lišće i stabljika) a prikupljeni su u vremenu kraćem od 24 sata posle napada u Kampučiji (južno od Phnom Mak Hoeuna) marta meseca 1978. godine. Deo uzorka analiziran je na postojanje nervnoparalitičkih bojnih otrova i plikava-ca ali isti nisu nađeni. Drugi deo uzorka iskorišćen je za određivanje postojanja trihotecena. Završne identifikacije sprovedene su kombinacijom gasnohromatografske-mase-no-spektrometrijske (GC-MS) tehnike. Pri tome je utvrđe-no da se u uzorku nalaze T-2 toksin (3,17 ppm), deoksini-valenol (59 ppm) i nivalenol (109 ppm). Pored ovog uzorka analizirani su i kontrolni uzorci prikupljeni u rejonima udaljenim nekoliko kilometara od rejonu upotrebe »žute kiše«, ali takvoj koja je po ekološkim i klimatskim uslovi-ma bila podudarna sa njim. Ni u jednom od prikupljenih kontrolnih uzoraka (4 uzorka lišća, 2 uzorka zemljišta i po jedan uzorak vode, pirinča i kukuruza) nisu nađeni triho-teceni.

Pored ovih uzoraka, analizirani su i oni prikupljeni sa površina stena u Laosu posle napada na selo Muong Cha 13. marta 1981. godine. Rezultati GC-MS analize ukazali su da se uzorak sastoji od T-2 toksina (143 ppm) i diacetoksiskirpenola (27 ppm). Analizi postojanja trihotecena podvrgnut je i biološki materijal i to krv uzeta 24 sata posle napada »žutom kišom« 13. februara 1982. godine u Tuol Chrey-u (Kampučija) i urin uzet 72 sata po napadu. U krvi je nađeno 18 ppb T-2 toksina i 22 ppb HT-2 toksina a u urinu 18 ppb HT-2 toksina dok je T-2 toksin otkriven u tragovima.

Nađene kombinacije i koncentracije mikotoksina buđuci da nisu uobičajene u prirodi jasno ukazuju da su mikotoksini u prirodnu sredinu dospeli posredstvom čoveka. Toksin T-2 i diacetoksiskirpenol (DAS) retko se nalaze u prirodi zajedno jer *Fusarium tricinctum* koji produkuje T-2 toksin ne produkuje DAS, a dobar producent DAS-a *Fusarium roseum* ne produkuje T-2 toksin. Takođe, teško je objasniti postojanje trihotecena na površini lista s obzirom na to da *Fusarium* nije lisni patogen. Sve to, kao i činjenica da trihoteceni nisu nađeni u kontrolnim uzorcima izvan oblasti hemijskog napada, nesumnjivo ukazuje na njihovu ratnu primenu.

Pored Watsona i saradnika, utvrđivanjem komponenta »žute kiše«, bavili su se i R.T. Rosen i J.D. Rosen.⁹ Uzorak koji su oni analizirali prikupljen je sa lišća u oblasti Phou Bia (Laos) i to na nekoliko kilometara jugoistočno od sela Ban Long Tiene. Kombinovanim GC-MS analizom utvrđeno je da se u ovom uzorku nalazilo 58 ppm 4-deoksinivalenola, 43 ppm diacetoksiskirpenola, 48 ppm T-2 toksina i 265 ppm zearalenona. Pored toga dokazano je i postojanje polietilen glikola koji se verovatno dodavao smeši kao emulgator, mada postoje i mišljenja da je ova supstanca korišćena radi povećanja efikasnosti biosinteze mikotoksina. Isto tako, logična su i objašnjenja da je polietilen glikol imao ulogu povećanja brzine apsorpcije kroz kožu, kao i ulogu da spreči mogućnost uzorkovanja.

Analiza urina, fecesa i krvi iranskih vojnika zahvaćenih hemijskim udarom u iračko-iranskom ratu urađene u Belgiji, takođe su ukazale na postojanje T-2 toksina, HT-2 toksina, diacetoksiskirpenola, verukarola i nivalenola kod 30

⁹ Rosen, R.T. Rosen, J.D., *Presence of Four Fusarium Mycotoxins and Synthetic Material in »Yellow Rain«*, Biomed. Mass. Spectrom., 9(10), 1982, str. 443.

otrovanih Iranaca i to u koncentracijama od 0,07 do 0,70 ppm.¹⁰

Pored ovih, čini nam se dovoljno ubedljivih dokaza primene uglavnom trihotecenskih mikotoksina u obliku »žute kiše«, postoje opravdane sumnje, mada izvori informacija na kojima se one zasnivaju nisu najpouzdaniji, da su mikotoksini svoju ratnu premijeru imali već u jemenskom građanskom ratu, vođenom šezdesetih godina. U vremenu kada je on vođen govorilo se doduše o primeni novog bojnog otrova, ali materijalnih dokaza nije bilo. Tek kada su u Laosu, Kampučiji i na iransko-iračkom ratištu dokazane komponente »žute kiše« i jasno opisani simptomi trovanja, bilo je moguće kompletirati i sliku iz Jemena. Indikativno je iznenadno povlačenje kineskih vojnika sa vijetnamske teritorije 1979. godine jer za to nema boljeg objašnjenja osim upotrebe bojnih otrova, biološkog porekla protiv kojih Kineza nisu imali adekvatnu zaštitu. Neki izveštaji o tim događajima govore o tome da su Vijetnamci doslovno natopili kinesku izvidnicu bojnim otrovima i tako uništili najmanje jedan bataljon kineskih snaga.

O tome da je »žuta kiša« padala i u Avganistanu možda najrečitije govore opisani simptomi trovanja, a pre svih obilna krvarenja. Uz brzo prodiranje kroz kožu, to se prema dosadašnjim saznanjima može pripisati samo mikotoksinima, a pre svega onom označenom kao T-2.

Nema sumnje da će se uloga mikotoksina koji su ispoljili izuzetne taktičko-tehničke i toksikološke osobine i dalje biti vodeća u okviru toksina biološkog porekla a možda i šire.

LITERATURA:

1. Purchase, I.F.H., *Mucotoxins in Human Health*, McMillan Press, Ltd., London and Basingstoke, 1971.
2. WHO, *Mycotoxins*, Environmental Health Criteria 11, Geneva, 1979.
3. Betina, V., *Mycotoxins, Production, Isolation, Separation and Purification*, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1984.
4. Crone, H.D., *The Response of Rats to Coutaneous Dosing with Trichothecenes Mycotoxins*, Rep. Mater. Res. Lab. MRL-R-902, 19, 1983. (prema CA 100, 133942 p)
5. Ueno, Y., *Mode of Action of Trichothecenes*, Pure Appl. Chem., 49 (11) 1977, str. 1737.

¹⁰ Heyndrickx, A., Sookvanichosilp, N., Van de Heede, M., *Detection od Trichothecenes Mycotoxins, Yellow Rain in Blood, Urine and Feces of Iranian, Soldiers Treated As Victims of a Gas Atacc*, Arch. Belg. Soc. Hys. Med. Trav. Med. Leg. 143, 1984.

6. Matsumoto, H., Ito, T., Ueno, Y., *Toxicological Approaches to the Metabolites of Fusaria: Fate and Distribution of T-2 Toxin in Mice*, Jpan J. Exp. Med., 48, 1978, str. 393.
7. Ember, L., *New Data Weaken U.S. Yellow Rain Case*, Che. Eng. News, 64 (23), 1986, str. 23, 99.
8. Seagrave, S., *Yellow Rain*, M. Evans and Company, inc. New York, 1981.
9. Watson, S.A., Mirocha, C.J., Hayes, A.W., *Analysis for Trichothecenes in Samples from Southeast Asia Associated with »Yellow Rain«*, Fundam. Appl. Toxicol., 4, 1984, str. 700.
10. Rosen, R.T., Rosen, J.D., *Precense of Four Fusarium Mycotoxins and Synthetic Material in »Yellow Rain«*, Biomed. Mass. Spectrom., 9 (10), 1982, str. 443.
11. Heyndrickx, A., Sookvanichsilp, N., Van de Heede, M., *Detection of Trichothecenes Mycotoxins (Yellow Rain) in Blood, Urine and Feces of Iranian Soldiers Treated as Victims of a Gas Atacc*, Arsh. Belg. Soc. Hyg. Med. Trav. Med. Leg. 143, 1984.

S U M M A R Y

MYCOTOXINES – THIRD GENERATION OF POISONOUS AGENTS

All fungi (monocell and multicell microorganisms) produce very complex organic compounds during their vegetation period, as results of biochemical activities. According to their effects on higher life forms – human beings and animals – these compounds can be classified to the useful ones, such as antibiotics (penicillin), and those which affect vital functions of organism, known as mycotoxines (from Greek words: mykes – fungus, toxikon – poison).

Highly acute toxicity of mycotoxines was observed by experts dealing with improvement and widening the arsenal of mass destruction weapons. Their interest is primarily centered to highly toxic mycotoxines, of which trichothrecens are because of their chemical properties included, judging by available evidence, into the third generation of poisonous agents intended for mass application.

The investigations completed to date show that the trichothrecen group includes about 60 mycotoxines. All of these are stable substances and therefore can be kept at room temperatures for years without losing their active properties – the same could be said after their heating to 100°C for the duration of an hour. They dilute well in organic solutions, and some of them also in water.

Main symptoms of trichothrecen caused mycotoxicoses are: nausea, vomiting, tachycardia, diarrhoea, haemorrhage, swellings and necrosis of skin, nervous disturbances.

In spite of existence of certain limitations, results of investigation performed by many authors reveal that trichothrecens were used as components of the »yellow rain« applied in Cambodia, Laos, and Irano-Iraqi war.

R É S U M É

LES MYCOTOXIQUES – TROISIEME GENERATION DES TOXIQUES DE GUERRE

Résultant d'une activité biochimique au cours de leur période de végétation, tous les champignons (microorganismes uni et pluricellulaires) produisent des composées d'une grande complexité. D'après leur action sur les formes supérieures de la vie, sur les humains et sur les animaux, ces composés sont divisés à ceux dont l'action est bénéfique, tels les antibiotiques (penicilline) et

d'autres susceptibles d'affecter les fonctions vitales de l'organisme et connus sous le nom de mycotoxines (du grec mykes – champignon et toxicon – toxine).

La toxicité aiguë très forte des mycotoxiques étant observée par les spécialistes, ces derniers s'en sont servi pour perfectionner et enrichir l'arsenal des armes de destruction massive. Ils se sont surtout tournés vers les mycotoxines de grande toxicité telles que les trychotécènes qui par leurs propriétés chimiques se rangent parmi les mycotoxiques de troisième génération destinés à être massivement utilisés.

D'après les recherches faites jusqu'ici, le groupe de trychotécènes comprend environ 60 mycotoxiques. Il s'agit de substances stables qui peuvent être gardées pendant des années à la température ambiante sans perdre leurs propriétés, et on peut dire autant même si elles sont portées à la température de 100°C pour la durée d'une heure. Bien solubles dans les dissolvants organiques, certaines d'entre elles le sont même dans l'eau.

Les principaux symptômes de la mycotoxicose provoquée par la trychotécène sont le vomissement, la nausée, la tachycardie, la diarrhée, l'hémorragie, l'œdème et la nécrose de la peau, des troubles nerveux.

En dépit des limitations existantes, les résultats des recherches de plusieurs auteurs montrent bien que trychotécène a été l'une des composantes de la « pluie jaune » au Kampuchéa, au Laos, ainsi que dans la guerre irano-irakienne.

Р Е З Ю М Е

МИКОТОКСИНЫ – ТРЕТЬЕ ПОКОЛЕНИЕ БОЕВЫХ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Все грибы (одноклеточные или многоклеточные микроорганизмы) в течение вегетационного периода в результате биохимической активности создают весьма сложные органические соединения. По способу действия на высшие формы жизни, людей и животных, эти соединения можно разделить на полезные, какими являются на пример антибиотики (пенициллины) и на те, которые вызывают повреждение жизненных функций организма, называемые микотоксины (гр. mykés – гриб, toxikon – яд).

Высокую токсичность микотоксинов заметили специалисты, занимающиеся совершенствованием и расширением арсеналов оружия массового поражения. Их интерес направлен в первую очередь на высокотоксичные микотоксины, из которых трихотецены из-за своих химических свойств, судя по всему, относятся к третьему поколению боевых отравляющих веществ, предназначенных для массового употребления.

Исследования, состоявшиеся до сих пор, указывают, что к группе трихотецены относится около 60 микотоксинов. Все они представляют собой устойчивые вещества, так что их можно годами хранить на комнатной температуре, причем они не теряют своей активности, а то же самое можно сказать и после их нагревания на 100°C в течение часа. Они хорошо растворяются в органических растворителях, а некоторые и в воде.

Основные симптомы трихотеченских токсикозов – рвота, тошнота, тахикардия, диарея, геморрагия, отек и некроз кожи, нервные нарушения.

Несмотря на наличие некоторых ограничений, результаты многих авторов свидетельствуют о том, что трихотецены использовались как составляющая «желтого дождя» в Кампучии, Лаосе, а также в иранско-иракской войне.