

UNIVERZITA HRADEC KRÁLOVÉ

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra biologie

**STANOVENÍ MYKOTOXINU OCHRATOXINU A
A JEHO MOŽNÉ DOPADY NA LIDSKÉ ZDRAVÍ**

Disertační práce

Školitel: doc. RNDr. František Malíř Ph.D.

Odborný konzultant: doc. MVDr. Vladimír Ostrý CSc.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně pod vedením svého školitele a konzultanta. Veškerá literatura a další zdroje, ze kterých při zpracování bylo čerpáno, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové

RNDr. Jakub Toman

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli, doc. RNDr. Františku Malířovi, Ph.D. a odbornému konzultantovi, doc. MVDr. Vladimíru Ostrému, CSc.

Chtěl bych Vám poděkovat za Vaši trpělivost, předávané zkušenosti, neocenitelné rady a názory, které mne provázely po celou dobu studia, a to jak ty pochvalné, tak i ty kritické, které vedly k našim dlouhým diskusím a zdokonalování naší společné práce.

Děkuji též Katedře Biologie, všem svým kolegům, za ochotu a zkušené rady, zvláště pak v oblasti pedagogiky. Obzvláště děkuji za přátele, které jsem měl tu čest poznat a stali se důležitou součástí mého života.

Chtěl bych poděkovat svému školiteli na stáži v německém Göttingenu, prof. dr. Petru Karlovskému a celému jeho týmu, za vstřícné přijetí a nové zkušenosti na poli mykotoxinů.

Dále bych rád poděkoval kolegům, se kterými jsem se mohl seznámit, Ing. Markétě Pospíchalové a Ing. Tomáši Roubalovi, kteří mne ovlivnili a dali mi možnost pohledu na danou problematiku z jiného úhlu.

V neposlední řadě bych rád poděkoval i všem studentům, se kterými jsem mohl pracovat. Za jejich práci, toleranci k mému puntičkářství i vtipné situace při výuce.

Děkuji své rodině a jiné zvířeně za trpělivost a podporu po celou dobu mého studia.

Též děkuji Přírodovědecké fakultě UHK za finanční podporu Specifických výzkumu UHK (2118/2015; 2113/2016; 2105/2017; 2109/2018).

Abstrakt

TOMAN, J. *Stanovení mykotoxinu ochratoxinu A a jeho možné dopady na lidské zdraví*. Hradec Králové, 2019. Disertační práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Školitel doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.

V předložené disertační práci je prezentován komentovaný soubor devíti publikací, které jsou zaměřeny na vyhledávání nových expozičních zdrojů mykotoxinů, zvláště ochratoxinu A, dále biomonitoring ochratoxinu A u pacientů s adenokarcinomem ledvin a v závěru jsou komentovány rešeršní práce.

První část tvoří problematika hledání nových expozičních zdrojů ochratoxinu A a dalších mykotoxinů. Jedná se o komodity, ve kterých nebyl doposud obsah ochratoxinu A sledován, a pokud ano, tak z hlediska bezpečnosti potravin a informací ohledně dietárního přívodu pouze okrajově.

Druhá část se zabývá problematikou biomarkerů nefrotoxických mykotoxinů u pacientů s nádory ledvin.

Třetí část je věnována rešeršním pracím o ochratoxinu A, kyselině cyklopiazonové a hodnocení mykotoxinů dle klasifikace IARC, WHO, jež vznikly v průběhů studia.

Klíčová slova

ochratoxin A, mykotoxiny, nefrotoxicita, bezpečnost potravin, biomarkery expozice – vnitřní dávky, lidské zdraví

Abstract

TOMAN, J. Determination of mycotoxin ochratoxin A and its possible impacts on human health. Hradec Králove, 2019. Dissertation at Faculty of Science, University of Hradec Králove. Supervisor doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.

The submitted dissertation presents a commented set of nine publications, which are focused on finding new exposure sources of mycotoxins, especially ochratoxin A, biomonitoring of ochratoxin A in patients with adenocarcinoma of the kidney and in the conclusion there are a reviews of research work.

The first part deals with the search for new exposure sources of ochratoxin A and other mycotoxins. These are commodities where the ochratoxin A content has not yet been monitored and, if so, only marginally in terms of food safety and dietary intake information.

The second part deals with biomarkers of exposure to nephrotoxic mycotoxins in patients with kidney tumors.

The third part is devoted to the research work on ochratoxin A, cyclopiazonic acid and the evaluation of mycotoxins according to the IARC classification, WHO, which were developed during the study.

Keywords

ochratoxin A, mycotoxins, nephrotoxicity, food safety, biomarkers of exposure – internal dose, human health

Obsah

1	Úvod.....	- 10 -
2	Cíle práce.....	- 11 -
3	Teoretická část.....	- 12 -
3.1	Mykotoxiny.....	- 12 -
3.2	Ochratoxin A.....	- 14 -
3.3	Výskyt OTA v potravinách a krmivech.....	- 15 -
3.4	Systém zajištění bezpečnosti potravin a krmiv.....	- 17 -
3.5	Regulace mykotoxinů.....	- 19 -
3.6	Toxicita OTA.....	- 21 -
3.6.1	Toxikokinetika OTA.....	- 21 -
3.6.2	Biomarkery OTA.....	- 22 -
3.6.3	Akutní a subakutní toxicita OTA.....	- 24 -
3.6.4	Chronická toxicita OTA.....	- 24 -
3.6.5	Nefrotoxicita OTA.....	- 25 -
3.7	Charakterizace nebezpečnosti OTA.....	- 27 -
3.7.1	Prahový toxický účinek OTA (treshhold).....	- 27 -
3.7.2	Bezprahový toxický účinek OTA (non-treshhold).....	- 28 -
4	Publikované práce.....	- 29 -
4.1	Komentář č. 1: Přejchod ochratoxinu A do nápojů připravených z čaje a kávy. - 32 -	
4.2	Komentář č. 2: Výskyt ochratoxinu A v bílé a předvařené rýži.....	- 32 -
4.3	Komentář č. 3: Přejchod ochratoxinu A z černého čaje do nálevů připravených tradiční tureckou metodou.....	- 33 -
4.4	Komentář č. 4: Výskyt ochratoxinu A v kořenu <i>Astragalus propinquus</i> a jeho přejchod do odvarů.....	- 33 -

4.5	Komentář č. 5: Stanovení patulinu a citrininu ve vinném moštu a víně z hroznů přirozeně kontaminovaných kmeny <i>Penicillium expansum</i>	- 35 -
4.6	Komentář č. 6: Analýza biomarkerů expozice nefrotoxickým mykotoxinům u pacientů s nádory ledvin	- 35 -
4.7	Komentář č. 7: Ochratoxin A: 50 let výzkumu	- 37 -
4.8	Komentář č. 8: Mykotoxiny jako lidské karcinogeny – klasifikace dle monografií IARC.....	- 37 -
4.9	Komentář č. 9: Kyselina cyklopiazonová: Padesáté výročí od objevení	- 37 -
5	Závěr	- 38 -
6	Použitá literatura.....	- 39 -
7	Prezentace výsledků.....	- 53 -
7.1	Přednášky	- 53 -
7.2	Postery	- 53 -
8	Účast na projektech a stážích.....	- 55 -
9	Přílohy.....	- 57 -

Terminologický slovník

Aberace	Strukturní změna chromozomů, chromozomová mutace
Adheze	Přilnavost
Adukt	Molekulární sloučenina, produkt adiční reakce mezi molekulami
Agens	Původce, činitel, účinná látka, příčina nemoci
Alimentární	Potravinový, mající vztah k výživě
Biomarker	Charakteristika, která je objektivně měřitelná a uznávaná jako indikátor normálních biologických či patologických procesů nebo odpovědi na terapeutickou intervenci
Cirkadiánní	Týkající se změn fyziologických funkcí organismů s přibližně denní periodou
Cytotoxický	Toxický pro buňky
Embryotoxický	Toxický pro zárodek
Emitující	Vydávající, vysílající, vyzařující
Etiologický	Působící onemocnění
Extrapolace	Přiblížení, přechod z užší na širší oblast pomocí analogie
Fenotyp	Soubor všech pozorovatelných vlastností a znaků živého organismu
Fibroblasty	Buňky vaziva produkující základní vazivovou hmotu, vč. kolagenu
Gastrointestinální	Týkající se trávicí soustavy
Genotoxický	Mající toxické účinky vůči genomu, poškozující genetickou informaci
Hematotoxický	Toxické poškození krevetvorné tkáně
Hepatotoxický	Označuje látky poškozující játra
Hypertrofie	Růst tkáně vlivem zvětšování objemu jednotlivých buněk
Imunotoxický	Toxický pro imunitní systém
In vitro	Mimo živé tělo, ve zkumavce
In vivo	V živém nebo na živém těle, zaživa
Inokulace	Naočkování
Intersticiální	Vsunutý, vmezeřený, mezitkáňový
Karcinogenní	Vyvolávající rakovinné bujení ve tkáních
Koagulační faktor	Faktor srážlivosti
Kompetitivní	Soutěživý, konkurenční
Mutagenní	Schopny způsobovat mutace
Metaloidy	Nekovový prvek, který má některé vlastnosti kovů - např. arzen, křemík
Nefropatie	Jakákoli porucha ledvin, která není způsobena zánětem
Nefrotoxický	Toxický pro ledviny
Neurotoxický	Toxický pro nervový systém
Noxa	Škodlivina, látka vyvolávající poškození
Perzistentní	Trvalý, stálý, vytrvalý
Prevalence	Počet existujících nemocí či zdravotních problémů ve vybrané populaci k určitému datu
Proximální	Bližší k centru, středu; bližší k trupu, hlavě
Rekonstituovaný	Obnovený
Sekvenování	Souhrnný termín pro biochemické metody, jimiž se zjišťuje pořadí nukleových bází
Teratogenní	Způsobující vznik vrozených vývojových vad a defektů
Ubikvitární	Všude rozšířený, běžně se vyskytující, všudypřítomný

Seznam použitých zkratek

AA	Kyselina aristolochová
AFM₁	Aflatoxin M ₁
ALT	Alaninaminotransferáza
AST	Aspartátaminotransferáza
BEN	Balkánská endemická nefropatie
CIN	Chronická intersticiální nefropatie
CIT	Citrinin
CZVP	Centrum zdraví, výživy a potravin
Da	Dalton – jednotka molekulové hmotnosti, jedna dvanáctina atomové hmotnosti uhlíku ¹² C
DG SANTE	Generální ředitelství pro zdraví a bezpečnost potravin
DH-CIT	Dihydrocitrinon
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EK	Evropská Komise
ES	Evropské společenství
EU	Evropská Unie
GIT	Gastrointestinální trakt
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
JECFA	Společný výbor odborníků FAO/WHO pro potravinářské přídatné látky
LD₅₀	Dávka látky podaná testovaným jedincům, která způsobí úhyn 50 % testovaných živočichů do 24 hodin od expozice
LOAEL	Nejnižší dávka, při které byl pozorován škodlivý účinek.
LOQ	Mez stanovitelnosti
NCRI	Zanedbatelný přívod pro riziko vzniku rakoviny
NOAEL	Dávka, při které ještě nebyl pozorován škodlivý účinek
OAT	Proteiny transportující organické anionty
OOVZ	Orgány ochrany veřejného zdraví
OTA	Ochratoxin A
OTB	Ochratoxin B
OTC	Ochratoxin C
PTWI	Prozatímní tolerovatelný týdenní přívod
RASFF	Evropský systém rychlého varování pro potraviny a krmiva
SÚJB	Státní úřad pro jadernou bezpečnost
SVS	Státní veterinární správa
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
SZÚ	Státní zdravotní ústav
t. hm.	Tělesná hmotnost
TCLO	Nejnižší toxická koncentrace
TDI	Tolerovatelný denní přívod
TWI	Tolerovatelný týdenní přívod
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
VMH	Vláknité mikroskopické houby
VSD	Prakticky bezpečná dávka

1 Úvod

Plísně, vláknité mikroskopické houby, patří k jednomu z nejstarších organismů na Zemi. Jsou ubikvitárně rozšířené po celém světě a díky enzymatickému vybavení adaptabilní pro kontaminaci téměř jakéhokoliv substrátu. Jejich spory se nachází v ovzduší, vodě, půdě, na povrchu živých a odumřelých organismů, předmětech i plochách.

Svým působením snižují nutriční hodnotu substrátu, a to především o sachridy, tuky a aminokyseliny. Nejzávažnější je ovšem produkce sekundárních toxických metabolitů – mykotoxinů.

Problematika bezpečnosti potravin, respektive jejich zdroje, původ a hlavně kvalita, hraje dnes významnou roli na poli globalizace trhu. Je třeba zajistit, aby spotřebitel obdržel kvalitní a nezávadné potraviny, což lze zaručit jen a pouze důkladnou kontrolou surovin, potravin a krmiv ve všech krocích výroby, tedy v průběhu pěstování, popř. chovu, zpracování, skladování a distribuce. Případná kontaminace toxickými látkami, mezi které mykotoxiny bezesporu patří, neznamena pouze ekonomické ztráty, ale především zdravotní riziko.

Vzhledem k tomu, že v potravinách bylo již izolováno více než 114 druhů plísní, z toho 65 toxinogenních, je výskyt mykotoxinů v potravinách velmi častý. Práce je zaměřena na jeden z pěti nejzávažnějších mykotoxinů, a to ochratoxin A.

Ochratoxin A představuje významné nebezpečí pro lidskou populaci díky svým toxickým vlastnostem a častému výskytu v celé řadě různých druhů potravin – ve významných expozičních zdrojích. Proto mu musí být věnována významná a soustavná pozornost.

2 Cíle práce

Tato disertační práce, komponovaná jako komentovaný soubor publikací s teoretickým úvodem, je cíleně zaměřena na ochratoxin A (OTA), který je spolu s aflatoxiny, zearalenonem, deoxynivalenolem a fumonisiny řazen do skupiny pěti zemědělsky a toxikologicky nejvýznamnějších mykotoxinů.

První část práce je zaměřena na hledání nových a vybraných expozičních zdrojů OTA, např. se jedná o rýži, čaje a farmaceutické byliny, a dále na stanovení přechodů OTA z farmaceutických bylin do infuzí, nálevů, odvarů, případně tinktur, což doposud nebylo v celosvětovém měřítku systematicky sledováno.

Druhá část práce se zaměřuje na stanovení OTA, citrininu (CIT), dihydrocitrinonu (DH-CIT) v biologickém materiálu, tj. v moči, krvi, séru, plazmě, ve tkáni ledvin a nádorové tkáni ledvin u pacientů s diagnózou nádoru ledvin a vývodných močových cest, a dále studium prevalence aflatoxinu M₁ (AFM₁) v moči těchto pacientů, u nichž byly na základě předoperačních vyšetření zjištěny vyšší jaterní testy (např. ALT, AST). Z tohoto pohledu se jedná o komplexní výzkum. Získané výsledky rozšíří úroveň poznání v oblasti výzkumu OTA a CIT, případně AFM₁, přinesou relevantní data využitelná pro hodnocení zdravotního rizika.

Třetí část disertační práce je zaměřena rešeršním způsobem na mykotoxiny, jejich karcinogenitu a další možné zdravotní důsledky.

3 Teoretická část

3.1 Mykotoxiny

Název mykotoxin pochází z řeckého *mycos* či *mykes* (= houba) a latinského *toxicum* (= jed, otrava). Mykotoxiny jsou sekundární toxické metabolity vláknitých mikroskopických hub (VMH) neboli plísní (Ostrý, 1998), jsou též definovány jako účinné látky VMH nebílkovinné povahy, toxické vůči člověku a živočichům, kdy k jejich expozici dochází proti vůli a zájmům člověka. První zmínka o mykotoxinech v novodobé historii pochází z roku 1955 (Forgacs & Carll, 1955). Proč jsou mykotoxiny produkovány VMH, není z biologického hlediska dodnes zcela objasněno. Existuje řada teorií, z nichž nejvíce pravděpodobná je ta, že mykotoxiny, podobně jako antibiotika, přispívají ke konkurenceschopnosti VMH v životním prostředí (Malíř *et al.*, 2003).

Mykotoxiny patří k nejzávažnějším kontaminantům přírodního původu, tzv. naturálním toxinům či biotoxinům. Do současné doby je známo více než 400 různých mykotoxinů. Toto číslo není konečné, protože i nadále jsou objevovány a chemicky charakterizovány stále nové (Battilani *et al.*, 2016).

Toxické účinky mykotoxinů se mohou projevovat jak akutně toxicky, kdy při expozici vysokým dávkám mykotoxinů dochází k rychlému nástupu akutních toxických účinků, které se projevují otravou – mykotoxikózou či vznikem onemocnění, které může mnohdy končit letálně – smrtí. Některé mykotoxiny však často vykazují relativně nízkou akutní toxicitu (Pitt, 2000). Mnohem nebezpečnější může být chronické působení mykotoxinů, kdy při expozici jednorázovým či opakovaným nízkým dávkám po delší časové období, či dokonce po dobu celého života, může docházet k tzv. pozdním toxickým účinkům, projevujícím se např. vznikem nádorového onemocnění (Malir *et al.*, 2006; Kensler *et al.*, 2011).

Některé mykotoxiny (např. aflatoxin B₁) však působí bezprahově, kdy neexistuje žádná bezpečná hladina expozice, což může v konečném důsledku mít závažné dopady na lidské zdraví (IARC, 2012).

Toxické účinky mykotoxinů jsou např. mutagenní, genotoxické, karcinogenní, teratogenní, imunotoxické, dále cytotoxické, nefrotoxické, hepatotoxické, hematotoxické, estrogenní či neurotoxické, embryotoxické aj. (Newberne, 1974; Stark, 1980; Malir, *et al.*, 2006; Wild & Gong, 2010; Kensler *et al.*, 2011).

Některé mykotoxiny, např. aflatoxiny a trichoteceny, vzhledem ke své toxicitě jsou zařazeny do seznamu vysoce rizikových agens a toxinů a existuje možnost jejich zneužití z hlediska možného bioterorismu. Uvedená záležitost je v ČR legislativně upravena aktualizovaným zákonem č. 253/2017 Sb. o některých opatřeních souvisejících se zákazem bakteriologických (biologických) a toxinových zbraní a prováděcí vyhláškou č. 379/2017 Sb. (s účinností od 1. 1. 2018). Na jejich základě pak Státní úřad pro jadernou bezpečnost (SÚJB), oddělení pro kontrolu zákazu chemických a biologických zbraní, vykonává státní správu v oblasti dodržování zákazu bakteriologických (biologických) a toxinových zbraní. S aflatoxiny a trichoteceny lze tedy nakládat pouze na základě povolení vydaného SÚJB, které také upřesňuje podmínky nakládání mimo jiné i z hlediska povoleného množství uvedených mykotoxinů. (Vyhláška č. 379/2017 Sb., 2017)

Mykotoxiny jsou produkovány asi 350 druhy toxinogenních VMH, avšak zdaleka ne všechny VMH jsou toxinogenní, tj. schopné produkovat mykotoxiny. Některé druhy VMH mají schopnost produkovat současně více mykotoxinů, a zároveň určitý mykotoxin může být produkován různými druhy VMH (Bennett & Klich, 2003; Grenier & Oswald, 2011).

Mezi nejznámější producenty mykotoxinů patří toxinogenní VMH, především rodů: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Claviceps*, *Byssochlamys* ale jsou známy také producenti z rodů *Stachybotrys*, *Myrothecium*, *Trichothecium*, *Phoma*, *Diplodia* aj. (Pitt, 2000).

Toxinogenní VMH kontaminují v životním prostředí rozmanité substráty a mohou v nich produkovat mykotoxiny. Produkce mykotoxinů ovlivňuje přítomnost životaschopných spor VMH, vhodný substrát, prostředí s příznivými teplotními a vlhkostními podmínkami a další okolnosti (např. kompetitivní vztahy s jinými VMH a mikroorganismy), které mohou produkci mykotoxinů ovlivnit. Samotný výskyt VMH

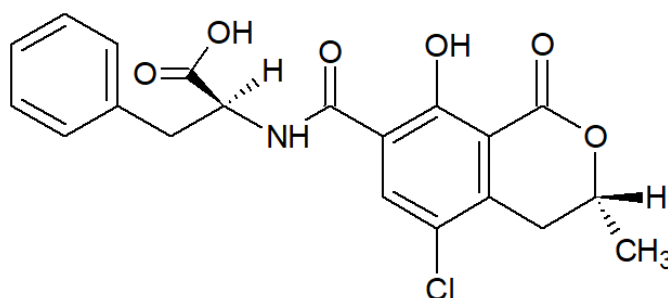
v substrátu však ještě neznamena i produkci a výskyt mykotoxinů. Mykotoxiny mohou perzistovat v substrátu, i když produkční VMH v substrátu již není životaschopná (Malíř *et al.*, 2003).

3.2 Ochratoxin A

Ochratoxin A (OTA) je v současné době obecně považován, po aflatoxinech, za druhý nejvýznamnější mykotoxin (Bhat *et al.*, 2010). OTA je nejvýznamnější, běžně se vyskytující, mykotoxin ve skupině ochratoxinů, kterých existuje velké množství, a vykazují různý stupeň toxicity (Malir *et al.*, 2016). Ochratoxiny se vyskytují v přírodě v např. ve formě OTA, dále OTB (analog OTA bez atomu chloru), OTC (fenylalanin etyl ester), OTA metyl ester, OTB metyl a etyl estery (Azpilicueta *et al.*, 2008; Malir *et al.*, 2016).

OTA byl objeven v roce 1965 v Jihoafrické Republice v kukuřičné mouce jako toxický metabolit VMH *Aspegillus ochraceus*, jejímiž spórami byla mouka cíleně inokulována. V stejném roce byl OTA izolován a chemicky charakterizován (Van der Merwe *et al.*, 1965a; 1965b). Jedná se o bílou krystalickou sloučeninu (Ringot *et al.*, 2006; El Khoury & Atoui, 2010), rekrystalizovanou z xylenu, intenzivně fluoreskující v ultrafialovém světle, emitující zelenou a modrou (Šimůnek, 2003) při vysokých koncentracích tmavě modrou) fluoreskující v kyselých a alkalických roztocích (IARC, 1983; El Khoury & Atoui, 2010).

Obr.1 Strukturální vzorec ochratoxinu A (OTA)



OTA je produkován dvěma rody VMH především rody *Aspergillus* a *Penicillium*. Rod *Aspergillus* je typický v oblastech se subtropickým a tropickým podnebím. OTA je touto VMH produkován v teplotním rozmezí 15-37 °C, přičemž 28 °C se uvádí jako optimum (Malíř *et al.*, 2002; Ostrý, 2012). Rod *Penicillium*, na rozdíl od předchozího teplomilného rodu, je typický v oblastech s mírným či chladnějším podnebím např. v Kanadě a severní Evropě (Malir *et al.*, 2013; Ostry *et al.*, 2013) a je schopen produkovat OTA v teplotním rozmezí 4-30 °C (Ostrý, 2012).

Tab. 1 Toxinogenní VMH rodu *Aspergillus* a *Penicillium* produkující OTA

Rod	Sekce	Druh
<i>Aspergillus</i>	<i>Circumdati</i>	<i>A. ochraceus</i>
		<i>A. steynii</i>
	<i>Nigri</i>	<i>A. westerdijkiae</i>
		<i>A. carbonarius</i>
		<i>A. foetidus</i>
		<i>A. lacticoffeatus</i>
		<i>A. niger</i>
		<i>A. sclerotioniger</i>
		<i>A. tubingensis</i>
		<i>P. verrucosum</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Verrucosa</i>	<i>P. nordicum</i>

(Ostry *et al.*, 2013)

3.3 Výskyt OTA v potravinách a krmivech

U běžné populace je považován dietární přívod OTA za majoritní (Degen *et al.*, 2007). Kontaminace potravin toxinogenními VMH a následně OTA je přirozený proces, kterému nelze zcela zamezit. Při dodržování správné zemědělské, technologické a hygienické praxe ho lze alespoň částečně minimalizovat (Malíř *et al.*, 2005; Malíř & Ostrý, 2012). Určitému stupni kontaminace se však nedá zcela zabránit (Heussner & Bingle, 2015). Ke kontaminaci dochází nejčastěji během nevhodného skladování, a to zejména v zemích, kde jsou stále používány zastaralé technologické postupy a doprava, navíc zde většinou nedochází ani ke kontrole potravin (Heussner & Bingle, 2015). Ke kontaminaci může dále docházet již na poli, většinou působením stresových faktorů na rostliny, zejména se jedná o extrémní sucho, vlhko, teplotu, škůdce apod., jejichž působením je rostlina poškozena, a proto snadněji

kontaminována VMH (Klaassen, 2007). Na bezpečnosti potravin se podílejí svým působením také klimatické změny a globální oteplování, kdy dochází k nárůstu a šíření VMH, a tím pádem i mykotoxinů (Marroquín-Cardona *et al.*, 2014). V případě OTA se jedná o šíření *Aspergillus carbonarius* a *Penicillium verrucosum* do mírné klimatické zóny (Ostry *et al.*, 2016).

Bylo prokázáno, že OTA se vyskytuje v potravinách a krmivech rostlinného i živočišného původu (Ostrý, 2012). V případě potravin rostlinného původu se jedná zvláště o obiloviny a výrobky z nich, olivy, luštěniny, pivo, víno, hroznovou šťávu, kávu, čaj, kakaové produkty, rozinky, fíky, lékořici, dýňová semínka, sušené ovoce a koření jako je černý pepř, kajenský pepř, kardamom, koriandr, mleté chilli, mletá paprika, kmín a kurkuma (Ostrý, 2012; Ostry *et al.*, 2015). Uvádí se, že průměrná koncentrace OTA v těchto potravinách je v rozmezí od 0,1 do 100 ng/g (European Union, 2002). V případě krmiv rostlinného původu je výskyt OTA uváděn v krmivech, které jsou vyráběny ze žita, ova, ječmene, pšenice, kukuřice, rýže, prosa, čiroku, sóji, fazolí, hrachu, vojtěšky, bobu, slunečnicových či dýňových semen, kokosu, sena či siláže. I zde je rozmezí OTA od 0,1 do 100 ng/g (European Union 2002; Ostry *et al.*, 2015; RASFF, 2018).

V potravinách živočišného původu např. vepřovém mase, výrobcích z krve a vnitřností, kuřecím mase a drobch, se koncentrace OTA pohybuje v rozmezí od 0,01 do 1 ng/g. Stejná množství byla naměřena v krmivech živočišného původu např. vepřovém mase, ledvinách, játrech, dále pak v kuřecích játrech a dalších vnitřnostech či drobch používaných jako přísady do krmiv pro kočky a psy (European Union, 2002; EFSA 2004; Ostry *et al.*, 2015).

Je třeba si však uvědomit, že potraviny živočišného původu, z pohledu kontaminace mykotoxiny, představují pro člověka nižší riziko než potraviny původu rostlinného, a to z důvodu částečné inaktivace a metabolizace mykotoxinů v trávicím traktu zvířete (Malíř *et al.*, 2005; Suchý & Herzig, 2005). Proto např. vegetariáni a vegani, kteří jsou vystaveni přímé expozici OTA aj. mykotoxinům, prostřednictvím potravin rostlinného původu, které konzumují majoritně, mohou být, v porovnání s běžnou populací, exponováni OTA aj. mykotoxinům mnohem více.

Odhaduje se, že k největší expozici OTA dochází prostřednictvím obilovin (58 %), dále pak vína (15 %), vepřového masa (3 %) (JECFA, 2008), případně kávy (1-10 %), kde závisí na míře konzumace (Tozlovanu & Pfohl-Leszkowicz, 2010). Obecně je však průměrná koncentrace OTA v potravinách v Evropě relativně nízká (v řádu ng až µg/kg) (Heussner & Bingle, 2015).

3.4 Systém zajištění bezpečnosti potravin a krmiv

V České Republice je kontrola mykotoxinů v celém potravinovém řetězci, od primární výroby až po přípravu pokrmů ve stravovacích službách, zajišťována orgány spadajícími pod Ministerstvo zemědělství jako jsou: Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), Státní veterinární správa (SVS), do jisté míry i Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) a dále orgány ochrany veřejného zdraví (OOVZ) pod státní správou Ministerstva zdravotnictví (Malir *et al.*, 2003; Ostry *et al.*, 2004)

Systematický výzkum mykotoxinů a monitoring toxinogenních VMH (studie „HYGIMON“) v potravinách a potravinovém řetězci, v gesci Ministerstva zdravotnictví, je řešen na Státním zdravotním ústavu (SZÚ) v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin (CZVP), Oddělení hodnocení zdravotních rizik a aplikované výživy, NRC pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích Brno. Vyšetřování mykotoxinů se provádí v rámci expertizní činnosti dále také na pracovišti Zdravotního ústavu Ústí nad Labem, regionálním centru Hradec Králové v NRL pro biomarkery mykotoxinů a mykotoxiny v potravinách (Ruprich & Ostry, 1993; Ostry *et al.*, 1998; Malir *et al.*, 2003).

Na úrovni EU funguje tzv. Evropský systém rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF). Tento systém slouží k rychlému šíření informací, mezi členy systému, tj. Evropskou komisí (EK) sídlící v Bruselu, členskými státy EU a Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA), o potencionálně nebezpečných potravinách a krmivech představujících (přímé či nepřímé) zdravotní riziko pro spotřebitele s cílem zamezení jejich uvádění do oběhu nebo jejich stažení ze společného evropského

trhu. V rámci systému RASFF existují tři kategorie oznámení: a) varování (*alert notification*), b) informace (*information notification*), c) novinky (*news*).

Při tzv. „varování“ se jedná o záchyt OTA v potravinách, vyskytujících se na trhu – v obchodní síti, a proto je zapotřebí okamžitě zajistit kroky v souladu s příslušnými právními předpisy. Při tzv. „informaci“ jde o záchyt OTA v potravinách, zadržovaných na hranicích nebo v celním skladu před proclením, či se jedná o náhodné záchyty a je nutné zabránit vývozu do jiného členského státu EU. Všechny druhy informací vztahující se k bezpečnosti potravin, které nebyly klasifikovány EK jako „varování“ nebo „informace“ jsou označeny jako „novinky“, které jsou považovány za velmi důležité pro dozorové orgány členských států. V některých případech se jedná i o informace organizačního rázu.

Je známo, že mykotoxiny jsou stále většinovým (hlavním) důvodem zamítnutí vstupu zemědělských plodin na trh EU. Např. od začátku roku 2017 do dubna 2018 bylo v EU hlášeno 61 případů, právě z důvodu nadlimitní koncentrace OTA (SZPI, 2018a). V ČR např. bylo během roku 2017 SZPI testováno 120 vzorků z 9 různých komodit (sušené ovoce, koření, káva, čaj, hroznová šťáva, obilniny, obilné výrobky, dětská obilná výživa, víno), 33 vzorků bylo pozitivních na OTA (v rozsahu $0,35 - 19,78 \text{ ng/g}$), pouze jeden ze vzorků vykazoval nadlimitní hodnoty (rozinky z Iránu: 19,78 ng/g) (SZPI, 2018b).

Sankce EU, plynoucí z regulace mykotoxinů v rámci ES, jako odročení dovozu (embargo), systematická kontrola dovozu, zesílená kontrola dovozu u tzv. problémových komodit byly legislativně upraveny nařízením Komise č. 1152/2009, týkajícím se pistácií, arašídů, rozinek, para ořechů (Irán, Čína, Egypt, Turecko, Brazílie).

Pro ČR tzv. národní kontaktní místo představuje SZPI, které komunikuje s EK a dalšími dozorovými orgány nad potravinami a krmivy v ČR v gesci Ministerstva zemědělství (OOVZ, SVS, ÚKZÚZ) a Ministerstva zdravotnictví (SZÚ).

3.5 Regulace mykotoxinů

Strategie zajištění bezpečnosti potravin je jednou z priorit ČR (Ostry *et al.*, 2004). V současné době je obsah mykotoxinů v potravinách v ČR regulován stávajícím nařízením Komise (ES) č. 1881/2006 ve znění pozdějších předpisů, stanovujícím maximální hygienické limity (tzv. maximální limity) pro aflatoxiny B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, ochratoxin A, zearalenon, T-2 a HT-2 toxiny, deoxynivalenol, fumonisiny a patulin (Evropská komise, 2006). Maximálními limity OTA v potravinách a krmivech uvádí **Tab. 2**.

Tab. 2 Maximální limity OTA v potravinách/krmivech platné pro ČR

Nařízení Komise	Položka	Komodita	Maximální limity OTA (µg/kg)
NK (EC) č. 1881/2006	1	Nezpracované obiloviny	5,0
	2	Sušené hrozny révy vinné (korintky, rozinky a sultánky)	10,0
	3	Pražená kávová zrna a mletá pražená káva kromě rozpustné kávy	5,0
	4	Rozpustná káva (instantní káva)	10,0
	5	Víno (včetně šumivého vína, s výjimkou likérového vína a vína s obsahem alkoholu nejméně 15 % objemových) a ovocné víno	2,0
	6	Aromatizovaná vína, aromatizované vinné nápoje a aromatizované vinné koktejly	2,0
	7	Hroznová šťáva, rekonstituovaná koncentrovaná hroznová šťáva, hroznový nektar, rekonstituovaný hroznový mošt a rekonstituovaný koncentrovaný hroznový mošt určený pro lidskou spotřebu.	2,0
	8	Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojenče a malé děti	0,5
	9	Dietní potraviny pro zvláštní léčebné účely, určené speciálně pro kojenče	0,5
NK (EU) č. 105/2010	10	Kořen lékořice, složka bylinného čaje	20,0
	11	Výtažek z lékořice pro použití v potravinářských výrobcích, zejména v nápojích a cukrovinkách	80,0
NK (EU) č. 594/2012	12	Všechny produkty pocházející z nezpracovaných obilovin, včetně zpracovaných výrobků z obilovin a obilovin určených k přímé lidské spotřebě kromě potravin uvedených v bodech 8,9 a 14	3,0
	13	<i>Piper</i> spp. (plody včetně bílého a černého pepře) <i>Mystica fragans</i> (muškátový oříšek) <i>Zingiber officinale</i> (zázvor) <i>Curcuma longa</i> (kurkuma)	15,0
	14	Pšeničný lepek neprodávaný přímo spotřebiteli	8,0
	15	<i>Capsicum</i> spp. (sušené plody, celé nebo mleté, včetně chilli, mletého chilli, kajenského pepře a papriky)	20,0
NK (EU) č. 2015/1137	16	Směsi koření obsahující jedno z výše uvedených koření	15,0

(Evropská komise, 2006; 2010; 2012; 2015).

Vzhledem k tomu, že se OTA vyskytuje i v dalších potravinách, u nichž zatím není nařízením Komise stanovený maximální limit, Evropská Komise zahájila jednání o jejich stanovení. Zatím se však jedná pouze o návrhy (viz **Tab. 3**).

Tab. 3 Nově navrhované limity pro OTA v potravinách diskutované Evropskou Komisí

Komodita	návrh maximálního limitu OTA (µg/kg)
Sušené ovoce (vyjma sušených hroznů révy vinné)	8,0
Koření včetně sušeného koření	15,0
<i>Capsicum</i> spp. (sušené plody, celé nebo mleté, včetně chilli, mletého chilli, kajenského pepře a papriky)	20,0
Směs koření obsahující chilli, mleté chilli, kajenský pepř a papriku)	15,0
Sušené byliny, čaje a bylinné nálevy	10,0
Semena slunečnice, semena dýně, jádra podzemnice olejné a výrobky, které je obsahují	5,0
Ořechy	5,0
Kakaový (instantní) prášek prodávaný konečnému zákazníkovi nebo jako ingredience ve slazených instantních kakaových přípravcích prodávaná konečnému spotřebiteli	2,0

(MZe, Odbor bezpečnosti potravin, 2018)

Pokud nejsou k dispozici regulační limity, lze využít tzv. expoziční limity, které se ale uplatňují až při charakterizaci zdravotního rizika po provedení dietární expozice, doporučené např. Společným výborem odborníků (FAO/WHO) pro potravinářské přídatné látky (JECFA, 2008) a EFSA (EFSA, 2006).

V zájmu efektivní ochrany veřejného zdraví by neměly být uváděny na trh komodity, které obsahují nadlimitní koncentraci kontaminujících látek, a to ani jako složky jiných produktů. Dále by nemělo docházet k mísení šarží splňujících limity s těmi, jež limity nesplňují. Taktéž dekontaminace plodin chemickou cestou je zakázána (Evropská komise, 2006).

3.6 Toxicita OTA

OTA vykazuje rozdílné toxické účinky u zvířat a člověka. Bylo prokázáno, že OTA je nefrotoxin, hepatotoxin, embryotoxin, teratogen, imunotoxin, genotoxin a karcinogen (u mnoha živočichů různého druhu i pohlaví) (Weidenbach & Petzinger, 2004; O'Brien & Dietrich, 2005; Ringot *et al.*, 2006; Sava *et al.*, 2006; 2007; Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007). Ve studiích *in vitro* (Zurich *et al.*, 2005; Sava *et al.*, 2007) a *in vivo* (Sava *et al.*, 2006) bylo prokázáno, že se jedná o neurotoxin.

U potkanů byly po podání OTA pozorovány histologické abnormality srdce a jater, aberace koagulačních faktorů doprovázené krvácením a trombózou ve slezině, mozku, játrech, ledvinách a srdci a poškození gastrointestinálního traktu (GIT) (Petzinger & Ziegler, 2000; Mantle, 2002; O'Brien & Dietrich, 2005; Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007; Mally & Dekant, 2009).

3.6.1 Toxikokinetika OTA

OTA se metabolizuje několika různými způsoby, jedná se o hydrolýzu, hydroxylaci, otevření laktonu a konjugaci, což vede k tvorbě mnoha různých metabolitů (Faucet-Marquis *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2011). Metabolismus OTA nebyl dosud detailně objasněn a současné údaje o jeho biotransformaci jsou kontroverzní. Kromě toho bylo publikováno mnoho výsledků, týkajících se různých aspektů toxikokinetiky OTA (Castegnaro *et al.*, 2006; Ringot *et al.*, 2006; Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007; Mally & Dekant, 2009).

OTA se projevuje jako kumulativní toxická sloučenina s relativně rychlou absorpcí a pomalou eliminací (Castegnaro *et al.*, 2006, Ringot *et al.*, 2006). K nahromadění dochází v krvi, játrech a ledvinách. Ledviny a játra jsou také hlavními orgány biotransformace OTA (Ringot *et al.*, 2006).

V lidském séru je poločas vylučování přibližně 35,5 dne (Schlatter *et al.*, 1996; Studer-Rohr, 2000), což je způsobeno tím, že OTA, po absorpci z GIT, má velmi vysokou afinitu k plazmatickým proteinům (až 99%) konkrétně k albuminu (Uchiyama & Saito, 1987), a dále k bílkovině neznámé struktury, blíže neidentifikované, o hmotnosti 20 000 Da (Stojkovic *et al.*, 1984). Předpokládá se, že OTA interaguje s rezidui proteinů, konkrétně s lysinem, argininem a histidinem (Ringot *et al.*, 2006).

Frakce OTA navázaného na proteiny představuje mobilní rezervu, jež může být uvolněna, jakmile se množství volného OTA sníží. OTA se vylučuje do tubulů za použití proteinů transportujících organické anionty (OAT) (Gekle & Silbernagl, 1994), následně se pak pomocí těchto, případně dalších transporterů reabsorbuje ve všech nefronových segmentech (Dahlmann *et al.*, 1998). To oddaluje eliminaci a zvyšuje tak riziko akumulace OTA ve tkáních (Castegnaro *et al.*, 2006).

3.6.2 Biomarkery OTA

Expozice člověka OTA se velmi dobře monitoruje s pomocí specifických biomarkerů (Malir *et al.*, 2012). Jmenovitě se jedná o biomarkery expozice (markery vnitřní a efektivní dávky /např. adukty OTA s DNA/), dále markery odpovědi či toxického účinku (např. β -2-mikroglobulin) nebo citlivosti (Timbrell, 1998; Malir *et al.*, 2012).

OTA byl detekován v lidských tekutinách, např. v séru, moči, mateřském mléce a pupečnickové krvi (tzv. markery vnitřní dávky) (Malir *et al.*, 2012).

OTA je všudypřítomný v lidské krvi, tj. v séru a plazmě, což je ukazatel kontinuální expozice (Muñoz *et al.*, 2010; Zaied *et al.*, 2010). Jeho koncentrace jsou výrazně vyšší v krvi pacientů s poruchami ledvin, než u zdravých lidí (Malir *et al.*, 2012). Ale bylo pozorováno i významné kolísání OTA v rámci tzv. cirkadiálního rytmu u jedné osoby, dále byly zjištěny rozdíly regionální a sezónní. Této problematice je zapotřebí se hlouběji věnovat (Scott, 2005). V oblastech BEN a CIN byly zjištěny mnohem vyšší koncentrace OTA v krvi ve srovnání s kontrolní skupinou mimo endemickou oblast (Fuchs & Peraica, 2005). Zvýšená koncentrace OTA v krvi (séru)

se údajně dá také očekávat při poškození funkce ledvin, respektive díky snížené filtrační rychlosti (Duarte *et al.*, 2011).

Ačkoliv koncentrace OTA v moči jsou mnohem nižší než v krvi, podle některých autorů se jedná o mnohem lepší marker expozice OTA ve vztahu k dietární expozici (Gilbert *et al.*, 2001; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2006; Castegnaro *et al.*, 2006). OTA v moči je možné detekovat několik dní po jeho přívodu potravinami (Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007). Vylučování OTA močí je nízké, obvykle v rozsahu 20 až 80 ng/den, nezávisle na požité dávce, ale naopak na koncentraci volného OTA (Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007), pokud ovšem není přívod nižší než 100 ng/kg/t. hm./týden (Castegnaro *et al.*, 2006). Kromě OTA samotného, byla v moči prokázána celá řada dalších ochratoxinů a jejich metabolitů, např. OTB, 4-OH OTA, chinonové deriváty aj. (Jonsyn, 2001; Castegnaro *et al.*, 2006; Pfohl-Leszkowicz, 2009). Bylo zjištěno, že OTA i OT α se běžně nacházejí i v moči zdravé populace (Muñoz *et al.*, 2010). Názory na roli OTA v moči (jako biomarkeru) jsou odlišné, nicméně slibné. Ale vyžaduje to úzkou spolupráci s lékaři, aby OTA v moči mohl být považován za spolehlivý nástroj ke sledování průběhu onemocnění souvisejícího s přítomností OTA (Malir *et al.*, 2012).

Vzhledem k tomu, že OTA se vylučuje do mateřského mléka, jsou kojené děti rovněž vystaveny působení OTA (Gareis *et al.*, 1988), a to i přes skutečnost, že nálezy OTA v mateřském mléce jsou podstatně nižší než v krvi (více než 10x) (Breitholtz-Emanuelsson *et al.*, 1993). Kontaminace mateřského mléka tedy představuje potenciálně závažné zdravotní riziko (Kuiper-Goodman *et al.*, 2010), ačkoliv není doposud známa korelace mezi koncentracemi v krvi a mléce (Biasucci *et al.*, 2011).

Přítomnost OTA v lidských tkáních je jednoznačný a přímý důkaz expozice. Praktická použitelnost takových měření *in vivo* je samozřejmě velmi omezena (Malir *et al.*, 2012). Vezmeme-li v úvahu zejména nefrotoxicitu OTA, není k dispozici mnoho studií, které se zabývaly stanovením OTA v lidských ledvinách, jednalo se o studie z Německa (Bauer *et al.*, 1994), České Republiky a Polska. Dále bylo analyzováno několik vzorků lidských ledvin, získaných od pacientů s rakovinou ledvin nebo močového měchýře z Bulharska (8 vzorků) (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1993),

Srbska (10 vzorků), Chorvatska (16 vzorků) a Francie (18 vzorků), naměřené hodnoty však nebyly konkrétně uvedeny a nejsou k dispozici (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2007; Pfohl-Leszkowicz, 2009), na rozdíl od nálezů OTA v lidských ledvinách v ČR a Polsku. V závěru lze zhodnotit, že dosud nejrozšířenější a nejlepší způsob monitoringu expozice OTA, je sledování koncentrací OTA ve vzorcích krve (Malir *et al.*, 2012).

3.6.3 Akutní a subakutní toxicita OTA

Bylo zjištěno, že akutní toxicita OTA se liší v závislosti na druhu, pohlaví a způsobu podání. LD₅₀ se pohybuje v rozmezí od 0,2 mg/kg t. hm. u psa do 58 mg/kg t. hm. u myši (Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007; Mally & Dekant, 2009).

Lidé jsou běžně vystaveni působení OTA, obdobně jako ostatním mykotoxinům, několika způsoby, přičemž nejčastější a majoritní je dietární přívod, naopak transdermální přenos, či inhalační expozice jsou méně významné a týkají se menších skupin obyvatelstva, většinou profesionálně exponovaných (Iavicoli *et al.*, 2002; Halstensen *et al.*, 2004; Degen *et al.*, 2007). Po perorálním podání u člověka se udává nejnižší dávka způsobující toxický efekt (TDLO) 650 mg/kg t. hm., při inhalační expozici po dobu 30 minut je pak nejnižší toxická koncentrace (TCLO) 1800 mg/m³ (ppm) (Cayman Chemical Company, 2013).

3.6.4 Chronická toxicita OTA

Ve vyspělých zemích je chronická expozice OTA mnohem častější ve srovnání s akutní, která je naopak častější v zemích třetího světa. Chronická expozice opakovaným nízkým dávkám OTA je velmi pravděpodobně mnohem škodlivější než jednorázová akutní expozice vysoké dávce (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2007; Pfohl-Leszkowicz, 2009).

3.6.5 Nefrotoxicita OTA

Vzhledem k povaze disertační práce je část práce věnována především nefrotoxicitě OTA.

Chronická expozice nízkým dávkám OTA se významně podílí na nefrotoxicitě (Gekle *et al.*, 2005). Dlouhodobé studie OTA potvrdily výskyt nádorů ledvin a renálního tubulu u potkanů (Lock & Hard, 2004). U samců potkanů bylo prokázáno, že tyto nádory jsou dávkově závislé (Mantle *et al.*, 2005; Mantle & Kulinskaya, 2010). Navíc u chronické expozice OTA u potkanů a subakutní expozice u prasat byly potvrzeny OTA-DNA adukty (Faucet *et al.*, 2004), i když DNA adukty byly po chronické expozici potkanů poprvé popsány již v roce 1998. Dále byly zjištěny rozdíly u pohlaví, duálního mechanismu oxidačních drah a DNA adukce (Castegnaro *et al.*, 1998; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1998; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2002a).

Následně byla také prokázána významná korelace mezi expozicí OTA a nefropatií. Při velmi nízkých – nanomolárních koncentracích vede OTA ke specifickým změnám funkce a fenotypu v renálních buňkách (Gekle *et al.*, 2005). Velmi nízké koncentrace OTA podávané po dobu až 14 dní ovlivňují buněčnou hypertrofii v lidském proximálním tubulu. Působí nejen v cílových orgánech, tedy ledvinách a varlatech, ale i v buňkách, jako jsou fibroblasty (Schwerdt *et al.*, 2007; Jennings-Gee *et al.*, 2010). Lze tedy předpokládat, že při chronické expozici se pravděpodobně může objevit stejné poškození. Předpokládá se, že OTA může měnit adhezi buněk a že některé nefrotoxikanty a renální karcinogeny mohou měnit i signalizaci mezi buňkami, a to interferencí s mezerovým spojem (gap junction) nebo buněčnou adhezí. Právě narušení signalizace mezi buňkami prostřednictvím interference s buněčnou adhezí, mezibuněčnou komunikací a cytoskeletem představuje jednu z možností možného mechanismu tvorby nádorů ledvin vlivem OTA (Mally *et al.*, 2006).

Je známo, že OTA způsobuje prasečí nefropatii, která se podobá onemocněním BEN – Balkánské endemické nefropatii, chronické degenerativní chorobě ledvin, jejíž terminální stav se projevuje nádory ledvin u obyvatel některých oblastí Balkánského poloostrova (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2002b, Fuchs & Peraica, 2005). Dále

se uvažuje o jeho podílu na onemocnění zvaném jako CIN – chronická intersticiální nefropatie v Tunisku (Grosso *et al.*, 2003) a dalších severoafrických zemích. Selhání ledvin může být způsobeno nejen dávkou, ale také délkou expozice, a především akumulací OTA v ledvinách (Stander *et al.*, 2001).

U BEN nicméně existují i další teorie o podílu dalších etiologických činitelů na tomto onemocnění. Faktory, u nichž existuje podezření na indukci tohoto onemocnění, jsou nefrotoxiny, především mykotoxiny a kyselina aristolochová, kovy a metaloidy, jakož i možná individuální genetická predispozice (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2002b; Peraica *et al.*, 2008; Nedelko *et al.*, 2009; Pfohl-Leszkowicz, 2009; Slade *et al.*, 2009; Stiborova *et al.*, 2016, Chan *et al.*, 2018). Zdrojem expozice AA byla pšenice kontaminovaná semeny rostlin druhu *Aristolochia clematis* (Grollmann & Jelakovic, 2007). Účinky AA a některých mykotoxinů, OTA, citrininu (CIT) a fumonisinů byly zhodnoceny v různých studiích (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2007; Pfohl-Leszkowicz, 2009; Pepelnjak & Segvic-Klaric, 2010). V Bulharsku a Chorvatsku byl prokázán společný výskyt a koexpozice OTA, fumonisinům a CIT (Vrabcheva *et al.*, 2000, Domian *et al.*, 2005) se zvýšeným rizikem rakoviny (Pfohl-Leszkowicz, 2009). Ale u populace v Srbsku, nebyla nalezena AA, avšak byla prokázána korelace mezi přívodem OTA a nálezy jeho metabolitů v moči (Austwick, 1981; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2007), což podporuje hypotézu o spojení mezi OTA a BEN (Pfohl-Leszkowicz, 2009).

Na druhou stranu, histologický původ nádorů spojených s BEN není totožný s nádory navozenými v experimentálních studiích u potkanů. Proto extrapolace dat, týkajících se karcinogenity u zvířat, na lidský organismus je zvláště obtížná (Mally *et al.*, 2007).

Nefrotoxicita OTA může být zesílena dalšími, synergicky působícími, buď přirozeně se vyskytujícími, mykotoxiny, např. OTB, fumonisinem B₁ (FB₁), CIT či patulinem, které jsou zodpovědné za změny renálních funkcí, a dále za rozvoj renálních onemocnění (Martins *et al.*, 2002; Speijers & Speijers, 2004; Creppy *et al.*, 2004; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2008); či konjugovanými, tzv. maskovanými, mykotoxiny (Stoev *et al.*, 2002; Stoev *et al.*, 2004).

Kromě mykotoxinů mohou zesílit toxické účinky OTA jiné nefrotoxiny, např. arzen, kadmium (Radford *et al.*, 2013) nebo cisplatina (Weber *et al.*, 2005). Tento synergismus může vést k adici či potenciaci toxických – nefrotoxických účinků daných nox (Malir *et al.*, 2013).

Nefrotoxicita může být důsledkem nejen chronické, ale také akutní a subakutní expozice OTA (Malir *et al.*, 2013).

3.7 Charakterizace nebezpečnosti OTA

V rámci EU se v průběhu let charakterizací nebezpečí OTA v potravinách kontinuálně zabývaly instituce, jako např. Vědecký výbor pro potraviny (European Commission, 1998), dále Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA, 2006) a konečně Společný výbor expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva (JECFA, 2008).

3.7.1 Prahový toxický účinek OTA (treshold)

SCF stanovil v roce 1998 „tolerovatelný denní přívod“ (TDI) ve výši 5 ng/kg t. hm./den. Dále v roce 2006 EFSA stanovil „tolerovatelný týdenní přívod“ (TWI) ve výši 120 ng/kg t. hm./týden, tj. 17,1 ng/kg t. hm./den (European Commission, 1998).

Experti EFSA ve svém stanovisku zatím odmítli průkaz OTA-DNA aduktů jako nedostatečný, a proto TWI stanovili na základě nejnižší hodnoty toxické dávky pro nefrotoxicitu u prasat dle „nejnižší dávky, při které je pozorován škodlivý účinek (LOAEL), což činí 8 µg/kg t. hm./den, za použití faktoru nejistoty 450, na základě dat extrapolovaných ze zvířat na člověka, jakož i vztažených na mezidruhovou specifitu (tzn. toxikodynamické mezidruhové rozdíly mezi prasetem a člověkem 2,5×; kinetické rozdíly založené na „half-life“ OTA 6×; mezidruhovou variabilitu 10×; použití LOAEL místo NOAEL 3×) (EFSA, 2006). TWI je vztažen na nefrotoxicitu a zatím ani

nezohledňuje karcinogenitu OTA, proto řada odborníků považuje uvedený bezpečnostní limit navržený EFSA za nepřiměřený (Kuiper-Goodman *et al.*, 2010; Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2012; Malir *et al.*, 2013; 2016).

JECFA stanovil v roce 2008 „prozatímní tolerovatelný týdenní přívod“ (PTWI) ve výši 100 ng/kg t. hm./týden, tj. 14,3 ng/kg t. hm./den, a to na základě toxikologických studií nefrotoxicity u prasat (JECFA, 2008).

3.7.2 Bezprahový toxický účinek OTA (non-treshold)

U bezprahového účinku neexistuje žádná bezpečná hladina expozice, tj. pouze nulová koncentrace toxinu zaručuje nulové riziko (Patočka *et al.*, 2004; Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2012).

V roce 1989 byla stanovena „prakticky bezpečná dávka“ (VSD) vzhledem k riziku rakoviny ledvin ve výši 1,5 ng OTA/kg t. hm. (Kuiper-Goodman & Scott, 1989). Následně tato hodnota byla upravena na koncentraci 1,8 ng OTA/kg t. hm. (Kuiper-Goodman, 1991). V roce 1992 byla na základě studií prováděných na hlodavcích provedena extrapolace dat na člověka, dle které byla hodnota VSD přehodnocena na výši 0,2 ng OTA/kg t. hm. (Bendele *et al.*, 1985; Boorman *et al.*, 1992).

Hodnocením karcinogenity OTA se dále zabývala také organizace Health Canada, která stanovila tzv. „zanedbatelný přívod pro riziko rakoviny“ (NCRI) ve výši 4 ng/kg t. hm./den a TDI s ohledem na nefropatii ve výši 3 ng/kg t. hm./den (Kuiper-Goodman *et al.*, 2010)

4 Publikované práce

I. Část

Bezpečnost potravin, hledání nových expozičních zdrojů OTA

Malir, F., Ostry, V., Pfohl-Leszkowicz, A., **Toman, J.**, Bazin, I., Roubal, T. (2014)

Transfer of ochratoxin A into tea and coffee beverages.

Toxins (Basel) **6 (12)**: 3438-3453. doi: 10.3390/toxins6123438.

IF₂₀₁₃ = 2.480; Q2

- Podíl autora: sběr vzorků, separace mykotoxinu, zpracování dat, revize publikace

Toman, J., Malir, F., Ostry, V., Grosse, Y., Dvorak, V., Roubal, T., Neuchlova, L. (2016)

The Occurrence of Ochratoxin A in White and Parboiled Rice.

Czech Journal of Food Sciences **34 (1)**: 32-38. doi: 10.17221/316/2015-CJFS.

IF₂₀₁₅ = 0.728; Q3

- Podíl autora: separace mykotoxinu, analýza vzorků, zpracování dat, příprava a revize publikace

Toman, J., Malir, F., Ostry, V., Kilic, M. A., Roubal, T., Grosse, Y., Pfohl-Leszkowicz, A. (2018)

Transfer of ochratoxin A from raw black tea to tea infusions prepared according to the Turkish tradition.

Journal of the Science of Food and Agriculture **98 (1)**: 261-265. doi: 10.1002/jsfa.8464.

IF₂₀₁₇ = 2.379; Q1/Q2/Q2

- Podíl autora: sběr vzorků, separace mykotoxinu, zpracování dat, příprava a revize publikace

Toman, J., Ostry, V., Grosse, Y., Roubal, T., Malir, F. (2018)

Occurrence of ochratoxin A in *Astragalus propinquus* root and its transfer to decoction.

Mycotoxin Research **34(3)**: 223-227. doi: 10.1007/s12550-018-0317-2.

IF₂₀₁₇ = 2.854; Q2/Q2

- Podíl autora: sběr vzorků, separace mykotoxinu, analýza vzorků, zpracování dat, příprava a revize publikace

Ostry, V., Malir, F., Cumova, M., Kyrova, V., **Toman, J.**, Grosse, Y., Pospichalova, M., Ruprich, L. (2018)

Investigation of patulin and citrinin in grape must and wine from grapes naturally contaminated by strains of *Penicillium expansum*.

Food and Chemical Toxicology **118**: 805-811. doi: 10.1016/j.fct.2018.06.022.

IF₂₀₁₇ = 3.977; Q1/Q1

- Podíl autora: příprava a revize publikace

II. Část

Analýzy biomarkerů expozice nefrotoxických mykotoxinů u pacientů s nádory ledvin

Malir, F., Louda, M., Ostry, V., **Toman, J.**, Ali, N., Grosse, Y., Malirova, E., Pacovsky, J., Pickova, D., Brodak, M., Pfohl-Leszkowicz, A., H. Degen, GH. (2019)

Analyses of biomarkers of exposure to nephrotoxic mycotoxins in a cohort of patients with renal tumours

Mycotoxin Research. doi: 10.1007/s12550-019-00365-9- Přijato k publikaci dne 17. 6. 2019

IF₂₀₁₈ = 3.741; Q1/Q1

- Podíl autora: sběr vzorků, separace mykotoxinů, analýza vzorů. zpracování dat, rešerše, příprava a revize publikace

III. Část

Rešeršní práce

Malir, F., Ostry, V., Pfohl-Leszkowicz, A., Malir, J., **Toman, J.** (2016)

Ochratoxin A: 50 Years of Research.

Toxins (Basel) **8 (7)**: 1-49. doi: 10.3390/toxins8070191.

IF₂₀₁₅ = 3.571; Q2

- Podíl autora: rešerše, příprava a revize publikace,

Ostry, V., Malir, F., **Toman, J.**, Grosse, Y. (2017)

Mycotoxins as human carcinogens-the IARC Monographs classification.

Mycotoxin Research **33 (1)**: 65-73. doi: 10.1007/s12550-016-0265-7.

IF₂₀₁₆ = 2.706; Q2/Q2

- Podíl autora: rešerše, příprava a revize publikace

Ostry, V., **Toman, J.**, Grosse, Y., Malir, F. (2018)

Cyclopiazonic acid: 50th anniversary of its discovery.

World Mycotoxin Journal **11(1)**: 135-148. doi: 10.3920/WMJ2017.2243.

IF₂₀₁₇ = 1.727; Q3/Q3/Q4

- Podíl autora: rešerše, příprava a revize publikace

4.1 Komentář č. 1: Přejchod ochratoxinu A do nápojů připravených z čaje a kávy

Cílem této práce bylo zjistit, jaký je procentuální přechod OTA do výsledných nápojů připravených z různých matric, a tím zjistit reálný přívod OTA z těchto nápojů jako podklad pro „Total diet study“.

Pro správnou interpretaci výsledků je třeba zjišťovat kontaminaci potravin v podobě „as consumed“ a nikoliv „as purchased“, což se ještě celkem často objevuje.

Tato publikace vznikla na základě výsledků z mé diplomové práce Stanovení mykotoxinu ochratoxinu A v kávě, která byla v rámci doktorského studia rozšířena o výsledky stanovení OTA v černých a ovocných čajích.

Jedním z vedlejších výsledků práce bylo i stanovení OTA v samotných matricích pražené kávy a čaje dostupných na českém trhu, a kontrola těchto komodit, zda neobsahují nadlimitní množství OTA stanovených Nařízením Evropské komise.

Bylo zjištěno, že způsob přípravy má velký vliv na obsah OTA ve výsledných nápojích.

4.2 Komentář č. 2: Výskyt ochratoxinu A v bílé a předvařené rýži

Práce se zabývá stanovením OTA v bílé a předvařené rýži dostupné na českém trhu.

Z globálního pohledu je rýže druhou nejčastěji konzumovanou obilninou. Vzhledem ke způsobu pěstování je rýže ideálním substrátem pro růst plísní a následnou kontaminaci mykotoxiny, v zemích původu bývá často kontaminována jejich širokým spektrem. Navíc zdlouhavá doprava a dlouhodobé skladování rýže, často v nevhodných podmínkách, vede k její sekundární kontaminaci.

Všechny vzorky rýže nakoupené na českém trhu obsahovaly OTA pod limitem stanovitelnosti (<0,2 ng OTA/g)

4.3 Komentář č. 3: Přechod ochratoxinu A z černého čaje do nálevů připravených tradiční tureckou metodou

Na základě předchozí publikace, viz Komentář č. 1, jsme byli osloveni kolegou z Turecka dr. Mehmet Akif Kilicem, zda bychom prověřili obsah OTA v černých čajích z Černomořského regionu, které zaslal, a zjistili přechod OTA do nálevů připravených tradiční tureckou metodou. V rámci studie byly také prověřeny čaje z Černomořského regionu zakoupené na trhu v České republice.

Tradiční turecký postup přípravy nálevu se značně liší od přípravy běžné pro většinu evropských domácností, avšak tato metoda je hojně využívána v čajovnách.

Z našeho šetření vyplývá, že procentuální přechod OTA do nálevů připravovaných tradiční tureckou metodou se významně od evropské přípravy neliší, ale vzhledem k množství použitého černého čaje, použitého pro přípravu adekvátního objemu nálevu, je přívod OTA vyšší. Opět se potvrdilo, jak důležité je zjišťovat kontaminaci potravin v podobě „as consumed“ a nikoliv „as purchased“.

4.4 Komentář č. 4: Výskyt ochratoxinu A v kořenu *Astragalus propinquus* a jeho přechod do odvarů

Tradiční Čínská Medicína se postupně rozšiřuje do celého světa. K léčebným účelům využívá velké množství medicínálních bylin s mnoha benefičními účinky. Doposud však nejsou stanoveny platné limity některých látek např. ochratoxin A a jiné mykotoxiny, které mohou tyto byliny kontaminovat.

Tato publikace pojednává o prvním záchytu významné koncentrace OTA v kořeni kozince (*Astragalus propinquus* Schischkin) v České republice. Ačkoliv má kozinec velmi mnoho benefičních účinků pro lidské zdraví, vysoké nálezy OTA však představují značné „negativní“ riziko, a to nejen jako možný etiologický faktor v poškození ledvin. V rámci studie bylo provedeno měření OTA jak v matrici, tak v samotných odvarech, nejčastější formě konzumace a byl stanoven denní přívod OTA prostřednictvím odvaru.

Na tyto závažné výsledky byla e-mailem upozorněna Ing. Ivana Poustková, Ph.D., ministerský rada na odboru bezpečnosti potravin, Ministerstva zemědělství ČR. Státní zemědělská a potravinářská inspekce provedla na základě výzvy dr. Poustkové cílený monitoring výskytu OTA v kořenu kozince a potvrdila výskyt OTA. Na základě získaných výsledků z monitorování se o těchto výsledcích bude jednat na zasedání výboru pro zemědělské kontaminanty v rámci DG SANTE (Generálního ředitelství pro zdraví a bezpečnost potravin) při Evropské Komisi v Bruselu a na tomto základu bude na zasedání výboru pro zemědělské kontaminanty vyvolána potřeba stanovit hygienický limit pro obsah OTA v kořeni kozince.

Je možno také očekávat, že záchyty OTA v kořeni kozince budou také nahlášeny do systému RASFF.

Na problematice výskytu OTA v kořeni kozince se dále pracuje. V současnosti je připravována publikace s názvem: *Astragalus propinquus* Schischkin root – A significant source of the mycotoxins?, kde je pomocí multimykotoxinové metody sledováno množství jednotlivých mykotoxinů v matrici. Jmenovitě aflatoxin B₁, aflatoxin B₂, aflatoxin G₁, aflatoxin G₂, zearalenon, T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol, nivalenol, fusarenon X, deoxynivalenol, 3-acetyl-deoxynivalenol, 15-acetyl-deoxynivalenol, deoxynivalenol-3-glykosid a samozřejmě ochratoxin A. Současně probíhá i klasické mykologické vyšetření vzorků a následně na zahraničním pracovišti bude ještě zrealizováno PCR stanovení VMH v této matrici a DNA sekvenování.

4.5 Komentář č. 5: Stanovení patulinu a citrininu ve vinném moštu a víně z hroznů přirozeně kontaminovaných kmeny *Penicillium expansum*

Vzhledem ke globálnímu oteplování a z toho plynoucího zvýšení průměrných teplot, je nezbytné zvážit, jak se změny klimatu projevují na zvýšení nárůstu teplomilných plísní, které se vyskytují čím dál severněji, a tím potažmo produkce mykotoxinů.

Publikace popisuje vyšetření hroznů různých odrůd vinné révy na přítomnost různých kmenů VMH *Penicillium expansum*, a následně výskyt patulinu a citrininu ve vinném moštu a vína z těchto odrůd vyrobených.

4.6 Komentář č. 6: Analýza biomarkerů expozice nefrotoxickým mykotoxinům u pacientů s nádory ledvin

Dne 14. března 2019, si světová veřejnost opětovně připomenula Světový den ledvin. Cílem bylo zvýšit informovanost zdravotníků a laické veřejnosti o nemocech ledvin, jejich včasné diagnostice a možnostech léčby. Světový den ledvin společně vyhláší Mezinárodní federace nadací pro nemoci ledvin (International Federation of Kidney Foundations) a Mezinárodní nefrologická společnost (International Society of Nephrology).

Odhaduje se, že přibližně 850 miliónů lidí po celém světě trpí onemocněním ledvin. Chronické onemocnění ledvin tak způsobuje nejméně 2,4 milionu úmrtí za rok a je v současnosti 6. nejrychleji rostoucí příčinou úmrtí. Hlavní téma letošního Světového dne ledvin „Zdravé ledviny pro každého a kdekoliv“ se snaží zvýšit povědomí o neustále rostoucím zatížení, které způsobuje onemocnění ledvin u osob na celém světě, a upozornit na nutnost odpovídajících preventivních strategií a léčby onemocnění ledvin.

O onemocnění svých ledvin neví až 40 % pacientů, a to až do chvíle, kdy je akutní problém donutí přijít do nemocnice. Nemocné ledviny nebolí, první příznaky

onemocnění se projevují obvykle až v době, kdy funkce ledvin klesne pod 40 % původní kapacity a pacient musí nastoupit na dialýzu.

Mezi varujícími příznaky jsou bolesti hlavy, slabost, únava, nechutenství, opakované zvracení, častější močení, zvláště v noci, zvýšená žízeň, bledá kůže a vysoký tlak. Pokud se nemoc včas zjistí a léčí, může se úplně vyléčit, nebo alespoň zpomalit. Je tak možné oddálit nutnost dialýzy.

Nějakou formou poškození ledvin trpí deset procent lidí, a v příštích několika letech se podle odhadu Světové zdravotnické organizace zvýší počty nemocných na celém světě o 17 procent.

Česká republika zaujímá v posledních letech první místo na světě ve výskytu nádorů ledvin a vývodných močových cest. Byla položena hypotéza, zda se právě nefrotoxické mykotoxiny, OTA, CIT, DH-CIT, nemohou na tomto onemocnění významně podílet.

Kromě této publikace, kde se biomarkery těchto mykotoxinů stanovovaly v moči, krevním séru a plazmě, je ještě připravována publikace s názvem: *Occurrence of ochratoxin A in kidney tissue from patients suffering renal cell carcinoma*, kde se pojednává o stanovení OTA ve tkáni ledviny a nádoru u pacientů s adenokarcinomem ledvin a možných synergických účincích s dalšími nefrotoxicky působícími mykotoxiny.

4.7 Komentář č. 7: Ochratoxin A: 50 let výzkumu

V roce 2015 uplynulo padesát let od objevu ochratoxinu A. Tato publikace pojednává o důležitých historických meznících výzkumu OTA, jeho vlastnostech, charakteristice a toxicitě, výskytu, nálezech, separačních metodách i stanovení.

4.8 Komentář č. 8: Mykotoxiny jako lidské karcinogeny – klasifikace dle monografií IARC

Vzhledem k nepřetržitému výzkumu a vývoji nových metod, se vyvíjí i klasifikace nebezpečnosti toxických látek. Tato publikace shrnuje vývoj hodnocení mykotoxinů na základě jejich karcinogenity dle IARC (International Agency for Research on Cancer – Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny).

Na základě informace profesora E. Uslebera, hlavního editora časopisu Mycotoxin Research, v rámci 41. Mycotoxin Workshopu v Lisabonu z května 2019 se právě tato publikace stala druhým nejcitovanějším článkem roku 2018 v časopise Mycotoxin Research.

4.9 Komentář č. 9: Kyselina cyklopiazonová: Padesáté výročí od objevení

V roce 2018 uplynulo padesát let od objevu kyseliny cyklopiazonové. Tato publikace pojednává o důležitých historických meznících jejího výzkumu, jejích vlastnostech, charakteristice, výskytu, nálezech, separačních metodách i stanovení.

5 Závěr

Předložená disertační práce shrnuje publikovanou experimentální práci v rámci mého doktorského studia. Věnuje se hledání nových expozičních zdrojů OTA a dalších mykotoxinů, problematice biomarkerů expozice nefrotoxickým mykotoxinům u pacientů s nádory ledvin a rešeršním pracím o ochratoxinu A, dále kyselině cyklopiazonové a hodnocení mykotoxinů dle klasifikace IARC, WHO.

Publikované výsledky výzkumu mají významný dopad na hodnocení lidského zdraví, a především pro ochranu veřejného zdraví, které je chápáno jako zdravotní stav obyvatelstva a jeho populačních skupin a je určováno souhrnem přírodních, životních a pracovních podmínek a způsobem života. Ochrana veřejného zdraví je činnost, která odstraňuje nebo zmenšuje zdravotní rizika, která jsou společensky nepřijatelná.

Právě globalizace potravinového trhu představuje riziko ohrožení zdraví populace, které může být celkové nebo orgánové – a to v důsledku nadměrného přívodu OTA či dalších mykotoxinů prostřednictvím kontaminovaných surovin a potravin nebo u chorobných stavů s narušenými fyziologickými a detoxikačními schopnostmi. V případě výskytu OTA v kozinci, čajích a kávě tomu tak skutečně je.

V historii lidstva byla popsána řada onemocnění a zdravotních poškození na nichž se podílely či podílejí mykotoxiny. Proto znalost koncentrací biomarkerů, např. OTA aj. je velmi důležitá pro srovnání vybraných skupin nemocných, kde lze předpokládat možný vliv a zapojení mykotoxinů, se zdravou „běžně“ exponovanou populací.

Možný dopad na lidské zdraví pak představuje navíc i synergické (souhlasné) působení OTA a aj. mykotoxinů, např. ze skupiny nefrotoxinů a dalších chemických kontaminantů, kterým je člověk exponován-a to ve smyslu adice (sumace) či dokonce potenciace nežádoucích účinků.

OTA představuje významné nebezpečí pro lidskou populaci díky svým toxickým vlastnostem a různorodému ročnímu výskytu v celé řadě různých druhů surovin a potravin. Proto mu musí být věnována významná a soustavná pozornost.

6 Použitá literatura

Austwick, P.C. (1981) Balkan nephropathy. *The Practitioner* 225: 1031–1038.

Azpilicueta, C.A., Arbeloa, M.I. & de Maquirriain, P.F.J. (2008) Natural and synthetic occurring forms of the ochratoxins. In: Papadopoulos, K.N., ed. *Food Chemistry Research Developments*. New York: Nova Science Publishers, 116.

Battilani, P., Toscano, P., Van der Fels-Klerx, H.J., Moretti, A., Camardo, Leggieri M., Brera, C., Rortais, A., Goumperis, T. & Robinson T. (2016) Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Sci Rep*, 6 doi: 10.1038/srep24328.

Bauer, K., Gekle, M. & Silbernagl, S. (1994) Ochratoxin A and kidney. In: *Proceedings of the 16th Mycotoxin Workshop Stuttgart-Hohenheim, May 1994, Ser. B 39 617*. LAF-Information, Sonderheft 1, 139.

Bendele, A., Carlton, W.W., Krogh, P. & Lillehoj, E.B. (1985). Ochratoxin A carcinogenesis in the (C57BL/6J X C3H) F1 mouse. *J Natl Cancer Inst*, 75: 733–742. doi: 10.1093/jnci/75.4.733.

Bennett, J.W. & Klich, M. (2003) Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, 16(3): 497–516. doi: 10.1128/CMR.16.3.497-516.2003.

Bhat, R., Rai, R.V. & Karim, A.A. (2010) Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Compr Rev Food Sci F*, 9: 57–81. doi:10.1111/j.1541-4337.2009.00094.x.

Biasucci, G., Calabrese, G., Di Giuseppe, R., Carrara, G., Colombo, F., Mandelli, B., Maj, M., Bertuzzi, T., Pietri, A. & Rossi, F. (2011) The presence of Ochratoxin A in cord serum and in human milk and its correspondence with maternal dietary habits. *Eur J Nutr*, 50(3): 211–218. doi: 10.1007/s00394-010-0130-y.

Boorman, G.A., Margarita, R.M., Imto, S. & Persing, R. (1992) Renal lesions induced by ochratoxin A exposure in the F344 rat. *Toxicol Pathology*, 20(2): 236–245. doi: 10.1177/019262339202000210.

Breitholtz-Emanuelsson, A., Olsen, M., Oskarsson, A., Palminger, I. & Hult, K. (1993) Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. *J AOAC Int*, 76: 842–846.

Castegnaro, M., Mohr, U., Pfohl-Leszkowicz, A., Esteve, J., Steinmann, J., Tillmann, T., Michelon, J. & Bartsch, H. (1998). Sex- and strain-specific induction of renal tumors by ochratoxin A in rats correlates with DNA adduction. *Inter J Cancer*, 77: 70–75. doi: 10.1016/S0022-5347(05)68672-7.

Castegnaro, M., Canadas, D., Vrabcheva, T., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. & Pfohl-Leszkowicz, A. (2006) Balkan Endemic Nephropathy: Role of ochratoxins A through biomarkers. *Mol Nutr Food Res*, 50: 519–529. doi: 10.1002/mnfr.200500182.

Cayman Chemical Company (2013) Safety data sheet Ochratoxin A [online]. 2013. (Cit. 22.8.2017). Dostupné z WWW: <<https://www.caymanchem.com/msdss/11439m.pdf>>.

Chan, C.K., Liu, Y., Pavlović, N.M. & Chan, W. (2018) Etiology of Balkan Endemic Nephropathy: An Update on Aristolochic Acids Exposure Mechanisms. *Chem Res Toxicol*, 31(11): 1109-1110. doi: 10.1021/acs.chemrestox.8b00291.

Creppy, E.E., Chiarappa, P., Baudrimont, P., Borracci, P., Moukha, S. & Carratu M.R. (2004) Synergistic effects of fumonisin B₁ and ochratoxin A: are in vitro cytotoxicity data predictive of in vivo acute toxicity? *Toxicology*, 201(1-3): 115-123. doi: 10.1016/j.tox.2004.04.008.

Dahlmann, A., Dantzler, W.H., Silbernagl, S. & Gekle M. (1998) Detailed mapping of ochratoxin A reabsorption along the rat nephron in vivo: the nephrotoxin can be reabsorbed in all nephron segments by different mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther*, 286(1): 157-62.

Degen, G.H., Mayer, S. & Blaszkewicz M. (2007) Biomonitoring of ochratoxin A in grain workers. *Mycotox Res*, 23: 88–93. doi: 10.1007/BF02946032.

Domijan, A.M., Rudes, K. & Peraica, M. (2005) The effect of ochratoxin A on the concentration of protein carbonyls in rats. *Arch Indhyc Occ Med*, 56(4): 311–315.

Duarte, S., Pena, A. & Lino, C. (2011) Human Ochratoxin A biomarkers—from exposure to effect. *Crit Rev Toxicol*, 41, 187–212. doi: 10.3109/10408444.2010.529103.

EFSA. (2004) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to Ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. *EFSA J*, 101: 1–36.

EFSA. (2006) Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on request from the commission related to ochratoxin A in food. *EFSA J*, 365: 1–56.

European Commission. (1998) Opinion on ochratoxin A, expressed on 17 September 1998. [online] (Cit. 9.5.2018). Scientific Committee on Food. Dostupné z WWW: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out14_en.html.

European Union. (2002) Assessment of dietary intake of Ochratoxin A by the population of EU member states. Report of experts participating in Task 3.2.7 Reports on Tasks for Scientific Cooperation. 2002. [online] (Cit. 9.5.2018). Dostupné z WWW: http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/index_en.html.

Evropská Komise. (2006) Nařízení komise (EU) 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách [online]. 2006. (Cit. 9.4.2018). Dostupné z WWW: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>.

Evropská Komise. (2010) Nařízení komise (EU) 105/2010 ze dne 5. února 2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o ochratoxin A [online]. 2010. (Cit. 9. 4. 2018). Dostupné z WWW <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010R0105&from=CS>.

Evropská Komise. (2012) Nařízení komise (EU) 594/2012 ze dne 6. července 2012, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o ochratoxin A, PCB bez dioxinového efektu a melaminu v potravinách [online]. 2012. (Cit. 9. 4. 2018). Dostupné z WWW <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010R0105&from=CS>.

Evropská Komise. (2015) Nařízení komise (EU) 2015/1137 ze dne 13. července 2015, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limit ochratoxinu A v kořeni *Capsicum* spp. [online]. 2015. (Cit. 9. 4. 2018). Dostupné z WWW <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1137&from=CS>.

Faucet, V., Pfohl-Leszkowicz, A., Dai, J., Castegnaro, M. & Manderville, R.A. (2004) Evidence for covalent DNA adduction by Ochratoxin A following chronic exposure to rat and subacute exposure to pig. *Chem Res Toxicol*, 17: 1289–1296. doi: 10.1021/tx049877s.

Faucet-Marquis, V., Pont, F., Størmer, F.C., Rizk, T., Castegnaro, M. & Pfohl-Leszkowicz, A. (2006) Evidence of a new dechlorinated OTA derivative formed in opossum kidney cell cultures after pre-treatment by modulators of glutathione pathways. Correlation with DNA adducts formation. *Mol Nutr Food Res*, 50: 530–542. doi: 10.1002/mnfr.200500219.

Forgacs, J. & Carll, W.T. (1955) Preliminary mycotoxic studies on hemorrhagic disease in poultry. *Vet Med*, 50: 72.

Fuchs, R. & Peraica M. (2005) Ochratoxin A in human kidney disease. *Food Addit Contam*, 1(1): 53–57. doi: 10.1080/02652030500309368.

Gareis, M., Martlbauer, E., Bauer, J. & Gedek, B. (1988) Determination of Ochratoxin A in human milk. *Proc Jpn Assoc Mycotoxicol*, 61–62. doi: 10.2520/myco1975.1988.1Supplement_61.

Gekle, M. & Silbernagl, S. (1994) The role of the proximal tubule in ochratoxin A nephrotoxicity in vivo: toxodynamic and toxokinetic aspects. *Ren Physiol Biochem*, 17(1): 40-9.

Gekle, M., Sauvant, C. & Schwerdt G. (2005). Ochratoxin A at nanomolar concentrations: A signal modulator in renal cells. *Mol Nutr Food Res*, 49: 118–130. doi: 10.1002/mnfr.200400062.

- Gilbert, J., Brereton, P. & MacDonald, S. (2001) Assessment of dietary exposure to Ochratoxin A in the UK using a duplicate diet approach and analysis of urine and plasma samples. *Food Addit Contam*, 18: 1088–1093. doi: 10.1080/02652030110070030.
- Grenier, B. & Oswald, I.P. (2011) Mycotoxin co-contamination of food and feed: Meta-analysis of publications describing toxicological interactions. *World Mycotox J*, 4(3): 285–313. doi: 10.3920/wmj2011.1281.
- Grollman, A.P. & Jelakovic, B. (2007) Role of environmental toxins in endemic (Balkan) nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 18: 2817–2823. doi: 10.1681/ASN.2007050537.
- Grosso, F., Saïd, S., Mabrouk, I., Fremy, J., Castegnaro, M., Jemmali, M. & Dragacci, S. (2003) New data on the occurrence of Ochratoxin A in human sera from patients affected or not by renal diseases in Tunisia. *Food Chem Toxicol*, 41: 1133–1140.
- Halstensen, A.S., Nordby, K.C., Elen, O. & Eduard, W. (2004) Ochratoxin in grain dust-estimated exposure and relations to agricultural practices in grain production. *Ann Agric Environ Med*, 11: 245–254.
- Heussner, A.H. & Bingle, L.E.H. (2015) Comparative ochratoxin toxicity: a review of the available data. *Toxins*, 7: 4253–4282. doi:10.3390/toxins7104253.
- IARC. (1983) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans: some food additives, feed additives and naturally occurring substances. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 31: 191–206.
- IARC. (2012) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, A review of human carcinogens: Chemical agents and related occupations. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 100F: 255-248.
- Iavicoli, I., Brera, C., Carelli, G., Caputi, R., Marinaccio, A. & Miraglia, M. (2002) External and internal dose in subjects occupationally exposed to ochratoxin A. *Int Arch Occup Environ Health*, 75: 381–386. doi: 10.1007/s00420-002-0319-3.

JECFA. (2008) Ochratoxin A (addendum). In Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Prepared by the sixty- eight meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives, June 19-28, 2007, Geneva, Switz. WHO food additive series, Vol. 59. Geneva, Switz.: Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO), World Health Organization (WHO). 169-180, 357-429, 454.

Jennings-Gee, J.E., Tozlovanu, M., Manderville, R.A., Miller, M.S., Pfohl-Leszkowicz, A. & Schwartz, G.G. (2010) Ochratoxin A: In Utero Exposure in Mice Induces Adducts in Testicular DNA. *Toxins*, 2: 1428-1444. doi: 10.3390/toxins2061428.

Jonsyn, F.E. (2001) Seasonal variation in exposure frequency and concentration levels of aflatoxins and ochratoxins in urine samples of boys and girls. *Mycopathologia*, 152: 35-40. doi: 10.1023/A:1011950512675.

Kensler, T. W., Roebuck, B. D., Wogan, G. N. & Groopman, J. D. (2011) Aflatoxin: a 50 year odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicol Sci*, 120(1): 28-48. doi: 10.1093/toxsci/kfq283.

Klaasen, C. (2007) Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 7. vyd. New York: McGraw-Hill. ISBN 0-07-147051-4.

Kuiper-Goodman, T. & Scott, P.M. (1989) Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomed Environ Sci*, 2(3): 179-248.

Kuiper-Goodman, T. (1991) Risk assessment in: Castegnaro, M., Plestina, R., Dirheimer, G., Chernozemsky, I. N., Bartsch, H. (eds.), *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours*, IARC Sciences Publication, 115: 307-320.

Kuiper-Goodman, T., Hilts, C., Billiard, S.M., Kiparissis, Y., Richard, I.D.K. & Hayward, S. (2010) Health risk assessment of ochratoxin A for all age-sex strata in a market economy. *Food Addit Contam Part A*, 27(2): 212-240. doi: 10.1080/02652030903013278.

Lock, E.A. & Hard G.C. (2004) Chemically induced renal tubule tumours in the laboratory rat and mouse: Review of the NCI/NTP diabase and categorization of renal carcinogens based on mechanistic information. *Crit Rev Toxicol*, 34: 211-299.

Malíř, F., Roubal, T., Severa, J., Černá, M. & Brndiar, M. (2002) Stanovení ochratoxinu A (OTA) v lidských ledvinách. *Vojenské zdravotnické listy*, 71(1): 33–36.

Malíř, F., Ostrý, V., Bárta, I., Buchta, V., Dvořáčková, I., Paříková, J., Severa, J. & Škarková, J. (2003) Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů. ISBN 80-7013-395-3.

Malir, F., Ostry, V., Grosse, Y., Roubal, T., Skarkova, J. & Ruprich, J. (2006) Monitoring the mycotoxins in food and their biomarkers in the Czech Republic. *Mol Nutr Food Res*, 50(6): 513-518.

Malíř, F. & Ostrý, V. (2012) Aflatoxiny – toxické účinky u člověka. *Kontakt*, 14(1): 85–93. ISSN 1804-7122.

Malir, F., Ostry, V., Pfohl-Leszkowicz, A. & Roubal, T. (2012) Ochratoxin A exposure biomarkers in the Czech Republic and comparison with foreign countries. *Biomarkers*, 17: 577–589. doi: 10.3109/1354750X.2012.692392.

Malir, F., Ostry, V. & Novotna, E. (2013) Toxicity of the mycotoxin Ochratoxin A in the light of recent data. *Toxin Rev* 32: 19–33. doi: 10.3109/15569543.2013.782504.

Malir, F., Ostry, V., Pfohl-Leszkowicz, A., Malir, J. & Toman, J. (2016) Ochratoxin A: 50 Years of Research. *Toxins (Basel)* 8(7): 1-49. doi: 10.3390/toxins8070191.

Mally, A., Decker, M., Bekteshi, M. & Dekant, W. (2006). Ochratoxin A alters cell adhesion and gap junction intercellular communication in MDCK cells. *Toxicol*, 223: 15–25. doi: 10.1016/j.tox.2006.02.024.

Mally, A., Hard, G.C. & Dekant, W. (2007) Ochratoxin A as a potential etiologic factor in endemic nephropathy: Lessons from toxicity studies in rats. *Food Chem Tox*, 45: 2254–2260. doi: 10.1016/j.fct.2007.05.021.

Mally, A. & Dekant, W. (2009) Mycotoxins and the kidney: Modes of action for renal tumor formation by ochratoxin A in rodents. *Mol Nutr Food Res*, 53: 467–478. doi: 10.1002/mnfr.200800149.

Mantle, P.G. (2002) Risk assessment and the importance of ochratoxins. *Int Biodeter Biodegr*, 50: 143–146. doi: 10.1016/S0964-8305(02)00079-3.

Mantle, P.G., Kulinskaya, E. & Nestler, S. (2005) Renal tumourigenesis in male rats in response to chronic dietary ochratoxin A. *Food Addit Contam*, 22: 58-64. doi: 10.1080/02652030500358431.

Mantle, P.G. & Kulinskaya, E. (2010) Lifetime, low-dose ochratoxin A dietary study on renal carcinogenesis in male Fischer rats. *Food Addit Contam A*, 27: 1566–1573. doi: 10.1080/19440049.2010.502302.

Marroquín-Cardona, A.G., Johnson, N.M., Phillips, T.D. & Hayes, A.W. (2014) Mycotoxins in a changing global environment – A review, *Food and Chem Toxicol*, 69: 220–230, doi: 10.1016/j.fct.2014.04.025.

Martins, M.L., Gimeno, A., Martins, H.M. & Bernardo, F. (2002) Co-occurrence of patulin and Citrinin in Portuguese apples with rotten spots. *Food Add Contam*, 19: 568–574. doi: 10.1080/02652030210121320.

Muñoz, K., Blaszkewicz, M. & Degen, G. (2010) Simultaneous analysis of ochratoxin A and its major metabolite ochratoxin alpha in plasma and urine for an advanced biomonitoring of the mycotoxin. *J Chromatogr*, 878: 2623–2629. doi: 10.1016/j.jchromb.2009.11.044.

MZe. (2018) Odbor bezpečnosti potravín. Kontaminanty v potravinách – prehľad hlavných tém diskutovaných v EK. [online]. 2018, Informační centrum bezpečnosti potravín. (Cit. 20.2.2018). Dostupné z WWW: <<http://www.bezpecnostpotraviny.cz/kontaminanty-v-potravinach-prehled-hlavnich-temat-diskutovanych-v-ek.aspx>>.

Nedelko, T., Arlt, V.M., Phillips, D.H. & Hollstein, M. (2009) TP53 mutation signature supports involvement of aristolochic acid in the etiology of endemic nephropathy-associated tumors. *Int J Cancer*, 124: 987–990. doi: 10.1002/ijc.24006.

Newberne, P.M. (1974) Mycotoxins: toxicity, carcinogenicity, and the influence of various nutritional conditions. *Environ Health Perspect*, 9: 1-32.

O'Brien, E. & Dietrich, D.R. (2005) Ochratoxin A: The continuing enigma. *Crit Rev Toxicol*, 35: 33–60. doi: 10.1080/10408440590905948.

- Ostrý, V. (1998) Vlákňité mikroskopické houby (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Státní zdravotní ústav, Praha. ISBN 80-7071-102-7.
- Ostry, V., Ruprich, J. & Cerna, M. (1998) The determination of ultra-trace amounts of aflatoxin M1 in human urine in the Czech Republic. *Révue Méd Vét*, 149: 712.
- Ostry, V., Skarkova, J., Malir, F. & Sykorova, S. (2004) Advances on the occurrence of toxinogenic fungi and mycotoxins in the Czech Republic, in: Logrieco, A., Visconti, A., (ed) *An Overview on Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Europe*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 67-81.
- Ostrý, V. (2012) Ochratoxin A: Mykotoxin v potravinových surovinách rostlinného původu ve světle nejnovějších poznatků. *Česká společnost rostlinolékařská*, 1-5.
- Ostry, V., Malir, F. & Ruprich, J. (2013) Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. *Toxins*, 5(9): 1574–1586. doi: 10.3390/toxins5091574.
- Ostry, V., Malir, F., Dofkova, M., Skarkova, J., Pfohl-Leszkowicz, A. & Ruprich, J. (2015) Ochratoxin A Dietary Exposure of Ten Population Groups in the Czech Republic: Comparison with Data over the World. *Toxins*, 7(9): 3608–3635. doi: 10.3390/toxins7093608.
- Ostry, V., Malir, F., Jefremova, M. & Ruprich, J. (2016) Global warming, climate change and the safety of food of animal origin. *Maso International – Journal of Food Science and Technology*, 5(2): 81–86.
- Patočka, J., Bajgar, J., Cabal, J., Fusek, J., Herink, J., Kassa, J. & Štětina, R. (2004) *Vojenská toxikologie*. Praha: Grada Publishing a.s. ISBN 978-80-247-6353-8.
- Pepelnjak, S. & Segvic-Klaric, M. (2010) „Suspects“ in Etiology of Endemic Nephropathy: Aristolochic Acid versus Mycotoxins. *Toxins*, 2: 1414–1427. doi: 10.3390/toxins2061414.
- Peraica, M., Domijan, A.M. & Sarić, M. (2008) Mycotoxic and aristolochic acid theories of the development of endemic nephropathy. *Arh Hig Rada Toksikol*, 59(1): 59-65. doi: 10.2478/10004-1254-59-2008-1865.

Petzinger, E. & Ziegler, K. (2000) Ochratoxin A from a toxicological perspective. *J Vet Pharmacol Ther*, 23: 91–98. doi: 10.1046/j.1365-2885.2000.00244.x.

Pfohl-Leszkowicz, A., Grosse, Y., Castegnaro, M., Nicolov, I. G., Chernozemsky I. N., Bartsch, H., Betbeder, A. M., Creppy, E. E. & Dirheimer, G. (1993) Ochratoxin A related DNA adducts in urinary tract tumours of Bulgarian subjects. In: Phillips, D. H., Castegnaro, M., Bartsch, H., (ed). *IARC Sci. Publ*, 124: 141–148.

Pfohl-Leszkowicz, A., Pinelli, E., Bartsch, H., Mohr, U. & Castegnaro, M. (1998) Sex and strain differences in Ochratoxin A metabolism and DNA adduction in two strains of rats. *Mol Carcinogenesis*, 23: 76–83. doi: 10.1002/(SICI)1098-2744(199810)23:2<76::AID-MC4>3.0.CO;2-B.

Pfohl-Leszkowicz, A., Bartsch, H., Azemar, B., Mohr, U., Esteve, J. & Castegnaro, M. (2002a) MESNA protects rats against nephro-toxicity but not carcinogenicity induced by Ochratoxin A, implicating two separate pathways. *Facta universitatis, series Medicine & Biology*, 9: 57–63.

Pfohl-Leszkowicz, A., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. & Castegnaro, M. (2002b) Balkan Endemic Nephropathy and associated Urinary tract tumours: A review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food Addit Contam*, 19: 282–302. doi: 10.1080/02652030110079815.

Pfohl-Leszkowicz, A., Tozlovanu, M., Stepanovic, J., Stefanovic, V., Manderville, R.A. & Castegnaro, M. (2006) Comparative genotoxicity of Ochratoxin A and aristolochic acid in human kidney cells: Interpretation of ongoing analyses of food, blood, urine and kidney tissue from Serbia. *Colleg Antropologic Suppl*, 30: 1–17.

Pfohl-Leszkowicz, A. & Manderville, R.A. (2007) Erratum: Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol Nutr Food Res*, 51: 61–99. doi: 10.1002/mnfr.200600137.

Pfohl-Leszkowicz, A., Tozlovanu, M., Manderville, R.A., Peraica, M., Castegnaro, M. & Stefanovic, V. (2007) New molecular and field evidences for the implication of mycotoxins but not aristolochic acid in human nephropathy and Urinary tract tumor. *Mol Nutr Food Res*, 51: 1131–1146. doi: 10.1002/mnfr.200700045.

- Pfohl-Leszkowicz, A., Molinie, A., Tozlovanu, M. & Manderville, R.A. (2008) Combined toxic effects of ochratoxin A and citrinin in vitro and in vivo. In: Siantar, D.P., Trucksess, M.W., Scott, P.M., Herman, E.M., eds. Food contaminants: mycotoxins & food allergen, ACS Symposium series 1001. Washington, DC: American Chemical Society, 56–80.
- Pfohl-Leszkowicz, A. (2009) Ochratoxin A and aristolochic acid involvement in nephropathies and associated urothelial tract tumours. *Arh Hig Rada Toksikol*, 60: 465–483. doi: 10.2478/10004-1254-60-2009-2000.
- Pfohl-Leszkowicz, A. & Manderville, R.A. (2012) An update on direct genotoxicity as a molecular mechanism of ochratoxin A carcinogenicity. *Chem Res Toxicol*, 25:252–262. doi:10.1021/tx200430f
- Pitt, J.I. (2000) Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br Med Bull*, 56(1): 184-192.
- Radford, R., Frain, H., Ryan, M.P., Slattery, C. & McMorrow, T. (2013) Mechanisms of chemical carcinogenesis in the kidneys. *Int J Mol Sci*, 14:19416–19433. doi: [10.3390/ijms141019416](https://doi.org/10.3390/ijms141019416).
- Ringot, D., Chango, A., Schneider, Y.J. & Larondelle, Y. (2006) Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A. *Chem-biol interact*, 159(1): 18–46. doi: 10.1016/j.cbi.2005.10.106.
- Ruprich, J. & Ostry, V. (1993) Study of human exposure to ochratoxin A and assesment of possible sources. *Cent Eur J Public Health*, 1: 46–48.
- Sava, V., Reunova, O., Velasquez, A., Harbison, R. & Sanchez-Ramos, J. (2006) Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite Ochratoxin A. *Neurotoxicology*, 27: 82–92. doi: 10.1016/j.neuro.2005.07.004.
- Sava, V., Velasquez, A., Song, S. & Sanchez-Ramos, J. (2007) Adult hippocampal neural stem/progenitor cells in vitro are vulnerable to the mycotoxin Ochratoxin A. *Toxicol Sci*, 98: 187–197. doi: 10.1093/toxsci/kfm093.
- Scott, P. (2005) Biomarkers of human exposure to ochratoxin A. *Food Addit Contam*, 22: 99–107. doi: 10.1080/02652030500410315.

Schlatter, C.H., Struder-Rohr, J. & Rásonyi, T.H. (1996) Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. *Food Addit Contam*, 13: 43–44.

Schwerdt, G., Holzinger, H., Sauvant, C., Königs, M., Humpf, H. & Gekle, M. (2007) Long-term effects of Ochratoxin A on fibrosis and cell death in human proximal tubule or fibroblast cells in primary culture. *Toxicology*, 232: 57–67. doi: 10.1016/j.tox.2006.12.008.

Speijers, G.J.A. & Speijers, M.H.M. (2004) Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicol Lett*, 153: 91–98. doi: 10.1016/j.toxlet.2004.04.046.

Stark, A.A. (1980) Mutagenicity and carcinogenicity of mycotoxins: DNA binding as a possible mode of action. *Annu Rev Microbiol*, 34: 235-262. doi: 10.1146/annurev.mi.34.100180.001315

Stiborova, M., Arlt, V.M. & Schmeiser, H.H. (2016) Balkan endemic nephropathy: an update on its aetiology. *Arch Toxicol*, 90:2595–2615. doi: [10.1007/s00204-016-1819-3](https://doi.org/10.1007/s00204-016-1819-3).

Suchý, P. & Herzig, I. (2005) Plísně a mykotoxiny, prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech. Výzkumný ústav živočišné výroby. [online]. (Cit. 27.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Hezig,%20Such%C3%BD-Plisne%20a%20mykotoxiny.pdf>>.

Stander, A.M., Nieuwoudt, T.W., Steyn, P.S, Shepard, G.S., Creppy, E.E & Sewram, V. (2001) Toxicokinetics of ochratoxin A in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*). *Arch Toxicol*, 75: 262–269. doi: 10.1007/s002040100227.

Stoev, S.D., Daskalov, H., Radic, B., Domijan, A.M. & Peraica, M. (2002) Spontaneous mycotoxic nephropathy in Bulgarian chickens with unclarified mycotoxin etiology. *Vet Res*, 33: 83–93. doi: 10.1051/vetres:2001008.

Stoev, S.D., Stefanov, M., Denev, S., Radic, B., Domijan, A.M. & Peraica, M. (2004) Experimental mycotoxicosis in chickens induced by ochratoxin A and penicillic acid and intervention with natural plant extracts. *Vet Res Commun*, 28: 727–746. doi: 10.1023/B:VERC.0000045960.46678.d3.

- Stojkovic, R., Hult, K., Gamulin, S. & Palestina R. (1984) High affinity binding of Ochratoxin A to plasma constituents. *Biochem Int*, 9(1): 33–38.
- Studer-Rohr, I., Schlatter, J. & Dietrich, D.R. (2000) Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of ochratoxin A plasma levels in humans. *Arch Toxicol*, 74: 499–510. doi: 10.1007/s002040000157.
- SZPI. (2018a) Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva RASFF, Státní zemědělská a potravinářská inspekce. [online]. (Cit. 18.4. 2018) Dostupné z WWW: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=searchResultList>.
- SZPI. (2018b) Zpráva o výsledcích plánované kontroly cizorodých látek v potravinách v roce 2017. Státní zemědělská a potravinářská inspekce. [online]. (Cit. 18.4. 2018) Dostupné z WWW: <http://www.szpi.gov.cz/clanek/zprava-o-vysledcich-planovane-kontroly-cizorodych-latek-v-potravinach-v-roce-2017.aspx>.
- Šimůnek, J. (2003) Mykotoxiny [online]. (Cit. 7.2.2018). Dostupné z WWW: http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/metody/mt_tox.htm.
- Timbrell, J.A. (1998) Biomarkers in toxicology. *Toxicology*, 129: 1–12. doi: 10.1016/S0300-483X(98)00058-4.
- Tozlovanu, M. & Pfohl-Leszkowicz, A. (2010) Ochratoxin A in roasted coffee from French supermarkets and transfer in coffee beverages: comparison of analysis methods. *Toxins (Basel)*, 2(8): 1928-1942. doi: doi: 10.3390/toxins2081928.
- Uchiyama, S. & Saito, Y. (1987) Protein binding potential of ochratoxin A in vitro and its fluorescence enhancement. *Journal of Food Hygienic Society of Japan* 28: 453–460. doi: 10.3358/shokueishi.28.453.
- Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S. & Fourie, L. (1965a) Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Nature*, 205: 1112–1113. doi: 10.1038/2051112a0.
- Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S. & Fourie, L. (1965b) Mycotoxins Part II. The constitution of Ochratoxins A, B and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. *J Chem Soc*, 204: 7083–7088.

Vrabcheva, T., Usleber, E., Dietrich, R. & Martlbauer, E. (2000) Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy. *J Agric Food Chem*, 48: 2483–2488. doi: 10.1021/jf990891y.

Vyhláška č. 379/2017 Sb. (2017) kterou se mění vyhláška č. 474/2002 Sb., kterou se provádí zákon č. 281/2002 Sb., o některých opatřeních souvisejících se zákazem bakteriologických (biologických) a toxinových zbraní a o změně živnostenského zákona, ve znění vyhlášky č. 74/2013 Sb. In: *Sbírka zákonů*, částka 133/2017: 4290-4307.

Weber, F., Freudinger, R., Schwerdt, G. & Gekle, M. (2005) A rapid screening method to test apoptotic synergisms of ochratoxin A with other nephrotoxic substances. *Toxicol in Vitro*, 19: 135–145. doi: 10.1016/j.tiv.2004.08.002.

Weidenbach, A. & Petzinger, E. (2004) Ochratoxin A: Toxicology of an abundant mycotoxin. *Curr Top Pharmacol*, 8: 235–250.

Wild, C.P. & Gong, Y.Y. (2010) Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, 31(1): 71-82. doi: 10.1093/carcin/bgp264.

Wu, Q., Dohnal, V., Huang, L., Kuca, K., Wang, X., Chen, G. & Yuan, Z. (2011) Metabolic Pathways of Ochratoxin A. *Curr Drug Metab*, 12: 1–10. doi: 10.2174/138920011794520026.

Zaied, C., Bouaziz, C., Azizi, I., Bensassi, F., Chour, A., Bacha, H. & Abid, S. (2011) Presence of Ochratoxin A in Tunisian blood nephropathy patients. Exposure level to OTA. *Exp Toxicol Pathol*, 63: 613–618. doi: 10.1016/j.etp.2010.05.001.

Zurich, M.G., Lengacher, S., Braissant, O., Monnet-Tschudi, F., Pellegrin, L. & Honegger, P. (2005) Unusual astrocyte reactivity caused by the food mycotoxin ochratoxin A in aggregating rat brain cell cultures. *Neurosci*, 134: 771–782. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.04.030.

7 Prezentace výsledků

7.1 Přednášky

Toman, J., Malir, F., Ostry, V., Roubal, T. (2014) Influence of different coffee drink preparation ochratoxin A content. Mykotoxíny 2014, Praha, Czech Republic, 23–24 October 2014, Zborník prednášok z konferencie.

Ostry, V., Malir, F., **Toman, J.** (2016) Co-occurrence/co-exposure of ochratoxin A and other mycotoxins – a topic for discussion. Mykotoxíny 2016, Bratislava, 22–23 September 2016, Zborník prednášok z konferencie.

Toman, J., Malir, F., Ostry, V. (2016) Transfer of ochratoxin A from black teas to tea beverages according to type of preparation. Mykotoxíny 2016, Bratislava, 22–23 September 2016, Zborník prednášok z konferencie.

Ostry, V., **Toman, J.**, Malir, F. (2018) Cyclopiazonic acid: 50 years of research. 40th Mycotoxin Workshop, Munich 11–13 June 2018, Conference Abstracts.

7.2 Postery

Malir, F., **Toman, J.**, Ostry, V., Pfohl-Leszkowicz, A., Faucet-Marquis, V., Roubal, T. (2014) Ochratoxin A (OTA) transfer from ground coffee to coffee drink according coffee preparations. 36th Mycotoxin Workshop, Göttingen, Germany, Society for Mycotoxin Research, 16–18 June 2014, Conference Abstracts.

Toman, J., Malir, F., Ostry, V., Dvorak, V., Roubal, T. (2015) An occurrence of ochratoxin A in white and parboiled rice. 37th Mycotoxin Workshop, Bratislava, Slovakia, Society for Mycotoxin Research, 1–3 June 2015, Conference Abstracts.

Ostry, V., Malir, F., Grosse, Y., **Toman, J.** (2016) Recent information about mycotoxins and the IARC classification of human carcinogens. 38th Mycotoxin Workshop, Berlin, Germany, Society for Mycotoxin Research, 2–4 May 2016, Conference Abstracts.

Toman, J., Malir, F., Ostry, V., Dvorak, V., Kotalova, K., Roubal, T. (2016) Prevalence of ochratoxin A and ochratoxigenic microfungi in medicinal herbs and black teas. 38th Mycotoxin Workshop, Berlin, Germany, Society for Mycotoxin Research, 2–4 May 2016, Conference Abstracts.

Toman, J., Louda, M., Malir, F., Ostry, V., Ali, N., Nevrla, J., Roubal, T., Pacovsky, J., Brodak, M., Degen, G. H., Pfohl-Leszkowicz, A. (2017) Determination of ochratoxin A, citrinin and aflatoxin M₁ in urine from patients with a renal cell carcinoma and urinary tract cancer. 39th Mycotoxin Workshop, Bydgoszcz, Poland, Society for Mycotoxin Research, 19–21 June 2017, Conference Abstracts.

- Oceněno jako nejlepší poster konference

Ostry, V., Cumova, M., Malir, F., Kyrova, V., **Toman, J.**, Grosse, Y., Pospichalova, M., Ruprich, L. (2018) Investigation of patulin and citrinin in grape must from grapes naturally contaminated by strains of *Penicillium expansum*. 40th Mycotoxin Workshop, Munich, Germany, Society for Mycotoxin Research, 11–13 June 2018, Conference Abstracts.

Toman, J., Louda, M., Brodak, M., Ostry, V., Rathgeb, A., Karlovsky, P., Degen G.H., Pfohl-Leszkowicz, A., Malir, F. (2018) Determination of ochratoxin A in kidney and tumour tissue from patients with renal cell carcinoma and urinary tract cancer. 40th Mycotoxin Workshop, Munich, Germany, Society for Mycotoxin Research, 11–13 June 2018, Conference Abstracts.

Toman, J., Pickova, D., Rathgeb, A., Malir, F., Ostry, V., Karlovsky, P. Astragalus propinquus Schischkin root – A significant source of the mycotoxins? 41st Mycotoxin Workshop, Lisboa, Portugal, Society for Mycotoxin Research, 6-8 May 2019, Conference Abstracts.

8 Účast na projektech a stážích

Specifický výzkum UHK - 2118/2015: Stanovení mykotoxinu ochratoxinu A a možné dopady na lidské zdraví

- hlavní řešitel

Specifický výzkum UHK - 2113/2016: Studium vybraných expozičních zdrojů ochratoxinu A a prevalence ochratoxinu A, citrininu a aflatoxinu M1 v biologickém materiálu pacientů s diagnózou nádorů ledvin a vývodných močových cest

- hlavní řešitel

Specifický výzkum UHK - 2105/2017: Specifický výzkum katedry biologie; Hodnocení dietární expozice ochratoxinu A v kozinci (*Astragalus* spp.) pro populaci v ČR; výskyt a konfirmace výsledků vybraných ochratoxinů v kozinci, v krvi a moči pacientů s nádory ledvin

- hlavní řešitel

Specifický výzkum UHK – 2109/2018: Výskyt ochratoxinu A v medicínálních rostlinách a doplňcích stravy

- spoluřešitel

Specifický výzkum UHK – 2112/2019: Výskyt mykotoxinů v kořeni, medicínálních rostlinách a doplňcích stravy

- spoluřešitel

TAČR ZÉTA 2 - TJ02000066: Výzkum laboratorní metody pro predikci tolerance ovocných plodin na sucho

- člen řešitelského týmu

09/2018–02/2019 Pracovní stáž (Německo), projekt Erasmus +

Georg-August-University Goettingen, Molecular Phytopathology and Mycotoxin Research

Školitel: Prof. Dr. Petr Karlovsky

Práce: Stanovení mykotoxinu ochratoxinu A ve tkáních nádorů a ledvin, zpracování a příprava vzorků kozince k multimykotoxinovému stanovení, specializace na HPLC-FLD – hardware, software, vývoj ultrastopové metody pro stanovení OTA, základy práce s Triple Quad LC/MS a Q-TOF LC/MS.

9 Přílohy

Seznam publikačních příloh

Příloha 1: Transfer of ochratoxin A into tea and coffee beverages

Příloha 2: The Occurrence of Ochratoxin A in White and Parboiled Rice

Příloha 3: Transfer of ochratoxin A from raw black tea to tea infusions prepared according to the Turkish tradition

Příloha 4: Occurrence of ochratoxin A in *Astragalus propinquus* root and its transfer to decoction

Příloha 5: Investigation of patulin and citrinin in grape must and wine from grapes naturally contaminated by strains of *Penicillium expansum*

Příloha 6: Analyses of biomarkers of exposure to nephrotoxic mycotoxins in a cohort of patients with renal tumours

Příloha 7: Ochratoxin A: 50 Years of Research

Příloha 8: Mycotoxins as human carcinogens-the IARC Monographs classification

Příloha 9: Cyclopiazonic acid: 50th anniversary of its discovery