

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

João Victor Batista da Silva

Uma visão geral sobre micotoxinas, seus efeitos patogênicos e
biomarcadores de exposição

Ribeirão Preto-SP
2022

João Victor Batista da Silva

Uma visão geral sobre micotoxinas, seus efeitos patogênicos e biomarcadores de exposição

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na biblioteca da unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Opção: Patologia Experimental

Orientadora: Prof^a Dra. Leandra Naira Zambelli Ramalho

Ribeirão Preto-SP

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Silva, João Victor Batista da

Uma visão geral sobre micotoxinas, seus efeitos patogênicos e biomarcadores de exposição. Ribeirão Preto, 2022.

109 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Patologia.

Orientador: Ramalho, Leandra Naira Zambelli.

1. Biomarcadores das micotoxinas. 2. Carcinogênese. 3. Exposição pré-natal. 4. Fungos. 5. Toxicidade. 6. Teratogenicidade

SILVA, João Victor Batista da

Uma visão geral sobre micotoxinas, seus efeitos patogênicos e biomarcadores de exposição.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do título de mestre em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____



O presente trabalho foi desenvolvido no Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES, Processo: 88887.518679/2020-00)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a toda minha família, em especial a meus pais, Gilberto e Nilda.

AGRADECIMENTOS

A DEUS que constrói os caminhos para que possamos seguir.

A toda a minha família, pois foram fiéis incentivadores em todas as etapas do desenvolvimento desse trabalho.

A toda a equipe do departamento de Patologia da FMRP, por todo o suporte e atenção durante todo o período de mestrado, em especial a Camila de Luca Zambonini Gimenes pelo pronto suporte em todos os momentos e ao Prof. Dr. Fernando Silva Ramalho por todas as oportunidades durante o período de mestrado.

A Profa. Dra. Leandra Naira Zambelli Ramalho por ter aceitado me orientar e ter tornado todo esse processo possível.

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira, por toda a orientação e ensinamentos em relação a micotoxinas.

A CAPES pelo suporte financeiro que viabilizou a realização dessa dissertação.

RESUMO

SILVA, J. V. B. **Uma visão geral sobre micotoxinas, seus efeitos patogênicos e biomarcadores de exposição.** 2022. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

As micotoxinas são produtos do metabolismo secundário de fungos e podem estar presentes nos alimentos como contaminantes. Essas substâncias são bem relevantes do ponto de vista de saúde global, levando-se em conta, que podem ser contaminantes de aproximadamente 25% de todo o alimento mundial. A exposição a essas toxinas é mais comum nos países em desenvolvimento, nos quais às altas taxas de desnutrição colaboram para a potencialização dos efeitos nocivos. Os efeitos adversos relacionados à exposição às micotoxinas podem se apresentar de forma aguda ou crônica e dentre eles destacam-se: hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, imunogenicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade e desordens nutricionais, sobretudo, em crianças das regiões mais pobres do globo. Esta dissertação tem como escopo principal discutir, com base em dois artigos de revisão narrativa, sobre as aflatoxinas, fumonisinas, zearalenona, deoxinivalenol e ocratoxina, seus impactos na saúde humana e animal e seus biomarcadores de diagnóstico. Serão abordados também, os efeitos da exposição pré-natal à aflatoxina B1, para isso, ensaios experimentais e a detecção de biomarcadores em populações de mulheres gestantes serão relatados.

Palavras-chave: Biomarcadores. Carcinogênese. Fungos. Micotoxinas. Mutagênese Toxicidade. Teratogênese.

ABSTRACT

SILVA, J. V. B. **An overview of mycotoxins, their pathogenic effects and their biomarkers os exposure.** 2022. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Mycotoxins are products of the secondary metabolism of fungi, which can be present in food as contaminants. Approximately 25% of all food worldwide is contaminated by these substances, making them relevant to global health. The occurrence of exposure to these mycotoxins is more common in developing countries, where their effects are more harmful to health, due to the high rate of malnutrition in these places. The damage caused by them can manifest acutely or chronically, and among them stand out hepatotoxicity, nephrotoxicity, immunogenicity, carcinogenicity, mutagenicity, teratogenicity, and are associated with particularly dangerous nutritional disorders in children from poorer regions. This review focuses on aflatoxins, fumonisins, zearalenone, deoxynivalenol and ochratoxins, with special attention to the impacts on human and animal health and its diagnostic biomarkers. The effects of prenatal exposure to aflatoxin B1 will also be addressed, for that, experimental trials and the detection of biomarkers in populations of pregnant women will be reported.

Keyword: Biomarkers. Carcinogenesis. fungi. Mycotoxins. Mutagenesis. Toxicity. Teratogenesis.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Fórmulas químicas das principais aflatoxinas e metabólitos da AFB1..... | 18 |
| Figura 2. Vias de metabolização da AFB1 no fígado..... | 20 |
| Figura 3 Fórmula química das Fumonisinias..... | 33 |
| Figura 4. Mecanismos de toxicidade da fumonisina B1..... | 35 |
| Figura 5. Efeito da FB1 no metabolismo dos esfingolipídios. | 36 |
| Figura 6. Zearalenona e seus metabólitos. | 39 |
| Figura 7. Efeitos tóxicos da zearalenona..... | 41 |
| Figura 8. Estrutura química da deoxinivalenol..... | 43 |
| Figura 9. Metabolização e efeitos nocivos do deoxinivalenol. | 45 |
| Figura 10. Fórmula química da Ocratoxina A. | 47 |
| Figura 11. Mecanismos de ação e efeitos no organismo da Ocratoxina A. | 49 |
| Figura 12: Principais efeitos das micotoxinas na saúde humana e animal. | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a aflatoxina B1 | 22 |
| Tabela 2. Estudos evidenciando os efeitos da exposição pré-natal à AFB1 no desenvolvimento ósseo. | 25 |
| Tabela 3. Estudos evidenciando os efeitos da exposição pré-natal à AFB1 nos órgãos. | 26 |
| Tabela 4. Biomarcadores da exposição à AFB1 encontrados em gestantes e seus efeitos. | 31 |
| Tabela 5. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a fumonisina B1..... | 37 |
| Tabela 6. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a Zearalenona. | 42 |
| Tabela 7. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a Deoxinivalenol..... | 46 |
| Tabela 8. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a Ocratoxina A. | 50 |
| Tabela 9. Limites máximos de micotoxinas permitidos nos alimentos no Brasil. | 52 |

LISTA DE ABREVIATURAS

10-OH-OTA= 10-hidroxiocratoxina
4-OH-OTA= 4-hidroxiocratoxina
AFB1= Aflatoxina B1
AFB2a= Aflatoxina B2a
AFBO= AFB1-8,9-Epóxido
AFGuan= AGB1-N7-Guanina
AFL= Aflatoxicol
AFM1= Aflatoxina M1
AFP1= Aflatoxina P1
AFQ1= Aflatoxina Q1
ALT= Alanina aminotransferase
AST= Aspartato aminotransferase
DON= Deoxinivalenol
DON-1= Deepoxi-deoxinivalenol
DonGlcA= DON-Glicuronídeo
EO= Estresse oxidativo
FAO= Food and Agriculture Organization
FB1= Fumonisina B1
FC= Fosfatase Alcalina
GGT= Gama Glutamilttransferase
GR= Glutationa redutase
IARC= International Agency for Research on Cancer
-OH= Hidroxila
OP-OH= Ocratoxina-lactona-aberta
OTA= Ocratoxina A
OT α = Ocratoxina alfa
OT β = Ocratoxina beta
Sa= Esfinganina
Sa-1-P= Esfinganina-1-fosfato

So= Esfingosina

So-1-P= Esfingosina-1-fosfato

SOD= Superóxido dismutase

TNF α = Fator de necrose tumoral alfa

ZAL= Zearalanona

ZEA= Zearalenona

α ZAL= Alfa Zearalanona

α ZEA= Alfa Zearalenona

β ZAL= Beta Zearalanona

β ZEA= Beta Zearalenona

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 2. OBJETIVOS | 16 |
| 3. MATERIAIS E METODOS..... | 16 |
| 4. MICOTOXINAS..... | 17 |
| 4.1 AFLATOXINAS..... | 17 |
| 4.1.1 EFEITOS DA EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL A AFB1..... | 23 |
| 4.1.1.1 Malformações ósseas e viscerais..... | 24 |
| 4.1.1.2 Alterações reprodutivas..... | 27 |
| 4.1.1.3 Genotoxicidade e mutagenicidade..... | 28 |
| 4.1.1.4 Exposição pré-natal em seres humanos..... | 30 |
| 4.2 FUMONISINAS..... | 33 |
| 4.3 ZEARALENONA | 39 |
| 4.4 DEOXINIVALENOL | 42 |
| 4.5 OCRATOXINA | 47 |
| 5. LEGISLAÇÃO MICOTOXINAS | 50 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 53 |
| 7. REFERÊNCIAS | 56 |
| 8. ANEXOS..... | 79 |
| I. ARTIGO DE REVISÃO INTITULADO: AN OVERVIEW OF MYCOTOXINS, THEIR PATHOGENIC EFFECTS, FOODS WHERE THEY ARE FOUND AND THEIR DIAGNOSTIC BIOMARKERS..... | 79 |
| II. ARTIGO DE REVISÃO INTITULADO: EFFECTS OF PRENATAL EXPOSURE TO AFLATOXIN B1: A REVIEW..... | 92 |

1. INTRODUÇÃO

Às micotoxinas são produtos secundários do metabolismo fúngico, com alta capacidade de causar danos à saúde humana e animal (BENNETT, KLICH, 2003).

Os fungos podem se proliferar naturalmente nos alimentos, sendo, muito comumente encontrados nos grãos utilizados para a alimentação animal e humana. Seu crescimento é favorecido principalmente pela umidade e temperatura, sendo que, práticas inadequadas de colheita e armazenamento, também contribuem para que ocorra a contaminação por esses microrganismos (BATATINHA et al., 2008).

A presença de fungos em alimentos não necessariamente indica que eles estejam contaminados com micotoxinas, da mesma forma que, a eliminação do fungo não garante que às micotoxinas tenham sido eliminadas, devido sua alta estabilidade (TUNER et al., 2009).

No Brasil, às micotoxinas podem ser encontradas de forma isolada ou em associação, em alimentos como: amendoim, grãos, cereais, milho, trigo, além de, alimentos de origem animal, como: leite, ovos e carne. O fato de que essas micotoxinas podem ser encontradas em diversos alimentos, faz com que elas, possuam grande importância na saúde pública, bem como, na economia (MAZIERO, BERSOT 2010; CALORI-DOMINGUES et al., 2016).

Existem diversas micotoxinas, produzidas por diferentes gêneros de fungos, sendo que, por vezes, uma única espécie de fungo é capaz de produzir diferentes micotoxinas, tornando relevante a discussão acerca do potencial tóxico de associação entre elas (SWEENEY, DOBSON, 1998).

Assim, a ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas pode causar prejuízos à saúde humana, podendo levar a morte, a depender da micotoxina e quantidade ingerida (PERAICA et al., 1999). Entre os efeitos nocivos causados pelas micotoxinas, destacam-se: hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, carcinogenicidade, imunossupressão e mutagenicidade (ROCHA et. al., 2014). Além disso algumas micotoxinas, como, às aflatoxinas, fumonisinas e o deoxinivalenol possuem potencial teratogênico, relacionando-se com malformações ósseas e alterações no

desenvolvimento dos órgãos fetais, como demonstrado em estudos prévios com modelos experimentais (HAMDY, et. al., 2014; MOSSAD, et. al., 2004).

Existem diversos métodos que visam detectar micotoxinas em amostras de alimentos, e amostras biológicas. Dentre as técnicas destacam-se, os ensaios imunoenzimáticos e a cromatografia, que tem a capacidade de isolar as moléculas (CHAUHAN et al., 2016). A cromatografia se torna mais eficaz, quando associada a espectrometria de massas, pois permite que se obtenha maior quantidade de informações acerca do analito, fazendo com que sua identificação seja mais assertiva (CHIARADIA et al., 2008). Adicionalmente outra técnica que pode ser utilizada, é a fluorescência para a constatação de contaminação de alimentos, principalmente por aflatoxinas (RAOTA, GIOVANELA, 2016).

Dessa forma, resíduos e metabolitos das micotoxinas, a exemplo das aflatoxinas, podem ser identificados nas vísceras e nas excretas de humanos e animais, sendo estes importantes marcadores da intoxicação por essas substâncias (RAMALHO et al., 2018; JAGER et al., 2016).

Um ponto importante no estudo das intoxicações por micotoxinas, se dá pelo fato de que a contaminação de alimentos, que são destinados ao consumo de animais de produção, culmina em produtos de origem animal contaminados com metabolitos dessas substâncias, o que contribui para a exposição humana às micotoxinas (DIAS, 2008). Essa relação entre saúde humana e animal, além de ser uma questão de saúde única, gera prejuízos na produção, diminuindo a eficiência produtiva e levando ao surgimento de doenças (WHO, 2017).

Adicionalmente, a exposição crônica a pequenas quantidades de micotoxinas presentes nos alimentos se mostra como um grande problema de saúde global, devido a capacidade dessas substâncias de levarem ao desenvolvimento de variadas patologias, isso faz com que o monitoramento das micotoxinas nos alimentos seja importante para gerar novas tecnologias de detecção e eliminação, objetivando a diminuição da exposição às mesmas e das doenças causadas por elas (SMITH et al., 1995; MAZIERO, BERSOT, 2010).

Além disso, estudos indicam que a presença de micotoxinas nos alimentos é mais comum nos países em desenvolvimento, sendo que, suas populações serão expostas a essas substâncias com frequência (BRYDEN, 2007).

Estima-se que aproximadamente 25% de todo alimento mundial esteja contaminado por micotoxinas (BENNETT, KLICH, 2003). Assim, tendo em vista a importância das micotoxinas para a saúde pública, existem legislações que definem a quantidade máxima permitida dessas substâncias nos alimentos. No Brasil, essas quantidades estão estipuladas na resolução da diretoria colegiada (RDC) N°7/2010 da agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA).

2. OBJETIVOS

- Compilar o conteúdo de dois artigos de revisão narrativa, publicados pelo autor, acerca das micotoxinas.
- Abordar os efeitos patogênicos das aflatoxinas, fumonisinas, zearalenonas, ocratoxinas e deoxinivalenol, em humanos e animais.
- Abordar os biomarcadores de exposição às aflatoxinas, fumonisinas, zearalenonas, ocratoxinas e deoxinivalenol.
- Abordar os efeitos da exposição pré-natal à aflatoxina B1, em humanos e animais.
- Abordar a legislação Brasileira, quanto aos limites tolerados de micotoxinas, em alimentos destinados ao consumo humano e animal.

3. MATERIAIS E METODOS

Para a realização dessa dissertação, foram utilizados dois artigos publicados pelo autor ao longo do ano de 2021. O primeiro artigo, intitulado: An overview of mycotocins, their pathogenic effects, foods where they are found and their diagnostic biomarkers, buscou descrever de forma geral as principais micotoxinas de ocorrência no Brasil, bem como, seus efeitos e possíveis biomarcadores para diagnóstico. Para isso foram acessadas as plataformas de pesquisa científica: Google Scholar, SciELO e Pubmed, e foram procuradas às seguintes palavras chave: "Aflatoxins", "fumonisins", "Deoxynivalenol", "Ochratoxin" e "Zearalenone" combinadas de forma individual com um dos seguintes termos: "toxicity", "Mechanism of action",

“pathogenicity”, “carcinogenicity”, “teratogenicity” e “biomarkers”. O artigo foi então publicado na revista Food Science and Technology. O segundo artigo, intitulado: Effects of Prenatal Exposure to Aflatoxin B1: A Review, objetivou descrever os principais efeitos da exposição a Aflatoxina B1 durante o período pré-natal, para isso foram utilizadas duas modalidades de artigos, publicados nos últimos 10 e 20 anos. A primeira modalidade, teve como objetivo, levantar os dados quanto aos efeitos da exposição pré-natal em experimentos realizados com ratos, camundongos e coelhos. Foram então utilizadas as plataformas: Google Scholar, SciELO e Pubmed, onde foram buscados os seguintes termos: “mice”, “rats”, “rabbits”, associados de forma individual com o termo “aflatoxin b1” associado aos termos: “prenatal exposure”, “teratogenicity”, “mutagenicity”, “bone malformations”, “skeletal malformations”, “pregnant”. Todos os artigos com conteúdo relevante a proposta, publicados nos últimos 20 anos, foram selecionados. A segunda modalidade de busca, objetivou evidenciar a exposição pré-natal em seres humanos e sua possível relação com efeitos adversos na saúde dos bebês. Para isso também foram realizadas buscas nas plataformas: Google Scholar, SciELO e Pubmed, com a palavra: “aflatoxin b1”, associada aos termos: “prenatal exposure”, “pregnant women”, “maternal toxicity”, “teratogenicity”, “mutagenicity”, “bone malformations”, “skeletal malformations”. Todos os artigos com conteúdo relevante a proposta, publicados nos últimos 10 anos, foram selecionados. O artigo foi então publicado na revista Molecules.

4. 4. MICOTOXINAS

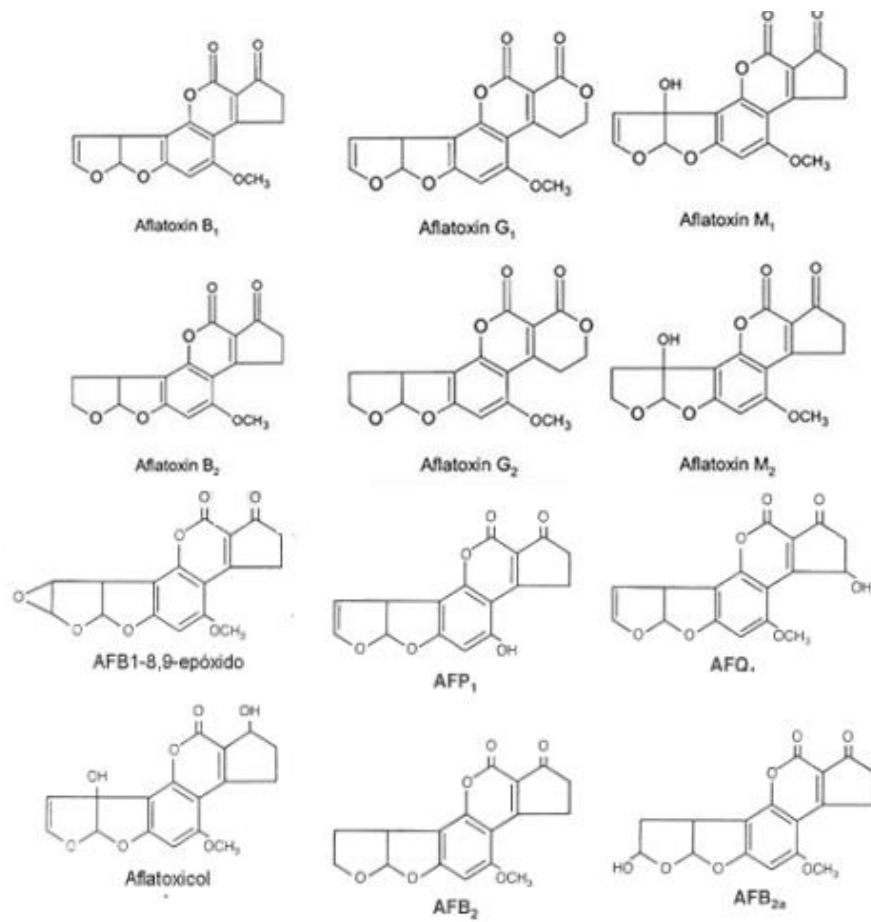
4. 1 AFLATOXINAS

As aflatoxinas são micotoxinas de ocorrência comum no Brasil, produzidas por fungos do gênero *Aspergillus spp*, principalmente *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (CALDAS et al., 2002) O grupo das aflatoxinas possui muitos representantes, entre os produtos do metabolismo fúngico e os produtos da metabolização dessas substâncias no organismo. (Figura 1).

Destacam-se pela importância toxicológica as toxinas B1, B2, G1 e G2, sendo que, a aflatoxina B1 possui maior importância, devido ao seu potencial carcinogênico.

A aflatoxina B1 é classificada pela *international agency for research on cancer* (IARC), como carcinógeno de grupo um, o que significa, que ela faz parte do grupo das substâncias com maior potencial carcinogênico (IARC, 2002).

Figura 1. Fórmulas químicas das principais aflatoxinas e metabólitos da AFB1



Fonte: Adaptado de: FERRANTE; SCIACCA; OLIVERI, 2012.

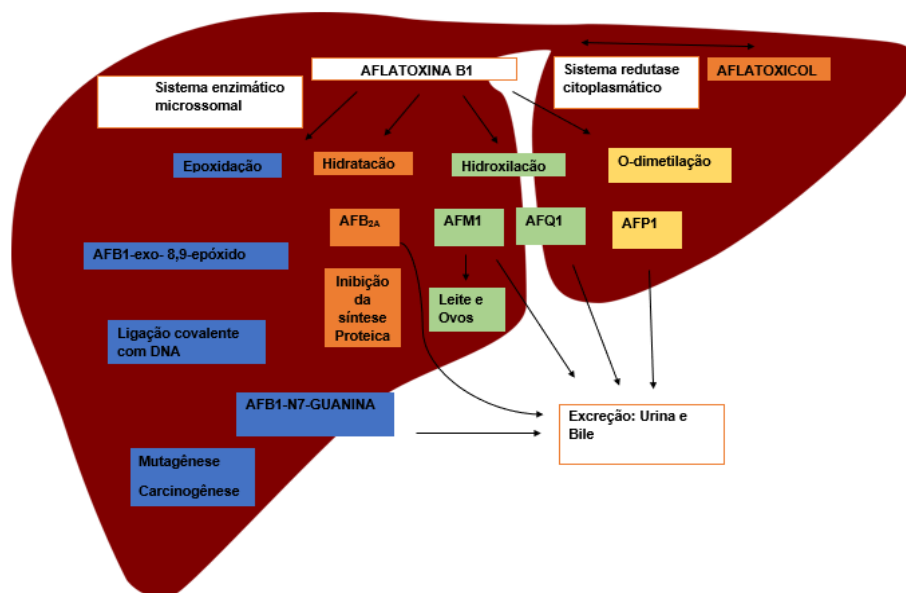
Os produtos da metabolização hepática das aflatoxinas são os responsáveis pelos seus efeitos tóxicos (BATATINHA et al., 2008). Esses metabolitos, quando ingeridos em grandes quantidades, causam lesões hepáticas agudas. Quando ingeridos em pequenas frações, por longos períodos, expressam alto potencial carcinogênico, via lesão em DNA, através da formação de adutos. Eles podem interferir também no metabolismo proteico (WILD, TURNER, 2002).

Após a ingestão, a AFB1 é rapidamente absorvida no intestino, chegando até o fígado, nos hepatócitos, pode ser metabolizada por duas diferentes vias. Quando metabolizada pela ação da redutase citoplasmática, ela é convertida em aflatoxicol (AFL), uma molécula capaz de ser reconvertida em AFB1. A outra via de metabolização se dá pelo sistema enzimático microssomal de função mista, que culmina na formação de diversos metabolitos, alguns com potencial carcinogênico (Figura 2) (DHAKAL, SBAR, 2020).

Dentre as vias do sistema enzimático microssomal, a epoxidação destaca-se, pela formação do metabolito AFB1 8,9-epóxido (AFBO), esse metabolito pode se ligar a macromoléculas, e seu efeito genotóxico se dá justamente na ligação covalente, mais frequentemente com a guanina na 3ª base do 249º códon. Posteriormente ele se solta, levando junto a guanina, formando o metabolito AFB₁-N7-Guanina (AFGuan), que será excretado na urina. O espaço deixado pela guanina é preenchido por timina, levando a mutação e perda de função no gene P53, sendo esse um evento essencial para que ocorra a carcinogênese hepática por AFB1. (WILD, TURNER, 2002; MITCHELL et al., 2018)

A via da hidroxilação, se destaca na metabolização da AFB1 pela formação da Aflatoxina M1 (AFM1), metabólito tóxico com alto potencial carcinogênico, excretado no leite materno, o que faz dessa uma importante fonte de contaminação, levando-se em conta que a AFM1 após ingerida pode passar por epoxidação e dar origem a metabólitos semelhantes ao AFBO, com potencial para se ligarem a macromoléculas, ou seja, genotóxicos e potencialmente mutagênicos (BUJONS et al., 1995; BATTACONE et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2009; MARCHESE et al., 2018)

Figura 2. Vias de metabolização da AFB1 no fígado.



Fonte: Do autor, 2021.

Quando altas doses de aflatoxina são ingeridas costumam causar intoxicação aguda, embora surtos de intoxicação aguda não sejam tão comuns, elas vão cursar com: anorexia, mal-estar geral, febre baixa, podendo progredir com êmese, fortes dores abdominais, hepatite aguda e morte (AZZIZ-BAUMGARTNER et al., 2004). Os efeitos da intoxicação aguda se dão principalmente pela ação do metabólito AFB2a, que é resultado da via da hidratação, possuindo alto potencial de inibição da síntese proteica (MITCHELL et al., 2013; GIOVATI et al., 2015).

Outros metabólitos de relevância da AFB1 são os complexos *cis* e *trans* – AFB1-formamidopirimidina, sendo o segundo extremamente carcinogênico. Esses complexos irão se formar após a ligação com o DNA, através da abertura do anel de imidazol em condições de alcalose. A AFB1-formamidopirimidina parece permanecer

ligado por maior tempo ao DNA, causando menor distorção na hélice e hipermetilação, o que irá dificultar respectivamente os mecanismos de reparo do DNA por excisão de nucleotídeo e por excisão de bases (STONE et al., 2011; LIN et al., 2013; LIU 2019).

Além da ação do AFBO a AFB1 induz estresse oxidativo, o que parece justificar a sua relação com o surgimento de neoplasias em sítios distantes do fígado como: vesícula urinária, rins, ossos entre outros, além disso diversas outras alterações parecem se relacionar com a exposição crônica à AFB1, como, desordens imunológicas, nutricionais e neurodegenerativas (ALSAYYAH et al., 2019; BENKERROUM, 2020; SORIANO et al., 2020).

A ingestão de aflatoxinas é especialmente relevante nos países em desenvolvimento, nos quais o contato com essas substâncias ocorre desde o desenvolvimento embrionário até a vida adulta (GONG et al., 2002). Um dos seus efeitos seria o prejuízo no desenvolvimento de crianças, além da associação com disfunções nutricionais, como Kwashiorkor (MCMILLAN et al., 2018).

Dietas pobres, do ponto de vista nutricional, parecem estar relacionadas com o aumento dos efeitos tóxicos e carcinogênicos das aflatoxinas, fato que pode estar relacionado com a baixa ingestão de substâncias com potencial antioxidante, a exemplo das vitaminas, condição comum nas populações mais pobres de países em desenvolvimento (ROGERS, NEWBERNE, 1971).

Em alguns países, principalmente da África e Ásia, as crianças passam a ser alimentadas quase que exclusivamente com grãos potencialmente contaminados, após serem desmamadas, isso ocorre devido à condição socioeconômica. O aumento na concentração sérica de aflatoxina nessas crianças, parece relacionar-se ao nanismo (ALAMU et al., 2019).

Estudos experimentais em ratos, demonstram que a exposição a AFB1 durante o período de desenvolvimento embrionário pode levar a alterações genotóxicas, favorecendo o desenvolvimento de neoplasias na vida adulta (CHAWANTHAYATHAM et al., 2015). O efeito mutagênico das aflatoxinas durante o desenvolvimento embrionário, pode levar a uma série de alterações morfológicas, bem como comportamentais, podendo refletir em incapacidade reprodutiva e até morte (HAMDY et al., 2014; SUPRIYA; SREENIVASULA, 2015).

Os biomarcadores utilizados para a determinação de exposição a aflatoxinas são os metabolitos da AFB₁, como, aflatoxina M₁ (AFM₁), aflatoxina P₁ (AFP₁), aflatoxina Q₁ (AFQ₁), aflatoxina-albumina, AFB- N₇-guanina e aflatoxicol (AFL), presentes nos fluidos biológicos (BANDO et al., 2007). AFB₁ e metabolitos podem ser detectados em amostras de sangue, urina e fezes de seres humanos e animais, sendo esta, uma importante ferramenta de avaliação da exposição de indivíduos as aflatoxinas (Tabela 1) (FERNANDEZ et al., 1997; MYKKÄNEN et al., 2005). Para o monitoramento desses biomarcadores, são necessárias técnicas analíticas que sejam; sensíveis, específicas e que possam ser aplicadas a muitas amostras (GRUPMAN, KENSLER, 1999).

AFB₁ livre pode ser encontrada no sangue, porém seus níveis ficam altos por um curto período de tempos após a ingestão, fazendo com que não seja esse um bom marcador de exposição, já a aflatoxina-albumina é encontrada em amostras de sangue por até 20 dias após a exposição, o que faz desse biomarcador ideal para a investigação de exposição antiga (JAGER et al., 2015).

AFM₁ pode ser encontrada na urina, nas fezes e no leite de mulheres e animais em lactação. Por possuir alto potencial tóxico esse metabolito é especialmente importante na contaminação de crianças, durante o aleitamento, e no leite comercial proveniente de animais (DIAZ, SANCHEZ, 2015; GIOVATI et al., 2015). A AFM₁ é classificada pela international agency for research on câncer (IARC), como agente 2B pelo potencial carcinogênico em seres humanos (IARC, 1993). A mensuração dos níveis de AFM₁ na urina é utilizada para a determinação da eficácia de métodos que visam diminuir a exposição à AFB₁ (MITCHELL et al., 2013).

Outro importante biomarcador consideravelmente importante é a AFB- N₇-guanina, produto da ligação do AFB₁-epóxido com a guanina da molécula de DNA. A AFB-N₇-guanina evidencia, além da exposição à AFB₁, a lesão ao DNA, principal fator no desenvolvimento do carcinoma hepatocelular. (DOHNAL et al., 2014).

A pesquisa por biomarcadores de AFB₁ em amostras de cabelo e unha se mostra relevante e promissora, por possuir potencial de indicar exposição ocorrida há maior tempo (MUPUNGA et al., 2016).

Tabela 1. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a aflatoxina B1

| Principais biomarcadores de exposição humana a AFB1 | | |
|--|-------------------------------|---|
| Biomarcador | Local de identificação | Referência |
| AFB1 livre | Soro | TSUBOI et al., 1984 |
| AFB1- albumina | Soro | SCHOLL, GROOPMAN, 2008 |
| AFM1 | Urina, leite | CHEN et al., 2018; DIAZ, SANCHEZ, 2015. |
| AFB-N ⁷ -guanina | Urina | GROOPMAN et al., 1993 |
| AFP1 | Urina | COPPA et al., 2021 |
| AFQ1 | Urina e Fezes | MYKKÄNEN et al., 2005 |

Fonte: Do autor, 2021.

Dentre os biomarcadores avaliados, a Aflatoxina B1 conjugada a albumina, parece possuir maior estabilidade. No estudo de Scholl e Groopman (2008), foi possível fazer a sua identificação por meio do uso de cromatografia líquida de alta intensidade, mesmo em amostras armazenadas pelo período de 19 anos, que foram mantidas refrigeradas a -80°C. Seria essa uma importante informação para a possível criação de um banco de dados para a avaliação de exposição humana à AFB1.

Dias e Sanchez identificaram AFM1 em 90% das amostras de leite materno de uma população de mulheres da zona rural da Colômbia, esses dados colaboram para o entendimento de que populações mais vulneráveis, estão mais susceptíveis a contaminação por micotoxinas. O fato de moradores de zonas rurais estarem mais predispostos a contaminação por aflatoxinas tem relação com o consumo de alimentos, que estão amplamente disponíveis localmente, e que não passam necessariamente por qualquer tipo de fiscalização.

A exposição de mulheres grávidas à AFB1, cria uma rede de complicações, tendo em vista os agravos na saúde das mães, os fetos, que serão expostos ainda no período pré-natal, no qual o fígado ainda não possui capacidades adequadas de metabolização, podendo significar um alto risco a saúde deles, e os bebês, que serão expostos ao leite contaminado com AFM1 logo ao nascer. (DIAZ, SANCHEZ, 2015).

Groopman et al. (1999), evidenciam que a AFGuan é o metabolito encontrado em menor quantidade em ratos, no entanto, por representar a ligação da toxina com a guanina se torna um importante biomarcador. Para que se correlacione a ingestão da aflatoxina com a sua genotoxicidade a mensuração de AFGuan se torna ideal. Um desafio na sua mensuração é que a mesma representa apenas exposições recentes, deixando de ser encontrada entre 24 e 48 horas após o período de exposição (WILD et al, 1996).

4.1.1 EFEITOS DA EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL À AFB1

Diversos efeitos danosos são associados à exposição à AFB1 durante o período pré-natal, dentre os quais destacam-se: diminuição do peso ao nascimento, diminuição do tamanho das ninhadas, morte e reabsorção fetal, deformidades ósseas e viscerais, alterações reprodutivas, impacto na capacidade imunológica, alterações comportamentais, além de predispor ao desenvolvimento de neoplasias precoces (BENKERROUM, 2020).

4.1.1.1 Malformações ósseas e viscerais

Os defeitos ósseos relacionados à exposição intrauterina à AFB1 são os mais comumente relatados na literatura científica, são evidenciados em diversas espécies de animais quando submetidos à exposição experimental. Dentre os efeitos mais encontrados destacam-se; falhas no processo de ossificação, alterações no tamanho e formato dos ossos, além de ausência ou alteração em alguns acidentes ósseos (Tabela 2).

Os mecanismos envolvidos na falha do desenvolvimento ainda não estão muito bem elucidados. Sugere-se que a AFB1 cause falha durante a transcrição de genes associados ao desenvolvimento dos ossos, impactando os processos de mineralização intramembranal e ossificação endocondral (EL-NAHLA, et l., 2013; HAMDY et al., 2014).

Os resultados encontrados nesses estudos estão em concordância com os efeitos relatados em estudos anteriores, reforçando os efeitos da exposição pré-natal à AFB1 sobre o desenvolvimento ósseo (HAYES, 1981; WANGIKAR et al., 2004;

WANGIKAR et al., 2005). Em relação ao estágio de exposição, quando a ocorre ainda no desenvolvimento embrionário, parece haver aumento de malformações menores (ABDULRAZZAQ et al., 2011).

Diversas alterações viscerais são relatadas como consequência de exposição pré-natal à AFB1. Dentre elas destacam-se a diminuição do tamanho e peso do fígado e rins (ABDULRAZZAQ et al., 2011; EL NAHLA et al., 2013). Em relação aos achados histopatológicos, o fígado apresenta alterações mais significativas, apresentando, degeneração gordurosa, congestão e até necrose, alterações essas que tendem a acometer também os rins, porém, em menor intensidade (Tabela 3). Outras alterações histológicas podem ser evidenciadas em órgãos do trato reprodutivo (discutido no próximo tópico).

As alterações viscerais são predominantemente resultado do estresse oxidativo, que irá cursar com lesão estrutural através de peroxidação lipídica, e lesões em demais macromoléculas, além da redução na capacidade de síntese proteica. O fígado é sempre o órgão mais alterado, por ser o principal sítio de ação da AFB1 (BASTAKI ET AL., 2010; HAMDY et al., 2014).

Enquanto que, as frequentes lesões renais se dão possivelmente pela sua função quanto a filtração sanguínea, fazendo com que esse órgão esteja predisposto a lesão por diversas substâncias tóxicas, além de ser junto com a bile uma das principais vias de excreção de AFB1 e seus metabólitos, sendo por tanto seus túbulos passíveis de processos locais de lesão (BENKERROUM, 2020, DHAKAL, SBAR, 2020).

Tabela 2. Estudos evidenciando os efeitos da exposição pré-natal à AFB₁ no desenvolvimento ósseo

| Espécie | Dose AFB₁ / DG / VE | Efeitos sobre o desenvolvimento ósseo | Referências |
|----------------|---|--|---------------------------|
| Camundongos | 20mg/Kg DG: 7 ^o ou 13 ^o VE: Intraperitoneal | Hipoplasia do esqueleto axial, metacarpo, metatarso, falanges, vertebrae cervicais e coccígeas. Falha na ossificação do osso supraoccipital, e dos membros pélvicos e torácicos. | Abdulrazzaq, et al., 2011 |
| Coelhos | 0,05mg/kg/dia DG: 6 ^o -18 ^o VE: Gavagem | Malformações em esterno e costelas. Falha na ossificação de ossos do crânio, coluna vertebral, vertebrae e costelas, carpos, tarsos, metatarsos, metacarpos e falanges. Diminuição no tamanho dos ossos do membro pélvico. | EI-Nahla, et al., 2013. |
| Ratos | 1mg/kg DG: 6 ^o -15 ^o VE: Gavagem | Falha na ossificação de ossos do crânio, ossos dos membros torácicos e pélvicos e coluna vertebral. Alteração no formato e tamanho de vertebrae. Ausência ou diminuição no tamanho do disco intervertebral, formação incompleta do núcleo pulposo, alteração e ausência de acidentes ósseos dos membros. | Hamdy, et al., 2014. |

DG= Dia de gestação

VE= Via de exposição

Fonte: Do autor, 2021.

Tabela 3. Estudos evidenciando os efeitos da exposição pré-natal à AFB1 nos órgãos

| Espécie | Dose AFB₁ / DG/ VE | Alterações em órgãos | Referências |
|----------------|---|--|------------------------|
| Coelhos | 0,05mg/kg/dia DG: 6 ^o -18 ^o VE: Gavagem | Redução no peso e tamanho absoluto das vísceras. Diminuição no tamanho do coração e lúmen ventricular. Fígado e rins contendo vacuolizações e congestão. Atrofia e degeneração glomerular e desorganização de hepatócitos. | El-Nahla et al., 2013. |
| Ratos | 1mg/kg DG: 6 ^o -15 ^o VE: Gavagem | O fígado apresentava degeneração de hepatócitos, alteração arquitetural. Congestão da veia centrolobular e dos capilares sinusoides. Timo apresentando depleção linfóide e redução na diferenciação epitelial. | Hamdy et al., 2015. |
| | 10 µg/kg DG: 12 ^o -19 ^o VE: Intramuscular | Testículos Degeneração moderada. | |
| Ratos | 20 µg/kg “ | Atrofia severa e diminuição de cels. germinativas dos túbulos seminíferos. | Supriya; Reddy, 2015 |
| | 50 µg/kg “ | Degeneração severa, depleção celular e ruptura epitelial. | |

DG= Dia de gestação

VE= Via de exposição

Fonte: Do autor, 2021.

4.1.1.2 Alterações reprodutivas

A AFB1 pode resultar em diversas alterações reprodutivas, sobretudo em machos, sabe-se que a exposição impacta no comportamento reprodutivo, produção de espermatozoides e mesmo na morfologia dos testículos e epidídimo, sendo que, os achados mais significativos são as alterações nos níveis hormonais séricos, marcadas pela diminuição de testosterona (HASANZADEH et al., 2011; SUPRIYA et al., 2014; FAUZI et al., 2015).

Quando a exposição se dá no período pré-natal, os efeitos parecem ser ainda mais notáveis. Supryia et al. (2015), encontrou significativa diminuição no nível de testosterona em ratos machos expostos à 10, 20 e 50 µg/kg de AFB1 durante o desenvolvimento embrionário, no mesmo estudo evidenciou-se o aumento na quantidade de hormônio luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH). Outras diversas alterações reprodutivas foram relatadas, como; diminuição na quantidade e viabilidade de espermatozoides, além de alterações morfológicas em testículo e cauda do epidídimo.

Os mecanismos através dos quais os danos reprodutivos acontecem ainda seguem sendo elucidados, porém, sabe-se, que a AFB1 pode agir como um potencial disruptor endócrino, interferindo no eixo hipotálamo-hipófise-testicular consequentemente levando à disfunção hormonal e acarretando as demais alterações, sendo que, as consequências dessa disrupção hormonal seriam mais severas no período embrionário (HASANZADEH et al., 2011; SUPRIYA et al., 2015). Outra possibilidade seria a capacidade da AFB1 de se ligar com a proteína reguladora esteroideogênica aguda (STAR), afetando assim a transferência de colesterol para a mitocôndria e impactando negativamente na esteroideogênese (SUPRYIA et al., 2014). Também deve-se levar em consideração o dano celular direto causado pelo estresse oxidativo, como já foi evidenciado por Althnaian et al. (2016), que encontram substancial aumento de marcadores do estresse oxidativo e diminuição de enzimas antioxidantes, em testículos de ratos expostos a uma única aplicação intraperitoneal de 3mg/kg de AFB1.

A AFB1 afeta também a capacidade reprodutiva em fêmeas, embora com menor intensidade, sendo relacionada com atresia folicular em adultas

(HASANZADEH, AMANNI, 2013). Porém não foram encontrados estudos que evidenciassem esse efeito quando a exposição ocorre antes do nascimento.

4.1.1.3 Genotoxicidade e mutagenicidade

A AFB1 apresenta alta genotoxicidade, provavelmente esse seja o mais nocivo de seus efeitos, que notavelmente causa diversas aberrações cromossômicas à animais expostos a ela (ABDEL-AZIEM et al., 2007). Tanto o dano ao DNA, quanto as mutações podem resultar tanto da lesão pelos metabolitos de AFB1 (AFBO), quanto pelo estresse oxidativo, que resulta da metabolização dessa micotoxina. O estresse oxidativo possui capacidade de gerar danos de forma remota, ou seja, podendo ser o causador das neoplasias que acometem outros órgãos além do fígado, que é o seu principal sítio de ação (DHAKAL, SBAR, 2020).

Em fetos de ratos expostos à 1mg/kg de AFB1, através de gavagem, entre o 6º e o 15º dia de gestação, foram evidenciadas várias aberrações cromossômicas nas células da medula óssea, principalmente lesões de lacuna e quebra, sendo, portanto, esse um indicador do potencial genotóxico dessa micotoxina no período pré-natal (HAMDY et al., 2014).

Adicionalmente, os mecanismos através dos quais a AFB1 causa lesão ao DNA na vida fetal parecem ser semelhantes aos relatados em animais adultos, sendo então o fígado fetal capaz de metabolizar AFB₁ em AFBO, mecanismo esse evidenciado através da identificação de adutos de AFGuan em fetos (WOO et al., 2011).

Além disso, o sítio apurínico deixado pela AFGuan (quando ela se solta e é excretada) é preenchido por uma base timina, o que caracteriza a principal mutação, a transversoão G → T no gene P53, sendo esse o processo de iniciação da carcinogênese. Essas transversoões são evidenciadas também em fetos de ratos expostos a 6mg/kg de AFB1 por aplicação peritoneal em dose única no 14º dia de gestação (SUPAWADEE et al., 2015; BENKERROUM, 2020).

Outro metabolito encontrado em fetos de rato expostos a AFB1, é o AFB₁-Fapy, resultado de uma transformação química na molécula de aflatoxina, culminando na

abertura do anel de furano. O AFB₁-Fapy é mais estável, permanecendo por mais tempo ligado ao DNA, é considerada mais carcinogênico, pois impede que enzimas relacionadas ao reparo sejam ativadas, por causar dano estrutural menos evidente na hélice (WOO et al., 2011; SUPAWADEE et al., 2015; DHAKAL, SBAR, 2020).

O estudo de Chawanthayatham et al. (2015) demonstrou, que em relação a quantidade de adutos formados, os fetos apresentam cerca de 1% da quantidade encontrada nas mães, no entanto, quando leva-se em consideração a identificação de mutações, a diferença é de apenas 4,6 vezes, sendo que a diferença esperada era de 100 vezes superior para as mães. Esses números indicam que a capacidade de causar mutação da AFB₁ é 20 vezes maior durante a exposição pré-natal, quando comparado a exposição na vida adulta.

Esses fenômenos poderiam ser explicados pelo fato de que o fígado fetal tem capacidade de metabolizar AFB₁ em AFBO, vide a identificação de adutos, porém a baixa quantidade de enzimas conjugadoras da metabolização de Fase II (p ex. glutathion-s-transferase) nessa fase do desenvolvimento, faz com que a capacidade de excreção dos metabólitos seja diminuída, além disso, durante a vida fetal as células hepáticas estão em constante multiplicação, o que pode acarretar a expansão das mutações (WOO et al., 2011; SUPAWADEE et al., 2015).

Outro importante mecanismo de genotoxicidade é o estresse oxidativo, causado pela metabolização da AFB₁, levando a formação de diversos adutos e podendo agir de forma remota causando neoplasias a distância, sendo que animais expostos a AFB₁ tem uma diminuição na quantidade de enzimas antioxidantes e aumento nos marcadores de estresse oxidativo (HAMDY et al., 2014; BENKERROUM, 2020). Sendo assim, o uso de substâncias com potencial antioxidante pode acarretar em proteção contra o estresse oxidativo e, por consequência, diminuir o potencial carcinogênico dessas substâncias (EL-BAHR, 2015; SAAD-HUSSEIN et al., 2019).

Por fim, não se pode desconsiderar a participação de mecanismos epigenéticos no processo de genotoxicidade e mutagenicidade, sendo estes representados principalmente pela a metilação do DNA e pelas modificações nas histonas (DAI et al., 2017).

Dentre as demais alterações, a mais comum é a diminuição de peso ao nascimento, tanto em ratos quanto em coelhos, além da diminuição do número de filhotes por ninhada (ABDULRAZZAQ et al., 2011, EL-NAHLA et al., 2013; HAMDY et al., 2014; SUPRIYA et al., 2015; HAMDY et al., 2015).

Em coelhos, quando administrada a dose de 0,05 mg/kg/dia do 6º ao 18º dia de gestação, via gavagem, foram evidenciadas alterações como; aumento da orbita ocular, microftalmia, pele enrugada e pálpebra com menor número de folículos pilosos (EL-NAHLA et al., 2013).

Ademais, alterações comportamentais de locomoção e reflexo foram relatadas em ratos tratados com 20 e 50 µg AFB₁/kg, do 12º ao 19º dia de gestação, por via intramuscular (SUPRIYA et al., 2015).

Ratos tratados com 1mg/kg, do 6º ao 15º dia de gestação, através de gavagem, apresentaram adactilia e exoftalmia (HAMDY et al., 2015).

4.1.1.4 Exposição pré-natal em seres humanos

Por ano mais de 2,6 milhões de bebês no mundo nascem mortos, grande parte dessas mortes vem de países em desenvolvimento, nos quais os índices de parto prematuro, aborto espontâneo e baixo peso ao nascimento também são altos (LAWN et al., 2016). O consumo de alimentos contaminados com AFB₁ também são altos nessas regiões, embora os índices altos de mortalidade infantil estejam associados a diversos outros fatores, não se pode descartar o papel das micotoxinas nesse problema de saúde global.

A maior parte dos estudos de exposição pré-natal às AFs se dão pela avaliação de biomarcadores nas mães durante a gestação. Muitas vezes apresentando altos índices, mas, nem sempre os associando com efeitos deletérios na saúde dos bebês. (Tabela 4). Em muitos dos estudos o acompanhamento do bebê após o nascimento não é realizado, o que impacta na obtenção de dados acerca dos efeitos a curto e médio prazo na saúde das crianças. Entre os efeitos relacionados destaca-se o baixo peso e menor tamanho ao nascimento (SHUAIB et al., 2010; LAUER et al., 2018).

Tabela 4. Biomarcadores da exposição à AFB1 em gestantes, e seus efeitos na saúde dos bebês

| Período de gestação | Biomarcador | Local | Efeito nos bebês | Referência |
|----------------------------|--|--------------|---|------------------------|
| 1º Trimestre | AFB ₁ -Lisina (Soro) | Uganda | Baixo peso ao nascimento e menor Circunferência da cabeça | Lauer, et al., 2018 |
| 1º-3º Trimestres | AF-albumina (Soro) | Gâmbia | ----- | Castelino et al., 2014 |
| 3º Trimestre | AF-albumina (Soro) AFM ₁ (Urina) | Egito | ----- | Piekkola et al., 2012 |
| 2º Trimestre | AFM ₁ (Urina) | Zimbábue | ----- | Smith et al., 2017 |
| ----- | AFM ₁ (Urina) | China | ----- | Lei et al., 2013 |
| 1º-2º Trimestres | AF-Albumina (Soro) | Gâmbia | Metilação no DNA de células da série branca | Vargas et al., 2015 |
| 1º-3º Trimestres | AFB ₁ -Lisina (Soro) | Nepal | ----- | Trevino et al., 2020 |

Continua...

Continuação...

| Período de gestação | Biomarcador | Local | Efeito nos Bebês | Referência |
|----------------------------|------------------------------------|--------------|--------------------------|---------------------|
| ----- | AFB ₁ -Lisina (Soro) | Gana | Baixo peso ao nascimento | Shuaib et al., 2010 |

AFB₁-Lisina= Aflatoxina B1 conjugada a lisina

AF-Albumina= Aflatoxina conjugada a albumina

AFM₁= Aflatoxina M1

-----= Sem informações.

Fonte: Do autor, 2021.

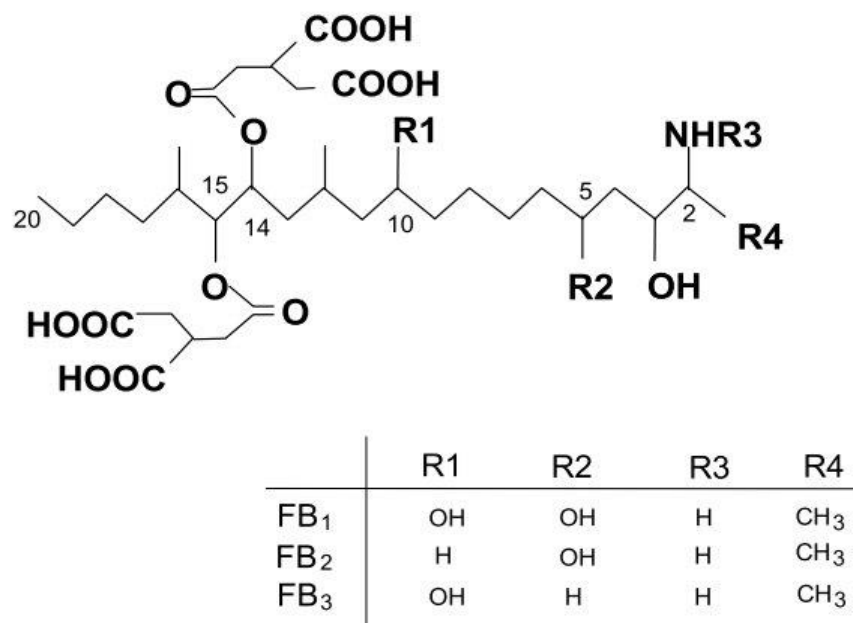
Além dos mecanismos de toxicidade já citados neste trabalho, estudos indicam que a anemia em seres humanos está associada à exposição às AFs (SHUAIB et al 2010), e que elas podem desencadear uma série de mecanismos que basicamente envolvem a ativação de citocinas pró-inflamatórias, e diminuição na quantidade de hormônio do crescimento semelhante à insulina, levando a efeitos deletérios e impedindo o crescimento placentário e por conseguinte fetal, induzindo assim a diminuição do crescimento e podendo inclusive levar à morte do feto (SMITH et al., 2017).

A exposição mais acentuada à Aflatoxina, não deve ser o único fator a ser levado em consideração nas alterações evidenciadas em crianças de países em desenvolvimento, tendo em vista o possível consumo de altas quantidades de outras micotoxinas e sua participação nos processos patológicos (CHEN et al., 2018). Um dos fatores que podem implicar no aumento de metabolitos de AFB₁ encontrados em gestantes, é o aumento transitório das enzimas da família do citocromo P450, que ocorre durante esse período, e que são essenciais na metabolização da AFB₁ e na geração de seus metabolitos tóxicos, e consequente em seu mecanismo de ação (TRACY et al., 2005).

4. 2 FUMONISINAS

As fumonisinas, são um grupo de micotoxinas produzidas principalmente por fungos do gênero *Fusarium spp* (ESFA, 2005). Essas micotoxinas são encontradas em alimentos como milho e forrageiras e estão associadas com lesão hepática, renal, e, aparentemente com alguns tipos de neoplasias (MINAMI et al., 2004). As variantes de maior importância são a fumonisina B1(FB1), B2 e B3 (Figura 3) sendo que a FB1 possui maior importância, devido ao fato de ser de ocorrência mais comum. A FB1 é classificada pela IARC como membro do grupo 2B, com potencial carcinogênico para seres humanos (IARC, 1993).

Figura 3 Fórmula química das Fumonisin



Fonte: SOUTO et a., 2017.

O mecanismo de ação da FB1 (FIGURA 4) consiste na interrupção da síntese de esfingolípídios complexos e acúmulo de bioativos intermediários, sendo que, essa interrupção ocorre através do bloqueio da ceramida sintase, que é possível devido à semelhança entre a molécula de fumonisina e as bases esfingoides (MINAMI et al., 2004).

A interrupção na produção de esfingolípídios complexos associado ao acúmulo de bioativos intermediários e precursores, que podem ter sua produção até mesmo

aumentada, cria uma série de eventos e possibilidades lesivas que interferem em todo o metabolismo celular (RILEY, MERRIL, 2019).

A ação sobre os esfingolipídios resulta em alterações no metabolismo celular, alterando a progressão, proliferação, adesão e apoptose celular, já que em todos esses mecanismos existe participação importante dos fosfolipídios de membrana, que são impactados por ação da FB1 (CHEN et al., 2021).

Estudos conduzidos em ratos indicam que a FB1 induz a produção de fator de necrose tumoral alfa (TNF α), o que colabora com os mecanismos de citotoxicidade culminando em apoptose (DUGYALA et al., 1998). Em cultura de células gástricas e intestinais expostas à FB1 além do aumento de TNF α , interleucina 1 β se mostrou aumentada, corroborando com os indícios do papel da resposta inflamatória no mecanismo de ação da FB1 (MAHMOODI et al., 2012).

Além disso, o estresse oxidativo (EO) é outra via pela qual a FB1 causa seus efeitos tóxicos. Kim et al. (2018), demonstraram em modelo murinho, que a FB1 ativou a apoptose e autofagia em células da região de colón via EO, além de identificar diminuição das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione redutase (GR).

O excesso de produção de radicais livres de oxigênio leva a EO e dá início a diversos processos, como, o influxo de cálcio e por fim as lesões do DNA, que são responsáveis também pelo potencial carcinogênico da FB1 (CHEN, et al., 2021). O EO pode ser resultado tanto da ação da FB1 no complexo I da cadeia respiratória quanto da alteração no metabolismo dos esfingolipídios e ativação de bioativos intermediários no citoplasma celular (KIM et al., 2018).

Apoptose, imunotoxicidade, danos reprodutivos, alteração na metilação do DNA, modulação da autofagia principalmente por estresse do retículo endoplasmático, são alguns dos demais efeitos aparentemente relacionados a exposição à FB1 (VOSS; RILEY, 2013; LYU et al., 2019; CHEN et al., 2021).

Figura 4. Mecanismos de toxicidade da fumonisina B1

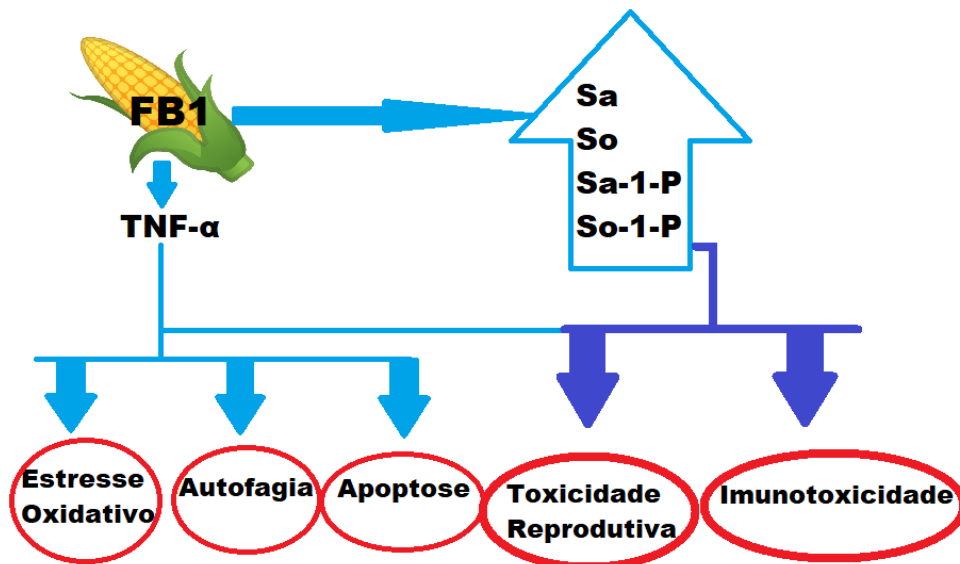


Figura 4: Sa (esfinganina) So (esfingosina) Sa-1-P (esfinganina 1 fosfato) So-1-P (esfingosina 1 fosfato).

Fonte: Do autor, 2021.

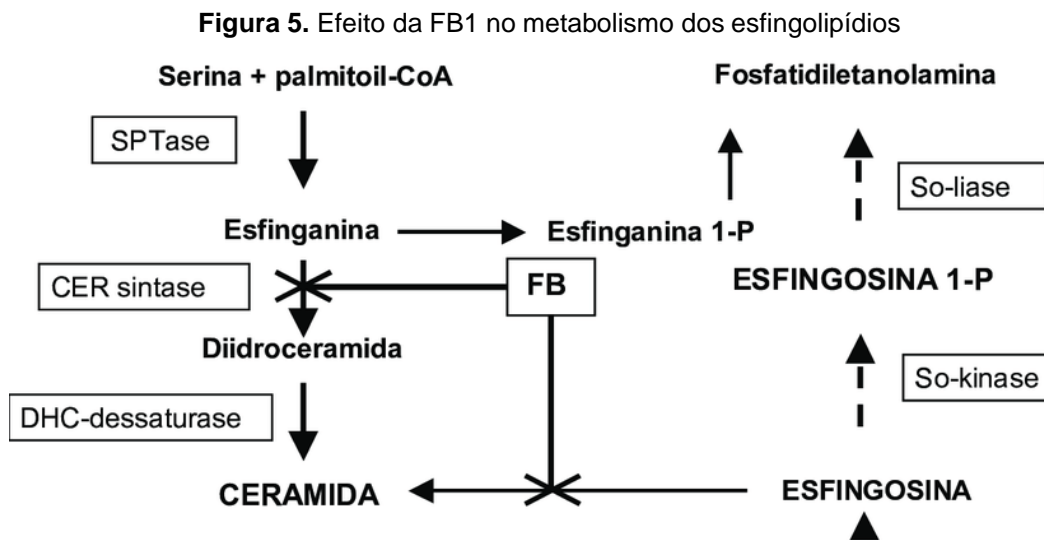
Entre as doenças causadas pelas fumonisinas em animais estão a leucoencefalomalácia dos equinos e o edema pulmonar em suínos (MARASAS et al., 1988; HARRISON et al., 1990). Além disso, a FB1 demonstrou causar hepatotoxicidade e nefrotoxicidade em ratos (VOSS et al., 1993). Em seres humanos as fumonisinas são constantemente encontradas em locais com alta incidência de câncer esofágico, sendo esse, portanto, um indício de que essas toxinas possam desempenhar um papel no desenvolvimento dessa neoplasia (COME et al., 2019).

Nos países em desenvolvimento onde são altos os índices de alimentação a base de milho e derivados, as fumonisinas presentes nesses alimentos parecem estar relacionadas com comprometimento no desenvolvimento infantil (CHEN et al., 2018).

Além disso, a administração experimental de FB1 se relaciona com malformações no fechamento do tubo neural em camundongos (WAES et al., 2012). Em ratos, observa-se: anomalias esqueléticas, falhas no desenvolvimento dos órgãos e até diminuição do número de filhotes por ninhada (MOSAAD et al., 2004).

Adicionalmente, sabe-se que em ratos o dano hepático causado pela FB1 pode levar a desequilíbrio na composição mineral dos ossos acarretando em diminuição da resistência óssea (DOBROWOLSKI et al., 2019).

A ação tóxica das fumonisinas se dá principalmente pela inibição da função da enzima ceramida sintase (Figura 5), levando à diminuição na produção de esfingolípídios complexos, e, portanto, ao acúmulo de esfinganina (Sa) e esfingosina (So). Tanto a esfingosina quanto esfinganina, são encontradas no soro, tecidos, urina e fezes, podendo assim, ser utilizadas como biomarcadores da exposição à FB1 (WESTHUIZEN et al., 1999). Além de Sa e So, o produto de sua fosforilação pela via das quinases, esfingosina-1-fosfato (SO-1-P) e esfinganina-1-fosfato (SA-1-P), podem ser utilizadas como biomarcadores de exposição (KIM et al., 2007).



Fonte: MINAMI et al., 2004.

Em ratos, as taxas de Sa, So e FB1 livre na urina permanecem elevadas por mais tempo, quando comparadas com as taxas encontradas no soro, sendo então a determinação urinária de Sa/So mais eficaz para a determinação de exposição à FB1 (CAI et al., 2007).

Altas quantidades de FB1 livre foram encontradas na urina de pessoas que ingeriram milho contaminado na China, demonstrando que a FB1 urinária livre pode ser um potencial biomarcador da exposição humana à FB1 (XU et al., 2010). A razão Sa/So pode ser utilizada para determinar o grau de exposição às fumonisinas, porém o aumento é sutil, sendo maior evidenciado quando os índices de ingestão de FB1 são extremamente altos. Além disso homens apresentam maior quantidade de Sa e So na urina quando expostos à FB1 (QIU, LIU, 2001).

Provavelmente em seres humanos a necessidade do alto consumo de FB1 para a detecção de níveis significativos dessas bases esfingoides justifique o resultado

negativo que muitos estudos encontram em relação ao uso delas como biomarcadores, no entanto, a utilização do cálculo de proporção Sa/So favorece seu uso (WESTHUIZEN et al., 2010).

A avaliação da proporção Sa/So em urina e soro, não só demonstra a exposição a FB1, mas demonstra também o nível de atividade que ela teve sobre o metabolismo dos esfingolípídios, sendo, portanto, um indicador importante de lesão (BANDO et al., 2007).

Ademais, TNF α é produzido em altas quantidades após o contato com a FB1, sendo que altos níveis podem ser encontrados antes mesmo do desenvolvimento de efeitos tóxicos, sendo esse, portanto, um possível biomarcador, no entanto, a sua falta de especificidade pode inviabilizar a sua utilização para esse fim (CHEN et al., 2021).

Além disso, as fumonisinas podem ainda ser identificadas no cabelo humano e animal, sendo esta uma importante ferramenta na detecção da exposição a essas micotoxinas nas populações, o mecanismo toxicocinético que explica a presença de fumonisinas no cabelo ainda precisa ser elucidado (SEWRAM et al., 2003; SOUTO et al., 2017).

Tabela 5. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a Fumonisina B1

| Principais biomarcadores de exposição humana a FB1 | | |
|---|-------------------------------|---|
| Biomarcador | Local de identificação | Referência |
| Sa e So | Urina | Qiu, Liu., 2001 |
| | Soro | Xu et al., 2010 |
| FB1 livre | Urina | Xu et al., 2010 |
| SA-1-P/ SO-1-P | Sangue | CHEN et al., 2018; DIAZ , SANCHEZ, 2015. |

Fonte: Do autor, 2021.

O uso de das bases esfingoides como biomarcadores para a determinação de exposição, em seres humanos, é incerto tendo em vista as altas quantidades que devem ser ingeridas para que a determinação delas possa inferir em algo. Portanto mais dados são necessários acerca metabolismo das fumonisinas e da associação entre o consumo e o aumento na quantidade dessas bases esfingoides (SOLFRIZZO et al., 2004).

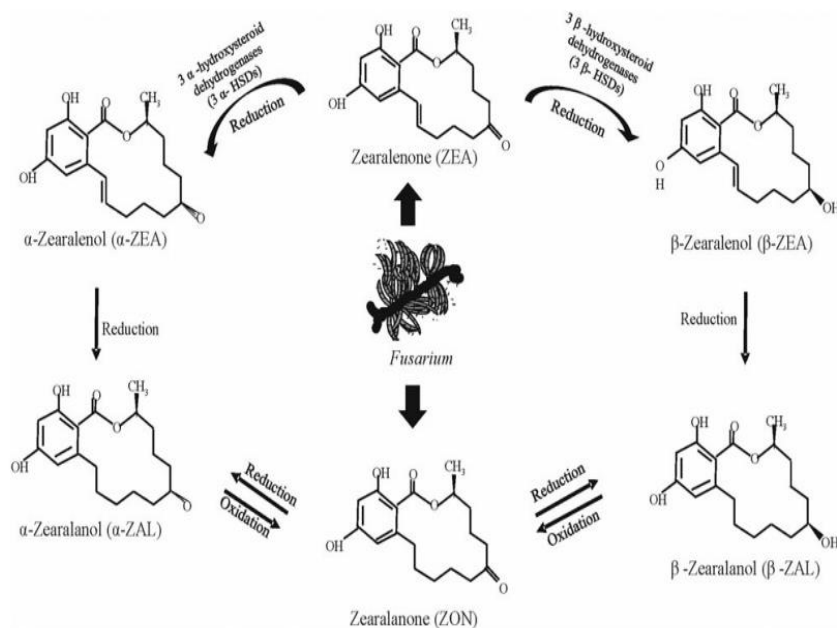
4. 3 ZEARALENONA

A zearalenona (ZEA) é uma micotoxina estrogênica não esteroidal produzida principalmente por fungos do gênero *Fusarium spp.* A ZEA é produzida em climas mais frios, possuindo crescimento ideal entre 18 e 29°C. Contaminante de alimentos, principalmente o milho e seus derivados. A ZEA atua no organismo como uma substância estrogênica, seu mecanismo consiste em se ligar aos receptores para 17 β estradiol, na sua forma natural ZEA ou de seus metabolitos (Figura 6), levando ao hiperestrogênismo com consequentes desordens reprodutivas (BATATINHA et al., 2008).

A metabolização da ZEA se inicia no intestino, com a participação da microbiota intestinal, após isso é absorvida para posterior metabolização hepática. Ela passa pelos processos de redução dando origem a α e β zearalenona (α -ZEA e β -ZEA) por ação da 3- β -hidroxiesteroide desidrogenase e da 3- α -hidroxiesteroide desidrogenase (PFEIFFER et al., 2009).

Além disso, no fígado, irá passar por monohidroxilação através da ação das enzimas da família do citocromo P450, dando origem a catecois que se relacionam ao estresse oxidativo. Posteriormente essas moléculas serão conjugadas com o ácido glicurônico, para posterior excreção urinária e fecal (ZINEDINE et al., 2007; RAI et al., 2019).

Figura 6. Zearalenona e seus metabólitos



Fonte: RAI et al., 2019.

Dentre os metabólitos de ZEA, α-ZEA parece possuir maior afinidade com os receptores de estradiol, sendo este portanto o principal responsável pelos efeitos tóxicos relacionados a disrupção hormonal da ZEA (FITZPATRICK et al., 1989).

A ingestão de alimentos contaminados com ZEA leva a desordens de eixo endócrino, devido à sua similaridade com hormônios estrogênicos produzidos naturalmente, a estimulação hormonal constante pode levar ao desenvolvimento de neoplasias hormônio-dependentes (KOWASLKA et al., 2016).

O fígado é um órgão também afetado pelos efeitos da ZEA, estudos indicam que a exposição à esta micotoxina causa alterações estruturais neste órgão, evidenciando-se aumento na concentração sérica das enzimas hepáticas: alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FC) e gama glutamil transferase (GGT), além de aumento na concentração de malondialdeído e diminuição de SOD e GR, associando o dano hepático ao estresse oxidativo resultante do contato com a ZEA (YOON et al., 2019; RAI et al., 2019; LI et al., 2021).

Na Tunísia, foram identificadas quantidades significativas de ZEA e metabólitos na urina de pacientes portadoras de câncer de mama, indicando um possível papel desta micotoxina no desenvolvimento desta neoplasia (BELHASSEN et al., 2014). A associação entre a ZEA e a carcinogênese é alvo de discussões, tendo em vista que

estudos experimentais demonstram capacidade desta substância de diminuir a possibilidade do desenvolvimento de neoplasias malignas, quando fornecida a ratos no período de pré-puberdade (HILAKIVI-CLARKE et al., 1999).

Outros estudos experimentais avaliam também, que a ZEA se relaciona com a progressão de neoplasias mamárias através da inibição de mecanismos de apoptose e promoção de mecanismos de proliferação celular (YU et al., 2005).

A ZEA é classificada como grupo 3 da IARC, no qual não existem indícios determinantes de seu potencial carcinogênico para seres humanos e animais, no entanto, o uso experimental dessa substância induz a uma série de alterações como prostatite, cistos em glândulas mamárias e vacuolizações em hepatócitos, levantando a hipótese de que essas alterações possam ser consideradas lesões pré-câncer. Esses achados se relacionam diretamente à disfunção hormonal e ao estresse oxidativo ambos causados pelo contato com a ZEA (IARC, 1993; HASSEN et al., 2007; RAI et al., 2019).

Estudos experimentais demonstram ainda, que a exposição à ZEA pode levar à morte de células de sertoli em camundongos, através indução de espécies reativas de oxigênio e pela via ATP/AMPK (ZHENG et al., 2018). Outros mecanismos que induzem a apoptose por ZEA são o estresse do reticulo endoplasmático, e a ativação da autofagia, como demonstrado com células leydig imortalizadas, provenientes de bodes (YANG et al 2017).

Adicionalmente, a ZEA, parece também modular a resposta imune, agindo de forma específica em cada célula, podendo causar aumento ou diminuição na produção de citocinas. Assim os efeitos da ZEA sobre o sistema imune parecem estar relacionados ao seu potencial estrogênico, levando em conta que macrófagos, células NK, linfócitos T e B, além de monócitos, expressam receptores para estradiol (LANG, 2004; ISLAN et al., 2017).

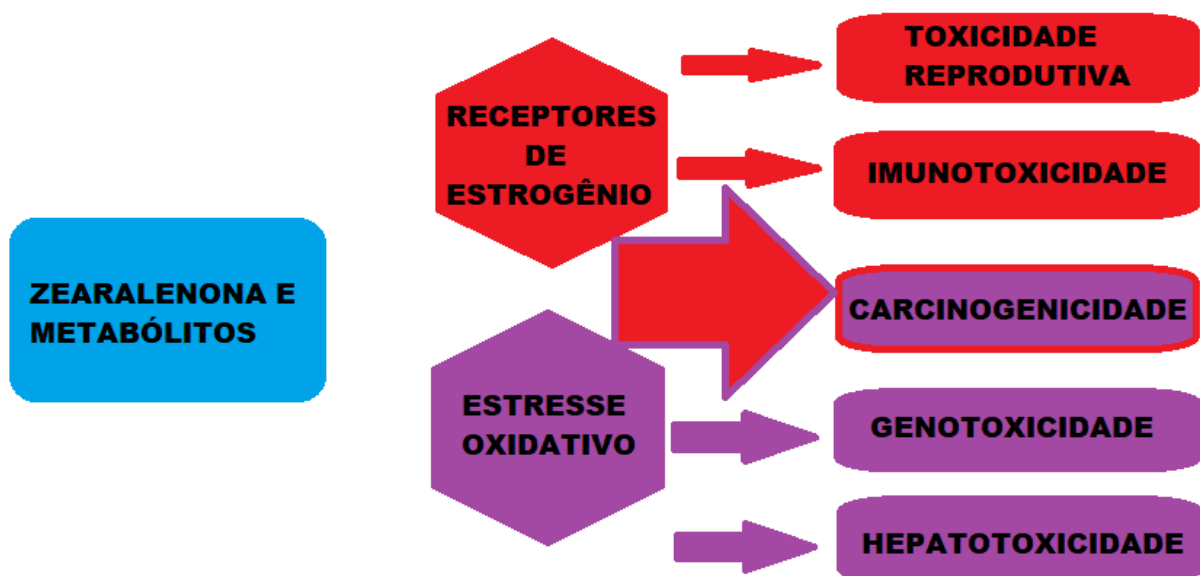
Em humanos, o consumo de alimentos contaminados com ZEA durante a gestação pode expor o feto à esta micotoxina e seus metabólitos (WARTH et al., 2019). Estudos experimentais em ratos indicam que a exposição gestacional a ZEA bloqueia o desenvolvimento fetal das células de leydig, sendo esse, um importante

indicador de que essa exposição leva à anomalias no desenvolvimento do trato reprodutivo masculino (PAN et al., 2020).

De forma geral, os estudos tem associando a ZEA a toxicidade reprodutiva, carcinogenicidade, imutotoxicidade e genotoxicidade, seja diretamente pelo seu efeito estrogênico ou pelo aumento do estresse oxidativo, resultado de sua metabolização (Figura 7) (RAI et al., 2019).

Estimativas de exposição à ZEA em seres humanos tem demonstrado que grande parte da população consome quantidades seguras dessa micotoxina, porém, em diversas partes do mundo essa exposição não foi relatada, podendo apresentar resultados diferentes em populações expostas a alimentos potencialmente contaminados (MARAGOS, 2010).

Figura 7. Efeitos tóxicos da zearalenona



Fonte: Do autor, 2021.

Os biomarcadores mais utilizados para a detecção de zearalenona são; ZEA livre e seus metabólitos α e β zearalenol (α -ZEA e β -ZEA), α e β zearalanol (α -ZAL e β -ZAL), zearalanona (ZAL), além dos conjugados com ácido glicurônico como β -zearalenol-14-glicuronídeo (FRIZZELL et al., 2015).

Em seres humanos, as amostras de urina são a principal forma de avaliar a exposição ZEA, sendo que α -ZEA é encontrada em maior quantidade, seguida por ZEA e por fim β -ZEA (TABELA 6) (ALI, DEGEN, 2018).

Tabela 6. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a ZEA.

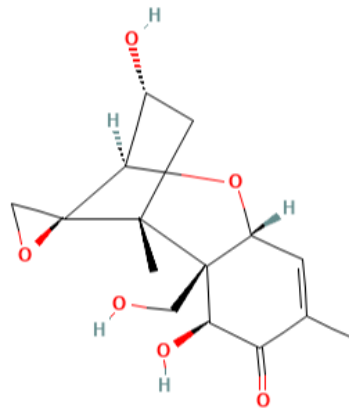
| Principais biomarcadores de exposição humana a ZEA | | |
|---|-------------------------------|-----------------------|
| Biomarcador | Local de identificação | Referência |
| ZEA, α -ZEA e β -ZEA | Urina | ALI, DEGEN., 2018 |
| ZAL, ZEA, α -ZEA e β -ZEA | Urina | LI et al., 2018 |
| β -zearalenol-14-glicuronideo | Urina | CARBALLO et al., 2021 |

Fonte: Do autor, 2021.

Segundo estudo de Ali e Degen (2018), o metabolito de ZEA mais encontrado na urina humana é o α -ZEA, que é além disso, o mais tóxico, por apresentar maior efeito estrogênico. Além disso, uma maior quantidade de ZEA e α -ZEA é encontrada no organismo de adolescentes, podendo esse grupo estar mais exposto ao consumo dessa micotoxina (LI et al., 2018).

4. 4 DEOXINIVALENOL

Deoxinivalenol (DON) é uma micotoxina produzida por fungos do gênero *fusarium spp.*, que pode ser encontrada em diversos grãos e produtos de origem animal. A DON é membro do grupo B da família dos tricotecenos, grupo de micotoxinas quimicamente semelhantes, produzidas por fungos do gênero *Fusarium spp.* Elas possuem em sua estrutura três hidroxilas livres (-OH) (Figura 8), o que se relaciona com os efeitos tóxicos que essa micotoxina desencadeia (SABROVA et al., 2010).

Figura 8. Estrutura química da DON

Fonte: National Center for Biotechnology Information, 2022.

Após a ingestão, a DON é rapidamente absorvida no intestino, onde é em parte metabolizada pela microbiota intestinal, e depois se espalha pelo organismo, chegando ao fígado, rins, baço, coração, tecido adiposo e cérebro. Em até 24 horas, é excretada, em formas conjugadas com o ácido glicurônico, através da urina e das fezes (WAN et al., 2013).

Os principais prejuízos à saúde humana e animal se dão principalmente quando a intoxicação é aguda, cursando com náusea, vômito, diarreia, dores abdominais, cefaleia, tontura e febre, podendo evoluir para morte a depender da quantidade ingerida. Os efeitos crônicos são principalmente sobre o sistema imunológico, reprodutor e gastrointestinal. Esta toxina age sobre o sistema neuroendócrino, inibindo a cascata do hormônio do crescimento, estimulando respostas inflamatórias, além disso, atua no trato gastrointestinal inibindo o esvaziamento gástrico, causando desequilíbrio na mucosa intestinal, conseqüentemente afetando a absorção de nutrientes. (FIORAMONTI et al., 1993; PESTKA, 2010; SABROVA et al., 2010).

A exposição à DON pode causar efeitos eméticos em seres humanos, quando seu efeito é avaliado em animais é possível notar também alterações no sistema imune, anorexia e perda de eficiência nutricional, além disso, essa micotoxina parece influenciar negativamente a capacidade reprodutiva (PESTKA, ALEXA, 2005).

Similarmente, a ingestão de DON, além dos efeitos agudos, pode causar genotoxicidade sobre os linfócitos humanos, provavelmente decorrente da diminuição de substâncias antioxidantes, levando a lesão do DNA por estresse oxidativo (YANG et al., 2014). A DON parece possuir também efeito genotóxico sobre cepas de *E. coli*

presentes no intestino humano, sendo esse, um possível indicador de sua participação na carcinogênese intestinal, embora estudos anteriores tenham descartado que a DON possa desempenhar algum papel no desenvolvimento de neoplasias (PESTKA, 2010; PAYROS et al., 2017).

Avaliações realizadas em linhagens de células da mucosa intestinal humana, sugerem que a DON age modulando a atividade de transportadores intestinais, atuando assim sobre a absorção de nutrientes, sendo que o principal mecanismo de lesão é a inibição da síntese proteica, a diminuição de constituintes de junção intercelular (claudina-4) é outro importante fator a ser levado em consideração (MARESCA et al., 2002 WHALE et al., 2010).

A DON também possui potencial para neurotoxicidade, induzindo apoptose neuronal através da via MAPK, causando também inflamação no sistema nervoso central (SNC) pelo aumento na expressão de moléculas pró-inflamatórias, além disso, parece causar lesão nas células do SNC, mecanismo que se deve a sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e induzir o estresse oxidativo (ZHANG et al., 2020).

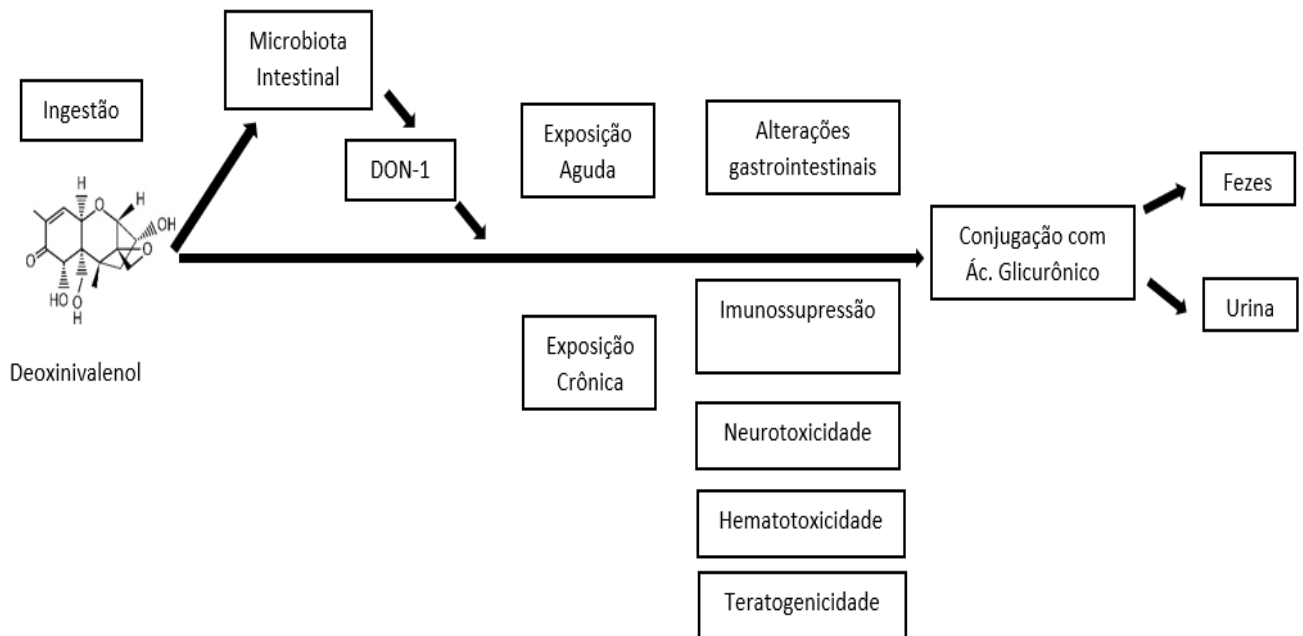
Estudos experimentais demonstram que a DON pode possuir potencial teratogênico, se relacionando com distúrbios do desenvolvimento ósseo e cartilágneo, porém tais achados são passíveis de discussão, tendo em vista que em outros estudos não são evidenciadas alterações no desenvolvimento embrionário e fetal, sendo esse um ponto a ser elucidado no futuro (KHERA et al., 1982; KHERA et al., 1986; DEBOUCK et al., 2001).

De forma geral, a DON atua sobre o sistema gastrointestinal quando ingerida em grande quantidade, e quando esta ingestão se dá em pequena quantidade, por tempo prolongado, apresenta potencial imunotóxico, teratogênico, neurotóxico, hematotóxico (Figura 9). A toxicidade vai variar conforme a espécie afetada, assim como outras micotoxinas, sendo que suínos são mais sensíveis e ruminantes mais resistentes aos seus efeitos (PESTKA, 2007).

Além disso, a principal via de metabolização da DON inclui conjugação com ácido glicurônico, sendo, portanto, DON livre e os conjugados com ácido glicurônico, p. ex. DON-Glicuronídeo (DON-GlcA), as formas mais utilizadas para mensurar à

exposição das populações a essa micotoxina. Além de DON livre e DON-GlcA, deepoxi-deoxinivalenol é outro metabolito presente em fluidos corporais, sendo esse associado a metabolização de DON pela microbiota (Tabela 4) (AL-JAAL et al., 2019).

Figura 9. Metabolização e efeitos nocivos do deoxinivalenol



Fonte: Do autor, 2021.

DON livre pode ser utilizada como biomarcador para investigar a exposição de populações à esta micotoxina, apresentando resultados satisfatórios em humanos (TURNER et al., 2010).

Dentre os conjugados com ácido glicurônico, DON-15-Glicuronideo (D15GlcA) é encontrado em maior quantidade na urina, sendo ele, portanto, um bom biomarcador de exposição à DON (WARTH et al., 2012).

Deepoxi-deoxinivalenol (DON-1) é o metabolito encontrado em menor quantidade em amostras de urina provenientes de humanos (TURNER et al., 2010; ALI et al., 2016). DON-1 é encontrado em maior proporção em amostras provenientes de animais, sendo este, um metabolito menos tóxico de DON, proveniente do metabolismo da microbiota intestinal. Os baixos índices de DON-1 em seres humanos podem indicar uma menor efetividade da microbiota intestinal humana de metabolizar DON, fazendo consequentemente que seres humanos estejam mais susceptíveis aos efeitos negativos dessa micotoxina (TURNER et al., 2011).

Tabela 7. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a Deoxinivalenol

| Principais biomarcadores de exposição humana a DON | | |
|---|-------------------------------|--------------------|
| Biomarcador | Local de identificação | Referência |
| DON, D15GlcA 15, D3GlcA 3. | Urina | WARTH et al., 2012 |
| DON, DON-1 | Urina | ALI et al., 2016 |

Fonte: Do autor, 2021.

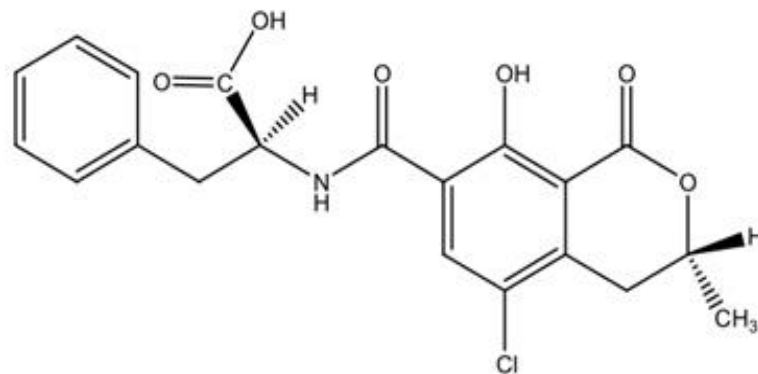
Devido ao potencial inflamatório, foi sugerido que proteínas pró-inflamatórias pudessem ser utilizadas como biomarcadores de exposição à DON, porém a inespecificidade delas faz com que não sejam consideradas bons biomarcadores (PESTKA, 2010).

4. 5 OCRATOXINA

As Ocratoxinas, são produtos do metabolismo secundário de fungos do gênero *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.*, encontradas principalmente em nozes, frutas secas, uva e bebidas derivadas (ROCHA et al., 2014). Possuem estrutura semelhante à da fenilalanina (Figura 10), o que faz com que essas micotoxinas possam atuar inibindo a síntese proteica.

Seus efeitos incluem: nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, imunossupressão e teratogênia (AL-JAAL et al., 2019). Dentro do grupo das ocratoxinas, a de maior importância é a ocratoxina A (OTA), pela capacidade de causar prejuízo na saúde humana e animal, sendo categorizada pela IARC como potencial carcinógeno para seres humanos, pertencendo então, ao grupo 2B (IARC, 1993).

Figura 10. Fórmula química da Ocratoxina A.



Fonte: MARIT; ARALT; SKAUG, 1999.

Após a ingestão, a OTA é absorvida e no intestino, se liga a albumina, sendo posteriormente distribuída por todo o organismo, principalmente em rins, fígado, musculatura esquelética, e cérebro (STUDER-ROHR et al., 2000; JUNG et al., 2001).

A metabolização da OTA (Figura 11) se inicia no intestino, através da ação de enzimas produzidas pela microbiota e das enzimas proteolíticas, que hidrolisam a OTA em Ocratoxina α (OT α) e Ocratoxina β (OT β) (PITOUT, 1969). Em situações de alcalinidade, pode ocorrer uma abertura no anel de lactona, que dá origem a Ocratoxina-lactona-aberta (OP-OH), sendo que esta é uma molécula com maior potencial tóxico que OTA (XIÃO et al., 1996).

Outros metabólitos que podem ser encontrados são os conjugados da metabolização hepática, sendo eles, glicuronídeos, hexose e pentoses, além disso, existem indícios de que, a OTA possa ser convertida em Ocratoxina B (OTB) (TOZLOVANU et al., 2012). Metabólitos menos tóxicos são resultado da oxidação microsomal, como o 4-hidroxiocratoxina A (4-OH-OTA) e 10-hidroxiocratoxina A (10-OH-OTA) (STORMER, PEDERSON, 1980; EL ADLOUNI et al., 2000).

A excreção da OTA é majoritariamente urinária e fecal. Nos rins, a toxina é reabsorvida pelos túbulos, propiciando um aumento da quantidade dela nessa região, sendo essa uma hipótese que explica a intensa nefrotoxicidade da mesma (RINGOT et al., 2006).

Assim, o mais proeminente prejuízo causado pela ingestão de OTA se dá pela nefrotoxicidade, que pode causar em várias espécies, levando a edema, necrose e alterações a nível celular como cariomegalia e apoptose, além de se evidenciar também mitoses aberrantes (HUFF et al., 1975; MAAROUFI et al., 1999).

Em seres humanos, a OTA já foi identificada em altos níveis em locais com alta incidência de nefropatia endêmica dos balcãs e de neoplasias do trato urinário (SIMON, 1996; CASTEGNARO et al., 2006). O mecanismo pelo qual a OTA causa nefrocarcinogênese é ainda alvo de discussão, tendo em vista o mecanismo de formação de adutos com o DNA, são levantadas hipóteses de que uma série de mecanismos epigenéticos estejam relacionados ao potencial carcinogênico da OTA (MARIN-KUAN et al., 2008; PFOHL-LESZKOWICZ, MANDERVILLE, 2012).

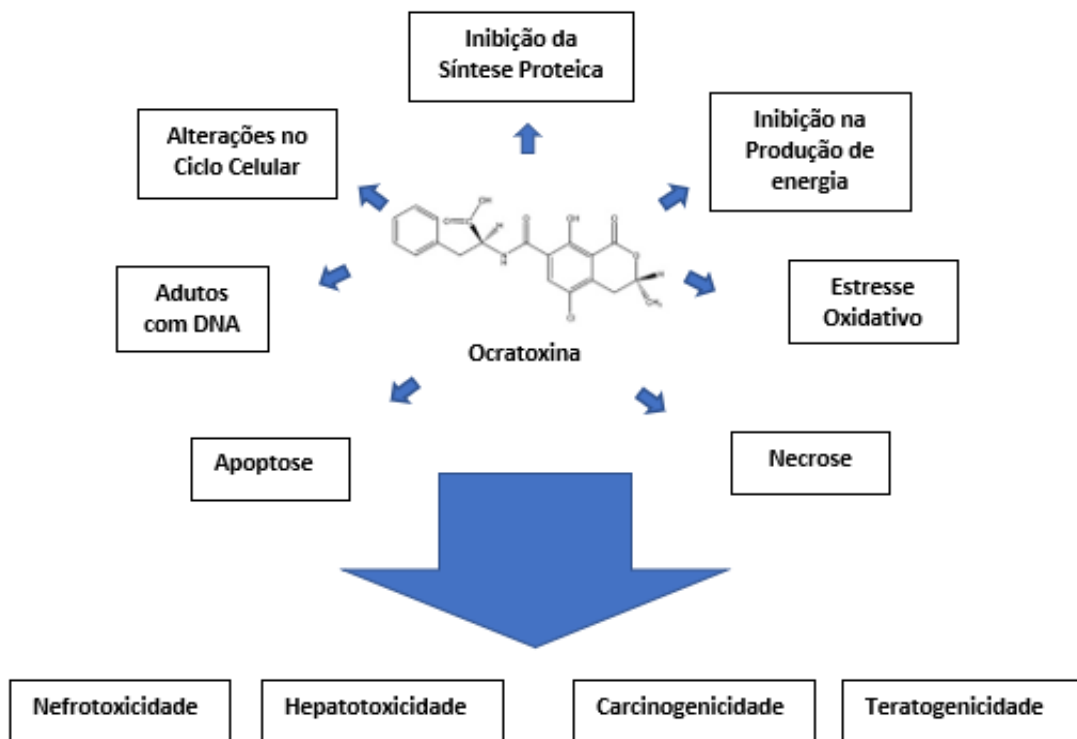
Como demonstrado em estudos experimentais, a OTA que é metabolizada no fígado pela via do Citocromo P450, atua no metabolismo hepático, induzindo alterações em suas vias metabólicas, podendo assim levar ao desenvolvimento de doenças hepáticas ao longo do tempo (QY et al., 2014). Os mecanismos pelos quais a OTA atua no fígado são principalmente pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio dentro dos hepatócitos, seguido da lesão em DNA e então a estimulação da ativação da via intrínseca da apoptose (GAYATHRI et al., 2015).

Metabólitos de OTA podem ser encontrados em leite materno humano e de animais, o que evidencia o risco de contaminação durante o aleitamento e em produtos lácteos (BREITHOLTZ-EMANUELSSON et al., 1993; SKAUG, 1999 SKAUG et al., 2010).

Estudos experimentais sugerem também que a OTA possui potencial teratogênico. Quando seus efeitos são avaliados em ratos e camundongos, mostrou-se relacionar com aumento da mortalidade pré-natal, diminuição do peso dos filhotes, malformações ósseas, dos olhos e da face. Quando fornecido em altas doses leva a morte dos fetos (HAYES et al., 1974; BROWN et al., 1976). Um estudo conduzido em uma placenta humana reperfundida, demonstrou ineficácia na transferência da OTA, indo na contramão dos resultados obtidos em animais sendo esse um ponto a ser investigado no futuro (WOO et al., 2012).

De forma geral, os estudos indicam que os principais mecanismos envolvidos nos efeitos tóxicos da OTA são: inibição da síntese proteica, inibição na produção de energia, estresse oxidativo, formação de adutos com o DNA, apoptose, alterações no ciclo celular e necrose (Figura 11). (KŐSZEGI, MIKLÓS, 2016).

Figura 11. Mecanismos de ação e efeitos no organismo da Ocratoxina A



Fonte: Do autor, 2021.

Os biomarcadores mais utilizados para o diagnóstico de exposição à OTA (TABELA 8) são OTA, OT α , OT β e em menor quantidade 4-R-Hidroxiocratoxina (4-OH-OTA) resultantes de processos de hidroxilação por enzimas da família do citocromo P450 e peroxidases. Todas podem ser encontradas em soro, plasma e urina humana e animal (EDIAGE et al., 2012; ROCHA et al., 2014; AL-JAAL et al., 2019).

OTA pode ainda ser evidenciada no leite, embora os níveis de biomarcadores na urina indiquem uma melhor fonte para avaliar a exposição (SCOTT, 2005).

Um estudo conduzido em alemães adultos, demonstrou uma maior quantidade de OT α em amostras de urina quando comparado com OTA, situação inversa na

avaliação dos níveis plasmáticos desses biomarcadores, os estudos nesse caso indicam uma maior quantidade de OTA no sangue quando comparado a OT α (ALI et al., 2017).

Tabela 8. Principais biomarcadores utilizados na determinação de exposição humana a Ocratoxina A

| Principais biomarcadores de exposição humana a OTA | | |
|---|-------------------------------|---------------------|
| Biomarcador | Local de identificação | Referência |
| OTA e OT α | Plasma | ALI et al., 2018 |
| OTA e OT α | Urina | ALI et al., 2017 |
| OTA | Leite Materno | MUÑOZ et al., 2014 |
| OTA, OT α e 4-OH-OTA | Urina | EDIAGE et al., 2012 |

Fonte: Do autor, 2021.

Ali et al., (2017), não notaram diferença nas quantidades de OTA e OT α , na urina de uma população adulta, quanto a idade, gênero e massa corporal, sendo esses aparentemente aspectos que não se relacionam com a metabolização da Ocratoxina.

Além disso, OT α , pode servir como um componente auxiliar na determinação de exposição à OTA, na urina, tendo em vista que a OTA livre permanece na urina por um curto período, sendo, portanto, um biomarcador de exposição recente, diferente do que acontece quando atinge a circulação, onde permanece por longos períodos (GILBERT et al., 2001).

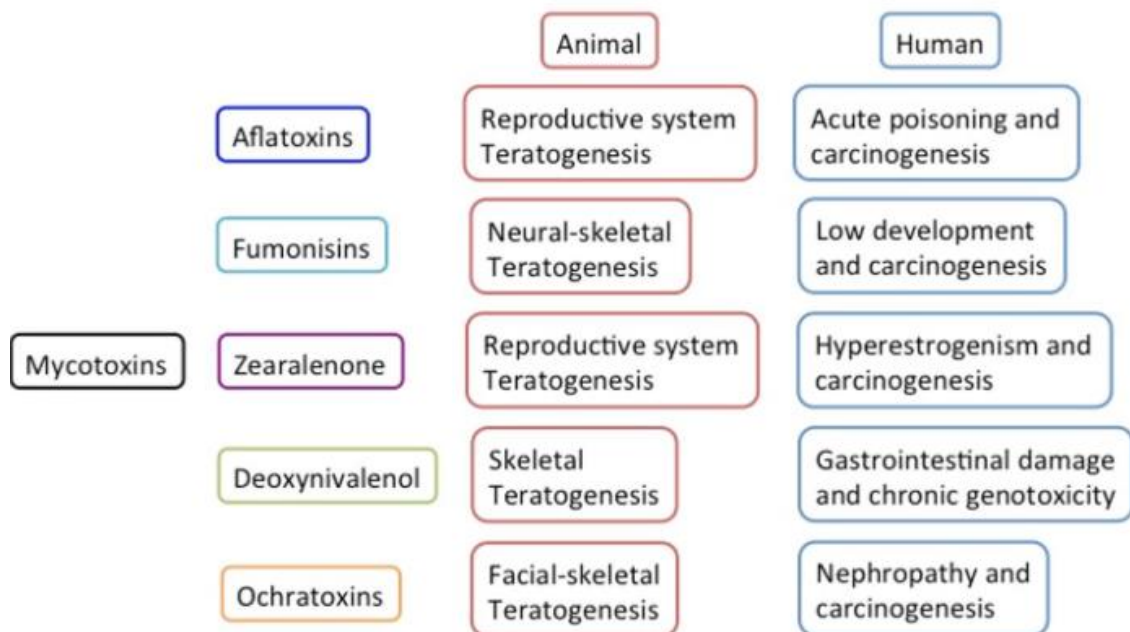
5. LEGISLAÇÃO MICOTOXINAS

As micotoxinas são contaminantes dos alimentos espalhadas por todo o mundo e embora a FAO estime que essa contaminação seja de cerca de 25% de todo o alimento mundial. Estudos mais recentes indicam que ela pode ser maior, podendo

atingir cerca de 60% de todo o alimento mundial. Essas mudanças podem estar relacionadas ao fato de que a estimativa da FAO data de antes de 1985, sendo que, atualmente os métodos analíticos possuem uma maior capacidade de detecção, além do impacto das mudanças climáticas sobre os fatores que propiciam o desenvolvimento fúngico e a produção de micotoxinas (ESKOLA et al., 2020; AGRIPOLOU, et al., 2020).

Com evidências crescentes de que os impactos causados pelas micotoxinas sobre a saúde humana e animal sejam maiores do que o imaginado (Figura 12), principalmente no que diz respeito aos efeitos crônicos, o controle por meio de métodos que diminuam a exposição as micotoxinas ou atenuem seus efeitos são extremamente importantes.

Figura 12: Principais efeitos das micotoxinas na saúde humana e animal



Fonte: Do autor, 2021.

Tendo em vista os efeitos das micotoxinas sobre a saúde humana e animal, bem como, na produção e conseqüentemente seu impacto na economia, desde a sua descoberta nos anos 60, os países vem buscando regulamentar quantidades máximas

dessas substâncias (VAN EGMONG, 2002). Até o ano de 2003, 99 países tinham regulamentação específica sobre a quantidade de micotoxinas nos alimentos, um total de 83% dos 119 países avaliados. Em 13% dos países, não existiam informações acerca da legislação, grande parte deles no continente africano, e os demais não dispunham de regulamentação vigente. Existem ainda comissões internacionais que buscam padronizar níveis de segurança das micotoxinas como o *codex alimentarius* que faz parte da organização mundial da saúde (OMS) e da *Food and Agriculture Organization* (FAO) (FAO, 2004).

A Legislação Brasileira atual, data de 2011, atualizada pela última vez em 2016, ela regulamenta os limites máximos tolerados de micotoxinas nos alimentos, sendo que, esse limite varia conforme o tipo de alimento (Tabela 9), tendo em vista a maior propensão de alguns para o desenvolvimento dessas toxinas (BRASIL, 2011). Para produtos destinados à alimentação animal, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento estabelece limite apenas para o consumo de aflatoxinas totais, sendo este valor de 50 µg/kg (MAPA, 1988).

Tabela 9. Limites máximos de micotoxinas permitidos nos alimentos no Brasil

| Micotoxina | Limite (µg/kg) |
|-----------------------------------|----------------|
| Aflatoxina M1 | 0,5-5 |
| Aflatoxina B1, B2, G1 e G2 | 1-20 |
| Ocratoxina A | 2-30 |
| Deoxinivalenol | 200-3000 |
| Fumonisina B1 + B2 | 200-5000 |
| Zearalenona | 20-1000 |
| Patulina | 50 |

Em relação aos limites propostos pelo *codex alimentarius*, o Brasil estabelece limites para todas as toxinas propostas pela comissão, no entanto podemos notar, que

a legislação Brasileira ainda excede as quantidades propostas, sendo que, no caso de aflatoxinas totais o limite proposto pela comissão é de 15 µg/kg enquanto no Brasil esse limite chega a 20 µg/kg no caso de castanhas, especiarias, amendoim e milho. Quanto a AFM1, o limite proposto no codex é de 0,5 µg/kg, enquanto no Brasil os limites podem chegar a 2,5 µg/kg em queijos e até 5 µg/kg no leite em pó. Também os limites permitidos de Fumonisinias são destoantes, enquanto a comissão indica um limite de 4000 µg/kg no Brasil esse valor pode chegar a 5000 µg/kg em milho que será posteriormente processado. Os valores permitidos de Ocratoxina A também são superiores no Brasil, chegando a 30 µg/kg em especiarias, enquanto o codex sugere um valor de segurança de 5 µg/kg. Deoxinivalenol também possui limites superiores no Brasil, sendo permitido em até 3000 µg/kg em trigo e milho para posterior processamento, enquanto os limites propostos pelo codex são de 2000 µg/kg. (CODEX ALIMENTARIUS, 1993). De forma geral, em relação aos limites propostos pelo codex, os países europeus, além dos Estados Unidos e Canadá, tendem a impor limites inferiores, restringindo ainda mais o consumo de suas populações a essas substâncias (PRADO, 2014).

Em relação ao controle de micotoxinas em produtos destinados a alimentação animal, a União Europeia, é mais restrito quanto aos limites permitidos quando comparado ao Brasil, sendo a quantidade máxima de aflatoxinas totais na alimentação de 20 µg/kg, além disso também regulamentam a AFB1 individualmente, bem como deoxinivalenol, fumonisinias, zearalenona e ocratoxina A. Nos Estados Unidos, o limite máximo de aflatoxinas totais para a alimentação animal depende do tipo de criação, variando de 20 µg/kg para vacas leiteira, até 300 µg/kg para bovinos de corte. Nos Estados Unidos também existe regulamentação para deoxinivalenol e fumonisinias na alimentação animal (OLIVEIRA et al., 2014).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contaminação de alimentos por micotoxinas é relevante do ponto de vista de saúde global, o entendimento dos seus mecanismos de ação, faz com que cada vez mais seja possível associá-las a uma série de doenças. Para estabelecer de forma mais precisa como se dá a associação dessas substâncias com diversas patologias,

a mensuração de exposição das populações com base nos seus biomarcadores é essencial, o que torna importante conhecer com detalhes a biotransformação dessas substâncias e definir os melhores marcadores para identificá-las. Outro ponto importante é a reação em cadeia que pode se formar, quando, a alimentação dos animais de produção está contaminada e então os seus produtos como carne, leite e ovos passam a ser contaminantes. Correlacionar a saúde humana e animal, além de otimizar o tanto quanto possível os processos de produção de alimentos parece ser um importante passo para identificar o seu real impacto na saúde, e assim propor medidas que visem diminuí-los.

7. REFERÊNCIAS

ABDEL-AZIEM, S.; SALEH, Z.; FARRAG, A. Impact of whey protein on the genotoxic effects of Aflatoxins in rats. **International J. of Dairy Sci**, 2. 126-137. 2007. doi:10.3923/ijds.2007.126.137.

ABDEL-WAHHAB, M. A.; HASSAN, A. M.; AMER, H. A.; NAGUIB, K. M. Prevention of fumonisin-induced maternal and developmental toxicity in rats by certain plant extracts. **Journal of applied toxicology**, JAT, v. 24 n.6, p. 469–474, 2004. <https://doi.org/10.1002/jat.1000>.

ABDULRAZZAQ, Y.; PADMANABHAN, R.; SALIM, M.; KOCHYIL, J.; SHAFIULLAH, M. Teratogenic Effects of Aflatoxin B1 in Mice Exposed in Early and Late Gestation. **Pediatric Research**, v. 70, p. 405-405, 2011. doi. 10.1038/pr.2011.630.

AGRIOPOULOU; STAMATELOPOULOU; VARZAKAS. Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. **Foods**, v. 9, n.2, p.137, 2020. doi:10.3390/foods9020137.

ALAMU, E. O.; GONDWE, T.; AKELLO, J.; MAZIYA-DIXON, B.; MUKANGA, M. Relationship between serum aflatoxin concentrations and the nutritional status of children aged 6-24 months from Zambia. **International journal of food sciences and nutrition**, p. 1–11, 2019. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1689547>.

ALI, N.; DEGEN, G. H. Urinary biomarkers of exposure to the mycoestrogen zearalenone and its modified forms in German adults. **Archives of toxicology**, v. 92 n.8, p. 2691–2700, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2261-5>.

ALI, N.; BLASZKEWICZ, M.; DEGEN, G. H. Assessment of deoxynivalenol exposure among Bangladeshi and German adults by a biomarker-based approach. **Toxicology Letters**, 258, p. 20–28, 2016. doi:10.1016/j.toxlet.2016.06.006.

ALI, N.; HOSSAIN, K.; DEGEN, G. H. Blood plasma biomarkers of citrinin and ochratoxin A exposure in young adults in Bangladesh. **Mycotoxin Research**, v. 34 n. 1, p. 59–67, 2018. doi:10.1007/s12550-017-0299-5.

ALI, N.; MUÑOZ, K.; DEGEN, G. H. Ochratoxin A and its metabolites in urines of German adults—An assessment of variables in biomarker analysis. **Toxicology Letters**, 275, p. 19–26, 2017. doi:10.1016/j.toxlet.2017.04.013.

AL-JAAL, B. A.; JAGANJAC, M.; BARCARU, A.; HORVATOVICH, P.; LATIFF, A. Aflatoxin, fumonisin, ochratoxin, zearalenone and deoxynivalenol biomarkers in human biological fluids: A systematic literature review, 2001–2018. **Food and Chemical Toxicology**, 2019.

ALTHNAIAN, T.; ALBOKHADAI, I.; EL-BAHR, S. Effect of Aflatoxin B1 on Histopathology and Oxidative Stress Biomarkers in Testis of Rats with Special References to Gene Expression of Antioxidant Enzymes. **International Journal of Pharmacology**, v. 12, p. 408-414, 2016. doi:10.3923/ijp.2016.408.414.

ANDREWS-TREVINO, J. Y.; WEBB, P.; SHIVELY, G.; ROGERS, B.; BARAL, K.; DAVIS, D.; PAUDEL, K.; POKHAREL, A.; SHRESTHA, R.; WANG, J. S.; XUE, K. S.; & GHOSH, S. Dietary determinants of aflatoxin B₁-lysine adduct in pregnant women consuming a rice-dominated diet in Nepal. **European journal of clinical nutrition**, v. 74, n. 5, p. 732–740, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41430-019-0554-2>

ATROSHI, F.; RIZZO, A.; WESTERMARCK, T.; ALI-VEHMAS, T. Antioxidant nutrients and mycotoxins. **Toxicology**, v. 180, n. 2, p. 151-167, 2002. doi:10.1016/s0300-483x(02)00388-8.

AZZIZ-BAUMGARTNER, E.; LINDBLADE, K.; GIESEKER, K.; ROGERS, H. S.; KIESZAK, S.; NJAPAU, H.; SCHLEICHER, R.; MCCOY, L. F.; MISORE, A.; DECOCK, K.; RUBIN, C.; SLUTSKER, L.; AFLATOXIN INVESTIGATIVE GROUP. Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 12, p. 1779–1783, 2005. <https://doi.org/10.1289/ehp.8384>.

BANDO, É.; GONCALES, L. N.; TAMURA N, C.; MACHINSKI, J. N. Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** [online]., vol.43, n.3, pp.175-180. 2007. Available from: <<http://www.scielo.br/scielo.php>.

BATATINHA, M. J.; SIMAS, M. M. S.; GÓRNIAC, S. L. Micotoxicoses in: SPINOSA H.S., GÓRNIAC S.L., PALERMO-NETO, J. Toxicologia Aplicada à Medicina Veterinária. Editora Manole, São Paulo. 942p, 2008.

BATTACONE, G.; NUDDA, A.; PALOMBA, M.; PASCALE, M.; NICOLUSSI, P.; PULINA, G. Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. **Journal of dairy science**, v. 88, n. 9, p. 3063–3069, 2005. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72987-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72987-8).

BELHASSEN, H.; JIMÉNEZ-DÍAZ, I.; ARREBOLA, J. P.; GHALI, R.; GHORBEL, H.; OLEA, N.; & HEDILI, A. Zearalenone and its metabolites in urine and breast cancer risk: a case-control study in Tunisia. **Chemosphere**, v. 128, p. 1–6, 2015 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.055>.

BENKERROUM N. Chronic and Acute Toxicities of Aflatoxins: Mechanisms of Action. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 2, p.423, 2020. doi:<https://doi.org/10.3390/ijerph17020423>

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical microbiology reviews**, v. 16, n. 3, p. 497–516, 2003. <https://doi.org/10.1128/cmr.16.3.497-516.2003>

BRASIL. RESOLUÇÃO Nº 7, DE 18 DE FEVEREIRO DE 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html>. Acesso em: 28 de nov. de 2021.

BREITHOLTZ-EMANUELSSON, A.; OLSEN, M.; OSKARSSON, A.; PALMINGER, I.; HULT, K. Ochratoxin A in Cow's Milk and in Human Milk with Corresponding Human Blood Samples. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 76, n. 4, 1993, Pages 842–846, <https://doi.org/10.1093/jaoac/76.4.842>

BROWN, M. H.; SZCZECH, G. M.; & PURMALIS, B. P. Teratogenic and toxic effects of ochratoxin A in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 331–338. 1976. doi:10.1016/0041-008x(76)90096-x

BRYDEN W. L. Mycotoxins in the food chain: human health implications. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 16 n. 1, p. 95–101, 2007

BUJONS, J.; HSIEH, D. P.; KADO, N. Y.; MESSEGUER, A. Aflatoxin M1 8,9-epoxide: preparation and mutagenic activity. **Chemical research in toxicology**, v. 8, n. 3, p. 328–332, 1995. <https://doi.org/10.1021/tx00045a002>

CAI, Q.; TANG, L.; WANG, J. S. Validation of fumonisin biomarkers in F344 rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 225, n. 1, p. 28–39. 2007. doi:10.1016/j.taap.2007.06.027

CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N. Aflatoxinas e Ochratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, v. 36, p. 319-323. 2002.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; BERNARDI, C. M.; NARDIN, M. S.; DE SOUZA, G. V.; DOS SANTOS, F. G.; STEIN, M.; GLORIA, E. M.; DIAS, C. T.; DE CAMARGO, A. C. Co-occurrence and distribution of deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone in wheat from Brazil. **Food additives & contaminants. Part B, Surveillance**, v. 9 n. 2, p. 142–151, 2016 <https://doi.org/10.1080/19393210.2016.1152598>.

CARBALLO, D.; PALLARÉS, N.; FERRER, E.; BARBA, F. J.; BERRADA, H. Assessment of Human Exposure to Deoxynivalenol, Ochratoxin A, Zearalenone and Their Metabolites Biomarker in Urine Samples Using LC-ESI-qTOF. **Toxins**, v. 13, n. 8, p. 530, 2021. <https://doi.org/10.3390/toxins13080530>.

CASTEGNARO, M.; CANADAS, D.; VRABCHEVA, T.; PETKOVA-BOCHAROVA, T.; CHERNOZEMSKY, I. N.; PFOHL-LESZKOWICZ, A. Balkan endemic nephropathy:

Role of ochratoxins A through biomarkers. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 50, n. 6, p. 519–529, 2006. doi:10.1002/mnfr.200500182

CASTELINO, J. M.; DOMINGUEZ-SALAS, P.; ROUTLEDGE, M. N.; PRENTICE, A. M., MOORE, S. E.; HENNIG, B. J.; WILD, C. P.; GONG, Y. Y. Seasonal and gestation stage associated differences in aflatoxin exposure in pregnant Gambian women. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 19, n. 3, p. 348–354, 2014. <https://doi.org/10.1111/tmi.12250>

CHAUHAN, R.; SINGH, J.; SACHDEV, T.; BASU, T.; MALHOTRA, B. D. Recent advances in mycotoxins detection. **Biosensors & bioelectronics**, v. 81, p. 532–545, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.004>

CHAWANTHAYATHAM, S.; THIANANAWAT, A.; EGNER, P. A.; GROOPMAN, J. D.; WOGAN, G. N.; CROY, R. G.; ESSIGMANN, J. M. Prenatal exposure of mice to the human liver carcinogen aflatoxin B1 reveals a critical window of susceptibility to genetic change. **International journal of cancer**, v. 136, n. 6, p. 1254–1262, 2015. <https://doi.org/10.1002/ijc.29102>.

CHEN, C.; RILEY, R.T.; WU, F. Dietary Fumonisin and Growth Impairment in Children and Animals: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, p. 1448-1464, 2018. doi:10.1111/1541-4337.12392.

CHEN, J.; WEI, Z.; WANG, Y.; LONG, M.; WU, W.; KUCA, K. Fumonisin B1: Mechanisms of toxicity and biological detoxification progress in animals. **Food and Chemical Toxicology**, v. 149, p. 111977, 2021. doi:10.1016/j.fct.2021.111977.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

Codex Alimentarius Commission, 2000, Joint FAO/WHO Food standards Programme. Report of the 32nd Session of the Codex Committee of Food Additives and Contaminants. Beijing, People's Republic of China, 20-24 March 2000. Rome, Italy.

COME, J.; CAMBAZA, E.; FERREIRA, R.; DA COSTA, J.; CARRILHO, C.; SANTOS, L. L. Esophageal cancer in Mozambique: should mycotoxins be a concern?. **The Pan African medical journal**, v. 33, p. 187, 2019. <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.33.187.18295>.

COPPA, C. F. S. C.; CIRELLI, A. C.; GONÇALVES, B. L.; BARNABÉ, E. M. B.; PETTA, T., FRANCO; L. T., OLIVEIRA, C. A. F. Mycotoxin occurrence in breast milk and exposure estimation of lactating mothers using urinary biomarkers in São Paulo, Brazil. **Environmental Pollution**, v. 279, p. 116938, 2021. doi:10.1016/j.envpol.2021.116938.

DAI, Y.; HUANG, K.; ZHANG, B.; ZHU, L.; XU, W. Aflatoxin B1-induced epigenetic alterations: An overview. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, v. 109(Pt 1), p. 683–689, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.06.034>

DE WALLE, J. V.; SERGENT, T.; PIRONT, N.; TOUSSAINT, O.; SCHNEIDER, Y. J.; LARONDELLE, Y. Deoxynivalenol affects in vitro intestinal epithelial cell barrier integrity through inhibition of protein synthesis. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 245, p. 3, p. 291–298, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.03.012>.

DEBOUCK, C.; HAUBRUGE, E.; BOLLAERTS, P.; BIGNOOT, D.; BROSTAUX, Y.; WERRY, A.; ROOZE, M.; Skeletal deformities induced by the intraperitoneal administration of deoxynivalenol (vomitoxin) in mice. **International Orthopaedics (SICOT)** v. 25, p. 194–198, 2001. <https://doi.org/10.1007/s002640100235>.

DHAKAL A, SBAR E. Aflatoxin Toxicity. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557781/>

DIAS, A. Micotoxinas em produtos de origem animal. **Rev. cient. de med. vet**, n. 30, 2018.

DIAZ, G. J.; SÁNCHEZ, M. P. Determination of aflatoxin M1 in breast milk as a biomarker of maternal and infant exposure in Colombia. **Food additives &**

contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment, v. 32, n. 7, p. 1192–1198, 2015. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1049563>

DOBROWOLSKI, P.; WIAŁĘCEK, D.; KAMIN, S. D.; BREZVYIN, O. Bone homeostasis in experimental fumonisins intoxication of rats. **Ann. Anim. Sci.**, v. 19, p. 403–419. 2019.

DOHNAL, V., WU, Q., KUČA, K. Metabolism of aflatoxins: key enzymes and interindividual as well as interspecies differences. **Arch. Toxicol.** v. 88, n. 9, 1635–1644, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1312-9>.

DUGYALA, R. R.; SHARMA, R. P.; TSUNODA, M.; RILEY, R. T. Tumor necrosis factor-alpha as a contributor in fumonisin B1 toxicity. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 285, n.1, p. 317–324, 1998.

EDIAGE EN, D. I.; MAVUNGU, J. D.; SONG, S. WU, A.; VAN PETEGHEM, C.; DE SAEGER, S. A direct assessment of mycotoxin biomarkers in human urine samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Anal Chim Acta.** v. 741, p. 58-69, 2012. doi:10.1016/j.aca.2012.06.038.

EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. **EFSA J.** 235, 1–32. 2005. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.235>.

EL ADLOUNI, C.; PINELLI, E.; AZEMAR, B.; ZAOUI, D.; BEAUNE, P.; LESZKOWICZ, A.P. Phenobarbital increases of DNA adduct and metabolites formed by Ochratoxin A: Role of CYP 2C9 and microsomal glutathione-S-transferase. **Environ. Mol. Mutagen.** v. 35, p. 123–131, 2000. [CrossRef].

EL-NAHLA, S. M.; IMAN, H. M.; EID, M.; IBRAHIM, A.; GHANAM, A. Teratogenic effects of aflatoxin in Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **Journal of veterinary anatomy. J Vet Anat**, p. 67-85, 2013. doi:10.21608/jva.2013.45024.

ESKOLA, M.; KOS G.; ELLIOTT C.T.; HAJŠLOVÁ J.; MAYAR S.; KRŠKA R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited FAO estimate of 25%. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 60, n. 16, p. 2773–2789, 2020. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1658570>.

FAUZI, A.; AHMED, S.; ABEAD, S. Toxicity Effect of Aflatoxin B1 on Reproductive System of Albino Male Rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 18, p. 107-114, 2015. doi: 10.3923/pjbs.2015.107.114.

FERNANDEZ, A.; BELÍO, R.; RAMOS, J.J.; SANZ, M.C.; SAEZ, T. Aflatoxins and their Metabolites in the Tissues, Faeces and Urine from Lambs Feeding on an Aflatoxin-Contaminated Diet. **J. Sci. Food Agric.**, v. 74, p. 161-168, 1997. doi:10.1002/(SICI)1097-0010(199706)74:2<161::AID-JSFA783>3.0.CO;2-D

FETAIH, H. A.; DESSOUKI, A. A.; HASSANIN, A. A.; TAHAN, A. S. Toxopathological and cytogenetic effects of aflatoxin B1 (AFB1) on pregnant rats. **Pathology, research and practice**, v. 210, n. 12, p. 1079–1089, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2014.06.001>

Fetaih, Hamdy , Dessouki, Amina & Tahan, Ahmed. Toxopathological effect of AFB1 on pregnant rats. 2015. doi:10.5281/zenodo.19359.

FIORAMONTI, J.; DUPUY, C.; DUPUY, J.; BUENO, L. The mycotoxin, deoxynivalenol, delays gastric emptying through serotonin-3 receptors in rodents. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 266, n. 3, p. 1255–1260, 1993.

FITZPATRICK, D. W.; PICKEN, C. A.; MURPHY, L. C.; BUHR, M. M. Measurement of the relative binding affinity of zearalenone, alpha-zearalenol and beta-zearalenol for uterine and oviduct estrogen receptors in swine, rats and chickens: an indicator of estrogenic potencies. *Comparative biochemistry and physiology. C*, **Comparative pharmacology and toxicology**, v. 94, n. 2, p. 691–694, 1989. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(89\)90133-3](https://doi.org/10.1016/0742-8413(89)90133-3).

Food and Agriculture Organization, 2004, Worldwide Regulation for Mycotoxins 2003. A compendium. FAO Food and Nutrition Paper 81, Rome, Italy.

FRIZZELL, C.; UHLIG, S.; MILES, C. O.; VERHAEGEN, S.; ELLIOTT, C. T.; ERIKSEN, G. S.; SØRLIE, M.; ROPSTAD, E.; CONNOLLY, L. Biotransformation of zearalenone and zearalenols to their major glucuronide metabolites reduces estrogenic activity. **Toxicology in vitro** : an international journal published in association with BIBRA, v. 29, n. 3, p. 575–581, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.01.006>.

GALVANO, F.; PIVA, A.; RITIENI, A.; GALVANO, G. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. **J Food Prot.**, v. 64 p. 1, p. 120-131, 2001. doi:10.4315/0362-028x-64.1.120.

GAOYUN, C.; YUN, Y. G.; MARTIN, E.; KIMANYA, C. P.; SHIRIMA, MICHAEL N. R. Comparison of urinary aflatoxin M1 and aflatoxin albumin adducts as biomarkers for assessing aflatoxin exposure in Tanzanian children, **Biomarkers**, v 23, n. 2, p. 131-136, 2018. doi: 10.1080/1354750X.2017.1285960.

GAYATHRI, L.; DHIVYA, R.; DHANASEKARAN, D.; PERIASAMY, V. S.; ALSHATWI, A. A.; AKBARSHA, M. A. Hepatotoxic effect of ochratoxin A and citrinin, alone and in combination, and protective effect of vitamin E: In vitro study in HepG2 cell. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 151–163, 2015. doi:10.1016/j.fct.2015.06.009.

GELINEAU-VAN WAES, J.; VOSS, K. A.; STEVENS, V. L.; SPEER, M. C.; RILEY, R. T. Maternal fumonisin exposure as a risk factor for neural tube defects. **Advances in food and nutrition research**, v. 56, p. 145–181. 2009. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)00605-0](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)00605-0).

GIOVATI, L.; MAGLIANI, W.; CIOCIOLA, T.; SANTINOLI, C.; CONTI, S.; POLONELLI, L. AFM₁ in Milk: Physical, Biological, and Prophylactic Methods to Mitigate Contamination. **Toxins**, v. 7, n. 10, p. 4330–4349, 2015. <https://doi.org/10.3390/toxins7104330>.

GONG, Y. Y.; CARDWELL, K.; HOUNSA, A.; EGAL, S.; TURNER, P. C.; HALL, A. J.; WILD, C. P. Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 325, n. 7354, p. 20–21, 2002. <https://doi.org/10.1136/bmj.325.7354.20>.

GROOPMAN, J. D.; KENSLER, T. W. The light at the end of the tunnel for chemical-specific biomarkers: daylight or headlight?. **Carcinogenesis**, v. 20, n. 1, p. 1–11, 1999. <https://doi.org/10.1093/carcin/20.1.1>.

GROOPMAN, J. D.; WILD, C. P.; HASLER, J.; JUNSHI, C.; WOGAN, G. N.; KENSLER, T. W. Molecular Epidemiology of Aflatoxin Exposures: Validation of Aflatoxin-N7-Guanine Levels in Urine As a Biomarker in Experimental Rat Models and

Humans. **Environmental Health Perspectives**, v. 99, p. 107. 1993. doi:10.2307/3431465 .

HARRISON, L. R.; COLVIN, B. M.; GREENE, J. T.; NEWMAN, L. E.; COLE, J. R., JR. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. **Journal of veterinary diagnostic investigation**. official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, v. 2, n. 3, p. 217–221, 1999. <https://doi.org/10.1177/104063879000200312>

Hasanzadeh, S.; Amani, S. Aflatoxin B1 effects on ovarian follicular growth and atresia in the rat. **Comparative Clinical Pathology**, v. 22. 2012. doi: 10.1007/s00580-012-1446-1.

HASANZADEH, S.; HOSSEINI, E.; REZAZADEH, L. Effects of aflatoxin B1 on profiles of gonadotropic (FSH and LH), steroid (testosterone and 17 β -estradiol) and prolactin hormones in adult male rat. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 12, n. 4, p. 332-336. 2011 doi: 10.22099/ijvr.2011.85.

HASSEN, W.; AYED-BOUSSEMA, I.; OSCOZ, A. A.; LOPEZ, A.; BACHA, H.; The role of oxidative stress in zearalenone-mediated toxicity in Hep G2 cells: oxidative DNA damage, glutathione depletion and stress proteins induction. **Toxicology**, v. 232, n. 3, p. 294–302, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.01.015>.

Hayes, A. W. *Mycotoxin Teratogenicity and Mutagenicity*. New York: CRC Press. 1981.

HAYES, A. W.; HOOD, R. D.; LEE, H. L.; Teratogenic effects of ochratoxin A in mice. **Teratology**, v. 9 , n. 1, 93–97. 1974. doi:10.1002/tera.1420090112

HERNANDEZ-VARGAS, H.; CASTELINO, J.; SILVER, M. J.; DOMINGUEZ-SALAS, P., CROS, M. P.; DURAND, G.; LE CALVEZ-KELM, F.; PRENTICE, A. M.; WILD, C. P., MOORE, S. E.; HENNIG, B. J.; HERCEG, Z.; GONG, Y. Y.; ROUTLEDGE, M. N. Exposure to aflatoxin B1 in utero is associated with DNA methylation in white blood cells of infants in The Gambia. **International journal of epidemiology**, v. 44, n. 4, p. 1238–1248, 2015. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv027>

HILAKIVI-CLARKE, L.; ONOJAFE, I.; RAYGADA, M.; CHO, E.; SKAAR, T.; RUSSO, I., CLARKE, R. Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary

tumorigenesis. **British journal of cancer**, v. 80 n. 11, p. 1682–1688. 1999. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690584>

HUFF , W. E.; WYATT , R. D.; HAMILTON , P. B. Nephrotoxicity of Dietary Ochratoxin A in Broiler Chickens. **Applied Microbiology**, v. 30, n. 1, p 48-51, 1975.

IARC (International Agency for Research on Cancer). 1993. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, vol. 56, 397–444. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, World Health Organization.

IARC, 2002. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene, vol. 82 IARC, France.

ISLAM, M. R.; J. W. KIM, Y.-S; ROH, J.-H; KIM, K. M; HAN, H.-J; KWON, C. W; LIM, B. KIM. Evaluation of immunomodulatory effects of zearalenone in mice. **Journal of Immunotoxicology**, v. 14, n. 1, p. 125–36, 2017. doi: 10.1080/1547691X.2017.1340371.

J., LIU, M. The carcinogenicity of aflatoxin B1. In: Aflatoxin B1 Occurrence, Detection and Toxicological Effects. **IntechOpen**. 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88353>.

JAGER, A. V.; TONIN, F. G.; BAPTISTA, G. Z.; SOUTO, P. C.; OLIVEIRA, C. A. Assessment of aflatoxin exposure using serum and urinary biomarkers in São Paulo, Brazil: A pilot study. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 219, n. 3, p. 294–300, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.12.003>

JAMES, J.; PESTKA ALEXA, T.; SMOLINSKI. Deoxynivalenol: Toxicology and Potential Effects on Humans, **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 8, n. 1, p. 39-69, 2005. DOI: 10.1080/10937400590889458

JUNG, K.Y.; TAKEDA, M.; KIM, D.K.; TOJO, A.; NARIKAWA, S.; YOO, B.S.; HOSOYAMADA, M.; CHA, S.H.; SEKINE, T.; ENDOU, H. Characterization of

Ochratoxin A transport by human organic anion transporters. **Life Sci**, v. 69, p. 2123–2135. 2001. [CrossRef].

KHERA, K. S.; WHALEN, C.; & ANGERS, G. A teratology study on vomitoxin (4-deoxynivalenol) in rabbits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 24, n. 5, 4 p. 421–424. 1986. doi:10.1016/0278-6915(86)90207-3 .

KHERA, K.; WHALEN, C.; ANGERS, G.; VESONDER, R.; KUIPER-GOODMAN, T. Embryotoxicity of 4-deoxynivalenol (vomitoxin) in mice. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 29, p. 487. 1982.

KIM, D. H.; LEE, Y.S.; LEE, Y. M.; *et al.* Elevation of sphingoid base 1-Phosphate as a potential contributor to hepatotoxicity in Fumonisin B₁-exposed mice. **Arch Pharm Res**, v. 30, p. 962–969, 2007. <https://doi.org/10.1007/BF02993964>

KIM, S. H.; SINGH, M. P.; SHARMA, C.; KANG, S. C. Fumonisin B1 actuates oxidative stress-associated colonic damage via apoptosis and autophagy activation in murine model. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 32 n. 7, p. e22161, 2018. doi:10.1002/jbt.22161.

KŐSZEGI, T.; POÓR, M. Ochratoxin A: Molecular Interactions, Mechanisms of Toxicity and Prevention at the Molecular Level. **Toxins**, v. 8, n. 4, p. 111, 2016. doi:10.3390/toxins8040111.

KOWALSKA, K., HABROWSKA-GÓRCZYŃSKA, D. E., & PIASTOWSKA-CIESIELSKA, A. W. Zearalenone as an endocrine disruptor in humans. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 48, p. 141–149, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.10.015>.

LANG, T. J. Estrogen as an immunomodulator. **Clinical Immunology** (Orlando, Fla.) v. 113, n. 3, p. 224–30, 2004. doi: 10.1016/j.clim.2004. 05.011.

LAUER, J. M.; DUGGAN, C. P.; AUSMAN, L. M.; GRIFFITHS, J. K.; WEBB, P.; WANG, J. S.; XUE, K. S., AGABA, E., NSHAKIRA, N., & GHOSH, S. Maternal aflatoxin exposure during pregnancy and adverse birth outcomes in Uganda. **Maternal & child nutrition**, v. 15, n. 2, p.12701. 2019. <https://doi.org/10.1111/mcn.12701>

LAWN, J. E.; BLENCOWE, H.; WAISWA, P.; AMOUZOU, A.; MATHERS, C.; HOGAN, D.; FLENADY, V.; FRØEN, J. F.; QURESHI, Z. U.; CALDERWOOD, C.; SHIEKH, S.; JASSIR, F. B.; YOU, D.; MCCLURE, E. M.; MATHAI, M.; COUSENS, S. Lancet Ending Preventable Stillbirths Series study group, & Lancet Stillbirth Epidemiology investigator group . Stillbirths: rates, risk factors, and acceleration towards 2030. **Lancet (London, England)**, v. 387, n. 10018, p. 587–603, 2016. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00837-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00837-5)

LEI, Y.; FANG, L.; AKASH, M.S.H.; REHMAN, K.; LIU, Z.; SHI, W.; CHEN, S. Estimation of Urinary Concentration of Aflatoxin M₁ in Chinese Pregnant Women. **Journal of Food Science**, v 78, p. T1835-T1838, 2013. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12259>

LI, C.; DENG, C.; ZHOU, S.; ZHAO, Y.; WANG, D.; WANG, X.; GONG, Y. Y.; WU, Y. High-throughput and sensitive determination of urinary zearalenone and metabolites by UPLC-MS/MS and its application to a human exposure study. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 410, n. 21, p. 5301–5312, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1186-4>.

LI, Y.; YI, J., ZENG, Q.; LIU, Y.; YANG, B.; LIU, B.; LI, Y.; MEHMOOD, K.; HUSSAIN, R.; TANG, Z.; ZHANG, H.; LI, Y. Zearalenone exposure mediated hepatotoxicity via mitochondrial apoptotic and autophagy pathways: Associated with gut microbiome and metabolites. **Toxicology**, v. 462, p. 152957, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152957>.

LIN, Y.C.; LI, L.; BURGERS, P.M.; STONE, M.P.; LLOYD, R.S.; Molecular mechanisms underlying aflatoxin-induced mutagenesis. **The FASEB Journal**, v. 27, p. 1b78-1b78. 2013. https://doi.org/10.1096/fasebj.27.1_supplement.1b78.

LIU, X.; FAN, L.; YIN, S.; CHEN, H.; HU, H. Molecular mechanisms of fumonisin B1-induced toxicities and its applications in the mechanism-based interventions. **Toxicon**. v. 167, p. 1-5, 2019. doi:10.1016/j.toxicon.2019.06.009.

MAAROUFI, K.; ZAKHAMA, A.; BAUDRIMONT, I.; ACHOUR, A.; ABID, S.; ELLOUZ, F.; BACHA, H. Karyomegaly of tubular cells as early-stage marker of the nephrotoxicity induced by ochratoxin A in rats. **Human & Experimental Toxicology**, v. 18, n. 6, p. 410–415, 1999. doi:10.1191/096032799678840192.

MAHMOODI, M.; ALIZADEH, A. M.; SOHANAKI, H.; REZAEI, N.; AMINI-NAJAFI, F.; KHOSRAVI, A. R.; HOSSEINI, S. K.; SAFARI, Z.; HYDARNASAB, D.; KHORI, V. Impact of fumonisin B1 on the production of inflammatory cytokines by gastric and colon cell lines. **Iranian journal of allergy, asthma, and immunology**, v. 11, n. 2, p.165–173, 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria MA/SNAD/SFA nº 07, de 09 de novembro de 1988. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 de nov. 1988. Seção 1, p.21.968.

MARAGOS, C. Zearalenone occurrence and human exposure. **World Mycotoxin Journal**, v. 3, n. 4, p. 369–383, 2010. doi:10.3920/wmj2010.1240.

MARASAS, W. F.; KELLERMAN, T. S.; GELDERBLOM, W. C.; COETZER, J. A.; THIEL, P. G.; VAN DER LUGT, J. J. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. **The Onderstepoort journal of veterinary research**, v. 55, n. 4, p. 197–203, 1988.

MARCHESE, S.; POLO, A.; ARIANO, A.; VELOTTO, S.; COSTANTINI, S.; SEVERINO, L. Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development. **Toxins**, v. 10, n. 6, p. 214, 2018. <https://doi.org/10.3390/toxins10060214>

MARESCA, M.; MAHFOUD, R.; GARMY, N.; FANTINI, J. The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. **The Journal of nutrition**, v. 132, n. 9, p. 2723–2731, 2002 <https://doi.org/10.1093/jn/132.9.2723>.

MARIN, S.; RAMOS, A. J.; CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. **Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 60, p. 218–237, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047>.

MARIN-KUAN, M.; CAVIN, C.; DELATOUR, T.; SCHILTER, B. Ochratoxin A carcinogenicity involves a complex network of epigenetic mechanisms. **Toxicon**, v. 52 n. 2, p. 195–202, 2008. doi:10.1016/j.toxicon.2008.04.166.

MARIT ARALT SKAUG. Analysis of Norwegian milk and infant formulas for ochratoxin A, **Food Additives & Contaminants**, v. 16, n. 2, p. 75-78, 1999. DOI: 10.1080/026520399284235.

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S., Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Ver. Bras. de prod. agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.

MCMILLAN, A.; RENAUD, J. B.; BURGESS, K.; ORIMADEGUN, A. E.; AKINYINKA, O. O.; ALLEN, S. J.; MILLER, J. D.; REID, G.; SUMARAH, M. W. Aflatoxin exposure in Nigerian children with severe acute malnutrition. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, v. 111, p. 356–362, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.11.030>.

MINAMI, L.; MEIRELLES, P. G.; HIROOKA, E. Y.; ONO, E. Y. S. Fumonisin: efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 25 n. 3, p. 207, 2004. doi:10.5433/1679-0359.2004v25n3p207.

MITCHELL, N. J.; KUMI, J.; JOHNSON, N. M.; DOTSE, E.; MARROQUIN-CARDONA, A.; WANG, J. S.; JOLLY, P. E.; ANKRAH, N. A.; PHILLIPS, T. D. Reduction in the urinary aflatoxin M1 biomarker as an early indicator of the efficacy of dietary interventions to reduce exposure to aflatoxins. **Biomarkers**, v. 18, n. 5, p. 391–398, 2013. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2013.798031>.

MUÑOZ, K.; BLASZKEWICZ, M.; CAMPOS, V.; VEGA, M.; DEGEN, G. H. Exposure of infants to ochratoxin A with breast milk. **Archives of Toxicology**, v 88, n. 3, p. 837–846, 2014. doi:10.1007/s00204-013-1168-4.

MUPUNGA, I.; IZAAKS, C. D.; SHAI, L. J.; KATERERE, D. R. Aflatoxin biomarkers in hair may facilitate long-term exposure studies. **Journal of Applied Toxicology**, v. 37, n. 4, p. 395–399, 2016. doi:10.1002/jat.3422.

MYKKÄNEN, H.; ZHU, H.; SALMINEN, E.; JUVONEN, R. O.; LING, W.; MA, J.; POLYCHRONAKI, N.; KEMILÄINEN, H.; MYKKÄNEN, O.; SALMINEN, S.; EL-NEZAMI, H. Fecal and urinary excretion of aflatoxin B1 metabolites (AFQ1, AFM1 and AFB-N7-guanine) in young Chinese males. **International journal of cancer**, v. 115, n. 6, p. 879–884, 2005. <https://doi.org/10.1002/ijc.20951>.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 40024, Deoxynivalenol. Retrieved June 26, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Deoxynivalenol>.

OLIVEIRA, C A. F.; CORASSIN, C H.; CORRÊA, B.; OSWALDO, I P.; Animal Health: Mycotoxins. In NEAL VAN ALFEN, editor-in-chief. **Encyclopedia of agriculture and Food Systems**, Vol1, San Diego: Elsevier; 2014. Pp. 358-377.

OLIVEIRA, C. A. F.; SEBASTIÃO, L, S.; LUCIANA, S, S.; FAGUNDES, H,; ROSIM, R, E,; FERNANDES, A, M. Determinação de aflatoxina B1 em rações e aflatoxina M1 no leite de propriedades do Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, 2010. 10.1590/S0101-20612010000500034.

PAYROS, D.; DOBRINDT, U.; MARTIN, P.; SECHER, T.; BRACARENSE, A. P. F. L.; BOURY, M.; OSWALD, I. P. The Food Contaminant Deoxynivalenol Exacerbates the Genotoxicity of Gut Microbiota. **mBio**, v. 8, n. 2, 2017. doi:10.1128/mbio.00007-17.

PERAICA, M.; RADIĆ, B.; LUCIĆ, A.; PAVLOVIĆ, M. Toxic effects of mycotoxins in humans. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 77, n. 9, p. 754–766, 1999.

PESTKA, J. J. Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. **Archives of Toxicology**, v. 84, n. 9, p. 663–679, 2010. doi:10.1007/s00204-010-0579-8.

PESTKA, J. J. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 3-4, p. 283–298, 2007. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.06.006.

PFEIFFER, E.; A. HILDEBRAND, G.; DAMM, A.; RAPP, B.; CRAMER, H. U.; HUMPF, M. METZLER. Aromatic hydroxylation is a major metabolic pathway of the mycotoxin zearalenone in vitro. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 53, n. 9, p.1123–33, 2009. doi: 10.1002/mnfr. 200800584

PFOHL-LESZKOWICZ, A.; MANDERVILLE, R. A. An Update on Direct Genotoxicity as a Molecular Mechanism of Ochratoxin A Carcinogenicity. **Chemical Research in Toxicology**, v. 25, n. 2, p. 252–262, 2011. doi:10.1021/tx200430f.

PIEKKOLA, S.; TURNER, P. C.; ABDEL-HAMID, M.; EZZAT, S.; EL-DALY, M.; EL-KAFRAWY, S.; SAVCHENKO, E.; POUSSA, T.; WOO, J. C.; MYKKÄNEN, H.; EL-NEZAMI, H. Characterisation of aflatoxin and deoxynivalenol exposure among pregnant Egyptian women. **Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment**, v. 29, n. 6, p. 962–971, 2012. <https://doi.org/10.1080/19440049.2012.658442>.

PITOUT, M.J. The hydrolysis of Ochratoxin A by some proteolytic enzymes. **Biochem. Pharmacol.** v. 18, p. 485–491, 1969 . [CrossRef].

PRADO, G. Contaminação de alimentos por micotoxinas no Brasil e no mundo / Mycotoxins contamination of foods in Brazil and worldwide **Geraiis (Esc. Saúde Pública Minas Gerais)**, v. 2, n. 2, p. 13-26, 2014.

QI, X.; YANG, X.; CHEN, S.; HE, X.; DWEED, H.; GUO, M.; HUANG, K. Ochratoxin A induced early hepatotoxicity: new mechanistic insights from microRNA, mRNA and proteomic profiling studies. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1, 2014. doi:10.1038/srep05163.

QIU, M.; LIU, X. Determination of sphinganine, sphingosine and Sa/So ratio in urine of humans exposed to dietary fumonisin B1. **Food additives and contaminants**, v. 18, n. 3, p. 263–269, 2001. <https://doi.org/10.1080/026520301117470>.

RAI, A.; DAS, M.; TRIPATHI, A. Occurrence and toxicity of a fusarium mycotoxin, zearalenone. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 1–20, 2019. doi:10.1080/10408398.2019.1655388.

RAMALHO, L.; PORTA, L. D.; ROSIM, R. E.; PETTA, T.; AUGUSTO, M. J.; SILVA, D. M.; RAMALHO, F. S.; OLIVEIRA, C. Aflatoxin B1 residues in human livers and their relationship with markers of hepatic carcinogenesis in São Paulo, Brazil. **Toxicology reports** v. 5, p. 777–784, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.07.005>.

RAOTA, C. S.; GIOVANELA, M., Análise Quantitativa de Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em Ração para Aves de Corte por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Fluorescência. **Scientia cum indústria**, v. 4, n. 3, p. 148-153, 2016.

RILEY, R. T.; MERRILL, A. H. Ceramide synthase inhibition by fumonisins: a perfect storm of perturbed sphingolipid metabolism, signaling and disease. **Journal of Lipid Research**, jlr.S093815, 2019. doi:10.1194/jlr.s093815.

RINGOT, D.; CHANGO, A.; SCHNEIDER, Y.J.; LARONDELLE, Y. Toxicokinetics and toxicodynamics of Ochratoxin A, an update. **Chem. Biol. Interact**, v. 159, p. 18–46, 2006. [CrossRef] [PubMed].

ROCHA, E. B. M.; FREIRE, F. C. O.; MAIA, E. F. F.; GUEDES, I. F. M.; RONDINA, D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. **Food Control**, p. 36 n. 1, p. 159–165, 2014.

ROGERS, A.; NEWBERNE, P. Nutrition and Aflatoxin Carcinogenesis. **Nature**, 229, 62–63. 1971. <https://doi.org/10.1038/229062a0>.

SAAD-HUSSEIN, A.; MOUBARZ, G.; MOHGAH, S. A.; WAFAA, G. S.; AYA, H. M. Role of antioxidant supplementation in oxidant/antioxidant status and hepatotoxic effects due to aflatoxin B1 in wheat miller workers. **Journal of complementary & integrative medicine**, v. 16, n. 4, 2019. /j/jcim.2019.16.issue-4/jcim-2018-0218/jcim-2018-0218.xml. <https://doi.org/10.1515/jcim-2018-0218>

SCHOLL, P. F.; GROOPMAN, J. D. Long-term stability of human aflatoxin B1 albumin adducts assessed by isotope dilution mass spectrometry and high-performance liquid chromatography-fluorescence. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention**, v. 17, n. 6, p. 1436–1439, 2008. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-2926>.

SCOTT PM. Biomarkers of human exposure to ochratoxin A. **Food Addit Contam**, v. 22 Suppl 1, p. 99-107, 2005. doi:10.1080/02652030500410315.

SEWRAM, V.; MSHICILELI, N.; SHEPHARD, G. S.; MARASAS, W. F. Fumonisin mycotoxins in human hair. **Biomarkers** : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals, v. 8, n. 2, p. 110–118, 2003. <https://doi.org/10.1080/1354750031000081002>.

SHUAIB, F. M.; JOLLY, P. E., EHIRI, J. E.; YATICH, N.; JIANG, Y.; FUNKHOUSER, E.; PERSON, S. D.; WILSON, C.; ELLIS, W. O.; WANG, J. S.; WILLIAMS, J. H. Association between birth outcomes and aflatoxin B1 biomarker blood levels in

pregnant women in Kumasi, Ghana. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 15, n. 2, p. 160–167, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2009.02435.x>

SIMON, P. Ochratoxin and Kidney Disease in the Human. *Journal of Toxicology: **Toxin Reviews***, v. 15, n. 3, p. 239–249. 1996. doi:10.3109/15569549609016446.

SKAUG, M. A., HELLAND, I., SOLVOLL, KARIN & SAUGSTAD. O. D., Presence of ochratoxin A in human milk in relation to dietary intake. **Food Additives & Contaminants**, v. 18, n. 4, p. 321-327, 2001. doi:10.1080/02652030117740.

SMITH, J. E.; SOLOMONS, G.; LEWIS, C.; ANDERSON, J. G. Role of mycotoxins in human and animal nutrition and health. **Natural toxins**, v. 3, n. 4, p. 187–221, 1995. <https://doi.org/10.1002/nt.2620030404>.

SMITH, L. E.; MBUYA, M.; PRENDERGAST, A. J.; TURNER, P. C.; RUBOKO, S.; HUMPHREY, J. H.; NELSON, R. J.; CHIGUMIRA, A.; KEMBO, G.; STOLTZFUS, R. J. Determinants of recent aflatoxin exposure among pregnant women in rural Zimbabwe. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 9, 2017. [10.1002/mnfr.201601049](https://doi.org/10.1002/mnfr.201601049). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201601049>.

SMITH, L. E.; PRENDERGAST, A. J.; TURNER, P. C.; HUMPHREY, J. H.; STOLTZFUS, R. J. Aflatoxin Exposure During Pregnancy, Maternal Anemia, and Adverse Birth Outcomes. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 96, n. 4, p. 770–776, 2017. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0730>.

SOBROVA, P.; ADAM, V.; VASATKOVA, A.; BEKLOVA, M.; ZEMAN, L.; KIZEK, R. Deoxynivalenol and its toxicity. **Interdisciplinary toxicology**, v. 3, n. 3, p. 94–99, 2010. <https://doi.org/10.2478/v10102-010-0019-x>.

SOLFRIZZO, M.; CHULZE, S. N.; MALLMANN, C.; VISCONTI, A.; DE GIROLAMO, A.; ROJO, F.; TORRES, A. Comparison of urinary sphingolipids in human populations with high and low maize consumption as a possible biomarker of fumonisin dietary exposure. **Food Additives and Contaminants**, v. 21, n. 11, p. 1090–1095, 2004. doi:10.1080/02652030400013318.

SORIANO, J. M.; RUBINI, A.; MORALES-SUAREZ, M.; MERINO-TORRES, J. F.; SILVESTRE, D. Aflatoxins in organs and biological samples from children affected by

kwashiorkor, marasmus and marasmic-kwashiorkor: A scoping review. **Toxicon**. 2020. doi:10.1016/j.toxicon.2020.07.010.

SOUTO, M, C, P. C.; AUGUSTO, L.; CARRARO DI GREGORIO, M.; FERNANDES DE OLIVEIRA, C. A. Principais micotoxícoses em suínos. **Veterinária E Zootecnia**, v. 24, p. 3, p. 480–494. 2017. <https://doi.org/10.35172/rvz.2017.v24.28>.

SOUTO, P.; JAGER, A. V.; TONIN, F. G.; PETTA, T.; DI GREGÓRIO, M. C.; COSSALTER, A. M.; PINTON, P.; OSWALD, I. P.; ROTTINGHAUS, G. E.; OLIVEIRA, C. Determination of fumonisin B1 levels in body fluids and hair from piglets fed fumonisin B1-contaminated diets. **Food and chemical toxicology**: v. 108 (Pt A), p. 1–9, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.036>.

STONE, M. P.; BANERJEE, S.; BROWN, K. L.; EGLI, M. Chemistry and Biology of Aflatoxin-DNA Adducts. **Frontiers in Nucleic Acids**, p. 147–166, 2011. doi:10.1021/bk-2011-1082.ch009

STORMER, F.C.; PEDERSON, J.I.; Formation of (4R)- and (4S)-hydroxyochratoxin A from Ochratoxin A by rat liver microsomes. **Appl. Environ. Microbiol.** 39, p. 971–975. 1980. [PubMed].

STUDER-ROHR, I.; SCHLATTER, J.; DIETRICH, D.R. Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of Ochratoxin A plasma levels in human. **Arch. Toxicol.** v. 74, p. 499–510, 2000. [CrossRef] [PubMed].

SUPRIYA, C. H.; REDDY, P. S. Prenatal exposure to aflatoxin B1: developmental, behavioral, and reproductive alterations in male rats. **Die Naturwissenschaften**, v. 102, n. 5-6, p. 26, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00114-015-1274-7>.

SUPRIYA, C.; GIRISH, B. P.; REDDY, P. S. Aflatoxin B1-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats: Possible Mechanism of Action. **International Journal of Toxicology**, v. 33, n. 3, p. 155–161, 2014. <https://doi.org/10.1177/1091581814530764>.

SUPRIYA, C.; REDDY, P. S. Prenatal exposure to aflatoxin B1: Developmental, behavioral, and reproductive alterations in mal rats. **Sci Nat**, v. 102, p. 26, 2015. <https://doi-org.ez67.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s00114-015-1274-7>

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International journal of food microbiology**, v. 43, n. 3, p. 141–158, 1998. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(98\)00112-38](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00112-38)

TOZLOVANU, M.; CANADAS, D.; PFOHL-LESZKOWICZ, A.; FRENETTE, C.; PAUGH, R.J.; MANDERVILLE, R.A. Glutathione conjugates of Ochratoxin A as biomarkers of exposure. **Arh. Hig. Rada Toksikol.**, v. 63, p. 417–427, 2012. [CrossRef] [PubMed].

TRACY, T. S.; VENKATARAMANAN, R.; GLOVER, D. D.; CARITIS, S. N. Temporal changes in drug metabolism (CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A Activity) during pregnancy. **American journal of obstetrics and gynecology**, v.192, n. 2, p. 633–639, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.08.030>

TSUBOI, S. et al. Detection of aflatoxin B1 in serum samples of male Japanese subjects by radioimmunoassay and highperformance liquid chromatography. **Cancer Res**, v. 44, p. 1231-4, 1984.

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. **Analytica chimica acta**, v. 632, n. 2, p. 168–180, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.010>.

TURNER, P. C.; HOPTON, R. P.; LECLUSE, Y.; WHITE, K. L. M.; FISHER, J.; LEBAILLY, P. Determinants of Urinary Deoxynivalenol and De-epoxy Deoxynivalenol in Male Farmers from Normandy, France. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 5206–5212, 2010. doi:10.1021/jf100892v.

TURNER, P. C.; JI, B. T.; SHU, X. O.; ZHENG, W.; CHOW, W. H.; GAO, Y. T.; HARDIE, L. J. A biomarker survey of urinary deoxynivalenol in China: the Shanghai Women's Health Study. **Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment**, v. 28, n. 9, p. 1220–1223, 2011. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.584070>.

TURNER, P. C.; WHITE, K. L.; BURLEY, V. J.; HOPTON, R. P.; RAJENDRAM, A.; FISHER, J.; CADE, J. E.; WILD, C. P. A comparison of deoxynivalenol intake and urinary deoxynivalenol in UK adults. **Biomarkers** : biochemical indicators of exposure,

response, and susceptibility to chemicals, v. 15, n. 6, p. 553–562, 2010. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2010.495787>.

VAN DER WESTHUIZEN, L.; BROWN, N. L.; MARASAS, W. F.; SWANEVELDER, S.; SHEPHARD, G. S. Sphinganine/sphingosine ratio in plasma and urine as a possible biomarker for fumonisin exposure in humans in rural areas of Africa. **Food and chemical toxicology** : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, v. 37 n. 12, p. 1153–1158, 1999. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(99\)00113-1](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(99)00113-1).

VAN DER WESTHUIZEN, L.; SHEPHARD, G. S.; RHEEDER, J. P.; BURGER, H.-M. Individual fumonisin exposure and sphingoid base levels in rural populations consuming maize in South Africa. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 6, 1698–1703. 2010. doi:10.1016/j.fct.2010.03.047.

VAN EGMOND, H. P. Worldwide Regulations for Mycotoxins. **Mycotoxins and Food Safety**, p. 257–269. 2002. doi:10.1007/978-1-4615-0629-4_27

VOSS, K. A., RILEY, R. T. Fumonisin toxicity and mechanism of action: overview and current perspectives. **Food Saf.** 1, 2013006–2013006, 2013. doi:10.14252/foodsafetyfscj.2013006.

WAN, D., HUANG, L.; PAN, Y.; WU, Q.; CHEN, D., TAO, Y.; YUAN, Z. Metabolism, Distribution, and Excretion of Deoxynivalenol with Combined Techniques of Radiotracing, High-Performance Liquid Chromatography Ion Trap Time-of-Flight Mass Spectrometry, and Online Radiometric Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 288–296, 2013. doi:10.1021/jf4047946.

WANGIKAR, P. B.; DWIVEDI, P.; SINHA, N.; SHARMA, A. K.; TELANG, A. G. Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B₁ with special reference to microscopic effects. **Toxicology**, v. 215, n. 1-2, p. 37–47, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.06.022>

WANGIKAR, P.; DWIVEDI, P.; SHARMA, A. SINHA, N.; Effect in rats of simultaneous prenatal exposure to ochratoxin A and aflatoxin B₁. II. Histopathological features of teratological anomalies induced in fetuses. **Birth Defects Research Part B:**

Developmental and Reproductive Toxicology, v. 71, p. 352-358, 2004.
doi:[10.1002/bdrb.20022](https://doi.org/10.1002/bdrb.20022)

WARTH, B.; PREINDL, K.; MANSER, P.; WICK, P.; MARKO, D.; BUERKI-THURNHERR, T. Transfer and Metabolism of the Xenoestrogen Zearalenone in Human Perfused Placenta. **Environmental health perspectives**, v. 127, n. 10, p. 107004, 2019. <https://doi.org/10.1289/EHP4860>.

WARTH, B.; SULYOK, M.; FRUHMANN, P.; BERTHILLER, F.; SCHUHMACHER, R.; HAMETNER, C.; KRŠKA, R. Assessment of human deoxynivalenol exposure using an LC–MS/MS based biomarker method. **Toxicology Letters**, v. 211, n.1, p. 85–90, 2012. doi:[10.1016/j.toxlet.2012.02.023](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.02.023).

WHO (World Health Organization). Evaluation of Certain Contaminants in Food: Eighty-Third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2017.

WILD C.P., HASEGAWA, R., BARRAUD L, et al. Aflatoxin-albumin adducts: a basis for comparative carcinogenesis between animals and humans. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v. 5, n. 3, p. 179-189, 1996.

WOO, C. S. J.; PARTANEN, H.; MYLLYNNEN, P.; VÄHÄKANGAS, K.; EL-NEZAMI, H. Fate of the teratogenic and carcinogenic ochratoxin A in human perfused placenta. **Toxicology Letters**, v. 208, n. 1, p. 92–99, 2012. doi:[10.1016/j.toxlet.2011.10.013](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.10.013).

WOO, L. L.; EGNER, P. A.; BELANGER, C. L.; WATTANAWARAPORN, R.; TRUDEL, L. J.; CROY, R. G.; GROOPMAN, J. D.; ESSIGMANN, J. M.; WOGAN, G. N.; BOUHENGUEL, J. T. Aflatoxin B1-DNA adduct formation and mutagenicity in livers of neonatal male and female B6C3F1 mice. **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 122, n. 1, p. 38–44, 2011. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr087>.

XIAO, H.; MADHYASTHA, S.; MARQUARDT, R.R.; LI, S.; VODELA, J.K.; FROHLICH, A.A.; KEMPPAINEN, W. Toxicity of OTA, its opened lactone form and several of its analogs: Structure-activity relationships. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 137, 182–192, 1996. [CrossRef] [PubMed].

XU, L.; CAI, Q.; TANG, L.; WANG, S.; HU, X.; SU, J.; SUN, G.; WANG, J. S. Evaluation of fumonisin biomarkers in a cross-sectional study with two high-risk populations in China. **Food additives & contaminants**. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment, v. 27, n. 8, p. 1161–1169, 2010. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.481638>.

YANG, W.; YU, M.; FU, J.; BAO, W.; WANG, D.; HAO, L.; LIU, L. Deoxynivalenol induced oxidative stress and genotoxicity in human peripheral blood lymphocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 64, p. 383–396, 2014. doi:10.1016/j.fct.2013.12.012.

YOON, J. E.; LEE, K. Y.; SEOK, J. S.; CHENG, W. N.; KWON, H. C.; JEONG, C. H.; &HAN, S. G. Zearalenone Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Modulates the Expression of Phase I/II Enzymes in Human Liver Cells. **Toxins**, v. 12, n. 1, p. 2, 2019. <https://doi.org/10.3390/toxins12010002>.

YU, Z.; ZHANG, L.; WU, D.; LIU, F. Anti-apoptotic action of zearalenone in MCF-7 cells. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 62, n. 3, p. 441–446, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.10.003>.

ZHANG, J.; YOU, L.; WU, W.; WANG, X.; CHRIENOVA, Z.; NEPOVIMOVA, E. KUCA, K.. The Neurotoxicity of Trichothecenes T-2 Toxin and Deoxynivalenol (DON): Current Status and Future Perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, 111676. 2020. doi:10.1016/j.fct.2020.111676.

ZHENG, W. L.; WANG, B. J.; WANG, L.; SHAN, Y. P.; ZOU, H.; SONG, R. L.; WANG, T.; GU, J. H.; YUAN, Y.; LIU, X. Z.; ZHU, G. Q.; BAI, J. F.; LIU, Z. P.; BIAN, J. C. ROS-Mediated Cell Cycle Arrest and Apoptosis Induced by Zearalenone in Mouse Sertoli Cells via ER Stress and the ATP/AMPK Pathway. **Toxins**, v. 10, n. 1, p. 24, 2018. <https://doi.org/10.3390/toxins10010024>.

ZINEDINE, A. J. M.; SORIANO, J. C.; MOLTO, J. MANES. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 1–18, 2007.

8. ANEXOS


- I. ARTIGO DE REVISÃO INTITULADO: AN OVERVIEW OF MYCOTOXINS, THEIR PATHOGENIC EFFECTS, FOODS WHERE THEY ARE FOUND AND THEIR DIAGNOSTIC BIOMARKERS.**

Artigo aceito para publicação em 03/11/2020.

Revista científica: Food Science and Technology.

Fator de impacto: 1.718.

An overview of mycotoxins, their pathogenic effects, foods where they are found and their diagnostic biomarkers

João Victor Batista da SILVA¹, Carlos Augusto Fernandes de OLIVEIRA², Leandra Náira Zambelli RAMALHO^{1*} 

9. Abstract

Mycotoxins are products of the secondary metabolism of fungi, which can be present in food as contaminants. According to Food and Agriculture Organization (FAO), these substances, making them relevant to global health, contaminate approximately 25% of all food worldwide. The occurrence of exposure to these mycotoxins is more common in developing countries, where their effects are more harmful to health due to the high rate of malnutrition in these places. The damage caused by them can manifest acutely or chronically, and among them stand out hepatotoxicity, nephrotoxicity, immunogenicity, carcinogenesis, mutagenesis, and teratogenesis and are associated with particularly dangerous nutritional disorders in children from poorer regions. This review focuses on aflatoxins, fumonisins, zearalenone, deoxynivalenol and ochratoxins, with special attention to their impacts on human and animal health, based on experimental studies and case reports. The biomarkers most used in the detection of these substances based on their metabolism are also discussed.

Keywords: mycotoxin biomarkers; fungi; toxicity; carcinogenesis.

Practical Application: Control of food contamination by mycotoxins.

¹ Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil

² Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo – USP, Pirassununga, SP, Brasil

*Corresponding author: lramalho@fmrp.usp.br

1 Introduction

Mycotoxins are secondary products of fungal metabolism, with a high capacity to cause damage to human and animal health (Bennett & Klich, 2003).

Fungi can naturally proliferate in food and are very commonly found in grains used for animal and human food. The growth is mainly favored by humidity and temperature. Inadequate harvesting and storage practices contribute to fungal contamination (Batatinha et al., 2008).

The presence of fungi in food does not necessarily indicate that they are contaminated with mycotoxins; similarly, the elimination of the fungi does not guarantee that the mycotoxin has been removed because they have high stability (Turner et al., 2009).

In Brazil, mycotoxins can be found in isolation or in combination in foods such as peanuts, grains, cereals, corn, wheat and animal foods such as milk, eggs and meat. The fact that these mycotoxins can be found in various foods makes them of great importance in public health, in addition to causing negative impacts on the economy (Maziero & Bersot, 2010; Calori-Domingues et al., 2016).

There are several mycotoxins produced by different types of fungi. Sometimes a single fungus species can produce different mycotoxins, making the discussion about the toxic potential of association between them relevant (Sweeney & Dobson, 1998; Marin et al., 2013).

The ingestion of food contaminated by mycotoxins can cause damage to human and animal health and can lead to

Received 17 Sept., 2020

Accepted 03 Nov., 2020

death, depending on the mycotoxin and the amount ingested (Peraica et al., 1999). Among the harmful effects caused by mycotoxins, hepatotoxicity, nephrotoxicity, carcinogenesis, immunosuppression, and mutagenicity stand out (Rocha et al., 2014). In addition, some mycotoxins, such as aflatoxins and fumonisins, have teratogenic potential and may cause bone malformation and poor development in fetal organs, as demonstrated in previous studies with experimental models (Fetaih et al., 2014; Abdel-Wahhab et al., 2004).

There are several methods that aim to detect mycotoxins in food samples and biological samples. Among the techniques stand out are immunoenzymatic assays and chromatography that can isolate molecules (Chauhan et al., 2016; Pimpitak et al., 2020). Chromatography becomes more effective when associated with mass spectrometry, as it allows a greater amount of information about the analyte to be obtained, making its identification more assertive (Chiaradia et al., 2008; Medina et al., 2019). Fluorescence methods can also be used to detect food contamination, mainly by aflatoxins (Raota & Giovanela, 2016). Currently, the most commonly used techniques for determining mycotoxin exposure are high-performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLUO) and high-performance liquid chromatography coupled with sequential mass spectrometry (LC-MS/MS) (Al-Jaal et al., 2019).

Residues and metabolites of mycotoxins, such as aflatoxin, can be identified in humans and animal viscera and excreta, and these are important markers of poisoning by these substances (Ramalho et al., 2018; Jager et al., 2016).

An important point in the study of poisoning by mycotoxins is that food contamination is intended for the consumption of farm animals, culminating in animal products contaminated with metabolites of these substances, which contributes to human exposure to mycotoxins (Dias, 2018).

Chronic exposure to small amounts of mycotoxins in food is a major global health problem due to the ability of these substances to lead to the development of various pathologies, which makes monitoring mycotoxins in foods important for generating new technologies. Detection and elimination of these substances aim at reduction of exposure and therefore of the diseases caused by them (Smith et al., 1995; Maziero & Bersot, 2010).

Studies indicate that the presence of mycotoxins in food is more common in developing countries, and the population of these countries will often be exposed to food contaminated with one or more mycotoxins (Bryden, 2007).

It is estimated that approximately 25% of the entire world's food is contaminated by mycotoxins (Bennett & Klich, 2003). Due to the importance of mycotoxins for public health, legislation defines the maximum permitted amount of these substances in food. In Brazil, these quantities are stipulated in RDC No. 7/2010 of the national health surveillance agency (ANVISA).

The purpose of this review is to discuss the following mycotoxins: aflatoxins, fumonisins, zearalenone, deoxynivalenol and ochratoxins, raising the main topics about their impact on human and animal health and the biomarkers used to evidence exposure to these substances.

2 Mycotoxins

2.1 Aflatoxins

Aflatoxins are mycotoxins of common occurrence in Brazil and are produced by fungi of the genus *Aspergillus* spp., mainly *A. flavus*, *A. parasiticus* and *A. nomius* (Caldas et al., 2002). The group of aflatoxins has many representatives among fungal metabolism products and metabolic products of these substances in the body. The toxins B1, B2, G1 and G2 stand out due to their toxicological importance, and aflatoxin B1 is the most important due to its carcinogenic potential. Aflatoxin B1 is classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as a group 1 carcinogen, which means that aflatoxin B1 (AFB1) is part of the group of substances with the greatest carcinogenic potential (International Agency for Research on Cancer, 2002).

The products of hepatic metabolism of aflatoxins are responsible for their toxic effects (Batatinha et al., 2008). These metabolites cause acute liver damage when ingested in large quantities or express a high potential carcinogenic when ingested continuously, causing damage in DNA through adduct formation and interfering with protein metabolism (Wild & Turner, 2002).

The ingestion of aflatoxins is especially relevant in developing countries, where contact with these substances occurs, from the development embryo, into adulthood (Gong et al., 2002). One of its effects would be the impairment in the development of children, in addition to the association with nutritional disorders such as Kwashiorkor (McMillan et al., 2018).

Poor diets, from the nutritional point of view, seem to be related to the increase in the toxic and carcinogenic effects of aflatoxins, a fact that may be related to the low intake of substances with antioxidant potential such as vitamins, a common condition in the poorest populations of countries under development (Rogers & Newberne, 1971).

In some countries, mainly in Africa and Asia, children become fed almost exclusively with potentially contaminated grain, and after being weaned, this is due to the economic condition. It was shown that the increase in serum concentration of aflatoxin in these children is also related to dwarfism (Alamu et al., 2020).

Experimental studies in rats demonstrate that exposure to AFB1 during the period of embryonic development can lead to genotoxic changes, favoring the development of neoplasms in adulthood (Chawanthayatham et al., 2015). In addition, the mutagenic effect of aflatoxins during embryonic development can lead to a series of morphological and behavioral changes, which may lead to reproductive disability and even death (Fetaih et al., 2014; Supriya & Reddy, 2015).

When high doses of aflatoxin are ingested, they usually cause acute poisoning; although acute poisoning outbreaks are not so common, they usually go with anorexia, general malaise, low fever, and may progress with emesis, severe abdominal pain, acute hepatitis and death (Azziz-Baumgartner et al., 2005).

The biomarkers used to determine exposure to aflatoxins are metabolites of AFB1, such as aflatoxin M1 (AFM1), aflatoxin P1 (AFP1), aflatoxin Q1 (AFQ1), aflatoxin-albumin, AFB-N7 guanine and aflatoxicol (AFL), present in biological fluids (Bando et al., 2007). AFB1 and metabolites can be detected in the blood, urine and feces of humans and animals, which is an important tool for assessing the exposure of individuals to aflatoxins (Fernandez et al., 1997; Mykkänen et al., 2005). For the monitoring of these biomarkers, analytical techniques that are sensitive, specific and that can be applied to many samples are necessary (Groopman & Kensler, 1999).

Free AFB1 can be found in the blood, but its levels are high for a short time after intake, making it not a good exposure marker, as aflatoxin-albumin is found in blood samples for up to 20 days after exposure (Jager et al., 2016).

AFM1 can be found in urine, feces and milk, and in the case of lactating women and animals, with high toxic potential, this metabolite is especially important in the contamination of children during breastfeeding and in commercial milk from animals (Diaz & Sánchez, 2015; Giovati et al., 2015; Hajmohammadi et al., 2019; Ahmadi, 2020). AFM1 is further classified by IARC as agent 2B for its carcinogenic potential in humans (International Agency for Research on Cancer, 1993). The assessment of AFM1 levels in urine can also be used as a biomarker to determine the effectiveness of methods that aim to decrease exposure to AFB1 (Mitchell et al., 2013).

Another important biomarker is AFB-N7-guanine, a lead product of AFB1 epoxide with a guanine of the DNA molecule that is excreted in urine. AFB-N7-guanine is a biomarker that shows, in addition to exposure to AFB1, DNA damage, the main factor in the development of hepatocellular carcinoma (Dohnal et al., 2014).

The search for AFB1 biomarkers in hair and nail samples is relevant, as it may indicate exposure that has occurred for a longer time (Mupunga et al., 2017).

2.2 Fumonisin

Fumonisin are a group of mycotoxins produced mainly by fungi of the genus *Fusarium spp.*. These mycotoxins are found in foods such as corn and forages and are associated with liver damage and some types of neoplasms. The variant of greater importance is fumonisin B1 (FB1), classified by IARC as a 2B group member with carcinogenic potential for humans (International Agency for Research on Cancer, 1993). The mechanism of action of FB1 consists of the interruption of sphingolipid synthesis by inhibiting sphingosine-N-acetyltransferase, inducing oxidative stress, altering DNA methylation, and modulating autophagy and stress of the endoplasmic reticulum (Voss & Riley, 2013; Liu et al., 2019).

Among the diseases caused by fumonisins in animals are leukoencephalomalacia of the horse and pulmonary edema in swine (Marasas et al., 1988; Harrison et al., 1990). In addition, FB1 has been shown to cause hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats (Voss & Riley, 2013). In humans, fumonisins are constantly found in places with a high incidence of esophageal cancer, which is therefore a sign that these toxins may play a role in the development of this neoplasm (Come et al., 2019).

In underdeveloped countries where maize and derivative feeding rates are high, the fumonisins present in these foods seem to be related to impaired child development (Chen et al., 2018).

The experimental administration of FB1 is related to malformations in the closing of the neural tube in mice (Gelineauvan Waes et al., 2009). Skeletal anomalies are also observed in rats, as well as failure to develop the organs and even decrease the number of pups per litter (Abdel-Wahhab et al., 2004).

In rats, liver damage caused by FB1 can lead to an imbalance in the mineral composition of bones, leading to decreased bone strength (Rudyk et al., 2019).

The toxic action of fumonisins occurs mainly by inhibiting the function of the enzyme ceramide synthase, leading to a decrease in the production of sphingolipids and, therefore, accumulation of sphinganine (Sa) and sphingosine (So). Sphingosine and sphinganine in serum, tissues, urine, and feces can be used as biomarkers of exposure to fumonisins (Van der Westhuizen et al., 1999).

In rats, the rates of Sa, So and free FB1 in the urine remain high for a longer time when compared to serum, so the urinary determination of Sa/So is more effective for determining exposure to fumonisins (Cai et al., 2007).

High amounts of free FB1 have been found in the urine of people who have eaten contaminated corn in China, indicating free urinary FB1 as a potential biomarker of human exposure to fumonisins (Xu et al., 2010). The Sa/So ratio can be used to determine the degree of exposure to fumonisins; in addition, men have a greater amount of Sa and So in the urine when exposed to FB1 (Qiu & Liu, 2001).

Fumonisin can still be identified in human and animal hair, which is an important tool in detecting exposure to these mycotoxins in populations, and the toxicokinetic mechanism that explains the presence of fumonisins in the hair has yet to be elucidated (Sewram et al., 2003; Souto et al., 2017).

2.3 Zearalenone

Zearalenone (ZEN) is a nonsteroidal estrogenic mycotoxin produced mainly by fungi of the genus *Fusarium spp.* ZEN can be produced in colder climates and can be found in various foods, mainly in corn. This mycotoxin acts in the body as an estrogenic substance, and its mechanism consists of binding to receptors for 17 β estradiol, leading to hyperestrogenism and reproductive disorders (Batatinha et al., 2008).

The metabolites of ZEN, α and β -zearalenol have higher affinity for estradiol receptors and are therefore primarily responsible for the mechanism of action (Fitzpatrick et al., 1989).

The ingestion of food contaminated with ZEN leads to endocrine disorders due to its similarity to naturally produced estrogenic hormones, and constant hormonal stimulation can lead to the development of hormone-dependent neoplasms (Kowalska et al., 2016).

In Tunisia, significant amounts of ZEN and metabolites in the urine of patients with breast cancer have been identified, indicating a possible role of this mycotoxin in the development of this neoplasm (Belhassen et al., 2015). The association between ZEN and carcinogenesis is the subject of discussion, considering that experimental studies demonstrate the ability of this substance to decrease the possibility of the development of malignant neoplasms in rats in the prepuberty period (HilakiviClarke et al., 1999). Other experimental studies also evaluated whether ZEN is related to the progression of breast cancer through inhibition of apoptosis mechanisms and promotion of cell proliferation mechanisms (Yu et al., 2005).

Experimental studies also demonstrate that exposure to ZEN can lead to the death of Sertoli cells in mice by inducing reactive oxygen species and the ATP/AMPK pathway (Zheng et al., 2018). Other mechanisms that induce apoptosis by ZEN are due to the stress of the endoplasmic reticulum and the activation of autophagy, as demonstrated with immortalized Leydig cells from goats (Yang et al., 2017).

In humans, consumption of food contaminated with ZEN during pregnancy can expose the fetus to this mycotoxin and its metabolites (Warth et al., 2019). Experimental studies in rats indicate that gestational exposure to ZEN blocks the fetal development of Leydig cells, which is an important indicator that this exposure leads to anomalies in the development of the male reproductive tract (Pan et al., 2020).

Estimates of exposure to ZEN in humans have shown that a large part of the population consumes safe amounts of this mycotoxin; however, in different parts of the world, exposure has not been reported and may present different results in populations exposed to potentially contaminated food (Maragos, 2010).

The biomarkers used for the detection of zearalenone are ZEN free and its metabolites α and β zearalenol (α -ZEL and β -ZEL) and α and β zearalanol (α -ZAL and β -ZAL), in addition to the conjugates with glucuronic acid as β -zearalenol-14-glucuronide (Frizzell et al., 2015).

In humans, urine samples are the main way to assess exposure to ZEN, with α -ZOL found in greater quantities, followed by ZEN and finally β -ZOL (Ali & Degen, 2018).

2.4 Deoxynivalenol

Deoxynivalenol (DON) is a mycotoxin produced by fungi of the genus *Fusarium spp.* that can be found in several grains and products of animal origin. The main damage to human and animal health occurs mainly in an acute form leading to nausea, emesis, diarrhea, abdominal and head pain, dizziness, and fever, which can evolve to death depending on the amount ingested. The chronic effects are mainly on the immune, reproductive, and gastrointestinal systems. This toxin acts mainly on the neuroendocrine system, inhibiting the growth hormone cascade and stimulating inflammatory responses. In addition, it acts on the gastrointestinal tract, inhibiting gastric emptying and causing imbalance in the intestinal mucosa, consequently affecting the absorption of nutrients. (Fioramonti et al., 1993; Pestka, 2010; Sobrova et al., 2010).

Ingestion of DON, in addition to its acute effects, can lead to genotoxicity on human lymphocytes, probably resulting from the decrease in antioxidant substances, leading to DNA damage by oxidative stress (Yang et al., 2014). Furthermore, DON seems to have a genotoxic effect on *E. coli* strains present in the human intestine, which is a possible indicator of its participation in intestinal carcinogenesis, although previous studies have ruled out that DON may play some role in the development of neoplasms (Pestka, 2010; Payros et al., 2017). DON seems to cause emetic effects in humans, and when its effects are evaluated in animals, it is possible to observe effects on the immune system, anorexia and loss of nutritional efficiency as well as adversely affect reproductive capacity (Pestka & Smolinski, 2005).

Reviews carried out in cell lines of human intestinal mucosa suggest that DON acts by modulating the activity of intestinal transporters, thus acting on nutrient absorption, and the main mechanism of injury occurs by the inhibition of protein synthesis and the decrease in intercellular junction constituents (claudina-4). (Maresca et al., 2002; Van de Walle et al., 2010).

The toxicity of DON varies according to the species affected, as well as other mycotoxins, and pigs are more sensitive and ruminants are the most resistant (Pestka, 2007).

Experimental studies demonstrate that DON may have teratogenic potential related to disorders of bone and cartilage development; however, such findings are open to discussion, considering that other studies do not show changes in embryonic development, which is a point to be clarified in the future (Khera et al., 1982, 1986; Debouck et al., 2001).

The main route of DON metabolism includes conjugation with glucuronic acid to free DON and conjugation with glucuronic acid, for example, DON-Glucuronide (DON-GlcA), the most commonly used way to measure

exposure. In addition to free DON and DON-GlcA, de-epoxy deoxynivalenol (DOM-1) is another metabolite present in body fluids associated with microbiota (Al-Jaal et al., 2019).

Free DON can be used as a biomarker to investigate the exposure of farm workers who handle grain or silage, showing satisfactory results in humans (Turner et al., 2010a). Among the conjugates with glucuronic acid, DON-15-Glycuronide is found in greater quantity in urine and is therefore a good biomarker of exposure to DON (Warth et al., 2012).

DON-1 is the metabolite found in lesser amounts in human urine samples (Turner et al., 2010b; Ali et al., 2016). DON-1 is found in greater proportion in animal samples and is a less toxic metabolite of DON derived from the metabolism of the intestinal microbiota. The low levels of DON-1 in humans may indicate a greater sensitivity to the toxic effects of DON (Turner et al., 2011).

2.5 Ochratoxins

Ochratoxins are secondary metabolic products of fungi of the genus *Aspergillus spp.* and *Penicillium spp.* found mainly in nuts, dried fruits, grapes and grapes-derived drinks (Rocha et al., 2014). It has a structure similar to that of phenylalanine, which makes this mycotoxin act to inhibit protein synthesis. Its effects include nephrotoxicity, hepatotoxicity, immunosuppression and teratogenesis (Al-Jaal et al., 2019). Within the group of Ochratoxins, the most important is Ochratoxin A (OTA), due to its ability to cause damage to human and animal health, being categorized by the International Agency for Research on Cancer (1993) as a potential carcinogen for humans, remaining in group 2B.

The most prominent damage caused by ingestion of OTA is due to nephrotoxicity, which can cause edema, necrosis and changes at the cellular level, such as karyomegaly and apoptosis, in several species. (Huff et al., 1975; Maaroufi et al., 1999). In humans, OTA has been identified at high levels in areas with a high incidence of endemic Balkan nephropathy and malignant neoplasms of the urinary tract (Simon, 1996; Castegnaro et al., 2006). The mechanism by which OTA causes nephrocarcinogenesis is still the subject of discussion. Considering the mechanism of adducts formation with DNA, hypotheses are raised that a series of epigenetic mechanisms are related to the carcinogenic potential of OTA. (Marin-Kuan et al., 2008; Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2012).

As shown in experimental studies, OTA, which is metabolized in the liver via cytochrome P450, acts on hepatic metabolism, inducing changes in its metabolic pathways, thus leading to the development of liver diseases over time (Qi et al., 2014). The mechanisms by which OTA operates in the liver are mostly increased production of reactive oxygen species in hepatocytes, followed by lesions in DNA and stimulation of intrinsic apoptosis pathway activation (Gayathri et al., 2015).

OTA metabolites can be found in human and animal breast milk, which shows the risk of contamination during breastfeeding

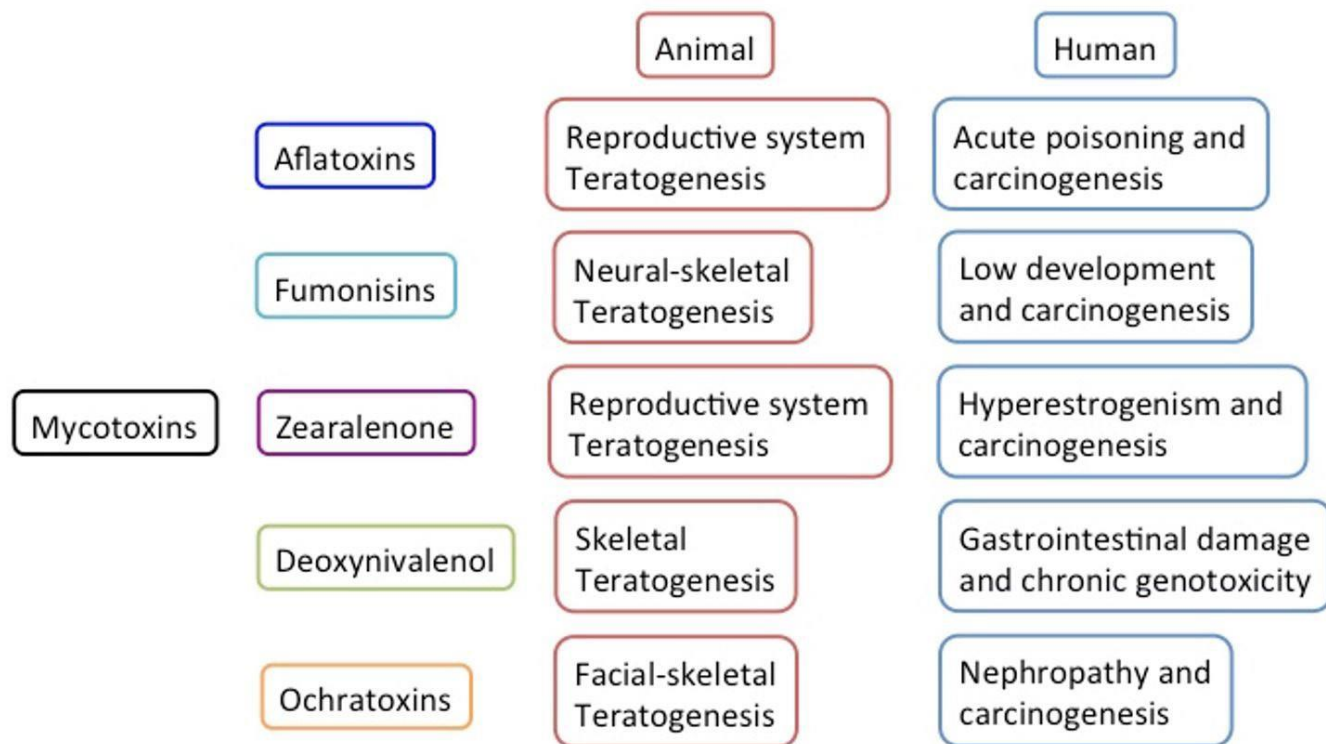


Figure 1. The main impact of aflatoxins, fumonisins, zearalenone, deoxynivalenol and ochratoxins on human and animal health and in dairy products (Breitholtz-Emanuelsson et al., 1993; Skaug, 1999; Skaug et al., 2001).

Experimental studies also suggest a great teratogenic potential of OTA. When evaluated for its effects in rats and mice, OTA has been related to increased prenatal mortality and decreased weight of puppies, bone, eye, and face malformations. When delivered in high doses, it leads to the death of fetuses (Hayes et al., 1974; Brown et al., 1976). A study conducted on perfused human placenta demonstrated ineffectiveness in transferring OTA, going against the results obtained in animals, and this is a point to be investigated in the future (Woo et al., 2012).

The most commonly used biomarkers for the diagnosis of exposure to OTA is OTA, ochratoxin α and β (OT α and OT β), which are the products of hydrolysis by carboxypeptidases, and finally 4-R-hydroxyochratoxine (4-OH-OTA), which results from hydroxylation processes by enzymes of the cytochrome P450 family and peroxidases. All can be found in serum, plasma, and human and animal urine (Rocha et al., 2014; Al-Jaal et al., 2019). OTA can still be evidenced in milk, although the levels of biomarkers in urine indicate a better source to assess exposure (Scott, 2005).

A study conducted in adult Germans showed a greater amount of OT α in urine samples when compared to OTA, an inverse situation in the assessment of plasma levels of these biomarkers; the studies in this case indicate a greater amount of OTA in the blood when compared to OT α (Ali et al., 2017, 2018). Figure 1 summarizes the main damages of mycotoxins on human and animal health.

Finally, the improved detection of fungal biomarkers is also important for the investigation of alternatives that can minimize the presence of mycotoxins in foods, or at least neutralize their toxic and teratogenic effects. For example, the use of polymers with three-dimensional and specific sites (Bodbodak et al., 2018), as well as the biofilm of *Lactobacillus rhamnosus* (Assaf et al., 2019) for binding with AFM1, can reduce the presence of this mycotoxin in milk. The use of some lipid compounds has also been shown to be promising because in addition to having a mycostatic effect, they have antioxidant capacity, decreasing fungal toxicity (Bemvenuti et al., 2019; Villegas-Rascón et al., 2018).

3 Conclusions

Mycotoxin contamination of food is very relevant from a global health point of view, and understanding its mechanisms of action makes it increasingly possible to associate it with several diseases. To establish more precisely how these substances are associated with various pathologies, the measurement of exposure of populations based on their biomarkers is essential, which makes it important to know in detail the biotransformation of these substances and define the best markers to identify them. Another very important point

is the chain reaction that can take place when the feed of farm animals is contaminated and then their products such as meat, milk and eggs become contaminants. Thus, due to its close correlation with human health, procedures for feeding farm animals should be optimized, with the rapid identification of pathogens, as well as the proposition of measures to reduce these damages.

10. References

- Abdel-Wahhab, M. A., Hassan, A. M., Amer, H. A., & Naguib, K. M. (2004). Prevention of fumonisin-induced maternal and developmental toxicity in rats by certain plant extracts. *Journal of Applied Toxicology*, 24(6), 469-474. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.1000>. PMID:15551383.
- Ahmadi, E. (2020). Potential public health risk due to consumption of contaminated bovine milk with aflatoxin M1 and *Coxiella burnetii* in the West of Iran. *International Journal of Dairy Technology*, 73(3), 479-485. <http://dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12687>.
- Alamu, E. O., Gondwe, T., Akello, J., Maziya-Dixon, B., & Mukanga, M. (2020). Relationship between serum aflatoxin concentrations and the nutritional status of children aged 6-24 months from Zambia. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 71(5), 593-603. <http://dx.doi.org/10.1080/09637486.2019.1689547>. PMID:31718342.
- Ali, N., & Degen, G. H. (2018). Urinary biomarkers of exposure to the mycoestrogen zearalenone and its modified forms in German adults. *Archives of Toxicology*, 92(8), 2691-2700. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-018-2261-5>. PMID:29980802.
- Ali, N., Blaszkewicz, M., & Degen, G. H. (2016). Assessment of deoxynivalenol exposure among Bangladeshi and German adults by a biomarker-based approach. *Toxicology Letters*, 258, 20-28. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.06.006>. PMID:27298273.
- Ali, N., Muñoz, K., & Degen, G. H. (2017). Ochratoxin A and its metabolites in urines of German adults: an assessment of variables in biomarker analysis. *Toxicology Letters*, 275, 19-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.04.013>. PMID:28445738.
- Ali, N., Hossain, K., & Degen, G. H. (2018). Blood plasma biomarkers of citrinin and ochratoxin A exposure in young adults in Bangladesh. *Mycotoxin Research*, 34(1), 59-67. <http://dx.doi.org/10.1007/s12550017-0299-5>. PMID:29143924.
- Al-Jaal, B. A., Jaganjac, M., Barcaru, A., Horvatovich, P., & Latiff, A. (2019). Aflatoxin, fumonisin, ochratoxin, zearalenone and deoxynivalenol biomarkers in human biological fluids: a systematic literature review. *Food and Chemical Toxicology*, 129, 2011-2228. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2019.04.047>. PMID:31034935.
- Assaf, J. C., Khoury, A. E., Chokr, A., Louka, N., & Atoui, A. (2019). A novel method for elimination of aflatoxin M1 in milk using *Lactobacillus rhamnosus* GG biofilm. *International Journal of Dairy Technology*, 72(2), 248-256. <http://dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12578>.
- Azziz-Baumgartner, E., Lindblade, K., Giesecker, K., Rogers, H. S., Kieszak, S., Njapau, H., Schleicher, R., McCoy, L. F., Misore, A., DeCock, K., Rubin, C., & Slutsker, L. (2005). Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya. (2004). *Environmental Health Perspectives*, 113(12), 1779-1783. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.8384>. PMID:16330363.
- Bando, É., Gonçalves, L. N., Tamura, N. K., & Machinski, M. Jr. (2007). Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 43(3), 175-180. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442007000300006>.
- Batatinha, M. J., Simas, M. M. S., & Górnica, S. L. (2008). Micotoxicoses. In H. S. Spinosa, S. L. Górnica & J. Palermo-Neto (Eds.), *Toxicologia aplicada à medicina veterinária*. São Paulo: Manole.
- Belhassen, H., Jiménez-Díaz, I., Arrebola, J. P., Ghali, R., Ghorbel, H., Olea, N., & Hedili, A. (2015). Zearalenone and its metabolites in urine and breast cancer risk: a case-control study in Tunisia. *Chemosphere*, 128, 1-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.055>. PMID:25602441.
- Bemvenuti, R., Rodrigues, M. H., & Furlong, E. (2019). Efficiency of γ -oryzanol against the complex *Fusarium graminearum* growth and mycotoxins production. *Food Science and Technology*, 39(1), 240-246. <http://dx.doi.org/10.1590/fst.01818>.
- Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497-516. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.16.3.497-516.2003>. PMID:12857779.
- Bodbodak, S., Hesari, J., Peighambaroust, S. H., & Mahkam, M. (2018). Selective decontamination of aflatoxin M1 in milk by molecularly imprinted polymer coated on the surface of stainless steel plate. *International Journal of Dairy Technology*, 71(4), 868-878. <http://dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12551>.
- 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. *Journal of AOAC International*, 76(4), 842-846. <http://dx.doi.org/10.1093/jaoac/76.4.842>. PMID:8374329.
- Brown, M. H., Szczech, G. M., & Purmalis, B. P. (1976). Teratogenic and toxic effects of ochratoxin A in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 37(2), 331-338. [http://dx.doi.org/10.1016/0041008X\(76\)90096-X](http://dx.doi.org/10.1016/0041008X(76)90096-X). PMID:982455.
- Bryden, W. L. (2007). Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(1, Suppl. 1), 95-101. PMID:17392084.

- Cai, Q., Tang, L., & Wang, J.-S. (2007). Validation of fumonisin biomarkers in F344 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 225(1), 28-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2007.06.027>. PMID:17904604.
- Caldas, E. D., Silva, S. C., & Oliveira, J. N. (2002). Aflatoxinas e Ochratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. *Revista de Saúde Pública*, 36(3), 319-323. <http://dx.doi.org/10.1590/S003489102002000300010>. PMID:12131971.
- Calori-Domingues, M. A., Bernardi, C. M., Nardin, M. S., Souza, G. V., Santos, F. G., Stein, M., Gloria, E. M., Dias, C. T., & Camargo, A. C. (2016). Co-occurrence and distribution of deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone in wheat from Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 9(2), 142-151. <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2016.1152598>. PMID:26886061.
- Castegnaro, M., Canadas, D., Vrabcheva, T., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. N., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2006). Balkan endemic nephropathy: Role of ochratoxins A through biomarkers. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(6), 519-529. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.200500182>. PMID:16715544.
- Chauhan, R., Singh, J., Sachdev, T., Basu, T., & Malhotra, B. D. (2016). Recent advances in mycotoxins detection. *Biosensors & Bioelectronics*, 81, 532-545. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.004>. PMID:27019032.
- Chawanthayatham, S., Thiantanawat, A., Egner, P. A., Groopman, J. D., Wogan, G. N., Croy, R. G., & Essigmann, J. M. (2015). Prenatal exposure of mice to the human liver carcinogen aflatoxin B1 reveals a critical window of susceptibility to genetic change. *International Journal of Cancer*, 136(6), 1254-1262. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.29102>. PMID:25070670.
- Chen, C., Riley, R. T., & Wu, F. (2018). Dietary fumonisin and growth impairment in children and animals: a review. *Food Science and Food Safety*, 17(6), 1448-1464. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12392>.
- Chiaradia, M. C., Collins, C. H., & Jardim, I. C. S. F. (2008). O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Química Nova*, 31(3), 623-636. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000300030>.
- Come, J., Cambaza, E., Ferreira, R., da Costa, J., Carrilho, C., & Santos, L. L. (2019). Esophageal cancer in Mozambique: should mycotoxins be a concern? *The Pan African Medical Journal*, 33, 187. <http://dx.doi.org/10.11604/pamj.2019.33.187.18295>. PMID:31565147.
- Debouck, C., Haubruge, E., Bollaerts, P., Van Bignoot, D., Brostaux, Y., Werry, A., & Rooze, M. (2001). Skeletal deformities induced by the intraperitoneal administration of deoxynivalenol (vomitoxin) in mice. *International Orthopaedics*, 25(3), 194-198. <http://dx.doi.org/10.1007/s002640100235>. PMID:11482540.
- Dias, A. S. (2018). Micotoxinas em produtos de origem animal. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 5, 1-15.
- Diaz, G. J., & Sánchez, M. P. (2015). Determination of aflatoxin M1 in breast milk as a biomarker of maternal and infant exposure in Colombia. *Food Additives and Contaminants*, 32(7), 1192-1198. <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2015.1049563>. PMID:25959253.
- Dohnal, V., Wu, Q., & Kuca, K. (2014). Metabolism of aflatoxins: key enzymes and interindividual as well as interspecies differences. *Archives of Toxicology*, 88(9), 1635-1644. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-014-1312-9>. PMID:25027283.
- Fernandez, A., Belío, R., Ramos, J. J., Sanz, M. C., & Saez, T. (1997). Aflatoxins and their metabolites in the tissues, faeces and urine from lambs feeding on an aflatoxin-contaminated diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(2), 161-168. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199706\)74:2<161::AID-JSFA783>3.0.CO;2-D](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199706)74:2<161::AID-JSFA783>3.0.CO;2-D).
- Fetaih, H. A., Dessouki, A. A., Hassanin, A. A., & Tahan, A. S. (2014). Toxopathological and cytogenetic effects of aflatoxin B1 (AFB1) on pregnant rats. *Pathology, Research and Practice*, 210(12), 10791089. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2014.06.001>. PMID:25023881.
- Fioramonti, J., Dupuy, C., Dupuy, J., & Bueno, L. (1993). The mycotoxin, deoxynivalenol, delays gastric emptying through serotonin-3 receptors in rodents. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 266(3), 1255-1260. PMID:8371135.
- Fitzpatrick, D. W., Picken, C. A., Murphy, L. C., & Buhr, M. M. (1989). Measurement of the relative binding affinity of zearalenone, alpha-zearalenol and beta-zearalenol for uterine and oviduct estrogen receptors in swine, rats and chickens: an indicator of estrogenic potencies. *Comparative Pharmacology and Toxicology*, 94(2), 691-694. [http://dx.doi.org/10.1016/0742-8413\(89\)90133-3](http://dx.doi.org/10.1016/0742-8413(89)90133-3). PMID:2576797.
- Frizzell, C., Uhlig, S., Miles, C. O., Verhaegen, S., Elliott, C. T., Eriksen, G. S., Sørli, M., Ropstad, E., & Connolly, L. (2015). Biotransformation of zearalenone and zearalenols to their major glucuronide metabolites reduces estrogenic activity. *Toxicology In Vitro*, 29(3), 575-581. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2015.01.006>. PMID:25645597.
- Gayathri, L., Dhivya, R., Dhanasekaran, D., Periasamy, V. S., Alshatwi, A. A., & Akbarsha, M. A. (2015). Hepatotoxic effect of ochratoxin A and citrinin, alone and in combination and protective effect of vitamin E: in vitro study in HepG2 cell. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 151-163. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.06.009>. PMID:26111808.
- Gelineau-van Waes, J., Voss, K. A., Stevens, V. L., Speer, M. C., & Riley, R. T. (2009). Maternal fumonisin exposure as a risk factor for neural tube defects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 56, 145-181. [http://dx.doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)00605-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1043-4526(08)00605-0). PMID:19389609.

- Giovati, L., Magliani, W., Ciociola, T., Santinoli, C., Conti, S., & Polonelli, L. (2015). AFM1 in milk: physical, biological, and prophylactic methods to mitigate contamination. *Toxins*, 7(10), 4330-4349. [http:// dx.doi.org/10.3390/toxins7104330](http://dx.doi.org/10.3390/toxins7104330). PMID:26512694.
- Gong, Y. Y., Cardwell, K., Hounsa, A., Egal, S., Turner, P. C., Hall, A. J., & Wild, C. P. (2002). Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. *BMJ*, 325(7354), 20-21. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.325.7354.20>. PMID:12098724.
- Groopman, J. D., & Kensler, T. W. (1999). The light at the end of the tunnel for chemical-specific biomarkers: daylight or headlight? *Carcinogenesis*, 20(1), 1-11. <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/20.1.1>. PMID:9934843.
- Hajmohammadi, M., Valizadeh, R., Naserian, A., Nourozi, M. E., Rocha, R. S., & Oliveira, C. A. F. (2019). Composition and occurrence of aflatoxin M1 in cow's milk samples from Razavi Khorasan Province, Iran. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 40-45. [http:// dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12661](http://dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12661).
- Harrison, L. R., Colvin, B. M., Greene, J. T., Newman, L. E., & Cole, J. R. Jr. (1990). Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2(3), 217-221. <http://dx.doi.org/10.1177/104063879000200312>. PMID:2094448.
- Hayes, A. W., Hood, R. D., & Lee, H. L. (1974). Teratogenic effects of ochratoxin A in mice. *Teratology*, 9(1), 93-97. <http://dx.doi.org/10.1002/tera.1420090112>. PMID:4204660.
- Hilakivi-Clarke, L., Onojafe, I., Raygada, M., Cho, E., Skaar, T., Russo, I., & Clarke, R. (1999). Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis. *British Journal of Cancer*, 80(11), 1682-1688. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6690584>. PMID:10468283.
- Huff, W. E., Wyatt, R. D., & Hamilton, P. B. (1975). Nephrotoxicity of dietary ochratoxin A in broiler chickens. *Applied Microbiology*, 30(1), 48-51. <http://dx.doi.org/10.1128/AM.30.1.48-51.1975>. PMID:1147620.
- International Agency for Research on Cancer – IARC. (1993). *Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins* (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 56). Lyon: IARC.
- International Agency for Research on Cancer – IARC. (2002). *Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene* (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 82). Lyon: IARC. PMID:12687954.
- Jager, A. V., Tonin, F. G., Baptista, G. Z., Souto, P. C., & Oliveira, C. A. (2016). Assessment of aflatoxin exposure using serum and urinary biomarkers in São Paulo, Brazil: a pilot study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(3), 294-300. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.12.003>. PMID:26740158.
- Khera, K. S., Whalen, C., & Angers, G. (1986). A teratology study on vomitoxin (4-deoxynivalenol) in rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 24(5), 421-424. [http://dx.doi.org/10.1016/0278-6915\(86\)90207-3](http://dx.doi.org/10.1016/0278-6915(86)90207-3). PMID:3744196.
- Khera, K., Whalen, C., Angers, G., Vesonder, R., & Kuiper-Goodman, T. (1982). Embryotoxicity of 4-deoxynivalenol (vomitoxin) in mice. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 29(4), 487-491. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01605616>. PMID:7171859.
- Kowalska, K., Habrowska-Górczyńska, D. E., & Piastowska-Ciesielska, A. W. (2016). Zearalenone as an endocrine disruptor in humans. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 48, 141-149. [http:// dx.doi.org/10.1016/j.etap.2016.10.015](http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2016.10.015). PMID:27771507.
- Liu, X., Fan, L., Yin, S., Chen, H., & Hu, H. (2019). Molecular mechanisms of fumonisin B1-induced toxicities and its applications in the mechanism-based interventions. *Toxicon*, 167, 175. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.06.009>. PMID:31173793.
- Maaroufi, K., Zakhama, A., Baudrimont, I., Achour, A., Abid, S., Ellouz, F., Dhouib, S., Creppy, E. E., & Bacha, H. (1999). Karyomegaly of tubular cells as early stage marker of the nephrotoxicity induced by ochratoxin A in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 18(6), 410-415. <http://dx.doi.org/10.1191/096032799678840192>. PMID:10413246.
- Maragos, C. (2010). Zearalenone occurrence and human exposure. *World Mycotoxin Journal*, 3(4), 369-383. <http://dx.doi.org/10.3920/WMJ2010.1240>.
- Marasas, W. F., Kellerman, T. S., Gelderblom, W. C., Coetzer, J. A., Thiel, P. G., & Van der Lugt, J. J. (1988). Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 55(4), 197-203. PMID:3217091.
- Maresca, M., Mahfoud, R., Garmy, N., & Fantini, J. (2002). The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. *The Journal of Nutrition*, 132(9), 2723-2731. [http:// dx.doi.org/10.1093/jn/132.9.2723](http://dx.doi.org/10.1093/jn/132.9.2723). PMID:12221236.
- Marin, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., & Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047>. PMID:23907020.
- Marin-Kuan, M., Cavin, C., Delatour, T., & Schilter, B. (2008). Ochratoxin A carcinogenicity involves a complex network of epigenetic mechanisms. *Toxicon*, 52(2), 195-202. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.04.166>. PMID:18649906.

- Maziero, M. T., & Bersot, L. S. (2010). Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 12(1), 89-99. <http://dx.doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v12n1p89-99>.
- McMillan, A., Renaud, J. B., Burgess, K., Orimadegun, A. E., Akinyinka, O. O., Allen, S. J., Miller, J. D., Reid, G., & Sumarah, M. W. (2018). Aflatoxin exposure in Nigerian children with severe acute malnutrition. *Food and Chemical Toxicology*, 111, 356-362. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2017.11.030>. PMID:29175577.
- Medina, B. G., Sartori, A. V., Moraes, M. H. P., Cardoso, M. H. W. M., & Jacob, S. C. (2019). Validation and application of an analytical method for the determination of mycotoxins in crackers by UPLCMS/MS. *Food Science and Technology*, 39(3), 583-591. <http://dx.doi.org/10.1590/fst.33717>.
- Mitchell, N. J., Kumi, J., Johnson, N. M., Dotse, E., Marroquin-Cardona, A., Wang, J. S., Jolly, P. E., Ankrah, N. A., & Phillips, T. D. (2013). Reduction in the urinary aflatoxin M1 biomarker as an early indicator of the efficacy of dietary interventions to reduce exposure to aflatoxins. *Biomarkers*, 18(5), 391-398. <http://dx.doi.org/10.3109/1354750X.2013.798031>. PMID:23697800.
- Mupunga, I., Izaaks, C. D., Shai, L. J., & Katerere, D. R. (2017). Aflatoxin biomarkers in hair may facilitate long-term exposure studies. *Journal of Applied Toxicology*, 37(4), 395-399. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.3422>. PMID:27933645.
- Mykkänen, H., Zhu, H., Salminen, E., Juvonen, R. O., Ling, W., Ma, J., Polychronaki, N., Kemiläinen, H., Mykkänen, O., Salminen, S., & El-Nezami, H. (2005). Fecal and urinary excretion of aflatoxin B1 metabolites (AFQ1, AFM1 and AFB-N7-guanine) in young Chinese males. *International Journal of Cancer*, 115(6), 879-884. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.20951>. PMID:15723309.
- Pan, P., Ma, F., Wu, K., Yu, Y., Li, Y., Li, Z., Chen, X., Huang, T., Wang, Y., & Ge, R. S. (2020). Maternal exposure to zearalenone in masculinization window affects the fetal Leydig cell development in rat male fetus. *Environmental Pollution*, 263(Pt B), 114357. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114357>. PMID:32229375.
- Payros, D., Dobrindt, U., Martin, P., Secher, T., Bracarense, A. P., Boury, M., Laffitte, J., Pinton, P., Oswald, E., & Oswald, I. P. (2017). The food contaminant deoxynivalenol exacerbates the genotoxicity of gut microbiota. *mBio*, 8(2), e00007-17. <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00007-17>. PMID:28292979.
- Peraica, M., Radić, B., Lucić, A., & Pavlović, M. (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(9), 754-766. PMID:10534900.
- Pestka, J. J., & Smolinski, A. T. (2005). Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 8(1), 39-69. <http://dx.doi.org/10.1080/10937400590889458>. PMID:15762554.
- Pestka, J. J. (2007). Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Science and Technology*, 137(3-4), 283-298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.006>.
- Pestka, J. J. (2010). Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Archives of Toxicology*, 84(9), 663-679. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-010-0579-8>. PMID:20798930.
- Pfohl-Leszkowicz, A., & Manderville, R. A. (2012). An update on direct genotoxicity as a molecular mechanism of ochratoxin A carcinogenicity. *Chemical Research in Toxicology*, 25(2), 252-262. <http://dx.doi.org/10.1021/tx200430f>. PMID:22054007.
- Pimpitak, U., Rengpipat, S., Phutong, S., Buakeaw, A., & Komolpis, K. (2020). Development and validation of a lateral flow immunoassay for the detection of aflatoxin M1 in raw and commercialised milks. *International Journal of Dairy Technology*, 73(4), 695-705. <http://dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12728>.
- Qi, X., Yang, X., Chen, S., He, X., Dweep, H., Guo, M., & Huang, K. (2014). Ochratoxin A induced early hepatotoxicity: new mechanistic insights from microRNA, mRNA and proteomic profiling studies. *Scientific Reports*, 4(1). <http://dx.doi.org/10.1038/srep05163>.
- Qiu, M., & Liu, X. (2001). Determination of sphinganine, sphingosine and Sa/So ratio in urine of humans exposed to dietary fumonisin B1. *Food Additives and Contaminants*, 18(3), 263-269. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030117470>. PMID:11304035.
- Ramvalho, L., Porta, L. D., Rosim, R. E., Petta, T., Augusto, M. J., Silva, D. M., Ramalho, F. S., & Oliveira, C. (2018). Aflatoxin B1 residues in human livers and their relationship with markers of hepatic carcinogenesis in São Paulo, Brazil. *Toxicology Reports*, 5, 777-784. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.07.005>. PMID:30101081.
- Raota, C. S., & Giovanela, M. (2016). Análise quantitativa de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em ração para aves de corte por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. *Scientia cum Industria*, 4(3), 148-153. <http://dx.doi.org/10.18226/23185279.v4iss3p148>.
- Rocha, E. B., Freire, F. C. O., Maia, E. F., Guedes, I. F., & Rondina, D. (2014). Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 36(1), 159-165. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.021>.
- Rogers, A., & Newberne, P. (1971). Nutrition and aflatoxin carcinogenesis. *Nature*, 229(5279), 62-63. <http://dx.doi.org/10.1038/229062a0>. PMID:4098983.
- Rudyk, H., Tomaszewska, E., Kotsyumbas, I., Muszyński, S., TomczykWarunek, A., Szymańczyk, S., Dobrowolski, P., Wiącek, D., Kamiński, D., & Brezryn, O. (2019). Bone homeostasis in experimental fumonisin intoxication of rats. *Annals of Animal Science*, 19(2), 403-419. <http://dx.doi.org/10.2478/aoas-2019-0003>.

- Scott, P. M. (2005). Biomarkers of human exposure to ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*, 22(1, Suppl 1), 99-107. [http:// dx.doi.org/10.1080/02652030500410315](http://dx.doi.org/10.1080/02652030500410315). PMID:16332628.
- Sewram, V., Mshicileli, N., Shephard, G. S., & Marasas, W. F. (2003). Fumonisin mycotoxins in human hair. *Biomarkers*, 8(2), 110-118. <http://dx.doi.org/10.1080/1354750031000081002>. PMID:12775496.
- Simon, P. (1996). Ochratoxin and kidney disease in the human. *Journal of Toxicology. Toxin Reviews*, 15(3), 239-249. <http://dx.doi.org/10.3109/15569549609016446>.
- Skaug, M. A. (1999). Analysis of Norwegian milk and infant formulas for ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*, 16(2), 75-78. <http://dx.doi.org/10.1080/026520399284235>. PMID:10435076.
- Skaug, M. A., Helland, I., Solvoll, K., & Saugstad, O. D. (2001). Presence of ochratoxin A in human milk in relation to dietary intake. *Food Additives and Contaminants*, 18(4), 321-327. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030117740>. PMID:11339267.
- Smith, J. E., Solomons, G., Lewis, C., & Anderson, J. G. (1995). Role of mycotoxins in human and animal nutrition and health. *Natural Toxins*, 3(4), 187-221. <http://dx.doi.org/10.1002/nt.2620030404>. PMID:7582615.
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., & Kizek, R. (2010). Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology*, 3(3), 94-99. <http://dx.doi.org/10.2478/v10102-0100019-x>. PMID:21217881.
- Souto, P., Jager, A. V., Tonin, F. G., Petta, T., Di Gregório, M. C., Cossalter, A. M., Pinton, P., Oswald, I. P., Rottinghaus, G. E., & Oliveira, C. (2017). Determination of fumonisin B1 levels in body fluids and hair from piglets fed fumonisin B1-contaminated diets. *Food and Chemical Toxicology*, 108(Pt A), 1-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.036>. PMID:28733235.
- Supriya, C. H., & Reddy, P. S. (2015). Prenatal exposure to aflatoxin B1: developmental, behavioral, and reproductive alterations in male rats. *Naturwissenschaften*, 102(5-6), 26. <http://dx.doi.org/10.1007/s00114-015-1274-7>. PMID:25911313.
- Sweeney, M. J., & Dobson, A. D. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 43(3), 141-158. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00112-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00112-3). PMID:9801191.
- Turner, N. W., Subrahmanyam, S., & Piletsky, S. A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. *Analytica Chimica Acta*, 632(2), 168-180. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.010>. PMID:19110091.
- Turner, P. C., Hopton, R. P., Lecluse, Y., White, K. L. M., Fisher, J., & Lebailly, P. (2010a). Determinants of urinary deoxynivalenol and de-epoxy deoxynivalenol in male farmers from Normandy, France. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 5206-5212. [http:// dx.doi.org/10.1021/jf100892v](http://dx.doi.org/10.1021/jf100892v). PMID:20349912.
- Turner, P. C., White, K. L., Burley, V. J., Hopton, R. P., Rajendram, A., Fisher, J., Cade, J. E., & Wild, C. P. (2010b). A comparison of deoxynivalenol intake and urinary deoxynivalenol in UK adults. *Biomarkers*, 15(6), 553-562. <http://dx.doi.org/10.3109/1354750X.2010.495787>. PMID:20572795.
- Turner, P. C., Ji, B. T., Shu, X. O., Zheng, W., Chow, W. H., Gao, Y. T., & Hardie, L. J. (2011). A biomarker survey of urinary deoxynivalenol in China: the Shanghai Women's Health Study. *Food Additives and Contaminants*, 28(9), 1220-1223. <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2011.584070>. PMID:21774617.
- Van de Walle, J. V., Sergeant, T., Piront, N., Toussaint, O., Schneider, Y. J., & Larondelle, Y. (2010). Deoxynivalenol affects in vitro intestinal epithelial cell barrier integrity through inhibition of protein synthesis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 245(3), 291-298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2010.03.012>. PMID:20362602.
- Van der Westhuizen, L., Brown, N. L., Marasas, W. F., Swanevelder, S., & Shephard, G. S. (1999). Sphinganine/sphingosine ratio in plasma and urine as a possible biomarker for fumonisin exposure in humans in rural areas of Africa. *Food and Chemical Toxicology*, 37(12), 1153-1158. [http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)001131](http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915(99)001131). PMID:10654591.
- Villegas-Rascón, R. E., López-Meneses, A. K., Plascencia-Jatomea, M., Cota-Arriola, O., Moreno-Ibarra, G. M., Castellón-Campaña, L. G., Sánchez-Mariñez, R. I., & Cortez-Rocha, M. O. (2018). Control of mycotoxigenic fungi with microcapsules of essential oils encapsulated in chitosan. *Food Science and Technology*, 38(2), 335-340. [http:// dx.doi.org/10.1590/1678-457x.04817](http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.04817).
- Voss, K. A., & Riley, R. T. (2013). Fumonisin toxicity and mechanism of action: overview and current perspectives. *Food Safety*, 1(1), 2013006. <http://dx.doi.org/10.14252/foodsafetyfscj.2013006>.
- Warth, B., Preindl, K., Manser, P., Wick, P., Marko, D., & BuerkiThurnherr, T. (2019). Transfer and metabolism of the xenoestrogen zearalenone in human perfused placenta. *Environmental Health Perspectives*, 127(10), 107004. <http://dx.doi.org/10.1289/EHP4860>. PMID:31596610.
- Warth, B., Sulyok, M., Fruhmann, P., Berthiller, F., Schuhmacher, R., Hametner, C., Adam, G., Fröhlich, J., & Krska, R. (2012). Assessment of human deoxynivalenol exposure using an LC-MS/MS based biomarker method. *Toxicology Letters*, 211(1), 85-90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.02.023>. PMID:22429874.
- Wild, C. P., & Turner, P. C. (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis*, 17(6), 471-481. [http:// dx.doi.org/10.1093/mutage/17.6.471](http://dx.doi.org/10.1093/mutage/17.6.471) PMID:12435844.
- Woo, C. S. J., Partanen, H., Myllynen, P., Vähäkangas, K., & El-Nezami, H. (2012). Fate of the teratogenic and carcinogenic ochratoxin A in human perfused placenta. *Toxicology Letters*, 208(1), 92-99. [http:// dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.10.013](http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.10.013). PMID:22037670.

- Xu, L., Cai, Q., Tang, L., Wang, S., Hu, X., Su, J., Sun, G., & Wang, J. S. (2010). Evaluation of fumonisin biomarkers in a cross-sectional study with two high-risk populations in China. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 27(8), 1161-1169. <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2010.481638>. PMID:20589550.
- Yang, D., Jiang, T., Lin, P., Chen, H., Wang, L., Wang, N., Zhao, F., Tang, K., Zhou, D., Wang, A., & Jin, Y. (2017). Apoptosis inducing factor gene depletion inhibits zearalenone-induced cell death in a goat Leydig cell line. *Reproductive Toxicology*, 67, 129-139. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.12.005>. PMID:28011299.
- Yang, W., Yu, M., Fu, J., Bao, W., Wang, D., Hao, L., Yao, P., Nüssler, A. K., Yan, H., & Liu, L. (2014). Deoxynivalenol induced oxidative stress and genotoxicity in human peripheral blood lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 64, 383-396. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.012>. PMID:24355168.
- Yu, Z., Zhang, L., Wu, D., & Liu, F. (2005). Anti-apoptotic action of zearalenone in MCF-7 cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(3), 441-446. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.10.003>. PMID:16216639.
- Zheng, W. L., Wang, B. J., Wang, L., Shan, Y. P., Zou, H., Song, R. L., Wang, T., Gu, J. H., Yuan, Y., Liu, X. Z., Zhu, G. Q., Bai, J. F., Liu, Z. P., & Bian, J. C. (2018). ROS-mediated cell cycle arrest and apoptosis induced by zearalenone in mouse Sertoli cells via ER stress and the ATP/AMPK pathway. *Toxins*, 10(1), 24. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins10010024>. PMID:29301253.

II. ARTIGO DE REVISÃO INTITULADO: EFFECTS OF PRENATAL EXPOSURE TO AFLATOXIN B1: A REVIEW.

Artigo aceito para publicação em 27/11/2021.

Revista científica: Molecules.

Fator de impacto: 4.411.

Review

Effects of Prenatal Exposure to Aflatoxin B1: A Review

João Victor Batista da Silva ³, Carlos Augusto Fernandes de Oliveira ^{2,*}  and Leandra Náira Zambelli Ramalho ¹



https://www.mdpi.com/article/10.3390/molecules26237312?type=check_update&version=1
https://www.mdpi.com/article/10.3390/molecules26237312?type=check_update&version=1

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

¹ Department of Pathology and Forensic Medicine, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto 14049-900, São Paulo, Brazil; joaovsilva@usp.br (J.V.B.d.S.); lramalho@fmrp.usp.br (L.N.Z.R.)

² Department of Food Engineering, School of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga CEP 13635-900, São Paulo, Brazil

* Correspondence: carlosaf@usp.br

Abstract: Aflatoxins are mycotoxins produced as secondary fungal metabolites. Among them, aflatoxin B1 (AFB1) stands out due to its genotoxic and mutagenic potential, being a potent initiator of carcinogenesis. In this review, the outcomes from the published literature in the past 10 years on the effects of AFB1 pathophysiological mechanisms on embryological and fetal development are discussed. In several animal species, including humans, AFB1 has a teratogenic effect, resulting in bone malformations, visceral anomalies, lesions in several organs, and behavioral and reproductive changes, in addition to low birth weight. The mutagenic capacity of AFB1 in prenatal life is greater than in adults, indicating that when exposure occurs in the womb, the risk of the development of neoplasms is higher. Studies conducted in humans indicate that the exposure to this mycotoxin during pregnancy is associated with low birth weight, decreased head circumference, and DNA hypermethylation. However, as the actual impacts on humans are still unclear, the importance of this issue cannot be overemphasized and studies on the matter are essential.

Keywords: aflatoxins; carcinogenicity; mutagenicity; prenatal exposure; teratogenicity

Citation: da Silva, J.V.B.; de Oliveira, C.A.F.; Ramalho, L.N.Z. Effects of Prenatal Exposure to Aflatoxin B1: A Review. *Molecules* **2021**, *26*, 7312. <https://doi.org/10.3390/molecules26237312>

Academic Editor: Benito Soto-Blanco

Received: 12 November 2021

Accepted: 27 November 2021

Published: 2 December 2021

Molecules **2021**, *26*, 7312. <https://doi.org/10.3390/molecules26237312>

<https://www.mdpi.com/journal/molecules>

³ . Introduction

Mycotoxins are secondary products of fungal metabolism, causing harmful effects on human and animal health. These substances are commonly found in food, especially when harvest storage or transport practices are inadequate. It is estimated that about 25% of all food worldwide is contaminated with mycotoxins, but some studies suggest that this is an underestimation [1]. As acute intoxications are less common in humans, the effects of chronic exposure to mycotoxins have been more extensively studied and seem to be related to a wide range of health disorders [2]. Among mycotoxins, aflatoxins stand out due to their carcinogenic potential. Aflatoxins (AFs) are produced mainly by *Aspergillus* spp. fungi and are found in several foods, such as corn, peanuts, and others. Although not all food contaminated by fungi have AFs, these substances occur all over the world, with temperature and humidity providing adequate conditions for contamination by *Aspergillus* spp. and the production of these mycotoxins [3]. Some AFs are produced directly by *Aspergillus*, whilst others are the result of the metabolism of these substances in the liver after intake. The four main types of aflatoxins found in foods are variants B1, B2, G1, and G2, with aflatoxin B1 (AFB1) having the highest carcinogenic potential. Aflatoxin M1 (AFM1) is a product of aflatoxin B1 metabolism in the animal organism, and stands out both for its carcinogenic potential and for being excreted in the milk of animals and humans [4]. AFB1 is known to have genotoxic, mutagenic, immunogenic, and hepatotoxic potential, and for causing acute liver damage when ingested in large quantities. It also has a remarkable teratogenic potential, and several studies were carried out on its effects during the prenatal life of animals and humans, especially on fetal development.

Knowing that this mycotoxin has the ability to cross the placental barrier and has already been identified in human umbilical cord samples [5,6], the main objective of this review is to discuss the effects, already reported in the scientific literature, of the pathophysiological mechanisms of AFB1 on embryological and fetal development. For this purpose, articles published in the last 20 years reporting experiments carried out in mice, rats and rabbits were selected, as well as articles on human exposure in the prenatal period and the association between exposure and impacts on health of fetuses and newborns. For this, the ISI Web of Knowledge, PubMed, Google Scholar, and Scopus databases were accessed, and the following terms were searched: “Aflatoxin”, “prenatal exposure”, “human”, and “teratogenicity”.

2. Aflatoxin B1 Biotransformation and Mechanism of Action

After ingestion, AFB1 is rapidly absorbed from the intestine and reaches the liver to be metabolized by mixed-function oxidases. AFB1 goes through a complex process of biotransformation; in the first stage, it may go through different metabolization pathways, yielding several metabolites, followed by the conjugation process for excretion (Figure 1). AFB1 may also go through a reversible reduction process in the cytoplasmic reductase system of hepatocytes, yielding to aflatoxicol (AFL), which can be transformed again into AFB1, becoming a source of its own storage. Metabolization of AFB1 culminates with the formation of several metabolites, e.g., aflatoxin P1 (AFP1) and aflatoxin Q1 (AFQ1) [7].

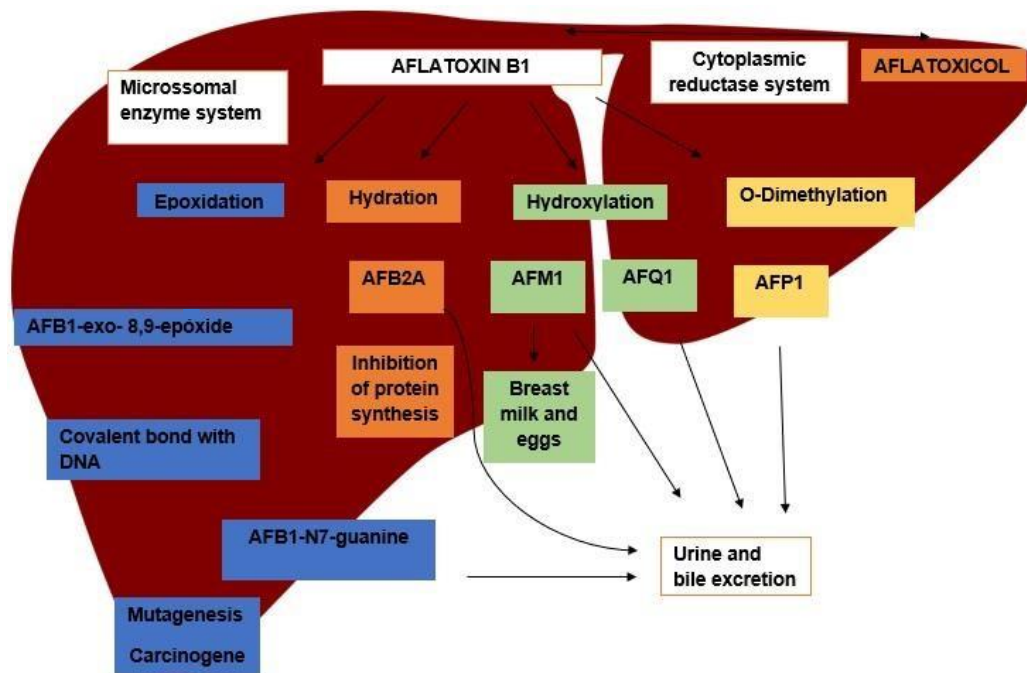


Figure 1. Main metabolization pathways of aflatoxin B1 in the liver, its metabolites, and excretion pathways.

Among the metabolization pathways of AFB1, the epoxidation process stands out. In this process, AFB1 is converted into AFB1-8.9-epoxide

(AFBO), which is able to bind to macromolecules, such as those of DNA, RNA, and proteins, forming adducts responsible for the toxic potential of the aflatoxins [8]. The binding of AFBO to guanine in the DNA molecules results in the formation of AFB1-N7-Guanine (AFGuan), which is excreted in urine. The production of AFGuan leads to a guanine to thymine substitution in the third base of codon 249 of the host DNA, which is the main basis of the carcinogenic effect of AFB1, as this mutation is responsible for the loss of function of the p53 gene, a trigger for hepatocellular carcinoma (HCC) [9].

Another important route of AFB1 metabolism is hydration, forming AFM1. AFM1 can also go through an epoxidation process and become AFM1-epoxide, which has the same ability to bind to macromolecules as AFBO [10]. AFB1 and AFM1 are classified by the IARC (International Agency for Research on Cancer), respectively, as group I carcinogen and group 2B carcinogen, respectively [11,12]. In addition, AFM1 can be found in human and animal milk, becoming a unique health issue, as animal exposure to AFB1 makes humans vulnerable [13–15]. Finally, hydration also yields AFB2A, an important inhibitor of protein synthesis that is related to the effects of acute intoxication after high AFB1 intake [8,16].

3. Effects of Prenatal Exposure to Aflatoxin b1 in Animals

Several harmful effects are associated with exposure to AFB1 during the prenatal period, such as low birth weight, small litters, fetal death and resorption, bone and visceral deformities, reproductive changes, impact on immune capacity, and behavioral changes, in addition to a predisposition to neoplasm development [17].

3.1. Bone Malformations

Bone defects related to intrauterine exposure to AFB1 are the most common problems reported in the literature. In experiments, they are evidenced in several species of animals. Bone defects are most commonly related to ossification failures, changes in bone size and shape, and the absence or alteration of some bone accidents (Table 1).

Table 1. Studies showing the effects of exposure to aflatoxin B1 (AFB1) on bone development.

| Species | AFB1 Dose/PD/FE | Effects on Bone Development | Reference |
|---------|--|---|-----------|
| Mice | 20 mg/Kg PD: 7th or 13th FE: Intraperitoneal | Hypoplasia of the axial skeleton and metacarpal/metatarsal phalanges, cervical and coccygeal vertebrae. Failure in the ossification of the supraoccipital bone, pelvic and thoracic limbs. | [18] |
| Rabbits | 0.05 mg/kg/day PD: 6th–18th FE: Gavage | Sternal and rib malformations. Failure in ossification of the skull, spine, vertebrae and ribs, carpus, tarsus, metatarsus, metacarpus, and phalanges. Decreased bone size in pelvic limb. | [19] |
| Rats | 1 mg/kg PD: 6th–15th FE: Gavage | Failure in ossification of skull, thoracic and pelvic limbs, and spine. Change in shape and size of vertebrae. Absence of or decreased intervertebral disc size, incomplete formation of the pulposal nucleus, alteration and absence of bone accidents in limbs. | [20] |

PD = Pregnancy Day. FE = Form of exposure.

When the effects on bone development are compared, the three studies in Table 1 demonstrated similar effects. However, it is worth noting the difference in the doses used by Abdulrazzaq et al. [18] (20 mg/kg), which is high compared to the other studies, but used as a single dose, either on the 7th or on the 13th day. El Nahla et al. [19] administered the lowest dose (0.05 mg/kg/day) to rabbits, by gavage, between the 6th and the 18th day of gestation. Fetaih et al. [20] administered 1 mg/kg/day to rats. The similarity of effects on bone formation found in the study by Abdulrazzaq et al. [18] and the other studies may be due to the high dose used, which would explain the similarity, even when exposure was not constant. However, when routes of administration are compared, peritoneal administration [20] is less representative of real contamination by AFB1, which mostly occurs by oral route. The study by Abdulrazzaq et al. [18] also showed that a single dose in the pre-implantation period impacted uterine growth and may have played a role in the failure of fetal development. This is an issue to be clarified in future studies. Another important point that should be considered in further studies is the variation in the susceptibility to AFB1 between species. For example, among the animals evaluated in these studies, rabbits were more sensitive with LD50 of 0.3 mg/kg, while mice and female rats were more resistant, with LD50 of 9.0 and 17.9 mg/kg, respectively [21].

The mechanisms involved in the failure of fetal development are not well elucidated. It is suggested that AFB1 may affect the transcription of genes associated with bone development, impacting processes such as intramembrane mineralization and endochondral ossification [19,20]. The results found in these studies are in agreement with the effects reported in previous ones, confirming the impact of prenatal AFB1 exposure in bone development [22–24]. Regarding the moment of exposure, animals exposed during embryonic development seem to be at increased risk of minor malformations, such as those affecting bone accidents [18].

3.2. Visceral Changes

Several visceral changes have been reported, among them, the decrease in size and weight of the liver and kidneys [18,19]. Regarding histopathological findings, the liver shows more significant changes, with the presence of fatty degeneration, congestion, and necrosis. Although these changes may also be found in the kidneys, they are less intense (Table 2). Other histological alterations are evidenced in the organs of the reproductive tract (discussed below).

Table 2. Studies showing the effects of exposure to aflatoxin B1 (AFB1) on organs.

| Species | AFB1 Dose/PD/FE | Effects on Organs | Reference |
|---------|--|--|-----------|
| Rabbits | 0.05 mg/kg/day PD: 6th–18th FE: Gavage | Reduction in weight and absolute size of the viscera. Decreased size of the heart and ventricular lumen. Liver and kidneys containing vacuoles and congestion. Atrophy, glomerular degeneration, and disorganization of hepatocytes. | [19] |

| | | | |
|------|--|--|------|
| Rats | 1 mg/kg PD: 6th–15th FE: Gavage | Hepatocyte degeneration and alteration of liver architecture. Congestion of the centrilobular vein and sinusoid capillaries. Kidneys presented tubular degeneration. Thymus presenting lymphoid depletion and reduction in epithelial differentiation. | [25] |
| | 10 µg/kg PD: 12th–19th FE: Intramuscular | Moderate degeneration of the testicles. | |
| Rats | 20 µg/kg | Severe atrophy and reduction of germ cells of seminiferous tubules; reduced liver weight. | [26] |
| | 50 µg/kg | Severe degeneration, cell depletion, and epithelial rupture. | |

PD = Pregnancy Day. FE = Form of exposure.

Table 2 shows the hepatotoxic potential of AFB1 in the prenatal period, a finding reported in all the studies cited. The most common changes involved degenerative and congestive lesions. Supriya and Reddy [26] found decreased fetal liver weight when 20 µg/kg of AFB1 was injected intramuscularly in rats from the 12th to the 19th day of gestation, showing the effect of this toxin on the liver of the fetus, even in low doses. However, it should be noted that the intramuscular route was used, which does not represent the natural route of exposure to this toxin and disregards aspects involved with the digestive process, which should be investigated in future studies.

El-Nahla et al. [19] are the only authors citing cardiac changes in fetuses, with decreased heart size and ventricular lumen. Changes were evidenced in rabbit fetuses even when exposed to low doses (0.05 mg/kg), as this species is intensely susceptible to the harmful effects of AFB1 [21]. The studies by El-Nahla et al. [19] and Fetaih et al. [20] found similar effects on kidneys, mostly degenerative changes. Finding these changes, even in different species (rabbits and rats), led to the hypothesis that the kidney may be the second most impacted viscera in prenatal exposure to AFB1. Thymus alterations found by Fetaih et al. [20] also support another hypothesis: exposure to AFB1 may have an immunotoxic effect in the prenatal period, just like in adults, favoring the onset of infectious diseases and/or facilitating the development of neoplastic processes [27].

Supriya and Reddy [26] also demonstrated that a dose of 10 µg/kg of AFB1 in rats leads to changes in the testicular morphology of the fetus, which worsens with increasing doses. This finding indicates that this mycotoxin has a potent effect on the reproductive function of animals exposed in the prenatal period. Future investigations should be carried out on alterations in testicles and ovaries using exposure by gavage to evaluate deleterious effects caused by exposure to AFB1, especially in production animals.

Mechanisms of injury and visceral changes occur by increased oxidative stress, leading to structural injury caused by lipid peroxidation, lesions to other macromolecules, and reduced protein synthesis. The liver is always more affected because it is the main site of action of AFB1. The evident renal alterations are possibly due to the function of the kidneys as blood filters, predisposing this organ to toxic injury. In addition, together with bile, kidneys are the main sources of excretion of AFB1 and its metabolites. Therefore, its tubules are also susceptible to toxic injury [7,17,20,28].

3.3. Reproductive Changes

Exposure to AFB1 can result in several reproductive alterations, especially in males, with impacts on reproductive behavior, sperm production, and testicular and epididymal morphology. However, the most significant finding involves serum hormone levels, marked by a decrease in testosterone [29–31]. When exposure occurs in the prenatal period, the effects seem to be even more remarkable. Supriya et al. [30] found a significant decrease in testosterone levels in male rats exposed to 10, 20, and 50 µg/kg of AFB1 during embryonic development. The same study showed increased levels of luteinizing hormone (LH) and follicle stimulant hormone (FSH). Other reproductive alterations were also found, such as decreased sperm volume and viability, as well as morphological alterations in testicles and the tail of the epididymis.

The mechanisms through which reproductive damage occurs are still being elucidated.

AFB1 may act as a potential endocrine disruptor, interfering with the hypothalamus–hypophysis–testicular axis, leading to hormonal dysfunction. The consequences of hormonal disruption may be more severe when exposure occurs in the embryonic phase [26,32]. Another possibility would be the ability of AFB1 to bind to the acute steroidogenic regulatory protein (STAR), thus affecting the transfer of cholesterol to the mitochondria, which has a negative impact on steroidogenesis [30]. Direct cellular damage caused by oxidative stress should also be considered, as already evidenced by Althnaian et al. [33], who found substantial increases in oxidative stress markers and decreases in antioxidant enzymes in the testicles of rats exposed to a single intraperitoneal application of 3 mg/kg of AFB1 [33]. AFB1 also affects the reproductive capacity of females, although in lower intensity, causing follicular atresia [32]. However, no studies were found to evidence this effect when exposure occurs before birth.

3.4. Genotoxicity and Mutagenicity

AFB1 presents high genotoxicity, which is probably its most overwhelming effect, notably leading to several chromosomal aberrations in animals exposed to it [34]. Both DNA damage and mutations can result from the injury caused by AFB1 metabolites (AFBO), and by the oxidative stress that results from the metabolization of this mycotoxin. In the fetuses of rats exposed to 1 mg/kg of AFB1 between the 6th and the 15th day of

gestation, several chromosomal aberrations in bone marrow cells were evidenced, mainly gap and breakage lesions, indicators of the genotoxic potential of this mycotoxin in the prenatal period [20].

The mechanisms by which AFB1 causes DNA damage in fetal life seem to be similar to those affecting adult animals, by the metabolization of AFB1 into AFBO in the liver of the fetus and the identification of AFGuan adducts in fetuses [35]. The apurinic site left by AFGuan (after it is released and excreted) is filled by a thymine base, which characterizes the main mutation caused by AFB1, the G:C → T:A transversion in the P53 gene. This change may initiate the carcinogenesis process. These transversions are also evidenced in

the fetuses of rats exposed to 6 mg/kg of AFB1 by peritoneal application in a single dose on the 14th day of gestation [17,36].

Another metabolite found in rat fetuses exposed to AFB1 is AFB1-Fapy. This metabolite is the result of a chemical transformation in the aflatoxin molecule, resulting in the opening of the furan ring, and creating a more stable molecule that remains linked longer to DNA. AFB1-Fapy is considered to be more carcinogenic because it prevents repair enzymes from being activated, as it produces less evident structural damage to the DNA helix [7,35,36]. Chawanthayatham et al. [36] also showed that fetuses present about 1% of adducts found in mothers. However, when the mutations are identified, the difference is 4.6%. These numbers indicate that the ability of AFB1 to cause mutation is 20 times greater during prenatal exposure than in adults.

These phenomena are explained by the fact that the fetal liver has the capacity to metabolize AFB1 into AFBO, but has a decreased ability to excrete AFB1 metabolites due to the low number of conjugate enzymes of Phase II of metabolism (e.g., glutathione transferase). Moreover, during fetal life, liver cells are in constant multiplication, which may lead to the expansion of mutations [35,36]. Another important mechanism of genotoxicity is the oxidative stress caused by the metabolism of AFB1, leading to the formation of several adducts that act remotely, causing neoplasms at a distance [7]. Animals exposed to AFB1 have a decrease in the amount of antioxidant enzymes and an increase in markers of oxidative stress [17,20]. Thus, treatment with antioxidant agents may provide protection against oxidative stress and, consequently, reduce the carcinogenic potential of these substances [37,38]. Finally, the importance of epigenetic lesions, mainly DNA methylation and modifications in histones, cannot be discarded in genotoxicity and mutagenicity processes [39].

3.5. Other Changes

Other important changes are low birth weight, both in rats and rabbits, besides the decrease in the number of offspring per litter [18–20,25,26]. In rabbits, 0.05 mg/kg/day AFB1 from the 6th to the 18th day leads to increased size of the orbits, microphthalmia, wrinkled skin, and eyelids with fewer hair follicles [19].

Behavioral changes in terms of locomotion and reflex were reported in rats treated with 20 and 50 µg AFB1/kg, from the 12th to the 19th day of gestation [26]. Rats treated with 1 mg/kg from the 6th to the 15th day of gestation presented adactyly and exophthalmia [25].

3.6. Other Animals

As demonstrated in the studies on mammals, birds seem to be susceptible to the effects of aflatoxin during embryonic development, resulting in malformations, mainly in the early stages of development, as

demonstrated by Veselý et al. in chicken embryos [40]. Other studies also demonstrate that these animals can be impacted by immune deficiency, defects in the development of the bursa of fabricius, and even death before hatching, which can represent great economic loss [41]. The deleterious effects of AFB1 are not restricted to birds and mammals, and it is possible to observe neurological changes in zebrafish when exposed to this mycotoxin at a dose of 15–75 ng/mL 6 h after fertilization, with marked behavioral change [42]. Additionally, in zebrafish embryos there are failures in the embryonic development of the liver due to marked apoptosis, in addition to immunological deficiencies [43]. In general, aflatoxin similarly impacts morpho development during the prenatal period, in addition to impacting mainly the liver of several animal species. Another issue to be considered is the susceptibility of the species to the effects of mycotoxins, with birds being more sensitive, while fish show a wide variation in sensitivity [21].

Moreover, when it comes to hepatic metabolism, the physiological variation between species is an important challenge to be overcome. The findings in experiments with different species provide indications that AFB1 has the potential to have its effects increased, especially in embryos and fetuses, but more studies are needed to elucidate the safe dose for consumption in this critical period [36]. Therefore, standardizing the form of exposure and gestation period in the experiments would be a way to clarify still uncertain points about prenatal exposure to AFB1, thus enabling us to reach more knowledge about the real impacts of this substance in the human prenatal period. This is only possible with an exposure assessment, by measuring biomarkers in vulnerable populations and monitoring the health of newborns and children in places with high exposure to AFB1.

4. Prenatal Exposure in Humans

Most unfavorable birth outcomes, such as premature births, miscarriages, low birth weight, and even stillbirths, occur in developing countries [44]. The consumption of foods contaminated with AFB1 is also high in these regions, as exposure to mycotoxin biomarkers during pregnancy was observed in most prenatal exposure studies (Table 3). High levels of toxins are sometimes detected, but have not always been associated with deleterious effects on infant health. On the other hand, there are still no data directly linking the presence of this toxin with intrauterine or neonatal deaths in humans. Table 3 demonstrates the exposure to AFB1 during pregnancy by means of biomarkers.

In addition to the mechanisms of toxicity already cited in this review, studies indicate that anemia may be associated with exposure to AFs in humans [45]. Anemia can trigger several mechanisms that involve the activation of pro-inflammatory cytokines, and decreased amount of

insulin-like growth hormones, which, in turn, leads to deleterious effects and prevents placental and fetal growth, and even fetal death [46].

Table 3. Biomarkers of aflatoxin B1 (AFB1) exposure found in pregnant women.

| Period of Gestation | Biomarker | Country | Main Effects in Babies | Reference |
|---------------------|------------------------------------|----------|---|-----------|
| 1st Trimester | AFB1-Lisin (Serum) | Uganda | Low birth weight and smaller head circumference | [47] |
| 1st–3rd Trimester | AF-Albumin (Serum) | Gambia | No data | [48] |
| 3rd Trimester | AF-albumin (Serum) AFM1 (Urine) | Egypt | No data | [49] |
| 2nd Trimester | AFM1 (Urine) | Zimbabwe | No data | [50] |
| No data | AFM1 (Urine) | China | No data | [51] |
| 1st–2nd Trimester | AF-Albumin (Serum) | Gambia | DNA methylation in white cells | [52] |
| No data | AFB1-Lisin (Serum) | Ghana | Low birth weight | [53] |
| 1st–2nd Trimester | AFB1-Lisin (Serum) | Tanzania | Small reduction in gestational age at delivery | [54] |
| 1st–2nd Trimester | AFB1-Lisin (Serum) | Nepal | Babies small for gestational age | [55] |

Populations living in developing countries, especially in Asia and Africa, are at higher risk of exposure to these substances, especially the most vulnerable populations and residents of rural areas that are impacted by drought and food insecurity. The lack of food may increase the consumption of grains that may often be improperly stored and may promote the intake of large quantities of mycotoxins [56–59].

In spite of the association between AFB1 biomarkers and negative effects on infants, aflatoxin should not be the only factor to be considered, as these populations are predisposed to the consumption of other mycotoxins, such as fumonisins. The association of this and other mycotoxins is a factor to be analyzed in future studies [60]. In addition, other factors such as maternal malnutrition and lack of prenatal care can have an impact on infant health. However, Lauer et al. [47] and Castelino et al. [48] evidenced an increase in the number of biomarkers in the maternal serum of women in Uganda and Gambia, respectively. This increase can be explained by the higher maternal metabolism during pregnancy, reflected in the greater production of enzymes of the cytochrome P450 family, which are essential in the metabolism of AFB1, and increase its toxicity. These factors, together with the changes evidenced in experimental studies, raise the hypothesis of an increased toxic potential of AFB1 in the prenatal period [18–20,25,26,61].

The Codex establishes up to 15 µg/kg of total aflatoxin food depending on the type of food, and in relation to AFB1, this limit is 5µg/kg of food [62]. The experiments in general use higher doses, but Suprya and Reddy, using a significantly lower dose compared to the others (10 µg/kg animal), showed lesions in the reproductive system of rats, which can serve as a warning sign in relation to safe doses of these substances during the

prenatal period [30]. Furthermore, in general, the limits of aflatoxins in animal feed products are higher. In Brazil currently, the maximum limit of total aflatoxins for feed ingredients intended for animals is 50 µg/kg [63]. Therefore, studies aimed at standardizing doses and correlating them with effects in the prenatal period are important from the point of view of public health and may serve as a basis for changes in current legislation. To elucidate the real impacts of the exposure to AFB1 on infant health, especially in the most susceptible populations, more studies must be conducted to determine safe intake during pregnancy and to suggest bases for legislation and awareness campaigns that can ensure acceptable consumption levels of mycotoxins.

5. Conclusions

Based on the data collected in this review, it can be concluded that AFB1 causes major impacts during embryonic and fetal development, which are the periods when animals are most susceptible to the effects of this mycotoxin. Among the effects reported are bone and visceral malformations, lesions in kidneys and liver, impacts in reproductive capacity, as well as genotoxicity and mutagenicity. Although most studies conducted are experimental, they serve as a window to glimpse at the actual effects of these substances. More data are needed to validate the effects on different species, considering the variability in resistance to the toxic effects, as well as the effect of the association between two or more mycotoxins, to better understand the impacts in animal production and on the health of pets. There are few studies on the influence of mycotoxins on the gestational period in humans, especially in developed countries. This phenomenon may be related to the fact that most developed countries have a subtropical climate and achieve better control over food contamination by mycotoxins, as well as having a very low birth rate, hindering access to broader population studies during the gestational phase. With few studies on humans, due to the high rates of stillbirths, miscarriages, and other complications during pregnancy, as well as the increasing number of cancer cases, even among children, more robust investigations are necessary to understand the real role of aflatoxins in these mechanisms. Finally, the study of these substances permeates food safety, animal health, and human health, and is a crucial example of the already consecrated concept of one health, which is shown to be more important every day.

Author Contributions: Conceptualization, J.V.B.d.S. and C.A.F.d.O.; validation, C.A.F.d.O., L.N.Z.R., and J.V.B.d.S.; formal analysis, J.V.B.d.S.; investigation, J.V.B.d.S.; resources, C.A.F.d.O. and L.N.Z.R.; data curation, J.V.B.d.S.; writing—original draft preparation, J.V.B.d.S.; writing—review and editing, C.A.F.d.O.; visualization, L.N.Z.R.; supervision, C.A.F.d.O. and L.R.; project administration, C.A.F.d.O. and L.N.Z.R.; funding acquisition, C.A.F.d.O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Grant # 2019/21603-1) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES, Processo: 88887.518679/2020-00).

Institutional Review Board Statement: The ethical guidelines from the Helsinki Declaration (1975) were followed in the study, and it also was approved by the Ethics Committee of the School of Medicine of the University of São Paulo at Ribeirão Preto (protocol no. 1611/2011).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare that there is no conflict of interest relevant to this review.

References

1. Eskola, M.; Kos, G.; Elliott, C.T.; Hajšlová, J.; Mayar, S.; Krska, R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2020**, *60*, 2773–2789. [[CrossRef](#)]
2. Bennett, J.W.; Klich, M. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 497–516. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Batatinha, M.J.; Simas, M.M.S.; Górnica, S.L. Micotoxicoses. In *Toxicologia Aplicada à Medicina Veterinária*; Spinosa, H.S., Górnica, S.L., Palermo-Neto, J., Eds.; Editora Manole: São Paulo, Brasil, 2008; pp. 479–531.
4. Bando, E.; Gonçalves, L.; Tamura, N.; Junior, M. Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* **2007**, *43*, 175–180. [[CrossRef](#)]
5. Partanen, H.A.; El-Nezami, H.S.; Leppänen, J.M.; Myllynen, P.K.; Woodhouse, H.J.; Vähäkangas, K.H. Aflatoxin B1 transfer and metabolism in human placenta. *Toxicol. Sci.* **2009**, *113*, 216–225. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Khlangwiset, P.; Shephard, G.S.; Wu, F. Aflatoxins and growth impairment: A review. *Crit. Rev. Toxicol.* **2011**, *41*, 740–755. [[CrossRef](#)]
7. Dhakal, A.; Sbar, E. Aflatoxin toxicity. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2020.
8. Mitchell, N.J.; Kumi, J.; Johnson, N.M.; Dotse, E.; Marroquin-Cardona, A.; Wang, J.S.; Jolly, P.E.; Ankrah, N.A.; Phillips, T.D. Reduction in the urinary aflatoxin M1 biomarker as an early indicator of the efficacy of dietary interventions to reduce exposure to Aflatoxins. *Biomarkers* **2013**, *18*, 391–398. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Wild, C.; Turner, P. The toxicology of Aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis* **2002**, *17*, 471–481. [[CrossRef](#)]
10. Bujons, J.; Hsieh, D.P.; Kado, N.Y.; Messeguer, A. Aflatoxin M1 8,9-epoxide: Preparation and mutagenic activity. *Chem. Res. Toxicol.* **1995**, *8*, 328–332. [[CrossRef](#)]
11. IARC. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 56, Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*; IARC: Lyon, France, 1993; pp. 1–599. Available online: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Some-Naturally-Occurring-Substances-Food-Items-And-Constituents-Heterocyclic-Aromatic-Amines-AndMycotoxins-1993> (accessed on 1 November 2021).
12. IARC. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 82, Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene*; IARC: Lyon, France, 2002; pp. 172–299. Available online: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Some-TraditionalHerbal-Medicines-Some-Mycotoxins-Naphthalene-And-Styrene-2002> (accessed on 1 November 2021).
13. Battacone, G.; Nudda, A.; Palomba, M.; Pascale, M.; Nicolussi, P.; Pulina, G. Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *J. Dairy. Sci.* **2005**, *88*, 3063–3069. [[CrossRef](#)]
14. Oliveira, C.A.F.; Sebastião, L.S.; Luciana, S.S.; Fagundes, H.; Rosim, R.E.; Fernandes, A.M. Determinação de aflatoxina B1 em rações e aflatoxina M1 no leite de propriedades do Estado de São Paulo. *Food Sci. Technol.* **2010**, *30*, 221–225. [[CrossRef](#)]
15. Marchese, S.; Polo, A.; Ariano, A.; Velotto, S.; Costantini, S.; Severino, L. Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Toxins* **2018**, *10*, 214. [[CrossRef](#)]
16. Giovali, L.; Magliani, W.; Ciociola, T.; Santinoli, C.; Conti, S.; Polonelli, L. AFM1 in milk: Physical, biological, and prophylactic methods to mitigate contamination. *Toxins* **2015**, *7*, 4330–4349. [[CrossRef](#)]
17. Benkerroum, N. Chronic and acute toxicities of Aflatoxins: Mechanisms of action. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 423. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Abdulrazzaq, Y.; Padmanabhan, R.; Salim, M.; Kochyil, J.; Shafiullah, M. Teratogenic effects of aflatoxin B1 in mice exposed in early and late gestation. *Pediatr. Res.* **2011**, *70*, 405. [[CrossRef](#)]
19. El-Nahla, S.M.; Imam, H.M.; Moussa, E.; Ibrahim, A.; Ghanam, A. Teratogenic effects of aflatoxin in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Vet. Anat.* **2013**, *6*, 67–85. [[CrossRef](#)]
20. Fetaih, H.A.; Dessouki, A.A.; Hassanin, A.A.; Tahan, A.S. Toxopathological and cytogenetic effects of aflatoxin B1 (AFB1) on pregnant rats. *Pathol. Res. Pract.* **2014**, *210*, 1079–1089. [[CrossRef](#)]
21. Chu, F.S. Mycotoxins toxicology. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2nd ed.; Caballero, B., Ed.; Academic Press: Oxford, UK, 2003; pp. 4096–4108.
22. Hayes, A.W. Aflatoxins. In *Mycotoxin Teratogenicity and Mutagenicity*; Hayes, A.E., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1981; pp. 44–47.
23. Wangikar, P.; Dwivedi, P.; Sharma, A.; Sinha, N. Effect in rats of simultaneous prenatal exposure to ochratoxin A and aflatoxin B1. II. Histopathological features of teratological anomalies induced in fetuses. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* **2004**, *71*, 352–358. [[CrossRef](#)]

24. Wangikar, P.B.; Dwivedi, P.; Sinha, N.; Sharma, A.K.; Telang, A.G. Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B1 with special reference to microscopic effects. *Toxicology* **2005**, *215*, 37–47. [[CrossRef](#)]
25. Fetaih, H.; Dessouki, A.; Tahan, A. Toxopathological effect of AFB1 on pregnant rats. *Global Anim. Sci. J.* **2015**, *2*, 145–153. [[CrossRef](#)]
26. Supriya, C.; Reddy, P.S. Prenatal exposure to aflatoxin B1: Developmental, behavioral, and reproductive alterations in male rats. *Naturwissenschaften* **2015**, *102*, 26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Meissonnier, G.M.; Pinton, P.; Laffitte, J.; Cossalter, A.M.; Gong, Y.Y.; Wild, C.P.; Bertin, G.; Galtier, P.; Oswald, I.P. Immunotoxicity of aflatoxin B1: Impairment of the cell-mediated response to vaccine antigen and modulation of cytokine expression. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2008**, *231*, 142–149. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Bastaki, S.A.; Osman, N.; Kochiyil, J.; Shafiullah, M.; Padmanabhan, R.; Abdulrazzaq, Y.M. Toxicokinetics of aflatoxin in pregnant mice. *Int. J. Toxicol.* **2010**, *29*, 425–431. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Hasanzadeh, S.; Hosseini, E.; Rezazadeh, L. Effects of aflatoxin B1 on profiles of gonadotropic (FSH and LH), steroid (testosterone and 17 β -estradiol) and prolactin hormones in adult male rat. *Iran J. Vet. Res.* **2011**, *12*, 332–336. [[CrossRef](#)]
30. Supriya, C.; Girish, B.P.; Reddy, P.S. Aflatoxin B1-induced reproductive toxicity in male rats: Possible mechanism of action. *Int. J. Toxicol.* **2014**, *33*, 155–161. [[CrossRef](#)]
31. Fauzi, A.; Ahmed, S.; Abead, S. Toxicity effect of aflatoxin B1 on reproductive system of albino male rats. *Pak. J. Biol. Sci.* **2015**, *18*, 107–114. [[CrossRef](#)]
32. Hasanzadeh, S.; Amani, S. Aflatoxin B1 effects on ovarian follicular growth and atresia in the rat. *Comp. Clin. Pathol.* **2012**, *22*, 563–572. [[CrossRef](#)]
33. Althnaian, T.; Albokhadai, I.; El-Bahr, S. Effect of aflatoxin B1 on histopathology and oxidative stress biomarkers in testis of rats with special references to gene expression of antioxidant enzymes. *Int. J. Pharmacol.* **2016**, *12*, 408–414. [[CrossRef](#)]
34. Abdel-Aziem, S.; Saleh, Z.; Farrag, A. Impact of whey protein on the genotoxic effects of aflatoxins in rats. *Int. J. Dairy Sci.* **2007**, *2*, 126–137. [[CrossRef](#)]
35. Woo, L.L.; Egner, P.A.; Belanger, C.L.; Wattanawaraporn, R.; Trudel, L.J.; Croy, R.G.; Groopman, J.D.; Essigmann, J.M.; Wogan, G.N.; Bouhenguel, J.T. Aflatoxin B1-DNA adduct formation and mutagenicity in livers of neonatal male and female B6C3F1 mice. *Toxicol. Sci.* **2011**, *122*, 38–44. [[CrossRef](#)]
36. Chawanthayatham, S.; Thiantanawat, A.; Egner, P.A.; Groopman, J.D.; Wogan, G.N.; Croy, R.G.; Essigmann, J.M. Prenatal exposure of mice to the human liver carcinogen aflatoxin B1 reveals a critical window of susceptibility to genetic change. *Int. J. Cancer* **2014**, *136*, 1254–1262. [[CrossRef](#)]
37. El-Bahr, S.M. Effect of Curcumin on hepatic antioxidant enzymes activities and gene expressions in rats intoxicated with aflatoxin B1. *Phytother. Res.* **2015**, *29*, 134–140. [[CrossRef](#)]
38. Saad-Hussein, A.; Moubarz, G.; Mohgah, S.A.; Wafaa, G.S.; Aya, H.M. Role of antioxidant supplementation in oxidant/antioxidant status and hepatotoxic effects due to aflatoxin B1 in wheat miller workers. *J. Complement. Integr. Med.* **2019**, *16*. [[CrossRef](#)]
39. Dai, Y.; Huang, K.; Zhang, B.; Zhu, L.; Xu, W. Aflatoxin B1-induced epigenetic alterations: An overview. *Food Chem. Toxicol.* **2017**, *109 Pt 1*, 683–689. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Veselý, D.; Veselá, D.; Jelínek, R. Comparative assessment of the aflatoxin B1, B2, G1, G2 and M1 embryotoxicity in the chick embryo. *Toxicol. Lett.* **1983**, *15*, 297–300. [[CrossRef](#)]
41. Sur, E.; Celik, I. Effects of aflatoxin B1 on the development of the bursa of Fabricius and blood lymphocyte acid phosphatase of the chicken. *Br. Poult. Sci.* **2003**, *44*, 558–566. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Wu, T.S.; Cheng, Y.C.; Chen, P.J.; Huang, Y.T.; Yu, F.Y.; Liu, B.H. Exposure to aflatoxin B1 interferes with locomotion and neural development in zebrafish embryos and larvae. *Chemosphere* **2019**, *217*, 905–913. [[CrossRef](#)]
43. Cheng, Y.C.; Wu, T.S.; Huang, Y.T.; Chang, Y.; Yang, J.J.; Yu, F.Y.; Liu, B.H. Aflatoxin B1 interferes with embryonic liver development: Involvement of p53 signaling and apoptosis in zebrafish. *Toxicology* **2021**, *458*, 152844. [[CrossRef](#)]
44. Lawn, J.E.; Blencowe, H.; Waiswa, P.; Amouzou, A.; Mathers, C.; Hogan, D.; Flenady, V.; Frøen, J.F.; Qureshi, Z.U.; Calderwood, C.; et al. Stillbirths: Rates, risk factors, and acceleration towards 2030. *Lancet* **2016**, *387*, 587–603. [[CrossRef](#)]
45. Shuaib, F.M.; Jolly, P.E.; Ehiri, J.E.; Jiang, Y.; Ellis, W.O.; Stiles, J.K.; Yatich, N.J.; Funkhouser, E.; Person, S.D.; Wilson, C.; et al. Association between anemia and aflatoxin B1 biomarker levels among pregnant women in Kumasi, Ghana. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2010**, *83*, 1077–1083. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Smith, L.E.; Prendergast, A.J.; Turner, P.C.; Humphrey, J.H.; Stoltzfus, R.J. Aflatoxin exposure during pregnancy, maternal anemia, and adverse birth outcomes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2017**, *96*, 770–776. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

47. Lauer, J.M.; Duggan, C.P.; Ausman, L.M.; Griffiths, J.K.; Webb, P.; Wang, J.S.; Xue, K.S.; Agaba, E.; Nshakira, N.; Ghosh, S. Maternal Aflatoxin exposure during pregnancy and adverse birth outcomes in Uganda. *Matern. Child. Nutr.* **2019**, *15*, e12701. [[CrossRef](#)]
48. Castelino, J.M.; Dominguez-Salas, P.; Routledge, M.N.; Prentice, A.M.; Moore, S.E.; Hennig, B.J.; Wild, C.P.; Gong, Y.Y. Seasonal and gestation stage associated differences in aflatoxin exposure in pregnant Gambian women. *Trop. Med. Int. Health* **2014**, *19*, 348–354. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Piekkola, S.; Turner, P.C.; Abdel-Hamid, M.; Ezzat, S.; El-Daly, M.; El-Kafrawy, S.; Savchenko, E.; Poussa, T.; Woo, J.C.; Mykkänen, H.; et al. Characterisation of Aflatoxin and D=deoxynivalenol exposure among pregnant Egyptian women. *Food Addit. Contam.* **2012**, *29*, 962–971. [[CrossRef](#)]
50. Smith, L.E.; Mbuya, M.; Prendergast, A.J.; Turner, P.C.; Ruboko, S.; Humphrey, J.H.; Nelson, R.J.; Chigumira, A.; Kembo, G.; Stoltzfus, R.J. Determinants of recent aflatoxin exposure among pregnant women in rural Zimbabwe. *Mol. Nutr. Food Res.* **2017**, *61*, 1601049. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Lei, Y.; Fang, L.; Akash, M.S.H.; Rehman, K.; Liu, Z.; Shi, W.; Chen, S. Estimation of urinary concentration of aflatoxin M1 in Chinese pregnant women. *J. Food. Sci.* **2013**, *78*, 1835–1838. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Hernandez-Vargas, H.; Castelino, J.; Silver, M.J.; Dominguez-Salas, P.; Cros, M.P.; Durand, G.; Calvez-Kelm, F.L.; Prentice, A.M.; Wild, C.P.; Moore, S.E.; et al. Exposure to aflatoxin B1 in utero is associated with DNA methylation in white blood cells of infants in The Gambia. *Int. J. Epidemiol.* **2015**, *44*, 1238–1248. [[CrossRef](#)]
53. Shuaib, F.M.; Jolly, P.E.; Ehiri, J.E.; Yatich, N.; Jiang, Y.; Funkhouser, E.; Person, S.D.; Wilson, C.; Ellis, W.O.; Wang, J.S.; et al. Association between birth outcomes and aflatoxin B1 biomarker blood levels in pregnant women in Kumasi, Ghana. *Trop. Med. Int. Health* **2010**, *15*, 160–167. [[CrossRef](#)]
54. Passarelli, S.; Bromage, S.; Darling, A.M.; Wang, J.S.; Aboud, S.; Mugusi, F.; Griffiths, J.K.; Fawzi, W. Aflatoxin exposure in utero and birth and growth outcomes in Tanzania. *Mater. Child. Nutr.* **2020**, *16*, e12917. [[CrossRef](#)]
55. Andrews-Trevino, J.Y.; Webb, P.; Shively, G.; Rogers, B.; Baral, K.; Davis, D.; Paudel, K.; Pokharel, A.; Shrestha, R.; Wang, J.S.; et al. Dietary determinants of aflatoxin B1-lysine adduct in pregnant women consuming a rice-dominated diet in Nepal. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2020**, *74*, 732–740. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Bryden, W.L. Mycotoxins in the food chain: Human health implications. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **2007**, *16*, 95–101. [[CrossRef](#)]
57. Wagacha, J.M.; Muthomi, J.W. Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. *Int. J. Food Microbiol.* **2008**, *124*, 1–12. [[CrossRef](#)]
58. Mohd-Redzwan, S.; Jamaluddin, R.; Abd-Mutalib, M.S.; Ahmad, Z. A mini review on aflatoxin exposure in Malaysia: Past, present and future. *Front. Microbiol.* **2013**, *4*, 334. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Zhang, W.; Liu, Y.; Liang, B.; Zhang, Y.; Zhong, X.; Luo, X.; Huang, J.; Wang, Y.; Cheng, W.; Chen, K. Probabilistic risk assessment of dietary exposure to aflatoxin B1 in Guangzhou, China. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 7973. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Chen, C.; Riley, R.T.; Wu, F. Dietary fumonisin and growth impairment in children and animals: A review. *Food Sci. Food Saf.* **2018**, *17*, 1448–1464. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Tracy, T.S.; Venkataramanan, R.; Glover, D.D.; Caritis, S.N. Temporal changes in drug metabolism (CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A Activity) during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2005**, *192*, 633–639. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); World Health Organization. Codex Alimentarius International Food Standards, General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed, Codex Stan CXS 193 1995 (CxS_193-2015). Available online: https://www.fao.org/input/download/standards/17/CXS_193e_2015.pdf (accessed on 1 November 2021).
63. MAPA. Portaria MA/SNAD/SFA no 07, de 09 de Novembro de 1988. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 de Nov. 1988. Seção 1, p. 21.968. 1988. Available online: <https://www.jusbrasil.com.br/diarios/DOU/1988/11/09> (accessed on 1 November 2021).