

Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas

Primeira submissão em 05/06/06
Última submissão em 22/02/07
Aceito para publicação em 07/03/07
Publicado em 20/06/07

Biomarkers for assessment of human exposure to mycotoxins

Érika Bando¹; Leandro Nishikawa Gonçalves²; Nathalie Kira Tamura²; Miguel Machinski Junior³

unitermos	resumo
Biomarcadores	Atualmente, as micotoxinas representam um risco de contaminação ambiental, acarretando sérios prejuízos à saúde humana. Essas toxinas podem estar presentes em diferentes tipos de alimentos, que constituem a principal fonte de exposição para o homem. As exposições podem ser monitoradas através do uso de biomarcadores, que elucidam a relação causa/efeito e dose/efeito na avaliação de risco à saúde para fins de diagnóstico clínico e laboratorial. Realizou-se uma revisão bibliográfica do período de 1981-2005, no MEDLINE, sobre utilização e propostas de biomarcadores para a exposição a aflatoxinas, fumonisinas, desoxinivalenol e ocratoxina A. Os possíveis biomarcadores para avaliar a exposição humana às aflatoxinas foram os metabólitos urinários de aflatoxina B ₁ , como aflatoxina M ₁ , aflatoxina P ₁ , aflatoxina Q ₁ , aflatoxina livre em soro ou plasma, os adutos de AFB-N ⁷ -guanina, os adutos de albumina ou mutação no gene supressor de tumor p53, presentes em fluidos biológicos. Para as fumonisinas, os biomarcadores foram os níveis de fumonina B ₁ e fumonina B ₂ livres, ou de esfinganine e esfingosina em sangue e urina. O desoxinivalenol tem como biomarcadores de exposição os produtos de seu metabolismo e adutos macromoleculares (proteína/DNA) presentes nos fluidos biológicos. Para a exposição à ocratoxina A (OA) os biomarcadores se restringem à quantificação da própria toxina nos fluidos biológicos. A avaliação da exposição às micotoxinas constitui um importante aspecto para a saúde pública, tendo em vista a possibilidade de prevenir ou minimizar a incidência de doenças decorrentes da sua interação com o organismo.
Sangue	
Urina	
Micotoxinas	
Alimentos	

abstract

Currently, mycotoxins represent a risk of environmental contamination, causing serious damages to human health. Those toxins can be found in different kinds of foods, and they constitute the main source of human exposure. The evaluation of such exposures can be monitored through the use of biomarkers, which elucidates the cause/effect and dose/effect relation in the evaluation of health risks for clinical and laboratory diagnostic purposes. The MEDLINE review about the use of biomarkers for assessment of aflatoxins, fumonisins, deoxynivalenol and ochratoxin A was carried out from 1981 to 2005. The biomarkers for assessment of human exposure to aflatoxins were the urinary metabolites of aflatoxin B₁: aflatoxin M₁, aflatoxin P₁, aflatoxin Q₁, the free aflatoxin in serum or plasma, the AFB-N⁷-guanine adducts and the albumin adducts or mutation in the tumour suppressor gene p53 present in human biological fluids. As far as fumonisins are concerned, levels of free fumonisin B₁ and fumonisin B₂, or levels of sphinganine and sphingosin, were quantified in blood and urine. As exposure biomarkers, deoxynivalenol has its own metabolism products and adducts (protein/DNA) present in human fluids. As to ochratoxin A exposure, we measure it in biological fluids, once it enables us to prevent or minimize the incidence of deaths or illnesses provoked by chemical exposure.

key words

Biomarkers
Blood
Urine
Mycotoxins
Foods

1. Farmacêutica-bioquímica do Laboratório de Toxicologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

2. Farmacêuticos-bioquímicos do Hospital Universitário Regional de Maringá da UEM.

3. Professor adjunto da disciplina de Toxicologia do Departamento de Análises Clínicas da UEM.

Trabalho apresentado no I Congresso Internacional de Saúde da UEM no período de 5 a 8 de outubro de 2005.

Introdução

A saúde ambiental tem como um de seus objetivos a prevenção dos danos à saúde causados por contaminantes presentes no meio ambiente, fazendo com que os níveis dessas exposições sejam mantidos em valores que não constituam risco inaceitável à saúde do homem. Para isso tornam-se necessárias a identificação e a quantificação desses riscos através da avaliação da exposição humana, que pode ser determinada através da medida de parâmetros biológicos denominados indicadores biológicos ou biomarcadores⁽¹⁾.

Os alimentos estão sujeitos à contaminação por substâncias altamente tóxicas, cuja ingestão é capaz de causar sérios transtornos no organismo do homem e dos animais. Entre as diversas substâncias capazes de provocar danos à saúde estão as micotoxinas, que são produzidas em condições favoráveis e representam relevante perigo ao ser humano^(3,4).

As micotoxinas são produzidas durante o metabolismo secundário de fungos filamentosos e podem estar presentes em alimentos, como amendoim, milho, trigo, cevada, café, leite, arroz, farinhas, nozes, castanhas, frutas secas, entre outros, podendo ameaçar a inocuidade dos mesmos. Mais de 200 substâncias já foram identificadas como micotoxinas, sendo as aflatoxinas, os tricotecenos, as fumonisinas, a zearalenona, a ocratoxina A, os alcalóides do *ergot* e a patulina as mais estudadas⁽²⁾.

As micotoxicoses são ocasionadas pela ingestão de alimentos ou rações contaminados com micotoxinas ou pela inalação destas em forma de partículas suspensas, principalmente em locais onde os alimentos contaminados são tratados ou manipulados. A severidade das micotoxicoses depende da toxicidade da micotoxina, da extensão da exposição, do estado nutricional do indivíduo e dos efeitos sinérgicos com outros agentes químicos ou biológicos^(2, 27).

Para confirmar que a doença constitui uma micotoxicose é necessário mostrar a relação dose/resposta entre a micotoxina e os efeitos tóxicos, que pode ser evidenciada pela utilização de biomarcadores. A presente atualização, realizada no MEDLINE, no período de 1984 a 2005, abrangeu informações geradas com o uso das palavras-chave "biomarcadores" e "micotoxinas".

Biomarcadores para avaliar a exposição às aflatoxinas

As aflatoxinas são metabólitos secundários produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, presentes em vários alimentos, como amendoim, milho,

soja, condimentos e outros. Existem pelo menos 17 compostos denominados aflatoxinas, sendo as aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ as mais estudadas. Os efeitos tóxicos das aflatoxinas podem ser agudo, imunossupressor, mutagênico, teratogênico, carcinogênico e hepatotóxico, e o fígado constitui o órgão-alvo primário. Desde a década de 60 suspeitava-se da contribuição da aflatoxina B₁ (AFB₁) para o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular humano, quando sua potente atividade como carcinógeno em muitas espécies de animais, como roedores, primatas e peixes, foi relatada. A AFB₁ é a toxina fúngica com maior potencial tóxico e carcinogênico. Ela é encontrada em altas concentrações em alimentos e rações^(3, 12, 40). Em 1993, a AFB₁ foi classificada pela International Agency for Research on Cancer (IARC) como carcinogênica para humanos, ou seja, genotóxico da classe I⁽¹³⁾.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma forte associação entre exposição à AFB₁ e aumento da incidência de carcinoma hepatocelular. Essa associação levou à necessidade de técnicas mais precisas para evidenciar a exposição às aflatoxinas e o risco individual de desenvolvimento do câncer^(15, 20). As técnicas devem ser específicas, sensíveis e principalmente aplicáveis a um grande número de amostras⁽¹⁵⁾. Diferentes métodos analíticos estão disponíveis para quantificação desses indicadores em amostras biológicas, como os métodos cromatográficos (cromatografia em camada delgada [CCD], cromatografia líquida de alta eficiência [CLAE] e cromatografia a gás [CG]), os testes imunológicos com anticorpos específicos (ensaio imunossorvente ligado à enzima [ELISA], radioensaio [RIA] e teste imuno-histoquímico) e a espectrometria de massas⁽¹⁰⁾.

Os possíveis biomarcadores de exposição evidenciados nos trabalhos são os metabólitos de AFB₁ como aflatoxina M₁ (AFM₁), aflatoxina P₁ (AFBP₁) e aflatoxina Q₁ (AFBQ₁), encontrados na urina⁽⁴⁶⁾, ou a própria AFB₁, que pode ser quantificada no sangue após o consumo de alimentos que a contenham. A utilização desse biomarcador, contudo, é limitada, pois detecta uma exposição muito recente⁽⁹⁾. Tsuboi *et al.*⁽⁴¹⁾, no Japão, e Denning *et al.*⁽⁴⁾, na Nigéria, utilizaram o ELISA e encontraram níveis de 3 ng/ml de AFB₁ no soro.

Níveis urinários de AFM₁ possuem boa correlação com a dose de exposição da AFB₁. Nyathi *et al.*⁽²⁶⁾, em estudo transversal realizado em diferentes áreas do Zimbábue, analisaram 1.200 amostras de urina. As amostras foram analisadas por CCD e CLAE. O metabólito mais observado foi a AFM₁ na urina, com uma concentração média de 4,2 ng/ml.

A AFM₁ pode também ser excretada em leite humano por mulheres que ingerem a AFB₁ e estão amamentando. Em estudo realizado na Austrália e na Tailândia, observou-se a exposição dos bebês à AFM₁ e das mães à AFB₁. Utilizou-se o teste de ELISA modificado para a análise de AFM₁ em leite materno de 73 mulheres de Victoria (Austrália) para comparação com as amostras da Tailândia ($n = 11$). A AFM₁ foi detectada em 11 amostras de Victoria e em cinco amostras da Tailândia, com concentrações médias de 0,071 ng/ml (0,028 a 1,031 ng/ml) e 0,664 ng/ml (0,039 a 1,736 ng/ml), respectivamente. Os níveis de AFM₁ em amostras de leite da Tailândia foram significativamente maiores em relação às amostras de leite da Austrália⁽⁵⁾.

Os adutos AFB-N⁷-guanina e AFB-albumina são os biomarcadores mais utilizados em estudos epidemiológicos para avaliação da exposição a AFB₁ e possuem grande importância, pois são produtos diretos de danos causados a um alvo macromolecular celular crítico⁽¹⁰⁾.

O aduto AFB-N⁷-guanina é produto da ligação entre a aflatoxina-exo-8,9-epóxido, metabólito de AFB₁ altamente reativo, com o DNA de células hepáticas, e é excretado na urina. Estudo realizado por Groopman *et al.*⁽¹¹⁾ na China e na Gâmbia, áreas de grande incidência de carcinoma hepatocelular, avaliaram os níveis de toxinas fúngicas dos alimentos e os níveis de biomarcadores urinários para aflatoxinas. Em ambas as populações a quantidade de aduto AFB-N⁷-guanina e AFM₁ urinários mostraram boa relação com a quantidade de aflatoxinas presente nos alimentos, porém o nível de adutos AFB-N⁷-guanina demonstrou apenas exposição recente às micotoxinas⁽²⁵⁾.

Os adutos AFB-albumina são formados pela ligação da aflatoxina-dialdeído (um produto da hidrólise da aflatoxina-exo-8,9-epóxido) com a albumina e são encontrados no sangue periférico⁽⁴⁶⁾. Níveis de aflatoxinas em alimentos e adutos AFB-albumina no sangue periférico foram determinados por Wild *et al.*⁽⁴⁷⁾, na Gâmbia. Para dosar os adutos AFB-albumina, utilizaram-se ELISA e CLAE. Uma correlação positiva foi observada entre ingestão alimentar e adutos AFB-albumina, além de boa concordância de resultados entre as duas metodologias analíticas. Provavelmente, esse é o mais prático biomarcador para estudos epidemiológicos para a exposição às aflatoxinas, pois sua avaliação é rápida e aplicável a um grande número de pessoas⁽¹⁵⁾. Outra vantagem em relação aos adutos de AFB-N⁷-guanina é que os adutos AFB-albumina possuem meia-vida de 30-60 dias no organismo, podendo refletir exposição por um período mais longo⁽⁴⁸⁾.

Investigações de mutação no gene supressor de tumor p53 têm evidenciado o envolvimento das aflatoxinas no de-

envolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC). Estudos realizados por Jackson e Groopman⁽¹⁵⁾ em pacientes com carcinoma hepatocelular expostos a altas concentrações de aflatoxinas em alimentos mostraram alta prevalência da transversoação AGG→AGT (Arg→Ser) na terceira base do códon 249 do gene p53 (mutação 249^{ser}). No geral, os estudos publicados mostram correlação positiva entre exposição estimada a aflatoxina e proporção de CHC com mutação 249^{ser}. Em regiões da China, onde a exposição às aflatoxinas é relatada como alta, a mutação 249^{ser} foi observada em mais de 50% de casos de CHC. Em regiões de baixa exposição às aflatoxinas, como Japão, Coréia, Europa e América do Norte, a prevalência de mutação 249^{ser} é extremamente baixa, ou seja, < 1%⁽⁴⁶⁾.

A mutação na terceira base do códon 249 do gene p53 também foi evidenciada em pacientes com cirrose e em pacientes diagnosticados clinicamente como não-portadores de doença hepática. Kirk *et al.*⁽¹⁷⁾ realizaram trabalho na Gâmbia, onde a mutação 249^{ser} foi detectada em 36% dos pacientes com CHC, 15% dos pacientes cirróticos e 6% dos pacientes controles. Jackson *et al.*⁽¹⁶⁾ examinaram amostras de pacientes controles e de pacientes com CHC na China. Em 11 pacientes com CHC detectou-se a mutação 249^{ser}; a mesma mutação foi detectada em seis pacientes controles. Assim, a detecção da mutação do códon 249 do gene p53 em pacientes não-portadores de CHC pode refletir um evento neoplásico precoce ou até mesmo uma exposição crônica a aflatoxinas⁽⁴⁶⁾.

Biomarcadores para avaliar a exposição às fumonisinas

As fumonisinas são produzidas por fungos do gênero *Fusarium* e estão presentes em cereais, como milho, trigo, aveia, entre outros^(22, 29, 30). O *F. verticillioides* é o principal produtor desse grupo de micotoxinas.

As fumonisinas são moléculas estruturalmente relacionadas; até o momento, 16 foram isoladas e caracterizadas. As fumonisinas B₁ (FB₁) e B₂ (FB₂) foram isoladas de uma amostra de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. por Gelderblom *et al.*⁽⁷⁾, porém outras espécies do gênero *Fusarium* também são produtoras dessas micotoxinas.

A prevalência de *F. verticillioides* em cereais está aparentemente correlacionada com a alta ocorrência de câncer de esôfago em humanos na região de Transkei, na África do Sul⁽²¹⁾. A IARC avaliou o risco de câncer em humanos e classificou as fumonisinas como classe 2B, ou seja, provável agente carcinogênico⁽³²⁾. Yoshizawa *et al.*⁽⁴⁹⁾ realizaram um

estudo comparativo da ocorrência natural de fumonisinas em amostra de cereais das regiões de Linxian e Shangqiu, áreas de alto e baixo risco, respectivamente, para câncer de esôfago na China. A incidência de fumonisinas nas amostras procedentes de Linxian, área de alto risco, foi duas vezes maior do que as amostras de Shangqiu, área de baixo risco; porém, a diferença não foi considerada significativa, o que poderia indicar que não existe correlação entre a presença das fumonisinas e o câncer de esôfago.

Dois biomarcadores que indicam exposição às fumonisinas estão sendo investigados: a própria fumonisina na urina e a alteração nos níveis de esfinganina e esfingosina na urina e no sangue⁽⁴²⁾.

O sangue não é considerado bom material biológico para quantificar a fumonisina livre, pois a FB₁ medida após a administração oral e intravenosa em macacos indicou que essa micotoxina é rapidamente seqüestrada do plasma^(36, 37). O melhor material biológico para a análise da fumonisina livre é a urina. Shetty e Bhat⁽³⁸⁾ descreveram um método sensível para detectar e quantificar FB₁ em urina de humanos por CLAE, porém a detecção de fumonisinas urinárias não foi possível com as metodologias atuais, em áreas com baixos níveis de contaminação ou onde o consumo diário de milho pela população é baixo⁽⁴²⁾.

Segundo Wang *et al.*⁽⁴³⁾ o local específico de ação da FB₁ é a inibição da enzima ceramida sintetase (esfingosina [esfinganina] N-aciltransferase), por ser estruturalmente similar à esfingosina. A inibição dessa via metabólica resulta na depleção do complexo esfingolipídeo e no aumento intracelular da concentração de esfinganina livre e, em menor grau, de esfingosina livre. Quando acumuladas no meio intracelular, esses compostos deixam a célula e aparecem no sangue periférico⁽⁴⁵⁾ e na urina^(33, 44). Assim, a elevação das bases esfingóides em urina, soro e tecidos pode ser usada como biomarcador na exposição às fumonisinas⁽³³⁾.

Estudo realizado por Garren *et al.*⁽⁶⁾ mostraram que após administração oral de FB₁ em ratos os níveis de esfinganina e esfingosina foram alterados em vários tecidos e na urina, efeito que foi persistente mesmo após o término do tratamento. Riley *et al.*⁽³³⁾ demonstraram correlação entre a extensão e a severidade de lesões e a inibição do metabolismo dos esfingolipídios. O rim foi mais sensível à FB₁ em relação ao fígado, com significativa elevação de esfinganina e esfingosina em ratos expostos à micotoxina. O acúmulo dessas substâncias na urina reflete as mudanças que ocorrem no rim. Assim, a urina e o soro podem ser considerados os fluidos de escolha para detectar a elevação das bases esfingóides como consequência de danos renais

induzidos por fumonisinas. Qiu e Liu⁽³¹⁾ determinaram os níveis de esfinganina e esfingosina em urina de humanos antes e após 30 dias de dieta com cereais potencialmente contaminados pela FB₁. Os resultados demonstraram que o metabolismo de esfingolipídeos em humanos pode ser afetado pela FB₁, e a análise de esfinganina e esfingosina na urina pode ser utilizada para avaliar a exposição à FB₁.

A esfinganina e a esfingosina foram dosadas em urina de humanos residentes em áreas do norte da Argentina e do sul do Brasil que tinham alto consumo de milho e foram comparadas a amostras coletadas na Argentina Central e na Itália, áreas de baixo consumo. Os valores de esfinganina e esfingosina foram maiores para o grupo com maior consumo de milho⁽³⁹⁾.

Há necessidade de mais estudos para melhorar os métodos de detecção das bases esfingóides para validar o uso dessas substâncias como biomarcadores no monitoramento da exposição do homem às fumonisinas.

Biomarcadores para avaliar a exposição ao desoxinivalenol

O desoxinivalenol (DON) é uma micotoxina da classe dos tricotecenos produzida por *Fusarium graminearum* e *F. culmorum*. Essas espécies fúngicas estão freqüentemente associadas à contaminação de cereais, como trigo, cevada, milho e aveia. Devido à estabilidade dos tricotecenos ao processamento industrial e às altas temperaturas, os níveis de exposição humana podem ser altos. Em animais de experimentação a presença de DON na ração acarreta repúdio à alimentação, diminuição de peso, cardiotoxicidade, teratogenicidade e indução de nefropatia. Afeta também a imunidade mediada por células e a imunidade humoral em vários animais, além de suprimir a proliferação de linfócitos humanos *in vitro*^(19, 23, 24, 28, 35).

Meky *et al.*⁽²⁴⁾ investigaram em cobaias o metabolismo dessa micotoxina para o estabelecimento metodológico de um biomarcador na exposição humana. Cobaias Sprague-Dawley receberam uma única dose de DON marcado com C¹⁴ e a distribuição pelos fluidos corporais foi investigada depois de 72 horas. DON e seus metabólitos foram detectados no plasma dos ratos em altos níveis após oito horas, 9% ligados a proteínas plasmáticas. Aproximadamente 37% do que foi administrado de DON foi excretado na urina na forma conjugada com ácido glicurônico, o que o implica como o maior metabólito urinário. Esse resultado reforça a conclusão de vários estudos que sugerem como biomarcadores em potencial para a exposição ao desoxinivalenol os

produtos de seu metabolismo e adutos macromoleculares (proteína/DNA) presentes nos fluidos biológicos humanos. Além disso, os estudos em animais de experimentação têm identificado o metabólito epóxido de DON (DOM-1) e o conjugado glicuronídeo como possíveis biomarcadores para exposição ao DON.

Biomarcadores para avaliar a exposição à ocratoxina A

A ocratoxina A (OA) é uma micotoxina encontrada em alimentos, bebidas e ração animal, produzida por *Aspergillus* e *Penicillium*. São conhecidos os efeitos tóxicos pertinentes da ação da OA, particularmente sobre o sistema renal, com caráter nefrotóxico. Ela é classificada pela IARC como potencialmente carcinogênica para humanos, ou seja, pertencente à classe 2B⁽¹⁸⁾.

Os potenciais indicadores biológicos na exposição à OA ainda estão pouco estudados e alguns trabalhos sugerem possíveis biomarcadores. Iavicoli *et al.*⁽¹⁴⁾ avaliaram a OA sérica em trabalhadores de indústrias alimentícias expostos a essa micotoxina suspensa no ar. No monitoramento verificou-se que os níveis de OA sérica foram de 0,94 a 3,28 ng/ml e maiores quando comparados com controles não-expostos à OA. Esse estudo concluiu que a medida de OA no soro é efetiva para a avaliação da dose interna, e a

exposição ocupacional pode representar um risco à saúde de trabalhadores expostos no processamento industrial de grãos. O monitoramento ambiental e biológico, portanto, é necessário nesses ambientes.

Gilbert *et al.*⁽⁸⁾ realizaram levantamento com 50 pessoas que apresentavam em suas dietas consumo diário de 0,26 a 3,5 mg/kg de OA. Verificaram que em todas as amostras de plasma e em 46 amostras de urina desses indivíduos a OA estava presente. A utilização da determinação de OA na urina foi sugerida como biomarcador simples para estimar a exposição a essa micotoxina.

Conclusões

As micotoxinas têm sido extensivamente estudadas em relação ao seu mecanismo de ação, mutagenicidade e atividade carcinogênica. O conhecimento desses mecanismos levou ao desenvolvimento de biomarcadores, como os produtos de biotransformação e adutos de macromoléculas.

A identificação e a mensuração dos biomarcadores para a avaliação da exposição humana às micotoxinas por meio de metodologias analíticas simples, rápidas, precisas e exatas podem ajudar a prevenir ou minimizar os agravos à saúde decorrentes da exposição do organismo humano a essas substâncias.

Referências

1. AMORIM, L.C.A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Rev Brasil Epidemiol*, v. 6, n. 2, p. 158-70, 2003.
2. BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.
3. BUSBY, W.F.J.; WOGAN, G. N. Aflatoxins. In: SEARLE C. E. (ed) *Chemical carcinogens*. 2nd ed. Washington, DC: American Chemical Society, 1984. p. 945-1136.
4. DENNING, D.W. *et al.* Measurement of aflatoxin in Nigerian sera by enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v. 82, n. 1, p. 169-71, 1988.
5. EL-NEZAMI, H. S. *et al.* Aflatoxin M₁ in human breast milk samples from Victoria, Australia. *Food Chem Toxicol*, v. 33, n. 3, p. 173-9, 1995.
6. GARREN, L. *et al.* The induction and persistence of altered sphingolipid biosynthesis in rats treated with fumonisin B1. *Food Addit Contam*, v. 18, n. 12, p. 850-6, 2001.
7. GELDERBLUM, W.C.A. *et al.* Fumonisin: novel mycotoxin with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moliniforme*. *Appl Environm Microbiol*, v. 54, n. 7, p. 1806-11, 1988.
8. GILBERT, J.; BRERETON, P.; MACDONALD, S. Assessment of dietary exposure to ochratoxin A in the UK using a duplicate diet approach and analysis of urine and plasma samples. *Food Addit Contam*, v. 18, n. 12, p. 1088-93, 2001.
9. GROOPMAN, J. D. Molecular dosimetry methods for assessing human aflatoxin exposure. In: EATON D. L., GROOPMAN J. D. (ed.). *The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary, and agricultural significance*. San Diego: Academic Press, 1994. p. 259-76.
10. GROOPMAN, J. D.; KENSLER, T. W. The light and the end of the tunnel for chemical-specific biomarkers: daylight or headlight? *Carcinogen*, v. 20, n. 1, p. 1-11, 1999.
11. GROOPMAN, J. D. *et al.* Molecular dosimetry of aflatoxin-N⁷-guanine in human urine obtained in the Gambia, West Africa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 1, n. 3, p. 221-7, 1992.
12. HSIEH, D. Potential human health hazards of mycotoxins. In: NATORI, S.; HASHIMOTO, K.; UENO, Y. (ed.). *Mycotoxins and phytotoxins*. Third Joint Food and Agriculture Organization/WHO/United Nations Program International Conference of Mycotoxins. Amsterdam: Elsevier; 1988. p. 69-80.
13. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. n. 56. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon: IARC Scientific Publication, 1993.

14. IAVICOLI, I. et al. External and internal dose in subjects occupationally exposed to ochratoxin A. *Int Arch Occup Environ Health*, v. 75, n. 6, p. 381-6, 2002.
15. JACKSON, P.E.; GROOPMAN, J. D. Aflatoxin and liver cancer. *Baillière's Clin Gastroenterol*, v. 13, n. 4, p. 545-55, 1999.
16. JACKSON, P.E. et al. Specific p53 mutations detected in plasma and tumors of hepatocellular carcinoma patients by electrospray ionization mass spectrometry. *Cancer Res*, v. 61, p. 33-5, 2001.
17. KIRK, G.D. et al. Ser-249 p53 mutations in plasma DNA of patients with hepatocellular carcinoma from The Gambia. *J Natl Cancer Inst*, v. 92, n. 2, p. 148-53, 2000.
18. LARSEN, T.O.; SVENDESEN, A.; SMEDSGAARD, J. Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. *Appl Environ Microbiol*, v. 67, n. 8, p. 3630-5, 2001.
19. LI, F.; LUO, X.; YOSHIZAWA, T. Mycotoxins (trichothecenes, zearalenone and fumonisins) in cereal associated with human red mold intoxications stored since 1989 and 1991 in China. *Natural Toxins*, v. 7, p. 93-7, 1999.
20. MAKARANANDA, K. et al. Monitoring of aflatoxin exposure by biomarkers. *J Toxicol Sci*, v. 23, suppl. 2, p. 155-9, 1998.
21. MARASAS, W.F.O. et al. *Fusarium moliniforme* contamination of maize in esophageal cancer areas in Transkei. *S Afr Med J*, v. 74, p. 110-4, 1988.
22. MARASAS, W.F.O. et al. Primary liver cancer and esophageal basal cell hyperplasia in rats caused by *Fusarium moliniforme*. *Int J Cancer*, v. 34, p. 383-7, 1984.
23. MEKY, F.A. et al. Deoxynivalenol-induced immunomodulation of human lymphocyte proliferation and cytokine production. *Food Chem Toxicol*, v. 39, p. 827-36, 2001.
24. MEKY, F.A. et al. Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. *Food Chem Toxicol*, v. 41, p. 265-73, 2003.
25. MONTESANO, R. Approaches to detect individual exposure to carcinogens. In: VAINIO H., SORSA M.; MCMICHAEL, A. J. (ed.). *Complex mixtures and cancer risk*. Lyon: International Agency for Research on Cancer Press, 1990. p. 11-9.
26. NYATHI, C. B. et al. A survey of urinary aflatoxin in Zimbabwe. *Int J Epidemiol*, v. 16, p. 516-9, 1987.
27. PERAICA, M. et al. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull WHO*, v. 77, p. 754-66, 1999.
28. PLACINTA, C. M.; D'MELLO, J. P.; MACDONALD, A. M. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Food Sci Technol*, v. 78, p. 21-37, 1999.
29. POZZI, C.R. et al. Aspectos relacionados a ocorrência e mecanismo de ação de fumonisinas. *Cienc Rur*, v. 32, p. 901-7, 2002.
30. POZZI, C.R. et al. Postharvest and stored corn in Brazil: mycoflora interaction, abiotic factors and mycotoxin occurrence. *Food Addit Contam*, v. 12, p. 313-9, 1995.
31. QIU, M.; LIU, X. Determination of sphinganine, sphingosine and Sa/So ratio in urine of humans exposed to dietary fumonisin B1. *Food Addit Contam*, v. 18, p. 263-9, 2001.
32. RHEEDER, J.P.; MARASAS, W.O.F.; VISMER, H.F. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol*, v. 68, p. 2102-5, 2002.
33. RILEY, R.T. et al. Dietary fumonisin B₁ induces disruption of sphingolipid metabolism in Sprague-Dawley rats: a new mechanism of nephrotoxicity. *J Nutr*, v. 124, p. 594-603, 1994.
34. SABINO, M. Micotoxinas em alimentos. In: OGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*. São Paulo: Atheneu Editora, 1996. p. 461-71.
35. SCOTT, P.M. The natural occurrence of trichothecenes. In: BEASLEY, V.R. *Trichothecene mycotoxicosis: pathophysiological effects*. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 1-26.
36. SHEPHARD, G.S. et al. Distribution and excretion of a single dose of the mycotoxin fumonisin B₁ in a non-human primate. *Toxicon*, v. 32, p. 735-41, 1994.
37. SHEPHARD, G.S. et al. Fate of single dose of 14C-labelled fumonisin B₁ in vervet monkeys. *Nat Toxins*, v. 3, p. 145-50, 1995.
38. SHETTY, P.H.; BHAT, R.V. Sensitive method for the detection of fumonisin B₁ in human urine. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, v. 705, p. 171-3, 1998.
39. SOLFRIZZO, M. et al. Comparison of urinary sphingolipids in human populations with high and low maize consumption as a possible biomarker of fumonisin dietary exposure. *Food Addit Contam*, v. 21, p. 1090-5, 2004.
40. SQUIRE, R. A. Ranking animal carcinogens: a proposed regulatory approach. *Science*, v. 214, p. 877-80, 1981.
41. TSUBOI, S. et al. Detection of aflatoxin B₁ in serum samples of male Japanese subjects by radioimmunoassay and high-performance liquid chromatography. *Cancer Res*, v. 44, p. 1231-4, 1984.
42. TURNER, P.C.; NIKIEMA, P.; WILD, C.P. Fumonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better assess human health risks. *Mut Res*, v. 443, p. 81-93, 1999.
43. WANG, E. et al. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins implications for diseases associated with *Fusarium moliniforme*. *J Biol Chem*, v. 266, p. 14486-90, 1991.
44. WANG, E. et al. Fumonisin B₁ consumption by rats causes reversible, dose-dependent increases in urinary sphinganine and sphingosine. *J Nutr*, v. 129, p. 214-220, 1999.
45. WANG, E. et al. Increases in serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moliniforme*. *J Nutr*, v. 122, n. 8, p. 1706-16, 1992.
46. WILD, C.P.; TURNER, P.C. The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagen*, v. 17, n. 6, p. 471-81, 2002.
47. WILD, C. P. et al. Dietary intake of aflatoxins and the level of albumin-bound aflatoxin in peripheral blood in The Gambia, West Africa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 1, n. 3, p. 229-34, 1992.
48. WILLIAMS, J.H. et al. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am J Clin Nutr*, v. 80, n. 5, p. 1106-22, 2004.
49. YOSHIZAWA, T.; YAMASHITA, A.; LUO, Y. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl Environ Microbiol*, v. 60, n. 5, p. 1626-9, 1994.

Endereço para correspondência

Érika Bando
 Universidade Estadual de Maringá
 Departamento de Análises Clínicas
 Avenida Colombo, 5.790 - Campus Universitário
 CEP 87020-900 - Maringá-PR
 Tel.: (44) 3261-4565/3261-4489
 e-mail: ebando@uem.br