

EFFECTOS TÓXICOS DE LA OCRATOXINA A

López de Cerain A, Jiménez AM, Ezpeleta O, Bello J.

Dpto de Bromatología, Tecnología de Alimentos y Toxicología. Facultad de Farmacia. Apartado 177. 31080 Pamplona.

Tfno: 948 425653 Fax: 948 25652 E-mail: acerain@unav.es

Título abreviado: Toxicidad de la ocratoxina A

Correspondencia:

Dra. Adela López de Cerain

Tfno: 948 425653

Fax: 948 425652

E-mail: acerain@unav.es

Resumen

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida por hongos micomicetos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* que se encuentra ampliamente distribuida como contaminante natural de cereales, legumbres y otros alimentos y que en estudios experimentales ha demostrado una gran diversidad de efectos tóxicos. Debido a sus propiedades fisicoquímicas, la OTA se absorbe fácilmente del tracto gastrointestinal, siendo su biodisponibilidad superior al 50% en todas las especies de mamíferos ensayadas. Presenta una alta afinidad por las proteínas plasmáticas, lo que determina una larga persistencia en el organismo. Los principales metabolitos son el producto de hidrólisis del enlace amida (OT[?]), los derivados hidroxilados 4-OH-OTA y 10-OH-OTA y los productos de conjugación, entre otros. Se elimina por vía renal y hepatobiliar, así como también a través de la secreción lactea. La DL₅₀ oscila entre 0,2 y 58,3 mg/kg pc; perros, cerdos y pollos son especies más sensibles que rata y ratón. La ingestión crónica de OTA da lugar a la aparición de un efecto tóxico renal en todas las especies de mamíferos monogástricos testados. Se ha relacionado con la nefropatía porcina, la nefropatía aviar espontánea, y en el hombre con la nefropatía endémica de los Balcanes. Diversos estudios han puesto de manifiesto efectos tóxicos de la OTA sobre el sistema inmune y sobre el sistema nervioso. Tiene también un efecto hemorrágico semejante al que se produce por carencia de vitamina K y altera el metabolismo de los hidratos de carbono, provocando una acumulación de glucógeno en el hígado. El principal mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis proteica a nivel post-transcripcional por inhibición competitiva de la Phe-tRNA sintetasa; también se ha descrito un efecto inductor de peroxidación lipídica. La OTA ha resultado teratogénica en ratón, rata, hamster y gallina, con el sistema nervioso central como principal diana. La OTA incrementa la formación de aductos, induce micronúcleos, intercambios entre cromátidas hermanas y mutación génica en *Salmonella typhimurium* tras activación metabólica. Está clasificada por la IARC como posiblemente carcinogénica para el hombre (grupo 2B) debido a que induce adenomas renales y carcinomas en ratas y ratones, si bien los datos en el hombre no son concluyentes.

Palabras clave: micotoxinas, ocratoxina A, toxicocinética, nefrotoxicidad, genotoxicidad

TOXIC EFFECTS OF OCHRATOXIN A

Summary

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin produced by mycomicetes fungi of the genus *Aspergillus* and *Penicillium* which is amply distributed as a natural contaminant of cereals, beans and other foods and which has shown a great diversity of toxic effects in experimental studies. Due to its physicochemical properties, OTA is easily absorbed from the gastrointestinal tract, with a bioavailability that is greater than 50% in all of the mammalian species tested. It presents a high affinity for the plasmatic proteins, which results in a long persistence in the organism. The principal metabolites are the product of hydrolysis of the amide bond (OT[?]), the hydroxylated derivatives 4-OH-OTA and 10-OH-OTA, and the products of conjugation, among others. It is eliminated by the renal and hepatobiliar routes, as well as through lacteal secretion. The DL₅₀ ranges between 0.2 and 58.3 mg/kg pc; dogs, pigs and chickens are more sensitive species than mouse and rat. The chronic ingestion of OTA leads to the appearance of a renal toxic effect in all the monogastric mammalian species tested. It has been related to porcine nephropathy, spontaneous avian nephropathy, and in man with Balkan endemic nephropathy. Diverse studies have manifested toxic effects of OTA on the immune system and on the nervous system. It also has a hemorrhaging effect similar to that which is produced by a lack of vitamin K and alterates the metabolism from the carbohydrates, provoking an accumulation of glucogen in the liver. The principal mechanism of action is the inhibition of the protein synthesis at a post transcriptional level by competetive inhibition of the Phe-tRNA synthetase; an inducing effect of lypoperoxidation has also been described. The OTA is teratogenic in mouse, rat, hamster and hen, with the central nervous system as the principal target. OTA increases the formation of adducts, induces micronuclei, sister chomatid exchanges and genetic mutation in *Salmonella typhimurium* after metabolic activation. It is classified by the IARC as possibly carcinogenic for man (group 2B) due to the fact that it induces renal adenomas and carcinomas in rats and mice; the data relative to man is not conclusive.

Key words: mycotoxins, ochratoxin A, toxicokinetics, nephrotoxicity, genotoxicity

Introducción

Las ocratoxinas constituyen una familia de toxinas cuya estructura molecular consiste en un núcleo de isocumarina unido a una molécula de L-fenilalanina mediante un enlace amida (Fig. 1). De todas ellas, la más importante es la ocratoxina A (OTA) (C.A. No.303-47-9), aislada por primera vez a partir de cultivos de *Aspergillus ochraceus* ?1?.

La OTA es una micotoxina mayoritariamente presente en las contaminaciones primarias por mohos de muchos productos vegetales y de modo particular en cereales y legumbres de regiones geográficas tanto templadas como frías y húmedas. Puede considerarse como una de las micotoxinas más frecuentes en la contaminación de los granos de cereales, junto a las aflatoxinas y las toxinas del género *Fusarium* y *Alternaria*. La ocratoxicosis parece ser un fenómeno mundial, aunque la magnitud de estas contaminaciones puede mostrar variaciones según países y años, porque las condiciones necesarias para que los micomicetos filamentosos produzcan metabolitos tóxicos, cuando se desarrollan sobre las materias primas alimenticias suelen ser bastante complejas. Debido a los riesgos que el consumo crónico de OTA a través de los alimentos, para la salud humana comporta, algunos países han establecido niveles máximos permisibles en alimentos y la Unión Europea tiene en proceso de elaboración la correspondiente legislación a este respecto. La presente revisión se ocupa de los diferentes efectos tóxicos de la OTA, tanto desde el punto de vista de toxicidad aguda como, sobre todo, debido al consumo crónico de la micotoxina, incidiendo en el mecanismo de acción de la misma.

Micología y producción

Los hongos productores de OTA pertenecen a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, el primero dominante en climas tropicales y el segundo en climas fríos o templados. Por este motivo se ha propuesto que la ocratoxicosis en Alemania y Escandinavia podría estar relacionada con el género *Penicillium*, mientras que en Francia lo estaría con el *Aspergillus* ?2?. No obstante, habida cuenta del clima predominante, la presencia de OTA en Europa será debida fundamentalmente al género *Penicillium*, con *P. verrucosum* como especie productora principal ?3?. Entre las diversas cepas de las especies productoras se han señalado diferencias en lo que hace referencia a la capacidad de producción de la toxina ?4?, que también se encuentra condicionada, entre otros factores, por las condiciones de humedad, temperatura y pH ?5-7?.

Toxicocinética

1. Absorción y distribución

La mayoría de especies animales estudiadas presentan una primera y rápida absorción de la OTA en el estómago facilitada por sus propiedades ácidas, seguida de una absorción intestinal lenta, cuando entre la sangre y la luz intestinal se da un gradiente de concentración favorable [8-10]. En el caso de los rumiantes la OTA es rápidamente hidrolizada a OT⁺ por la población microbiana del rumen [11]. No obstante, se ha detectado OTA en riñón, leche y orina de terneras que habían recibido grandes dosis de OTA [12]. El porcentaje de toxina que desde los alimentos pasa a la circulación general difiere ampliamente de unas especies a otras, y en general, los mamíferos presentan una biodisponibilidad superior al 50% con la referida excepción de los rumiantes [13].

Una de las propiedades toxicocinéticas más significativas de la OTA es su alta afinidad por proteínas plasmáticas. Esta unión será determinante de la persistencia de la toxina en la sangre y por lo tanto de su toxicidad. El porcentaje de toxina unida a proteínas es muy alto en la mayoría de los casos y ello hace que en casi todas las especies estudiadas, incluido el hombre, la fracción libre sea menor del 0.2% [9-10]. También, otras proteínas presentes en plasma humano y porcino, diferentes a la albúmina, han demostrado *in vitro* cierta capacidad para unirse a la OTA con gran afinidad [9,11,14].

En la administración por vía oral o intravenosa en peces, codorniz, ratón, rata y mono, la OTA se comporta de acuerdo con un modelo cinético bicompartimental con la excepción del mono para la administración oral, que responde a un modelo monocompartimental [13]. En la mayoría de los mamíferos la acumulación de la OTA se da principalmente en el riñón, seguido de otros órganos como hígado, páncreas e intestino. Sin embargo en las aves, la toxina no presenta una acumulación importante en ningún órgano particular [15]. Aun cuando existen resultados contradictorios al respecto, parece demostrada la transmisión de la OTA al feto a través de la placenta en cerdos y ratones [11].

2. Metabolismo

Los principales metabolitos derivados de la OTA son los siguientes: el producto de su hidrólisis OT⁺, los derivados hidroxilados 4-OH-OTA y 10-OH-OTA, y los productos de conjugación (Fig. 2). De todos ellos la OT⁺ y 4-OH-OTA son los más significativos. La

población microbiana intestinal es capaz de metabolizar la OTA hasta OT[?] y Phe principalmente por la actividad de la enzima carboxipeptidasa A [?]10[?]. Los principales metabolitos hepáticos parecen ser los epímeros (4R y 4S)-OH-OTA en cuya formación está implicado el sistema citocromo P450 [?]11[?]. Se ha demostrado que en la formación de estos metabolitos, principalmente el epímero R y en menor medida el S, participan las isoformas de P450 1A1/1A2, 2B1 y 3A1/3A2 [?]16[?]. El otro metabolito hidroxilado, la 10-OH-OTA, solamente ha sido descrito *in vitro* después de la incubación de la OTA con microsomas de hígado de conejo [?]17[?].

La OTA puede ser sustrato del enzima fenilalanina hidroxilasa dando lugar a la Tyr-OTA, presente en el hígado de animales intoxicados (Fig 1). Este metabolito a su vez puede ser transformado hasta 4R/S-hidroxitirosin-ocratoxina A y otros metabolitos [?]18[?]. En algunos casos, el fluido ruminal de vacas y ovejas esterifica la OTA a OTC. A su vez, también puede darse el proceso contrario ya que la OTC se metaboliza hasta OTA [?]19[?]. Además de los indicados, existen otros metabolitos sin identificar detectados tanto en estudios *in vivo* [?]20[?] como *in vitro* [?]21[?]. Por último, se ha visto que la OTA se puede conjugar con el glutatión.

3. Eliminación

El aclaramiento de la micotoxina por filtración renal está supeditado al valor de las respectivas constantes de unión con macromoléculas específicas, por lo que se favorece la eliminación por otras rutas en casi todas las especies. Tanto en los peces como en la codorniz, donde el aclaramiento renal supone únicamente el 4 y 0.3 % del aclaramiento total respectivamente, el sistema de excreción hepatobiliar es más importante que el urinario. Por este motivo, estas dos especies presentan un aclaramiento plasmático de OTA superior a las otras especies estudiadas y por consiguiente su permanencia sanguínea tiene una vida media menor. Para la administración intravenosa de 50 ng OTA /g pc en peces, codorniz, ratón, rata y mono se han obtenido vidas medias de 8.3, 12, 48, 170 y 840 horas respectivamente [?]13[?].

Para comprobar la importancia de la unión de la OTA a proteínas en la eliminación de la misma, se ha llevado a cabo un estudio con ratas normales frente a ratas deficientes en albúmina, y se ha observado que la concentración de OTA en la orina y bilis de ratas carentes de albúmina es 20-70 veces mayor que en ratas normales [?]22[?]. También se ha estudiado la

eliminación de la OTA a través de otras vías como la leche, habiéndose encontrado niveles bajos de OTA en leche de vacas, conejos, cabras y cerdos ?23?.

Se ha comprobado que los metabolitos OT? y OH-OTA desaparecen más rápidamente que su precursor. Así, en un estudio realizado con ratas, se puso de manifiesto que tanto la OTA como la OT? se eliminan principalmente por la orina mientras que para la OH-OTA tiene lugar por la vía biliar. Las vidas medias para estos tres compuestos fueron 3, 9,6 y 6 h, respectivamente ?24?.

4. *En el hombre*

Se desconocen los parámetros cinéticos de la OTA en humanos, pero si asumimos la hipótesis de que el hombre presenta una biodisponibilidad en torno al 90% ?13? y habiéndose comprobado *in vitro* una gran capacidad de unión de la toxina a proteínas plasmáticas humanas, únicamente podemos deducir que la vida media plasmática de la OTA será muy elevada, lo cual supone evidentemente un riesgo mayor para la salud.

En cuanto a su eliminación, la excreción renal parece ser el principal mecanismo, condicionado como ya se ha indicado por la unión de la OTA a proteínas plasmáticas. Se ha comprobado sin embargo mediante el análisis de muestras de leche humana en diversos estudios realizados en Suecia, Sierra Leona e Italia, que la eliminación de la OTA también se da por esta vía en una pequeña medida ?23,26,25?. Debido a que la leche materna es el primer y único alimento de los niños, podría suponer un peligro para lactantes pudiendo incluso superar en algunos casos los niveles máximos tolerados.

Toxicidad

1. *Toxicidad aguda*

Dosis elevadas y únicas de la toxina pueden dar lugar a una intoxicación aguda cuyos principales signos clínicos son anorexia, pérdida de peso, poliuria, polidipsia, hemorragias digestivas y deshidratación, que provocan la muerte pocas semanas después de la administración. Se ha demostrado que perros, cerdos y pollos son especies más sensibles a los efectos de la OTA que ratones y ratas ?12,27,28? (Tabla 1). En el hombre existe un caso descrito de necrosis tubular aguda debido a la inhalación de OTA producida por *A.ochraceus* en trigo almacenado en silos ?29?.

2. Toxicidad subcrónica

Nefrotoxicidad

La ingestión de alimentos contaminados, aunque siempre con dosis menores de 0.2 mg/kg de peso corporal, durante periodos inferiores a 4 meses, da lugar a la aparición de un efecto tóxico renal en todas las especies de mamíferos monogástricos testados [11]. La nefrotoxicidad provocada por el consumo de OTA presenta las siguientes características: poliuria, glucosuria, proteinuria y enzimuria. Se han realizado numerosos experimentos de toxicidad subcrónica en cerdos y aves, especies en las que frecuentemente se han producido intoxicaciones por causas naturales. Los cerdos son especialmente susceptibles a los efectos de la OTA que, en unión con la citrinina, se considera como factor determinante en la etiología de la nefropatía porcina, enfermedad identificada por primera vez en Dinamarca hace 70 años [30,31]. Los cerdos a los que se les administran dosis de OTA entre 0.2 y 4 mg OTA/kg pc equivalentes a los niveles encontrados en alimentos contaminados, desarrollan al cabo de 3-4 meses una nefropatía idéntica a la detectada en animales que la padecen de modo natural [9]. Se ha encontrado OTA en los riñones de cerdos con síntomas de nefropatía porcina, en el 24% de los analizados en Polonia [32] y en el 100% de los analizados en Suecia [33].

La OTA ha demostrado tener numerosos efectos deletéreos sobre las aves domésticas, con graves consecuencias para los rendimientos de su crianza [34-43]. También, el consumo crónico de OTA ha sido asociado con la nefropatía aviar espontánea, con importantes cambios fisiopatológicos [42,43].

A pesar de las diferencias toxicocinéticas encontradas en diversas especies, las lesiones renales en cerdos, aves y roedores son muy similares [9,28]. Desde el punto de vista fisiológico, algunos efectos se pueden explicar por el daño en el túbulo contorneado proximal, pero otros como la disminución de la tasa de filtración glomerular, poliuria y descenso de la osmolaridad de la orina, no pueden ser interpretados como una simple consecuencia de la lesión tubular proximal. Parece ser que la OTA puede afectar a diferentes partes de la nefrona dependiendo de la dosis y tiempo de exposición [44]. Durante una exposición aguda sería el túbulo colector la porción más afectada, dando lugar a una alteración en la excreción de electrolitos. Probablemente, el mecanismo en este caso sea el bloqueo de la conductividad de aniones a través de la membrana plasmática [45]. En cambio la exposición crónica afectaría

tanto la hemodinámica renal como la función secretora del túbulo proximal, con un mecanismo en el que parece jugar un papel importante la angiotensina II. Tanto por exposición aguda como crónica, la ingesta de OTA altera la acidificación urinaria al aumentar el pH de la orina, debido a que la toxina inhibe la reabsorción de HCO_3^- en los túbulos y modifica el pH en el intersticio de la papila renal [46,47].

Algunos autores han propuesto mecanismos que implican procesos oxidativos en la nefrotoxicidad, en los cuales se generan frecuentemente radicales libres. En un experimento con ratas a las que se administró OTA se comprobó cómo la enzimuria, proteinuria, glucosuria y la alteración del aclaramiento de la creatinina se contrarrestaban mediante la administración de superoxidodismutasa (SOD) y catalasa [48].

La Nefropatía Endémica de los Balcanes (NEB)

La NEB fue descrita por primera vez a finales de 1950 y consiste en una insuficiencia renal crónica bilateral frecuentemente asociada a uroteliomas y carcinoma renal [49,50]. Los síntomas suelen ser anemia, proteinuria, amarilleamiento de la piel, dolor de cabeza, anorexia y uremia. Los signos patológicos hallados en los enfermos fallecidos como consecuencia de NEB son: una marcada reducción del tamaño del riñón y ciertos cambios en el córtex renal como fibrosis intersticial, hialinización glomerular, degeneración del epitelio tubular y pérdida del borde en cepillo del túbulo renal [30].

Se trata de una enfermedad endémica de zonas generalmente rurales en regiones como Croacia, Bosnia, Herzegovina, Serbia, Rumanía y Bulgaria. Es una enfermedad estacionaria, familiar pero no hereditaria, que afecta por igual a emigrantes como a inmigrantes [49] y que se presenta, casi exclusivamente, en individuos de edades comprendidas entre 35 y 55 años [30].

A pesar de que se han barajado diversas hipótesis, incluyendo una etiología viral que posteriormente fue rechazada, en 1974 se propuso la hipótesis de una causa fúngica en el desarrollo de la enfermedad, llamando la atención principalmente sobre la OTA [51]. La OTA y la citrinina se han asociado con la NEB debido por un lado a la similitud entre los síntomas de esta enfermedad y los provocados por la OTA en la nefropatía porcina y también porque en las zonas en que la enfermedad es endémica se han encontrado niveles elevados de OTA en alimentos, plasma y orina [52].

Por otra parte, datos recientes obtenidos en el Norte de Africa sugieren una correlación entre la nefritis intersticial crónica y una alta exposición a la OTA [53,54].

Inmunotoxicidad

Diversos estudios han puesto de manifiesto efectos tóxicos de la OTA sobre el sistema inmune, pero los resultados resultan contradictorios en algunos casos. En algunos experimentos realizados en ratas se han podido observar algunas alteraciones relacionadas con dicho sistema: reducción en la producción de IL-2 y en la expresión de sus receptores [55]; disminución en la producción de macrófagos, de IL-1 y del factor de necrosis tumoral [56]; disminución en la actividad de las células “natural killer” (NK) [57]. Por otro lado, en un experimento de toxicidad subcrónica en ratones, apareció disminuida la producción de anticuerpos de manera dosis-dependiente, pero no se vieron afectadas ni la producción de IL-2 ni la actividad NK [58]. Por exposición prenatal a pequeñas dosis de OTA en ratones, los recién nacidos presentaron una disminución en el número de linfocitos T, que se recuperaba a los pocos días; en cuanto a la función inmune no se observaron diferencias ni en la actividad de células NK, ni en la respuesta mediante anticuerpos y producción de IL-2 [59]. Los resultados dispares obtenidos podrían ser justificados tanto por las diferentes especies animales como por las vías de administración utilizadas en los distintos estudios.

Neurotoxicidad

La OTA se acumula en el encéfalo y en su actividad toxicodinámica tiene como receptores algunas estructuras integradas en el mesencéfalo ventral, hipocampo, estriado y cerebelo [60]. Algunos estudios *in vitro* han indicado que los marcadores de diferenciación y crecimiento neuronal de células neuronales en cultivo eran afectados por dosis mucho menores a las necesarias para los marcadores de las funciones básicas celulares [61], pero inferiores a las concentraciones requeridas en otras líneas celulares no neuronales [62]. El mecanismo de acción se desconoce, aunque *in vitro* la adición de Phe no ejerce ninguna acción inhibitoria, y permite la posibilidad de excluir la inhibición de la síntesis proteica. También se podría descartar la peroxidación lipídica ya que ésta se produce a dosis superiores a $3 \mu\text{M}$ [63], mientras que las concentraciones capaces de ejercer un efecto tóxico sobre células neuronales en cultivo son inferiores a $2 \mu\text{M}$ [61].

3. Carcinogenicidad

En experimentos de carcinogénesis realizados con ratas y ratones, la administración crónica de OTA puede provocar cáncer hepático y renal. Además, numerosos estudios descriptivos han sugerido una correlación entre esta micotoxina y la nefropatía endémica de los Balcanes, la cual presenta una alta incidencia de mortalidad debido al desarrollo de tumores en el tracto urinario. Como consecuencia de la actividad cancerígena evidente en animales pero con datos insuficientes hasta el momento para el ser humano, la OTA fue catalogada por el IARC en 1993, como posiblemente carcinogénica para el hombre (grupo 2B) [12].

4. Genotoxicidad

Existe una gran confusión sobre la capacidad mutagénica de la OTA ya que, aunque en un principio se obtuvieron resultados negativos, estudios más recientes indican un posible efecto mutagénico de esta micotoxina a través de algún metabolito y/o radical libre. En varios estudios de *mutación génica* con diversas estirpes de *Salmonella typhimurium*, la OTA presentó resultados negativos tanto en presencia como en ausencia de activación metabólica [64-67]. Sin embargo, un medio derivado de hepatocitos de rata expuestos a OTA dió un resultado positivo en el mismo test [68]. En otro estudio en el que se utilizaron distintas líneas celulares que expresaban diferentes cDNAs de enzimas citocromo P450 humanos, se vió que la frecuencia de mutaciones variaba según la línea celular y los positivos eran dependientes de la dosis [69]. Recientemente se han obtenido resultados positivos en las estirpes TA1535, TA1538 y TA98 utilizando fracciones microsomales de riñón de ratón y NADP o ac. araquidónico como cofactores [70]. Estos experimentos parecen indicar que la OTA por sí misma no tiene una acción mutagénica pero puede provocarla indirectamente por medio de alguna transformación metabólica.

En el test de *reparación SOS del DNA en E.coli*, la OTA dió resultados positivos tanto en presencia como en ausencia de sistemas de activación metabólica [71], si bien otros autores habían obtenido anteriormente resultados negativos con ese mismo test [72]. En el test de *síntesis de DNA no programada*, o de reparación del DNA, encontramos también resultados contradictorios, que podrían ser debidos a las concentraciones utilizadas en cada ensayo. Algunos autores han obtenido resultados positivos en hepatocitos de rata y ratón

73?, mientras que otros refieren resultados negativos 76?. Recientemente, se han obtenido resultados positivos, aunque únicamente en un estrecho rango de concentraciones, ya que las dosis superiores resultaban citotóxicas e inocuas las inferiores. Asimismo fue observado que este efecto sobre el DNA era mucho más acusado en células epiteliales de vejiga urinaria, órgano diana de la OTA, que en hepatocitos de rata 74?. También con el test de *intercambio entre cromátidas hermanas* se han encontrado resultados diferentes: los primeros ensayos publicados no obtuvieron resultados positivos ni en cultivos primarios ni en líneas celulares 76?, pero diez años después pruebas con células epiteliales de vejiga urinaria de cerdo, pusieron de manifiesto que una concentración 100 nM de OTA aumentaba en un 41% el número de intercambios entre cromátidas hermanas respecto de los controles, mientras que concentraciones más altas resultaban citotóxicas 75?.

Tanto *in vitro* como *in vivo*, la OTA incrementa la *formación de aductos en el DNA* de manera dosis-dependiente 76,77?. Además, la OTA es capaz de inducir *micronúcleos* en células de vesículas seminales ovinas (OSV) en cultivo, debido fundamentalmente, a una acción clastogénica, si bien también es capaz de interferir en la distribución normal de los cromosomas durante la división celular 78?. También se ha comprobado la capacidad de la OTA en inducir apoptosis tanto en células en cultivo 79,80? como en tejido del túbulo renal de rata 81?, aunque no es éste un efecto propiamente genotóxico.

En este sentido, se está investigando el mecanismo por el cual la OTA ejerce su acción genotóxica. Muchos autores coinciden en establecer una relación entre peroxidación lipídica y genotoxicidad de la OTA ya que el proceso de peroxidación lipídica podría dar lugar a radicales libres con capacidad de reaccionar con el DNA 75?. En el ensayo de reparación SOS de DNA, se vio que la Vitamina E anulaba la capacidad genotóxica de la micotoxina, lo que lleva a pensar en una implicación de los procesos oxidativos 71?. Los resultados encontrados en este estudio sugieren que el intermediario último responsable de la genotoxicidad sería un radical libre de la OTA, posiblemente catalizado por peroxidasas, sin involucrar a las especies reactivas de oxígeno. A la misma conclusión llegaron otros autores al ver que *in vitro* la adición de catalasa y SOD no influía en la peroxidación lipídica producida por la OTA 82?. Sin embargo en estudios *in vivo* y mediante el tratamiento de ratones con SOD y catalasa, se observó una disminución en el número de aductos en el DNA, producidos por mecanismos que implicaban peroxidación lipídica 83?.

Algunos autores defensores de la implicación de los procesos oxidativos, han venido sugiriendo que la OTA puede ser activada por medio de una co-oxidación a través de las vías de oxidación de prostaglandinas, formando así metabolitos genotóxicos. Estudios *in vivo* han demostrado una disminución en la formación de aductos en el DNA en presencia de inhibidores de la vía de oxidación de prostaglandinas como la aspirina y la indometacina [77,84]. Posteriormente se ha descartado esta idea al descubrirse que los efectos genotóxicos en células OSV, que carecen de actividad monooxigenasa pero expresan una alta actividad prostaglandina H sintetasa (PHS), no sólo no disminuían en presencia de indometacina, sino que incluso aumentaban, posiblemente debido a la competencia de la indometacina con la OTA por la unión a proteínas plasmáticas [78]. Por lo tanto, a pesar de que estén adquiriendo cada vez más importancia los procesos de oxidación en la genotoxicidad de la OTA, todavía existen grandes incógnitas en lo referente a los mecanismos de acción implicados. Por otra parte, el hecho de que la fenilalanina no tenga ningún efecto sobre la genotoxicidad de la OTA parece excluir el papel de la inhibición de la síntesis proteica como mecanismo posible [85]. La conjugación con glutatión es una vía normal de detoxificación, no obstante, ha sido considerado recientemente como un agente activador de xenobióticos en compuestos carcinogénicos y/o electrofílicos. Se está además reafirmando la evidencia de que conjugados de glutatión son nefrotóxicos. En ratones a los que se les había provocado una depleción de glutatión, se redujo significativamente el número de aductos de DNA lo que indica que el glutatión puede estar implicado en la genotoxicidad de la OTA mediante su conjugación con la toxina o sus metabolitos, o bien por sus propiedades oxido-reductoras [83].

5. Teratogenicidad

La OTA ha resultado teratogénica en ratón, rata, hamster y gallina pero no en cerdo, debido probablemente a diferencias en la desigual transferencia placentaria entre las especies [8,86]. Se ha visto que una de las principales dianas es el sistema nervioso central y se han observado malformaciones craneales en los fetos [87,88]. De todos modos, la mayoría de estos estudios de teratogenicidad se han realizado mediante la exposición a una sola dosis de 1 mg OTA / kg pc, o superior. En ratones alimentados con dietas que contenían dosis de 30 a 200 mg/kg pc (del mismo orden que las encontradas en muchos de los alimentos contaminados), durante y

antes del período de gestación, no se observaron efectos en la reproducción en cuanto al número de nacimientos y tamaño y peso de las crías [59].

6. Efecto congestivo y hemorrágico

Después de varios días de administración de 4 mg de OTA/kg pc en rata, aparecen hemorragias que coinciden con una disminución de fibrinógeno, factores de coagulación II, VII, X y trombocitos. El síndrome se asemeja en este caso al producido por la carencia de vitamina K [89]. Existen distintas hipótesis para explicar este efecto:

- a) La OTA tiene acción antivitamina K, por lo que inhibe la síntesis de factores implicados en el complejo protombínico.
- b) La OTA disminuye la síntesis proteica en el hígado y por consiguiente la producción de factores plasmáticos de la hemostasia como el fibrinógeno.
- c) La OTA podría actuar específicamente sobre la línea megacariocitaria responsable de la producción de plaquetas [8].

7. Alteración del metabolismo de los hidratos de carbono

Se ha demostrado que la OTA ejerce un efecto negativo sobre el metabolismo de la glucosa: provoca una acumulación de glucógeno en el hígado al inhibir la activación por parte del AMP-cíclico de la fosforilasa quinasa, responsable de la transformación de glucógeno en glucosa 1-P [8]. Además, la OTA causa un aumento de la glucosa en sangre debido a la inhibición de la actividad fosfoenol piruvato carboxiquinasa (PEPCK), enzima clave en la gluconeogénesis renal. En cerdos, una dosis de 4 g/kg pc es suficiente para inhibir la PEPCK en un 50%, mientras que se necesita una dosis de 1000-2000 g/kg pc en ratas [28].

Mecanismos de acción

1. Inhibición de la síntesis de proteínas

El principal mecanismo de acción implicado en la toxicidad de la OTA es la inhibición de la síntesis de proteínas. La OTA inhibe la síntesis proteica a nivel post-transcripcional por inhibición competitiva de la Phe-tRNA sintetasa. La OTA compite con la Phe en la unión con su correspondiente RNA de transferencia, reacción catalizada por la Phe tRNA sintetasa.

Inhibe las dos reacciones catalizadas por la Phe-tRNA sintetasa: la activación de la Phe y su fijación sobre el tRNA. Este mecanismo provoca una gran variedad de efectos tóxicos, ya que se puede producir la carencia de determinadas enzimas [90-92]. A pesar de que la afinidad de la OTA por la Phe-tRNA sintetasa es mucho menor que la que presenta la propia Phe, la OTA es probablemente muy efectiva cuando se acumula en las células ya que la concentración intracelular de Phe es pequeña [11]. De este modo, experimentalmente la inhibición proteica se puede prevenir completamente mediante la adición simultánea de OTA y Phe en el medio de cultivo [92].

2. Peroxidación lipídica

Se han realizado diversos estudios *in vitro* sobre peroxidación lipídica en presencia de OTA en microsomas aislados de hígado de rata. En uno de ellos se observó que el hierro estimulaba la peroxidación y que ésta era dependiente de NADPH ya que la adición de un quelante del Fe e inhibidores de NADPH citocromo P450 reductasa inhibían el proceso [63]. Se propuso la siguiente hipótesis: la NADPH-citocromo P450 reductasa reduciría el Fe^{3+} , que previamente habría formado un quelato con la OTA, a Fe^{2+} [28,93]. En cuanto a la participación del citocromo P450, parece que no está implicado en los sistemas *in vitro*, pero no resulta clara su intervención *in vivo* [63,94,95].

No existen datos concluyentes en cuanto a la formación por medio de este mecanismo de aniones superóxido, peróxidos de hidrógeno y radicales hidroxilo. Mientras que algunos autores sugieren su implicación [28,83], otros descartan esta hipótesis [63].

3. Secuestro del calcio microsomal

Un efecto que se ha relacionado con la peroxidación lipídica es la acumulación de calcio intracelular. El retículo endoplasmático juega un papel importante en la homeostasis del calcio intracelular. Varios estudios indican que la inhibición en la captación de calcio a través del retículo endoplasmático del hígado es un episodio temprano causado por la peroxidación lipídica [28]. Se ha demostrado que la actividad de bombeo de calcio resulta dañada tanto *in vivo* como *in vitro* por acción de la OTA [82]. Al tratar ratas con 10 mg/kg p.c., la captación de calcio descendía en un 42-45 %, y la adición de 10 μ M de OTA a un cultivo de microsomas hepáticos de rata provocaba una disminución de un 80% en el secuestro de

calcio. Debido a que estos efectos no sucedían en ausencia de NADPH, se pensó que la peroxidación lipídica debía ser el mecanismo causante.

Bibliografía

1. Van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L, Scott B, Theron JJ (1965) Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by "Aspergillus ochraceus" wilh. *Nature* 4976(205): 1112-1113.
2. Creppy EE, Betbeder AM, Gharbi A, Counord J, Castegnaro M, Bartsch H, Moncharmont P, Fouillet B, Chambon P, Dirheimer G(1991) Human ochratoxicosis in France. En: M Castegnaro, R Plestina, G Dirheimer, IN Chernozemsky, H Bartsch. *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours*. Lyon: IARC Science Publications No.115: 145.
3. Pitt JL. The current role of "Aspergillus" and "Penicillium" in human and animal health (1994) *Journal of Medical and Veterinary Mycology* 32 (Suppl.1): 17-32.
4. Cvetnic Z, Pepeljnjak S (1990) Ochratoxinogenicity of *Aspergillus ochraceus* strains from nephropathic and non-nephropathic areas in Yugoslavia. *Mycopathologia* 110: 93-99.
5. Adebajo LO, Idowu AA (1994) Mycoflora, and mycotoxins production in nigerian corn and corn-based snacks. *Mycopathologia* 126: 183-192.
6. Moss MO (1996) Mode of formation of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*, 13: 5-9.
7. Ramos AJ, Labernia N, Marin S, Sanchis V, Magan N (1998) Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxin production by three strains of "Aspergillus ochraceus" on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal of Food Microbiology* 44: 133-40.
8. Galtier P (1975) Metabolisme et mode d'action de l'ochratoxine A. *Les mycotoxines. Colloque INSERM* 46: 69-78.
9. Delacruz L, Bach PH (1990) The role of ochratoxin A metabolism and biochemistry in animal and human nephrotoxicity. *Journal of Biopharmaceutical Sciences* 1: 277-304.
10. Galtier P (1991) Pharmacokinetics of ochratoxin A in animals. En: En: M Castegnaro, R Plestina, G Dirheimer, IN Chernozemsky, H Bartsch. *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours*. Lyon: IARC Science Publications No. 115: 187.
11. Kuiper-Goodman T, Scott PM (1989) Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedical and Environmental Sciences* 2: 179-248.
12. IARC. (1993) Ochratoxin A. En: Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans* 56: 489-521.
13. Hagelberg S, Hult K, Fuchs R (1989) Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. *Journal of Applied Toxicology* 9: 91-96.
14. Stojkovic R, Hult K, Gamulin S, Plestina R (1984) High affinity binding of ochratoxin A to plasma constituents. *Biochemistry International* 9: 33-38.
15. Fuchs R, Hult K (1992) Ochratoxin A in blood and its pharmacokinetic properties. *Food and Chemical Toxicology* 30: 201-204.

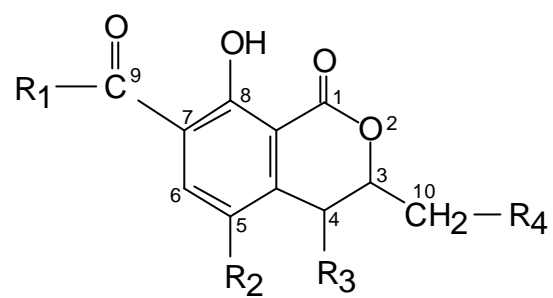
16. Omar RF, Gelboin HV, Rahimtula AD (1996) Effect of cytochrome P450 induction on the metabolism and toxicity of ochratoxin A. *Biochemical Pharmacology* 51: 207-216.
17. Stormer FC, Storen O, Hansen CE, Pedersen JI, Aasen AJ (1983) Formation of (4R)-and (4S)-4-Hydroxyochratoxin A and 10-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by rabbit liver microsomes. *Applied and Environmental Microbiology* 45: 1183-1187.
18. Creppy EE, Chakor K, Fisher MJ, Dirheimer G (1990) The mycotoxin ochratoxin A is a substrate for phenylalanine hydroxylase in isolated rat hepatocytes and "in vivo". *Archives of Toxicology* 64: 279-284.
19. Xiao H, Marquardt RR, Abramson D, Frohlich AA (1996) Metabolites of ochratoxins in rat urine and in a culture of "Aspergillus ochraceus". *Applied and Environmental Microbiology* 62: 648-655.
20. Storen O, Holm H, Stormer FC. Metabolism of ochratoxin A by rats. *Applied and Environmental Microbiology* 44: 785-789.
21. Fink-Gremmels J, Blom M, Vannijnanten FW (1993) "In vitro" investigations on ochratoxin A metabolism. En: . EE Creppy, M Castegnaro, G Dirheimer. Human ochratoxicosis and its pathologies. Colloque INSERM, John Libbey Eurotext Ltd, 231: 67-74.
22. Kumagai S (1985) Ochratoxin A: plasma concentration and excretion into bile and urine in albumin-deficient rats. *Food and Chemical Toxicology* 23: 941-943.
23. 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 the AOAC International* 76: 842-846.
24. Li S, Marquardt RR, Frohlich AA, Vitti TG, Crow G (1997) Pharmacokinetics of ochratoxin A and its metabolites in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 145: 82-90.
25. Micco C, Ambrozzi MA, Miraglia M, Brevi C, Onori R, Benelli L (1991) Contamination of human milk with ochratoxin A. En: M Castegnaro, R Plestina, G Dirheimer, IN Chernozemsky, H Bartsch. Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Lyon: IARC Science Publications No. 115: 105.
26. Jonsyn FE, Maxwell SM, Hendrickse RG (1995) Ochratoxin A and aflatoxins in breast milk samples from Sierra Leone. *Mycopathologia* 131: 121-126.
27. Kuiper-Goodman T (1991) Risk assessment of ochratoxin A residues in food. En: M Castegnaro, R Plestina, G Dirheimer, IN Chernozemsky, H Bartsch. Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Lyon: IARC Science Publications No. 115: 307.
28. Marquardt RR, Frohlich AA (1992) A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *Journal of Animal Sciences* 70: 3968-3988.
29. Di Paolo N, Guarnieri A, Garosi G, Sacchi G, Mangiarotti AM, Di Paolo M (1994) Inhaled mycotoxins lead to acute renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation* 9 (Suppl 4): 116-120.
30. Scott PM (1994) *Penicillium* and *Aspergillus* toxins. En: JD Miller, Mycotoxins in Grain. Compounds other than aflatoxin,. Trenholm, Eagan Press: 261.
31. Krogh P (1987) Ochratoxins in food. En: P Krogh Mycotoxins in food. Food science and technology series of monographs, Academic Press : .97.
32. Golinski P, Hult k, Grabarkiewicz-Szczesna G, Chelkowski J, Kneblewski P, Szebiotko K. Mycotoxic porcine nephropathy and spontaneous occurrence of ochratoxin A residues in kidneys and blood of

- polish swine. *Applied and Environmental Microbiology* 47: 1210-1212.
33. Rutqvist L, Björklund NE, Hult K, Hökby E, Carlsson B (1978) Ochratoxin A as the cause of spontaneous nephropathy in fattening pigs. *Applied and Environmental Microbiology* 36: 920-925.
 34. Gibson RM, Bailey CA, Kubena LF, Huff WE, Harvey RB (1989) Ochratoxin A and dietary protein. 1. Effects on body weight, feed conversion, relative organ weight, and mortality in three-week-old broilers. *Poultry Science* 68: 1658-1663.
 35. Gibson RM, Bailey CA, Kubena LF, Huff WE, Harvey RB (1990) Impact of L-phenylalanine supplementation on the performance of three-week-old broilers fed diets containing ochratoxin A. 1. Effects on body weight, feed conversion, relative organ weight, and mortality. *Poultry Science* 69: 414-419.
 36. Sreemannarayana O, Marquardt RR, Frohlich AA, Abramson D, Phillips GD (1989) Organ weights, liver constituents, and serum components in growing chicks fed ochratoxin A. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 18: 404-410.
 37. Huff WE, Harvey RB, Kubena LF, Rottinghaus GE (1988) Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. *Poultry Science* 67: 1418-1423.
 38. Huff WE, Kubena LF, Harvey RB (1988) Progression of ochratoxicosis in broiler chickens. *Poultry Science* 67: 1139-1146.
 39. Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Doerr JA (1988) Mycotoxin interactions in poultry and swine. *Journal of Animal Science* 66: 2351-2355.
 40. Burditt SJ, Hagler WM jr, Hamilton PB (1984) Feed refusal during ochratoxicosis in turkeys. *Poultry Science* 63: 2172-2174.
 41. Jayakumar PM, Valsala KY, Rajan A (1988) Testicular pathology in experimental ochratoxicosis in ducks. *Indian Journal of Veterinary Pathology* 12: 37-41.
 42. Hamilton PB, Huff WE, Harris JR, Wyatt RD (1982) Natural occurrences of ochratoxicosis in poultry. *Poultry. Sciences* 61: 1832-1841.
 43. Elling F, Hald J, Jacobsen C, Krogh P (1975) Spontaneous toxic nephropathy in poultry associated with ochratoxin A. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica Section A* 83: 739-745.
 44. Gekle M, Silbernagl S (1996) Renal Toxicodynamics of ochratoxin A: a pathophysiological approach. *Kidney Blood Pressure Research* 19: 225-235.
 45. Gekle M, Gabner B, Freudinger R, Mildenerger S, Silbernagl S, Pfaller W, Schramek H (1998) Characterization of an ochratoxin-A-differentiated and cloned renal epithelial cell line. *Toxicology and Applied Pharmacology* 152: 282-291.
 46. Kuramochi G, Gekle M, Silbernagl S (1997) Ochratoxin A disturbs pH homeostasis in the kidney: increases in pH and HCO₃⁻ in the tubules and vasa recta. *Pfugers Archiv European Journal of Physiology* 434: 392-397.
 47. Kuramochi G, Gekle M, Silbernagl S (1997) Derangement of pH homeostasis in the renal papilla: ochratoxin A increases pH in vasa recta blood. *Nephron* 76: 472-476.
 48. Baudrimont I, Betbeder AM, Gharbi A, Pfohl-Leszkoewicz A, Dirheimer G, Creppy EE (1994) Effect of superoxide dismutase and catalase on the nephrotoxicity induced by subchronical administration of ochratoxin A in rats. *Toxicology* 89: 101-111.

49. Bozic Z, Duancic V, Belicza M, Kraus O, Skljarov I (1995) Balkan endemic nephropathy: Still a mysterious disease. *European Journal of Epidemiology* 11: 235-238.
50. Plestina R (1996) Nephrotoxicity of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants* 13: 49-50.
51. Krogh P, Elling F (1976) Fungal toxins and endemic (Balkan) nephropathy. *The Lancet*, July 3: 40.
52. Barnes JM, Carter RL, Peristianis GC, Austwick PKC, Flynn FV, Aldridge WN (1977) Balkan (endemic) nephropathy and a toxin-producing strain of "Penicillium verrucosum" var "cyclopium": an experimental model in rats. *The Lancet* 26: 671-675.
53. Achour A, El-May M, Bacha H, Hamammi M, Maaroufi K, Creppy EE (1993) Néphropathies interstitielles chroniques. Approches cliniques et étiologiques: ochratoxine A. En: EE Creppy, M Castegnaro, G Dirheimer. *Human ochratoxicosis and its pathologies. Colloque INSERM, John Libbey Eurotext Ltd*, 231: 227-234.
54. Wafa EW, Yahya RS, Sobh MA, Eraky I, El-Baz M, El-Gayar HAM, Betbeder AM, Creppy EE (1998) Human ochratoxicosis and nephropathy in Egypt: A preliminary study. *Human and Experimental Toxicology* 17: 124-129.
55. Luster MI, Germolec DR, Burlison GR, Jameson CW, Ackermann MF, Kenneth RL, Hayes HT (1987) Selective immunosuppression in mice of natural killer cell activity by ochratoxin A. *Cancer Research* 47: 2259-2263.
56. Dhuley JN (1997) Effect of some Indian herbs on macrophage functions in ochratoxin A treated mice. *Journal of Ethnopharmacology* 58: 15-20.
57. Lea T, Steien K, Stormer FC (1989) Mechanism of ochratoxin A induced immunosuppression. *Mycopathologia* 107: 153-159.
58. Thuvander A, Breitholtz-Emanuelsson A, Olsen M (1995) Effects of ochratoxin A on the mouse immune system after subchronic exposure. *Food and Chemical Toxicology* 33: 1005-1011.
59. Thuvander A, Breitholtz-Emanuelsson A, Brabencova B, Gadhasson I (1996) Prenatal exposure of Balb/c mice to ochratoxin A: effects on the immune system in the offspring. *Food and Chemical Toxicology* 34: 547-554.
60. Belmadani A, Tramu G, Betbeder AM, Steyn PS, Creppy EE (1998) Regional selectivity to ochratoxin A, distribution and cytotoxicity in rat brain. *Archives of Toxicology* 72: 656-662.
61. Bruinink A, Sidler C (1997) The neurotoxic effects of ochratoxin A are reduced by protein binding but are not affected by L-phenylalanine. *Toxicology and Applied Pharmacology* 146: 173-179.
62. Dirheimer G, Creppy EE (1991) Mechanism of action of ochratoxin A. En: M Castegnaro, R Plestina, G Dirheimer, IN Chernozemsky, H Bartsch. *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. IARC Science publications, Lyon. No.115: 171.*
63. Rahimtula AD, Béréziat JC, Bussacchini-Griot V, Bartsch H (1988) Lipid peroxidation as a possible cause of ochratoxin A toxicity. *Biochemical Pharmacology* 37: 4469-4477.
64. Kuczuk MH, Benson PM, Heath H, Hayes AW (1978) Evaluation of the mutagenic potential of mycotoxins using "Salmonella typhimurium" and "Saccharomyces cerevisiae". *Mutation Research* 53: 11-20.
65. Wehner FC, Thiel PG, Van Rensburg SJ, Demasius PC (1978) Mutagenicity to "Salmonella typhimurium" of some "Aspergillus" and "Penicillium" mycotoxins. *Mutation Research* 58: 193-203.
66. Bendele AM, Neal SB, Oberly TJ, Thompson CZ, Bewsey BJ, Hill LE, Rexroat MA, Carlton WW, Probst GS (1985) Evaluation of ochratoxin A for mutagenicity in a battery of bacterial and mammalian

- cell assays. *Food Chemical Toxicology* 23: 911-918.
67. Würgler FE, Friederich U, Schlatter J (1991) Lack of mutagenicity of ochratoxin A and B, citrinin, patulin and cneistine in "Salmonella typhimurium" TA102. *Mutation Research* 261: 209-216.
 68. Hennig A, Fink-Gremmels J, Leistner L (1991) Mutagenicity and effects of ochratoxin A on the frequency of sister chromatid exchange after metabolic activation. En: M Castegnaro, R Plestina, G Dirheimer, IN Chernozemsky, H Bartsch. *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours*. IARC Science publications, Lyon. No.115: 255.
 69. Groene EM, Hassing IGAM, Maarten JB, Seinen W, Fink-Gremmels J, Horbach GJ (1996) Development of human cytochrome P450-expressing cell lines: application in mutagenicity testing of ochratoxin A. *Cancer Research* 56: 299-304.
 70. Obrcht-Pflumio S, Chassat T, Dirheimer G, Marzin D (1999) Genotoxicity of ochratoxin A by Salmonella mutagenicity test after bioactivation by mouse kidney microsomes. *Mutation Research* 446: 95-102.
 71. Malaveille C, Brun G, Bartsch H (1994) Structure-activity studies in E.Coli strains on ochratoxin A (OTA) and its analogues implicate a genotoxic free radical and a cytotoxic thiol derivative as reactive metabolites. *Mutation Research* 307: 141-147.
 72. Sakai M, Abe K, Okumura H, Kawamura O, Sugiura Y, Horie Y, Ueno Y (1992) Genotoxicity of fungi evaluated by SOS microplate assay. *Natural Toxins* 1:27-34.
 73. Mori H, Kawai K, Ohbayashi F, Kuniyasu T, Yamazaki M, Hamasaki T, Williams GM (1984) Genotoxicity of a variety of mycotoxins in the hepatocyte primary culture/DNA repair test using rat and mouse hepatocytes. *Cancer Research* 44: 2918-2923.
 74. Dörrenhaus A, Föllmann W (1997) Effects of ochratoxin A on DNA repair in cultures of rat hepatocytes and porcine urinary bladder epithelial cells. *Archives of Toxicology* 71: 709-713.
 75. Föllmann W, Hillebrand IE, Creppy EE, Bolt HM (1995) Sister chromatid exchange frequency in cultured isolated porcine urinary bladder epithelial cells (PUBEC) treated with ochratoxin A and alpha. *Archives of Toxicology* 69: 280-286.
 76. Grosse Y, Baudrimont I, Castegnaro M, Betbeder AM, Creppy EE, Dirheimer G, Pfohl-Leszkowicz A (1995) Formation of ochratoxin A metabolites and DNA-adducts in monkey cells. *Chemico-Biological Interactions* 95: 175-187.
 77. Obrecht-Pflumio S, Grosse Y, Pfohl-Leszkowicz, Dirheimer G (1996) Protection by indomethacin and aspirin against genotoxicity of ochratoxin A, particularly in the urinary bladder and kidney. *Archives of Toxicology* 70: 244-248.
 78. Degen GH, Gerber MM, Obrecht-Pflumio S, Dirheimer G (1997) Induction of micronuclei with ochratoxin A in ovine seminal vesicle cell cultures. *Arch Toxicol* 71: 365-371.
 79. Ueno Y, Umemori K, Niimi E, Tanuma S, Nagata S, Sugamata M, Ihara T, Sekijima M, Kawai K, Ueno I, Tashiro F (1995) Induction of apoptosis by T-2 toxin and other natural toxins in HL-60 human promyelotic leukemia cells. *Natural Toxins* 3: 129-137.
 80. Refsnes M, Hetland RB, Stomer FC (1999) Ochratoxin A-induced apoptosis and cytokine response in human lung epithelial cells (A549). *Toxicology Letters* 109(Suppl 1): 73.
 81. Domijan AM, Ferencic Z, Peraica M, Radic B, Lucic A, Fuchs R (1999) Ochratoxin A induced apoptosis in rat tubular kidney tissue. *Toxicology letters* 109 (Suppl 1): 72.
 82. Khan S, Martin M, Bartsch H, Rahimtula AD (1989) Perturbation of liver microsomal calcium homeostasis by ochratoxin A. *Biochemical Pharmacology* 38: 67-72.

83. Pfohl-Leszkowicz A, Grosse Y, Kane A, Gharbi A, Baudrimont I, Obrecht S, Creppy EE, Dirheimer G (1993) Is the oxidative pathway implicated in the genotoxicity of ochratoxin A?. En: EE Creppy, M Castegnaro, G Dirheimer. Human ochratoxicosis and its pathologies. Colloque INSERM, John Libbey Eurotext Ltd, 231: 177-187.
84. Baudrimont I, Murn M, Betbeder AM, Guilcher J, Creppy EE (1995) Effect of piroxicam on the nephrotoxicity induced by ochratoxin A in rats. *Toxicology* 95:147-154.
85. Creppy EE, Baudrimont I, Betbeder AM (1995) Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A, a food contaminant. *Toxicology Letters* 82/83: 869-877.
86. Wei X, Sulik KK (1996) Pathogenesis of caudal dysgenesis/sirenomelia induced by ochratoxin A in chick embryos. *Teratology* 53: 378-391.
87. Fukui Y, Hayasaka I, Inouye M, Kameyama Y (1983) Microcephaly induced in mice by prenatal exposure to ochratoxin A. *Applied and Environmental Medicine* 27: 41-49.
88. Fukui Y, Hoshino K, Kameyama Y, Yasui T, Toda C, Nagano H (1987) Placental transfer of ochratoxin A and its cytotoxic effect on the mouse embryonic brain. *Food and Chemical Toxicology* 25: 17-24.
89. Lindner E (1995) Ochratoxina A, toxina del *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium Viridicatum*. En: Toxicología de los alimentos. Acribia S.A, Zaragoza: 126.
90. Konrad I, Rösenthaller R (1977) Inhibition of phenylalanine tRNA synthetase from "Bacillus subtilis" by ochratoxin A. *Febs letters* 83: 341-347.
91. Bunge I, Dirheimer G, Rösenthaller R (1978) "In vivo" and "in vitro" inhibition of protein synthesis in "Bacillus stearothermophilus" by ochratoxin A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 83: 398-405.
92. Creppy EE, Lugnier AJ, Beck G, Rösenthaller R, Dirheimer G (1979) Action of ochratoxin A on cultured hepatoma cells - reversion of inhibition by phenylalanine. *Febs letters* 104: 287-290.
93. Omar RF, Hasinoff BB, Mejilla F, Rahimtula AD (1990) Mechanism of ochratoxin A stimulated lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology* 40: 1183-1191.
94. Xiao H, Madhyastha S, Marquardt RR, Li S, Vodela JK, Frohlich AA, Kemppainen BW (1996) Toxicity of ochratoxin A, its opened lactone form and several of its analogs: structure-activity relationships. *Toxicology and Applied Pharmacology* 137: 182-192.
95. Omar RF, Rahimtula AD, Bartsch H (1991) Role of cytochrome P-450 in ochratoxin A-stimulated lipid peroxidation. *Journal of Biochemical Toxicology* 6: 203-209.



Abreviatura	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
OTA	Ph-CH ₂ CH(COOH)NH	Cl	H	H
OTB	Ph-CH ₂ CH(COOH)NH	H	H	H
OTC	Ph-CH ₂ CH(COOEt)NH	Cl	H	H

Figura 1. Ocratoxina A y análogos

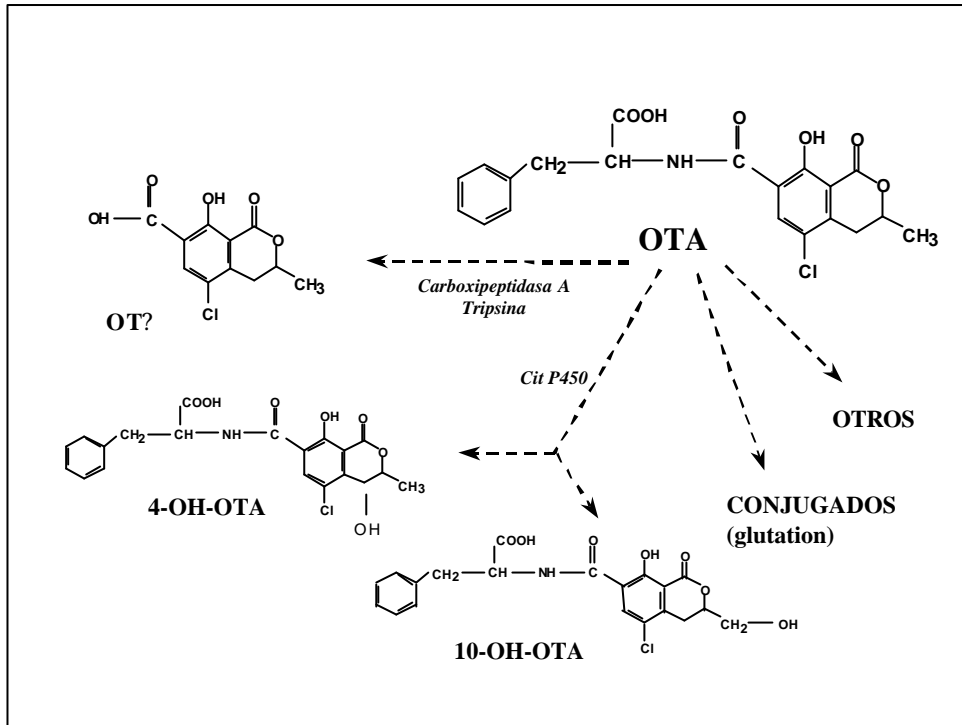


Figura 2. Metabolitos de la Ocratoxina A

Tabla 1. Datos de DL_{50} en distintas especies animales por distintas vías de administración
(*Kuiper-Goodman y Scott, 1989*)

DL_{50} (mg/kg pc)	Oral	ip	iv
Ratón	46 - 58,3	22 - 40,1	25,7 - 33,8
Rata	20 - 30,3	12,6	12,7
Perro	0,2		
Cerdo	1		
Pollo	3,3		