

Artículo de Revisión

MECANISMOS DE TOXICIDAD DE FUMONISINA B₁ EN CÉLULAS ANIMALES Y VEGETALES

TOXICITY MECHANISMS OF FUMONISIN B₁ IN ANIMAL AND PLANT CELLS

*Theumer M, Mary V, Arias S, Rubinstein H**

*Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET),
Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas,
Universidad Nacional de Córdoba, X5000HUA Córdoba, Argentina.*

Recibido: 28 de febrero de 2012.

Aceptado: 04 de junio de 2012.

Resumen

El riesgo toxicológico asociado con las micotoxinas se ha convertido en un aspecto central del problema de la invasión fúngica de los cultivos o de los granos almacenados ya que originan pérdidas anuales de varios millones de dólares, no sólo debido a los problemas causados en la salud de la población humana y animal, sino además por la desvalorización de los productos agrícolas. Dentro de las micotoxinas, las fumonisinas son producidas principalmente por el hongo *Fusarium verticillioides*, que con mayor frecuencia contaminan el maíz en todo el mundo. Dada la alta frecuencia de contaminación con Fumonisina B₁ existe la posibilidad de que estas toxinas jueguen un rol de virulencia en el maíz, sin embargo los mecanismos involucrados no han sido completamente esclarecidos hasta el presente. Desde el punto de vista de la planta como hospedador, la resistencia genética parece ser la mejor acción preventiva contra la contaminación con fumonisinas. Desde el punto de vista del microorganismo, los patógenos emplean una serie de estrategias tendientes a debilitar o matar a la planta, a fin de obtener acceso a nutrientes, donde varios "efectores" podrían participar en el proceso de infección y en la interacción planta-hongo parásito como facto-

res de virulencia o toxinas. Hasta el momento en la compleja interacción entre *F. verticillioides* y el maíz, la investigación sobre el papel potencial de producción de fumonisina en el desarrollo de la enfermedad ha producido resultados controvertidos. Por otro lado la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer clasificó a las fumonisinas como compuestos probablemente carcinogénicos para humanos (grupo 2B). Se han aportado datos epidemiológicos que sugieren una asociación entre la ingesta diaria de fumonisinas y la incidencia de cáncer de hígado y esófago. El mecanismo de toxicidad de Fumonisina B₁ más reconocido es la inhibición de la enzima celular ceramida sintetasa y la consecuente disrupción del metabolismo lipídico y la acumulación de los sustratos naturales de esta enzima, esfingina y esfingosina y sus formas de equilibrio. Éstas bases esfingoides son bioactivas y participan en vías de señalización. Por otra parte, también se relaciona a las fumonisinas con actividad genotóxica, pudiendo la producción de especies reactivas de oxígeno, secundaria a la exposición a Fumonisina B₁, ser una vía de inducción de genotoxicidad indirecta causada por la toxina. La oxidación de los componentes celulares puede producir cambios en la per-

***Autor Corresponsal:**

Hector Rubinstein, Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI -CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Haya de la Torre y Medina Allende, Ciudad Universitaria, Córdoba, X5000HUA, Argentina. Tel.: +54 351 4334164; fax: +54 351 4333048. Correo Electrónico: hectorru@fcq.unc.edu.ar

meabilidad y fluidez de membranas, pérdida de funciones de organelas, alteración de la conformación y/o actividad de proteínas, del metabolismo celular por proteólisis, alteración de la inmunogenicidad, mutaciones y/o inestabilidad cromosomal, comprometiendo la viabilidad celular y/o conducir a la muerte. Además las especies reactivas de oxígeno están involucradas en diferentes vías de señalización, pudiendo alterar el ciclo celular.

Palabras clave: Fumonisininas, especies reactivas de oxígeno, bases esfingoides.

Abstract

Toxicological risk associated with mycotoxins has become a central aspect of the fungal invasion in crops or stored grains, as it leads to losses of several million dollars, not only because of the problems caused in human population and animal health but also by the devaluation of agricultural products. Within mycotoxins, the fumonisins are mainly produced by the *Fusarium verticillioides* fungus which most frequently contaminates maize around the world. Given the high frequency of contamination with Fumonisin B₁ it is possible for these toxins to play a role in virulence in maize; however, the mechanisms involved in such issue have not been completely clarified to date. From the point of view of the plant as a host, genetic resistance seems to be the best preventive action against pollution with fumonisins. From the point of view of the microorganism, pathogens employ a number of strategies aimed to weaken or kill the plant in order to obtain access to nutrients, where several "effectors" could be involved in the process of infection. So far in the complex interaction between *F. verticillioides* and corn, research on the potential role of production of fumonisins in the development of the disease has produced controversial results. On one hand the international agency on research on cancer classified the fumonisins as probably carcinogenic compounds for humans (group 2B). Epidemiological data suggest an

association between daily intake of fumonisins and the high incidence of liver and esophagus cancer. The most recognized mechanism of toxicity for Fumonisin B₁ is the inhibition of cellular enzyme ceramide synthase and the consequent disruption of lipid metabolism with accumulation of natural substrates for this enzyme, sphinganine and sphingosine, and their forms of balance. These sphingoid bases are bioactive and they are involved in signaling pathways. On the other hand, the fumonisins are also linked to genotoxic activity, allowing the production of reactive oxygen species, secondary to exposure to Fumonisin B₁, like an indirect way of genotoxicity caused by toxin induction. The oxidation of cellular components can produce many effects such as: changes in permeability and fluidity of membranes, loss of organelles function, alteration of the formation and/or activity of proteins, cell metabolism by proteolysis, immunogenicity alteration, mutations and/or chromosomal instability, compromising cell viability and/or lead to death. In addition the reactive oxygen species are involved in different signaling pathways, and they can alter the cell cycle.

Key words: fumonisins, reactive oxygen species, sphingoid bases.

Introducción

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de hongos filamentosos frecuentemente encontradas en los cereales y alimentos a base de cereales, que causan efectos adversos en humanos y animales. Actualmente, el riesgo toxicológico asociado con las micotoxinas se ha convertido en un aspecto central del problema de la invasión fúngica de los cultivos o de los granos almacenados (Devries *et al.*, 2002). En consecuencia, dichos metabolitos originan pérdidas anuales de varios millones de dólares, no sólo debido a los problemas causados en la salud de la población humana y animal, sino además por la desvalorización de los productos agrícolas.

Dentro de las micotoxinas, las fumonisinas (FBs), son producidas principalmente por el hongo *Fusarium verticillioides*, un patógeno de plantas no obligado, que con mayor frecuencia contamina el maíz (*Zea mays*) en todo el mundo. En 1988, investigadores sudafricanos lograron aislar e identificar las fumonisinas y constataron que estas sustancias eran capaces de producir leucoencefalomalacia en caballos (Marasas *et al.*, 1988). Posteriormente, el consumo de FBs se relacionó con el síndrome de edema pulmonar en cerdos y hepatotoxicidad en ratas (Gelderblom *et al.*, 1991; Theumer *et al.*, 2002). La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) clasificó a las FBs como compuestos probablemente carcinogénicos para humanos (grupo 2B) (IARC, 1993). Por otra parte, se han aportado datos epidemiológicos que sugieren una asociación entre la ingesta crónica de FBs y las altas incidencias de cáncer de hígado y esófago registradas en Sudáfrica (Sydenham *et al.*, 1990). Con respecto a esto, se informó que en ciertas regiones de Sudáfrica, el maíz utilizado para la alimentación humana contenía niveles de fumonisina B₁ (FB₁) por encima de 100 mg kg⁻¹.

Hasta la fecha, 28 FBs han sido aisladas y clasificadas en cuatro series conocidas como A, B, C y P. Los análogos de fumonisina B, que comprenden la FB₁, FB₂ y FB₃, son las formas más comunes que se encuentran en maíz, siendo FB₁ la más importante del grupo debido a su prevalencia y potencia toxicológica (IPCS-WHO, 2000). FB₁ representa normalmente el 70 a 80 % de las FBs totales producidas, mientras que FB₂ normalmente aporta 15 a 25 % y FB₃ es responsable de 3 a 8 %, cuando los hongos toxicogénicos productores de FBs son cultivadas en maíz, arroz, o en medio líquido (Bezuidenhout, 1988; Marin *et al.*, 1995a; Marin *et al.*, 1995b).

Desarrollo del Tema y Discusión

Las principales enfermedades del maíz (como podredumbre de la espiga, del tallo, de la raíz y granos) han sido atribuidas al *F. verticillioides* (Cook, 1981). El patógeno

sobrevive en el suelo o en restos de cosechas y puede producir FBs biológicamente disponibles, las cuales pueden contactar las raíces del maíz. A su vez, la cantidad de FB₁ en suelo se correlaciona con el número de lesiones en hojas y disminución de peso de raíces (Williams *et al.*, 2006). No obstante, estudios conducidos en campo y laboratorio demuestran que algunas cepas de este hongo que causan infecciones asintomáticas, se comportan como endófitos (Yates *et al.*, 1997).

Una de las prácticas de manejo que puede reducir la contaminación con FBs en maíz es el uso de cultivares resistentes a especies fúngicas toxicogénicas (Clements *et al.*, 2004; Presello *et al.*, 2006; Robertson *et al.*, 2006; Presello *et al.*, 2009). Sin embargo, en la actualidad, híbridos comerciales de maíz no han resultado ser completamente resistentes (Munkvold, 2003; Lanubile *et al.*, 2011). Los mecanismos asociados con la resistencia a la infección fúngica y el grado de la enfermedad muestran una correlación con la presencia de FBs (Kleinschmid *et al.*, 2005; Robertson *et al.*, 2006), aunque en algunos casos se pueden observar lotes asintomáticos (Rheeder *et al.*, 1992; Bullerman y Tsai, 1994; Chu y Li, 1994). Con respecto a este aspecto, Presello *et al.*, (2006) evaluaron resistencia a *F. verticillioides* y *F. graminearum*, en híbridos argentinos en Canadá y Argentina y concluyeron que el genotipo de los híbridos fue más importante que los efectos genotipo-especies fúngicas o que los efectos de interacción genotipo-especie fúngica-medioambiente. Sin embargo, resultados subsecuentes indicaron que el rol de FBs depende del medio ambiente y del contexto genético en esta interacción patógeno-planta (Desjardins *et al.*, 2007).

Desde el punto de vista del microorganismo, los patógenos emplean una serie de estrategias tendientes a debilitar o matar a la planta, a fin de obtener acceso a nutrientes, donde varios "efectores" podrían participar en el proceso de infección y en la interacción planta-hongo parásito como factores de virulencia o toxinas, pudiendo también estas moléculas des-

encadenar respuestas de defensa como elicitores (Kamoun, 2006). Se han descrito muchos efectores proteicos en procesos patogénicos, tales como enzimas degradantes de la pared celular (cutinasas, hidrolasas, etc.) o que pueden ser transferidos durante la infección a las células del hospedador, a través de estructuras especializadas en nutrición como los haustorios (Dodds *et al.*, 2009). Sin embargo, los efectores no están restringidos solamente a polipéptidos, ya que metabolitos secundarios como fitotoxinas suelen participar en mecanismos de virulencia y patogenicidad. Compuestos fúngicos como los tricotecenos, los cuales son producidos por algunas especies de *Fusarium* spp., han demostrado ser factores de virulencia en la infección a plantas de trigo (Proctor *et al.*, 1995; Bai *et al.*, 2002). Teniendo en cuenta el amplio espectro en la estructura molecular de estos compuestos se han observado diferentes mecanismos de acción. Nivalenol y deoxinivalenol (tricotecenos tipo B) pueden suprimir la respuesta de defensa, mientras que la micotoxina T2 y diacetoxircipenol promueven la muerte celular, por activación de un elicitador como vía de señalización, en *Arabidopsis* (Nishiuchi *et al.*, 2006; Masuda *et al.*, 2007). También se ha descrito como un factor de patogenicidad a una toxina de *Alternaria alternata* (AAL) capaz de inducir enfermedad en plantas de tomates susceptibles (Abbas *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 1996; Spassieva *et al.*, 2002). Curiosamente, AAL tiene propiedades toxicológicas y características estructurales similares a las de FB₁, sugiriendo fuertemente una participación directa de FB₁ en la interacción de *Fusarium*-maíz y en mecanismos de fitotoxicidad. Investigaciones toxicológicas sugieren que las fitotoxinas pueden tener efectos diferentes de acuerdo a su concentración. Bajas concentraciones de la toxina puede resultar en la promoción del crecimiento y supervivencia de la planta, en lugar de causar la inhibición del crecimiento o la muerte (Yates *et al.*, 1997; Calabrese y Baldwin, 2003; Prithiviraj *et al.*, 2007).

Hasta el momento, en la compleja interacción entre *F. verticillioides* y el maíz, la investigación sobre el papel potencial de producción de FBs en el desarrollo de la enfermedad ha produ-

cido resultados controvertidos (Abbas y Boyette, 1992; Doehlert *et al.*, 1994; Lamprecht *et al.*, 1994). Glenn y colaboradores (2008) y Williams *et al.*, (2006, 2007) demostraron que sólo cepas de *F. verticillioides* productoras de FBs fueron capaces de causar síntomas de enfermedades foliares en algunos híbridos de maíz. En general, las enfermedades fúngicas afectan el crecimiento de las plantas a través de varios procesos diferentes. Patógenos foliares pueden reducir el área de follaje, disminuyendo la capacidad de asimilación disponible para el crecimiento (Snetselaar y Mims, 1992; Ward *et al.*, 1999). Patógenos del tallo pueden reducir el crecimiento interfiriendo con el movimiento del agua (Agrios, 2005). Patógenos de la raíz perturban la disponibilidad de agua y la nutrición de la planta afectando al crecimiento indirectamente (Nagy *et al.*, 2004) y pueden influir en los efectos de otras enfermedades (Agrios, 2005).

Dada la alta frecuencia de contaminación con FB₁ existe la posibilidad de que estas toxinas jueguen un rol de virulencia en el maíz, sin embargo los mecanismos involucrados no han sido completamente esclarecidos hasta el presente. Existen varios modelos en plantas que evidencian la inhibición de la enzima celular ceramida sintetasa por la presencia de FB₁ y AAL y la consecuente disrupción del metabolismo de lípidos celulares (Abbas y Boyette, 1992; Abbas *et al.*, 1998). Los esfingolípidos tienen un papel estructural en las membranas biológicas pero también poseen una función regulatoria en la célula, como ser componentes iniciales en la señalización de la respuesta de defensa a patógenos. De esta manera la actividad de enzimas como ATPasa y NADPH oxidasa pueden verse afectada por las especies lipídicas de la membrana plasmática en plantas.

Entre las reacciones de defensa primaria de una planta desencadenada por la detección de un patógeno se encuentra la respuesta de hipersensibilidad (HR), la cual consiste en lesiones que llevan a la muerte celular en los sitios de infección. Una característica de esta reacción es la rápida e intensa producción de especies reactivas de oxígeno (ERO). Recientemente se ha indicado que las ERO pueden ser-

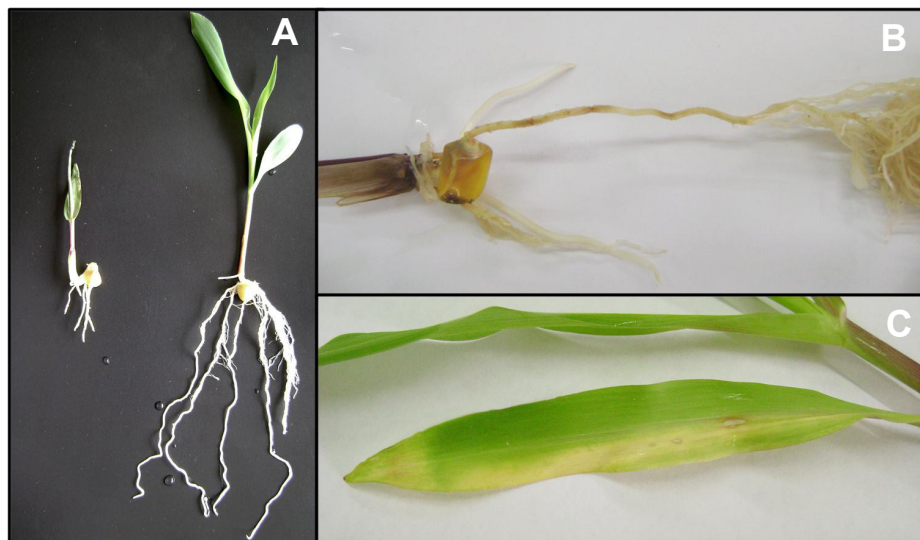


Figura 1. Efectos fitotóxicos en híbridos de maíz sensibles y resistentes tratados con FB_1 (Arias *et al.*, 2012).

A: Efectos fitotóxicos en híbrido resistente (HR) de maíz en respuesta a tratamientos con fumonisin (FB_1 : 20 ppm) (izquierda), en comparación con una plántula no tratada (derecha) a los 7 días post-siembra.

B: Lesiones de tipos necróticas en raíces de híbridos susceptibles (HS) de maíz tratados con fumonisin (FB_1 : 20 ppm), a los 21 días post-siembra.

C: Amarilleamiento y marchitez en hojas de híbridos susceptibles (HS) de maíz tratados con fumonisin (FB_1 : 20 ppm), a los 21 días post-siembra.

vir como protección contra patógenos invasores y como activadores de señales para posteriores reacciones de defensa en la planta, incluyendo la HR (Cecchini *et al.*, 2009). Aún se encuentran poco dilucidados los mecanismos por los cuales la exposición al peróxido de hidrógeno causa varias respuestas celulares, como la activación de MAPK quinases, aumento en la producción de óxido nítrico, así como la acumulación de ácido salicílico (SA) y etileno (Ogawa *et al.*, 2005).

Por otro lado las micotoxinas ingresan en la cadena alimentaria de humanos y de animales de producción induciendo distintas enfermedades conocidas como micotoxicosis, que pueden ser agudas, subcrónicas o crónicas (Hengstler *et al.*, 1999). Las micotoxinas que tienen mayor impacto en este aspecto son las aflatoxinas (AFs), fumonisin (FBs) y ocratoxinas (OTAs).

Las AFs son producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. La AFB_1 es la más importante del grupo debido a su toxicidad, efectos mutagénicos, inmunomoduladores y

carcinogénicos (Bondy y Pestka, 2000; Guindon *et al.*, 2008). La ingestión crónica de AFs con la dieta ha sido asociada con las altas proporciones de carcinoma hepatocelular (CHC) primario en humanos, observadas en regiones de Brasil, Italia, China, África y Taiwan (Nogueira *et al.*, 2009; El-Serag, 2002; Talamini *et al.*, 2006; Szymańska *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2009). Desde el punto de vista teórico, en el desarrollo de estos casos de CHC podrían estar involucrados dos mecanismos fundamentales: a) la ya reconocida acción genotóxica de la AFB_1 sobre los hepatocitos, y b) la alteración de los mecanismos fisiológicos de inmunovigilancia tumoral. El mecanismo de acción más reconocido e importante de AFB_1 es la bioactivación por el complejo citocromo P450, que genera, entre otros metabolitos, un exoepóxido (Mace *et al.*, 1997) con capacidad mutagénica (Van Vleet *et al.*, 2002; Brown *et al.*, 2009). En 1992, Barton y colaboradores descubren que AFB_1 induce mutaciones en el gen supresor de tumor p53 y en consecuencia, se alteran vías reguladas por este gen, como el ciclo celular, la reparación del DNA dañado y apoptosis. También

se conoce que ésta toxina genera ERO (Ubagai *et al.*, 2008, Shen *et al.*, 1994), sin embargo la importancia en la toxicología de AFB₁ necesita ser estudiada con mayor profundidad.

La FB₁ es sintetizada principalmente por *F. verticillioides* y *F. proliferatum*. Es la más importante de las FBs por su incidencia en los alimentos y por los efectos tóxicos producidos (Silva *et al.*, 2009, Gelderblom *et al.*, 1991). En humanos, existe una fuerte correlación entre el consumo de alimentos contaminados con FBs y las altas incidencias de cáncer de hígado y esófago registradas en Brasil, Sudáfrica (Van der Westhuizen *et al.*, 2003; 2008), China (Sun *et al.*, 2007) e Italia (Doko y Visconti, 1994). El mecanismo de toxicidad de FB₁ más reconocido es la inhibición de la enzima celular ceramida sintetasa y la consecuente disrupción del metabolismo lipídico y la acumulación de los sustratos naturales de esta enzima, esfingina (Sa) y esfingosina (So) y sus formas de equilibrio. Éstas bases esfingoides son bioactivas y participan en vías de señalización. Por otra parte, también se relaciona a las FBs con actividad genotóxica (Gelderblom *et al.*, 2008; Domijan *et al.*, 2007). En nuestro laboratorio hemos observado en células mononucleares de bazo (CMB) cultivadas con FB₁ y en CMB provenientes de ratas intoxicadas de manera subcrónica con ésta toxina, genotoxicidad por la técnica del cometa y por la formación de micronúcleos (Theumer *et al.*, 2010). La producción de ERO, secundaria a la exposición a FB₁, podría ser una vía de inducción de genotoxicidad indirecta causada por la toxina. Respecto a la inducción de estrés oxidativo existen datos contradictorios, en hepatocitos obtenidos de ratas Wistar expuestas por tiempos cortos a FB₁, no se afectan los parámetros de estrés oxidativo (Domijan *et al.*, 2008), sin embargo se encuentra alteración del estado oxidativo de hepatocitos y células de riñón, siendo éstas últimas las más afectadas. Además se ha descrito que FB₁ es capaz de alterar el ciclo celular, induce arresto en fase G₀/G₁ en células epiteliales intestinales (Bouhet *et al.*, 2004) y disrumpe el ciclo celular en la transición G₁/S en hepatocitos de rata (Voss *et al.*, 2006).

La co-contaminación de alimentos con AFB₁ y FB₁ es ampliamente conocida en muchas partes del mundo, y ha sido implicada en el desarrollo de carcinomas hepatocelulares en humanos y animales (Li *et al.*, 2001). En Argentina se demostró la coexistencia de estas micotoxinas en maíz y alimentos derivados (Vargas *et al.*, 2001; González Pereyra *et al.*, 2008). Hasta la fecha se han estudiado distintos aspectos de la toxicología individual de AFB₁ y FB₁, pero existen pocos trabajos que caractericen la posible interacción de AFB₁ y FB₁ *in vivo* e *in vitro*. La presencia de más de una micotoxina puede no modificar la toxicidad que tienen estos compuestos individualmente o pueden encontrarse efectos aditivos, antagonistas, o presentar sinergismo, ya sea interfiriendo en su metabolismo o modificando algún proceso bioquímico básico del cual depende la toxicidad. En nuestro grupo hemos desarrollado un modelo de intoxicación oral subcrónica en ratas Wistar con AFB₁, FB₁ y con la mezcla de ambas micotoxinas. El hígado fue el principal órgano blanco de acción de la mezcla, donde se observaron apoptosis y aumento de mitosis, posiblemente como respuesta compensadora de la muerte celular. Los perfiles de activación de caspasas (enzimas involucradas en la muerte celular por apoptosis) en hepatocitos expuestos *in vivo* e *in vitro* a las micotoxinas en forma individual y conjunta, parecen indicar que existen distintos mecanismos de acción tóxica en cada caso. Al respecto, los datos obtenidos hasta el presente sugieren que la posible inducción de ERO en los hepatocitos expuestos a las micotoxinas en forma individual o conjunta, estarían involucrados en este desbalance entre la proliferación y muerte celular en hígado, aumentando la predisposición al desarrollo de neoplasias hepatocelulares primarias (Theumer, 2004). La inducción de ERO podría estar relacionada, además, con las alteraciones en la inmunobiología de CMB y de células peritoneales adherentes (CPA), encontradas en el modelo de micotoxicosis subcrónica en ratas Wistar (Theumer *et al.*, 2002; Theumer *et al.*, 2003). Concretamente, se observó que la administración conjunta de ambas toxinas indujo efectos que no pueden ser considerados como la simple sumatoria de la toxicidad causada individualmente por cada metabolito fúngico. Además, las accio-

nes inmunotóxicas de estos compuestos fueron dependientes de la forma en la que las células fueron expuestas a las toxinas (*in vivo* ó *in vitro*) (Theumer *et al.*, 2002; Theumer *et al.*, 2003).

Las ERO derivan del metabolismo del oxígeno molecular. Incluyen anión radical superóxido, oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno (H₂O₂), radical hidroxilo, etc. En las células aeróbicas estos metabolitos existen normalmente en balance con las defensas antioxidantes. El estrés oxidativo ocurre cuando este balance se rompe por un exceso de ERO y/o por una disminución de antioxidantes. La peroxidación lipídica genera principalmente α,β -aldehídos reactivos insaturados, como malonaldehído (MDA), 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) y 2-propanal, e isoprostanos. Éstos α,β -aldehídos tienen alta actividad biológica y exhiben numerosos efectos citotóxicos, mutagénicos y genotóxicos (Uchida, 2003). Por otra parte, las proteínas son los principales blancos de ERO, los carbonilos de proteínas se consideran el marcador más general y ampliamente usado de oxidación de proteínas *in vitro* e *in vivo* (Levine *et al.*, 2000), porque pueden ser generados por casi todas las ERO. Estudios en humanos sostienen que el daño oxidativo al DNA es un importante factor mutagénico y carcinogénico. Usualmente 8-OHdG es medida como índice de daño oxidativo en DNA, y se acumula en carcinoma hepatocelular (Ichiba *et al.*, 2003; Chuma *et al.*, 2008). Debido a la oxidación de los componentes celulares se producen cambios en la permeabilidad y fluidez de membranas, pérdida de funciones de organelos, alteración de la conformación y/o actividad de proteínas, del metabolismo celular por proteólisis, inmunogenicidad alterada (Stadtman *et al.*, 2003), mutaciones y/o inestabilidad cromosomal pudiendo comprometer la viabilidad celular

y/o conducir a la muerte. Además las ERO están involucradas en diferentes vías de señalización, conduciendo a la proliferación, diferenciación, crecimiento celular, apoptosis, es decir, pueden alterar el ciclo celular (Antosiewicz *et al.*, 2006; Sachse y Wolf, 2007).

Conclusiones

Teniendo en cuenta la importancia en la toxicología en células animales y vegetales por FB₁, es necesario profundizar los estudios de su participación en los mecanismos involucrados en la fisiopatogenia de la micotoxicosis producida. Con este fin, en nuestro laboratorio desarrollamos una línea de investigación sobre la influencia de genotipos susceptibles y resistentes de maíz en las etapas tempranas de la infección por *Fusarium verticillioides* y la participación de fumonisina como efector. Los resultados obtenidos hasta el momento revelarían que FB₁ podría inducir senescencia temprana en las plántulas como así también variaciones en las tasas de crecimiento y en el momento en que se produce la aparición de síntomas de la enfermedad (Figura 1). Además la producción de fumonisinas puede favorecer el desarrollo del patógeno y el cambio a una fase más agresiva, acelerando así la transición desde una asintomática a una fase sintomática (Arias *et al.*, 2012). Por otro lado, en otra de las líneas de investigación de nuestro laboratorio, se está evaluando la participación de la generación de ERO en la inmunotoxicidad por AFB₁ y FB₁ y la probable interacción de ambas toxinas, para inducir estrés oxidativo en células mononucleares de bazo de ratas Wistar y conocer las rutas metabólicas implicadas en la acumulación de ERO y la contribución de sus distintas especies para inducir daño oxidativo biomolecular (Mary *et al.*, 2012).

Literatura citada

Abbas HK, Boyette CD. Phytotoxicity of fumonisin B1 on weed and crop species. *Weed Technology* 1992; 6: 548-552.

- Abbas HK, Paul RN, Riley RT, Tanaka T, Shier WT. Ultrastructural effects of AAL-toxin TA from the fungus *Alternaria alternata* on black nightshade (*Solanum nigrum L.*) leaf discs and correlation with biochemical measures of toxicity. *Toxicon* 1998; 36(12): 1821-1832.
- Agrios GN. *Plant Pathology*. 5a. edición. Londres: Editorial Elsevier Academic Press, 2005. 106, 109, 534-550.
- Antosiewicz J, Herman-Antosiewicz A, Marynowski SW, Singh SV. C-Jun NH(2)-terminal kinase signaling axis regulates diallyl trisulfide-induced generation of reactive oxygen species and cell cycle arrest in human prostate cancer cells. *Cancer Research* 2006; 6: 5379-5386.
- Arias SL, Theumer MG, Mary VS, Rubinstein HR. Fumonisin: Probable role as effectors in the complex interaction of susceptible and resistant maize hybrids and *Fusarium verticillioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2012; 60: 5667-5675.
- Bai GH, Desjardins AE, Plattner RD. Deoxynivalenol-nonproducing *Fusarium graminearum* causes initial infection, but does not cause disease spread in wheat spikes. *Mycopathologia* 2002; 153(2): 91-98.
- Barton CM, Staddon SL, Hughes CM, Hall PA, O'Sullivan C, Kloppel G, *et al.* Abnormalities of the p53 tumour suppressor gene in human pancreatic cancer. *British Journal of Cancer* 1991; 64(6): 1076-1082.
- Bezuidenhout SG, Gelderblom WCA, Gorst-Allman CP, Horak RM, Marasas WFO, Spitelle G, *et al.* Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* 1988; 743-745.
- Bondy GS, Pestka JJ. Immunomodulation by fungal toxins. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews* 2000; 3: 109-143.
- Bouhet S, Hourcade E, Loiseau N, Fikry A, Martinez S, Roselli M, *et al.* The mycotoxin fumonisin B₁ Alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal epithelial cells. *The Journal of Toxicological Sciences* 2004; 77: 165-171.
- Brown KL, Bren U, Stone MP, Guengerich FP. Inherent stereospecificity in the reaction of aflatoxin B(1) 8,9-epoxide with deoxyguanosine and efficiency of DNA catalysis. *Chemical Research in Toxicology* 2009; 22(5): 913-917.
- Bullerman LB, Tsai WYJ. Incidence and levels of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and fumonisins in corn and corn-based foods and feeds. *Journal of Food Protection* 1994; 57(6): 541-546.
- Calabrese EJ, Baldwin LA. Hormesis: the dose-response revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2003; 43: 175-197.
- Cecchini NM, Monteoliva MI, Blanco F, Holuigue L, Álvarez ME. Features of basal and race-specific defences in photosynthetic arabidopsis thaliana suspension cultured cells. *Molecular Plant Pathology* 2009; 10 (2): 305-310.

- Clements MJ, Maragos CM, Pataky JK, White DG. Sources of resistance to fumonisin accumulation in grain and *Fusarium* ear and kernel rot of corn. *Phytopathology* 2004; 94(3): 251-260.
- Cook RJ. Water relations in the biology of *Fusarium*. In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ eds. *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*: The Pennsylvania State University Press, University Park, PA, 1981. 236-244.
- Chuma M, Hige S, Nakanishi M, Ogawa K, Natsuizaka M, Yamamoto Y, *et al.* 8-Hydroxy-2'-deoxy-guanosine is a risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Journal Gastroenterology Hepatology* 2008; 23(9): 1431-1436.
- Chu FS, Li GY. Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Applied and Environmental Microbiology* 1994; 60(3): 847-852.
- Desjardins AE, Busman M, Muhitch M, Proctor RH. Complementary host-pathogen genetic analyses of the role of fumonisins in the *Zea mays*-*Gibberella moniliformis* interaction. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 2007; 70(4-6): 149-160.
- Devries JW, Trucksess MW, Jackson LS. *Mycotoxins and food safety*. New York: Academic-Plenum Publishers, 2002.
- Dodds PN, Rafiqi M, Gan PHP, Hardham AR, Jones DA, Ellis JG. Effectors of biotrophic fungi and oomycetes: pathogenicity factors and triggers of host resistance. *New Phytologist* 2009; 183(4): 993-1000.
- Doehlert DC, Knutson CA, Vesonder RF. Phytotoxic effects of fumonisin on maize seedling growth. *Mycopathologia* 1994; 127(2): 117-121.
- Doko MB, Visconti A. Occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in corn and corn-based human foodstuffs in Italy. *Food Addit Contam* 1994; 11(4): 433-439.
- Domijan AM, Zeljezić D, Milić M, Peraica M. Fumonisin B(1): oxidative status and DNA damage in rats. *Toxicology* 2007; 232(3): 163-169.
- Domijan AM, Zeljezic D, Peraica M, Kovacevic G, Gregorovic G, Krstanac Z, *et al.* Early toxic effects of fumonisin B1 in rat liver. *Human and Experimental Toxicology* 2008; 27: 895-900.
- El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma: an epidemiologic view. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2002; 35: S72-78.
- Gelderblom WC, Kriek NP, Marasas WF, Thiel PG. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B₁, in rats. *Carcinogenesis* 1991; 12(7): 1247-1251.
- Gelderblom WC, Marasas WF, Lebepe-Mazur S, Swanevelder S, Abel S. Cancer initiating properties of fumonisin B1 in a short-term rat liver carcinogenesis assay. *Toxicology* 2008; 250 (2-3): 89-95.
- Glenn AE, Zitomer NC, Zimeri AM, Williams LD, Riley RT, Proctor RH. Transformation-mediated complementation of a FUM gene cluster deletion in *Fusarium verticillioides* restores

- both fumonisin production and pathogenicity on maize seedlings. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2008; 21(1): 87-97.
- González Pereyra ML, Pereyra CM, Ramírez ML, Rosa CA, Dalcero AM, Cavaglieri LR. Determination of mycobiota and mycotoxins in pig feed in central Argentina. *Letters in Applied Microbiology* 2008; 46(5): 555-561.
- Guindon KA, Foley JF, Maronpot RR, Massey TE. Failure of catalase to protect against aflatoxin B1-induced mouse lung tumorigenicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2008; 227(2): 179-183.
- Hengstler JG, Van der Burg B, Steinberg P, Oesch F. Interspecies differences in cancer susceptibility and toxicity. *Drug Metabolism Reviews* 1999; 31(4): 917-970.
- IARC 1993. Toxins derived from *Fusarium moniliforme*: fumonisins B₁ and B₂ and *Fusarin C*. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Lyon: World Health Organization, 1993. 445-466.
- Ichiba M, Maeta Y, Mukoyama T, Saeki T, Yasui S, Kanbe T, *et al.* Expression of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Liver International* 2003; 23: 38-45.
- Kamoun S. A Catalogue of the effector secretome of plant pathogenic omycetes. *Annual Review of Phytopathology* 2006; 44(1): 41-60.
- Kleinschmid CE, Clements MJ, Maragos CM, Pataky JK, White DG. Evaluation of food-grade dent corn hybrids for severity of *Fusarium* ear rot and fumonisin accumulation in grain. *Plant disease* 2005; 89(3): 291-297.
- Lamprecht SC, Marasas WFO, Alberts JF, Cawood ME, Gelderblom WCA, Shephard GS, *et al.* Phytotoxicity of fumonisins and TA-toxin to corn and tomato. *Phytopathology* 1994; 84(4): 383-391.
- Lanubile A, Pasini L, Lo Pinto M, Battilani P, Prandini A, Marocco A. Evaluation of broad spectrum sources of resistance to *Fusarium verticillioides* and advanced maize breeding lines. *World Mycotoxin Journal* 2011; 4(1): 43-51.
- Levine RL, Wehr N, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Determination of carbonyl groups in oxidized proteins. *Methods in Molecular Biology* 2000; 99: 15-24.
- Li FQ, Yoshizawa T, Kawamura O, Luo XY, Li YW. Aflatoxins and fumonisins in corn from the high-incidence area for human hepatocellular carcinoma in Guangxi, China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001; 49(8): 4122-4126.
- Marasas WF, Kellerman TS, Gelderblom WC, Coetzer JA, Thiel PG, van der Lugt JJ. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1988; 55(4): 197-203.
- Marin S, Sanchis V, Magan N. Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Canadian Journal of Microbiology* 1995a; 41(12): 1063-1070.

- Marin S, Sanchis V, Vinas I, Canela R, Magan N. Effect of water activity and temperature on growth and fumonisin B1 and B2 production by *Fusarium proliferatum* and *F. moniliforme* on maize grain. *Letters in Applied Microbiology* 1995b; 21(5): 298-301.
- Mace K, Aguilar F, Wang JS, Vautravers P, Gomez-Lechon M, Gonzalez FJ, *et al.* Aflatoxin B1-induced DNA adduct formation and p53 mutations in CYP450-expressing human liver cell lines. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1291-1297.
- Mary V, Theumer G, Arias S, Rubinstein H. Reactive oxygen species sources and biomolecular oxidative damage induced by aflatoxin B1 and fumonisin B1 in rat spleen mononuclear cells. *Toxicology* 2012 (en prensa).
- Masuda D, Ishida M, Yamaguchi K, Yamaguchi I, Kimura M, Nishiuchi T. Phytotoxic effects of trichothecenes on the growth and morphology of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* 2007; 58(7): 1617-1626.
- Munkvold GP. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review of Phytopathology* 2003; 41: 99-116.
- Nagy NE, Fossdal CG, Dalen LS, Lönneborg A, Heldal I, Johnsen O. Effects of *Rhizoctonia* infection and drought on peroxidase and chitinase activity in Norway spruce (*Picea abies*). *Physiologia Plantarum* 2004; 120(3): 465-473.
- Nishiuchi T, Masuda D, Nakashita H, Ichimura K, Shinozaki K, Yoshida S, *et al.* *Fusarium* phytotoxin trichothecenes have an elicitor-like activity in *Arabidopsis thaliana*, but the activity differed significantly among their molecular species. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2006; 19(5): 512-520.
- Nogueira JA, Ono-Nita SK, Nita ME, de Souza MM, do Carmo EP, Mello ES, *et al.* 249 TP53 mutation has high prevalence and is correlated with larger and poorly differentiated HCC in Brazilian patients. *BMC Cancer* 2009; 9: 204-212.
- Ogawa D, Nakajima N, Sano T, Tamaoki M, Aono M, Kubo A, *et al.* Salicylic acid accumulation under O₃ exposure is regulated by ethylene in tobacco plants. *Plant Cell Physiology* 2005; 46(7): 1062-1072.
- Presello D, Iglesias J, Botta G, Reid L, Lori G, Eyhérabide G. Stability of maize resistance to the ear rots caused by *Fusarium graminearum* and *F. verticillioides* in Argentinian and Canadian environments. *Euphytica* 2006; 147(3): 403-407.
- Presello D, Iglesias J, Fernández M, Fauguel C, Eyhérabide G, Lorea R. Reacción de cultivos a hongos productores de micotoxinas en maíz. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria [serie en internet] 2009 [consultado 2012 febrero 2]. Disponible en: http://www.inta.gov.ar/PERGAMINO/info/documentos/t_maiz/09/artic73.htm Prithiviraj B.
- Perry LG, Badri DV, Vivanco JM. Chemical facilitation and induced pathogen resistance mediated by a root-secreted phytotoxin. *New Phytologist* 2007; 173(4): 852-860.
- Proctor RH, Hohn TM, McCormick SP. Reduced virulence of *Gibberella zeae* caused by disruption of a trichothecene toxin biosynthetic gene. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 1995; 8(4): 593-601.

- Rheeder JP, Marasas WFO, Theil PG, Sydenham EW, Shephard GS, Van Schalkwyk DJ. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology* 1992; 82(3): 353-357.
- Robertson S, Loughran S, MacKenzie K. Ear protection as a treatment for disruptive snoring: do ear plugs really work? *The Journal of Laryngology & Otology* 2006; 120(5): 381-384.
- Sachse A, Wolf G. Angiotensin II-induced reactive oxygen species and the kidney. *Journal of the American Society of Nephrology* 2007; 18: 2439-2446.
- Shen HM, Shi CY, Lee HP, Ong CN. Aflatoxin B1-induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1994; 127: 145-150.
- Silva LJ, Lino CM, Pena A. Sphinganine-sphingosine ratio in urine from two Portuguese populations as biomarker to fumonisins exposure. *Toxicon* 2009; 54(4): 390-398.
- Snetselaar KM, Mims CW. Sporidial fusion and infection of maize seedlings by the smut fungus *Ustilago maydis*. *Mycologia* 1992; 84(2): 193-203.
- Spassieva SD, Markham JE, Hille J. The plant disease resistance gene Asc-1 prevents disruption of sphingolipid metabolism during AAL-toxin-induced programmed cell death. *The Plant Journal* 2002; 32(4): 561-572.
- Stadtman ER, Moskovitz J, Levine RL. Oxidation of methionine residues of proteins: biological consequences. *Antiox Redox Signal* 2003; 5: 577-582.
- Sun G, Wang S, Hu X, Su J, Huang T, Yu J, *et al.* Fumonisin B1 contamination of home-grown corn in high-risk areas for esophageal and liver cancer in China. *Food Addit Contam* 2007; 24(2): 181-185.
- Sydenham EW, Thiel PG, Marasas WFO, Shepard GS, Van Schalkwyk DJ, Koch KR. Natural occurrence of some *Fusarium* mycotoxins in corn from low and high esophageal cancer prevalence areas of the Transkei, Southern Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1990; 38: 1900-1903.
- Szymańska K, Chen JG, Cui Y, Gong YY, Turner PC, Villar S, *et al.* TP53 R249S mutations, exposure to aflatoxin, and occurrence of hepatocellular carcinoma in a cohort of chronic hepatitis B virus carriers from Qidong, China. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2009; 18(5): 1638-1643.
- Talamini R, Polesel J, Montella M, Dal Maso L, Crispo A, Tommasi LG, *et al.* Food groups and risk of hepatocellular carcinoma: A multicenter case-control study in Italy. *International Journal of Cancer* 2006; 119(12): 2916-2921.
- Theumer MG, Lopez AG, Masih DT, Chulze SN, Rubinstein HR. Immunobiological effects of fumonisin B1 in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002; 9: 149-155.
- Theumer MG, Lopez AG, Masih DT, Chulze SN, Rubinstein HR. Immunobiological effects of AFB1 and AFB1-FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Toxicology* 2003; 186: 159-170.

- Theumer MG. Experimental subchronic mycotoxicoses: Immunobiological effects of AFB1 and FB1 in rats. Córdoba, Argentina. Editorial: Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, 2004. 136.
- Theumer MG, Canepa MC, Lopez AG, Mary VS, Dambolena JS, Rubinstein HR. Subchronic mycotoxicoses in Wistar rats: assessment of the *in vivo* and *in vitro* genotoxicity induced by fumonisins and aflatoxin B(1), and oxidative stress biomarkers status. *Toxicology* 2010; 268: 104-110.
- Ubagai T, Tansho S, Ito T, Ono Y. Influences of aflatoxin B1 on reactive oxygen species generation and chemotaxis of human polymorphonuclear leukocytes. *Toxicology in Vitro* 2008; 22(4): 1115-1120.
- Uchida K. 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Progress in Lipid Research* 2003; 42: 318-343.
- Van der Westhuizen L, Shephard GS, Scussel VM, Costa LLF, Vismer HF, Rheeder JP, *et al.* Fumonisin Contamination and *Fusarium* Incidence in Corn from Santa Catarina, Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003; 51: 5574-5578.
- Van Vleet TR, Watterson TL, Klein PJ, Coulombe RA. Aflatoxin B1 alters the expression of p53 in cytochrome P450-expressing human lung cells. *Jr. Toxicology Sciences* 2006; 89: 399-407.
- Vargas EA, Preis RA, Castro L, Silva CM. Co-occurrence of aflatoxins B1, B2, G1, G2, zearalenone and fumonisin B1 in Brazilian corn. *Food Addit Contam* 2001; 18: 981-986.
- Voss KA, Liu J, Anderson SP, Dunn C, Miller JD, Owen JR, *et al.* Toxic Effects of Fumonisin in Mouse Liver Are Independent of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α . *Toxicological Sciences* 2006; 89: 108-119.
- Wang H, Li J, Bostock RM, Gilchrist DG. Apoptosis: A functional paradigm for programmed plant cell death induced by a host-selective phytotoxin and invoked during development. *Plant Cell* 1996; 8(3): 375-391.
- Ward JM, Stromberg EL, Nowell DC, Nutter FW. Gray leaf spot: A disease of global importance in maize production. *Plant disease* 1999; 83(10): 884-895.
- Williams LD, Glenn AE, Bacon CW, Smith MA, Riley RT. Fumonisin production and bioavailability to maize seedlings grown from seeds inoculated with *Fusarium verticillioides* and grown in natural soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54(15): 5694-5700.
- Williams LD, Glenn AE, Zimeri AM, Bacon CW, Smith MA, Riley RT. Fumonisin disruption of ceramide biosynthesis in maize roots and the effects on plant development and *Fusarium verticillioides*-induced seedling disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007; 55(8): 2937-2946.
- Wu HC, Wang Q, Yang HI, Ahsan H, Tsai WY, Wang LY, *et al.* Aflatoxin B1 exposure, hepatitis B virus infection, and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2009; 18(3): 846-853.
- Yates IE, Bacon CW, Hinton DM. Effects of endophytic infection by *Fusarium moniliforme* on corn growth and cellular morphology. *Plant disease* 1997; 81(7): 723-728.