

Toxicidad fetal y neonatal de las aflatoxinas y fumonisinas

El estudio sobre los efectos de la exposición a las micotoxinas al inicio de la vida en los animales de laboratorio podría ayudar a comprender los mecanismos de la toxicidad a corto y largo plazo en los niños. Algunas de las observaciones pertinentes se resumen a continuación.

Aflatoxinas

La toxicidad fetal de aflatoxina B₁ (AFB₁) ha sido descrita en ratas y ratones. Los efectos tóxicos se manifiestan por una disminución del peso fetal, malformaciones externas y esqueléticas y defectos del tubo neural (DTN) (IARC, 1993). Los DTN son malformaciones congénitas relativamente frecuentes que resultan de un defecto en el cierre del tubo neural (Wilde et al., 2014). En los seres humanos, el tubo neural se cierra dentro de los primeros 30

días de gestación, y en los ratones dentro de los primeros 9 días.

Se han reportado DTN en embriones de ratas expuestas *in vitro* a la AFB₁ (IARC, 1993). La administración de AFB₁ a ratas embarazadas, ocasiona el desarrollo de tumores benignos y malignos en el hígado, estómago, glándulas endocrinas y en el sistema nervioso central y periférico en la descendencia.

La administración intraperitoneal de AFB₁ a los ratones durante el embarazo produce un retraso del desarrollo fetal, particularmente paladar hendido y malformaciones del diafragma. La carcinogénesis en ratones adultos afecta principalmente los pulmones, mientras que en los ratones lactantes se observaron tasas elevadas de tumores hepáticos (IARC, 2002). La tasa de aductos de ADN es 20 veces menor en ratones adultos que en ratones

recién nacidos, lo que se traduce en una incidencia más baja de carcinomas hepatocelulares (CHC), que se explican por las diferencias en el metabolismo de la AFB y en la producción de intermediarios que reaccionan con el ADN (IARC, 2002; Shupe y Sell, 2004).

Los estudios genéticos realizados en ratones transgénicos recién nacidos no mostraron diferencias entre machos y hembras en cuanto a las tasas de mutación de los genes diana. (Woo et al., 2011; Wattanawaraporn et al., 2012). Sin embargo, los ratones hembras tienen una incidencia mucho menor de CHC, lo que podría explicarse por las diferencias asociadas al sexo y al nivel de respuesta inflamatoria, así como al nivel de la expresión de citoquinas y hormonas sexuales. En los humanos también existen diferencias entre hombres y mujeres

en lo que respecta la aparición de CHC, estas diferencias podrían eventualmente explicarse por la respuesta del huésped a las interacciones entre AFB y el virus de la hepatitis B, por las diferencias en el metabolismo y los parámetros oxidativos e inflamatorios (Wild y Montesano, 2009).

Fumonisin

Es esencial contar con un aporte alimentario suficiente en folatos para reducir la incidencia de los DTN en los humanos (Wilde et al., 2014). En las regiones del mundo donde el maíz es la base de la alimentación y donde la exposición a las fumonisinas es crónica, las tasas de DTN son a menudo muy altas en comparación con los países donde el consumo de maíz es bajo (Marasas et al., 2004; Gelineau-van Waes et al., 2009). Wilde et al. (2014) señalaron que la fumonisina podía constituir un factor de riesgo para los DTN al bloquear el transporte de los folatos. En 2012, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) evaluó los estudios epidemiológicos que establecían un vínculo entre la exposición humana a las fumonisinas y los DTN; el Comité concluyó que los resultados, en combinación con lo que se sabe sobre la toxicología de las fumonisinas, “confirma que la exposición a las fumonisinas en mujeres gestantes puede ser un factor que contribuye a un mayor riesgo de defectos del tubo neural en sus bebés” (Bulder et al., 2012).

Desde un punto de vista mecanicista, existen buenas razones para considerar la ingestión de fumonisinas como un factor de riesgo ya que éstas inhiben las ceramidas sintasas, lo que interrumpe los procesos dependientes de los esfingolípidos y vías de señalización necesarias para el cierre normal del tubo

neural. Por ejemplo, los estudios sobre las células, embriones de ratón y ratones tratados *in vivo* con fumonisina, muestran que el transporte de los folatos es inhibido como resultado de las alteraciones en las propiedades biofísicas de las membranas, inducidas por la inhibición de la biosíntesis de esfingolípidos complejos (Sadler et al., 2002; Marasas et al., 2004). En los ratones, la incidencia de los DTN resultante de la exposición intraperitoneal después de 7.5 y 8.5 días de gestación, se redujo significativamente por la administración de suplementos de folato y fue casi completamente impedida por la restauración de la función de las capas de lípidos mediante la administración de gangliósidos GM1 (Gelineau-van Waes et al., 2005). En este punto de la gestación, el corion (envoltura externa en contacto con los tejidos maternos) y el alantoides (membrana que protege el embrión) se encuentran todavía en el proceso de fusión, lo que constituye el inicio de la formación de la placenta madura. La fumonisina B₁ (FB₁) radiomarcada atraviesa la placenta en formación, lo que origina la acumulación de bases esfingoides libres en la placenta y embriones, el resultado indica que la fumonisina inhibe la ceramida sintasa en el embrión en desarrollo. Tanto la incidencia de los DTN en los ratones como el grado de perturbación del metabolismo de los esfingolípidos dependen de la cepa del ratón, lo que indica un posible vínculo genético entre la inducción a los DTN y la perturbación del metabolismo de los esfingolípidos (Gelineau-van Waes et al., 2005).

Los estudios realizados posteriormente mostraron que era posible detectar niveles elevados de derivados 1-fosfato de bases esfingoides en el hígado de los fetos de ratones gestantes cuya alimentación contenía FB₁ (Riley et al., 2006).

Los niveles de esfinganina 1-fosfato en los fetos de cepas de ratones predispuestos a los DTN fueron mucho más elevados que en las cepas resistentes. Estudios más recientes en ratones han demostrado que el análogo FTY720 de base esfingoide también puede inducir a incidencias elevadas de DTN en las cepas de ratones predispuestas después de una exposición oral durante el periodo de cierre del tubo neural (6,5–8,5 días de gestación). Tanto la esfinganina libre como el FTY720, son fosforilados por la esfingosina quinasa para formar la esfinganina 1-fosfato y el FTY720 1-fosfato, que se pueden acumular a niveles muy elevados en la sangre materna y la placenta de los ratones de la cepa pertenecientes a líneas predispuestas, tratados con la FB₁ y FTY720, respectivamente (Gelineau-van Waes et al., 2012). En ratones gestantes tratados con FTY720, tanto el FTY720 como el FTY720 1-fosfato, se acumulan en los embriones que presentan una exencefalia, examinados a los 9,5 días de gestación (Gelineau-van Waes et al., 2012). Estos resultados proporcionan una prueba de que, en principio, además de la inhibición del transporte de los folatos, los derivados 1-fosfato de bases esfingoides también juegan un papel importante en la inducción de DTN en ratones tratados con fumonisinas.

Tratadas *in vitro* con la FB₁, las células madre neuroepiteliales derivadas de células madre embrionarias humanas, acumulan las bases esfingoides libres y la esfinganina 1-fosfato, que se conoce perturban las vías de señalización en estas células (Callihan et al., 2012). La inhibición de la ceramida sintasa para la fumonisina ha sido también demostrada en otras células humanas en cultivo primario (células endoteliales de la vena umbilical humana y queratinocitos epidérmicos). Por lo tanto,

la fumonisina es un inhibidor de la ceramida sintasa en las células humanas *in vitro*, y (como en el ratón *in vivo*), la esfinganina acumulada puede ser metabolizada en esfinganina 1-fosfato altamente activa biológicamente.

Tomados en conjunto, los resultados de los estudios *in vivo* en ratón y de los estudios con células humanas *in vitro* apoyan la hipótesis según la cual la fumonisina podría inhibir la ceramida sintasa y alterar el metabolismo de los esfingolípidos, si ésta logra penetrar el embrión en desarrollo. También es posible que las bases esfingoides y sus derivados 1-fosfatos bioactivos, presentes en concentraciones muy altas en la sangre, puedan atravesar la placenta o actuar indirectamente sobre la estructura vascular y perturbar el desarrollo embrionario.

Numerosos estudios de alimentación efectuados en animales de granja y de laboratorio han documentado la relación dosis-dependiente entre la exposición a las fumonisinas y los niveles en la sangre y los tejidos de los principales esfingolípidos, conocidos por regular los procesos fisiológicos y los sistemas de señalización, y por jugar un papel esencial para la salud de los animales (Marasas et al., 2004). Muchos procesos son afectados por la alteración de los niveles de esfingolípidos bioactivos y un gran número de ellos cumple un papel fundamentales para la salud de la madre, del feto en desarrollo, de los recién nacido y de la camada. Por ejemplo, los esfingolípidos complejos y sus metabolitos son esenciales, entre otros, para la absorción intestinal de nutrientes (Jennemann y Gröne, 2013), la vía de señalización de la insulina y del receptor IGF-1 (IGF-1R) (Martin et al., 2009; Park et al., 2014), la circulación de linfocitos (Pappu et al., 2007), la integridad de la barrera hematoencefálica y del

endotelio vascular (Cannon et al., 2012; Cruz-Orengo et al., 2014) y para la acetilación de histonas (Hait et al., 2009).

Exposición *in utero* a la fumonisina en los seres humanos: lagunas científicas y necesidades en materia de investigación

Como se señaló anteriormente, en las regiones del mundo donde el maíz es un alimento básico en la dieta y donde existe una exposición crónica a las fumonisinas, las tasas de DTN son a menudo muy elevadas. Por ejemplo, en Sudáfrica, una alta incidencia de DTN ha sido reportada en zonas rurales de Transkei (61/10.000) y en las zonas rurales de la provincia de Limpopo (35/10.000). Por el contrario, la incidencia es mucho menor en las comunidades urbanas del Cabo (1,06/10.000), de Pretoria (0,99/10.000) y Johannesburgo (1,18/10.000) (Marasas et al., 2004). Las dificultades encontradas para procesar con precisión las tasas de DTN de base poblacional, particularmente en los países de ingresos bajos y medios, complican la evaluación en las regiones donde la exposición a las fumonisinas es elevada.

Existen numerosas lagunas en la comprensión de la exposición *in utero* a las fumonisinas y de sus repercusiones en la salud del niño. Los estudios en ratones han revelado que los DTN son el resultado de la exposición a una etapa muy temprana del desarrollo fetal. Actualmente no existen datos que demuestren la capacidad de las fumonisinas de cruzar la placenta humana en formación, como es el caso en los ratones. Es poco probable que la fumonisina sea detectable en la sangre del cordón umbilical, dada la pequeña cantidad que ha sido

detectada en la sangre de los animales después de la exposición a niveles relativamente altos de fumonisina (Riley y Voss, 2006; Bulder et al., 2012) y la rapidez con la que se borra la FB₁ de la orina humana (Riley et al., 2012), lo que sugiere que su vida media en el cuerpo humano es muy corta.

Incluso si se puede demostrar la inhibición de la ceramida sintasa por la fumonisina,

la utilización de un aumento de las tasas de esfinganina 1-fosfato en la sangre como biomarcador, tiene la desventaja de funcionar bien sólo para comparar grupos en los que el nivel de exposición también ha sido clasificado como alto o bajo de acuerdo a la tasa de FB₁ urinaria.

Los progresos en una mejor comprensión de las posibilidades de exposición *in utero* a la fumonisina o a sus metabolitos bioactivos, los esfingolípidos, en los seres humanos, depende del descubrimiento de nuevos biomarcadores que tengan una vida media más larga o que reflejen una exposición a largo plazo. La vida media de los derivados 1-fosfato de bases esfingoides en la sangre humana es probablemente muy corta, si se toma como base la vida media del FTY720 1-fosfato y de los derivados esfingoides en la sangre de los ratones (Gelineau-van Waes et al., 2012; Riley et al., 2015). Los estudios en ratas y ratones muestran que la subida de esfinganina y de esfinganina 1-fosfato libres, tiene una vida media más larga que la de la FB₁ en la sangre o en la orina; sin embargo, estas tasas elevadas sólo persisten de unos pocos días a una semana antes de regresar al mismo nivel de aquellos de los controles (Bulder et al., 2012; Riley et al., 2015).

En los modelos animales, la fumonisina inhibe el transporte de

folatos. Los estudios han demostrado repetidamente que la administración de suplementos de folato reduce la incidencia de la DNT en los humanos. Así pues, será necesario efectuar estudios para saber si el aporte de micronutrientes, vitaminas y folatos es suficiente en las poblaciones en las que el maíz es el alimento de base, con el fin de orientar las acciones pedagógicas que buscan mejorar el estado nutricional de las mujeres. Esta información también será útil para el diseño de

estrategias encaminadas a proporcionar suplementos alimenticios a nivel individual o comunitario.

Igualmente se ignoran las posibles consecuencias de la exposición *in utero* a las fumonisinas o a tasas elevadas de derivados 1-fosfato de base esfingoide para la salud del niño en la primera infancia o más adelante en la vida. Los estudios efectuados sobre el modelo de ratón han permitido identificar varios marcadores y objetivos moleculares en los embriones de ratones tratados con

fumonisininas, pero su relevancia para la exposición humana aún es desconocida.

En las regiones donde el maíz es la base de la alimentación, será necesario tener en cuenta desde ahora la posibilidad de exposición simultánea a otras micotoxinas, y en particular a las aflatoxinas, en los estudios que busquen descubrir cualquier posible vínculo entre la exposición materna a las fumonisinas y la toxicidad en materia de reproducción y de problemas de crecimiento en el niño.