



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

Τοξικολογία

**«Ανάπτυξη μοντέλου βιοκινητικής βασισμένου στη φυσιολογία (PBBK model) για τον υπολογισμό της βιολογικά ενεργού δόσης μυκοτοξινών»**

"Development of a physiology-based biokinetic model (PBBK model) for the calculation of the biologically active dose of mycotoxins"

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΛΑΡΙΣΑ 2021

## ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΣΑΡΗΓΙΑΝΝΗΣ ΔΗΜΟΣΘΕΝΗΣ

Καθηγητής Περιβαλλοντικής Μηχανικής, Εργαστήριο Περιβαλλοντικής  
Μηχανικής, ΑΠΘ

ΚΟΥΡΕΤΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών Τοξικολογίας, ΠΘ

ΔΡ.ΚΑΡΑΚΙΤΣΙΟΣ ΣΠΥΡΟΣ

Επικεφαλής βιολογικής μονάδας, Εργαστήριο Περιβαλλοντικής  
Μηχανικής, ΑΠΘ

## Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μηχανικής, του τμήματος Χημικών Μηχανικών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών μου «Τοξικολογία», του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας στη Λάρισα. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέπων καθηγητή μου κ. Σαρηγιάννη Δημοσθένη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αναθέτοντας μου τη συγκεκριμένη εργασία και την καθοδήγηση του.

Επίσης, ευχαριστώ τον Δρ. Σπύρο Καρακίτσιο για την τεχνική υποστήριξη, επίβλεψη και καθοδήγηση σε όλη τη διάρκεια της μελέτης. Τον διδακτορικό ερευνητή Γιάννη Πετρίδη του εργαστηρίου «Περιβαλλοντικής Μηχανικής» για τη πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε σε όλη την πορεία της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και την τεχνική υποστήριξη.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη συνεχή ψυχολογική υποστήριξη σε όλη την ακαδημαϊκή μου πορεία.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	6
ABSTRACT .....	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	8
ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ .....	8
1.1 Γενικά χαρακτηριστικά μυκοτοξινών.....	8
1.2 Ταξινόμηση και τοξικές επιδράσεις των μυκοτοξινών.....	10
1.3 Αφλατοξίνες (AFs) .....	13
1.3.1 Γενικά χαρακτηριστικά.....	13
1.3.2 Τοξικοκινητική αφλατοξινών.....	14
1.4 Ωχρατοξίνες (ΩΤΑ).....	16
1.4.1 Γενικές ιδιότητες.....	16
1.4.2 Τοξικοκινητική της ΩΤΑ.....	17
1.5 Φουμονισίνες (FB) .....	18
1.5.1 Γενικά χαρακτηριστικά φουμονισινών .....	18
1.5.2 Τοξικοκινητική Φουμονισινών B <sub>1</sub> .....	19
1.6 Τριχοθηκίνες .....	20
1.6.1 Γενικά χαρακτηριστικά Τριχοθηκινών .....	20
1.6.2 Τοξικοκινητική της DON.....	22
1.7 Η δεοξυनिβαλενόλη και οι ακετυλιωμένες και τροποποιημένες μορφές της σε τρόφιμα και ζωοτροφές. ....	32
1.7.1 Νομοθεσία .....	32
1.7.2 Επίπεδα μόλυνσης τροφίμων.....	33
1.7.3 Χρόνια επίπεδα έκθεσης μέσω διατροφής ανά ηλικιακή ομάδα.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	43
HUMAN BIOMONITORING.....	43
2.1 Δεδομένα έκθεσης και ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM) .....	43
2.2 Δεδομένα HMB στη Δεοξυनिβαλενόλη (DON) και τους μεταβολίτες της.....	43
2.3 Δεδομένα βιοπαρακολούθησης σε Ευρωπαϊκές χώρες.....	45
2.3.1 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πορτογαλικό πληθυσμό .....	47
2.3.2 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πληθυσμό της Νότιας Ιταλίας.....	48
2.3.3 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε βελγικό πληθυσμό .....	50

2.3.4 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πληθυσμό της Αυστρίας .....	52
2.3.5 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πληθυσμό της Γερμανίας .....	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	55
3.1 Physiologically Based Biokinetic (PBBK) Model.....	55
3.2 PBBK – Μεθοδολογία.....	57
3.2.1 Ενοιολογική περιγραφή του γενικού μοντέλου PBBK .....	57
3.2.2 Δομή του μοντέλου PBBK.....	58
3.2.3 Μαθηματική Αναπαράσταση .....	59
3.3 Εφαρμογή του γενικού μοντέλου PBBK στις μυκοτοξίνες .....	70
3.3.1 Εφαρμογή PBBK μοντέλου στη μυκοτοξίνη DON.....	71
ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ.....	73
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α.....	74
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	99

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως σκοπό την ανάπτυξη ενός γενικευμένου μοντέλου βιοκινητικής που στηρίζεται στη φυσιολογία για τον υπολογισμό της ενεργούς δόσης μυκοτοξινών. Μετά από αναζήτηση στη βιβλιογραφία βρέθηκε πως ελάχιστα είναι τα δεδομένα και οι προσπάθειες ανάπτυξης μοντέλου βιοκινητικής για τη δεοξυνιβαλενόλη και τους μεταβολίτες της. Έτσι, οι προσπάθειες μας περιορίστηκαν στην ανάπτυξη του συγκεκριμένου μοντέλου.

Τα Βιοκινητικά Βασισμένα στη Φυσιολογία (PBBK) μοντέλα αντιπροσωπεύουν μια σημαντική κατηγορία μοντέλων δοσιμετρίας, που είναι χρήσιμα για την πρόβλεψη εσωτερικής δόσης στα όργανα στόχους για εφαρμογές αξιολόγησης κινδύνου. Τα μοντέλα PBBK αποτελούνται από μια σειρά μαθηματικών παραστάσεων βιολογικών ιστών και διεργασιών φυσιολογίας στο σώμα και προσομοιώνουν την ADME (ποσοτικές περιγραφές της απορρόφησης, της κατανομής και μεταφοράς, του μεταβολισμού και της απέκκρισης) των χημικών ουσιών που εισέρχονται στο σώμα. Έχουν σχεδιαστεί για να εκτιμούν μια δόση τοξικής ουσίας σε έναν ιστό-στόχο ή κάποιο μεταβολίτη της ομάδας αυτής. Η εσωτερική μέτρηση της δόσης (μερικές φορές αποκαλείται βιολογικώς αποτελεσματική δόση) αντικαθιστά τη χορηγούμενη δόση στην παραγωγή της ποσοτικής σχέσης δόσης-απόκρισης, με σκοπό τη μείωση της αβεβαιότητας, που είναι εγγενής στις εκτιμήσεις κινδύνου. Αυτή η μείωση της αβεβαιότητας και η βελτιωμένη επιστημονική βάση για την τιμή δόσης απόκρισης αποτελεί το κύριο πλεονεκτήματα των μοντέλων PBBK και τον κύριο λόγο για το αυξανόμενο ενδιαφέρον ως προς τη χρήση τους.

Η δεοξυνιβαλενόλη είναι η συχνότερα ανιχνευόμενη τριχοθηκίνη και παράγεται από τα είδη *F. graminearum*, *F. culmorum*, και *F. cerealis*. Ανιχνεύεται συνήθως σε δημητριακά όπως σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι, κριθάρι και βρώμη. Είναι τοξική για τον άνθρωπο και αναστέλλει τη σύνθεση DNA, RNA και πρωτεϊνών. Σε αυτήν την διπλωματική, συνοψίζεται ο μεταβολισμός της DON και η έκθεσή της σε ανθρώπους από διαφορετικές περιοχές. Συζευγμένα προϊόντα DON-3-γλυκουρονίδη, DON-15-γλυκουρονίδη και DON-7-γλυκουρονίδη βρέθηκαν να είναι οι κύριοι μεταβολίτες στον άνθρωπο. Η έκθεση της DON στον άνθρωπο δείχνει κάποιες διαφορές λόγω των διαφορετικών διατροφικών συνηθειών.

## ABSTRACT

The present thesis aims to develop a generalized biokinetic model based on physiology to calculate the active dose of mycotoxins. After a search in the literature, it was found that the data and the efforts to develop a biokinetic model for deoxyribalenol and its metabolites are minimal. Thus, our efforts were limited to the development of this model.

Physiology-Based Biokinetic (PBBK) models represent a very important category of dosimetry models, useful for the prediction of the intrinsic dose to organs for risk assessment evaluations. The PBBK models consist of a series of mathematical expressions of the biological tissues and physiology processes in the body, simulating the ADME (absorption, distribution, metabolism, and excretion) of the chemicals penetrating the body. They have been designed in order to evaluate a dose of toxic substance in a tissue-target, or some specific metabolite of this substance. The intrinsic measurement of the dose (sometimes also called the biologically effective dose) substitutes the prescribed dose in the production of the quantitative dose-response relation, as a means to decrease the uncertainty, which is inherent to the risk assessments according to the prescribed dose. This decrease of uncertainty and the improved scientific basis for the dose-response value are the main advantages of the PBBK models as well as the main reasons for the increased interest in their use. The PBBK models may also simulate an internal dose from the conditions of interest wherever no data are available, so they can diverge to conditions beyond the database used for the development of the model.

Deoxynivalenol (DON) is one of the most abundant mycotoxins in contaminated food and feed worldwide. It is toxic to humans and inhibits DNA, RNA and protein synthesis. In this review, the metabolism of DON and its exposure in humans from different regions are summarized. Conjugated products DON-3-glucuronide, DON-15-glucuronide, and DON-7-glucuronide are found to be the major metabolites in humans. Human exposure of DON shows some regional differences due to the different DON levels in cereal-based foods and the food intake habits.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ

### 1.1 Γενικά χαρακτηριστικά μυκοτοξινών

Η μικροβιακή αλλοίωση των τροφίμων οφείλεται σε αλλοιωγόνα βακτήρια, ζυμομύκητες ή μύκητες, η επιβίωση των οποίων επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, την τιμή pH και την ενεργότητα νερού του μέσου στο οποίο αναπτύσσονται και την παρουσία ή την απουσία οξυγόνου. Οι μύκητες είναι μικροοργανισμοί που προσβάλουν συχνότερα τρόφιμα με περιορισμένη περιεκτικότητα σε νερό και μπορούν να προκαλέσουν αλλοιώσεις. Οι αλλοιωγόνοι μύκητες ευθύνονται για την ευρωτίαση ή τη σήψη ορισμένων τροφίμων, καθώς και για την ανάπτυξη ανεπιθύμητου χρώματος σε πολλά τρόφιμα, ενώ σε αλλοιωγόνους ζυμομύκητες οφείλεται το ανεπιθύμητο χρώμα ή η ανεπιθύμητη οσμή και γεύση πολλών τροφίμων και ποτών (Κιοσέογλου & Μπλέκας, 2010). Πέραν των αλλοιώσεων που προκαλεί η παρουσία του μύκητα στα τρόφιμα, ενέχει τον κίνδυνο μόλυνσης αυτών με τις μυκοτοξίνες που μπορεί να παράγει. Στην τελευταία περίπτωση ο κίνδυνος είναι ιδιαίτερα αυξημένος καθώς η μη ορατή εμφάνιση του μύκητα σε ένα τρόφιμο δεν αποκλείει την παρουσία μυκοτοξινών, αφού οι τοξίνες είναι άχρωμες, άοσμες και μπορούν να παραμείνουν στα τρόφιμα και μετά την απομάκρυνση του μύκητα (Carcarona *et al.*, 2016).

Οι μυκοτοξίνες είναι ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους που παράγονται και εκκρίνονται ως δευτερογενείς τοξικοί μεταβολίτες από διάφορους μύκητες, οι οποίοι ανήκουν κυρίως στα είδη *Aspergillus*, *Penicillium* και *Fusarium* και οι τοξίνες που παράγουν είναι α) παράγωγα της κουμαρίνης (αφλατοξίνες, οχρατοξίνη), της ανθρακινόνης (ισλανδικίνη), του βενζενίου (μαλτορυζίνη), της πυρόνης (πατουλίνη) ή της ξανθόνης (στεριγματοκυστίνη), β) τριχοθεκένια (ζεαραλενόνη), γ) αλκαλοειδή (εργοταμίνη) και δ) σεσκιτερπενοειδή (νιβαλενόλη) (Κιοσέογλου & Μπλέκας, 2010).

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί και απομονωθεί περισσότερες από 400 μυκοτοξίνες, αλλά μόνο μερικές από αυτές ανιχνεύονται με μεγάλη συχνότητα σε διάφορα τρόφιμα και ζωοτροφές, σε υψηλές συγκεντρώσεις (Πίνακας 1.1). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν, μεταξύ άλλων, οι αφλατοξίνες, οι φουμονισίνες (FB), οι τριχοθηκίνες (DON) και οι ωχρατοξίνες (OTA) (Richard, 2007).



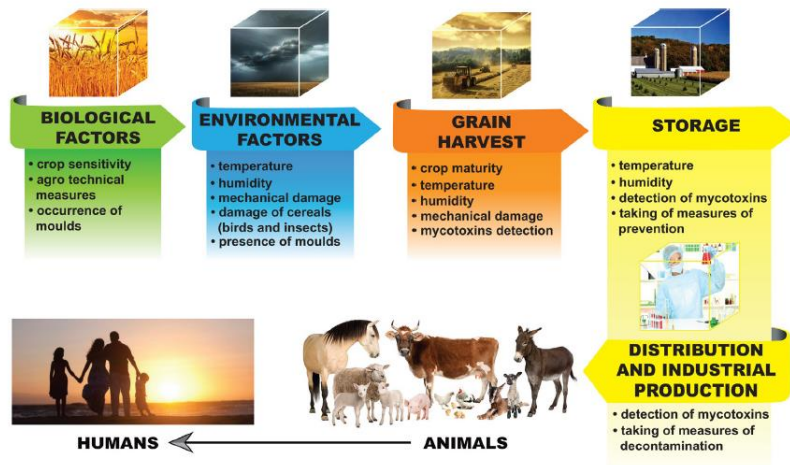
Είδη μυκήτων	Παραγόμενες τοξίνες
<b>Aspergillus</b>	Aflatoxins, Ochratoxins, Gliotoxin, Citrinin, Fumitoxins, Patulin, Sterigmatocystin, Cyclopiazonic Acid, Mevinolin
<b>Fusarium</b>	Fumonisin, Deoxynivalenol, Zearaleone, T-2 Toxin, HT-2 Toxin, Nivalenol, Moniliformin, Beauvericin, Diacetoxyscirpenol, Fusaric Acid, Fusarochromanone, Fusaproliferin
<b>Penicillium</b>	Ochratoxin, PR Toxin, Patulin, Citrinin, Penicillic Acid, Mycophenolic Acid, Cyclopiazonic Acid

Πίνακας 1.1: Τα κυριότερα είδη μυκήτων που συναντώνται συχνότερα σε τρόφιμα και ζωοτροφές και οι κυριότερες τοξίνες που παράγουν.

Οι μυκοτοξίνες εντοπίζονται σε πολλές κατηγορίες τροφίμων. Συγκεκριμένα, μπορούν να εμφανιστούν είτε σε πρώτες ύλες (δημητριακά, μπαχαρικά, όσπρια, ξηρούς καρπούς, κακάο, φρούτα και λαχανικά), είτε σε επεξεργασμένα τρόφιμα (αρτοποιημένα, μπίρα, κρασί) στα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί μολυσμένες πρώτες ύλες, είτε σε ζωοτροφές. Ζωικής προέλευσης τρόφιμα όπως είναι τα αυγά, το γάλα και το κρέας ζώων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση μπορούν επίσης να περιέχουν μυκοτοξίνες, καθώς μέσω της διατροφικής αλυσίδας είναι πιθανό τα ζώα να έχουν τραφεί με μολυσμένες ζωοτροφές (Corrock and Dziwenka, 2019).

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO 2008) υπολογίζεται ότι το 25% των καλλιεργειών παγκοσμίως μολύνονται με μυκοτοξίνες σε παγκόσμιο επίπεδο ετησίως. Το ποσοστό της μόλυνσης είναι πιθανό να αυξηθεί σημαντικά σε μία περιφέρεια λόγω δυσμενών καιρικών συνθηκών και γεωργικών πρακτικών. Η κλιματική αλλαγή προβλέπεται να αυξήσει πιθανώς τη μόλυνση των ανθρώπινων και ζωικών τροφών με μυκοτοξίνες (Medina *et al.*, 2017).

Οι μυκοτοξίνες μπορούν να παραχθούν και να αναπτυχθούν σε κάθε στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας ενός τροφίμου, τόσο κατά τα αρχικά στάδια της καλλιέργειας του στους αγρούς, που ανιχνεύονται κυρίως αφλατοξίνες, φουμοσίνες και τριχοθηκίνες, όσο και κατά την αποθήκευση του μετά την συγκομιδή μέχρι και την τελική φάση της συσκευασίας, όπου παράγονται κυρίως αφλατοξίνες και ωχρατοξίνες (Christensen, C.M. and Beuchat, L.R., 1987). Οι παράγοντες που είναι σχετικοί με την ανάπτυξη μυκοτοξινών είναι βιολογικοί, περιβαλλοντικοί, σχετίζονται με τις συνθήκες συγκομιδής και αποθήκευσης αλλά και τις συνθήκες διανομής και επεξεργασίας τροφίμων και ζωοτροφών (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Παράγοντες που σχετίζονται με την ανάπτυξη μυκοτοξινών στην τροφή και τις ζωοτροφές.

Ο βαθμός μόλυνσης από μυκοτοξίνες εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από φυσικοχημικούς παραμέτρους όπως η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, η περιεκτικότητα σε υγρασία, η ενεργότητα νερού, η τιμή pH, η σχετική υγρασία του αέρα και η περιεκτικότητα σε οξυγόνο, αλλά και η σύνθεση του θρεπτικού υποστρώματος, η φυσική του αλλοίωση και η παρουσία σπορίων μούχλας. Οι βέλτιστες συνθήκες για την ανάπτυξη μυκήτων και κατ'επέκταση μυκοτοξινών είναι η θερμοκρασία στους 20-30°C, ενώ ο συντελεστής ενεργού ύδατος ( $a_w$ ), που ορίζεται ως η ποσότητα του νερού στο τρόφιμο που είναι διαθέσιμη για τις ανάγκες αύξησης των μικροοργανισμών, θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 0,7%. Γενικά, οι μυκοτοξίνες είναι χημικά και θερμικά σταθερές ενώσεις, που επιζούν στις περισσότερες συνθήκες φύλαξης και επεξεργασίας των τροφίμων (Körpen *et al.*, 2010).

## 1.2 Ταξινόμηση και τοξικές επιδράσεις των μυκοτοξινών

Οι άνθρωποι και τα ζώα εκτίθενται σε μυκοτοξίνες μέσω της στοματικής, της δερματικής οδού και διαμέσου της εισπνοής. Από αυτές τις οδούς έκθεσης πιο σημαντικές είναι μέσω στόματος και μέσω εισπνοής. Οι μυκοτοξίνες έχουν μεγάλη ποικιλία ως προς την χημική δομή και τους μηχανισμούς τοξικότητας. Όλα τα συστήματα οργάνων στο σώμα μπορούν να είναι στόχοι των μυκοτοξινών. Βέβαια, οι βλαπτικές επιδράσεις των μυκοτοξινών καθορίζονται από το είδος της μυκοτοξίνης, το βαθμό επιμόλυνσης του τροφίμου, τη διάρκεια χορήγησης, το είδος, το φύλλο, την ηλικία και την υγεία του ατόμου.

Οι μυκοτοξίνες είναι δύσκολο να ταξινομηθούν λόγω των ποικίλων χημικών δομών που τις χαρακτηρίζουν, των διαφορετικών βιοσυνθετικών μηχανισμών που ακολουθούν, των αναρίθμητων βιολογικών αποτελεσμάτων που παρουσιάζουν

καθώς και από το ευρύ φάσμα των μυκήτων από τους οποίους προέρχονται. Οι γιατροί τις κατατάσσουν με βάση του προσβεβλημένου ανθρώπινου οργάνου. Έτσι, οι μυκοτοξίνες ταξινομούνται ως ηπατοτοξικές, νεφροτοξικές, νευροτοξικές, ανοσοτοξικές κ.τ.λ.. Οι βιολόγοι τις κατατάσσουν σε γενικότερες κατηγορίες, ικανές να προκαλέσουν τερατογένεση, μετάλλαξη, καρκινογένεση και αλλεργία. Οι χημικοί τις ταξινομούν με βάση τη χημική δομή τους (λακτόνες, κουμαρίνες), οι βιοχημικοί με βάση τη βιοσυνθετική προέλευσή τους (πολυκετίδια, παράγωγα αμινοξέων) και οι μυκητολόγοι με βάση τους μύκητες από τους οποίους προέρχονται. Η ταξινόμηση των μυκητοτοξινών με βάση τα συμπτώματα και τις ασθένειες που προκαλούνται στους ανθρώπους και τα ζώα φαίνεται στον Πίνακα 1.2.

Κατηγορία μυκοτοξίνης	Ασθένεια & Σύμπτωμα	Παραγόμενη τοξίνη
<b>Νεφροτοξίνες</b>	Προκαλούν νεφρική ανεπάρκεια	Ochratoxins, Citrinin, Quinones, Xanthomegnin, Viomelein
<b>Νευροτοξίνες</b>	Προκαλούν βλάβη στο νευρικό σύστημα και προκαλούν αιμορραγίες στον εγκέφαλο	Patulin, Penitrem, Citreoviridin, Fumonisin
<b>Ηπατοτοξίνες</b>	Βλάπτουν τη λειτουργία των ηπατικών κυττάρων και διευκολύνουν την ανάπτυξη του καρκίνου του ήπατος	Aflatoxins, Penicillic acid, Luteoskyrin, Cyclochlorotine, Rubratoxin, Fumonisin
<b>Οιστρογονικές τοξίνες</b>	Προκαλούν υπεροιστρογοναιμία στα ζώα και εκφυλισμό των αναπαραγωγικών κυττάρων	Zearalenone
<b>Κυτοτοξίνες</b>	Προκαλούν βλάβη στα επιθηλιακά κύτταρα του δέρματος, στον βλεννογόνο του πεπτικού συστήματος και στα κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων	Trichothecenes, Puccinia produced toxins
<b>Ανοσοκατασταλτικές τοξίνες</b>	Προκαλούν βλάβη στο ανοσοποιητικό σύστημα ανθρώπων και ζώων και την ικανότητα τους να αντιμετωπίσουν μία λοίμωξη	Ochratoxins, Trichothecenes
<b>Τοξίνες του αναπνευστικού</b>	Προκαλούν βλάβη στους αεραγωγούς του αναπνευστικού συστήματος	Fumonisin, Trichothecenes, Strachybotrys toxin
<b>Φωτοευαίσθητες τοξίνες</b>	Προκαλούν ηπατοτοξικότητα και έκζεμα προσώπου στα πρόβατα και στα βοοειδή	Sporidesmins
<b>Τοξίνες που προκαλούν μείωση πρόσληψης τροφής και/ή έμετο</b>	Προκαλούν μείωση πρόσληψης τροφής, απάθεια και/ή έμετο	Deoxynivalenol, Diacetoxyscirpenol

Πίνακας 1.2: Ταξινόμηση μυκοτοξινών με βάση τα συμπτώματα και τις ασθένειες που προκαλούν σε ανθρώπινους και ζωικούς οργανισμούς.

Μέσω των μεταβολικών οδών τους, οι μύκητες παράγουν διάφορες χημικές ενώσεις που εκτείνονται από απλά οργανικά οξέα έως πιο πολύπλοκα μόρια. Στο πλαίσιο αυτό, πρέπει να γίνει σαφής διάκριση μεταξύ πρωτογενών και δευτερογενών μεταβολιτών. Ορισμένες ενώσεις που συντίθενται από μύκητες έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών του ανθρώπου (π.χ Πενικιλίνη), ενώ άλλες ενώσεις εκδηλώνουν τα αποτελέσματα της τοξικότητας τους στον άνθρωπο. Ο πρωτογενής μεταβολισμός παρέχει τις βασικές ουσίες για την επιβίωση του μύκητα και η παραγωγή τους απαιτεί πηγές άνθρακα, πηγές νιτρικών αλάτων, πηγές νερού και ανόργανων αλάτων. Αντιθέτως, ο δευτερογενής μεταβολισμός παρέχει ουσίες οι οποίες δεν είναι απαραίτητες για την επιβίωση του μύκητα και την ανάπτυξη της μούχλας, αλλά συντίθενται σε απόκριση περιβαλλοντικών προκλήσεων. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες που απελευθερώνονται από έναν μικροοργανισμό στο περιβάλλον, μπορούν να είναι τοξικοί για τους ανθρώπους ή για άλλους ζωντανούς οργανισμούς. Μία βασική κατηγορία δευτερογενή μεταβολίτη των μυκήτων είναι οι μυκοτοξίνες.

Οι άνθρωποι και τα ζώα εκτίθενται στις μυκοτοξίνες μέσω του στόματος, της εισπνοής και του δέρματος. Οι μυκοτοξίνες που καταφέρνουν να εισβάλλουν σε ένα ζωντανό οργανισμό μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες που είναι γνωστές ως μυκοτοξικές. Τα συμπτώματα των μυκοτοξικών εξαρτώνται από έναν αριθμό παραγόντων, κυρίως από τη συγκέντρωση της μυκοτοξίνης και τη διάρκεια της έκθεσης, καθώς επίσης και από τις ιδιότητες και την φαρμακοδυναμική της εν λόγω μυκοτοξίνης (βαθμός απορρόφησης, υδροφιλικότητα και λιποφιλικότητα, μοτίβο κατανομής ιστών και οργάνων, μεταβολισμός, χρόνος ημιζωής και απέκκρισης). Οι τοξικές επιδράσεις που προκαλούνται στον οργανισμό του ξενιστή εξαρτώνται επίσης από το είδος, το φύλο, την ηλικία και τη γενική υγεία του ξενιστή. Η χρόνια τοξικότητα είναι αυτή που εμφανίζεται συχνότερα, λόγω κατανάλωσης μικρών ποσοτήτων μυκοτοξινών για μεγάλο χρονικό διάστημα. Μέσω της χρόνιας τοξικής τους δράσης, οι μυκοτοξίνες κατατάσσονται στην πρώτη θέση ως προς την επικινδυνότητα μετά από χρόνια έκθεση ανθρώπων και ζώων σε διάφορες επιβλαβείς ουσίες.

Αν και σήμερα οι μηχανισμοί δράσης, οι τοξικές δόσεις και τα όρια ανοχής ορισμένων μυκοτοξινών είναι γνωστά, η συχνότητα εμφάνισης μυκοτοξινών εγείρει το ζήτημα της αλληλεπίδρασης μεταξύ διαφόρων μυκοτοξινών, δηλαδή, τις ταυτόχρονες συνεργιστικές τους επιδράσεις στον οργανισμό ξενιστή (CAST, 2003).

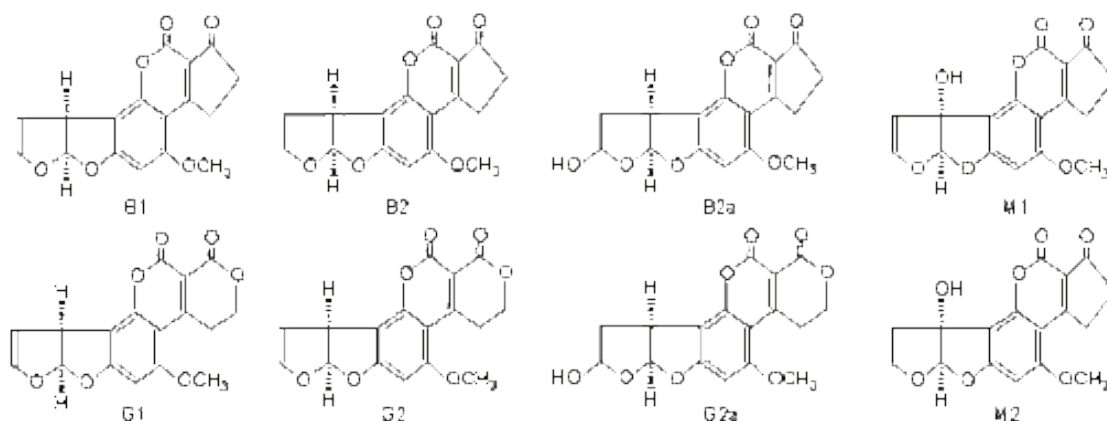
Αυτή η ταυτόχρονη έκθεση οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας ορισμένων μυκήτων να παράγουν πολλές μυκοτοξίνες ταυτόχρονα, καθώς και το γεγονός ότι τα τρόφιμα που κυκλοφορούν στο εμπόριο μπορεί να έχουν μολυνθεί από αρκετούς μύκητες. Επιπλέον, μία διατροφή που αποτελείται από πολλά είδη τροφίμων μπορεί επομένως να είναι μολυσμένη με μια σειρά τοξινών. Τα τελευταία χρόνια σημειώθηκε μια ταχεία εξέλιξη στις

αναλυτικές μεθόδους με αποτέλεσμα τη δυνατότητα ανίχνευσης ταυτόχρονης έκθεσης μία σειράς μυκοτοξινών στα τρόφιμα καθώς και βιοδείκτες μυκοτοξινών στο αίμα ή στα ούρα (Cargiotti *et al.*, 2012). Οι βιοδείκτες είναι ένα πολύτιμο εργαλείο στη μέτρηση έκθεσης σε ατομικό επίπεδο, αποφεύγοντας ταυτόχρονα τα προβλήματα που συνδέονται με τη διατροφή και την ετερογενή μόλυνση μυκοτοξινών σε τρόφιμα που διαφορετικά ενδέχεται να παρεμπόδιζαν εκτιμήσεις έκθεσης (Bryden, 2007). Πρόσφατα, μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σχετικά με τα επίπεδα της DON στα ούρα έδειξε ότι η έκθεση στη DON ήταν πολύ συχνή (> 90%) στον Σουηδικό πληθυσμό ενηλίκων (Wallin *et al.*, 2013). Για την περαιτέρω εξερεύνηση του επιπέδου μόλυνσης χρησιμοποιήθηκαν έξι διαφορετικές μυκοτοξίνες ή μεταβολίτες και αναλύθηκαν οι διατροφικές συνήθειες μεταξύ του ενήλικου Σουηδικού πληθυσμού.

### 1.3 Αφλατοξίνες (AFs)

#### 1.3.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Οι αφλατοξίνες (AFs) παράγονται από μύκητες του γένους *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* και *A. niger*). Ταυτοποιήθηκαν για πρώτη φορά το 1961 στην Αγγλία (Sargeant K., 1961), όταν ζωοτροφές που είχαν προσβληθεί από το μύκητα *A. flavus* προκάλεσαν το θάνατο σε 100.000 γαλοπούλες. Κατηγοριοποιούνται ως Β (Β1 και Β2) ή Γ (Γ1 και Γ2), για το μπλε (Blue) και το πράσινο (Green), αντίστοιχα, βάσει του φυσικού φθορισμού που εκπέμπουν κατά την έκθεσή τους σε υπεριώδη ακτινοβολία, ενώ υπάρχουν και δύο πρόσθετα μεταβολικά προϊόντα των αφλατοξινών, οι Μ1 και Μ2, οι οποίες απομονώθηκαν για πρώτη φορά από γάλα (Milk) θηλαστικών που κατανάλωσαν τροφές που περιείχαν αφλατοξίνη, ως εκ τούτου και η κατηγοριοποίηση ως Μ. Οι αφλατοξίνες Β2 και Γ2 αποτελούν τα διυδρόξυ παράγωγα των Β1 και Γ1, αντιστοίχως, ενώ η αφλατοξίνη Μ1 είναι η 4-υδρόξυ αφλατοξίνη Β1 και η αφλατοξίνη Μ2 είναι η 4-διυδρόξυ αφλατοξίνη Β2 (Eaton D.L, 1994). Στην εικόνα 2 παρουσιάζεται η χημική δομή των αφλατοξινών.



Εικόνα 2 Χημικοί τύποι των κυριότερων αφλατοξινών.

Οι αφλατοξίνες ανιχνεύονται πολύ συχνά σε αποξηραμένα φρούτα, ξηρούς καρπούς, καλαμπόκι, βαμβακόσπορο, φιστίκια, καρύδια και μπαχαρικά. Σύμφωνα με έρευνες, η αρχική ποσότητα των αφλατοξινών μειώνεται κατά τα διάφορα στάδια επεξεργασίας που υφίστανται τα τρόφιμα πριν φτάσουν στον καταναλωτή με αποτέλεσμα περίπου το 40-50% της αρχικής ποσότητας να απομακρύνεται (Murphy *et al.*, 2006). Οι αφλατοξίνες B1, B2, G1 και G2 έχουν καταταχθεί από τη Διεθνή Επιτροπή Έρευνας για τον Καρκίνο (International Agency for Research on Cancer, IARC) στις καρκινογόνες ουσίες της ομάδας 1, ενώ η αφλατοξίνη M1 στις πιθανόν καρκινογόνες ουσίες της ομάδας 2B (IARC 1993, IARC 2002). Με βάση πειραματικά δεδομένα, η καρκινογόνος δράση της M1 είναι 10 φορές μικρότερη σε σχέση με αυτή της B1 (IARC 2002).

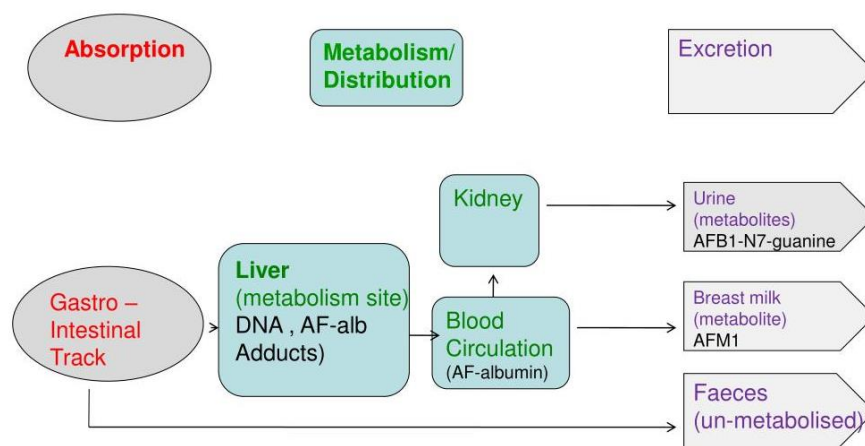
Η τοξικότητα της ομάδας αυτής των μυκοτοξινών μπορεί να διακριθεί σε οξεία και σε χρόνια. Η οξεία τοξικότητα, λόγω κατανάλωσης μεγάλης ποσότητας αφλατοξίνης άπαξ ή σε σύντομο χρονικό διάστημα, περιλαμβάνει κοιλιακό άλγος, πνευμονικό ή εγκεφαλικό οίδημα, καταστροφή του ήπατος, ανορεξία, φωτοευαισθησία, ίκτερο, ή/και διάρροια (Lewis *et al.*, 2005). Η χρόνια τοξικότητα είναι αυτή που εμφανίζεται συχνότερα λόγω κατανάλωσης μικρών ποσοτήτων αφλατοξινών για μεγάλο χρονικό διάστημα. Τα συμπτώματα εξαρτώνται από την ηλικία, το φύλλο, την διατροφή και το μέγεθος της έκθεσης (Marin *et al.*, 2013) Στις ασθένειες για τις οποίες ενοχοποιούνται οι αφλατοξίνες λόγω χρόνιας τοξικότητας περιλαμβάνονται: α) καρκίνος του ήπατος, όπου υπάρχουν δεδομένα ότι ο ιός της ηπατίτιδα Β και ο ιός της ηπατίτιδας C λειτουργούν συνεργιστικά μαζί με τις αφλατοξίνες στην ανάπτυξη καρκίνου του ήπατος (Hepatocellular carcinoma, HCC) (Palliyaguru and Wu, 2013), β) επιπτώσεις στο αναπαραγωγικό σύστημα και συγκεκριμένα, στους αρένες έχει παρατηρηθεί καθυστερημένη ή ελαττωματική ανάπτυξη του αναπαραγωγικού συστήματος, γενετικές ανωμαλίες στα σπερματικά κύτταρα και μειωμένη συγκέντρωση τεστοστερόνης (CAST, 2003), γ) επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα, όπως μειωμένη δραστηριότητα των Τ και Β λεμφοκυττάρων καθώς και παρεμπόδιση της φαγοκύτωσης (Jiang *et al.*, 2008), δ) ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση, λόγω έκθεσης σε αφλατοξίνες, όχι όμως από κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων αλλά μέσω της αναπνευστικής οδού (Dvořáčková and Píčová, 1986).

### 1.3.2 Τοξικοκινητική αφλατοξινών

Για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας για την υγεία του ανθρώπου εξετάζονται οι τοξικοκινητικές ιδιότητες (δηλ. η απορρόφηση, ο μεταβολισμός, η κατανομή και η απέκκριση) των αφλατοξινών (AFs). Η γαστρεντερική οδός στον αρουραίο απορροφά γρήγορα τις αφλατοξίνες και υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι και άλλα μονογαστρικά θηλαστικά έχουν παρόμοια κινητική απορρόφησης. Έχει αποδειχθεί ότι οι αρουραίοι απορροφούν την αφλατοξίνη B1 πιο αποτελεσματικά από το



δωδεκαδάκτυλο και τη νήστιδα. Ο ρυθμός απορρόφησης της Β1 από το δωδεκαδάκτυλο στους αρουραίους με οιστρικό κύκλο ήταν μεγαλύτερος από το δωδεκαδάκτυλο των αρουραίων κατά τη διάρκεια της γαλουχίας. Επίσης, διαίτα υψηλή σε άμυλο αυξάνει την απορρόφηση της ΑFB1 στα βοειδή (Pantaya *et al.*, 2016). Νεαρά ζώα απορροφούν ΑF πιο αποτελεσματικά από ότι τα μεγαλύτερα σε ηλικία ζώα. Σε ανθρώπινο δείγμα δόθηκαν χαμηλές δόσεις με σήμανση  $^{14}\text{C}$  –ΑFB1 (30ng) σε κάψουλες ζελατίνης (Jubert *et al.*, 2009). Η τοξικοκινητική των αφλατοξινών ταιριάζει σε ένα μοντέλο δύο φάσεων όπου η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα εμφανίζεται περίπου 1h μετά τη χορήγηση. Ο χρόνος ημιζωής της α' φάσης είναι 2,86h και ο χρόνος ημιζωής της β-φάσης είναι 64,5h. Το υλικό που χορηγήθηκε στους εθελοντές ( $^{14}\text{C}$  –ΑFB1) απεκκρίθηκε κατά 29-33% της δόσης εντός 72 ωρών. Οι αφλατοξίνες διασχίζουν τον πλακούντα (Partanen *et al.*, 2009). Η ΑFB1 απορροφάται μέσω του βλεννογόνου του αυλού του γαστρεντερικού σωλήνα και μεταβολίζεται σε AFM1 από αυτόν (Cook, 1986). Τα βοειδή έλαβαν μια εφάπαξ δόση ΑFs από την καλλιέργεια ρυζιού (42% ΑFB1 & 27% ΑFB2) σε κάψουλες ζελατίνης και τριάντα επτά αργότερα ΑFB1 και AFM1 στο φλεβικό αίμα και έφτασαν τα μέγιστα επίπεδα 4-8h μετά τη χορήγηση. Οι ΑFs διανέμονται στο σώμα και εξαλείφονται με κινητική πρώτης τάξης. Η κύρια οδός απέκκρισης είναι η χολή, ακολουθούμενη από τα ούρα και το μέσο αναγνώρισης και προσδιορισμού των ΑFs είναι τα ούρα. Το γάλα είναι επίσης μία διαδρομή απέκκρισης για τις αφλατοξίνες (Warth *et al.*, 2016). Οι ιστοί από το ήπαρ και τα νεφρά έχουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ΑFs. Σε ένα μοντέλο χρησιμοποιώντας κοιλιακό ανθρώπινο δέρμα που είχε ληφθεί χειρουργικά η αφλατοξίνη Β1 είχε χαμηλό επίπεδο απορρόφησης με συντελεστή διαπερατότητας  $K_p=2,11 \times 10^{-4}$  cm/h (Boonen *et al.*, 2012). Στην Εικόνα 3 παρουσιάζεται ένα διάγραμμα στο οποίο φαίνεται η τοξικοκινητική των αφλατοξινών (απορρόφηση, μεταβολισμός και απέκκριση).

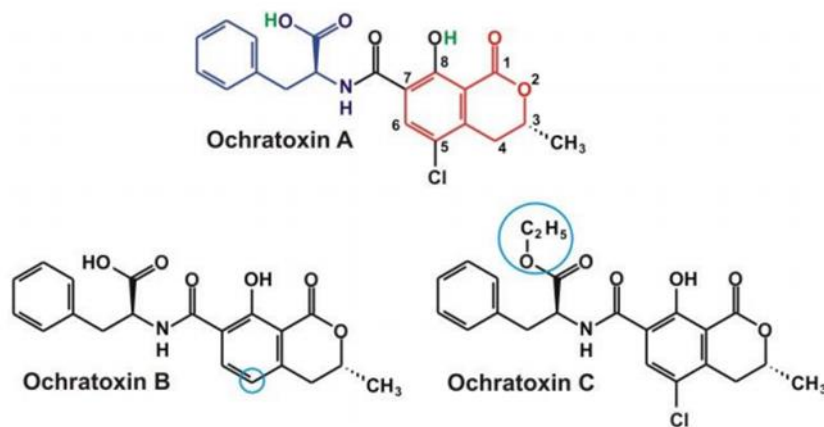


Εικόνα 3 Τοξικοκινητική αφλατοξινών.

## 1.4 Ωχρατοξίνες (ΩΤΑ)

### 1.4.1 Γενικές ιδιότητες

Οι ωχρατοξίνες παράγονται κυρίως από μύκητες του γένους *Aspergillus* και *Penicillium* (*A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. niger*, *P. verrucosum*). Τα είδη που παράγουν ωχρατοξίνη θεωρούνται μύκητες αποθήκης, έτσι οι ωχρατοξίνες παράγονται κάτω από ορισμένες συνθήκες αποθήκευσης και συνήθως δεν ανιχνεύονται πριν τη συγκομιδή (Magnoli *et al.*, 2006). Εντοπίζονται σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων όπως κριθάρι, σιτάρι, βρώμη, αποξηραμένα φρούτα, τροφές που παράγονται από δημητριακά, κρέας πουλερικών, καφέ και κρασί. Οι ωχρατοξίνες κατηγοριοποιούνται σε τρεις μεγάλες ομάδες, Α, Β και C, που διαφέρουν ελαφρώς μεταξύ τους ως προς τις χημικές τους δομές. Αυτές οι διαφορές ωστόσο, διαφοροποιούν σημαντικά τα αντίστοιχα τοξικά τους δυναμικά, με την ωχρατοξίνη Α (ΩΤΑ) να είναι η πιο συχνά εμφανιζόμενη και με τη μεγαλύτερη τοξικότητα. Ένα μόριο ωχρατοξίνης αποτελείται από τις ενώσεις διυδροϊσοκουμαρίνη και L-β-φαινυλαλανίνη (Battacone, Nudda and Pulina, 2010). Στην εικόνα 4 παρουσιάζονται οι χημικές δομές της ωχρατοξίνης.



Εικόνα 4 Οι χημικές δομές της Ωχρατοξίνης Α (σκουρό μπλε: τμήμα φαινυλαλανίνης, κόκκινο: δακτύλιο διυδροϊσοκουμαρίνης, πράσινο: όξινο υδρογόνο), Β και Γ. Οι επισημασμένες δομές (γαλάζιο) είναι χαρακτηριστικές στα τρία διαφορετικά μόρια ωχρατοξίνης.

Η ωχρατοξίνη Α ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά στη Νότιο Αφρική ως δευτερογενής μεταβολίτης του *Aspergillus ochraceus* (Van der Merwe and Fourie, 1965). Έχει συνδεθεί με την Βαλκανική Ενδημική Νεφροπάθεια γνωστή στη βιβλιογραφία ως BEN και την ανάπτυξη όγκων στην ουροδόχο κύστη (Castegnaro *et al.*, 2006). Η ΩΤΑ δρα επίσης στον ανθρώπινο οργανισμό ως αναστολέας του ανοσοποιητικού συστήματος. Επιπλέον, έχει εμβρυοτοξική, νευροτοξική και νεφροτοξική δράση (Ringot *et al.*, 2006) και έχει καταχωρηθεί από την IARC (1993) ως πιθανή καρκινογόνος ουσία για τον άνθρωπο και τα ζώα (Ομάδα 2B) (IARC, 1993).



#### 1.4.2 Τοξικοκινητική της ΩΤΑ

Η σημαντικότητα της επίδρασης των μυκοτοξινών διαφέρει μεταξύ των ζωικών οργανισμών και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως η έκταση της μόλυνσης, ο ρυθμός απορρόφησης των μυκοτοξινών από τον οργανισμό, η κατανομή, η σύνδεση και η εντόπισή τους σε διάφορους ιστούς καθώς και η «βιομετατροπή» και η αποβολή από τον οργανισμό. Η συμβολή των παραπάνω παραγόντων επηρεάζεται από τις φυσικές και χημικές ιδιότητες των ωχρατοξινών και από την αλληλεπίδρασή αυτών με τους διάφορους ιστούς, οι οποίοι έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν και να απομακρύνουν τις τοξίνες αυτές.

Μετά την κατανάλωση μολυσμένης τροφής, η ΩΤΑ απορροφάται βραδέως από την πρόσθια μοίρα του λεπτού εντέρου. Αυτό δεν συμβαίνει στα μηρυκαστικά εξαιτίας της δράσης της χλωρίδας της μεγάλης κοιλίας, η οποία διασπά τον αμιδικό δεσμό της ΩΤΑ και σχηματίζει φαινυλανίνη και ένα μη τοξικό μεταβολίτη, την ωχρατοξίνη Α (Karlovsky, 1999). Στη συνέχεια, μετά την απορρόφηση της στο λεπτό έντερο, εισέρχεται στη συστηματική κυκλοφορία του οργανισμού και εκεί μπορεί να συνδέεται με τις πρωτεΐνες του ορού. Συσσωρεύεται κυρίως στα νεφρά αλλά και σε μικρότερες συγκεντρώσεις στο ήπαρ, στο μυϊκό ιστό αλλά και στο λιπώδη ιστό.

Όσον αφορά τον χοίρο η ικανότητα σύνδεσης της ΩΤΑ, μπορεί να φθάσει έως και το 99% της ολικής συγκέντρωσης της ΩΤΑ. Παρόλη την υψηλή ικανότητα σύνδεσης της ΩΤΑ που παρατηρείται στο χοίρο, στα ερυθροκύτταρα του ανιχνεύονται συνήθως μόνο ίχνη της τοξίνης. Λόγω της σύνδεσης της με τις πρωτεΐνες του ορού ο χρόνος που απαιτείται για την απομάκρυνση της ποικίλλει ευρύτατα στα διάφορα είδη ανάλογα με το είδος και την έκταση της σύνδεσης. Επίσης, η ΩΤΑ έχει αυξημένη ημιπερίοδο ζωής (LD<sub>50</sub>) στον ορό διαφόρων θηλαστικών, πλην των μηρυκαστικών ζώων και αυτό οφείλεται στην σύνδεση της με τις πρωτεΐνες του ορού ενώ και ο χρόνος μέχρι την απομάκρυνση της από τον οργανισμό, ποικίλλει στα διάφορα είδη και εξαρτάται από το είδος και την έκταση της σύνδεσης. Ο μεταβολισμός της είναι μικρός και γίνεται στα νεφρά και σε μικρότερο βαθμό στο ήπαρ των οργανισμών (Ringot *et al.*, 2006).

Συνολικά, η απορρόφηση της τοξίνης στους χοίρους φτάνει το 66%, με τη μέγιστη απορρόφηση να παρατηρείται στο λεπτό έντερο και κυρίως στην αρχική μοίρα της νήστιδας (Galtier, Alvinerie and Charpentreau, 1981). Η ΩΤΑ που έχει συνδεθεί με τις πρωτεΐνες του ορού, μπορεί για μεγάλο χρονικό διάστημα να απελευθερώνεται στην κυκλοφορία και στη συνέχεια να συσσωρεύεται σε διάφορους ιστούς. Η μέγιστη συγκέντρωση της στον ορό του αίματος μπορεί να ανιχνευθεί μετά από 10-48 ώρες, όταν η πρόσληψη της γίνει από τη στοματική οδό ενώ ο χρόνος ημίσειας ζωής της στον ορό του αίματος είναι 72-120 ώρες. Στον άνθρωπο το μεγαλύτερο LD<sub>50</sub> της ΩΤΑ αντιστοιχεί σε 840 ώρες και στον χοίρο σε 120 ώρες. Η απομάκρυνση της ΩΤΑ από την κυκλοφορία του αίματος έχει βρεθεί πως είναι καθυστερημένη σε σχέση με την

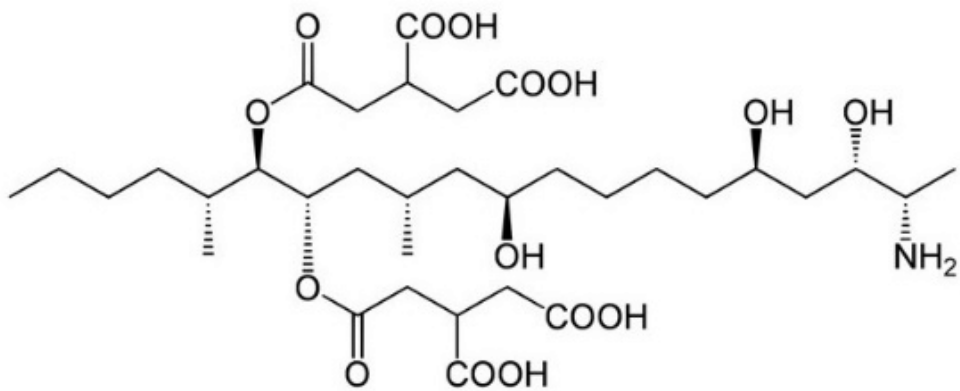
αντίστοιχη στα νεφρά, στο ήπαρ και στους άλλους ιστούς. Η συνεχής χορήγηση ΩΤΑ για διάστημα 3 εβδομάδων με την τροφή οδηγεί σε σταθερή συγκέντρωση της ωχρατοξίνης στο αίμα. Ο μεταβολισμός της τοξίνης στους ιστούς των θηλαστικών είναι ιδιαίτερα μικρός και μόνο ένα μικρό μέρος της οξειδώνεται και προκύπτουν οι μεταβολίτες 4R ή 4S - υδροξυωχρατοξίνης Α. Στις οξειδωτικές αυτές διεργασίες εμπλέκεται το κυτόχρωμα Ρ 450 (Lusky, 1993; Gareis & Scheuer, 2000). Συμπερασματικά, από τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης το χοιρινό κρέας, τα προϊόντα του και ιδιαίτερα αυτά που περιέχουν αίμα και νεφρούς χοίρου είναι η σημαντικότερη πηγή μόλυνσης του ανθρώπου από την τοξίνη (Frank, 1991; Gareis & Scheuer, 2000; JECFA 2001; (Matrella *et al.*, 2006).

Η απέκκριση της ωχρατοξίνης πραγματοποιείται από τη χολή και τα νεφρά. Στα τελευταία, μόνο το μη συνδεδεμένο τμήμα της τοξίνης μπορεί να περάσει τη σπειραματική διήθηση ενώ υπάρχει η πιθανότητα να σημειωθεί επαναπορρόφηση της τοξίνης στα εγγύς σπειροειδή σωληνάκια. Με αυτό τον τρόπο προκαλείται συσσώρευση της τοξίνης και αργή αποβολή της. Η συμμετοχή της κάθε πιθανής οδού στην απέκκριση της ΩΤΑ εξαρτάται από το μέγεθος της σύνδεσης της ωχρατοξίνης με τα διάφορα μόρια του ορού του αλλά και από τις διαφορές που παρουσιάζονται κατά την εντεροηπατική κυκλοφορία της (Ringot *et al.*, 2006)

## 1.5 Φουμονισίνες (FB)

### 1.5.1 Γενικά χαρακτηριστικά φουμονισινών

Η πρώτη φουμονισίνη απομονώθηκε το 1988 από τον μύκητα *Fusarium verticillioides* (Gelderblom *et al.*, 1988) και έκτοτε έχουν χαρακτηριστεί τουλάχιστον 18 φουμονισίνες. Παράγονται από μύκητες του γένους *Fusarium* (*F. verticillioides*, *F. proliferatum*) και συνιστούν μια ομάδα δομικά παρόμοιων ενώσεων που ταξινομούνται σε τέσσερις υποομάδες, τις Α, Β, C και Ρ. Οι ευρύτερα διαδεδομένες φουμονισίνες είναι η Β<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>), η Β<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>) και η Β<sub>3</sub> (FB<sub>3</sub>). Από πλευράς χημικής δομής είναι υδατοδιαλυτοί, θερμικά σταθεροί και ανθεκτικοί στα αλκάλια, αλειφατικοί υδρογονάνθρακες με μία τελική αμινομάδα και δύο πλευρικές αλυσίδες τρικαρβοξυλικών οξέων (Steyn, 1995). Ο αριθμός και η θέση των υδροξυλίων στον αλειφατικό υδρογονάνθρακα καθορίζουν τη χημική δομή της FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> και FB<sub>3</sub>. Η FB<sub>1</sub> και FB<sub>2</sub> έχουν παρόμοια τοξικότητα, ενώ η FB<sub>3</sub> είναι ελάχιστα τοξική για τον χοίρο (Osweiler, 1999). Η φουμονισίνη Β<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) αντιπροσωπεύει περίπου το 80% των φουμονισινών που απαντώνται σε μολυσμένες τροφές (Wan Norhasima *et al.*, 2009) και ανιχνεύεται πολύ συχνά σε καλαμπόκι, δημητριακά και σιτηρά, όπου αναπτύσσεται κυρίως κατά την καλλιέργειά τους (Waszkiewicz, Beszterda and Goliński, 2012). Στην Εικόνα 5 φαίνεται η χημική δομή της φουμονισίνης Β<sub>1</sub>.



Fumonisin B1

Εικόνα 5 Χημική δομή της φουμονισίνης B<sub>1</sub>

Η φουμονισίνη B<sub>1</sub> είναι παρόμοιας τοξικότητας με την ωχρατοξίνη A και έχει επίσης ταξινομηθεί ως πιθανή καρκινογόνος ουσία για τον άνθρωπο και τα ζώα (Ομάδα 2B, IARC, 1993, 2002) (IARC, 1993; IARC, 2002). Οι φουμονισίνες ενοχοποιούνται ότι προκαλούν καρκίνο του οισοφάγου (Van Der Westhuizen *et al.*, 2003), καρκίνο του ήπατος (Sun *et al.*, 2007), νευρολογικά και καρδιαγγειακά προβλήματα (Maize *et al.*, 2018).

### 1.5.2 Τοξικοκινητική Φουμονισινών B<sub>1</sub>

Η μυκοτοξίνη FB<sub>1</sub> απορροφάται δύσκολα και μπορεί να απεκκρίνεται γρήγορα (από τα ούρα και τη χολή) στα περισσότερα είδη (JECFA, 2001). Σε αρουραίους, η FB<sub>1</sub> μπορεί να απεκκρίνεται στα περιττώματα (80%) και στα ούρα (3%), σε 96 ώρες μετά από ενδογαστρική χορήγηση ραδιοσημασμένου [<sup>14</sup>C] FB<sub>1</sub>. Ωστόσο, χαμηλά αλλά σταθερά επίπεδα FB<sub>1</sub> εξακολουθούν να ανιχνεύονται στο ήπαρ, στα νεφρά και στο αίμα (Norred, Plattner and Chamberlain, 1993). Παρόλο που το ήπαρ και τα νεφρά είναι δύο κύρια όργανα-στόχοι που διατηρούν τις περισσότερες από τις απορροφούμενες τοξίνες, η FB<sub>1</sub> μπορεί επίσης να βρεθεί στον ορό και σε άλλους ιστούς σε χοίρους, μετά από χορήγηση φουμονισινών B<sub>1</sub> από το στόμα (Meyer *et al.*, 2003; Fodor *et al.*, 2006).

Η εντερική απορρόφηση της FB<sub>1</sub> και η απέκκριση της από την χολή, εμπλέκονται στις πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ FB<sub>1</sub> και χοληστερόλης (Mahfoud *et al.*, 2002). Η FB<sub>1</sub> αλληλεπιδρά κάνοντας δεσμούς με τη χοληστερόλη και χολικά άλατα, όπως το ταυροχολικό νάτριο, και δημιουργεί μικτά μικκύλια. Η FB<sub>1</sub> που προσλαμβάνεται από την τροφή θα μπορούσε να ενσωματωθεί σε μικτά μικκύλια και έτσι να διευκολύνει την εντερική της απορρόφηση (Mahfoud *et al.*, 2002). Μερικές μελέτες εξέτασαν τη

μεταφορά της FB<sub>1</sub> από το έντερο στη μήτρα ή τα αυγά. Προηγούμενες μελέτες σε είδη θηλαστικών έδειξαν ότι η FB<sub>1</sub> μπορούσε να διασχίσει τον πλακούντα όταν το έγκυο ποντίκι εκτέθηκε σε FB<sub>1</sub>, κατά τη διάρκεια της πρώιμης περιόδου κύησης (εμβρυϊκή ημέρα 7,5-8,5, E7,5-8,5) (Gelineau-Van Waes *et al.*, 2005). Στο αρχικό στάδιο της κύησης, ο πλακούντας δεν έχει ακόμη σχηματιστεί καλά, γεγονός που δυνητικά αφήνει τα έμβρυα ευάλωτα σε τερατογενέσεις. Ωστόσο, όταν οι έγκυοι αρουραίοι εκτέθηκαν σε FB<sub>1</sub> σε μεταγενέστερη περίοδο κύησης (E15), η ανάπτυξη του εμβρύου δεν επηρεάστηκε από τις τοξίνες, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο πλήρως αναπτυγμένος πλακούντας μπορεί να παρέχει προστατευτικό φράγμα κατά της προσβολής με μυκοτοξίνη (Flynn *et al.*, 1997). Παρ' όλα αυτά, κανένα στοιχείο δεν έχει δείξει μεταφορά FB<sub>1</sub>-πλακούντα ή αυγού-FB<sub>1</sub> σε ανθρώπους και σε είδη πτηνών.

Με βάση την ενδοφλέβια δοσολογία, η κινητική της αποβολής της FB<sub>1</sub> είναι σύμφωνη με το μοντέλο ενός ή δύο διαμερισμάτων. Ανάλογα με τα είδη ζώων, η αρχική αποβολή της FB<sub>1</sub> είναι ταχεία με χρόνο ημιζωής περίπου 10 έως 116 λεπτά, μεταξύ διαφορετικών ζώων (Shephard *et al.*, 1992; Vudathala *et al.*, 1994; Prelusky, Savard and Trenholm, 1995). Στα απογαλακτισμένα χοιρίδια, ωστόσο, τα FB<sub>1</sub>, PHB<sub>1</sub> και AP<sub>1</sub> ανιχνεύθηκαν σε ζωικούς ιστούς, κατά τη διάρκεια μιας περιόδου απομάκρυνσης διάρκειας δέκα ημερών (Fodor *et al.*, 2008).

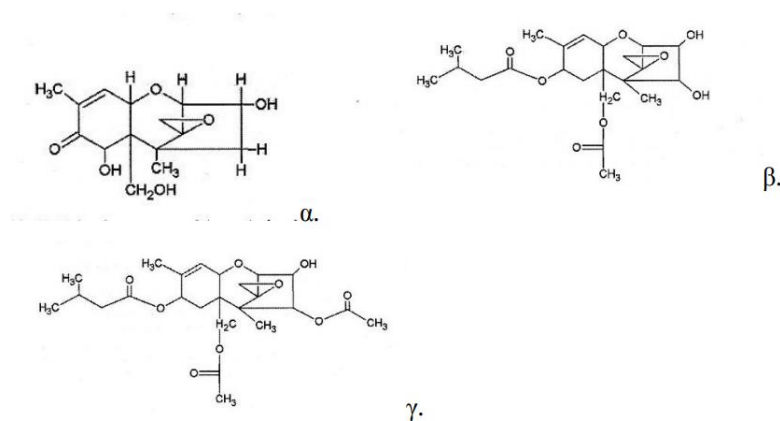
Οι φουμοσίνες προκαλούν αναστολή της βιοσύνθεσης των σφινγολιπιδίων που αποτελούν συστατικό των κυτταρικών και άλλων μεμβρανών. Συγκεκριμένα, αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου N-ακετυλοτρανφεράση (ένζυμο απαραίτητο για την παραγωγή σφινγολιπιδίων), επομένως και την ενζυμική αντίδραση μετατροπής της σφινγανίνης σε σιγγασίνη, με αποτέλεσμα την αύξηση του λόγου των συγκεντρώσεων σφινγανίνης/σιγγασίνης επιδρώντας με αυτόν τον τρόπο στη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων (Norred, Plattner and Chamberlain, 1993). Τα σφινγολιπίδια και τα σφινγογλυκολιπίδια είναι απαραίτητα συστατικά των μεμβρανών των κυττάρων και δρουν ως κυτταρικοί υποδοχείς βακτηρίων και βακτηριακών τοξινών. Η μεταβολή τους στα κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα μεταβάλλει τους βακτηριακούς υποδοχείς των επιθηλιακών κυττάρων του εντερικού βλεννογόνου και διευκολύνει τελικά τον έντονο αποικισμό και πολλαπλασιασμό παθογόνων μικροβιακών στελεχών στο έντερο οδηγώντας στην πρόκληση των αντίστοιχων κλινικών συμπτωμάτων (Oswald *et al.*, 2003).

## 1.6 Τριχοθηκίνες

### 1.6.1 Γενικά χαρακτηριστικά Τριχοθηκινών

Οι τριχοθηκίνες ή τριχοθηκένια παράγονται από μύκητες του γένους *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum*, και *F. cerealis*). Η πρώτη τριχοθηκίνη ανακαλύφθηκε το 1949 (FREEMAN, 1949) και απομονώθηκε από τον μύκητα *Trichothecium roseum*,

από τον οποίο προήλθε και το όνομα τριχοθηκίνη. Σήμερα, οι τριχοθηκίνες αποτελούν μια ομάδα 190 περίπου ενώσεων, οι οποίες έχουν ταυτοποιηθεί και έχουν καταταχθεί σε τέσσερις υποομάδες (τύπου A, B, C και D). Οι κυριότερες υποομάδες είναι οι τύπου A, οι οποίες είναι οι τοξικότερες, με χαρακτηριστικότερες τις μυκοτοξίνες HT-2 και T2 καθώς και οι τύπου B, που είναι οι πολυπληθέστερες με κυριότερο εκπρόσωπο τη δεοξυνιβαλενόλη (DON) (Grove, 1993). Οι τριχοθηκίνες είναι πολύ σταθερά μόρια και δε διασπώνται κατά την αποθήκευση, την άλεση, τις υψηλές θερμοκρασίες, την επεξεργασία ή το μαγείρεμα (Eriksen G.S, 1998). Η χημική δομή των τριχοθηκινών φαίνεται στην Εικόνα 6.



Εικόνα 6 Χημική δομή τριχοθηκινών α) δεοξυνιβαλενόλη (DON) β) HT-2 γ) T2

Η δεοξυνιβαλενόλη είναι η συχνότερα ανιχνευόμενη τριχοθηκίνη και παράγεται από τα είδη *F. graminearum*, *F. culmorum*, και *F. cerealis* (Eriksen G.S., 1998). Ανιχνεύεται συνήθως σε δημητριακά όπως σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι, κριθάρι και βρώμη (Rupp H.S., 2002). Είναι μία μικροσκοπική άχρωμη σκόνη διαλυτή σε διαλύτες όπως το νερό, η μεθανόλη, η αιθανόλη, το ακετονιτρίλιο και ο οξικός αιθυλεστέρας. Παραμένει σταθερή κατά την αποθήκευση, την άλεση και ως ένα βαθμό είναι ανθεκτική στην θερμική επεξεργασία των τροφίμων και των ζωοτροφών (Kabak, 2009).

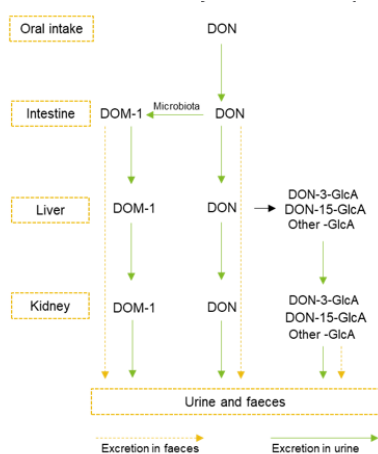
Η DON είναι ευρύτερα γνωστή και ως βομιτοξίνη (vomitoxin), εξαιτίας του κυρίου συμπτώματος (έμετος) που προκαλείται στα οικόσιτα ζώα, κυρίως στους χοίρους, από την κατανάλωση τροφών που περιέχουν αυτή τη μυκοτοξίνη (Pestka, 2010). Η τοξική δράση της DON σχετίζεται με την παρεμπόδιση της βιοσύνθεσης πρωτεϊνών και DNA, την παρεμπόδιση των μιτοχονδριακών λειτουργιών καθώς και την παρεμπόδιση διαφόρων λειτουργιών του κυττάρου και των μεμβρανών (Sobrona *et al.*, 2010). Τα κύρια συμπτώματα από την οξεία τοξικότητα είναι γαστρικές διαταραχές, αδιαθεσία, διάρροια, έμετος και ανορεξία. Σε περιπτώσεις χρόνιας τοξικότητας, τα συμπτώματα περιλαμβάνουν απώλεια βάρους, ανορεξία και σε ακραίες περιπτώσεις τον θάνατο του οργανισμού. Το 1993 η IARC εκτίμησε ότι η δεοξυνιβαλενόλη ανήκει στην ομάδα 3, δηλαδή χαρακτηρίστηκε ως μη καρκινογόνο μόριο για τους ανθρώπους (IARC, 1993).

Η τοξική δράση των παραπάνω μυκοτοξινών οφείλεται, κατά ένα μέρος, στην πρόκληση αναστολής της σύνθεσης των πρωτεϊνών. Οι τριχοθεσίνες συνδέονται με την πεπτιδική τρανσφεράση, η οποία αποτελεί κύριο συστατικό της υπομονάδας 60S των ριβοσωμάτων. Σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα, έχουν επίσης αναφερθεί ως τοξικές επιδράσεις, η πρόκληση απόπτωσης κυττάρων του λεμφικού και αιμοποιητικού ιστού, η αναστολή της σύνθεσης του DNA και του RNA, οι μεταβολές της διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών λόγω διαταραχής στο μεταβολισμό των φωσφολιπιδίων, η αύξηση των υπεροξειδίων των ηπατικών λιπιδίων και οι μεταβολές στη φυσιολογική δραστηριότητα τόσο του κεντρικού όσο και του περιφερειακού σεροτονινεργικού συστήματος (Eriksen and Pettersson, 2004).

### 1.6.2 Τοξικοκινητική της DON

Η τοξικοκινητική περιγράφεται συχνά από τις διαδικασίες της απορρόφησης (A), κατανομής (D), μεταβολισμού (M) και απέκκρισης (E), συλλογικά περιγράφεται ως ADME.

Η τοξικοκινητική και ο μεταβολισμός της DON έχουν διερευνηθεί εκτενώς τόσο στον χοίρο όσο και σε άλλα είδη ζώων. Ωστόσο, τα *in vitro* τοξικοκινητικά δεδομένα έκθεσης των ανθρώπων στην DON είναι ελάχιστα. Μελέτες δείχνουν πως οι χοίροι φαίνεται να είναι υποσχόμενα ζωικά μοντέλα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση του τοξικολογικού ρίσκου των μυκοτοξινών στον άνθρωπο (Schelstraete, Devreese and Croubels, 2020). Η ευαισθησία των διαφόρων ειδών θα μπορούσε γενικά να ταξινομηθεί μεταξύ των ζωικών ειδών όπως χοίροι> ποντικοί> αρουραίοι> μηρυκαστικά πουλερικών (Schelstraete et al., 2020). Στους ανθρώπους, παρά το γεγονός ότι η DON και οι μεταβολίτες της έχουν παρακολουθηθεί ευρέως μέσω μελετών βιοπαρακολούθησης, σπάνια τοξικοκινητικά δεδομένα (TK) και δεδομένα μεταβολισμού από ανθρώπους είναι προς το παρόν διαθέσιμα. Το Σχήμα 1.1 συνοψίζει σχηματικά τα κύρια βήματα του μεταβολισμού DON.



Σχήμα 1.1: Κύρια βήματα μεταβολισμού της DON



Ο μεταβολισμός της DON και των ακετυλιωμένων και τροποποιημένων μορφών της σε ανθρώπους και ζώα περιγράφεται σχηματικά στην [Εικόνα 10](#).

### **Απορρόφηση και Κατανομή**

Η απορρόφηση της DON στα ζώα εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων των ειδών, της ηλικίας και ακόμη και του φύλου. Αν και η εμφάνιση της DON στο αίμα μετά από κατάποση από το στόμα είναι γρήγορη, εντός 15-30 λεπτών στα περισσότερα είδη θηλαστικών, η έκταση της απορρόφησης κυμαίνεται σε μεγάλο βαθμό από 7% στα μηρυκαστικά (πρόβατα και αγελάδα) έως 25% σε αρουραίους και έως 89% μετά από χρόνια έκθεση σε χοίρο (Lake *et al.*, 1987; Prelusky *et al.*, 1988; Goyarts and Dänicke, 2006). Η στοματική βιοδιαθεσιμότητα της DON στα πουλικά είναι ιδιαίτερα κακή και ο χαμηλός ρυθμός απορρόφησης μπορεί να εξηγήσει τη χαμηλή ευαισθησία των πουλικών στη DON (Prelusky *et al.*, 1986; Garcia *et al.*, 2009; Osselaere *et al.*, 2013). Οι συγκεντρώσεις DON στο πλάσμα και στους ιστούς σε απογαλακτικούς ποντικούς ήταν περίπου διπλάσιες από εκείνες των ενηλίκων ποντικών στους οποίους δόθηκαν ίδιες δόσεις της τοξίνης, δείχνοντας ότι η DON μπορεί να απορροφηθεί αποτελεσματικότερα σε νεαρά ζώα (Pestka and Amuzie, 2008). Ομοίως, η σύγκριση της βιοδιαθεσιμότητας DON σε αρσενικούς και θηλυκούς αρουραίους έδειξε ότι αυτή η μυκοτοξίνη μπορεί να έχει υψηλότερη απορρόφηση στις γυναίκες σε σύγκριση με τα αρσενικά (Wan *et al.*, 2014).

Μελέτες που χρησιμοποιούν ραδιοεπισημασμένη DON έδειξαν ότι η DON και οι ραδιενεργά σημασμένοι μεταβολίτες της γρήγορα διανέμονται παροδικά σε όλους τους ιστούς (πλάσμα, μυς, κοιλιακό λίπος, στομάχι, έντερα, συκώτι, νεφρά, καρδιά, εγκέφαλος, πνεύμονας, δέρμα, σπλήνα, όρχεις, ωοθήκες και επινεφρίδια) (Prelusky *et al.*, 1988; Rotter *et al.*, 1991). Η παροδική κατανομή ιστών συνδέεται πιθανώς με την ταχεία εξάλειψη της DON. Έχει δείξει επίσης διέλευση της DON σε πλακούντα χοίρου (Dänicke *et al.*, 2007; Goyarts *et al.*, 2007).

Πρόσφατη μελέτη οδήγησε σε δημιουργία δεδομένων σχετικά με την απορρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητα των DON και DON3G σε ανθρώπους. Με βάση τα προφίλ νεφρικής απέκκρισης, αποδείχθηκε ότι η DON καθώς και η DON3G απορροφώνται και κατανέμονται γρήγορα στους ανθρώπους. Επιπλέον, με βάση την αναλογία της συνολικής ποσότητας που απεκκρίνεται μετά από 24 ώρες και τη δόση που έλαβαν οι εθελοντές, το ποσοστό της DON και της DON3G που απορρίφθηκε είναι συγκρίσιμο:  $64\% \pm 22\%$  και  $58\% \pm 16\%$  αντίστοιχα. Μετά την από του στόματος χορήγηση DON ή DON3G, το μέγιστο ποσοστό απορρόφησης των εθελοντών ήταν 98% για το DON και 84% για το DON3G. Αυτό δείχνει ότι σε ορισμένους εθελοντές η ανάκτηση του συνολικού DON ήταν σχεδόν πλήρης (Mengelers *et al.*, 2019).

## Μεταβολισμός

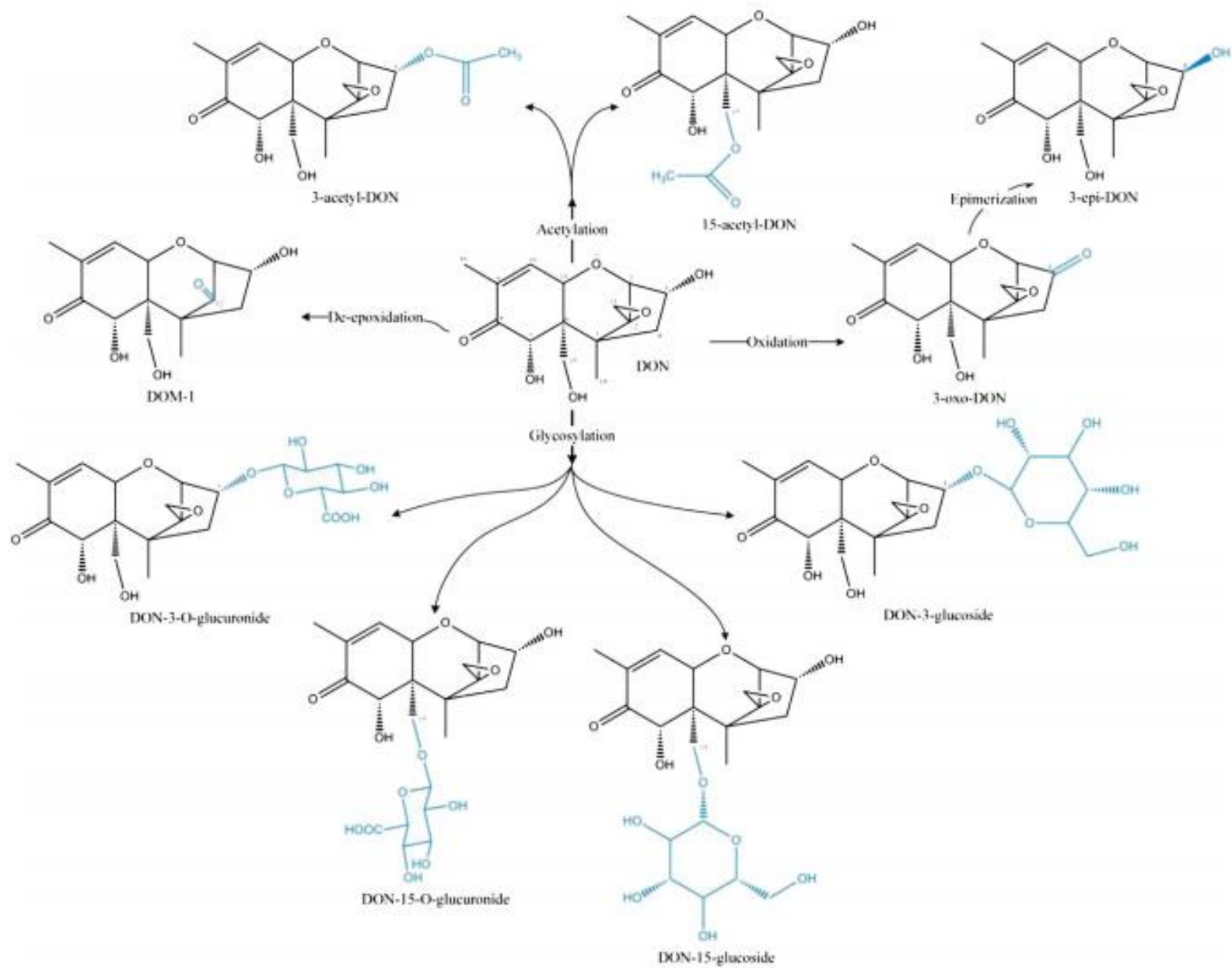
Ο μεταβολισμός των ξενοβιοτικών συνήθως διεκπεραιώνεται ενζυμικά σε δύο φάσεις. Στη φάση I ανήκουν αντιδράσεις οξειδωσης, αναγωγής και υδρόλυσης, ενώ στη φάση II αντιδράσεις σύζευξης με ενδογενείς ουσίες (π.χ γλυκουρονικό οξύ). Στη φάση I τα ξενοβιοτικά μεταβολίζονται σε περισσότερο υδατοδιαλυτούς μεταβολίτες με την προσθήκη (ή ελευθέρωση) υδρόφιλων ομάδων, όπως  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-NH_2$  &  $-COOH$  που επιτρέπουν τη σύζευξη τους με ενδογενή μόρια προς περισσότερο υδρόφιλα προϊόντα τα οποία απεκκρίνονται ευκολότερα. Μια από τις σημαντικότερες μεταβολικές διαδικασίες της φάσης II είναι η σύζευξη των ξενοβιοτικών ή των μεταβολιτών τους με γλυκουρονικό οξύ (τα γλυκουρονίδια είναι πολύ υδρόφιλοι μεταβολίτες και απεκκρίνονται από τους νεφρούς και τη χολή). Το ένζυμο που καταλύει τη σύζευξη με το γλυκουρονικό οξύ είναι η UPD-γλυκουρονυλοτρανσφεράση που εντοπίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Το γλυκουρονίδιο που σχηματίζεται φέρει τουλάχιστον μία καρβοξυλική ομάδα η οποία ιονίζεται και βοηθά στην απέκκριση. Εκτός από το ήπαρ που αποτελεί το κύριο όργανο στο οποίο λαμβάνει χώρα ο μεταβολισμός των ξενοβιοτικών, υπάρχουν και άλλα όργανα όπου συμβαίνουν μεταβολικές διεργασίες όπως οι νεφροί, πνεύμονες, δέρμα και ΓΕΣ όπου υπάρχει η μικροβιακή χλωρίδα (υπάρχουν πάνω από 400 είδη μικροβίων).

Πιο συγκεκριμένα, ο μεταβολισμός των τριχοθεσινών περιλαμβάνει δυο στάδια. Αρχικά (1ο στάδιο) πραγματοποιείται οξείδωση και υδρόλυση με αποτέλεσμα το σχηματισμό μεταβολιτών, οι οποίοι με τη σειρά τους αντιδρούν και ενώνονται με το γλυκουρονικό οξύ. Στο 2ο στάδιο ο χημικός δακτύλιος του εποξειδίου των τριχοθεσινών διασπάται (αντίδραση αποεποξειδωσης) από τη δράση της φυσιολογικής χλωρίδας του γαστρεντερικού σωλήνα (Bauer 1995). Σε αντίθεση με τα παραπάνω, η DON μεταβολίζεται απλούστερα και ταχύτερα με αποτέλεσμα την παραγωγή γλυκουρονικών παραγώγων της DON και μιας αποεποξειδικής ένωσης (μεταβολίτης του οποίου το εποξείδιο έχει διασπαστεί) (Osweiler 1999). Η αποεποξειδωση της DON πραγματοποιείται από την εντερική μικροβιακή χλωρίδα με αυξανόμενη δραστηριότητα από το λεπτό προς το παχύ έντερο. Η εντονότερη δραστηριότητα παρατηρείται στο παχύ έντερο (Dänicke, Valenta and Döll, 2004). Η αποεποξειδωμένη μορφή της DON δεν ανιχνεύεται στο αίμα, αν και απεκκρίνεται με τα ούρα. Αντίθετα, τα γλυκουρονικά παράγωγα της DON ανιχνεύονται στο αίμα και τα ούρα (Dänicke, Valenta and Döll, 2004; Eriksen and Pettersson, 2004). Οι ακετυλιωμένες μορφές της τοξίνης (3- και 15- ακέτυλο-DON), μετά την πρόσληψη τους με την τροφή, αποακετυλιώνονται ταχύτατα στα πρόσθια τμήματα του λεπτού εντέρου και στη συνέχεια απορροφώνται αποκλειστικά με τη μορφή της αποακετυλιωμένης DON (Eriksen and Pettersson, 2004). Μετά από χορήγηση 2,5 ppm 3-ακετυλο-DON σε χοίρους απεδείχθη πως ο ημίσιος χρόνος απορρόφησης της ήταν 1,26 ώρες. Στην περίπτωση αυτή δεν ανιχνεύθηκαν «απο-εποξείδια» (μεταβολίτες των οποίων το εποξείδιο έχει διασπαστεί μετά από αντίδραση απο-εποξειδωσης) της



τοξίνης στο πλάσμα του αίματος και στα ούρα, ακόμα και στα χοιρίδια των οποίων η μικροβιακή εντερική χλωρίδα είχε τη δυνατότητα να διασπάσει το εποξείδιο της αρχικής τοξίνης (Eriksen and Pettersson, 2004). Η αποβολή της DON πραγματοποιείται κυρίως από το ήπαρ και τους νεφρούς (EFSA 2004β).

Τα κύρια παράγωγα DON που προκύπτουν με ακετυλίωση, οξείδωση, αποεποξείδωση ή γλυκοσυλίωση είναι γνωστά (Berthiller, Dall'Asta, et al., 2005; Berthiller, Schuhmacher, et al., 2005; Kushiro, 2008; Karlovsky, 2011; Warth et al., 2012) και παρατίθενται στην Εικόνα 7 (Ran et al., 2013). Παρόλο που τα παράγωγα της DON είναι γενικά λιγότερο τοξικά από την ίδια την DON (Kushiro, 2008), η συνύπαρξη της DON και των παραγώγων της, έχει καταστήσει ένα hotspot για τη χρήση παραγώγων DON ως στόχους για την ανίχνευση DON (Lancova et al., 2008; Nagl et al., 2012). Μεταξύ αυτών των παραγώγων, τα 3-ακετυλο-DON, 15-ακετυλο-DON, DOM-1 και DON-3-γλυκοζίτη θεωρούνται ως κύριοι βιοδείκτες στην ανίχνευση DON.



Εικόνα 7: Χημικές δομές από την DON και τα παράγωγα της

Όσον αφορά τον μεταβολισμό των DON και DON3G στους ανθρώπους μελέτες έχουν δείξει πως οι κύριοι μεταβολίτες είναι τα γλυκουρονίδια DON-3-GlcA και DON-15-GlcA. Μια μελέτη σε τρεις ευρωπαϊκές χώρες παρείχε δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα των συνολικών DON (ελεύθερη DON και (μη ταυτοποιημένα) γλυκουρονίδια) και DOM-1 σε δείγματα ούρων ανθρώπου από διαφορετικές ομάδες πληθυσμού (Brera *et al.*, 2017). Τα πρωινά δείγματα ούρων συλλέχθηκαν για δύο συνεχόμενες ημέρες από 635 εθελοντές και, κατά μέσο όρο, τα γλυκουρονίδια DON αντιστοιχούσαν στο 66% έως 80% της συνολικής DON στα ούρα. Το υπόλοιπο τμήμα βρέθηκε ως ελεύθερη DON. Σε μια βελγική μελέτη βιοπαρακολούθησης, πολλαπλές μυκοτοξίνες αναλύθηκαν σε δείγματα ούρων το πρωί 155 παιδιών και 293 ενηλίκων (Heyndrickx *et al.*, 2015). Η DON-15-GlcA ήταν ο κύριος βιοδείκτης DON ούρων και βρέθηκε σε όλα τα δείγματα ούρων στην περιοχή ng/mL. Αρκετά χαμηλότερα επίπεδα DON-3-GlcA ποσοτικοποιήθηκαν στο 91% των δειγμάτων ούρων που συλλέχθηκαν από παιδιά και στο 77% των δειγμάτων που συλλέχθηκαν από ενήλικες. Με τη σειρά τους, τα επίπεδα DON ήταν χαμηλότερα από τα επίπεδα των γλυκουρονιδίων DON. Επιπλέον, οι Turner *et al.* έχουν δείξει σε αρκετές μελέτες ότι οι κύριοι μεταβολίτες της DON στους ανθρώπους είναι τα γλυκουρονίδια (Turner *et al.*, 2008, 2011; Turner, White, *et al.*, 2010). Σε μια μεταβολική μελέτη που διεξήχθη σε έναν εθελοντή, αποδείχθηκε ότι τα DON-γλυκουρονίδια αποτελούσαν το 76% (εύρος 72-80%) της συνολικής DON που καταναλώθηκε (Warth *et al.*, 2013). Το DON-15-GlcA ήταν το κύριο προϊόν σύζευξης, αποτελώντας το 73% των συνολικών γλυκουρονιδίων DON, ενώ το DON-3-GlcA αποτελούσε μόνο το 27%. In vivo μελέτες έδειξαν πως οι γλυκουρονιδιωμένες μορφές της DON συναντώνται σε διαφορετική αναλογία από είδος σε είδος. Για παράδειγμα, στους αρουραίους ο κυρίαρχος μεταβολίτης είναι η DON-3-GlcA, στους ανθρώπους ο κυρίαρχος μεταβολίτης είναι η DON-15-GlcA ενώ στους χοίρους οι δύο μεταβολίτες παράγονται σε παρόμοια αναλογία (Fæste *et al.*, 2018).

### Απέκκριση

Η DON και οι μεταβολίτες της μπορούν να βρεθούν στα κόπρανα και στα ούρα και σε πολύ χαμηλό βαθμό στον εκπνεόμενο αέρα (Prelusky *et al.*, 1986; Lake *et al.*, 1987). Τα περισσότερα είδη ζώων παρουσιάζουν ταχεία κάθαρση της DON. Ένας χρόνος ημίσειας απομάκρυνσης πλάσματος 3,9 ωρών αναφέρθηκε μετά από ενδοφλέβια χορήγηση DON σε χοίρους, ενώ στα αρσενικά πρόβατα αυτός ο χρόνος ημίσειας ζωής αποβολής από το πλάσμα ήταν 100–125 λεπτά (Prelusky, Veira and Trenholm, 1985; Rotter *et al.*, 1991). Η κάθαρση τοξινών από πλάσμα ποντικών που εκτέθηκαν από το στόμα σε DON ακολούθησε κινητική δύο διαμερισμάτων με αρχική ταχεία εξαφάνιση ( $t_{1/2} = 0,36$  ώρες) και βραδύτερη τελική αποβολή ( $= 7,62$ ) (Azcona-Olivera *et al.*, 1995).

Μελέτες που έχουν γίνει στον άνθρωπο έδειξαν πως τόσο η DON όσο και η DON3G απεκκρίνονται γρήγορα και αποτελεσματικά από τα νεφρά. Μετά από χορήγηση της DON από το στόμα παρατηρήθηκε ότι η μέγιστη ποσότητα που απεκκρίθηκε ( $T_{max}$ ) και ανιχνεύθηκε στα ούρα είτε σε ελεύθερη DON, είτε σε DON-3-GlcA, είτε σε DON-15-GlcA ήταν μεταξύ 0,5-1h (Mengelers *et al.*, 2019) (Εικόνα 8α & Εικόνα 8β). Ένα μικρό μέρος της DON3G (<5% της από του στόματος δόσης της DON3G) απορροφάται ως γλυκοζίτης ενώ το μεγαλύτερο μέρος (περίπου το 50% της από του στόματος δόσης της DON3G) απορροφάται ως DON (μετά από υδρόλυση της DON3G), η οποία με τη σειρά της εκκρίνεται νεφρικά και μεταβολίζεται σε DON-3-GlcA και κυρίως σε DON-15-GlcA πριν από την απέκκριση.

Στον παρακάτω Πίνακα 1.2.1 παρουσιάζονται δεδομένα τοξικοκινητικής της DON σε ανθρώπους μετά από χορήγηση μονής δόσης DON 1μg/kg σωματικού βάρους και έχοντας υποστεί ειδική διατροφή ώστε να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα πρόσληψης της μυκοτοξίνης αυτής μέσω διατροφής. Τα ούρα αναλύθηκαν για DON, DON3G, 3-ADON, 15-ADON, deeroxy-deoxygivalenol (DOM-1), DON3-GlcA, DON-15-GlcA για 24h. Οι παραπάνω 2 μελέτες πραγματοποιήθηκαν από τους Vidal & συνεργάτες σε 20 εθελοντές (Vidal *et al.*, 2018) και από τη Mengelers και τους συνεργάτες της σε 16 εθελοντές (Mengelers *et al.*, 2019).

Παράμετρος	(Vidal <i>et al.</i> , 2018)	(Mengelers <i>et al.</i> , 2019)
Ποσοστό απορρόφησης		30-98%
Ποσοστό ανάκτησης DON (Ελεύθερη DON & DON-glucuronides)	64.0 ± 22.8 %	64±22%
Ποσοστό ανάκτησης free DON	27%	20-30%
Ποσοστό ανάκτησης DON-15-GlcA	58.2±8.74 %	n.a
Ποσοστό ανάκτησης DON-3-GlcA	14.4±6.72 %	n.a
Ποσοστό ανάκτησης DOM-1	0.05±0.17% * μόνο σε 2 εθελοντές	n.d
Ποσοστό ανάκτησης 3-ADON	n.d	n.a
Ποσοστό ανάκτησης 15-ADON	n.d	n.a
Ποσοστό ανάκτησης DON-3G	n.d	n.d
Απέκκριση DON (Άνδρες)	25.9±9.9%	n.a
Απέκκριση DON (Γυναίκες)	41.7±11.2%	n.a

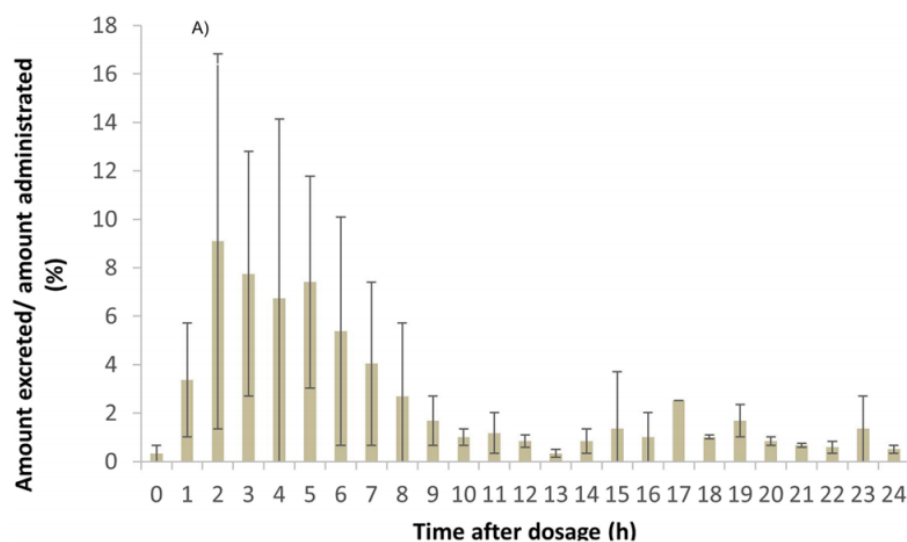
Πίνακας 1.2.1: παρουσιάζονται δεδομένα τοξικοκινητικής της DON σε ανθρώπους μετά από χορήγηση μονής δόσης DON 1μg/kg σωματικού βάρους

Μέχρι τώρα, δεν υπάρχει διαθέσιμο πλήρες τοξικοκινητικό προφίλ που να εκτιμά τις κινητικές παραμέτρους της DON στον άνθρωπο. Προσπαθώντας να εκτιμήσουν αυτές τις παραμέτρους από πειράματα σε ζώα, οι Fæste *et al.* (2018) εφάρμοσε μια *in vitro* προσέγγιση *in vivo* παρέκτασης και αλλομετρική κλιμάκωση σε δεδομένα που ελήφθησαν από δοκιμές σε ζώα, για να προβλέψει τις τοξικοκινητικές ιδιότητες της DON σε ανθρώπους. Ο Πίνακας 1.2.2 παρουσιάζει τις προβλεπόμενες παραμέτρους τοξικοκινητικής στην αναφερόμενη μελέτη. Οι εκτιμώμενες τιμές για τον άνθρωπο

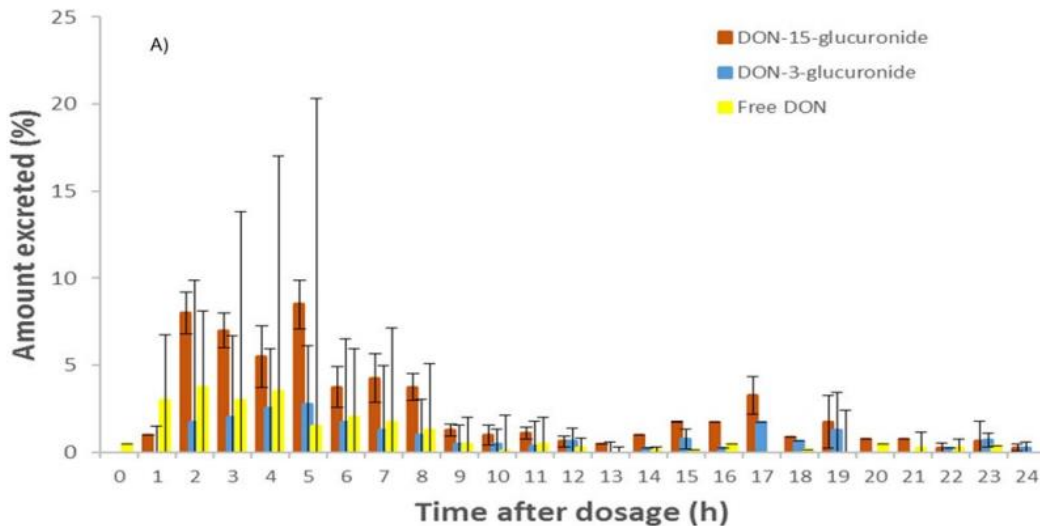
ήταν 0,3 και 0,24 L/h/kg BW για in vitro έως in vivo παρέκταση και αλλομετρική κλίμακα, αντίστοιχα. Ο εκτιμώμενος χρόνος ημίσειας ζωής κυμαινόταν μεταξύ 2,9 και 3,6 ωρών. Η απόλυτη βιοδιαθεσιμότητα, T<sub>max</sub> και V<sub>d</sub> ήταν 50-90%, 2,0 ώρες και 1,24 L/kg BW, αντίστοιχα (Fæste *et al.*, 2018).

Παράμετρος	Ανθρώπινα δεδομένα
CL <sub>b</sub> [L/(h × kg)]	0.30/0.24
c <sub>b</sub> /c <sub>p</sub> (blood/plasma coefficient)	1.01
CL <sub>p</sub> [(L/(h × kg)]	0.30/0.24
V <sub>d</sub> (L/kg)	1.24
t <sub>1/2</sub> (h)	2.9/3.6
t <sub>max</sub> (h)	2.0
f (%)	50–90
AUC <sub>po,norm(max)</sub> (h × kg/L)	2.63/2.08–3.75
excretion <sub>urine_24 h</sub> (% , total DON)	70
dose (mg/kg)	0.2-2.0 × 10 <sup>-3</sup>
c <sub>max</sub> (μg/L)	0.1-1.0
c <sub>max_ARfD</sub> (μg/L)	2.0-5.8
AUC <sub>po,max</sub> (μg × h/L)	0.5–5.4
AUC <sub>po</sub> (μg × h/L)	0.4–7.5

Πίνακας 1.2.2: Προβλεπόμενες παράμετροι τοξικοκινητικής σε ανθρώπους AUC: περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης πλάσματος - χρόνου. CL<sub>p</sub>: κάθαρση πλάσματος CL<sub>b</sub>: κάθαρση αίματος V<sub>d</sub>: όγκος διανομής t<sub>1/2</sub>: χρόνος ημιζωής αποβολής · t<sub>max</sub>: χρόνος έως τη μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα. C<sub>max</sub>: μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα. f: βιοδιαθεσιμότητα

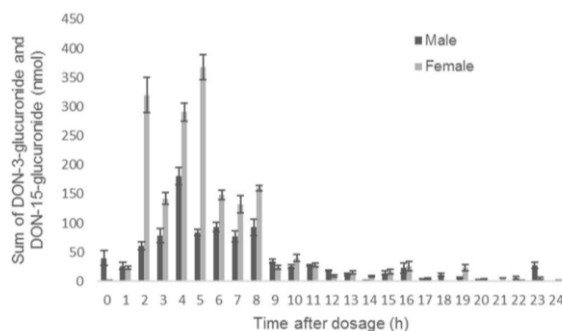


Εικόνα 8α: Αναλογία της συνολικής ποσότητας DON που απεκκρίνεται στα ούρα προς τη συνολική ποσότητα χορηγούμενης δεοξυνιβαλενόλης κατά τη διάρκεια των 24 ωρών συλλογής ούρων. (Vidal *et al.*, 2018)

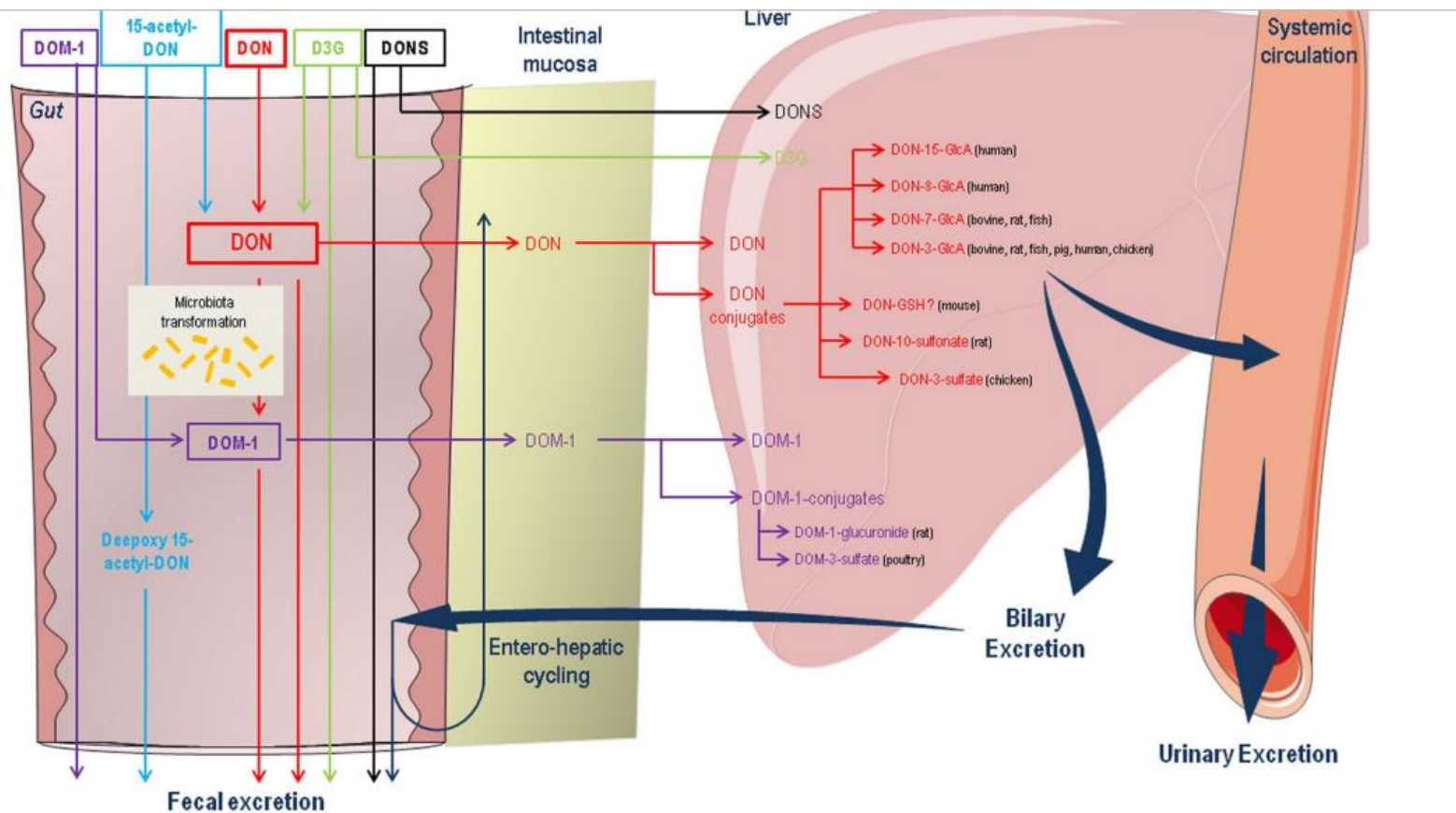


Εικόνα 8β: Ποσοστό δεοξυνιβαλενόλης-15-γλυκουρονίδης (DON-15 γλυκουρονίδης), δεοξυνιβαλενόλης-3-γλυκουρονίδης (DON-3-γλυκουρονίδης), ελεύθερης δεοξυνιβαλενόλης (DON) που ανακτώνται στα ούρα κατά τη διάρκεια 24ώρου μετά τη χορήγηση DON (Vidal et al., 2018).

Κατά τη σύγκριση των αποτελεσμάτων του βιοδείκτη για τη συνολική DON μεταξύ των φύλων, παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μετά τη συλλογή 24 ωρών ( $p=0,0032$ ): οι γυναίκες απέκριναν περισσότερο συνολικό DON από τους άνδρες. Υψηλότερες συγκεντρώσεις DON-15-γλυκουρονίδης ( $p=0,0140$ ) και DON3-γλυκουρονίδης ( $p=0,0087$ ) ανακτήθηκαν στα δείγματα που προέρχονται από τις γυναίκες εθελοντές μετά τη χορήγηση DON και DON-3-γλυκοζίδης (Εικ. 9). Μετά από μία μέρα,  $44,6 \pm 13,9\%$  (άνδρες) και  $72,7 \pm 13,5\%$  (γυναίκες) ανακτήθηκαν ως συνολικό DON της χορηγούμενης δόσης. Οι άνδρες απέκριναν το  $25,9 \pm 9,9\%$  της χορηγούμενης δόσης ως DON-15-γλυκουρονίδη εντός 24 ωρών, ενώ οι γυναίκες απέκριναν  $41,7 \pm 11,2\%$ . Το DON-3-γλυκουρονίδιο απεκκρίθηκε σε διαφορετικά επίπεδα:  $5,6 \pm 2,0\%$  (άνδρες) και  $12,6 \pm 3,9\%$  (γυναίκες). Λήφθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των συνολικών γλυκουρονιδίων μεταξύ των φύλων ( $p=0,0190$ ), όπου παρατηρήθηκε κατά μέσο όρο  $57,2 \pm 12,2\%$  για τις γυναίκες και  $31,5 \pm 10,0\%$  για τους άνδρες (Εικ. 9).



Εικόνα 9: Μέσο άθροισμα και τυπική απόκλιση της DON-3-GlcA & DON-15GlcA (nmol) που ανακτήθηκαν στα ούρα κατά τη διάρκεια 24 ωρών μετά τη χορήγηση μυκοτοζίνης σε άνδρες και γυναίκες (Vidal et al., 2018).



Εικόνα 10: Μεταβολισμός της DON και των ακετυλιωμένων και τροποποιημένων μορφών της σε ανθρώπους και ζώα. Ανάλογα με το είδος, σημαντικές ποσότητες DON και ακετυλιωμένες και τροποποιημένες μορφές της μετασχηματίζονται από το εντερικό μικροβίωμα πριν από την πρόσληψη τους από τον ιστό ξενιστή. Η φάση II του μεταβολισμού λαμβάνει χώρα στο ήπαρ και περιλαμβάνει κυρίως γλυκουρονίδωση και σουλφονίωση. Οι προκύπτουσες υδρόφιλες μορφές απεκκρίνονται κυρίως στα ούρα, αν και σημαντικά μέρη ενδέχεται να υποβληθούν σε εντεροηπατική κυκλοφορία, επεκτείνοντας την έκθεση του οργανισμού στις επιβλαβείς επιδράσεις της DON (Payros et al., 2016)



## 1.7 Η δεοξυνιβαλενόλη και οι ακετυλιωμένες και τροποποιημένες μορφές της σε τρόφιμα και ζωοτροφές.

### 1.7.1 Νομοθεσία

Σε όλο τον κόσμο, τουλάχιστον 40 χώρες έχουν καθορίσει μέγιστα επίπεδα (ML) ή συστάσεις για την συγκέντρωση της DON σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Στις χώρες αυτές περιλαμβάνονται τα κράτη μέλη της ΕΕ, οι ΗΠΑ και η Κίνα (FAO, 2004, LFRA, 2010). Ωστόσο, δεν έχουν αναφερθεί ML για ακετυλιωμένες και τροποποιημένες μορφές DON σε καμία χώρα. Στην ΕΕ, τα ML στα τρόφιμα για συγκεκριμένους μολυσματικούς παράγοντες καθορίζονται εάν αυτό είναι απαραίτητο για την προστασία της δημόσιας υγείας (άρθρο 2 του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 315/93 του Συμβουλίου, του Φεβρουαρίου 1993, για τον καθορισμό κοινοτικών διαδικασιών για τις προσμείξεις στα τρόφιμα). Τα ML καθορίζονται στον κανονισμό (ΕΚ) Αριθ. 1881/2006, στο οποίο έχουν καθοριστεί νομικά επίπεδα για τη DON στα μη μεταποιημένα δημητριακά και προϊόντα δημητριακών για ανθρώπινη κατανάλωση (Πίνακας 1.3). Τα ML για ανεπιθύμητες ουσίες στις ζωοτροφές καθορίζονται στην Οδηγία της ΕΕ 2002/32 / ΕΚ7. Το παράρτημα Ι της παραπάνω οδηγίας περιέχει ML ενός αριθμού ανόργανων και οργανικών ρύπων στις ζωοτροφές. Η DON δεν ρυθμίζεται βάσει της παραπάνω οδηγίας. Η DON ρυθμίζεται, ωστόσο, εντός της Σύστασης 2006/576 / EC8, στην οποία παρέχονται επίπεδα καθοδήγησης για τη DON σε ορισμένα προϊόντα που προορίζονται για ζωοτροφές. Τα ML για δημητριακά και προϊόντα δημητριακών παρατίθενται στον Πίνακα 1.3 και τα επίπεδα καθοδήγησης για προϊόντα που προορίζονται για ζωοτροφές δίνονται στον Πίνακα 1.4 (EFSA, 2017)

Αριθμός κατηγορίας	Τροφή	Μέγιστα Επίπεδα (μg/kg)
1	Μη μεταποιημένα δημητριακά εκτός του σκληρού σίτου, της βρώμης και του αραβοσίτου	1.250
2	Μη επεξεργασμένο σκληρό σιτάρι και βρώμη	1.750
3	Μη μεταποιημένος αραβόσιτος	1.750
4	Τα δημητριακά που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο, το αλεύρι δημητριακών (συμπεριλαμβανομένου του αλευριού αραβοσίτου, του αλεύρου αραβοσίτου και των κόκκων αραβοσίτου) πίτουρο ως τελικό προϊόν που διατίθεται στο εμπόριο για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση.	750
5	Ζυμαρικά (ξηρά)	750
6	Ψωμί (συμπεριλαμβανομένων μικρών αρτοσκευασμάτων), αρτοσκευάσματα, μπισκότα, σνακ δημητριακών και δημητριακά πρωινού	500
7	Μεταποιημένες τροφές με βάση τα δημητριακά και παιδικές τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά	200
8	Κλάσματα άλεσης αραβοσίτου με μέγεθος σωματιδίων > 500 μm που υπάγονται στον κωδικό CN 1103 13 ή 1103 20 40 και άλλα προϊόντα άλεσης αραβοσίτου με μέγεθος σωματιδίων >	750



	500 μm που δεν χρησιμοποιούνται για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση που υπάγεται στον κωδικό CN 1904 10 10	
9	Κλάσματα άλεσης αραβοσίτου με μέγεθος σωματιδίων ≤ 500 μm που υπάγονται στον κωδικό CN 1102 20 και άλλα προϊόντα άλεσης αραβοσίτου με μέγεθος σωματιδίων ≤ 500 μm που δεν χρησιμοποιούνται για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση που υπάγεται στον κωδικό CN 1904 10 10	1.250

Πίνακας 1.3 Μέγιστα επίπεδα DON στα τρόφιμα σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της ΕΕ

Προϊόντα που προορίζονται για ζωοτροφές	Τιμή καθοδήγησης σε mg/kg σε σχέση με μια ζωοτροφή με περιεκτικότητα σε υγρασία 12%
Δημητριακά και προϊόντα δημητριακών με εξαίρεση τα υποπροϊόντα αραβοσίτου	8
Υποπροϊόντα αραβοσίτου	12
Συμπληρωματικές και πλήρεις ζωοτροφές με εξαίρεση:	5
Συμπληρωματικές και πλήρεις ζωοτροφές για χοίρους	0,9
Συμπληρωματικές και πλήρεις ζωοτροφές για μωσχάρια (<4 μήνες), αρνιά και παιδιά	2

Πίνακας 1.4 Επίπεδα καθοδήγησης για DON στις ζωοτροφές στη σύσταση της ΕΕ 2006/576 / ΕΚ

### 1.7.2 Επίπεδα μόλυνσης τροφίμων

Ο Πίνακας 1.5 δείχνει την κατανομή της DON σε σιτηρά που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. Συνολικά, τα σιτηρά για κατανάλωση από τον άνθρωπο φάνηκαν να είναι λιγότερο μολυσμένοι από τα ακατέργαστα σιτηρά ακαθόριστης τελικής χρήσης. Όπως παρατηρήθηκε για τους μη επεξεργασμένους κόκκους ακαθόριστης τελικής χρήσης, ο αραβόσιτος, η βρώμη και το σιτάρι είχαν τα υψηλότερα επίπεδα. Η σίκαλη και τα άλλα σιτηρά ήταν λιγότερο μολυσμένα. Τέλος, το σιτάρι, το σκληρό ήταν στατιστικά σημαντικά πιο μολυσμένο από το μαλακό σιτάρι ( $p < 0,05$ ) (EFSA, 2013).

Ομάδα τροφίμων	N	LC (%)	Συγκέντρωση (μg/kg)	
			Μέσο MB (LB - UB)	P95 MB (LB-UB)
Σιτηρά για ανθρώπινη κατανάλωση	2936	64.3	111.8 [99.4; 124.1]	520
Κριθάρι	209	70.3	49.6 [31.2; 68.1]	170
Σπόρος αραβοσίτου	136	48.5	237.9 [231.5; 244.2]	1453
Βρώμη σπόροι	203	35	209 [203.4; 214.6]	738
Σπόροι σίκαλης	615	84.1	38.1 [20.8; 55.3]	137.1
Σπόρος σιταριού	1357	52.1	154.3 [143.8; 164.8]	660
Φύτρο σίτου	12	25.0	414.2 [411.3; 417.1]	-
Σιτάρι	1064	50.8	162.8 [152.3; 173.3]	682
Σιτάρι σκληρό	46	60.9	341.3 [326.2; 356.5]	-
Σιτάρι μαλακό	141	29.8	98.4 [93.6; 103.3]	447
Πλιγούρι	94	100,0	17.4 [0; 34.9]	25 [0;50]

Άλλα σιτηρά	399	92,5	21.3 [8.4; 34.2]	53,2 [53.2; 79]
Σιτηρά μη καθορισμένα	17	64,7	96.7 [82.9; 110.5]	-

Πίνακας 1.5: Κατανομή των επιπέδων DON εκφρασμένων σε  $\mu\text{g}/\text{kg}$  σε σιτηρά που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. N: αριθμός δειγμάτων. LC: ποσοστό αποτελεσμάτων. MB (LB-UB): παρουσιάζεται μέσος όρος και 95ο εκατοστημόριο ως εκτίμηση μέσου ορίου (εκτίμηση κατώτερου ορίου · εκτίμηση άνω ορίου). Όταν οι εκτιμήσεις για το μεσαίο, κάτω και άνω όριο είναι ίσες, δίνεται μόνο μία εκτίμηση. Άλλα σιτηρά: σπόροι φαγόπυρου, σιτάρι κεχρί, ρύζι κόκκος και άλλα. (EFSA, 2013)

Οι πίνακες 1.6 και 1.7 δείχνουν την κατανομή της DON στα μεταποιημένα δημητριακά. Η μυκοτοξίνη DON βρέθηκε περίπου στα μισά από τα δείγματα που αναλύθηκαν. Τα επίπεδα μόλυνσης στα προϊόντα άλεσης σιτηρών ήταν στην ίδια περιοχή με τα σιτηρά για ανθρώπινη κατανάλωση, ενώ ήταν σημαντικά χαμηλότερα ( $p < 0,05$ ) στα άλλα μεταποιημένα δημητριακά (ψωμί, δημητριακά πρωινού, εκλεκτά αρτοσκευάσματα και ζυμαρικά).

Τα προϊόντα άλεσης αραβοσίτου και σίτου περιείχαν υψηλότερα επίπεδα DON από τα άλλα προϊόντα άλεσης (βρώμη, σίκαλη) τα οποία συνάδουν με προηγούμενες παρατηρήσεις σε μη επεξεργασμένους σπόρους ακαθόριστης τελικής χρήσης και σπόρους για ανθρώπινη κατανάλωση. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα DON μεταξύ των διαφόρων ειδών προϊόντων βρώμης, σίκαλης και άλεσης. Από τα διαθέσιμα στοιχεία, τα επίπεδα DON ήταν σημαντικά χαμηλότερα ( $p < 0,05$ ) στο πλιγούρι αραβοσίτου από ότι στο αλεύρι αραβοσίτου και στο σιμιγδάλι αραβοσίτου. Ωστόσο, μια τέτοια παρατήρηση πρέπει να ερμηνευθεί προσεκτικά λαμβάνοντας υπόψη την ετερογένεια των προϊόντων και τη μεταβλητότητά τους στη σύνθεση (μέρη και αναλογία σπόρων αραβοσίτου ενσωματωμένων), τα οποία μπορεί να ταξινομηθούν ως «αλεύρι αραβοσίτου» (Scudamore and Patel, 2009). Πράγματι, περισσότερα από τα μισά δείγματα γεύματος αραβοσίτου βρέθηκε ότι αντιστοιχούν στην ξηρή πολέντα. Το πίτουρο σίτου περιείχε DON σε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ( $p < 0,05$ ) από τα άλλα προϊόντα άλεσης σίτου. Δεν ανιχνεύθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφόρων ειδών αλεύρων σίτου (σκληρό, καφέ, λευκό, ολικής αλέσεως) και σιμιγδάλι (σκληρό, μαλακό σιτάρι).

Ομάδα τροφίμων	N	LC (%)	Συγκέντρωση ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
			Μέσο MB (LB - UB)	P95 MB (LB-UB)
<b>Προϊόντα άλεσης σιτηρών</b>	3650	47.4	103.5 [93.4; 113.5]	382
Προϊόντα άλεσης φαγόπυρου	41	90.2	32.9 [12.2; 53.6]	-
Προϊόντα άλεσης αραβοσίτου	382	44.2	141.4 [133.4; 149.3]	533.5
Αλεύρι αραβοσίτου	136	34.6	176.5 [168.8; 184.3]	645
Σιμιγδάλι αραβοσίτου	106	43.4	119 [109.7; 128.2]	403
Πληγούρι αραβοσίτου	42	64.3	30.4 [22; 38.9]	-
Άμυλο αραβοσίτου	27	100.0	11.4 [0; 22.8]	-
Προϊόντα άλεσης αραβοσίτου, μη καθορισμένα	71	31.0	222.6 [217.8; 227.3]	978
Προϊόντα άλεσης βρώμης	159	56.0	64.8 [56.3; 73.4]	240
Πίτουρο βρώμης	62	77.4	48.3 [34.3; 62.3]	183
Αλεύρι βρώμης	5	80.0	140.6 [129.6; 151.6]	-

Πλιγούρι βρώμης	87	40.2	73.4 [68.7; 78.1]	260
Προϊόντα άλεσης βρώμης, μη καθορισμένα	5	40.0	45.4 [39.4; 51.4]	-
Προϊόντα άλεσης σίκαλης	557	65.5	56.9 [42.6; 71.2]	223
Αλεύρι σίκαλης, ελαφρύ	168	78.6	51.9 [32; 71.8]	194
Αλεύρι σίκαλης, μέτριο	173	71.7	66.6 [51.6; 81.7]	244
Αλεύρι σίκαλης, ολικής αλέσεως	81	65.4	56.3 [42.8; 69.7]	265
Προϊόντα άλεσης σίκαλης, μη καθορισμένα	135	41.5	50.9 [44.2; 57.7]	201
Προϊόντα άλεσης όλυρου	179	59.2	50 [39.1; 60.9]	190
Αλεύρι όλυρα, ελαφρύ	33	51.5	70.1 [60.4; 79.8]	-
Αλεύρι όλυρα, μέτριο	18	61.1	44.4 [32.5; 56.4]	-
Αλεύρι όλυρα, ολικής αλέσεως	59	62.7	47.5 [34.8; 60.2]	-
Προϊόντα άλεσης όλυρα, μη καθορισμένα	69	59.4	44 [34.4; 53.7]	240
Προϊόντα άλεσης σίτου	2176	39.7	119.1 [110.2; 128]	401.7
Πίτουρο σιταριού	234	21.8	195.6 [190.8; 200.4]	567
Αλεύρι σίτου, Durum	12	50.0	98.8 [73.8; 123.8]	-
Αλεύρι σίτου, καστανό	34	52.9	80.4 [71; 89.7]	-
Αλεύρι σίτου, λευκό	1376	43.0	113.3 [103.8; 122.9]	398
Αλεύρι σίτου, ολικής αλέσεως	259	20.5	131.9 [128.2; 135.5]	446
Σιμιγδάλι σίτου, Durum	107	55.1	71.7 [59; 84.4]	218
Σιμιγδάλι σίτου, μαλακό	76	63.2	58.1 [42.7; 73.5]	211
Προϊόντα άλεσης σίτου, άλλα	24	62.5	73.3 [54.8; 91.9]	-
Προϊόντα άλεσης σίτου, μη καθορισμένα	54	40.7	101.6 [91.7; 111.6]	-
Άλλα προϊόντα άλεσης	48	72.9	50 [37.5; 62.4]	-
Προϊόντα άλεσης σιτηρών μη καθορισμένα	108	60.2	91.9 [77; 106.8]	352.1

Πίνακας 1.6: Κατανομή των επιπέδων DON εκφρασμένων σε μg/kg σε προϊόντα άλεσης σιτηρών. N: αριθμός δειγμάτων. LC: ποσοστό αποτελεσμάτων. MB (LB-UB): παρουσιάζεται μέσος όρος και 95ο εκατοστημόριο ως εκτίμηση μέσου ορίου (εκτίμηση κατώτερου ορίου · εκτίμηση άνω ορίου). Όταν στο μεσαίο, κάτω και άνω όριο οι εκτιμήσεις είναι ίσες, δίνεται μόνο μία εκτίμηση. Προϊόντα άλεσης σίτου, άλλα: κουσκούς, Άλλα προϊόντα άλεσης: αλεύρι αμάραντου, αλεύρι κριθαριού, αλεύρι κεχριού και πλιγούρι, προϊόντα άλεσης ρυζιού. (EFSA, 2013)

Ομάδα τροφίμων	N	LC (%)	Συγκέντρωση (μg/kg)	
			Μέσο MB (LB - UB)	P95 MB (LB-UB)
<b>Ψωμί</b>	<b>3238</b>	<b>45.6</b>	<b>70.4 [61.1; 79.8]</b>	<b>239.5</b>
Προϊόντα ψωμιού	125	25.6	83.6 [79.8; 87.4]	256
Ψωμί από μικτό σιτάρι & σίκαλη	503	44.3	73.5 [64.8; 82.2]	240.6
Πολύσπορο ψωμί	108	37.0	68.8 [58.7; 79]	230
Άλλο ψωμί	143	58.0	66.8 [58.7; 74.9]	238
Ψωμί σίκαλης	351	66.4	43.7 [31.1; 56.4]	154.6
Άζυμο ψωμί, τραγανό ψωμί και παξιμάδι	1108	42.8	72.3 [62.8; 81.9]	251.5
Ψωμί σίτου	107	53.3	63.1 [53.1; 73.1]	208
Ψωμί, μη καθορισμένο	793	42.1	77.5 [68.7; 86.3]	244
<b>Δημητριακά Πρωινού</b>	<b>1511</b>	<b>66.4</b>	<b>69.1 [56.4; 81.8]</b>	<b>253</b>
Μπάρες δημητριακών	22	72.7	43.8 [27.3; 60.4]	-
Νιφάδες δημητριακών	756	64.8	81.9 [69.5; 94.3]	284.2
Νιφάδες αραβοσίτου	192	67.2	63.7 [47.9; 79.5]	253
Νιφάδες βρώμης	317	62.8	109.5 [98.7; 120.3]	332

Νιφάδες όλυρα	80	78.8	28.8 [15.6; 42]	95.8
Νιφάδες σιταριού	67	35.8	85 [76.9; 93.2]	171.7
Μικτές νιφάδες δημητριακών	40	65.0	100.7 [91.4; 110.1]	-
Νιφάδες δημητριακών μη καθορισμένες	60	81.7	48.8 [32.6; 65]	228.5
Χονδράλευρο	29	55.2	187.2 [179.4; 195.1]	-
Μικτά δημητριακά πρωινού	28	50.0	54.4 [45.1; 63.7]	-
Μούσλι	451	69.8	45.5 [32.7; 58.3]	179
Σπαρμένα δημητριακά	75	80.0	59 [39.2; 78.8]	150
Κουάκερ	19	68.4	55.1 [40.6; 69.6]	-
Δημητριακά πρωινού, μη καθορισμένα	131	61.1	65.6 [54.7; 76.5]	262.3
<b>Είδη αρτοποιίας</b>	<b>1102</b>	<b>54.0</b>	<b>75.9 [66.2; 85.7]</b>	<b>267.3</b>
Μπισκότα	642	58.3	72.5 [62.1; 82.9]	295.7
Μπισκότα, αλμυρά	275	52.0	98.7 [89.7; 107.7]	429.2
Μπισκότα, εκτός από αλμυρά	260	63.5	49.5 [38.2; 60.7]	185.6
Μπισκότα, μη καθορισμένα	107	61.7	61.1 [49.1; 73.1]	243
Αρτοσκευάσματα και κέικ	214	43.5	89.4 [81.7; 97.2]	250.8
Είδη αρτοποιίας, μη καθορισμένα	246	52.0	73.3 [63.3; 83.2]	217
<b>Ζυμαρικά, ακατέργαστα</b>	<b>1365</b>	<b>50.8</b>	<b>88.5 [77.7; 99.3]</b>	<b>349</b>
Ζυμαρικά αλεύρι σίτου	970	47.7	91.1 [81.3; 100.9]	355
Ζυμαρικά, αλεύρι ολικής	181	63.0	87.4 [71.9; 102.9]	365
Ζυμαρικά, άλλα	18	55.6	42.9 [34.9; 50.9]	-
Ζυμαρικά, μη καθορισμένα	196	54.6	80.6 [68.8; 92.4]	300

Πίνακας 1.7: Κατανομή των επιπέδων DON εκφρασμένων σε  $\mu\text{g}/\text{kg}$  σε άλλα προϊόντα δημητριακών. N: αριθμός δειγμάτων. LC: ποσοστό αποτελεσμάτων. MB (LB-UB): παρουσιάζεται μέσος όρος και 95ο εκατοστημόριο ως εκτίμηση μέσου ορίου (εκτίμηση κατώτερου ορίου · εκτίμηση άνω ορίου). Όταν στο μεσαίο, κάτω και άνω όριο οι εκτιμήσεις είναι ίσες, δίνεται μόνο μία εκτίμηση. Άλλο ψωμί: φαγόπυρο, Ζυμαρικά, άλλα: ρύζι, όλυρα και ανάμεικτα. (EFSA, 2013)

Τα επίπεδα που βρέθηκαν στα άλλα μεταποιημένα δημητριακά ήταν συνολικά στο ίδιο εύρος, με μέσο MB περίπου 70 - 90  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Η μόνη ανιχνεύσιμη διαφορά παρατηρήθηκε για τα αλμυρά μπισκότα τα οποία ήταν σημαντικά ( $p < 0,05$ ) πιο μολυσμένα από τα άλλα μπισκότα. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στη διαφορά στον τύπο των χρησιμοποιούμενων δημητριακών. Ο Πίνακας 1.8 δείχνει την κατανομή της DON στις άλλες ομάδες τροφίμων. Συνολικά, φάνηκαν λιγότερο συχνά μολυσμένα από τη DON και σε χαμηλότερα επίπεδα από τα προϊόντα σιτηρών. Η εξαίρεση ήταν το ομάδα «Σνακ, επιδόρπια και άλλα τρόφιμα». Πράγματι, τα επίπεδα που βρέθηκαν σε τσιπς καλαμποκιού και τορτίγιες ήταν στο εύρος αυτών που παρατηρήθηκαν στα προϊόντα άλεσης σιτηρών και τα αλμυρά μπισκότα. Οι ομάδες με τα υψηλότερα επίπεδα που παρατηρήθηκαν, κατά μέσο όρο περίπου 30 - 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , αντιστοιχούσαν σε γλυκό καλαμπόκι και σε τρόφιμα ή συστατικά που περιέχουν κυρίως δημητριακά: «σύνθετα τρόφιμα», «τρόφιμα για βρέφη και μικρά παιδιά» (τρόφιμα με βάση τα δημητριακά για βρέφη και μικρά παιδιά), «βότανα, μπαχαρικά και καρυκεύματα» (εκχύλισμα βύννης), προϊόντα για ειδική διατροφική χρήση (προϊόντα αρτοποιίας για διαβητικούς και τύπους μεταβολικών διαταραχών). Η DON βρέθηκε σε λιγότερο από το 10% των δειγμάτων των άλλων ομάδων τροφίμων: "μπύρα και ποτά μπύρας", "φυτικά έλαια", "αποξηραμένα φρούτα", "ποτό βρώμης", "ζάχαρη και

ζαχαροπλαστική", «όσπρια και ελαιούχοι σπόροι» και «λαχανικά και φυτικά προϊόντα», εξαιρείται το γλυκό καλαμπόκι (EFSA, 2013).

Ομάδα τροφίμων	N	LC (%)	Συγκέντρωση (μg/kg)	
			Μέσο MB (LB - UB)	P95 MB (LB-UB)
<b>Αλκοολούχα ποτά</b>	<b>338</b>	<b>92.3</b>	<b>13.5 [3.1; 24]</b>	<b>25 [3; 50]</b>
Μπύρα & ποτά τύπου μπύρας	338	92.3	13.5 [3.1; 24]	25 [3; 50]
<b>Ζωικά &amp; φυτικά λίπη/λάδια</b>	<b>66</b>	<b>100.0</b>	<b>9.7 [0; 19.4]</b>	<b>10 [0; 20]</b>
Φυτικό έλαιο	66	100.0	9.7 [0; 19.4]	10 [0; 20]
<b>Συνθετικά τρόφιμα</b>	<b>20</b>	<b>75.0</b>	<b>49.4 [39.6; 59.1]</b>	-
<b>Τροφή για βρέφη και μικρά παιδιά</b>	<b>636</b>	<b>85.1</b>	<b>24 [11; 36.9]</b>	<b>73</b>
Τροφή με βάση τα δημητριακά	532	82.7	26 [12.7; 39.2]	79
Βρεφικά/παρασκευάσματα δεύτερης βρεφικής ηλικίας, σκόνη	16	100.0	12.7 [0; 25.3]	-
Έτοιμα γεύματα	34	97.1	16.6 [0.2; 33]	-
Γιαούρτι, τυρί και επιδόρπιο με βάση το γάλα	9	100.0	12.8 [0; 25.6]	-
Βρεφική τροφή, μη καθορισμένη	45	95.6	12.1 [4.4; 19.8]	-
<b>Φρούτα &amp; προϊόντα φρούτων</b>	<b>25</b>	<b>96.0</b>	<b>13.9 [3.8; 24]</b>	-
Αποξηραμένα φρούτα	25	96.0	13.9 [3.8; 24]	-
<b>Βότανα, μπαχαρικά και καρυκεύματα</b>	<b>18</b>	<b>66.7</b>	<b>34.5 [25.7; 43.2]</b>	-
<b>Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα</b>	<b>3</b>	<b>100.0</b>	<b>6.7 [0; 13.3]</b>	-
Ποτό βρώμης	3	100.0	6.7 [0; 13.3]	-
<b>Λαχανικά και φυτικά προϊόντα</b>	<b>64</b>	<b>92.2</b>	<b>18.7 [9.1; 28.4]</b>	<b>31.9 [31.9; 50]</b>
Γλυκό καλαμπόκι	20	80.0	36.2 [26.8; 45.5]	-
Τσάι και βότανα για έγχυση	23	100.0	10 [0; 20]	-
Φυτικά προϊόντα	20	95.0	11.7 [2.2; 21.2]	-
Λαχανικά, μη καθορισμένα	1	100.0	12.5 [0; 25]	-
<b>Ζάχαρη και είδη ζαχαροπλαστικής</b>	<b>7</b>	<b>100.0</b>	<b>11.4 [0; 22.9]</b>	-
<b>Προϊόντα για ειδική διατροφική χρήση</b>	<b>55</b>	<b>69.1</b>	<b>39.1 [31.4; 46.8]</b>	<b>188.8</b>
Ιατρικά τρόφιμα	47	72.3	33.4 [26.2; 40.6]	-
Τρόφιμα για διαβητικούς	4	0.0	123.9 [123.9; 123.9]	-
Άλλα μη καθορισμένα τρόφιμα	4	100.0	21.9 [0; 43.8]	-
<b>Όσπρια, ξηροί καρποί και ελαιούχοι σπόροι</b>	<b>144</b>	<b>99.3</b>	<b>10.3 [0.3; 20.3]</b>	<b>12.5 [0; 25]</b>
Ελαιούχοι σπόροι	91	98.9	10.5 [0.5; 20.6]	10 [0; 20]
Όσπρια, φασόλια αποξηραμένα	53	100.0	10 [0; 19.9]	-
<b>Σνακ, επιδόρπια και άλλα τρόφιμα</b>	<b>192</b>	<b>39.6</b>	<b>104.3 [97.9; 110.7]</b>	<b>390</b>
Τσιπς Καλαμποκιού & τορτίγιες	37	21.6	202.9 [198.4; 207.3]	-
Άλλα σνακ	153	43.1	81.5 [74.8; 88.2]	320
Άλλα τρόφιμα	2	100.0	18.8 [0; 37.5]	-

Πίνακας 1.8: Οι συγκεντρώσεις DON εκφράζονται σε μg/kg σε ομάδες τροφίμων εκτός των δημητριακών. N: αριθμός δειγμάτων LC: ποσοστό των αποτελεσμάτων. MB (LB-UB): το μέσο και το 95ο εκατοστημόριο παρουσιάζονται ως εκτίμηση μέσου ορίου (εκτίμηση κατώτερου ορίου · εκτίμηση άνω ορίου) Όταν οι εκτιμήσεις στο μεσαίο, το κάτω και το άνω όριο είναι ίσες, δίνεται μόνο μία εκτίμηση. Σύνθετα τρόφιμα: πιάτα με βάση δημητριακά (N = 5), γεύματα με βάση το ρύζι (N = 7), γεύματα με βάση τα λαχανικά (N = 1), πιάτα με βάση την πατάτα (N = 2), μη καθορισμένα σύνθετα τρόφιμα (N = 5). (EFSA, 2013)

### 1.7.3 Χρόνια επίπεδα έκθεσης μέσω διατροφής ανά ηλικιακή ομάδα

Ο Πίνακας 1.9 παρουσιάζει τις χαμηλότερες και ανώτερες οριακές εκτιμήσεις της χρόνιας διατροφικής έκθεσης στη DON στις διάφορες ομάδες πληθυσμού.

Χώρα	Ερευνητικό Πρόγραμμα	N	Μέσο LB-UB	P95 LB-UB	Ποσοστό πάνω από 1% LB-UB
<b>ΒΡΕΦΗ</b>					
Βουλγαρία	NUTRICHILD	860	0.25-0.73	0.92-1.61	4.2-28.4
Ιταλία	INRAN_SCAI_2005_06	16	0.16-0.68	-*	_*
		<b>Ελάχιστο</b>	<b>0.16-0.68</b>	<b>0.92-1.61</b>	<b>4.2-28.4</b>
		<b>Μέσο</b>	-	_*	_*
		<b>Ανώτερο</b>	<b>0.25-0.73</b>	<b>0.92-1.61</b>	<b>4.2-28.4</b>
<b>ΝΗΠΙΑ</b>					
Βέλγιο	Regional_Flanders	36	0.76-0.89	-*	_*
Βουλγαρία	NUTRICHILD	428	0.86-1.02	1.48-1.61	30.1-50.2
Φιλανδία	DIPP	497	0.49-0.80	1.02-1.50	5.2-21.1
Γερμανία	DONALD_2006	92	0.50-0.96	0.95-1.81	2.2-39.1
Γερμανία	DONALD_2007	85	0.51-0.87	0.88-1.58	1.2-25.9
Γερμανία	DONALD_2008	84	0.48-0.91	0.92-1.79	2-27.4
Ιταλία	INRAN_SCAI_2005_06	36	0.73-0.98	-*	_*
Ολλανδία	VCP_kids	322	0.63-0.78	1.10-1.33	9.9-19.9
Ισπανία	enKid	17	0.51-0.67	-*	_*
		<b>Ελάχιστο</b>	<b>0.48-0.67</b>	<b>0.88-1.33</b>	<b>1.2-5.9</b>
		<b>Μέσο</b>	<b>0.51-0.89</b>	<b>1.10-1.61</b>	<b>5.2-21.1</b>
		<b>Ανώτερο</b>	<b>0.86-1.02</b>	<b>1.48-1.81</b>	<b>30.1-50.2</b>
<b>ΠΑΙΔΙΑ</b>					
Βέλγιο	Regional_Flanders	625	0.66-0.77	1.18-1.36	1.01-17.8
Βουλγαρία	NUTRICHILD	433	0.88-0.97	1.58-1.65	34.4-46
Τσεχία	SISPO4	389	0.62-0.73	1.12-1.33	9.3-16.7
Δανία	Danish_Dietary_Survey	490	0.61-0.7	0.95-1.10	4.1-9.0
Φιλανδία	DIPP	933	0.43-0.59	0.76-0.98	0.0-0.04
Φιλανδία	STRIP	250	0.66-0.84	1.06-1.35	8.8-25.6
Γαλλία	INCA2	482	0.57-0.70	1.01-1.22	5.4-10.80
Γερμανία	DONALD_2006	211	0.53-0.63	0.89-1.01	1.9-5.20
Γερμανία	DONALD_2007	226	0.53-0.63	0.82-0.98	0.4-3.1
Γερμανία	DONALD_2008	223	0.54-0.64	0.81-0.95	0.4-3.1
Ελλάδα	Regional_Crete	839	0.63-0.77	1.14-1.36	8.9-22.6
Ιταλία	INRAN_SCAI_2005_06	193	0.73-0.84	1.39-1.60	20.7-26.9
Λετονία	EFSA_TEST	189	0.45-0.54	0.99-1.10	0.04-0.04
Ολλανδία	VCP_kids	957	0.57-0.69	1.01-1.15	5.2-11.5
Ισπανία	enKid	156	0.54-0.64	1.04-1.21	7.1-11.5
Ισπανία	NUT_INK05	399	0.55-0.65	0.93-1.09	4.3-7.3
Σουηδία	NFA	1473	0.59-0.75	0.98-1.24	4.5-16.2
		<b>Ελάχιστο</b>	<b>0.43-0.54</b>	<b>0.76-0.95</b>	<b>0.4-3.1</b>
		<b>Μέσο</b>	<b>0.57-0.70</b>	<b>1.01-1.21</b>	<b>5.2-11.1</b>
		<b>Ανώτερο</b>	<b>0.88-0.97</b>	<b>1.58-1.65</b>	<b>34.4-46</b>
<b>ΕΦΗΒΟΙ</b>					
Βέλγιο	Diet_National_2004	584	0.36-0.43	0.68-0.84	0.7-1.9
Κύπρος	Childhealth	303	0.32-0.40	0.59-0.71	0.0-0.3
Τσεχία	SISPO4	298	0.50-0.58	0.96-1.08	3.4-8.7
Δανία	Danish_Dietary_Survey	479	0.34-0.41	0.62-0.72	0.0-0.0
Γαλλία	INCA2	973	0.36-0.42	0.69-0.78	0.3-0.9
Γερμανία	National_Nutrition_Survey_II	1011	0.30-0.37	0.63-0.76	0.5-1.4
Ιταλία	INRAN_SCAI_2005_06	247	0.45-0.51	0.85-0.93	1.2-2.4
Λετονία	EFSA_TEST	470	0.35-0.41	0.78-0.87	1.1-2.3



Ισπανία	AESAN_FIAB	86	0.28-0.33	0.65-0.70	0.0-1.2
Ισπανία	enKid	209	0.40-0.46	0.83-0.92	3.3-3.3
Ισπανία	NUT_INK05	651	0.38-0.45	0.71-0.79	0.5-0.8
Σουηδία	NFA	1018	0.39-0.49	0.65-0.80	0.5-1.3
		<b>Ελάχιστο</b>	<b>0.28-0.33</b>	<b>0.59-0.70</b>	<b>0.0-0.0</b>
		<b>Μέσο</b>	<b>0.36-0.43</b>	<b>0.68-0.79</b>	<b>0.5-1.3</b>
		<b>Ανώτερο</b>	<b>0.50-0.58</b>	<b>0.96-1.08</b>	<b>3.4-8.7</b>
<b>ΕΝΗΛΙΚΕΣ</b>					
Βέλγιο	Diet_National_2004	1304	0.28-0.36	0.56-0.72	0.3-1.2
Τσεχία	SISP04	1666	0.32-0.46	0.61-1.02	0.2-5.5
Δανία	Danish_Dietary_Survey	2822	0.24-0.32	0.40-0.56	0.0-0.3
Φιλανδία	FINDIET_2007	1575	0.17-0.25	0.31-0.49	0.0-0.3
Γαλλία	INCA2	2276	0.25-0.30	0.45-0.53	0.04-0.04
Γερμανία	National_Nutrition_Survey_II	10419	0.25-0.33	0.51-0.68	0.1-0.7
Ουγγαρία	National_Repr_Surv	1074	0.27-0.33	0.47-0.58	0.0-0.0
Ιρλανδία	NSIFCS	958	0.24-0.36	0.42-0.76	0.0-1.4
Ιταλία	INRAN_SCAI_2005_06	2313	0.30-0.34	0.53-0.59	0.0-0.04
Λετονία	EFSA_TEST	1306	0.23-0.28	0.52-0.60	0.1-0.3
Ολλανδία	DNFCS_2003	750	0.26-0.36	0.47-0.76	0.0-2.9
Ισπανία	AESAN	410	0.21-0.27	0.46-0.56	0.0-0.0
Ισπανία	AESAN_FIAB	981	0.21-0.25	0.42-0.49	0.0-0.0
Σουηδία	Riksmaten_1997_98	1210	0.26-0.37	0.45-0.63	0.0-0.2
Ηνωμένο Βασίλειο	NDNS	1724	0.23-0.34	0.40-0.66	0.0-0.7
		<b>Ελάχιστο</b>	<b>0.17-0.25</b>	<b>0.31-0.49</b>	<b>0.0-0.0</b>
		<b>Μέσο</b>	<b>0.25-0.33</b>	<b>0.46-0.60</b>	<b>0.0-0.3</b>
		<b>Ανώτερο</b>	<b>0.32-0.46</b>	<b>0.61-1.02</b>	<b>0.3-5.5</b>
<b>ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΙ</b>					
Βέλγιο	Diet_National_2004	518	0.22-0.28	0.46-0.60	0.0-0.2
Δανία	Danish_Dietary_Survey	309	0.21-0.29	0.36-0.49	0.0-0.3
Φιλανδία	FINDIET_2007	463	0.16-0.22	0.31-0.43	0.0-0.0
Γαλλία	INCA2	264	0.23-0.27	0.44-0.48	0.0-0.0
Γερμανία	National_Nutrition_Survey_I	2006	0.24-0.31	0.46-0.62	0.0-0.2
Ουγγαρία	National_Repr_Surv	206	0.26-0.31	0.42-0.49	0.0-0.5
Ιταλία	INRAN_SCAI_2005_06	290	0.26-0.30	0.44-0.49	0.0-0.0
		<b>Ελάχιστο</b>	<b>0.16-0.22</b>	<b>0.31-0.43</b>	<b>0.0-0.0</b>
		<b>Μέσο</b>	<b>0.23-0.29</b>	<b>0.4-0.49</b>	<b>0.0-0.2</b>
		<b>Ανώτερο</b>	<b>0.26-0.31</b>	<b>0.46-0.62</b>	<b>0.0-0.5</b>
<b>ΠΟΛΥ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΙ</b>					
Βέλγιο	Diet_National_2004	712	0.21-0.27	0.40-0.51	0.1-0.1
Δανία	Danish_Dietary_Survey	20	0.22-0.31	*	*
Γαλλία	INCA2	84	0.21-0.25	0.42-0.49	0.0-1.2
Γερμανία	National_Nutrition_Survey_II	490	0.25-0.30	0.51-0.59	0.0-0.0
Ουγγαρία	National_Repr_Surv	80	0.29-0.33	0.47-0.52	0.0-0.0
Ιταλία	INRAN_SCAI_2005_06	228	0.28-0.31	0.48-0.53	0.0-0.0
		<b>Ελάχιστο</b>	<b>0.21-0.25</b>	<b>0.40-0.49</b>	<b>0.0-0.0</b>
		<b>Μέσο</b>	<b>0.23-0.30</b>	<b>0.45-0.53</b>	<b>0.0-0.0</b>
		<b>Ανώτερο</b>	<b>0.29-0.33</b>	<b>0.51-0.59</b>	<b>0.1-1.2</b>

Πίνακας 1.9: Χρόνια έκθεση σε DON εκφρασμένη σε  $\mu\text{g}/\text{kg}$  b.w. ανά ημέρα σε ομάδες πληθυσμού. N: αριθμός ατόμων. Μέση LB-UB: μέση κατώτερη τιμή – μέσο άνω όριο. P95 LB - UB: 95ο εκατοστημόριο κατώτερο όριο - άνω όριο. Ποσοστό άνω του 1: ποσοστό ατόμων με έκθεση άνω του  $1 \mu\text{g} / \text{kg}$  b.w. ανά ημέρα κατώτερο όριο - άνω όριο. \* P95 και ποσοστό ατόμων με έκθεση άνω του  $1 \mu\text{g} / \text{kg}$  b.w. ανά ημέρα για διατροφικές έρευνες με λιγότερα από 60 άτομα δεν θεωρούνται αξιόπιστες και ως εκ τούτου δεν παρουσιάζονται. (EFSA, 2013)

Τα βρέφη, τα νήπια και τα παιδιά ήταν οι πιο εκτεθειμένες ομάδες. Τα μέσα επίπεδα έκθεσης ήταν για ορισμένες ομάδες πληθυσμού στο εύρος 1  $\mu\text{g}/\text{kg b.w.}$  ανά μέρα. Το 95ο εκατοστημόριο έκθεσης ήταν μεταξύ 0,76 και 1,58  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  ανά ημέρα στο κάτω όριο και 0,95 και 1,86  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  ανά ημέρα στο άνω όριο. Αυτές οι εκτιμήσεις ήταν στο εύρος των χρόνιων εκτιμήσεων έκθεσης που αναφέρθηκαν στη βιβλιογραφία για τα παιδιά της Γαλλίας, της Γερμανίας και της Καταλονίας (Ισπανία) (Curtui *et al.*, 2005; Cano-Sancho *et al.*, 2011; Sirot, Fremy and Leblanc, 2013). Ήταν πάνω από τις εκτιμήσεις χρόνιας έκθεσης που προέκυψαν από μια πιθανολογική αξιολόγηση έκθεσης για τον πληθυσμό της Τσεχίας, της Δανίας και της Ολλανδίας (Muri *et al.*, 2009) και κάτω από εκείνες που αναφέρονται σε μια πρόσφατη νορβηγική αξιολόγηση (Bernhoft *et al.*, 2013).

Το ποσοστό βρεφών, νηπίων και παιδιών με διατροφική έκθεση άνω του 1  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  ανά ημέρα ποικίλλει ανάλογα με την ομάδα του πληθυσμού: εκτιμήθηκε μεταξύ 0,4 και 30,1% στο κάτω όριο και μεταξύ 3,1 και 46% στο ανώτερο όριο. Οι υψηλότερες εκτιμήσεις παρατηρήθηκαν για τα νήπια και τα παιδιά της Βουλγαρίας συγκεκριμένα βρέθηκαν στο 30,1 και 34,4% αντίστοιχα για το κατώτερο όριο και στο 46 και 50,2% αντίστοιχα για το ανώτερο όριο. Αυτά αποδόθηκαν σε υψηλά επίπεδα κατανάλωσης ψωμιών και εκλεκτών αρτοσκευασμάτων. Πράγματι, το μέσο επίπεδο κατανάλωσης ψωμιών και εκλεκτών αρτοσκευασμάτων υπολογίστηκε ότι ήταν περίπου 9 g / kg bw την ημέρα για τα βουλγάρικα νήπια και παιδιά, ενώ στις μισές άλλες ομάδες νηπίων και άλλων παιδιών, τα μέσα επίπεδα κατανάλωσης ήταν χαμηλότερα από 5 g / kg σ.β. ανά ημέρα (EFSA, 2011b).

Οι έφηβοι, οι ενήλικες, οι ηλικιωμένοι και οι πολύ ηλικιωμένοι είχαν χαμηλότερη διατροφική έκθεση σε σύγκριση με βρέφη, νήπια και άλλα παιδιά, με μέση έκθεση μεταξύ 0,16 και 0,5  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  ανά ημέρα στο κατώτερο όριο και μεταξύ 0,22 και 0,58  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  ανά ημέρα στο άνω όριο και στο 95ο εκατοστημόριο έκθεσης μεταξύ 0,31 και 0,96  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  ανά ημέρα στο κάτω όριο και μεταξύ 0,43 και 1,08  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  ανά ημέρα στο άνω όριο. Το ποσοστό ατόμων με διατροφική έκθεση πάνω από 1  $\mu\text{g} / \text{kg b.w.}$  εκτιμάται ότι κυμαίνεται μεταξύ 0% και 0,3% ανάλογα με την πληθυσμιακή ομάδα στο κάτω όριο και έως 5,5% στο ανώτερο όριο. Αυτές οι εκτιμήσεις ήταν στο εύρος αυτών που αναφέρθηκαν στη βιβλιογραφία για τους γαλλικούς, γερμανικούς, καταλανικούς (Ισπανία), βελγικούς και νορβηγικούς πληθυσμούς (Curtui *et al.*, 2005; Cano-Sancho *et al.*, 2011; Bernhoft *et al.*, 2013; Sirot, Fremy and Leblanc, 2013). Ήταν κάτω από τις εκτιμήσεις που υποδεικνύονται για τον ουγγρικό ενήλικο πληθυσμό (Arpad Ambrus, Maria Szeitzne-Szabo, Andrea Zentai, Judit Sali, 2010).

Για κάθε ηλικιακή ομάδα, το ποσοστό της ελάχιστης και μέγιστης σχετικής συνεισφοράς σε DON των διάφορων τροφίμων αναφέρεται στον πίνακα 1.10. Τα



σιτηρά και τα προϊόντα με βάση τα σιτηρά ήταν οι κύριοι συνεισφέροντες στη συνολική έκθεση.

Σε ορισμένες έρευνες, τα δεδομένα για την κατανάλωση τροφίμων έχουν αναλυθεί σε μεγάλο βαθμό. Για παράδειγμα, η κατανάλωση ψωμιού εκφράστηκε ως αλεύρι, νερό, αλάτι και μαγιά. Αυτό συνέβη ιδιαίτερα σε δύο φινλανδικές έρευνες, για τις οποίες τα προϊόντα άλεσης σιτηρών αντιπροσώπευαν μεταξύ 69,0 και 76,9% της συνολικής έκθεσης ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται). Σε ομάδες ενηλίκων, ηλικιωμένων και πολύ ηλικιωμένων από άλλες έρευνες εκτός των ερευνών που αναφέρονται παραπάνω, ο κύριος συντελεστής της συνολικής μέσης έκθεσης DON ήταν «ψωμί» που αντιπροσωπεύει μεταξύ 32,1 και 72,3% της συνολικής έκθεσης. Ακολούθησαν τα «εκλεκτά αρτοσκευάσματα» (15,7 - 34,0%) σε όλες τις χώρες, εκτός από την Ιταλία, όπου τα «ζυμαρικά» ήταν ο κύριος συντελεστής (23,9 - 27,6%) Στη Δανία και την Ουγγαρία, η ομάδα τροφίμων «προϊόντα άλεσης σιτηρών» ήταν ο κύριος συντελεστής (13,9–23,2%). Άλλες ομάδες τροφίμων δεν συνέβαλαν περισσότερο από το 10% της συνολικής έκθεσης, εκτός από το περίπτωση «δημητριακών πρωινού» και «σύνθετων τροφίμων» για τους σουηδούς ενήλικες (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται).

Ομάδα Τροφίμων	Βρέφη	Νήπια	Παιδιά	Έφηβοι	Ενήλικες	Ηλικιωμένοι	Πολύ ηλικιωμένοι
Σπόροι σιτηρών	1.2-2.1	0-1.8	0.1-2.9	0.3-2.9	0.3-6	0.2-2.1	0.2-1.5
Προϊόντα άλεσης σιτηρών	18-19.2	0.2-76.9	0-69	0.2-21.1	0.1-72.8	0.2-75.1	0.2-23.2
Ψωμί	3.2-47.5	1.2-58.5	2.7-64.6	31.6-59.9	1.4-66.1	1.3-72.3	50.7-65.9
Δημητριακά Πρωινού	0-0.1	0.1-7.2	0.3-13.3	0.8-5.5	0.5-10.3	0.1-14.1	0.2-3.7
Εκλεκτά Αρτοπαρασκευάσματα	0-17.6	1.1-27.6	2.9-43.1	4.4-37.4	0-30	0-30.7	7.3-34
Ζυμαρικά	4.3-63.8	3.8-41.9	2.5-30.5	1.4-23.9	0.1-23.9	1.1-27.3	1.1-26.7
Άλλα προϊόντα σιτηρών	0	0-1.2	0-1.9	0	0-0.1	0	0
Σύνθετα Τρόφιμα	0-0.6	0.7-4.3	0-28.5	0-26.3	0-17.4	0-2.5	0-2.7
Σνακ	0-5.7	0.1-9.4	0.7-6.6	0.9-9.9	0.3-5.2	0-0.5	0-0.3
Ποτά μύρας	0	0	0-0.1	0-0.9	0.5-5.3	0.2-3.9	0-4.2
Βότανα, μπαχαρικά, καρυκεύματα	0.9-0.9	0.8-3.2	0.2-5	0.2-5.5	1.4-5.3	1.2-3.8	1.2-3.2
Προϊόντα λαχανικών	0-0.1	0-2.1	0-0.6	0-0.5	0-0.7	0.1-0.5	0.1-0.4
Αποξηραμένα Φρούτα	0	0-0.1	0-0.1	0	0-0.1	0	0-0.1
Ζάχαρη και προϊόντα ζαχαροπλαστικής	0	0	0	0	0	0	0
Φυτικά λιπαρά και λάδια	0	0	0	0	0	0	0
Αποξηραμένα όσπρια και ελαιώδης σπόροι	0	0	0	0	0	0	0
Ποτό βρώμης	0	0	0	0	0	0	0
Βρεφικές τροφές	2.8-12	0-7.1	0-1	0	0	0	0
Προϊόντα για ειδική χρήση π.χ για διαβητικούς	0-0	0-0.2	0-0.1	0-0.2	0-1	0-1.3	0-2.3

Πίνακας 1.10 Ελάχιστη και μέγιστη σχετική συμβολή ομάδων τροφίμων (σε ποσοστό) στο συνολικό χαμηλότερο όριο μέσης έκθεσης DON στις έρευνες και στις ηλικιακές ομάδες. (EFSA, 2013)

Στις ομάδες βρεφών, νήπιων, παιδιών και εφήβων από άλλες έρευνες από αυτές που αναφέρονται παραπάνω, το μοτίβο της έκθεσης ήταν πιο μεταβλητό. Στις περισσότερες αλλά όχι σε όλες τις ομάδες πληθυσμού, η κατηγορία «ψωμί» (30,9 - 64,2%) ήταν ο κύριος συντελεστής στη συνολική έκθεση στο μέσο DON στο LB,

ακολουθούμενο από το "Εκλεκτά αρτοσκευάσματα" (10,6 - 34,3%), "προϊόντα άλεσης σιτηρών" (18,4 - 21,1%), "ζυμαρικά, ωμά" (11,9 - 30,5%) και «σύνθετα τρόφιμα» (26,3 - 28,5%) σύμφωνα με τις ομάδες πληθυσμού. Σε ομάδες παιδιών και εφήβων από τη Γαλλία, και στις σουηδικές και ελληνικές ομάδες παιδιών, "εκλεκτά αρτοσκευάσματα" (29,2-43,1%) ήταν ο κύριος συντελεστής της συνολικής μέσης έκθεσης LB σε DON, ακολουθούμενη από τη κατηγορία «ψωμί»(23,1-31,6%) και «σύνθετα πιάτα» (28,5%). Στην ιταλική ομάδα βρεφών και μικρών παιδιών, «Ζυμαρικά, ακατέργαστα» (41,9-63,8%) ήταν ο κύριος συντελεστής, ακολουθούμενος από «προϊόντα άλεσης σιτηρών» (18,0%) και την κατηγορία «ψωμί» (22%). Οι άλλες ομάδες τροφίμων δεν συνέβαλαν περισσότερο από το 10% του συνόλου έκθεση, εκτός από την περίπτωση «δημητριακών πρωινού» για ορισμένα παιδιά της Φινλανδίας (EFSA, 2013).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### HUMAN BIOMONITORING

#### 2.1 Δεδομένα έκθεσης και ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM)

Η βιοπαρακολούθηση ανθρώπων (στα αγγλικά “human biomonitoring”), αφορά στην καταμέτρηση της ολικής έκθεσης του ανθρώπου σε χημικές ουσίες από όλες τις πηγές και οδούς έκθεσης, με χρήση ανθρώπινων βιολογικών δειγμάτων από υγιείς εθελοντές και τη διερεύνηση των πηγών έκθεσης, με επιδημιολογικά δεδομένα που συλλέγονται από κάθε συμμετέχοντα. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ουσιαστική κατανόηση του κινδύνου που προκύπτει στον άνθρωπο από την έκθεση του σε χημικές ουσίες ή μείγματα χημικών ουσιών.

Στο πλαίσιο αυτό η κοινοπραξία «Ευρωπαϊκή Πρωτοβουλία Βιολογικής Παρακολούθησης του Ανθρώπου (HBM4EU) (2017-2021)», στοχεύει στο να συντονίσει και να προωθήσει τη βιολογική παρακολούθηση του ανθρώπου ως επιστημονικού εργαλείου για την κατανόηση της έκθεσης του ευρωπαϊκού πληθυσμού σε περιβαλλοντικούς ρύπους και υποστήριξης πολιτικών διαχείρισης. Η HBM4EU χρησιμοποιεί τη βιολογική παρακολούθηση του ανθρώπου («Human Biomonitoring» ή «HBM») για να αξιολογήσει την έκθεση των Ευρωπαίων πολιτών σε χημικές ουσίες, να κατανοήσει καλύτερα τις σχετικές επιπτώσεις στην υγεία και να επιφέρει βελτιώσεις στην εκτίμηση της χημικής επικινδυνότητας. Σε ατομικό επίπεδο, τα στοιχεία της βιολογικής παρακολούθησης του ανθρώπου μπορούν να αξιοποιηθούν στο πλαίσιο της ιατρικής περίθαλψης ή της καθοδήγησης ως προς την ανάγκη μείωσης της έκθεσης.

#### 2.2 Δεδομένα HMB στη Δεοξυριβαλενόλη (DON) και τους μεταβολίτες της

Τα τελευταία χρόνια, το Human Biomonitoring (HBM) θεωρήθηκε ένα ισχυρό και πολλά υποσχόμενο εργαλείο για την αξιολόγηση της έκθεσης σε μολυσματικές ουσίες από διαφορετικές προελεύσεις, παρέχοντας πληροφορίες για συγκεντρωτικές εκθέσεις από διαφορετικές οδούς έκθεσης (από του στόματος, δερματική, εισπνοή) (Zidek *et al.*, 2017). Το HBM μπορεί να οριστεί ως μέθοδος για την αξιολόγηση της έκθεσης του ανθρώπου σε χημικές ενώσεις ή τις επιπτώσεις τους μέσω της συστηματική τυποποιημένης μέτρησης της συγκέντρωσης αυτών των ενώσεων ή των μεταβολιτών τους σε ανθρώπινα δείγματα (Choi *et al.*, 2017). Η επιλογή των βιοδεικτών είναι κρίσιμη για την ποιότητα και σημασία των δεδομένων που πρέπει να λαμβάνονται σε μια μελέτη βιοπαρακολούθησης. Οι βιοδείκτες έκθεσης πρέπει να είναι έγκυροι, εφικτοί και σχετικοί. Ωστόσο, όπως αναφέρεται από τους (Choi *et al.*, 2017), οι περισσότεροι βιοδείκτες αποτελούν συμβιβασμό μεταξύ αυτών των

κριτηρίων. Μελέτες HBM επιτρέπουν τον προσδιορισμό της έκθεσης σε ατομικό επίπεδο και, κατά συνέπεια, η πιθανή χρήση αυτών των δεδομένων για την αξιολόγηση του κινδύνου έχει μεγάλη σημασία. Στον τομέα της ασφάλειας των τροφίμων, η αξιολόγηση της έκθεσης πραγματοποιείται παραδοσιακά συνδυάζοντας δεδομένα κατανάλωσης και περιστατικών.

Την τελευταία δεκαετία, η αξιολόγηση της έκθεσης σε μυκοτοξίνες σε μελέτες βιοπαρακολούθησης αυξήθηκε μεταξύ των ερευνητικών ομάδων μετά την ανάπτυξη πιο ισχυρών αναλυτικών τεχνικών και του εντοπισμού αρκετών μεταβολιτών μυκοτοξινών με πιθανή χρήση ως βιοδείκτες έκθεσης (Vidal *et al.*, 2018). Οι μυκοτοξίνες περιλαμβάνουν μια ομάδα ενώσεων με ένα ευρύ φάσμα βιοχημικών χαρακτηριστικών και επακόλουθες διαφορές στο μεταβολισμό. Οι μελέτες για το μεταβολισμό των μυκοτοξινών αφιερώνονται ως επί το πλείστον σε μυκοτοξίνες που βρίσκονται υπό περιορισμό από τις αρχές, αυτές δηλαδή που παρουσιάζουν περισσότερη ανησυχία από την άποψη της δημόσιας υγείας (Marín *et al.*, 2018).

Οι κύριες τοποθεσίες μεταβολισμού της DON είναι το ήπαρ και το έντερο. Η κύρια μεταβολική οδός περιλαμβάνει τη σύζευξη της DON με γλυκουρονικό οξύ και την αποβολή της βιοσυζευγμένης μορφής μέσω των ούρων. Οι δύο κύριοι μεταβολίτες της DON στα θηλαστικά είναι η DON Glucuronide (DON-GlcA) και η de-εποξυ δεοξυνιβαλενόλη (DOM-1) (Wu *et al.*, 2014; Warth *et al.*, 2016). Ωστόσο, η DOM-1 παράγεται ως επί το πλείστον από τα εντερικά μικροβιώματα των θηλαστικών, ιδιαίτερα στα βοοειδή και δεν είναι σημαντικός ανθρώπινος μεταβολίτης (Wu *et al.*, 2014). Η ελεύθερη DON και η DON-GlcA είναι οι κύριοι βιοδείκτες για την αξιολόγηση της έκθεσης του ανθρώπου στη DON (Wu *et al.*, 2014). Ο μεταβολισμός της DON σε μικροσώματα ανθρώπινου ήπατος αποδίδει DON-3-Glucuronide (DON-3-GlcA), DON-15-Glucuronide (DON15-GlcA), DON-7-Glucuronide (DON-7-GlcA) και DON-8- Γλυκουρονίδη (DON-8-GlcA) (Wu *et al.*, 2014; Warth *et al.*, 2016). Η έκθεση του ανθρώπου σε DON παρακολουθείται με ανάλυση των ελεύθερων ή βιοσυζευγμένων μορφών DON όπως DON-GlcA, DON-15-GlcA, DON-3-O-γλυκοσίδη (DON3GlcA), DON-7-GlcA, DOM-1 (Wu *et al.*, 2014) και DON-3-GlcA (Šarkanj *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2014; Heyndrickx *et al.*, 2015; Warth *et al.*, 2016). Μελέτες βιοπαρακολούθησης σε ανθρώπους ανέφεραν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης γλυκουρονιδιωμένων μορφών DON στα ούρα, ειδικά DON-15-GlcA, σε σύγκριση με το ελεύθερο DON (Abia *et al.*, 2013; Šarkanj *et al.*, 2013; Gerding, Cramer and Humpf, 2014; Heyndrickx *et al.*, 2015). Αυτό επικυρώθηκε πρόσφατα (Vidal *et al.*, 2018) και έτσι τα DON3-GlcA και DON-15-GlcA είναι αξιόπιστοι βιοδείκτες ούρων της έκθεσης σε DON.

Ο στόχος της εκτίμησης κινδύνου είναι να παρέχει μια επισκόπηση της πιθανής επικίνδυνης έκθεσης στη μυκοτοξίνη. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η κύρια αιτία μόλυνσης με μυκοτοξίνη, για ανθρώπους και ζώα, είναι η κατανάλωση

μολυσμένων τροφίμων. Υπό το πρίσμα αυτό, η στρατηγική εκτίμησης της έκθεσης μπορεί να διαχωριστεί σε δύο: i) εκτίμηση κινδύνου της διατροφικής έκθεσης σε μυκοτοξίνες - χρησιμοποιεί στατιστικά στοιχεία σχετικά με την κατανάλωση τροφίμων του πληθυσμού, το μέσο σωματικό βάρος του πληθυσμού και την εκτίμηση συγκέντρωσης του μολυσματικού παράγοντα σε προϊόντα διατροφής (ii) εκτίμηση επικινδυνότητας χρησιμοποιώντας ποσοτικό προσδιορισμό βιοδείκτη - χρησιμοποιεί τα εκκριθέντα επίπεδα του μολυσματικού παράγοντα στα ούρα ή το επίπεδο του μολυσματικού στο αίμα και στοχεύει στην εκτίμηση του επιπέδου πρόσληψης. Αρκετές πιθανές πηγές αβεβαιότητας μπορούν να επηρεάσουν την εκτίμηση της πραγματικής πρόσληψης μυκοτοξίνης και κατά συνέπεια μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένη εκτίμηση κινδύνου.

### 2.3 Δεδομένα βιοπαρακολούθησης σε Ευρωπαϊκές χώρες

Μεταξύ όλων των ευρωπαϊκών χωρών, ο υψηλότερος αριθμός μελετών προέρχεται από την Πορτογαλία, ακολουθούμενη από τη Γερμανία, την Τουρκία και την Ιταλία. Ο τύπος δείγματος ανθρώπου που διερευνήθηκε συχνότερα στις ευρωπαϊκές μελέτες ήταν τα ούρα, ενώ παρόμοιος αριθμός μελετών πραγματοποιήθηκε στο μητρικό γάλα και στο αίμα και στα συστατικά του αίματος. Η κοόρτη των μελετών πλειοψηφίας ήταν υγιείς ενήλικες, ενώ λιγότερο από το 10% των μελετών επικεντρώθηκε στη συχνότητα εμφάνισης βιοδεικτών μυκοτοξίνης σε παιδιά και ασθενείς με διαταραχές των ουροφόρων οδών. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών που διενεργήθηκαν από το 2001-2018 παρουσιάζονται στον [πίνακα 2.0](#).

Μια πρόσφατη μελέτη από το Βέλγιο ανέφερε την παρουσία βιοδεικτών DON σε όλα τα δείγματα ούρων που απομονώθηκαν από παιδιά (Heyndrickx *et al.*, 2015). Η μελέτη BIOMYCO είχε ως στόχο να ανιχνεύσει 33 πιθανούς βιοδείκτες και μεταβολίτες πολλαπλών μυκοτοξινών, συμπεριλαμβανομένων των αφλατοξινών, OTA, φουμονισινών, TCs, ζεαραλενόνης και DON (Heyndrickx *et al.*, 2015). Σε αυτή τη μελέτη, αναλύθηκαν δείγματα ούρων 155 παιδιών και 239 ενηλίκων. Μόνο 9 από τους 33 βιοδείκτες ανιχνεύθηκαν στα δείγματα που αναλύθηκαν όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.0. Επιπλέον, το 100% των δειγμάτων περιείχε DON15GlcA με την υψηλότερη μέση συγκέντρωση 58,4 ng / ml και 53,8 ng / ml για παιδιά και ενήλικες αντίστοιχα (Heyndrickx *et al.*, 2015).

Μια μελέτη από τη νότια Ιταλία, βρήκε βιοδείκτες μυκοτοξίνης στα δείγματα όλων των συμμετεχόντων (Solfrizzo, Gambacorta and Visconti, 2014). OTA, ZEA και α-ZEL ήταν παρόντα σε όλα τα δείγματα ούρων, ενώ τα ποσοστά εμφάνισης για β-ZEL, DON, FB1 και AFM1 υπήρχαν σε 98%, 96%, 56% και 6% των δειγμάτων αντίστοιχα (Solfrizzo, Gambacorta and Visconti, 2014). Η μέση συγκέντρωση της DON ήταν η υψηλότερη σε σύγκριση με άλλες μυκοτοξίνες (11,89 ng/ml) και ανιχνεύθηκε στο 96% των

δειγμάτων με το 40% των δειγμάτων να υπερβαίνουν το TDI για τη DON. Τα επίπεδα PDI υπερέβησαν το επίπεδο TDI για τη DON.

Στην Κεντρική Ευρώπη, DON-GlcA και DON ανιχνεύθηκαν στο 82% και 29% των αναλυθέντων δειγμάτων, αντίστοιχα, από ένα σύνολο δειγμάτων που αποτελείται από 101 δείγματα ούρων από έναν γερμανικό πληθυσμό (Gerding, Cramer and Humpf, 2014). Συνολικά, το 12% των δειγμάτων υπερέβη το TDI για DON (1 μg/kg bw σύμφωνα με το SCF, 2002) με την υψηλότερη προσωρινή ημερήσια πρόσληψη 5,67 μg/kg bw. Επιπλέον, η ίδια μελέτη συσχετίζει τα αποτελέσματα με τη BMEL, την ετήσια έκθεση γερμανικής συγκομιδής του 2013 που ανέφερε ότι το 99% των ακατέργαστων σπόρων στη Γερμανία είναι μολυσμένα με DON. Η μελέτη ανέλυσε 23 βιοδείκτες μυκοτοξίνης και βρήκε είτε μεμονωμένους είτε πολλαπλούς βιοδείκτες μυκοτοξίνης στο 87% των δειγμάτων ούρων που αναλύθηκαν. Ο Gerding και οι συνεργάτες του ανέφεραν αργότερα ότι ο γερμανικός πληθυσμός έχει γενικά χαμηλή έκθεση σε μυκοτοξίνες εκτός από τη DON. Αυτό συμφωνεί με την πιο πρόσφατη μελέτη από τη Γερμανία (Ali, Blaszkewicz and Degen, 2016) που ανίχνευσε DON στο 100% των δειγμάτων και DOM-1 στο 40% των δειγμάτων. Υψηλή συχνότητα εμφάνισης DON και μεταβολιτών της αναφέρθηκε επίσης σε δείγματα για την Αυστρία (Warth *et al.*, 2012), την Κροατία (Šarkanj *et al.*, 2013), Σουηδία (Wallin *et al.*, 2015) και Ηνωμένο Βασίλειο (Turner, Hopton, *et al.*, 2010).

Χώρα	Είδος δειγματος	Αρ. Δειγμάτων	Θετικά δείγματα %	Είδος DON LOD/LOQ (μg/L)	Μέσος όρος (εύρος) μg / L	Μέθοδος ανίχνευσης	Αναφορά
Αυστρία	Ενήλικες 20-60 ετών Ούρα	27	22 56 96	DON (4/13.4) DON-3-GlcA (6/20) DON-15-GlcA (3.2/10.6)	n.a.(n.d.-<LOQ) n.a. (n.d.-13) n.s. (n.d.-43)	LC-MS/MS	(Warth <i>et al.</i> , 2012)
Βέλγιο	Παιδιά 3-12 ετών Ούρα	155	70 91 100 17	DON (0.2/n.s.) DON-3-GlcA (0.2/n.s.) DON-15-GlcA (0.2/ n.s.) DOM-GlcA (0.2/n.s.)	5.2 (0.5–32.5) 10.6 (0.7–43) 58.4 (4.3–343) 91.7 (1.1–526.1)	LC-MS/MS	(Heyndrickx <i>et al.</i> , 2015)
	Ενήλικες 19-65 ετών Ούρα	239	37 77 100 22	DON (0.2/n.s.) DON-3-GlcA (0.2/n.s.) DON-15-GlcA (0.2/ n.s.) DOM-GlcA (0.2/n.s.)	3.9 (0.5–129.8) 7.5 (0.5–126.2) 53.8 (1.1–460.8) 16.9 (0.6–172)		
Κροατία	Γυναίκες Έγκυες (26-33 ετών) Ούρα	40	76 98 83	DON (4/13) DON-15-GlcA (3/11) DON-3-GlcA (6/20)	18.3 (4–275) 120.4 (3–1237.7) 28.8 (6–298.1)	LC-MS/MS	(Šarkanj <i>et al.</i> , 2013)
Ιταλία	Παιδιά & Ενήλικες (3-85 ετών) Ούρα	52	96	DON (n.s./1.5)	11.89 (Max 67.36)	UPLC-MS/MS	(Solfrizzo, Gambacorta and Visconti, 2014)
Γερμανία	Ενήλικες (19-65 ετών) Ούρα	101	29.41 82.35	DON (0.5/2) DON-3-GlcA (2/4)	3.38 (2.48–17.34) 12.21 (4.37–92.95)	LC-MS/MS	(Gerding, Cramer and

							Humpf, 2014)
Γερμανία	Ενήλικες Ούρα	50	8 27	DON (1/4) DON-GlcA (1/4)	2.0 (< LOQ) 11.2 (< LOQ-60.9)	LC-MS/MS	(Gerdin g <i>et al.</i> , 2015)
Γερμανία	Άνδρες ενήλικοι Ούρα	13	100 38	DON (0.15/0.300) DOM-1 (0.100/0.200)	6.850 (1.013–14.634) 0.085 (n.d.-0.184)	LC-MS/MS	(Föllma nn <i>et al.</i> , 2016)
	Άνδρες Εργάτες μύλων	12	100 54	DON (0.15/0.300) DOM-1 (0.100/0.200)	6.500 (3.275–13.820) 0.105 (n.d.-0.216)		
Γερμανία	Ενήλικες Ούρα	50	100 40	DON (0.16/0.3) DOM-1 (0.1/0.2)	9.02 (1.06–38.44) 0.21 (n.d.-0.73)	LC-MS/MS	(Ali, Blaszkewicz and Degen, 2016)
Σουηδία	Ενήλικες Ούρα	252	63 8	DON (n.s./0.2) DOM-1 (n.s./0.89)	3.37 (n.s.) 0.18 (n.s.)	LC-MS/MS	(Wallin <i>et al.</i> , 2015)
Ηνωμένο Βασίλειο	Ενήλικες (21-59 ετών) Ούρα	210	94.2	DON (0.5/n.s.)	11.6 (n.d.-78.2)	LC-MS	(Turner, Hopton, <i>et al.</i> , 2010)
Ηνωμένο Βασίλειο	Ενήλικες (21-59 ετών) Ούρα	34	68 3	DON (n.s./0.5) DOM-1 (n.s./0.06)	2.4 (0.5–9.3) n.s.	LC-MS	(Turner <i>et al.</i> , 2011)
Ηνωμένο Βασίλειο	Υγιείς εθελοντές Ούρα	54	100	DON (n.s./0.1)	n.s. (0.3–43.1)	LC-MS/MS	(Gratz <i>et al.</i> , 2014)

Πίνακας 2.0: Περίληψη μελετών που μετρούν τα επίπεδα μυκοτοξίνης DON σε ανθρώπινα δείγματα από την Ευρώπη. n.a. - Δεν εφαρμόζεται, n.s. – Δεν προσδιορίζεται.

### 2.3.1 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πορτογαλικό πληθυσμό

Στην Πορτογαλία, αναπτύχθηκαν μελέτες βιοπαρακολούθησης σε ανθρώπους που αξιολογούν την έκθεση του πορτογαλικού πληθυσμού στη μυκοτοξίνη DON μέσω της ανάλυσης δειγμάτων πρωινών ούρων και ούρων 24ώρου που αποκάλυψε στοιχεία έκθεσης στην DON (Martins *et al.*, 2019). Η μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2015-2016 και συμμετείχαν 94 ενήλικα άτομα από τα οποία τα 46 ήταν γένους θηλυκού (48,9%) και τα 48 ήταν αρσενικά (51,1%) και η μέση ηλικία τους ήταν 48,4±15,2 έτη. Τα αποτελέσματα της μελέτης επιβεβαίωσαν την έκθεση του πορτογαλικού πληθυσμού στην μυκοτοξίνη DON με ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της DON και των μεταβολιτών της στα ούρα 24ώρου και στα πρώτα πρωινά ούρα. Ειδικότερα, η DON και οι μεταβολίτες της (DOM-1, DON-15-GlcA και DON-3-GlcA) εμφανίστηκαν στα ούρα 24ώρου με συχνότητα 63% DON, 41% DOM-1, 52% DON-15-GlcA & 44% DON-3-GlcA από τα θετικά δείγματα. Συνολικά, το 78% των συμμετεχόντων είχε εκτεθεί στη μυκοτοξίνη DON ή/και στους μεταβολίτες της. Επίσης, στην ίδια μελέτη επιβεβαιώθηκε η έκθεση στην DON-3G, με το 20% των δειγμάτων να είναι θετικά για αυτήν την τροποποιημένη μυκοτοξίνη. Στα δείγματα ούρων του πρώτου πρωινού, η DON και οι μεταβολίτες ανιχνεύτηκαν και πάλι στα θετικά δείγματα με ποσοστά DON 30%, DOM-1 32%, DON-3G 11%, DON-3-GlcA 24%, DON-15-GlcA 39%, επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για τα δείγματα ούρων 24 ωρών



(Martins *et al.*, 2019). Αν και αναφέρεται παρόμοια συχνότητα θετικών δειγμάτων για DON και μεταβολίτες, οι συγκεντρώσεις που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι χαμηλότερες από αυτές που αναφέρονται σε μελέτες βιοπαρακολούθησης που πραγματοποιήθηκαν σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες, πράγμα που σημαίνει ότι η έκθεση του πορτογαλικού πληθυσμού στη DON είναι πιθανώς χαμηλότερη από ό, τι σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες. Ο [πίνακας 2.1](#) παρουσιάζει τα αποτελέσματα των βιοδεικτών έκθεσης της μυκοτοξίνης DON και των μεταβολιτών της που προσδιορίζονται στα βιολογικά δείγματα (ούρα 24 ωρών και ούρα πρώτου πρωινού) των 94 συμμετεχόντων. Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώνουν πως η γλυκουρονιδίωση είναι στην πραγματικότητα μια σημαντική μεταβολική οδός για την αποτοξίνωση αυτής της μυκοτοξίνης. Εκτός από το υψηλό ποσοστό θετικών δειγμάτων, οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ DON και DON-3-GlcA ή DON και DON-15-GlcA είναι πολύ ισχυροί, πράγμα που σημαίνει ότι αυτοί οι μεταβολίτες είναι σχετικοί βιοδείκτες ούρων έκθεσης για DON. Οι συντελεστές συσχέτισης ήταν 0,779 και 0,744 (DON έναντι DON-3-GlcA) και 0,788 και 0,649 (DON έναντι DON-15-GlcA) για συγκεντρώσεις σταθμισμένου όγκου. Ακόμη, ένα εύρημα της παραπάνω μελέτης είναι πως δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών, παρόλο που τα θηλυκά (n = 19) παρουσίασαν χαμηλότερα ποσοστά γλυκουρονιδίωσης από τα αρσενικά (n = 24) (Martins *et al.*, 2019).

Βιοδείκτες	Ούρα 24ώρου (μέση τιμή) μg/L	% ποσοστό εμφάνισης στα θετικά δείγματα 24ώρου	Πρώτα Πρωινά ούρα(μέση τιμή) μg/L	% ποσοστό εμφάνισης στα θετικά πρωινά δείγματα ούρων
<b>DON</b>	2,51	63%	0,38	24%
<b>DOM-1</b>	0,24	41%	0,23	32%
<b>DON-3G</b>	0,34	20%	0,75	11%
<b>DON-3-GlcA</b>	0,33	44%	0,25	24%
<b>DON-15-GlcA</b>	1,73	52%	0,39	39%

Πίνακας 2.1: Οι βιοδείκτες έκθεσης σε μυκοτοξίνες προσδιορίστηκαν σε δείγματα ούρων 94 συμμετεχόντων στην Εθνική Έρευνα Τροφίμων, Διατροφής και Φυσικής Δραστηριότητας του Γενικού πληθυσμού της Πορτογαλίας (2015-2016). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συγκέντρωση σταθμισμένου όγκου βιοδείκτη (μg / L). DON = Deoxynivalenol; DOM-1 = deperoxy-deoxynivalenol; DON-3G = deoxynivalenol-3-glucoside; DON-3-GlcA = deoxynivalenol-3-glucuronide; DON-15-GlcA = deoxynivalenol-15-glucuronide (Martins *et al.*, 2019).

### 2.3.2 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πληθυσμό της Νότιας Ιταλίας

Μελέτη βιοπαρακολούθησης για την εκτίμηση έκθεσης του ανθρώπου στην δεοξυνιβαλενόλη πραγματοποιήθηκε στην περιοχή της Ν. Ιταλίας μετρώντας τους βιοδείκτες των ούρων DON και DOM-1. Χρησιμοποιήθηκε μέθοδος πολλαπλών βιοδεικτών UPLC-MS / MS για την ανίχνευση και τη μέτρηση της συχνότητας και των επιπέδων αυτών των βιοδεικτών σε δείγματα ούρων 52 εθελοντών που κατοικούσαν στην περιοχή της Απουλίας στη Νότια Ιταλία (Solfrizzo, Gambacorta and Visconti, 2014). Η παρουσία της DON ανιχνεύτηκε στο 96% των δειγμάτων. Οι μέσες

συγκεντρώσεις των βιοδεικτών κυμαίνονταν από 11,89 ng / mL DON. Οι συγκεντρώσεις των βιοδεικτών στα ούρα χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της έκθεσης του ανθρώπου στην μυκοτοξίνη DON και οι μετρήσεις έδειξαν πως το 40% των εθελοντών, υπερέβη την ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI) για την παραπάνω μυκοτοξίνη. Στον [Πίνακα 2.2](#) φαίνονται τα αποτελέσματα των βιοδεικτών μυκοτοξίνης DON στα δείγματα ούρων που συλλέχθηκαν. Επίσης, αναφέρονται οι εκτιμώμενες τιμές PDI για την DON.

Η τιμή PDI (πιθανή ημερήσια πρόσληψη) ορίζεται ως:

$$PDI = Cx \frac{V}{W} x \frac{100}{E}$$

Όπου:

PDI: πιθανή ημερήσια πρόσληψη μυκοτοξίνης εκφρασμένη σε (μg/kg σωματικού βάρους)

C: συγκέντρωση βιοδεικτών σε ανθρώπινα ούρα (μg/L)

V: μέσος όγκος ανθρώπινων ούρων 24 ωρών (1,5 L)

W: μέσο βάρος ανθρώπινου σώματος (60 kg)

E: Ο μέσος ρυθμός απέκκρισης της μυκοτοξίνης στα ούρα σε 24 ώρες μετά τη δόση σε χοιρίδια

Βιοδείκτες	Ούρα 24ώρου (μέση τιμή) ng/ml	% ποσοστό θετικών δειγμάτων	Μέσο PDI <sup>b</sup> , μg/kg bw	% ποσοστό με τιμές PDI <sup>b</sup> που ξεπερνούν το TDI
<b>DON</b>	11.89	96%	0.59	6%

Πίνακας 2.2: Αποτελέσματα των βιοδεικτών μυκοτοξίνης DON σε δείγματα ούρων ανθρώπων που συλλέχθηκαν στη Ν.Ιταλία και εκτιμώμενες τιμές PDI για την DON. Επεξηγήσεις: <sup>b</sup>: υπολογίζεται βάσει δεδομένων ανθρώπινης απέκκρισης 50% για την DON. Αναφέρθηκε στο (Shephard *et al.*, 2013). PDI: πιθανή ημερήσια πρόσληψη. TDI: ανεκτή ημερήσια πρόσληψη.

Η ατομική ανάλυση των τιμών PDI που ελήφθησαν για τη DON αποκάλυψε ότι το 40% των εθελοντών υπερέβη την τιμή του TDI 1 μg/kg σωματικού βάρους που καθορίστηκε για αυτήν τη μυκοτοξίνη με μέγιστη τιμή PDI 5,90 μg/kg σωματικού βάρους. Προηγούμενες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο Ηνωμένο Βασίλειο, τη Γαλλία και τη Σουηδία χρησιμοποιώντας τη συγκέντρωση DON στα ούρα για να εκτιμηθεί η έκθεση στο DON ανέφεραν μέσες τιμές PDI 0,12-0,73, 0,61 και 0,16 μg/kg σωματικού βάρους, αντίστοιχα (Turner *et al.*, 2008; Turner, Hopton, *et al.*, 2010; Paul C. Turner *et al.*, 2012; Wallin *et al.*, 2013). Η έκθεση του ανθρώπου στη DON στη παραπάνω μελέτη φαίνεται να είναι υψηλότερη από εκείνη που εκτιμάται στο ΗΒ, καθώς και οι δύο μέσες τιμές του PDI και το ποσοστό των ατόμων που υπερβαίνουν το TDI είναι υψηλότερες σε σύγκριση με το Ηνωμένο Βασίλειο όπου περίπου το 5% του ενήλικου πληθυσμού μπορεί να υπερβεί το TDI για πρόσληψη DON (Turner *et al.*, 2008). Οι μέσες τιμές PDI της DON που προέρχονται από αναλύσεις τροφίμων στο

Ηνωμένο Βασίλειο (0,14-0,23  $\mu\text{g} / \text{kg}$  σωματικού βάρους) φαίνεται να είναι ελαφρώς χαμηλότερες σε σύγκριση με τις τιμές PDI που υπολογίζονται από τα ούρα DON στη Ν.Ιταλία. Η χαμηλότερη μέση τιμή PDI (0,59  $\mu\text{g} / \text{kg}$  σώματος βάρους) ελήφθη χρησιμοποιώντας τον ανθρώπινο ρυθμό απέκκρισης 50% που ανέφεραν οι Shephard το 2013, επίσης φαίνεται το ποσοστό των ατόμων (6%) που υπερέβησαν την τιμή του TDI για αυτήν τη μυκοτοξίνη.

### 2.3.3 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε βελγικό πληθυσμό

Μια πρόσφατη μελέτη από το Βέλγιο ανέφερε την παρουσία βιοδεικτών DON σε όλα τα δείγματα ούρων που λήφθηκαν από παιδιά (Heyndrickx *et al.*, 2015). Η μελέτη BIOMYCO είχε ως στόχο να ανιχνεύσει 33 πιθανούς βιοδείκτες και μεταβολίτες πολλαπλών μυκοτοξινών, συμπεριλαμβανομένων των αφλατοξινών, OTA, φουμονισινών, TCs, ζεαραλενόνης και DON (Heyndrickx *et al.*, 2015). Σε αυτή τη μελέτη, αναλύθηκαν δείγματα ούρων 155 παιδιών και 239 ενηλίκων. Εννέα από τις 33 μυκοτοξίνες ανιχνεύθηκαν, όπου οι DON, OTA, CIT και οι μεταβολίτες τους ανιχνεύθηκαν πιο συχνά. Η DON15GlcA ήταν ο κύριος βιοδείκτης ούρων DON που βρέθηκε και για πρώτη φορά η DOMGlcA εντοπίστηκε στα ούρα παιδιών. Οι μεταβολίτες 3ADON, 3ADON15GlcA, 15ADON, 15ADON3GlcA, DOM-1 δεν ήταν δυνατό να εντοπιστούν ή να ποσοτικοποιηθούν σε δείγματα ούρων από τον βελγικό πληθυσμό.

Όπως φαίνεται και στον [πίνακα 2.3](#) η συχνότητα εμφάνισης της DON μετρήθηκε στο 70% των παιδιών και στο 37% των ενηλίκων με μέση συγκέντρωση 5,5 ng/mg κρεατινίνης για παιδιά και 6,1 ng/mg κρεατινίνης για ενήλικες. Η DON-15-GlcA ήταν ο συχνότερα ανιχνευόμενος βιοδείκτης (στο 100% των δειγμάτων) με μέσο επίπεδο 65,3 και 50,1 ng/mg κρεατινίνης για παιδιά και ενήλικες αντίστοιχα. Ενώ η DON-15-GlcA είναι ο κύριος βιοδείκτης της DON στους ανθρώπους, το DON3GlcA ανιχνεύθηκε στο 91% των δειγμάτων ούρων από παιδιά με μέση συγκέντρωση 12,3 ng/mg κρεατινίνης. Στους ενήλικες, το 77% των δειγμάτων ούρων ήταν θετικά για DON3GlcA με μέση συγκέντρωση 6,7 ng/mg κρεατινίνης. Για πρώτη φορά ανιχνεύτηκε DOMGlcA σε δείγματα ούρων παιδιών. Η επίπτωση στα παιδιά ήταν 17% με μέση συγκέντρωση 100,9 ng/mg κρεατινίνης. Στους ενήλικες, η DOMGlcA ανιχνεύθηκε στο 22% των δειγμάτων με μέση συγκέντρωση 25,0 ng/mg κρεατινίνης. Τα αποτελέσματα του έργου BIOMYCO επιβεβαιώνουν ότι η γλυκουρονίδωση της DON στη θέση 15 είναι η κύρια οδός αποτοξίνωσης της DON σε ενήλικες και παιδιά, όπως προτάθηκε προηγουμένως από τους (Warth *et al.*, 2012) και (Huybrechts *et al.*, 2015). Αν και δεν μπορούσαμε να βρούμε το DOM-1 στα βελγικά δείγματα ούρων, το DOMGlcA βρέθηκε στο 22% των ενηλίκων. Τα αποτελέσματά της έρευνας αυτής επιβεβαιώνουν την υπόδειξη ότι το DOM-1 προέρχεται από το μεταβολισμό DON από εντερικά

μικροβιώματα, σύμφωνα με το οποίο δεν έχει κάθε άτομο αυτήν τη δραστηριότητα (Gratz, Duncan and Richardson, 2013).

Βιοδείκτες	Ούρα (μέση τιμή) ng/ml Παιδιά	% ποσοστό εμφάνισης στα δείγματα από Παιδιά	Ούρα (μέση τιμή) ng/ml Ενήλικες	% ποσοστό εμφάνισης στα δείγματα ενηλίκων
<b>DON</b>	5,2	70%	3,9	37%
<b>DON-3-GlcA</b>	10,6	91%	7,5	77%
<b>DON-15-GlcA</b>	58,4	100%	53,2	100%
<b>DOM-GlcA</b>	91,7	17%	16,9	22%

Πίνακας 2.3: Επίπτωση μόλυνσης από τη μυκοτοξίνη δεοξυνιβαλενόλη και επίπεδα στα ούρα του βελγικού πληθυσμού.

Οι συγκεντρώσεις των βιοδεικτών στα ούρα που μετρήθηκαν σε αυτόν τον πληθυσμό του Βελγίου διέφεραν σημαντικά μεταξύ της ηλικίας και του φύλου. Τα παιδιά από 3 έως 6 ετών εκτέθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα DON σε σύγκριση με τα παιδιά από 10 έως 12 ετών. Επίσης, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές σχετικά με τα επίπεδα βιοδείκτη στα ούρα μεταξύ κοριτσιών και αγοριών. Αντίθετα, στην ομάδα ενηλίκων οι άνδρες εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα DON σε σύγκριση με τις γυναίκες.

Στην μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε εκτίμηση κινδύνου συγκρίνοντας την εκτιμώμενη διατροφική πρόσληψη DON με την ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI). Η υπέρβαση της TDI μπορεί να συνεπάγεται με πιθανό κίνδυνο για την υγεία του βελγικού πληθυσμού. Η διατροφική πρόσληψη της DON εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας τις συγκεντρώσεις των ούρων. Ωστόσο, λόγω της έλλειψης τοξικοκινητικών δεδομένων σχετικά με τις μυκοτοξίνες στον άνθρωπο, εξακολουθούν να υπάρχουν πολλές αβεβαιότητες που πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά την εκτίμηση επικινδυνότητας με βάση τα επίπεδα μυκοτοξίνης στα ούρα. Η εκτιμώμενη πρόσληψη για την DON όπως φαίνεται στον [πίνακα 2.4](#) κυμαίνεται μεταξύ 0,11 και 19,57  $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}/\text{ημέρα}$  στα παιδιά και 0,03-10,08  $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}/\text{ημέρα}$  για ενήλικες. Από το σύνολο των εκτεθειμένων ατόμων, το 56-69% των παιδιών και το 16–39% των ενηλίκων εκτιμήθηκε ότι υπερβαίνουν το TDI (Heyndrickx *et al.*, 2015).

Βιοδείκτες	Μέση εκτιμώμενη πιθανή πρόσληψη, $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ σε παιδιά	% ποσοστό με τιμές που ξεπερνούν το TDI σε παιδιά	Μέση εκτιμώμενη πιθανή πρόσληψη, $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ σε ενήλικες	% ποσοστό με τιμές που ξεπερνούν το TDI σε ενήλικες
<b>DON</b>	0.17-19.57	69%	0.06-10.08	29%

Πίνακας 2.4 Εκτιμώμενη διατροφική πρόσληψη DON με βάση τα επίπεδα ούρων. Η πρόσληψη συγκρίθηκε με το TDI.  $\text{TDI}_{\text{DON}} = 1 \mu\text{g} / \text{kg}$  σωματικού βάρους την ημέρα.

### 2.3.4 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πληθυσμό της Αυστρίας

Στην Αυστρία πραγματοποιήθηκε η πρώτη πιλοτική έρευνα που εξέτασε τα επίπεδα έκθεσης DON σε αυστριακά άτομα με μετρήσεις σχετικών βιοδεικτών στα ούρα από τους Warth και Suljok το 2013. Οι προσδιορισμένες συγκεντρώσεις στη συνέχεια συσχετίστηκαν με την καθορισμένη τιμή PMTDI. Επιπλέον, μελετήθηκε ο μεταβολισμός της DON στον άνθρωπο και το DON15GlcA προσδιορίστηκε προσωρινά ως ένα σημαντικό προϊόν.

Για την πιλοτική έρευνα, 27 εθελοντές (ηλικίας 20-63 ετών) από τη Βιέννη και τις επαρχίες της Κάτω Αυστρίας κλήθηκαν να δώσουν τα πρωινά ούρα τους και πληροφορίες σχετικές με το βάρος τους. Επιπλέον, η διαίτα της προηγούμενης ημέρας καταγράφηκε ποιοτικά για τον προσδιορισμό πιθανών κύριων πηγών της DON όπως ψωμί, δημητριακά, ζυμαρικά ή μπύρα. Μετά τη συλλογή, τα δείγματα καταψύχθηκαν αμέσως στους  $-20^{\circ}\text{C}$  μέχρι την ανάλυση. Στα ούρα δείγματα που ελήφθησαν από Αυστριακούς εθελοντές ( $n = 27$ ) η DON ανιχνεύθηκε στο 22%, ενώ η DON-GlcA μετρήθηκε στο 96% των δειγμάτων. Δεν εντοπίστηκε DOM-1 σε κανένα από τα δείγματα όπως αναμενόταν λόγω του υψηλού ορίου ανίχνευσης της μεθόδου για το DOM-1. Η μέση συγκέντρωση της συνολικής DON στα ούρα (ελεύθερα DON + DON-GlcA) ήταν  $20,4 \pm 2,4 \mu\text{gL}^{-1}$  που ήταν χαμηλότερη από ό, τι σε μια έρευνα μεταξύ των Κινέζων γυναικών ( $30 \mu\text{gL}^{-1}$ ), (Meky *et al.*, 2003) αλλά υψηλότερη από ό, τι σε άλλες ευρωπαϊκές μελέτες (Turner *et al.*, 2008; Turner, Hopton, *et al.*, 2010) (Πίνακας 2.5). Τα παραπάνω δεδομένα τονίζουν την ανάγκη για περαιτέρω μελέτες σχετικά με την έκθεση σε DON και τους σχετικούς κινδύνους που ελλοχεύουν για την υγεία του ευρωπαϊκού πληθυσμού αλλά και για τους αποτελεσματικούς κανονισμούς που πρέπει να ληφθούν για την χρόνια λήψη τροφίμων μολυσμένων με DON. Κατά μέσο όρο, το 86% (εύρος 79-95%) της συνολικής DON υπήρχε είτε ως D3GlcA είτε ως D15GlcA, το οποίο ευθυγραμμίζεται με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν σε πρόσφατη μελέτη που συνέκρινε τα επίπεδα DON πριν και μετά την υδρόλυση της γλυκουρονιδάσης (Turner *et al.*, 2011). Η άμεση ποσοτικοποίηση των συζυγών γλυκουρονιδίων αποκάλυψε ότι η D15GlcA είναι πιθανότατα το κύριο προϊόν αποτοξίνωσης της DON σε ανθρώπους και αντιπροσώπευε περίπου το 75% της συνολικής συγκέντρωσης γλυκουρονιδίου.

Τα επίπεδα των ανιχνευόμενων βιοδεικτών στα ούρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό της εκτίμησης της συνολικής ημερήσιας έκθεσης ενός ατόμου και τη συσχέτισή της με το καθορισμένο PMTDI. Είναι αξιοσημείωτο ότι εννέα από τους 27 αυστριακούς εθελοντές (33%) υπερέβησαν την τιμή PMTDI  $1\text{g}(\text{kg bw})^{-1} \text{d}^{-1}$ , υποθέτοντας μια ημερήσια απέκκριση ούρων 2 L και ρυθμό μεταφοράς ούρων 72% (Turner, White, *et al.*, 2010). Επιπλέον, η παραπάνω μελέτη έδειξε πως η απέκκριση της DON στα ούρα θεωρήθηκε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας.

Βιοδείκτες	Ούρα 24ώρου (μέση τιμή) $\mu\text{g/L}$	% ποσοστό θετικών δειγμάτων	% ποσοστό με τιμές PDI που ξεπερνούν το TDI
<b>DON + DONGlcA</b>	<b><math>20.4 \pm 2.4</math></b>	<b>96%</b>	<b>33%</b>

Πίνακας 2.5 Επίπτωση μόλυνσης από τη μυκοτοξίνη δεοξυनिβαλενόλη και επίπεδα στα ούρα του αυστριακού πληθυσμού.



### 2.3.5 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πληθυσμό της Γερμανίας

Σε αυτή τη μελέτη, η έκθεση ενός γερμανικού πληθυσμού (n = 101) στις μυκοτοξίνες αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση πολλαπλών βιοδεικτών ούρων με LC-MS / MS. Η κατανάλωση τροφής των συμμετεχόντων τεκμηριώθηκε με ένα ερωτηματολόγιο συχνότητας τροφίμων για να συσχετιστεί η έκθεση στη μυκοτοξίνη με τις μεμονωμένες διατροφικές συνήθειες. Συλλέχθηκαν δείγματα ούρων από υγιείς εθελοντές στην πόλη Μύνστερ της Γερμανίας (n = 101; 44 άνδρες, 57 γυναίκες). Οι εθελοντές ήταν κυρίως φοιτητές στο Πανεπιστήμιο ηλικίας 20-30 ετών. Η μελέτη έδειξε πως η έκθεση του Γερμανού καταναλωτή σε μυκοτοξίνες, ήταν χαμηλή με εξαίρεση τη DON και τον μεταβολίτη ούρων DON-GlcA, που εμφανίστηκαν συχνά όπως φαίνεται και στον [πίνακα 2.6](#). Μάλιστα τα αποτελέσματα έδειξαν πως το 12% των δειγμάτων υπερέβη το καθορισμένο PDI με μέγιστη τιμή PDI 5,67 g / kg bw ενώ τα υπόλοιπα δείγματα βρίσκονταν κοντά στο καθορισμένο TDI 1 g/kg bw (Gerding, Cramer and Humpf, 2014).

Βιοδείκτες	Ούρα 24ώρου (μέση τιμή) ng/ml	% ποσοστό θετικών δειγμάτων	Μέσο PDI, μg/kg bw	% ποσοστό με τιμές PDI που ξεπερνούν το TDI
<b>DON</b>	5.30	29.41%	0.52	12%
<b>DON-GlcA</b>	15.51	82.35%		

Πίνακας 2.6: Συνοπτικά αποτελέσματα της έκθεσης του γερμανικού πληθυσμού στην μυκοτοξίνη don και υπολογισμός των πιθανών ημερήσιων προσλήψεων (PDI).

### 2.2.6 Μελέτη βιοπαρακολούθησης σε πληθυσμό της Κροατίας

Η μελέτη βιοπαρακολούθησης που έλαβε χώρα στην Κροατία μελετούσε τα επίπεδα διαφόρων βιοδεικτών της δεοξυνιβαλενόλης στον ειδικό πληθυσμό των εγκύων γυναικών (n=40) που βρίσκονταν στο τρίτο τρίμηνο της κύησης στην ανατολική Κροατία. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το 97,5% (39/40) δειγμάτων περιείχαν DON και/ή μεταβολίτες της. Η μεγαλύτερη μέση συγκέντρωση προσδιορίστηκε για το DON-15-GlcA που ήταν περίπου πέντε φορές υψηλότερη από τη DON-3-GlcA και οκτώ φορές υψηλότερη από τα επίπεδα DON ([Πίνακας 2.7](#)) (Šarkanj *et al.*, 2013). Η συνολική συχνότητα έκθεσης DON που εκτιμάται σε αυτή τη μελέτη (> 95%) ήταν σύμφωνη με τα πρόσφατα ευρήματα στην Αυστρία που ανέφεραν οι (Warth *et al.*, 2012) και μια μελέτη του Ηνωμένου Βασιλείου, τόσο σε έγκυες (Herworth *et al.*, 2012) όσο και σε άτομα που δεν ήταν έγκυες (Turner *et al.*, 2008). Η παρατηρούμενη υψηλή συχνότητα του λόγου DON-15-GlcA: DON σε σχέση με το λόγο DON-3-GlcA: DON επιβεβαιώνει ότι η DON-15-GlcA είναι ο κυρίαρχος συζευγμένος μεταβολίτης της DON.

Το σαράντα οκτώ % των δειγμάτων που περιείχαν DON υπερέβη τα προσωρινά επίπεδα μέγιστης ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης (PMTDI) (1 lg kg<sup>1</sup> bw day<sup>1</sup>) (WHO,

2001), ποσοστό που είναι εξαιρετικά υψηλό και υπερβαίνει όλες τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές χώρες (Turner, Hopton, *et al.*, 2010; Herworth *et al.*, 2012; P. C. Turner *et al.*, 2012; Warth *et al.*, 2012).

<b>Βιοδείκτες</b>	<b>Ούρα (μέσος όρος) μg/L Εγκυμονούσες</b>	<b>% ποσοστό εμφάνισης στα δείγματα από Εγκυμονούσες</b>
<b>DON</b>	18.3 Μέγ. Τιμή 275.0 Μέση Τιμή 6.7	76%
<b>DON-3-GlcA</b>	28.8 Μέγ. Τιμή 298.1 Μέση Τιμή 10.0	83%
<b>DON-15-GlcA</b>	120.4 Μέγ. Τιμή 1237.7 Μέση Τιμή 55.2	98%

Πίνακας 2.7 : Επίπεδα DON στα δείγματα ούρων εγκύων γυναικών από την Κροατία (N = 40).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### 3.1 Physiologically Based Biokinetic (PBBK) Model

Η έννοια των μοντέλων βιοκινητικής που στηρίζονται στη φυσιολογία (PBBK) παρουσιάστηκε για πρώτη φορά από τον Teorell το 1937 (Teorell T., 1937). Χάρη στην πρόοδο της υπολογιστικής δύναμης τα μοντέλα βιοκινητικής (PBBK) παρουσιάζουν αυξανόμενο ενδιαφέρον στη σύγχρονη εκτίμηση κινδύνου, παρέχοντας ποσοτικές πληροφορίες σχετικά με την απορρόφηση, το μεταβολισμό, τη διανομή και την απέκκριση (ADME). Επικεντρώνονται στην εκτίμηση της αποτελεσματικής δόσης σε συγκεκριμένες περιοχές στόχους, με σκοπό την ταυτοποίηση των ξеноβιοτικών επιπέδων που είναι ικανά να προκαλέσουν διαταραχές στη βιολογική οδό και είναι πιθανώς συνδεδεμένες με αρνητικές εκβάσεις. Η ανάγκη για ευρεία χρήση της ανάπτυξης μοντέλων PBBK ενισχύεται περαιτέρω από το αυξανόμενο επιστημονικό και κανονιστικό ενδιαφέρον για τη συνολική και αθροιστική έκθεση σε ουσίες.

Τα μοντέλα PBBK μεταφράζουν την εξωτερική έκθεση από πολλαπλές διαδρομές (Yang, Xu and Georgopoulos, 2010) σε εσωτερικές μετρήσεις έκθεσης, αποδίδοντας τη σημασία των διαφορετικών διαδρομών έκθεσης στη συνολική βιοδιαθεσιμότητα (Sarigiannis, Dimosthenis; Karakitsios, 2011; Valcke and Krishnan, 2011) ή την εξάρτηση από κρίσιμα αναπτυξιακά παράθυρα ευαισθησίας, όπως η εγκυμοσύνη (Beaudouin, Micallef and Brochot, 2010), η γαλουχία (Verner *et al.*, 2008) και η νηπιακή ηλικία (Edginton and Ritter, 2009).

Μία από τις κύριες εφαρμογές της εσωτερικής δοσιμετρίας είναι η ενσωμάτωση δεδομένων έκθεσης και ανθρώπινης βιοπαρακολούθησης (HBM). Λεπτομερέστερα, η εσωτερική δοσιμετρία στοχεύει (i) στην απόκτηση της χρονικής πορείας των τοξικών ουσιών στους ανθρώπινους ιστούς, με ιδιαίτερη έμφαση στα ευαίσθητα αναπτυξιακά στάδια, (ii) στην παροχή ολοκληρωμένης ερμηνείας των δεδομένων HBM που σχετίζονται με τις ομάδες, για την ποσοτικοποίηση προσωποποιημένης έκθεσης, και (iii) την εξαγωγή των τιμών της βιολογικά ενεργής δόσης (BED) για τη συσχέτισή τους με αρνητικές εκβάσεις. Για την επίτευξη αυτών των στόχων, αναπτύχθηκε ένα γενικευμένο μοντέλο βασιζόμενο στην φυσιολογία (PBBK) (Sarigiannis & Karakitsios, 2012), το οποίο περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση των χημικών μιγμάτων και ένα σύνολο αλγορίθμων ανακατασκευής έκθεσης, ξεκινώντας από δεδομένα HBM (Georgopoulos *et al.*, 2009). Για την επέκταση του χημικού χώρου που καλύπτεται από το γενικευμένο μοντέλο PBBK, έχουν αναπτυχθεί προηγμένα μοντέλα ποσοτικής σχέσης δομής-δραστικότητας (QSARs) για την παραμετροποίησή του όσον αφορά τις χημικές ουσίες για τις οποίες υπάρχουν ελλιπή δεδομένα. Για την ανακατασκευή της έκθεσης με βάση τα δεδομένα HBM, έχει αναπτυχθεί μία μεθοδολογία πολλαπλών βαθμίδων, η οποία υπολογίζει τη διαθεσιμότητα των δεδομένων (δηλ. τον αριθμό των δειγμάτων που συλλέγονται για την καταγραφή της μεταβλητότητας μεταξύ των ατόμων), καθώς και τις ανάγκες της εκτίμησης της έκθεσης (π.χ η εκτίμηση μέγιστης ημερήσιας έκθεσης κατά τη διάρκεια της ημέρας). Έτσι διατίθενται διάφορες μέθοδοι, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων μετατροπής έκθεσης (EFC) και της ανάλυσης Markov Chain Monte Carlo. Τα εισαγόμενα

δεδομένα περιλαμβάνουν χωρικές και χρονικές πληροφορίες σχετικά με τις συγκεντρώσεις των ξενοβιοτικών στα μέσα και αντίστοιχες πληροφορίες για τις ανθρώπινες δραστηριότητες, τα πρότυπα πρόσληψης τροφής ή τη χρήση καταναλωτικών προϊόντων. Η μέτρηση σφάλματος μπορεί να οριστεί από την άποψη της διακύμανσης του πληθυσμού (η τελευταία πρέπει να είναι χαμηλότερη από τη ενδοατομική διακύμανση, η οποία μπορεί να σχετίζεται με τη μέτρηση ή άλλη τυχαία πηγή σφάλματος). Το PBBK θα μπορούσε να συνδυαστεί με μοντέλα πολυμέσων και ερωτηματολόγια έρευνας για τον εντοπισμό πηγών έκθεσης. Η μοντελοποίηση PBBK μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό των εσωτερικών δόσεων ξενοβιοτικών που υπερβαίνουν τα επίπεδα που σχετίζονται με βιολογικές αλλοιώσεις (Judson *et al.*, 2011) και, ενδεχομένως, θέτουν την υγεία σε κίνδυνο. Το τελευταίο μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση συγκεκριμένων αποτελεσμάτων omics (π.χ. μεταβολομική ανάλυση) και συσχετισμούς των βιολογικά αποτελεσματικών δόσεων με τις πρώιμες βιολογικές αποκρίσεις (τοξικοδυναμική). Επιπλέον, οι βιολογικά αποτελεσματικές δόσεις θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τον ποσοτικό προσδιορισμό της επίδρασης των εξωκυτταρικών διαταραχών που προκαλούνται από την ένωση στον μεταβολισμό, έτσι ώστε να συνδέεται απευθείας το μοντέλο PBBK με τα ρυθμιστικά δίκτυα του μεταβολισμού. Η άμεση σύζευξη καθορίζει έναν βρόχο ανατροφοδότησης που συνδέει τους ρυθμούς κάθαρσης και παραγωγής μεταβολίτη με τη ρύθμιση του μεταβολισμού (Eissing *et al.*, 2011) μέσω ανάλυσης δυναμικής ισορροπίας ροής (Krauss *et al.*, 2012).

Λαμβάνοντας υπόψη τις ευκαιρίες που προσφέρει η χρήση των μοντέλων PBBK στην έκθεση / χαρακτηρισμός κινδύνου, πολλές ερευνητικές ομάδες αναπτύσσουν γενικά μοντέλα PBBK, είτε ως αυτόνομα μοντέλα όπως το PK-Sim (Willmann *et al.*, 2003), Indus-Chem (Jongeneelen and Berge, 2011) ή PoPGen (McNally *et al.*, 2014), είτε ενσωματωμένα σε ολοκληρωμένες υπολογιστικές πλατφόρμες για την αξιολόγηση της έκθεσης όπως το INTEGRA (Sarigiannis *et al.*, 2011) και το MENTOR (Georgopoulos and Liou, 2006). Η ανάπτυξη γενικευμένων μοντέλων PBBK τεκμηριώνεται από την πρόσφατη πρόοδο στις ποσοτικές σχέσεις δομής-δραστηριότητας (QSARs) και ποσοτικές δομές – σχέσεις ιδιοκτησίας (QSPRs) (Peyret and Krishnan, 2011), παρέχοντας τη βάση για ανάπτυξη σχετικών μοντέλων PBBK για ενώσεις που διαθέτουν ελλιπή δεδομένα ή για νέα χημικά (Papadaki, Karakitsios and Sarigiannis, 2017).

Η ανάγκη για ανάπτυξη γενικευμένων μοντέλων PBBK έχει μεγάλη σημασία στη σύγχρονη εκτίμηση κινδύνου, ειδικά για τις ενώσεις όπου οι τοξικοκινητικές ιδιότητες παίζουν ιδιαίτερο ρόλο στις αρνητικές τους επιδράσεις στον άνθρωπο, όπως είναι οι μυκοτοξίνες. Το μοντέλο PBBK ενσωματώνει τις κύριες οδούς έκθεσης, δηλαδή την εισπνοή, από το στόμα και από το δέρμα), και περιλαμβάνει πολλαπλά διαμερίσματα, καθώς και δέσμευση σε πρωτεΐνες πλάσματος και σύνδεση ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ταυτόχρονα, το μοντέλο είναι ικανό να προσομοιώνει τα επίπεδα των μητρικών ενώσεων και των μεταβολιτών τους στους διάφορους ιστούς και τα βιολογικά υγρά (συμπεριλαμβανομένου του μητρικού γάλακτος). Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι η αξιολόγηση της εσωτερικής δοσιμετρίας με τη χρήση μοντέλων PBBK επιτρέπει τον υπολογισμό των εσωτερικών δόσεων ξενοβιοτικών, πάνω από τα κατώτατα όρια που

σχετίζονται με μεταβολές της βιολογικής οδού που μπορεί να έχουν σχέση με τα αρνητικά αποτελέσματα. Η λεγόμενη δόση που τροποποιεί το βιολογικό μονοπάτι (BPAD) παρέχει πρόσθετα πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις υφιστάμενες μετρήσεις κινδύνου, δεδομένου ότι συνδυάζει δεδομένα δόσης-απόκρισης με την ανάλυση της αβεβαιότητας και της μεταβλητότητας του πληθυσμού, έτσι ώστε να προκύπτουν όρια έκθεσης και μπορούν να προκύψουν από υψηλής απόδοσης (HTS) δεδομένα *in vitro*.

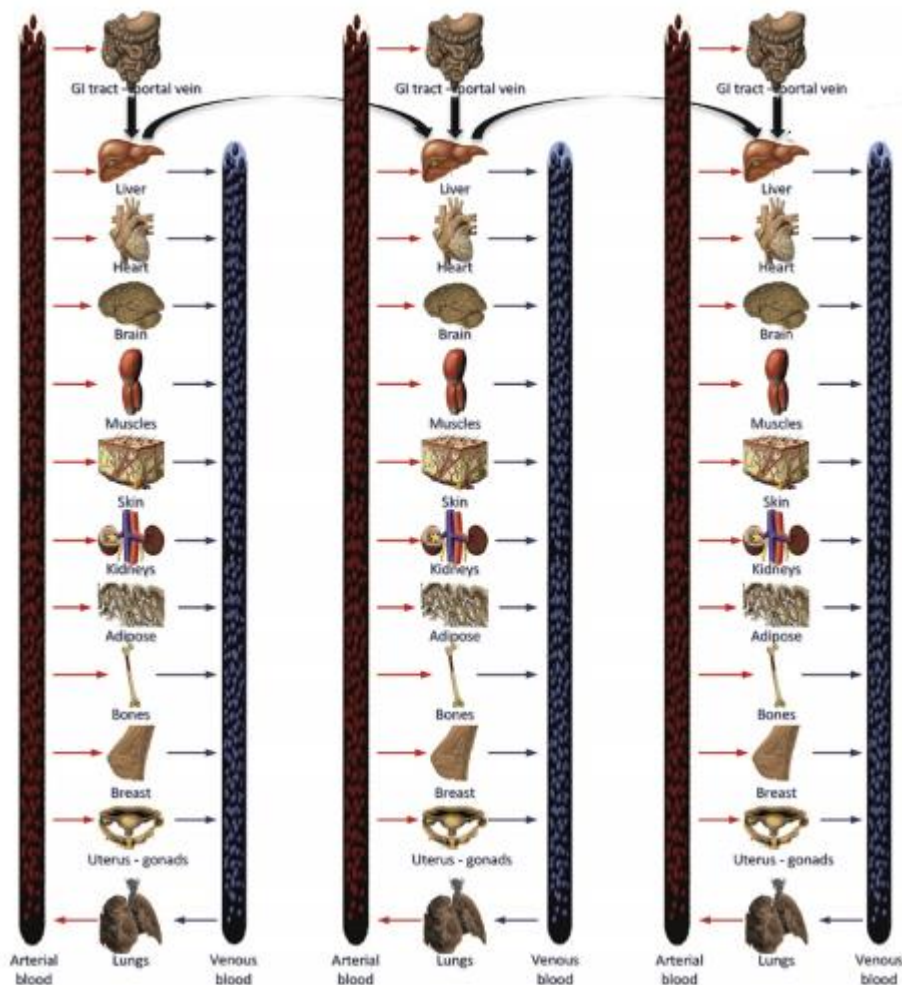
## 3.2 PBBK – Μεθοδολογία

### 3.2.1 Εννοιολογική περιγραφή του γενικού μοντέλου PBBK

Το βιοκινητικό μοντέλο με βάση τη φυσιολογία που αναπτύχθηκε σε αυτή τη μελέτη έχει σχεδιαστεί για να λαμβάνει υπόψη την εξέλιξη της ενζυματικής δραστηριότητας και διαθεσιμότητας, καθώς και την αλλαγή στον όγκο των οργάνων και τα χαρακτηριστικά ροής αίματος κατά τη διάρκεια της ανθρώπινης ζωής. Αυτά τα χαρακτηριστικά προσδιορίζουν τις συνολικές ιδιότητες ADME του ανθρώπινου σώματος, επιτρέποντας στο μοντέλο να καλύπτει ένα μεγάλο χημικό χώρο, εάν είναι κατάλληλα παραμετροποιημένο. Η μαθηματική διατύπωση που υιοθετείται περιγράφει τις διεργασίες ADME για ένα ευρύ φάσμα ξενοβιοτικών και για τους μεταβολίτες τους, φτάνοντας μέχρι τρεις γενιές μεταβολιτών.

Ένα βασικό πρόβλημα με τα γενικευμένα μοντέλα PBBK είναι η ανάγκη να εκτιμηθούν ποσοτικά οι τιμές ενός μεγάλου αριθμού φυσικοχημικών (π.χ. συντελεστής κατανομής οκτανόλης-νερού,  $K_{ow}$ ) και βιοχημικών (π.χ.  $V_{max}$  και  $K_m$ ) παραμέτρων που αντιστοιχούν σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών και ανατομικών διαμερισμάτων και ροών βιολογικών υγρών. Συνήθως, απαγορευτικά μεγάλη ποσότητα πειραμάτων *in vivo* και, ενδεχομένως, *in vitro* απαιτείται για την εκτέλεση της σωστής παραμετροποίησης του μοντέλου, ενώ η μεταξύ των ειδών παρεκβολή στις τιμές αυτών των παραμέτρων εισάγει μια σημαντική πηγή αβεβαιότητας στη διάταξη μοντέλου και, τελικά, τα αποτελέσματά της.

Το γενικό μοντέλο PBBK που αναπτύχθηκε στο HEALS έχει σχεδιαστεί για να περιγράφει όσο το δυνατόν λεπτομερέστερα τις διεργασίες ADME που συμβαίνουν στο ανθρώπινο σώμα σε διαφορετικά στάδια ζωής, έτσι ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί εύκολα σε μια ευρεία ποικιλία χημικών μετά από κατάλληλη παραμετροποίηση. Το μοντέλο στη γενική του μορφή περιλαμβάνει τη μητρική ένωση και έως και τρεις γενιές πιθανών μεταβολιτών όνα (Sarigiannis et al., 2014). Στην περίπτωση της δεοξυριβαλενόλης θα μελετηθούν 2 μεταβολίτες (Εικόνα 11).



Εικόνα 11 Γενικό μοντέλο PBPK (μητρική ένωση & δύο μεταβολίτες)

### 3.2.2 Δομή του μοντέλου PBPK

Η δομή ενός μοντέλου PBPK εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον σκοπό για τον οποίο αναπτύσσεται το μοντέλο και τη φιλοσοφία του μοντέλου. Δεν υπάρχει ουσιαστικά κανένα όριο στον αριθμό και την πολυπλοκότητα των διαμερισμάτων σε ένα μοντέλο που προορίζεται να περιγράψει μοριακά/κυτταρικά συμβάντα. Ωστόσο, η διακριτικότητα στην επιλογή των δομών του μοντέλου είναι μια σημαντική και κατευθυντήρια αρχή στην ανάπτυξη μοντέλων για χρήση στις αξιολογήσεις κινδύνου.

Τα ελάχιστα διαθέσιμα δεδομένα για τη βαθμονόμηση, τη δοκιμή του και την ανάγκη αξιολόγησης κινδύνων για την υπεράσπιση των παραδοχών του μοντέλου και των τιμών που προκύπτουν από τις προσομοιώσεις του αποτελούν και την πολυπλοκότητα των μοντέλων PBPK που χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση κινδύνου. Το απλούστερο εννοιολογικό πρότυπο αντιπροσωπεύει τον οργανισμό ως σύστημα ενός διαμερίσματος. Τα κινητικά μοντέλα ενός και δύο διαμερισμάτων είναι χρήσιμα για τον χαρακτηρισμό της τοξικοκινητικής μιας χημικής ουσίας. Τα μοντέλα PBPK διαφέρουν από μοντέλα ενός ή δύο διαμερισμάτων, αντιπροσωπεύοντας πολύ

περισσότερες φυσιολογικές, φυσικοχημικές και βιοχημικές διεργασίες στα ενδιαφέροντα είδη και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη εσωτερικών επιπέδων δόσης για υποθετικά σχήματα αγωγής με βάση τα γνωστά στοιχεία που σχετίζονται με την τοξικοκινητική ενός χημικού προϊόντος. Στα περισσότερα μοντέλα PBPK, οι ιστοί αντιπροσωπεύονται από ειδικά διαμερίσματα, το καθένα με ένα μοναδικό σύνολο παραμέτρων φυσιολογίας (δηλαδή ροής αίματος) και φυσικοχημείας (δηλαδή, συντελεστές κατανομής).

Σύμφωνα με τα διαθέσιμα δεδομένα, τα μοντέλα PBPK που προορίζονται για εφαρμογές αξιολόγησης κινδύνου θα περιλαμβάνουν, κατά προτίμηση, το όργανο στόχο ως ένα από τα διαμερίσματα. Ένα μοντέλο PBPK θα είναι σε θέση να υπολογίζει τη συγκέντρωση στο αίμα, η οποία χρησιμοποιείται συχνά ως υποκατάστατο για τις συγκεντρώσεις των ιστών. Μπορούν να συμπεριληφθούν, οι πύλες εισόδου (π.χ. πνεύμονες, γαστρεντερικές οδοί), όργανα αποθήκευσης (π.χ. λιπώδης ιστός), σημεία μεταβολισμού/ μετασχηματισμού (π.χ. συκώτι, νεφρά) καθώς και οδοί απομάκρυνσης (π.χ. νεφρά, πνευμόνια).

Συχνά είναι αποδεκτό να περιγράφονται μαθηματικά οι ADME των χημικών ουσιών σε μοντέλα PBPK, σε διαμερίσματα συγκεντρωμένα ή ολόκληρου του σώματος χωρίς μια ιδιαίτερα αποφασισμένη φυσική αναπαράσταση σε όλους τους ιστούς όπου συμβαίνουν αυτές οι διαδικασίες (Krishnan and Andersen, 2001), υπό την προϋπόθεση ότι αυτή η έλλειψη φυσικής αναπαράστασης δεν παρεμποδίζει τη χρήση ενός μοντέλου ως εργαλείο προέκτασης. Όταν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για την υποστήριξη πιο σύνθετων αναπαραστάσεων, το μοντέλο PBPK μπορεί να επεξεργαστεί ώστε να αντιπροσωπεύει πιο σύνθετες μηχανιστικές και βιολογικές αλληλεπιδράσεις. Στην ιδανική περίπτωση, η δομή ενός μοντέλου PBPK που προορίζεται για εφαρμογές αξιολόγησης κινδύνου θα περιέχει το όργανο-στόχο (ή υποκατάστατο ιστό) καθώς και διαμερίσματα που αντιπροσωπεύουν ιστούς μοναδικής φυσιολογικής και βιοχημικής συνάφειας με τη φαρμακοκινητική της εν λόγω χημικής ουσίας.

### 3.2.3 Μαθηματική Αναπαράσταση

Στα μοντέλα PBPK, κάθε διαμέρισμα ιστού περιγράφεται με μία συνηθισμένη διαφορική εξίσωση ισορροπίας μάζας η οποία περιγράφει τις μεταβολές στην ποσότητα της χημικής ουσίας στον ιστό σε συνάρτηση με τον χρόνο. Οι μεταβολές αυτές προκύπτουν από χημική κατανομή εντός και εκτός των ιστών και των διεργασιών κάθαρσης (π.χ. μεταβολισμού ή απέκκρισης) στον ιστό.

Η πρόσληψη περιγράφεται με διαφορικές εξισώσεις για τα υποστρώματα του οργανικού ιστού και της κυτταρικής μήτρας (Krishnan and Andersen, 2001); (Rowland, 1986; Leung, 1991; Andersen and Frederick, 1995). Σημειώνεται ότι οι διαφορικές

εξισώσεις ισοζυγίου μάζας έχουν μονάδες μάζας ανά χρόνο (μg/hr). Οι ρυθμοί μεταβολισμού στα μοντέλα PBPK τυπικά έχουν περιγραφεί ως πρώτης τάξης, κατά Michaelis-Menten ή δεύτερης τάξης. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ο μεταβολισμός της κάθαρσης εμφανίζεται συχνά γραμμικός ή πρώτης τάξης σε σχέση με τη συγκέντρωση στο πλάσμα. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, η μεταβολική οδός της κάθαρσης μπορεί να είναι κορεσμένη με αποτέλεσμα μια σταθερή ποσότητα χημικού να μεταβολίζεται ανά μονάδα χρόνου (δηλαδή κινητική μηδενικής τάξης). Οι διαδικασίες δεύτερης τάξης και οι απαιτούμενες εξισώσεις είναι πιο πολύπλοκες και μπορούν να βασίζονται σε μια σχέση αναστρέψιμης ισορροπίας (π.χ. μακρομοριακή σύνδεση) ή στις συγκεντρώσεις των χημικών και των συμπαραγόντων τους που απαιτούνται για το μεταβολισμό (π.χ., αντιδράσεις σύζευξης).

Επειδή τα μοντέλα PBPK είναι απλουστευμένες παραστάσεις των πραγματικών συστημάτων, οι πλήρεις λεπτομέρειες και η πραγματική πολυπλοκότητα των βιοχημικών διαδικασιών δεν ενσωματώνονται στις εξισώσεις που χρησιμοποιούνται. Ανάλογα με το απαιτούμενο επίπεδο λεπτομέρειας και τον στόχο του συμφέροντος της μοντελοποίησης, μπορούν να συμπεριληφθούν στα μοντέλα κατάλληλες περιγραφές των βιοχημικών διεργασιών (Wagner et al., 2015). Στις ακόλουθες ενότητες δίνονται λεπτομέρειες σχετικά με το μαθηματικό πλαίσιο του γενικού μοντέλου PBBK.

### 3.2.3.1 Διατύπωση που περιγράφει το γενικό μοντέλο πολλαπλών διαδρομών PBBK

Το σχήμα διαμόρφωσης του ανεπτυγμένου μοντέλου PBBK βασίζεται στη διατύπωση που προτείνουν οι Eginton and Ritter (Eginton and Ritter, 2009), ωστόσο, αυτό έχει τροποποιηθεί και βελτιωθεί για την αντιμετώπιση της έκθεσης στη μήτρα, της γαλουχίας, καθώς και της λεπτομερούς εισπνοής, από του στόματος και έκθεση στην απορρόφηση του δέρματος. Η διατύπωση περιγράφεται παρακάτω:

#### Non-eliminating organs

#### Ερυθρά αιμοσφαίρια

$$V_{rbc\_org} \frac{dC_{rbc\_org}}{dt} = Q_{org} \cdot HCT \cdot (C_{rbc\_art} - C_{rbc\_org}) + PS_{rbc\_org} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_org} - \frac{C_{rbc\_org}}{K_{rbc}} \right)$$

Όπου  $V_{rbc\_org} = f_{vas\_org} \cdot V_{org} \cdot HCT$

Το V εκφράζεται σε L, Q και PS σε L / h, το C εκφράζεται σε μg / L, ενώ fu, HCT και το fvas\_org είναι χωρίς διάσταση. Οι ίδιες μονάδες ισχύουν για τις υπόλοιπες εξισώσεις.



### Πλάσμα + Διάμεσος

$$V_{int\_org} \frac{dC_{int\_org}}{dt} = Q_{org} \cdot (1 - HCT) \cdot (C_{pls\_art} - C_{int\_org}) - PS_{rbc\_org} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_org} - \frac{C_{rbc\_org}}{K_{rbc}} \right) - PS_{cell\_org} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_org} - \frac{C_{cell\_org}}{K_{org}} \right)$$

Όπου  $V_{int\_org} = V_{org} \cdot [f_{int\_org} + f_{vas\_org} \cdot (1 - HCT)]$

### Κύτταρα

$$V_{cell\_org} \frac{dC_{cell\_org}}{dt} = PS_{cell\_org} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_org} - \frac{C_{cell\_org}}{K_{org}} \right)$$

Όπου  $V_{cell\_org} = f_{cell\_org} \cdot V_{org}$

### Νεφρό

Για νεφρική κάθαρση πλάσματος νεφρού ( $CL_{pls\_kid}$ ) ενσωματώνεται: Πλάσμα + Διάμεσος

$$V_{int\_kid} \frac{dC_{int\_kid}}{dt} = Q_{kid} \cdot (1 - HCT) \cdot (C_{pls\_art} - C_{int\_kid}) - PS_{rbc\_kid} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_kid} - \frac{C_{rbc\_liv}}{K_{rbc}} \right) - PS_{cell\_kid} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_kid} - \frac{C_{cell\_kid}}{K_{kid}} \right) - \frac{CL_{pls\_kid} \cdot Q_{kid} \cdot (1 - HCT) \cdot C_{int\_kid}}{[Q_{kid} \cdot (1 - HCT) - CL_{pls\_kid}]}$$

όπου το  $CL_{pls\_kid}$  εκφράζεται σε L / h

### Πυλαία Φλέβα

### Ερυθρά αιμοσφαίρια



$$HCT \cdot V_{pv} \frac{dC_{rbc-pv}}{dt} = Q_{GI-tract} \cdot HCT \cdot (C_{rbc-GI-tract} - C_{rbc-pv}) + PS_{rbc-pv} \cdot f_u \cdot \left( C_{pls-pv} - \frac{C_{rbc-org}}{K_{rbc}} \right)$$

**Πλάσμα + Διάμεσος**

$$(1 - HCT) \cdot V_{pv} \frac{dC_{pls-pv}}{dt} = Q_{GI-tract} \cdot (1 - HCT) \cdot (C_{int-GI-tract} - C_{pv}) - PS_{rbc-pv} \cdot f_u \cdot \left( C_{pls-pv} - \frac{C_{rbc-pv}}{K_{rbc}} \right)$$

**Για φλεβικό αίμα**

**Ερυθρά αιμοσφαίρια**

$$HCT \cdot V_{ven} \frac{dC_{rbc-ven}}{dt} = \sum_{org} Q_{org} \cdot HCT \cdot C_{rbc-org} + PS_{rbc-ven} \cdot f_u \cdot \left( C_{pls-ven} - \frac{C_{rbc-ven}}{K_{rbc}} \right) - Q_{lung} \cdot HCT \cdot C_{rbc-ven}$$

**Πλάσμα + Διάμεσος**

$$(1 - HCT) \cdot V_{ven} \frac{dC_{pls-ven}}{dt} = \sum_{org} Q_{org} \cdot (1 - HCT) \cdot C_{int-org} - PS_{rbc-ven} \cdot f_u \cdot \left( C_{pls-ven} - \frac{C_{rbc-ven}}{K_{rbc}} \right) - Q_{lung} \cdot (1 - HCT) \cdot C_{pls-ven}$$

**Για αρτηριακό αίμα**

**Ερυθρά αιμοσφαίρια**

$$HCT \cdot V_{art} \frac{dC_{rbc-art}}{dt} = - \sum_{org} Q_{org} \cdot HCT \cdot C_{rbc-art} + PS_{rbc-art} \cdot f_u \cdot \left( C_{pls-art} - \frac{C_{rbc-art}}{K_{rbc}} \right) + Q_{lung} \cdot HCT \cdot C_{rbc-art}$$

**Πλάσμα + Διάμεσος**

$$(1 - HCT) \cdot V_{art} \frac{dC_{pls\_art}}{dt} = - \sum_{org} Q_{org} \cdot (1 - HCT) \cdot C_{int\_art} \\ - PS_{rbc\_art} \cdot f_u \cdot \left( C_{pls\_art} - \frac{C_{rbc\_art}}{K_{rbc}} \right) \\ + Q_{lung} \cdot (1 - HCT) \cdot C_{pls\_art}$$

Για το ήπαρ:

ερυθρά αιμοσφαίρια

$$V_{rbc\_liv} \frac{dC_{rbc\_liv}}{dt} = HCT \cdot (Q_{liv} \cdot C_{rbc\_art} + Q_{pv} \cdot C_{rbc\_pv}) \\ - (Q_{liv} \cdot C_{rbc\_art} + Q_{pv} \cdot C_{rbc\_pv}) \\ + PS_{rbc\_org} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_org} - \frac{C_{rbc\_org}}{K_{rbc}} \right)$$

Πλάσμα + Διάμεσος

$$V_{int\_liv} \frac{dC_{int\_liv}}{dt} = (1 - HCT) \cdot (Q_{liv} \cdot C_{pls\_art} + Q_{pv} \cdot C_{pls\_pv}) - (Q_{liv} + Q_{pv}) \cdot \\ (1 - HCT) \cdot C_{int\_liv} \\ - PS_{rbc\_liv} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_liv} - \frac{C_{rbc\_liv}}{K_{rbc}} \right) - PS_{cell\_liv} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_liv} - \frac{C_{cell\_liv}}{K_{liv}} \right)$$

Κύτταρα

$$V_{cell\_liv} \frac{dC_{cell\_liv}}{dt} = PS_{cell\_liv} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_liv} - \frac{C_{cell\_liv}}{K_{li}} \right) - \frac{CL_{liv\_met} \cdot C_{cell\_liv} \cdot f_u}{K_{liv}}$$

όπου  $CL_{liv}$  είναι η εγγενής κάθαρση και υπολογίζεται από την κάθαρση του πλάσματος χρησιμοποιώντας το καλά αναδευόμενο μοντέλο ήπατος που εκφράζεται σε  $L/h/Kg_{organ}$ .

Στην περίπτωση που ο μεταβολισμός περιγράφεται με κορεσμένη κινητική MichaelisMenten, η εξίσωση περιγράφεται ως εξής:

$$V_{cell\_liv} \frac{dC_{cell\_liv}}{dt} = PS_{cell\_liv} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_liv} - \frac{C_{cell\_liv}}{K_{li}} \right) - \frac{C_{cell\_liv} \cdot f_u \cdot V_{max}}{K_m + \frac{C_{cell\_liv} \cdot f_u}{K_{liv}}}$$

όπου το  $V_{max}$  εκφράζεται σε  $\mu\text{g} / \text{h}$ . Η προηγούμενη εξίσωση θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε οποιονδήποτε άλλο ιστό μπορεί να συμβεί μεταβολισμός (π.χ. πνεύμονες, νεφρά ή δέρμα).

**Για τους πνεύμονες:**

$$\begin{aligned} V_{int\_lung} \cdot \frac{dC_{int\_lung}}{dt} = & Q_{lung} \cdot (1 - HCT) \cdot (C_{pls\_ven} - C_{int\_lung}) - PS_{rbc\_lung} \cdot f_u \cdot \\ & \left( C_{int\_lung} - \frac{C_{rbc\_lung}}{K_{rbc}} \right) \\ & - PS_{cell\_lung} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_lung} - \frac{C_{cell\_lung}}{K_{rbc}} \right) + Q_{vent} \cdot C_{amb\_air} \cdot P_{air} \\ & - Q_{vent} \cdot \left( \frac{C_{int\_lung}}{P_{air}} \cdot (1 - V_{ds}) + C_{amb\_air} \cdot V_{ds} \right) \end{aligned}$$

### 3.2.3.2 Αλληλεπίδραση μητέρας-εμβρύου

**Για τη μήτρα**

**Πλάσμα + Διάμεσος**

$$\begin{aligned} V_{int\_uterus} \frac{dC_{int\_uterus}}{dt} = & Q_{uterus} \cdot (1 - HCT) \cdot (C_{pls\_art} - C_{int\_uterus}) \\ & - K_{d\_uterus\_pla} \cdot (C_{placenta} - C_{uterus\_M}) \\ & - PS_{rbc\_uterus} \cdot f_u \cdot \left( C_{int\_uterus} - \frac{C_{rbc\_uterus}}{K_{rbc}} \right) - PS_{cell\_uterus} \cdot f_u \cdot \\ & \left( C_{int\_uterus} - \frac{C_{cell\_uterus}}{K_{rbc}} \right) \end{aligned}$$

Εκτός από την υπόθεση της ίσης ροής διάχυσης από τη μήτρα στον πλακούντα και αντίστροφα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, η μήτρα συμπεριφέρεται όπως και άλλα όργανα.

**Για τον πλακούντα**

$$\begin{aligned}
V_{\text{int-placenta}} \frac{dC_{\text{int-placenta}}}{dt} = & K_{d\text{-uterus-pla}} \cdot (C_{\text{int-placenta}} - C_{\text{int-uterus}}) \\
& - K_{d\text{-pla-amniot}} \cdot \left( C_{\text{int-placenta}} - C_{\text{amniot}} \frac{P_{\text{placenta}}}{P_{\text{amniot}}} \right) \\
+ Q_{\text{placenta-fetus}} \cdot & \left( C_{\text{int-art-fetus}} - \frac{C_{\text{int-placenta}}}{P_{\text{placenta}}} \right) + K_{\text{glu-deconj}} \cdot Q_{\text{placenta-fetus}} \\
& \cdot C_{\text{int-placenta-glu}} \\
- PS_{\text{rbc-placenta}} \cdot f_u \cdot & \left( C_{\text{int-placenta}} - \frac{C_{\text{rbc-placenta}}}{K_{\text{rbc}}} \right) - PS_{\text{cell-placenta}} \cdot f_u \cdot \\
& \left( C_{\text{int-placenta}} - \frac{C_{\text{cell-placenta}}}{K_{\text{rbc}}} \right)
\end{aligned}$$

Για το στήθος:

$$V \frac{dC_{\text{-breast}}}{dt} = PS_{\text{-cell-breast}} \cdot f_u \cdot \left( C_{\text{-int-breast}} - \frac{C_{\text{-breast}}}{K_{\text{-breast}}} \right) - L_{\text{excr}}$$

and the related excretion via lactation

$$L_{\text{excr}} = Q_{\text{-milk}} \cdot \frac{C_{\text{-breast}}}{K_{\text{-breast}}} \cdot P_{\text{-milk/blood}}$$

$$P_{\text{-milk/blood}} = \frac{K_{ow} \cdot Fl_{\text{-tissue}} + FW_{\text{-tissue}}}{K_{ow} \cdot Fl_{\text{-blood}} + FW_{\text{-blood}}}$$

### 3.2.3.3 Lifetime Scaling

Οι παράμετροι που σχετίζονται με τον όγκο οργάνων (V) και τις ροές αίματος (Q) λήφθηκαν από την έκθεση ICRP (ICPR και Valentin, 2002) και προσαρμόστηκαν σε χρόνο (t σε ώρες) προκειμένου να αντλήσουμε συνεχείς μη γραμμικούς πολυωνυμικούς τύπους που εξαρτώνται από το χρόνο και τη μορφή:

$$V = a \cdot t^b + c \cdot t^d + e \cdot t + f \text{ for organ volumes}$$

$$Q = a \cdot t^b + c \cdot t + d \text{ for organ flows}$$

### 3.2.3.4 Περιγραφή απορρόφησης μέσω πολλαπλών διαδρομών

#### Περιγραφή μοντέλου απορρόφησης εισπνοής

Η ικανότητα περιγραφής της έκθεσης μέσω εισπνοής είναι μια σημαντική εκτίμηση για τη μοντελοποίηση της φαρμακοκινητικής της εισπνοής. Με μοντελοποίηση των πνευμόνων ως καλά αναμεμιγμένου διαμερίσματος με μέση, μονής κατεύθυνσης ροή αέρα στην περιοχή ανταλλαγής αερίων (δηλαδή, με αέρα που κινείται μέσω των

πνευμόνων με σταθερό ρυθμό ροής ίσο με τον κυψελιδικό ρυθμό αερισμού,  $Q_P$  σε (L/h), και με ταχεία εξισορρόπηση μεταξύ του αέρα του πνεύμονα και του αίματος στις κυψελίδες των πνευμόνων, μπορεί να περιγραφεί η συγκέντρωση στο αίμα που εξέρχεται από τους πνεύμονες, (Ramsey and Andersen, 1984; Reddy et al., 2005):

$$C_a = \frac{Q_P \cdot C_{in} + Q_C \cdot C_{BLV}}{Q_C + Q_P/P_b}$$

όπου  $C_{BLV}$  είναι η χημική συγκέντρωση στο διαμέρισμα του φλεβικού αίματος (σε  $\mu\text{g/L}$ ),  $P_b$  είναι το αίμα: συντελεστής κατανομής αέρα, το  $Q_C$  είναι η καρδιακή έξοδος (σε L/h) και το  $C_{in}$  είναι η εισπνεόμενη συγκέντρωση (σε  $\mu\text{g/m}^3$ ) χημικού κατά τη διάρκεια της έκθεσης και μηδέν μετά την έκθεση. Για να προσδιοριστεί η συγκέντρωση της χημικής ουσίας στον εκπνεόμενο αέρα,  $C_{ex}$  (σε  $\mu\text{g/m}^3$ ), η συγκέντρωση της χημικής ουσίας στον κυψελιδικό αέρα,  $C_{alv}$  (δηλαδή,  $C_a / P_b$ ), πρέπει να ρυθμιστεί για τη συγκέντρωση της χημικής ουσίας στον νεκρό χώρο των πνευμόνων (δηλαδή, ο όγκος των πνευμόνων όπου δεν πραγματοποιείται ανταλλαγή αερίων) ως εξής:

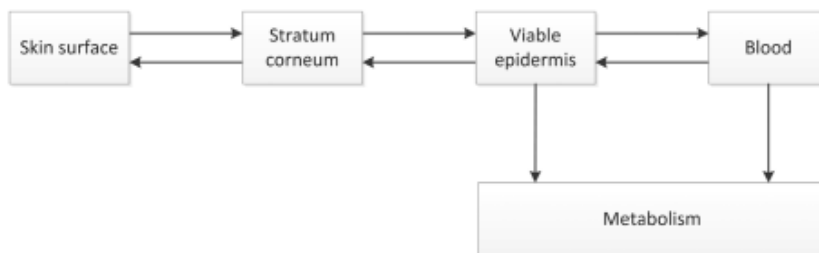
$$C_{ex} = F_{DS} \cdot C_{in} + (1 - F_{DS}) \cdot C_{alv}$$

όπου το  $F_{DS}$  είναι το κλάσμα του νεκρού χώρου στους πνεύμονες, που είναι περίπου 0,33 στους ανθρώπους υπό τυπικές φυσιολογικές συνθήκες.

Η συνολική ποσότητα αέρα που εισπνέεται από έναν μέσο ενήλικα ισούται με περίπου  $20 \text{ m}^3$ . Είναι σαφές από τον παραπάνω τύπο ότι η συμβολή του σχήματος δραστηριότητας επηρεάζει σαφώς τη συνολική πρόσληψη και κατανομή εντός των ιστών, μέσω του ρυθμού αερισμού  $Q_P$  και της καρδιακής εξόδου  $Q_C$ . Κατά την άσκηση, μια υψηλότερη ποσότητα αίματος του σώματος φτάνει προς τους μύες για να τροφοδοτήσει τη σωματική δραστηριότητα. Αυτή η αύξηση του αίματος οδηγεί συχνά στην ανάγκη για περισσότερο οξυγόνο στο αίμα από ό, τι υπάρχει, και έτσι αυξάνεται ο ρυθμός αναπνοής του σώματος. Λαμβάνοντας υπόψη ότι ο ημερήσιος μέσος ρυθμός αναπνοής για έναν ενήλικα κυμαίνεται μεταξύ 12 και 20 αναπνοών ανά λεπτό, αυξάνεται σε 35-45 αναπνοές ανά λεπτό, ανάλογα με το βάρος της προσπάθειας με επακόλουθη αύξηση του συνολικού εισπνεόμενου αέρα και την αντίστοιχη πρόσληψη των μολυντών που περιλαμβάνονται.

### Περιγραφή μοντέλου απορρόφησης δέρματος

Πρόκειται για ένα μοντέλο πολλαπλών διαμερισμάτων περιγράφεται με τη χρήση μορφής διαγράμματος. Κάθε ενότητα στο διάγραμμα αντιπροσωπεύει ένα διαφορετικό διαμέρισμα (Εικ. 12). Το δέρμα έχει διαμορφωθεί με δομή δύο στρωμάτων: Κεράτινη στιβάδα (SC) και βιώσιμη επιδερμίδα (VE). Η κεράτινη στιβάδα περιγράφεται ως δομή «τούβλα και κονίαμα» (Touitou, 2002). Η γεωμετρία της μικροδομής έχει διερευνηθεί και καταγραφεί από πολλούς συγγραφείς (Wang, 2006; Mitragotri et al., 2011)



Εικόνα 12 Δέρμα μοντέλο πολλαπλών διαμερισμάτων

Τα χαρακτηριστικά του δέρματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1. Η αποτελεσματική ροπή του στρώματος κερατοειδούς έχει υπολογιστεί σύμφωνα με τη μέθοδο των Johnson et al. (1997):

$$t = 1 + \frac{2g}{h} \cdot \ln\left(\frac{d}{2s}\right) + \frac{N \cdot d \cdot t}{s \cdot h} + \left(\frac{d}{1 + \omega}\right)^2 \cdot \frac{\omega \cdot (N - 1)}{h \cdot g}$$

όπου  $h$  είναι το συνολικό πάχος της κερατοειδούς στιβάδας και  $\omega$  είναι ο λόγος μεταξύ της διαδρομής  $d_1$  και  $d_2$ . Το μοντέλο χρησιμοποιεί εξισώσεις πρώτης τάξης για τη διάχυση. Συγκεκριμένα, θεωρείται ότι το στρώμα της κεράτινης στιβάδας διατηρεί τη μορφή του και η βιώσιμη επιδερμίδα θεωρείται ως ένα ομοιογενές καλά αναμεμιγμένο στρώμα.

$$\frac{dC_s}{dt} = -D_1 \cdot C_s + D_2 \cdot C_{SC} - \text{evap}$$

$$\frac{dC_{SC}}{dt} = D_1 \cdot C_s - D_2 \cdot C_{SC} - D_3 \cdot C_{SC} + D_4 \cdot C_{ve}$$

$$\frac{dC_{ve}}{dt} = D_3 \cdot C_{SC} - D_4 \cdot C_{ve} - M - Q_b \cdot C_{ve}$$

όπου  $C_s$  είναι η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας στην επιφάνεια του δέρματος που διαπερνά μέσω ενός όγκου δέρματος, το  $C_{sc}$  είναι η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας στο SC και εξαρτάται από τον όγκο των λιπιδίων του, ο όγκος των λιπιδίων είναι το στρώμα μεταξύ των κερατοκυττάρων και εξαρτάται από τη γεωμετρία του SC,  $\text{evap}$  είναι ο ρυθμός εξάτμισης στην ατμόσφαιρα,  $C_{vs}$  είναι η διαπερατή συγκέντρωση στο βιώσιμο δέρμα, το  $M$  είναι ο ρυθμός μεταβολισμού και το  $Q$  είναι ο ρυθμός ροής του αίματος. Επιπλέον, τα  $D_1$  και  $D_2$  είναι κλάσματα διηθήματος, που σχετίζονται με τον συντελεστή κατανομής μεταξύ διαλύτη και SC, τη διαπερατότητα διάχυσης, την αποτελεσματική διάχυση και τη γεωμετρία της SC (Nitsche, Wang and Kasting, 2006). Τα  $D_1$  και  $D_4$  είναι συναρτήσεις του συντελεστή κατανομής διαλύτη/στρώματος, της διαπερατής διάχυσης στο SC λιπίδιο και του πάχους της SC και της περιοχής εφαρμογής. Τα  $D_3$  και  $D_4$  είναι οι συντελεστές κατανομής μεταξύ νερού και SC ( $K_{sc/w}$ ). Το  $K_{sc/w}$  δίνεται από τον μέσο όρο όγκου (Nitsche, Wang and Kasting, 2006):

$$K_{SC/w} = \phi_{lip} \cdot K_{lip/w} + \phi_{cor} \cdot K_{cor/w} \ \& \ \phi_{lip} = 1 - \phi_{cor}$$

όπου  $\Phi_{lip}$  και  $\Phi_{cor}$  δηλώνουν τα κλάσματα όγκου των φάσεων λιπιδίου και κερατινοκυττάρου αντίστοιχα, με  $\Phi_{lip} = 0,11$  για μερικώς ενυδατωμένο SC (Nitsche,

Wang and Kasting, 2006).

Description	Symbol	Value	Unit
Number of layer	N	15	-
Length of corneocyte	d	30	μm
Thickness of corneocyte	t	10	μm
Length of path 1	d <sub>1</sub>	20	μm
Length of path 2	d <sub>2</sub>	10	μm
Vertical gaps	s	0.03	μm
Horizontal gaps	g	0.03	μm
High of viable epidermis	h <sub>v</sub>	3	mm
corneocyte edge angle	φ	90°	degrees
Effective Diffusivity f (φ)	D <sub>ef</sub>	0.002	cm <sup>2</sup> /m

Πίνακας 3.1 Χαρακτηριστικά δέρματος

Επίσης, το  $K_{cor/w}$  δίνεται με εξαίρεση του όγκου από το κλάσμα του κερατινοκυττάρου που καταλαμβάνεται από μικροφίλμ κερατίνης. Σύμφωνα με τον ισχυρισμό ότι δεν υπάρχει προσρόφηση διαλυτής ουσίας στην πρωτεΐνη, τότε  $K_{o/w} = 1 - \phi f$ , όπου  $\phi f = 0,1928$  (Nitsche, Wang and Kasting, 2006).

Το  $K_{lip/w}$  έχει υπολογιστεί σύμφωνα με τους (Nitsche et al., 2006), που έχουν προτείνει μια προσέγγιση για την πρόβλεψη της διαπερατότητας λαμβάνοντας υπόψη το  $K_{o/w}$ :

$$K_{lip/w} = 0.43 \cdot K_{o/w}^{0.81}$$

Η προσέγγιση της προβλεπόμενης διαπερατότητας βασίζεται εξίσωση των (Johnson, Blankschtein and Langer, 1997):

$$\log k_p = 0.71 \cdot \log k_{oct} - 0.0061 \cdot MW - 6.3$$

Επίσης, ο πραγματικός χρόνος καθυστέρησης για την SC δίνεται από την ακόλουθη σχέση (Wang, 2006):

$$\tau_{lag} = \frac{(h_{sc})^2}{6D_{ef}}$$

όπου  $D_{ef}$  είναι η αποτελεσματική διάχυση και  $h_{sc}$  είναι το πάχος του στρώματος σύμφωνα με το μήκος διαδρομής γεωμετρίας που προτείνεται από τους (Tajreja et al., 2001):

$$h_{sc} = \left( \frac{d_2}{\frac{N}{N-1}t + g} + 1 \right) \cdot h$$

όπου  $h$  είναι το συνολικό μήκος του στρώματος σύμφωνα με τις γεωμετρικές παραδοχές του μοντέλου δέρματος.

Ο ρυθμός ροής αίματος (Q) στα στρώματα του δέρματος είναι παρόμοιος με εκείνον



ενός ατόμου 73 κιλών και είναι 85,8 L/h (Abraham *et al.*, 2005). Ο ρυθμός μεταβολισμού δίνεται από (Abraham *et al.*, 2005):

$$M = \left( \frac{V_{\max} C_{ve}}{K_m + C_{ve}} \right)$$

όπου το  $V_{\max}$  είναι το μέγιστο ποσοστό απομάκρυνσης  $\mu\text{g}/\text{min}$  και το  $K_m$  είναι η διαπερατή συγκέντρωση (στο φλεβικό αίμα) στο 50% του  $V_{\max}$ . Η εξάτμιση έχει υπολογιστεί με βάση την τεχνική καθοδήγηση REACH και δίνεται από τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$\text{Evaporation Rate} = \frac{\beta \cdot MW \cdot V_p}{R \cdot T \cdot 10}$$

$$\beta = \frac{0.0111 \cdot V^{0.96} \cdot D_g^{0.19}}{\nu^{0.15} \cdot \chi^{0.04}}$$

όπου το MW είναι το μοριακό βάρος της ουσίας,  $V_p$  είναι η τάση ατμών του υγρού σε θερμοκρασία δέρματος (σε Pascal), R είναι η σταθερά αερίου (σε J/Mol / K), T είναι η θερμοκρασία του δέρματος (σε 0 K),  $\beta$  είναι ο συντελεστής μεταφοράς μάζας στη φάση ατμών (σε m/h), V είναι η ταχύτητα του αέρα (υποτίθεται ότι είναι 0,3 m/s),  $D_g$  είναι η διάχυση του υγρού στη φάση αερίου (0,05  $\text{m}^2/\text{h}$ ), το  $\nu$  είναι το κινηματικό ιζώδες του αέρα (0,054  $\text{m}^2/\text{h}$ ) και το  $\chi$  είναι το μήκος της περιοχής εξάτμισης κατά την κατεύθυνση της ροής του αέρα.

### Περιγραφή μοντέλου από του στόματος απορρόφησης

Η γαστρεντερική οδός διαμορφώνεται σε τέσσερα διαμερίσματα: έντερο, στομάχι και τους αντίστοιχους αυλούς τους. Η παράμετρος  $Ka_{\text{stomach}}$  και  $Ka_{\text{gut}}$  διέπει τη διάχυση χημικών στο στομάχι και στο έντερο, αντίστοιχα, και στη συνέχεια στη συστηματική κυκλοφορία. Η απορρόφηση λαμβάνει χώρα στον αυλό του στομάχου ( $Rate_{\text{ing}}$  είναι ο ρυθμός κατάποσης). Στο έντερο, οι χημικές ουσίες μπορούν να μεταβολιστούν ( $Q_{\text{Met}_{\text{gut}}}$ ):

$$\frac{dQ_{\text{stomach lumen}}}{dt} = Rate_{\text{ing}} - (F_{\text{stomach lumen}} + Ka_{\text{stomach}}) \cdot C_{\text{stomach lumen}}$$

$$\frac{dQ_{\text{stomach}}}{dt} = Ka_{\text{stomach}} \cdot C_{\text{stomach lumen}} + F_{\text{stomach}} \cdot \left( C_{\text{art}} + \frac{C_{\text{stomach}}}{PC_{\text{stomach}}} \right)$$

$$\frac{dQ_{\text{gut lumen}}}{dt} = F_{\text{stomach lumen}} \cdot C_{\text{stomach lumen}} + Ke_{\text{bile}} \cdot C_{\text{liver}} - (Ka_{\text{gut}} + F_{\text{gut lumen}}) \cdot C_{\text{gut lumen}}$$

$$\frac{dQ_{\text{gut}}}{dt} = Ka_{\text{gut}} \cdot C_{\text{gut lumen}} + F_{\text{gut}} \cdot \left( C_{\text{art}} - \frac{C_{\text{gut}}}{PC_{\text{gut}}} \right) - Q_{\text{Met}_{\text{gut}}}$$

Τα αποτελέσματα της σπλήνας, του παγκρέατος, του στομάχου και του εντέρου τροφοδοτούν το συκώτι, καθώς και μια αρτηριακή είσοδο. Στο ήπαρ, οι χημικές ουσίες μπορούν να εξαλειφθούν μέσω της χολής ( $Ke_{\text{bile}}$ ) ή να μεταβολιστούν

( $QMet_{liver}$ ).

$$\begin{aligned} \frac{\partial Q_{liver}}{\partial t} = & F_{liverart} \cdot C_{art} + F_{spleen} \cdot \frac{C_{spleen}}{PC_{spleen}} + F_{pancreas} \cdot \frac{C_{pancreas}}{PC_{pancreas}} + F_{gut} \cdot \frac{C_{gut}}{PC_{gut}} \\ & + F_{stomach} \cdot \frac{C_{stomach}}{PC_{stomach}} - F_{liver} \cdot \frac{C_{liver}}{PC_{liver}} - Ke_{bile} \cdot C_{liver} - QMet_{liver} \end{aligned}$$

Η διαλογή της ροής αίματος στο ήπαρ δίνεται στη συνέχεια από:

$$F_{liver} = F_{liverart} + F_{gut} + F_{pancreas} + F_{spleen} + F_{stomach}$$

### 3.3 Εφαρμογή του γενικού μοντέλου PBBK στις μυκοτοξίνες

Κατά την αναζήτηση PBPK ή PBTK και μυκοτοξινών και ανθρώπων, εντοπίστηκαν αναφορές για άλλες μυκοτοξίνες (τοξίνες ZEA και T-2) από τις προτεραιότητες (DON και FB1). Όλες οι παραπάνω (ZEA, T-2 τοξίνες, DON και FB1) παράγονται από μύκητες του ίδιου γένους *Fusarium*.

(Mukherjee *et al.*, 2014) διατύπωσε ένα ολοκληρωμένο μοντέλο Τοξικοκινητικής (PBTK) με φυσιολογική βάση για τη ζεαραλενόνη (ZEA) και τους πρωτογενείς μεταβολίτες τους, τη ζεαραλενόλη, τη ζεαραλανόνη και τα συζευγμένα γλυκουρονίδια τους, για αρουραίους και για ανθρώπους (Mukherjee *et al.*, 2014).

Η μελέτη μοντελοποίησης PBPK προσομοιώνει ρητά κρίσιμες μεταβολικές οδούς στο γαστρεντερικό και ηπατικό σύστημα. Το μοντέλο PBTK εξετάζει την απέκκριση των ούρων και των κοπράνων και συγκρίνει τους προβλεπόμενους βιοδείκτες των συγκεντρώσεων αίματος, ούρων και κοπράνων με δημοσιευμένες *in vivo* μετρήσεις σε αρουραίους και ανθρώπους.

Επιπλέον, το τοξικοκινητικό μοντέλο συνδυάστηκε με ένα νέο πιθανοτικό μοντέλο διατροφικής έκθεσης και εφαρμόστηκε στη μελέτη Jersey Girl (JGS), η οποία περιελάμβανε τη μέτρηση των μυοιστρογόνων ως βιοδείκτες ούρων, σε μια ομάδα νεαρών κοριτσιών στο New Jersey των ΗΠΑ. Αυτό το πλαίσιο περιλάμβανε επίσης έναν συστηματικό χαρακτηρισμό των αβεβαιοτήτων στην έκθεση και την εκτίμηση της δόσης για έναν ευάλωτο πληθυσμό.

Οι Zeng *et al.* (2019) ανέφερε την ανάπτυξη ενός μοντέλου φαρμακοκινητικής (PBPK) με περιορισμένη ροή για έκθεση σε όλη τη ζωή σε εκτίμηση τοξινών T-2 σε κοτόπουλα (Zeng *et al.*, 2019). Το μοντέλο βαθμονομήθηκε με δεδομένα από τη μελέτη μείωσης καταλοίπων και στη συνέχεια επικυρώθηκε με ανεξάρτητα δεδομένα. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση τοπικής ευαισθησίας και 16 ευαίσθητες παράμετροι υποβλήθηκαν σε ανάλυση Monte Carlo. Το μοντέλο πληθυσμού PBPK εφαρμόστηκε για την εκτίμηση των ημερήσιων τιμών πρόσληψης της τοξίνης T-2 σε διαφορετικές

χώρες με βάση τους αναφερόμενους συντελεστές κατανάλωσης και την τιμή καθοδήγησης των 0,25 mg/kg στις ζωοτροφές για κοτόπουλα από την EFSA.

Ο Πίνακας 3.2 παρουσιάζει τα κύρια χαρακτηριστικά των μοντέλων ανθρώπινης PBPK για μυκοτοξίνες.

References	Chemicals	Exposure routes	Populations
Vidal, A., Claeys, L., Mengelers, M., Vanhoorne, V., Vervae, C., Huybrechts, B., De Saeger, S., De Boevre, M., 2018. Humans significantly metabolize and excrete the mycotoxin deoxynivalenol and its modified form deoxynivalenol-3-glucoside within 24 hours. <i>Scientific Reports</i> 8, 5255	DON and DON3G	Ingestion	Human (adults)
Mengelers M, Zeilmaker M, Vidal A, De Boevre M, De Saeger S and Hoogenveen R. Biomonitoring of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside in human volunteers: renal excretion profiles. Submitted for publication in <i>Toxins</i> .	DON and DON3G	Ingestion	Human (adults)
Mukherjee, D., Royce, S.G., Alexander, J.A., Buckley, B., Isukapalli, S.S., Bandera, E.V., Zarbl, H., Georgopoulos, P.G., 2014. Physiologically-based toxicokinetic modeling of zearalenone and its metabolites: application to the Jersey girl study. <i>PLoS one</i> 9, e113632-e113632.	ZEA and ZAL	Ingestion	Human (Young girls)

Πίνακας 3.2 Περίληψη των ανθρώπινων μοντέλων PBPK για μυκοτοξίνες

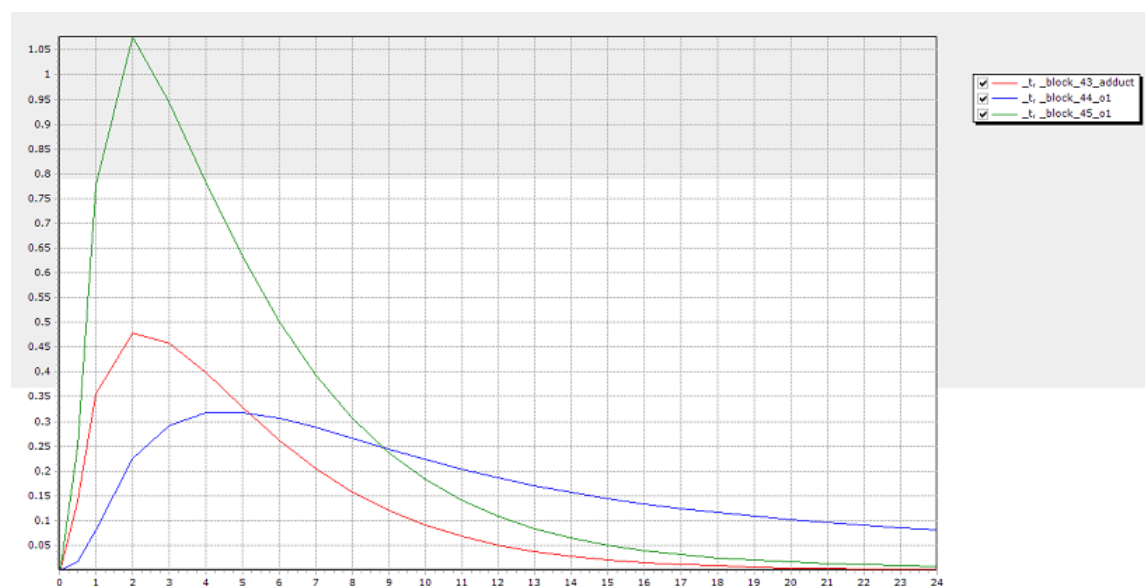
### 3.3.1 Εφαρμογή PBPK μοντέλου στη μυκοτοξίνη DON

Η τοξικοκινητική των μυκοτοξινών έχει μελετηθεί ειδικά *in vitro* ή *in vivo* σε ζώα. Τα ανθρώπινα δεδομένα είναι λίγα και ορισμένες μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη. Όσον αφορά τη DON, τα διαθέσιμα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα DON, 3-Ac-DON, 15-Ac-DON και DON-γλυκοζίτη μπορεί να απορροφηθούν μέσω της μονοστιβάδας του εντέρου με διαφορετική απόδοση. Η DON κατάφερε να διασχίσει τον πλακούντα και να φτάσει στο έμβρυο. Περιορισμένα δεδομένα για τον άνθρωπο έδειξαν ότι ένα σημαντικό ποσοστό της λαμβανόμενης DON θα απεκκρίνεται μέσω ούρων, από τα οποία ένα σημαντικό ποσοστό ήταν σε συζευγμένες μορφές με το DON-15-γλυκουρονίδιο ως το κύριο προϊόν σύζευξης, περίπου τριπλάσιο από το DON-3-γλυκουρονίδιο, ακολουθούμενο από ελεύθερη DON και DON-3-γλυκουρονίδιο.

Κατά την αναζήτηση PBPK ή PBTK DON ανθρώπου, δεν βρέθηκαν αναφορές. Κατά την αναζήτηση τοξικοκινητικών ή φαρμακοκινητικών μοντέλων σε συνδυασμό με DON και FB1, αναφέρθηκαν ορισμένες μελέτες. Πραγματοποιήθηκε επίσης επιπλέον αναζήτηση από άλλες πηγές (π.χ. εκθέσεις EFSA) και μελέτες γνωστές από συγγραφείς. Οι Vidal *et al.* έχουν πραγματοποιήσει μια μελέτη ανθρώπινης παρέμβασης για να αποκαλύψουν το προφίλ απέκκρισης των ούρων και το μεταβολισμό της DON και την τροποποιημένη μορφή της DON-3-γλυκοζίτη (DON3G) (Vidal *et al.*, 2018). Είκοσι εθελοντές περιορίστηκαν στην κατανάλωση δημητριακών και τροφίμων με βάση δημητριακά για 4 ημέρες. Την ημέρα 3, ένας απλός βλωμός 1 μg / kg σωματικού βάρους DON και ένας απλός βλωμός 1 μg / kg σωματικού βάρους

DON3G μετά από μια περίοδο πλύσης δύο μηνών και πραγματοποιήθηκε συλλογή ούρων 24 ωρών. Τα ούρα αναλύθηκαν για DON, DON3G, 3-ADON, 15-ADON, deeroxy-deoxygivalenol (DOM-1), deoxygivalenol-3-glucuronide (DON-3-glucuronide) και deoxygivalenol-15-glucuronide (DON-15-glucuronide). Η ανάλυση βιοδείκτη ούρων αποκάλυψε ότι τα DON και DON3G απορροφήθηκαν γρήγορα, διανεμήθηκαν, μεταβολίζονται και απεκκρίνονται. Εξήντα τέσσερα τοις εκατό της χορηγούμενης DON και 58% της DON3G.

Η κύρια οδός αποτοξίνωσης της DON είναι η γλυκουρονίδωση φάσης II. Έτσι, στο μοντέλο μας, εμείς λαμβάνουμε υπόψιν τη μητρική ένωση (DON) και τους δύο βασικούς μεταβολίτες της (DON-15GlcA & DON-3GlcA). Οι ικανότητες γλυκουρονίδωσης σε όλα τα στάδια ανάπτυξης είναι κρίσιμες παράμετροι του τοξικοκινητικού μοντέλου της DON. Μετά από κατάλληλη παραμετροποίηση και εφαρμογή του μοντέλου λήφθηκε το διάγραμμα 3.1 στο οποίο φαίνονται οι συγκεντρώσεις της μητρικής ένωσης και των μεταβολιτών κατά τη διάρκεια 24ώρου. Η πράσινη καμπύλη αντικατοπτρίζει την συγκέντρωση της DON-15GlcA κατά τη διάρκεια 24h, η κόκκινη καμπύλη αναπαριστά τη συγκέντρωση της μητρικής ένωσης και η μπλε τη συγκέντρωση της DON-3GlcA.



Διάγραμμα 3.1: Παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις της μητρικής ένωσης και των μεταβολιτών κατά τη διάρκεια 24ώρου. Η πράσινη καμπύλη αντικατοπτρίζει την συγκέντρωση της DON-15GlcA κατά τη διάρκεια 24h, η κόκκινη καμπύλη αναπαριστά τη συγκέντρωση της μητρικής ένωσης και η μπλε τη συγκέντρωση της DON-3GlcA.

## ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ

DON: Deoxynivalenol

DOM-1: deoxy-deoxynivalenol

3-ADON: 3-acetyl-deoxynivalenol

15-ADON: 15-acetyl-deoxynivalenol

DON-3G: deoxynivalenol-3-glucoside

DON-3-GlcA: deoxynivalenol-3-glucuronide

DON-15-GlcA: deoxynivalenol-15-glucuronide

ZEN: zearalenone

OTA: ochratoxin A

T-2: toxin T-2

FB1: fumonisin B1

HBM: Human Biomonitoring

PDI: Probable Daily Intake

ML: Μέγιστα Επίπεδα

MB: Middle Bound (Μεσαίο όριο)

SC: Κεράτινη στιβάδα

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Στο παράρτημα Α φαίνεται επιλεκτικά κάποιο από τα μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν με τη μητρική ένωση δεοξυνιβανενόλη, τους δύο μεταβολίτες της DON-15GlcA & DON-3GlcA και σταθερό και συνεχόμενο μέσο έκθεσης με βάση την παραμετροποίηση που χρησιμοποιήθηκε.

CL\_liv\_parent\_compound=0.8\*(Bodyweight/70) !0.136\*(Bodyweight/70) !DEHP

CL\_liv\_metabolite\_1=0.05228\*(Bodyweight/70) !MEHP

!CL\_liv\_metabolite\_2=0.2\*(Bodyweight/70) !5OH-MEHP

!CL\_liv\_metabolite\_3=0.2\*(Bodyweight/70) !5oxo-MEHP

CL\_liv\_metabolite\_5=38\*(Bodyweight/70)

CL\_pls\_kid\_parent\_compound=0.12\*(Bodyweight/70) !0.007\*(Bodyweight/70) !DEHP

CL\_pls\_kid\_metabolite\_1=0.069\*(Bodyweight/70) !MEHP

!CL\_pls\_kid\_metabolite\_2=0.071\*(Bodyweight/70) !5OH-MEHP

!CL\_pls\_kid\_metabolite\_3=0.071\*(Bodyweight/70) !5oxo-MEHP

CL\_pls\_kid\_metabolite\_5=50\*(Bodyweight/70) !3.6\*(Bodyweight/70) !5oxo-MEHP

!PBPK parameters

global Q\_GI

global Q\_pv

global Q\_liv

global Q\_kid

global Q\_adi

global Q\_bone

global Q\_brn

global Q\_gon

global Q\_hrt

global Q\_mus

global Q\_skin

global Q\_lung

global Q\_TOT

global Bodyweight

global Krbc

global HCT

global fu

global Krbc\_metabolite\_1  
global fu\_metabolite\_1  
global Krbc\_metabolite\_2  
global fu\_metabolite\_2  
global Krbc\_metabolite\_3  
global fu\_metabolite\_3  
global Krbc\_metabolite\_5  
global fu\_metabolite\_5

global CL\_liv\_parent\_compound  
global CL\_liv\_metabolite\_1  
global CL\_liv\_metabolite\_2  
global CL\_liv\_metabolite\_3  
global CL\_liv\_metabolite\_5  
global min\_h  
global conc\_per\_cig  
global exposure\_scenario\_duration

!GI tissue  
global PS\_rbc\_GI  
global V\_GI  
global f\_vas\_GI  
global K\_GI  
global f\_int\_GI  
global PS\_cell\_GI  
global f\_cell\_GI  
global PS\_rbc\_GI\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_GI\_metabolite\_1  
global K\_GI\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_GI\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_GI\_metabolite\_2  
global K\_GI\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_GI\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_GI\_metabolite\_3  
global K\_GI\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_GI\_metabolite\_5



global PS\_cell\_GI\_metabolite\_5  
global K\_GI\_metabolite\_5

!Portal Vein tissue

global PS\_rbc\_pv  
global V\_pv  
global PS\_rbc\_pv\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_pv\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_pv\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_pv\_metabolite\_5

!Liver tissue

global PS\_rbc\_liv  
global V\_liv  
global f\_vas\_liv  
global K\_liv  
global f\_int\_liv  
global PS\_cell\_liv  
global f\_cell\_liv  
global PS\_rbc\_liv\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_liv\_metabolite\_1  
global K\_liv\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_liv\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_liv\_metabolite\_2  
global K\_liv\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_liv\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_liv\_metabolite\_3  
global K\_liv\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_liv\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_liv\_metabolite\_5  
global K\_liv\_metabolite\_5

!Kidney tissue

global PS\_rbc\_kid  
global V\_kid  
global f\_vas\_kid  
global K\_kid

global f\_int\_kid  
global PS\_cell\_kid  
global f\_cell\_kid  
global CL\_pls\_kid\_parent\_compound  
global PS\_rbc\_kid\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_kid\_metabolite\_1  
global K\_kid\_metabolite\_1  
global CL\_pls\_kid\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_kid\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_kid\_metabolite\_2  
global K\_kid\_metabolite\_2  
global CL\_pls\_kid\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_kid\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_kid\_metabolite\_3  
global K\_kid\_metabolite\_3  
global CL\_pls\_kid\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_kid\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_kid\_metabolite\_5  
global K\_kid\_metabolite\_5  
global CL\_pls\_kid\_metabolite\_5

!Adipose tissue

global PS\_rbc\_adi  
global V\_adi  
global f\_vas\_adi  
global K\_adi  
global f\_int\_adi  
global PS\_cell\_adi  
global f\_cell\_adi  
global PS\_rbc\_adi\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_adi\_metabolite\_1  
global K\_adi\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_adi\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_adi\_metabolite\_2  
global K\_adi\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_adi\_metabolite\_3

global PS\_cell\_adi\_metabolite\_3  
global K\_adi\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_adi\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_adi\_metabolite\_5  
global K\_adi\_metabolite\_5

!Bone tissue

global PS\_rbc\_bone  
global V\_bone  
global f\_vas\_bone  
global K\_bone  
global f\_int\_bone  
global PS\_cell\_bone  
global f\_cell\_bone  
global PS\_rbc\_bone\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_bone\_metabolite\_1  
global K\_bone\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_bone\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_bone\_metabolite\_2  
global K\_bone\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_bone\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_bone\_metabolite\_3  
global K\_bone\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_bone\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_bone\_metabolite\_5  
global K\_bone\_metabolite\_5

!Brain tissue

global PS\_rbc\_brn  
global V\_brn  
global f\_vas\_brn  
global K\_brn  
global f\_int\_brn  
global PS\_cell\_brn  
global f\_cell\_brn  
global PS\_rbc\_brn\_metabolite\_1

global PS\_cell\_brn\_metabolite\_1  
global K\_brn\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_brn\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_brn\_metabolite\_2  
global K\_brn\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_brn\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_brn\_metabolite\_3  
global K\_brn\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_brn\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_brn\_metabolite\_5  
global K\_brn\_metabolite\_5

!Gonads tissue

global PS\_rbc\_gon  
global V\_gon  
global f\_vas\_gon  
global K\_gon  
global f\_int\_gon  
global PS\_cell\_gon  
global f\_cell\_gon  
global PS\_rbc\_gon\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_gon\_metabolite\_1  
global K\_gon\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_gon\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_gon\_metabolite\_2  
global K\_gon\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_gon\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_gon\_metabolite\_3  
global K\_gon\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_gon\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_gon\_metabolite\_5  
global K\_gon\_metabolite\_5

!Heart tissue

global PS\_rbc\_hrt  
global V\_hrt

global f\_vas\_hrt  
global K\_hrt  
global f\_int\_hrt  
global PS\_cell\_hrt  
global f\_cell\_hrt  
global PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_hrt\_metabolite\_1  
global K\_hrt\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_hrt\_metabolite\_2  
global K\_hrt\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_hrt\_metabolite\_3  
global K\_hrt\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_hrt\_metabolite\_5  
global K\_hrt\_metabolite\_5

!Muscle tissue

global PS\_rbc\_mus  
global V\_mus  
global f\_vas\_mus  
global K\_mus  
global f\_int\_mus  
global PS\_cell\_mus  
global f\_cell\_mus  
global PS\_rbc\_mus\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_mus\_metabolite\_1  
global K\_mus\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_mus\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_mus\_metabolite\_2  
global K\_mus\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_mus\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_mus\_metabolite\_3  
global K\_mus\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_mus\_metabolite\_5

global PS\_cell\_mus\_metabolite\_5  
global K\_mus\_metabolite\_5

!Skin tissue

global PS\_rbc\_skin  
global V\_skin  
global f\_vas\_skin  
global K\_skin  
global f\_int\_skin  
global PS\_cell\_skin  
global f\_cell\_skin  
global PS\_rbc\_skin\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_skin\_metabolite\_1  
global K\_skin\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_skin\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_skin\_metabolite\_2  
global K\_skin\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_skin\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_skin\_metabolite\_3  
global K\_skin\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_skin\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_skin\_metabolite\_5  
global K\_skin\_metabolite\_5

!Lung tissue

global PS\_rbc\_lung  
global V\_lung  
global f\_vas\_lung  
global K\_lung  
global f\_int\_lung  
global PS\_cell\_lung  
global f\_cell\_lung  
global PS\_rbc\_lung\_metabolite\_1  
global PS\_cell\_lung\_metabolite\_1  
global K\_lung\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_lung\_metabolite\_2  
global PS\_cell\_lung\_metabolite\_2

global K\_lung\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_lung\_metabolite\_3  
global PS\_cell\_lung\_metabolite\_3  
global K\_lung\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_lung\_metabolite\_5  
global PS\_cell\_lung\_metabolite\_5  
global K\_lung\_metabolite\_5

!Arterial tissue

global PS\_rbc\_art  
global V\_art  
global PS\_rbc\_art\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_art\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_art\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_art\_metabolite\_5

!Venous tissue

global PS\_rbc\_ven  
global V\_ven  
global PS\_rbc\_ven\_metabolite\_1  
global PS\_rbc\_ven\_metabolite\_2  
global PS\_rbc\_ven\_metabolite\_3  
global PS\_rbc\_ven\_metabolite\_5

$Q_{GI}=74.1*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{pv}=74.1*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{liv}=25.38*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{kid}=79.5*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{adi}=19.5*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{bone}=19.44*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{brn}=46.8*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{gon}=0.18*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{hrt}=15.6*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{mus}=66.36*(\text{Bodyweight}/70)$   
 $Q_{skin}=19.5*(\text{Bodyweight}/70)$



$Q_{lung}=Q_{GI}+Q_{liv}+Q_{kid}+Q_{adi}+Q_{bone}+Q_{brn}+Q_{gon}+Q_{hrt}+Q_{mus}+Q_{skin}$   
 $Q_{TOT}=Q_{GI}+Q_{liv}+Q_{kid}+Q_{adi}+Q_{bone}+Q_{brn}+Q_{gon}+Q_{hrt}+Q_{mus}+Q_{skin}$

constant Krbc=0.05  
constant HCT=0.4  
constant fu=1  
constant Krbc\_metabolite\_1=0.026  
constant fu\_metabolite\_1=1  
constant Krbc\_metabolite\_2=0.026  
constant fu\_metabolite\_2=1  
constant Krbc\_metabolite\_3=0.026  
constant fu\_metabolite\_3=1  
constant Krbc\_metabolite\_5=0.026  
constant fu\_metabolite\_5=1  
constant min\_h=60  
constant Bodyweight=70

!GI tissue  
 $PS_{rbc\_GI}=12000*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
 $V_{GI}=1.737*(Bodyweight/70)$   
constant f\_vas\_GI=0.25  
constant K\_GI=0.4  
constant f\_int\_GI=0.1  
 $PS_{cell\_GI}=120000*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
!constant PS\_cell\_GI=120000  
constant f\_cell\_GI=0.65  
 $PS_{rbc\_GI\_metabolite\_1}=0.2*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
 $PS_{cell\_GI\_metabolite\_1}=80*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
constant K\_GI\_metabolite\_1=0.5  
 $PS_{rbc\_GI\_metabolite\_2}=0.2*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
 $PS_{cell\_GI\_metabolite\_2}=80*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
constant K\_GI\_metabolite\_2=1  
 $PS_{rbc\_GI\_metabolite\_3}=0.2*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
 $PS_{cell\_GI\_metabolite\_3}=80*((Bodyweight/70)^{0.75})$   
constant K\_GI\_metabolite\_3=1

PS\_rbc\_GI\_metabolite\_5=0.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_GI\_metabolite\_5=80\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_GI\_metabolite\_5=1

!Portal Vein tissue

PS\_rbc\_pv=150780\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_pv=1.037\*(Bodyweight/70)  
PS\_rbc\_pv\_metabolite\_1=1.62\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_pv\_metabolite\_2=1.62\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_pv\_metabolite\_3=1.62\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_pv\_metabolite\_5=1.62\*((Bodyweight/70)^0.75)

!Liver tissue

PS\_rbc\_liv=58260\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_liv=2.357\*(Bodyweight/70)  
constant f\_vas\_liv=0.21  
constant K\_liv= 0.4!3  
constant f\_int\_liv=0.1  
PS\_cell\_liv=1523340\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant f\_cell\_liv=2  
PS\_rbc\_liv\_metabolite\_1=0.6\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_liv\_metabolite\_1=16.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_liv\_metabolite\_1=0.5!1  
PS\_rbc\_liv\_metabolite\_2=0.6\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_liv\_metabolite\_2=16.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_liv\_metabolite\_2=1  
PS\_rbc\_liv\_metabolite\_3=0.6\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_liv\_metabolite\_3=16.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_liv\_metabolite\_3=1  
PS\_rbc\_liv\_metabolite\_5=0.6\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_liv\_metabolite\_5=16.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_liv\_metabolite\_5=1

!Kidney tissue

PS\_rbc\_kid=14640\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_kid=0.438\*(Bodyweight/70)

constant f\_vas\_kid=0.23  
 constant K\_kid=0.8!1  
 constant f\_int\_kid=0.1  
 PS\_cell\_kid=856620\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant f\_cell\_kid=0.67  
 PS\_rbc\_kid\_metabolite\_1=0.156\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 PS\_cell\_kid\_metabolite\_1=72\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant K\_kid\_metabolite\_1=1  
 PS\_rbc\_kid\_metabolite\_2=0.156\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 PS\_cell\_kid\_metabolite\_2=72\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant K\_kid\_metabolite\_2=1  
 PS\_rbc\_kid\_metabolite\_3=0.156\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 PS\_cell\_kid\_metabolite\_3=72\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant K\_kid\_metabolite\_3=1  
 PS\_rbc\_kid\_metabolite\_5=0.156\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 PS\_cell\_kid\_metabolite\_5=72\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant K\_kid\_metabolite\_5=1

!Adipose tissue !!!! Formula from Alberto

PS\_rbc\_adi=38880\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 V\_adi=14.868\*(Bodyweight/70)  
 constant f\_vas\_adi=0.016  
 constant K\_adi=0.2!109  
 constant f\_int\_adi=0.184  
 PS\_cell\_adi=283500\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant f\_cell\_adi=0.8  
 PS\_rbc\_adi\_metabolite\_1=0.414\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 PS\_cell\_adi\_metabolite\_1=3.06\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant K\_adi\_metabolite\_1=0.2!0.5  
 PS\_rbc\_adi\_metabolite\_2=0.414\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 PS\_cell\_adi\_metabolite\_2=3.06\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant K\_adi\_metabolite\_2=0.5  
 PS\_rbc\_adi\_metabolite\_3=0.414\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 PS\_cell\_adi\_metabolite\_3=3.06\*((Bodyweight/70)^0.75)  
 constant K\_adi\_metabolite\_3=0.5  
 PS\_rbc\_adi\_metabolite\_5=0.414\*((Bodyweight/70)^0.75)

$PS\_cell\_adi\_metabolite\_5=3.06*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $K\_adi\_metabolite\_5=0.5$

!Bone tissue

$PS\_rbc\_bone=58380*((Bodyweight/70)^{0.75})$

$V\_bone=11.818*(Bodyweight/70)$

constant  $f\_vas\_bone=0.03$

constant  $K\_bone=0.69!2.5$

constant  $f\_int\_bone=0.1$

$PS\_cell\_bone=285960*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $f\_cell\_bone=0.87$

$PS\_rbc\_bone\_metabolite\_1=0.6*((Bodyweight/70)^{0.75})$

$PS\_cell\_bone\_metabolite\_1=3.06*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $K\_bone\_metabolite\_1=1$

$PS\_rbc\_bone\_metabolite\_2=0.6*((Bodyweight/70)^{0.75})$

$PS\_cell\_bone\_metabolite\_2=3.06*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $K\_bone\_metabolite\_2=1$

$PS\_rbc\_bone\_metabolite\_3=0.6*((Bodyweight/70)^{0.75})$

$PS\_cell\_bone\_metabolite\_3=3.06*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $K\_bone\_metabolite\_3=1$

$PS\_rbc\_bone\_metabolite\_5=0.6*((Bodyweight/70)^{0.75})$

$PS\_cell\_bone\_metabolite\_5=3.06*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $K\_bone\_metabolite\_5=1$

!Brain tissue

$PS\_rbc\_brn=8520*((Bodyweight/70)^{0.75})$

$V\_brn=1.508*(Bodyweight/70)$

constant  $f\_vas\_brn=0.04$

constant  $K\_brn=1.2!3.8$

constant  $f\_int\_brn=0.1$

$PS\_cell\_brn=30.6*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $f\_cell\_brn=0.86$

$PS\_rbc\_brn\_metabolite\_1=0.09*((Bodyweight/70)^{0.75})$

$PS\_cell\_brn\_metabolite\_1=0.000324*((Bodyweight/70)^{0.75})$

constant  $K\_brn\_metabolite\_1=1.4$

PS\_rbc\_brn\_metabolite\_2=0.09\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_brn\_metabolite\_2=0.000324\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_brn\_metabolite\_2=1  
PS\_rbc\_brn\_metabolite\_3=0.09\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_brn\_metabolite\_3=0.000324\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_brn\_metabolite\_3=1  
PS\_rbc\_brn\_metabolite\_5=0.09\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_brn\_metabolite\_5=0.000324\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_brn\_metabolite\_5=1

!Gonads tissue

PS\_rbc\_gon=342\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_gon=0.040\*(Bodyweight/70)  
constant f\_vas\_gon=0.05  
constant K\_gon=0.4  
constant f\_int\_gon=0.1  
PS\_cell\_gon=4920\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant f\_cell\_gon=0.85  
PS\_rbc\_gon\_metabolite\_1=0.00342\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_gon\_metabolite\_1=0.0534\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_gon\_metabolite\_1=0.5  
PS\_rbc\_gon\_metabolite\_2=0.00342\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_gon\_metabolite\_2=0.0534\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_gon\_metabolite\_2=1  
PS\_rbc\_gon\_metabolite\_3=0.00342\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_gon\_metabolite\_3=0.0534\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_gon\_metabolite\_3=1  
PS\_rbc\_gon\_metabolite\_5=0.00342\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_gon\_metabolite\_5=0.0534\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_gon\_metabolite\_5=1

!Heart tissue

PS\_rbc\_hrt=8520\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_hrt=0.417\*(Bodyweight/70)  
constant f\_vas\_hrt=0.12  
constant K\_hrt=0.4!1.3  
constant f\_int\_hrt=0.1

PS\_cell\_hrt=187380\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant f\_cell\_hrt=0.78  
PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_1=0.09\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_hrt\_metabolite\_1=1.98\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_hrt\_metabolite\_1=0.5  
PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_2=0.09\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_hrt\_metabolite\_2=1.98\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_hrt\_metabolite\_2=1  
PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_3=0.09\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_hrt\_metabolite\_3=1.98\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_hrt\_metabolite\_3=1  
PS\_rbc\_hrt\_metabolite\_5=0.09\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_hrt\_metabolite\_5=1.98\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_hrt\_metabolite\_5=1

!Muscle tissue

PS\_rbc\_mus=117540\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_mus=32.338\*(Bodyweight/70)  
constant f\_vas\_mus=0.02  
constant K\_mus=0.69!2.5  
constant f\_int\_mus=0.1  
PS\_cell\_mus=165120\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant f\_cell\_mus=0.88  
PS\_rbc\_mus\_metabolite\_1=1.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_mus\_metabolite\_1=1.74\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_mus\_metabolite\_1=1  
PS\_rbc\_mus\_metabolite\_2=1.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_mus\_metabolite\_2=1.74\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_mus\_metabolite\_2=1  
PS\_rbc\_mus\_metabolite\_3=1.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_mus\_metabolite\_3=1.74\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_mus\_metabolite\_3=1  
PS\_rbc\_mus\_metabolite\_5=1.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_mus\_metabolite\_5=1.74\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_mus\_metabolite\_5=1

!Skin tissue

$$PS\_rbc\_skin=25140*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$V\_skin=0.600*(Bodyweight/70)$$

$$\text{constant } f\_vas\_skin=0.04$$

$$\text{constant } K\_skin=0.69!1$$

$$\text{constant } f\_int\_skin=0.1$$

$$PS\_cell\_skin=1020*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } f\_cell\_skin=0.86$$

$$PS\_rbc\_skin\_metabolite\_1=0.27*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$PS\_cell\_skin\_metabolite\_1=0.0114*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } K\_skin\_metabolite\_1=1$$

$$PS\_rbc\_skin\_metabolite\_2=0.27*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$PS\_cell\_skin\_metabolite\_2=0.0114*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } K\_skin\_metabolite\_2=1$$

$$PS\_rbc\_skin\_metabolite\_3=0.27*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$PS\_cell\_skin\_metabolite\_3=0.0114*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } K\_skin\_metabolite\_3=1$$

$$PS\_rbc\_skin\_metabolite\_5=0.27*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$PS\_cell\_skin\_metabolite\_5=0.0114*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } K\_skin\_metabolite\_5=1$$

!Lung tissue

$$PS\_rbc\_lung=109140*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$V\_lung=1.294*(Bodyweight/70)$$

$$\text{constant } f\_vas\_lung=0.2$$

$$\text{constant } K\_lung=0.4!1$$

$$\text{constant } f\_int\_lung=0.15$$

$$PS\_cell\_lung=3540*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } f\_cell\_lung=0.65$$

$$PS\_rbc\_lung\_metabolite\_1=0.2*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$PS\_cell\_lung\_metabolite\_1=80*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } K\_lung\_metabolite\_1=0.5$$

$$PS\_rbc\_lung\_metabolite\_2=0.2*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$PS\_cell\_lung\_metabolite\_2=80*((Bodyweight/70)^{0.75})$$

$$\text{constant } K\_lung\_metabolite\_2=1$$

$$PS\_rbc\_lung\_metabolite\_3=0.2*((Bodyweight/70)^{0.75})$$



PS\_cell\_lung\_metabolite\_3=80\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_lung\_metabolite\_3=1  
PS\_rbc\_lung\_metabolite\_5=0.2\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_cell\_lung\_metabolite\_5=80\*((Bodyweight/70)^0.75)  
constant K\_lung\_metabolite\_5=1

!Arterial tissue

PS\_rbc\_art=100500\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_art=0.691\*(Bodyweight/70)  
PS\_rbc\_art\_metabolite\_1=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_art\_metabolite\_2=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_art\_metabolite\_3=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_art\_metabolite\_5=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)

!Venous tissue

PS\_rbc\_ven=100500\*((Bodyweight/70)^0.75)  
V\_ven=0.691\*(Bodyweight/70)  
PS\_rbc\_ven\_metabolite\_1=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_ven\_metabolite\_2=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_ven\_metabolite\_3=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)  
PS\_rbc\_ven\_metabolite\_5=1.08\*((Bodyweight/70)^0.75)

!ORAL EXPOSURE

global absorption\_fraction !absorption fraction constant from GI tract to blood(1/time)

global k\_absorption\_rate !absorption rate constant from GI tract to blood(1/time)

global tz1\_oral ! time to start exposure (h)  
global Oral\_Dose1 ! mass (ug)  
global delt\_oral ! duration of exposure (h)  
global period\_oral ! time interval of each exposure (h)

global tz2\_oral ! time to start exposure (h)  
global Oral\_Dose2 ! mass (ug)  
global delt\_oral ! duration of exposure (h)

global period\_oral ! time interval of each exposure (h)  
  
 global tz3\_oral ! time to start exposure (h)  
 global Oral\_Dose3 ! mass (ug)  
 global delt\_oral ! duration of exposure (h) 13501000  
 global period\_oral ! time interval of each exposure (h)  
  
 global tz4\_oral ! time to start exposure (h)  
 global Oral\_Dose4 ! mass (ug)  
 global delt\_oral ! duration of exposure (h)  
 global period\_oral ! time interval of each exposure (h)

constant absorption\_fraction=0.56 !0.7  
 constant k\_absorption\_rate=0.31 !1

constant tz1\_oral= 0 ! time to start exposure (h)  
 constant Oral\_Dose1 = 1.5 ! mass (ug)  
 constant delt\_oral = 0.2 ! duration of exposure (h)  
 constant period\_oral = 24 ! time interval of each exposure (h)

constant tz2\_oral = 6 ! time to start exposure (h)  
 constant Oral\_Dose2 = 4.5 ! mass (ug)  
 constant delt\_oral = 0.2 ! duration of exposure (h)  
 constant period\_oral = 24 ! time interval of each exposure (h)

constant tz3\_oral = 12 ! time to start exposure (h)  
 constant Oral\_Dose3 = 1.5 ! mass (ug)  
 constant delt\_oral = 0.2 ! duration of exposure (h) 13501000  
 constant period\_oral = 24 ! time interval of each exposure (h)

constant tz4\_oral = 18 ! time to start exposure (h)  
 constant Oral\_Dose4 = 1.5 ! mass (ug)  
 constant delt\_oral = 0.2 ! duration of exposure (h)  
 constant period\_oral = 24 ! time interval of each exposure (h)

!oral\_dust

global tz1\_oral\_dust           ! time to start exposure (h)

global delt1\_oral\_dust       ! duration of exposure (h)

global period\_oral\_dust       ! time interval of each exposure (h)

global tz2\_oral\_dust           ! time to start exposure (h)

global delt2\_oral\_dust       ! duration of exposure (h)

global Concentration\_dust !ug/g

global amount\_dust       !g

constant tz1\_oral\_dust=0       ! time to start exposure (h)

constant delt1\_oral\_dust=8       ! duration of exposure (h)

constant tz2\_oral\_dust =8       ! time to start exposure (h)

constant delt2\_oral\_dust=16   ! duration of exposure (h)

constant period\_oral\_dust=24   ! time interval of each exposure (h)

constant Concentration\_dust=5 !ug/g

constant amount\_dust=0.01   !g

!oral\_soil

global tz1\_oral\_soil           ! time to start exposure (h)

global delt1\_oral\_soil       ! duration of exposure (h)

global period\_oral\_soil       ! time interval of each exposure (h)

global tz2\_oral\_soil       ! time to start exposure (h)

global delt2\_oral\_soil   ! duration of exposure (h)

global Concentration\_soil !ug/g

global amount\_soil       !g

constant tz1\_oral\_soil=0       ! time to start exposure (h)

constant delt1\_oral\_soil=8       ! duration of exposure (h)

constant tz2\_oral\_soil =8       ! time to start exposure (h)

constant delt2\_oral\_soil=16   ! duration of exposure (h)

```

constant period_oral_soil=24    ! time interval of each exposure (h)

constant Concentration_soil=5 !ug/g
constant amount_soil=10      !g

!object_to_mouth
global tz1_oral_object_to_mouth    ! time to start exposure (h)
global delt1_oral_object_to_mouth    ! duration of exposure (h)
global period_oral_object_to_mouth ! time interval of each exposure (h)
global tz2_oral_object_to_mouth    ! time to start exposure (h)
global delt2_oral_object_to_mouth    ! duration of exposure (h)

global release_object_to_mouth    !ug/cm2/h
global surface_object_to_mouth    !cm2
global mouthing_duration    !min/day

constant tz1_oral_object_to_mouth=0    ! time to start exposure (h)
constant delt1_oral_object_to_mouth=8    ! duration of exposure (h)
constant period_oral_object_to_mouth=24 ! time interval of each exposure (h)
constant tz2_oral_object_to_mouth=8    ! time to start exposure (h)
constant delt2_oral_object_to_mouth=16 ! duration of exposure (h)

constant release_object_to_mouth=0.5    !ug/cm2/h
constant surface_object_to_mouth=10    !cm2
constant mouthing_duration=200    !min/day

!SKIN exposure
global skin_permeability
global Kow
global MW
global MW_met1
global MW_met2
global MW_met3
global MW_met5

constant Kow=6300

```

constant MW=71.08

constant MW\_met1=87.08

constant MW\_met2=228

constant MW\_met3=250.27

constant MW\_met5=250.27

skin\_permeability=((0.038+(0.153\*Kow))\*(2.71828183^(-0.016\*MW)))/15

! Instant exposure

global period\_instant ! time interval of each exposure (h)

global tz1\_instant ! time to start exposure (h)

global tz2\_instant ! time to start exposure (h)

global tz3\_instant ! time to start exposure (h)

global tz4\_instant ! time to start exposure (h)

global c\_product\_1\_instant

global quantity\_product\_1\_instant

global c\_product\_2\_instant

global quantity\_product\_2\_instant

global c\_product\_3\_instant

global quantity\_product\_3\_instant

global c\_product\_4\_instant

global quantity\_product\_4\_instant

global exp\_area\_1\_instant

global exp\_area\_2\_instant

global exp\_area\_3\_instant

global exp\_area\_4\_instant

constant period\_instant = 24 ! time interval of each exposure (h)

constant tz1\_instant= 0 ! time to start exposure (h)

constant tz2\_instant= 5 ! time to start exposure (h)

constant tz3\_instant= 11 ! time to start exposure (h)

constant tz4\_instant= 16 ! time to start exposure (h)

constant c\_product\_1\_instant=1 !ug/ ml or g of product

constant quantity\_product\_1\_instant=5 !ml or g of product

constant c\_product\_2\_instant=2  
constant quantity\_product\_2\_instant=5  
constant c\_product\_3\_instant=3  
constant quantity\_product\_3\_instant=5  
constant c\_product\_4\_instant=10  
constant quantity\_product\_4\_instant=5  
constant exp\_area\_1\_instant=0.3  
constant exp\_area\_2\_instant=0.3  
constant exp\_area\_3\_instant=0.3  
constant exp\_area\_4\_instant=0.3

!Skin migration-constant rate release

global period\_migration           ! time interval of each exposure (h)  
global tz1\_migration           ! time to start exposure (h)  
global delt1\_migration           ! duration of exposure (h) end 5256000  
global tz2\_migration           ! time to start exposure (h)  
global delt2\_migration           ! duration of exposure (h) end 5256000  
global tz3\_migration           ! time to start exposure (h)  
global delt3\_migration           ! duration of exposure (h) end 5256000  
global tz4\_migration           ! time to start exposure (h)  
global delt4\_migration           ! duration of exposure (h)

global Ao\_1  
global F\_leach\_1  
global Ao\_2  
global F\_leach\_2  
global Ao\_3  
global F\_leach\_3  
global Ao\_4  
global F\_leach\_4

constant Ao\_1=0.3 !m2  
constant F\_leach\_1=0.03 !ug/m2/h  
constant Ao\_2=0.4 !m2  
constant F\_leach\_2=0 !ug/m2/h  
constant Ao\_3=0.3 !m2

constant F\_leach\_3=0 !ug/m2/h  
constant Ao\_4=0.1 !m2  
constant F\_leach\_4=0.03 !ug/m2/h

constant period\_migration = 24 ! time interval of each exposure (h)  
constant tz1\_migration= 0 ! time to start exposure (h)  
constant delt1\_migration = 5 ! duration of exposure (h) end 5256000  
constant tz2\_migration= 5 ! time to start exposure (h)  
constant delt2\_migration = 6 ! duration of exposure (h) end 5256000  
constant tz3\_migration= 11 ! time to start exposure (h)  
constant delt3\_migration = 5 ! duration of exposure (h) end 5256000  
constant tz4\_migration = 16 ! time to start exposure (h)  
constant delt4\_migration = 8 ! duration of exposure (h)

!Skin - Rubbing off

global total\_surface\_rubbing\_off\_1  
global rubbing\_surface\_rubbing\_off\_1  
global dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_1  
global transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_1  
global amount\_of\_product\_rubbing\_off\_1  
global weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_1

global total\_surface\_rubbing\_off\_2  
global rubbing\_surface\_rubbing\_off\_2  
global dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_2  
global transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_2  
global amount\_of\_product\_rubbing\_off\_2  
global weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_2

global total\_surface\_rubbing\_off\_3  
global rubbing\_surface\_rubbing\_off\_3  
global dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_3  
global transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_3  
global amount\_of\_product\_rubbing\_off\_3  
global weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_3

global total\_surface\_rubbing\_off\_4  
global rubbing\_surface\_rubbing\_off\_4  
global dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_4  
global transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_4  
global amount\_of\_product\_rubbing\_off\_4  
global weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_4

global period\_rubbing\_off

global tz1\_rubbing\_off ! time to start exposure (h)  
global tz2\_rubbing\_off ! time to start exposure (h)  
global tz3\_rubbing\_off ! time to start exposure (h)  
global tz4\_rubbing\_off ! time to start exposure (h)

global duration1\_rubbing\_off  
global duration2\_rubbing\_off  
global duration3\_rubbing\_off  
global duration4\_rubbing\_off

global exp\_area\_1\_rubbing\_off  
global exp\_area\_2\_rubbing\_off  
global exp\_area\_3\_rubbing\_off  
global exp\_area\_4\_rubbing\_off

constant total\_surface\_rubbing\_off\_1=2 !m2  
constant rubbing\_surface\_rubbing\_off\_1=0.5 !m2  
constant dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_1=0.2 !0 till 1  
constant transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_1=0.6 !m2/h  
constant amount\_of\_product\_rubbing\_off\_1= 100 !ug  
constant weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_1= 0.1!

constant total\_surface\_rubbing\_off\_2=2 !m2  
constant rubbing\_surface\_rubbing\_off\_2=0.5 !m2  
constant dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_2=0.2 !0 till 1  
constant transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_2=0.6 !m2/h



constant amount\_of\_product\_rubbing\_off\_2= 100 !ug  
constant weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_2= 0.1!

constant total\_surface\_rubbing\_off\_3=2 !m2  
constant rubbing\_surface\_rubbing\_off\_3=0.5 !m2  
constant dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_3=0.2 !0 till 1  
constant transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_3=0.6 !m2/h  
constant amount\_of\_product\_rubbing\_off\_3= 10 !ug  
constant weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_3= 0.1!

constant total\_surface\_rubbing\_off\_4=2 !m2  
constant rubbing\_surface\_rubbing\_off\_4=0.5 !m2  
constant dislogeable\_factor\_rubbing\_off\_4=0.2 !0 till 1  
constant transfer\_coefficient\_rubbing\_off\_4=0.6 !m2/h  
constant amount\_of\_product\_rubbing\_off\_4= 10 !ug  
constant weight\_fraction\_compound\_rubbing\_off\_4= 0.1!

constant exp\_area\_1\_rubbing\_off=10 ! cm2  
constant exp\_area\_2\_rubbing\_off=10  
constant exp\_area\_3\_rubbing\_off=10  
constant exp\_area\_4\_rubbing\_off=10

constant period\_rubbing\_off=24

constant tz1\_rubbing\_off= 0 ! time to start exposure (h)  
constant tz2\_rubbing\_off= 5 ! time to start exposure (h)  
constant tz3\_rubbing\_off= 11 ! time to start exposure (h)  
constant tz4\_rubbing\_off= 19 ! time to start exposure (h)

constant duration1\_rubbing\_off=0.1 !h  
constant duration2\_rubbing\_off=0.05 !h  
constant duration3\_rubbing\_off=0.2 !h  
constant duration4\_rubbing\_off=0.05 !h

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abia, W. A. *et al.* (2013) 'Bio-monitoring of mycotoxin exposure in Cameroon using a urinary multi-biomarker approach', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 62, pp. 927–934. doi: 10.1016/j.fct.2013.10.003.

Abraham, K. *et al.* (2005) 'Elevated internal exposure of children in simulated acute inhalation of volatile organic compounds: Effects of concentration and duration', *Archives of Toxicology*, 79(2), pp. 63–73. doi: 10.1007/s00204-004-0599-3.

Ali, N., Blazkewicz, M. and Degen, G. H. (2016) 'Assessment of deoxynivalenol exposure among Bangladeshi and German adults by a biomarker-based approach', *Toxicology Letters*. Elsevier Ireland Ltd, 258, pp. 20–28. doi: 10.1016/j.toxlet.2016.06.006.

Andersen, M. and Frederick, C. (1995) '1995 - andersen.pdf', pp. 181–187.

Arpad Ambrus, Maria Szeitzne-Szabo, Andrea Zentai, Judit Sali, I. J. S. (2010) 'review To cite this version : r P Fo r R w On ly', *Food Additives and Contaminants*, 25(1), 41–50., 25(1), pp. 41–50.

Azcona-Olivera, J. I. *et al.* (1995) 'Induction of cytokine mRNAs in mice after oral exposure to the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol): Relationship to toxin distribution and protein synthesis inhibition', *Toxicology and Applied Pharmacology*, pp. 109–120. doi: 10.1006/taap.1995.1132.

Battacone, G., Nudda, A. and Pulina, G. (2010) 'Effects of Ochratoxin A on Livestock Production', *Toxins*, 2(7), pp. 1796–1824. doi: 10.3390/toxins2071796.

Beaudouin, R., Micallef, S. and Brochot, C. (2010) 'A stochastic whole-body physiologically based pharmacokinetic model to assess the impact of inter-individual variability on tissue dosimetry over the human lifespan', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Elsevier Inc., 57(1), pp. 103–116. doi: 10.1016/j.yrtph.2010.01.005.

Bernhoft, A. *et al.* (2013) *Risk assessment of mycotoxins in cereal grain in Risk assessment of mycotoxins in cereal grain in Norway*, *The Norwegian Scientific Committee for Food Safety*.

Berthiller, F., Dall'Asta, C., *et al.* (2005) 'Masked mycotoxins: Determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), pp. 3421–3425. doi: 10.1021/jf047798g.

Berthiller, F., Schuhmacher, R., *et al.* (2005) 'Rapid simultaneous determination of major type A- and B-trichothecenes as well as zearalenone in maize by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry', *Journal of Chromatography A*, 1062(2), pp. 209–216. doi: 10.1016/j.chroma.2004.11.011.

Boonen, J. *et al.* (2012) 'Human skin penetration of selected model mycotoxins', *Toxicology*. Elsevier Ireland Ltd, 301(1–3), pp. 21–32. doi: 10.1016/j.tox.2012.06.012.

Brera, C. *et al.* (2017) 'Experimental study of deoxynivalenol biomarkers in urine', *EFSA Supporting Publications*, 12(6). doi: 10.2903/sp.efsa.2015.en-818.

Bryden, W. L. (2007) 'Mycotoxins in the food chain: Human health implications', *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(SUPPL.1), pp. 95–101. doi: 10.6133/apjcn.2007.16.s1.18.

- By, K. J. V. D. M. and Fourie, L. (1965) 'Fourie 7083 1304. Mycotoxins. Part II? The Constitution', pp. 7083–7088.
- Cano-Sancho, G. *et al.* (2011) 'Quantitative dietary exposure assessment of the catalonian population (spain) to the mycotoxin deoxynivalenol', *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 28(8), pp. 1098–1109. doi: 10.1080/19440049.2011.576445.
- Capcarova, M. *et al.* (2016) 'Environment contamination by mycotoxins and their occurrence in food and feed: Physiological aspects and economical approach', *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 51(4), pp. 236–244. doi: 10.1080/03601234.2015.1120617.
- Capriotti, A. L. *et al.* (2012) 'Multiclass mycotoxin analysis in food, environmental and biological matrices with chromatography/mass spectrometry', *Mass Spectrometry Reviews*. *Mass Spectrom Rev*, pp. 466–503. doi: 10.1002/mas.20351.
- Castegnaro, M. *et al.* (2006) 'Balkan endemic nephropathy: Role of ochratoxins A through biomarkers', *Molecular Nutrition and Food Research*, 50(6), pp. 519–529. doi: 10.1002/mnfr.200500182.
- Choi, J. *et al.* (2017) 'Review of the state of the art of human biomonitoring for chemical substances and its application to human exposure assessment for food safety', *EFSA Supporting Publications*, 12(2). doi: 10.2903/sp.efsa.2015.en-724.
- Christensen, C.M. and Beuchat, L.R., 1987. *Food and beverage mycology*. 2nd ed., Van Nostrand Reinhold, New York., pp 211-232.
- Cook, W. O., Richard, J. L., Osweiler, G. D., & Trampel, D. W. (1986). Clinical and pathologic changes in acute bovine aflatoxicosis: rumen motility and tissue and fluid concentrations of aflatoxins B1 and M1. *American journal of veterinary research*, 47(8), 1817–1825.
- Coppock, R. W. and Dziwenka, M. M. (2019) 'Mycotoxins', in *Biomarkers in Toxicology*. Elsevier, pp. 615–626. doi: 10.1016/B978-0-12-814655-2.00036-0.
- Council for Agricultural Science and Technology (CAST), *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*. Ames, IA, Task Force Report 139, 2003.
- Council for Agricultural Science and Technology (CAST 2003). *Mycotoxins: Risk in plant, animal and human systems*. Ames, Iowa, USA: Council for Agricultural Science and Technology. Task Force Report No. 139.
- Curtui, V. *et al.* (2005) 'Deoxynivalenol in Lebensmitteln', *Mycotoxin Research*, 21(2), pp. 83–88. doi: 10.1007/BF02954424.
- Dänicke, S. *et al.* (2007) 'On the transfer of the Fusarium toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) from the sow to the full-term piglet during the last third of gestation', *Food and Chemical Toxicology*, 45(9), pp. 1565–1574. doi: 10.1016/j.fct.2007.02.016.
- Dänicke, S., Valenta, H. and Döll, S. (2004) 'On the toxicokinetics and the metabolism of deoxynivalenol (DON) in the pig', *Archives of Animal Nutrition*, 58(2), pp. 169–180. doi: 10.1080/00039420410001667548.
- Dvořáčková, I. and Píčová, V. (1986) 'Pulmonary interstitial fibrosis with evidence of aflatoxin bin lung tissue', *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 18(1), pp. 153–157. doi:

10.1080/15287398609530856.

Eaton D.L., Groopman J.D., *The Toxicology of Aflatoxins, Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*, Academic Press, New York, 1994, pp 383-426.

Edginton, A. N. and Ritter, L. (2009) 'Predicting plasma concentrations of bisphenol A in children younger than 2 years of age after typical feeding schedules, using a physiologically based toxicokinetic model', *Environmental Health Perspectives*, 117(4), pp. 645–652. doi: 10.1289/ehp.0800073.

EFSA (2013) 'Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure', *EFSA Journal*, 11(10). doi: 10.2903/j.efsa.2013.3379.

EFSA (2017) 'Risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed', *EFSA Journal*, 15(9). doi: 10.2903/j.efsa.2017.4718.

Eissing, T. *et al.* (2011) 'A computational systems biology software platform for multiscale modeling and simulation: Integrating whole-body physiology, disease biology, and molecular reaction networks', *Frontiers in Physiology*, FEB(February), pp. 1–10. doi: 10.3389/fphys.2011.00004.

Eriksen, G. S. and Pettersson, H. (2004) 'Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed', *Animal Feed Science and Technology*, 114(1–4), pp. 205–239. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2003.08.008.

Fæste, C. K. *et al.* (2018) 'Prediction of deoxynivalenol toxicokinetics in humans by in vitro-to-in vivo extrapolation and allometric scaling of in vivo animal data', *Archives of Toxicology*. Springer Berlin Heidelberg, 92(7), pp. 2195–2216. doi: 10.1007/s00204-018-2220-1.

FAO, Food Agriculture Organization of United Nations, 2008. Safety Evaluation of Certain Food Additives. In: Food Addit Series, vol.59. WHO Press, Geneva.

Flynn, T. J. *et al.* (1997) 'Assessment of the embryotoxic potential of the total hydrolysis product of fumonisin B1 using cultured organogenesis-staged rat embryos', *Food and Chemical Toxicology*, 35(12), pp. 1135–1141. doi: 10.1016/S0278-6915(97)85466-X.

Fodor, J. *et al.* (2006) 'Distribution and elimination of fumonisin analogues in weaned piglets after oral administration of *Fusarium verticillioides* fungal culture', *Food Additives and Contaminants*, 23(5), pp. 492–501. doi: 10.1080/02652030500544964.

Fodor, J. *et al.* (2008) 'Absorption, distribution and elimination of fumonisin B1 metabolites in weaned piglets', *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 25(1), pp. 88–96. doi: 10.1080/02652030701546180.

Föllmann, W. *et al.* (2016) 'Biomonitoring of Mycotoxins in Urine: Pilot Study in Mill Workers', *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*. Taylor & Francis, 79(22–23), pp. 1015–1025. doi: 10.1080/15287394.2016.1219540.

Frank HK. Food contamination by ochratoxin A in Germany. *IARC Sci Publ.* 1991;(115):77-81. PMID: 1840299.

FREEMAN, G. G. (1955) 'Further biological properties of trichothecin, an antifungal substance from *Trichothecium roseum* Link, and its derivatives.', *Journal of general microbiology*, 12(2), pp. 213–221. doi: 10.1099/00221287-12-2-213.

- Galtier, P., Alvinerie, M. and Charpentreau, J. L. (1981) 'The pharmacokinetic profiles of ochratoxin A in pigs, rabbits and chickens', *Food and Cosmetics Toxicology*, 19(C), pp. 735–738. doi: 10.1016/0015-6264(81)90528-9.
- Garcia, D. *et al.* (2009) 'Predicting mycotoxins in foods: A review', *Food Microbiology*, 26(8), pp. 757–769. doi: 10.1016/j.fm.2009.05.014.
- Gareis M and Scheuer R. (2000). Ochratoxin A in meat and meat products. *Archiv Fur Lebensmittelhygiene*, 51(4–5), 102–104.
- Gelderblom, W. C. A. *et al.* (1988) 'Fumonisin - novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*', *Applied and Environmental Microbiology*, 54(7), pp. 1806–1811. doi: 10.1128/aem.54.7.1806-1811.1988.
- Gelineau-Van Waes, J. *et al.* (2005) 'Maternal fumonisin exposure and risk for neural tube defects: Mechanisms in an in vivo mouse model', *Birth Defects Research Part A - Clinical and Molecular Teratology*, 73(7), pp. 487–497. doi: 10.1002/bdra.20148.
- Georgopoulos, P. G. *et al.* (2009) 'Reconstructing population exposures to environmental chemicals from biomarkers: Challenges and opportunities', *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 19(2), pp. 149–171. doi: 10.1038/jes.2008.9.
- Georgopoulos, P. G. and Liou, P. J. (2006) 'From a theoretical framework of human exposure and dose assessment to computational system implementation: The Modeling ENvironment for TOTal Risk Studies (MENTOR)', *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews*, 9(6), pp. 457–483. doi: 10.1080/10937400600755929.
- Gerding, J. *et al.* (2015) 'A comparative study of the human urinary mycotoxin excretion patterns in Bangladesh, Germany, and Haiti using a rapid and sensitive LC-MS/MS approach', *Mycotoxin Research*, 31(3), pp. 127–136. doi: 10.1007/s12550-015-0223-9.
- Gerding, J., Cramer, B. and Humpf, H. U. (2014) 'Determination of mycotoxin exposure in Germany using an LC-MS/MS multibiomarker approach', *Molecular Nutrition and Food Research*, 58(12), pp. 2358–2368. doi: 10.1002/mnfr.201400406.
- Goyarts, T. *et al.* (2007) 'On the transfer of the *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) from sows to their fetuses during days 35-70 of gestation', *Toxicology Letters*, 171(1–2), pp. 38–49. doi: 10.1016/j.toxlet.2007.04.003.
- Goyarts, T. and Dänicke, S. (2006) 'Bioavailability of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) from naturally contaminated wheat for the pig', *Toxicology Letters*, 163(3), pp. 171–182. doi: 10.1016/j.toxlet.2005.10.007.
- Gratz, S. W. *et al.* (2014) 'Annual variation of dietary deoxynivalenol exposure during years of different *Fusarium* prevalence: a pilot biomonitoring study', *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 31(9), pp. 1579–1585. doi: 10.1080/19440049.2014.937772.
- Gratz, S. W., Duncan, G. and Richardson, A. J. (2013) 'The human fecal microbiota metabolizes deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside and may be responsible for urinary deepoxy-deoxynivalenol', *Applied and Environmental Microbiology*, 79(6), pp. 1821–1825. doi: 10.1128/AEM.02987-12.
- Grove, J. F. (1993) 'Macrocyclic Trichothecenes', *Natural Product Reports*, 10, pp. 429–448. doi: 10.1039/NP9931000429.

G.S. Eriksen, J. Alexander, Fusarium Toxins in Cereals - A Risk Assessment, Nordic Council of Ministers, TemaNord 502, Copenhagen, Denmark, 1998.

Hepworth, S. J. *et al.* (2012) 'Deoxynivalenol exposure assessment in a cohort of pregnant women from Bradford, UK', *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 29(2), pp. 269–276. doi: 10.1080/19440049.2010.551301.

Heyndrickx, E. *et al.* (2015) 'Human biomonitoring of multiple mycotoxins in the Belgian population: Results of the BIOMYCO study', *Environment International*. Elsevier Ltd, 84, pp. 82–89. doi: 10.1016/j.envint.2015.06.011.

Huybrechts, B. *et al.* (2015) 'Fast and sensitive LC–MS/MS method measuring human mycotoxin exposure using biomarkers in urine', *Archives of Toxicology*, 89(11), pp. 1993–2005. doi: 10.1007/s00204-014-1358-8.

International Agency for Research on Cancer (IARC), Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, IARC Press, vol. 56, 1993.

International Agency for Research on Cancer (IARC) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene, Lyon, IARC Press, vol. 82, 2002.

Jiang, Y. *et al.* (2008) 'Aflatoxin-related immune dysfunction in health and in human immunodeficiency virus disease', *Clinical and Developmental Immunology*, 2008. doi: 10.1155/2008/790309.

Johnson, M. E., Blankschtein, D. and Langer, R. (1997) 'Evaluation of Solute Permeation through the Stratum Corneum: Lateral Bilayer Diffusion as the Primary Transport Mechanism', *Journal of Pharmaceutical Sciences*, pp. 1162–1172.

Joint Expert Committee on Food Additives 47 (JECFA) Fumonisin, 47th Report of the Joint Expert Committee on Food Additives. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2001.

Jongeneelen, F. J. and Berge, W. F. T. (2011) 'A generic, cross-chemical predictive PBTK model with multiple entry routes running as application in MS Excel; design of the model and comparison of predictions with experimental results', *Annals of Occupational Hygiene*, 55(8), pp. 841–864. doi: 10.1093/annhyg/mer075.

Jubert, C. *et al.* (2009) 'Effects of chlorophyll and chlorophyllin on low-dose aflatoxin B 1 pharmacokinetics in human volunteers', *Cancer Prevention Research*, 2(12), pp. 1015–1022. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0099.

Judson, R. S. *et al.* (2011) 'Estimating toxicity-related biological pathway altering doses for high-throughput chemical risk assessment', *Chemical Research in Toxicology*, 24(4), pp. 451–462. doi: 10.1021/tx100428e.

Kabak, B. (2009). Prevention and management of mycotoxins in food and feed. In M. Rai & A. Varma (Eds.), *Mycotoxins in food, feed and bioweapons*. Berlin, Heidelberg: Springer.

Karlovsky, P. (1999) 'Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production', *Natural Toxins*, 7(1), pp. 1–23. doi: 10.1002/(SICI)1522-7189(199902)7:1<1::AID-NT37>3.0.CO;2-9.

- Karlovsky, P. (2011) 'Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(3), pp. 491–504. doi: 10.1007/s00253-011-3401-5.
- Köppen, R. *et al.* (2010) 'Determination of mycotoxins in foods: Current state of analytical methods and limitations', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(6), pp. 1595–1612. doi: 10.1007/s00253-010-2535-1.
- Krauss, M. *et al.* (2012) 'Integrating Cellular Metabolism into a Multiscale Whole-Body Model', *PLoS Computational Biology*, 8(10). doi: 10.1371/journal.pcbi.1002750.
- KRISHNAN, K. & ANDERSEN, M. 2001. Principles and methods of toxicology. Taylor & Francis, 4<sup>ed.</sup>, London.
- Kushiro, M. (2008) 'Effects of milling and cooking processes on the deoxynivalenol content in wheat', *International Journal of Molecular Sciences*, 9(11), pp. 2127–2145. doi: 10.3390/ijms9112127.
- Lake, B. G. *et al.* (1987) 'Studies on the metabolism of deoxynivalenol in the rat', *Food and Chemical Toxicology*, 25(8), pp. 589–592. doi: 10.1016/0278-6915(87)90019-6.
- Lancova, K. *et al.* (2008) 'Transfer of Fusarium mycotoxins and "masked" deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barley through malt to beer', *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 25(6), pp. 732–744. doi: 10.1080/02652030701779625.
- Leung, H. (1991) 'Development and utilization of physiologically based pharmacokinetic models for toxicological applications', *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 32, pp. 247–267. doi: 10.1080/15287399109531480.
- Lewis, L. *et al.* (2005) 'Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya', *Environmental Health Perspectives*, 113(12), pp. 1763–1767. doi: 10.1289/ehp.7998.
- Lusky K, Tesch D, Gobel R. (1993). Influence of the mycotoxin ochratoxin-A on animal health and formation of residues in pigs and different types of sausages derived from these animals. *Archiv Fur Lebensmittelhygiene*, 44(6), 131–134.
- Magnoli, C. *et al.* (2006) 'Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in commercial corn kernels in Argentina', *Mycopathologia*, 161(1), pp. 53–58. doi: 10.1007/s11046-005-0237-5.
- Mahfoud, R. *et al.* (2002) 'pH-dependent interaction of fumonisin B1 with cholesterol: Physicochemical and molecular modeling studies at the air-water interface', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(2), pp. 327–331. doi: 10.1021/jf010874k.
- Maize, F. *et al.* (2018) 'Fumonisin Disrupt Sphingolipid Metabolism , Folate Transport , and Neural Tube Development in Embryo Culture and In Vivo : A Potential Risk Factor for Human Neural Tube Defects among Populations Consuming', (February), pp. 711–716.
- Marin, S. *et al.* (2013) 'Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 60, pp. 218–237. doi: 10.1016/j.fct.2013.07.047.
- Marín, S. *et al.* (2018) 'The role of mycotoxins in the human exposome: Application of mycotoxin biomarkers in exposome-health studies', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 121, pp. 504–518. doi: 10.1016/j.fct.2018.09.039.

- Martins, C. *et al.* (2019) 'Exposure assessment of Portuguese population to multiple mycotoxins: The human biomonitoring approach', *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Elsevier, 222(6), pp. 913–925. doi: 10.1016/j.ijheh.2019.06.010.
- Matrella, R. *et al.* (2006) 'Ochratoxin A determination in paired kidneys and muscle samples from swines slaughtered in southern Italy', *Food Control*, 17(2), pp. 114–117. doi: 10.1016/j.foodcont.2004.08.008.
- McNally, K. *et al.* (2014) 'PopGen: A virtual human population generator', *Toxicology*. Elsevier Ireland Ltd, 315(1), pp. 70–85. doi: 10.1016/j.tox.2013.07.009.
- Medina, A. *et al.* (2017) 'Climate change, food security and mycotoxins: Do we know enough?', *Fungal Biology Reviews*. Elsevier Ltd, 31(3), pp. 143–154. doi: 10.1016/j.fbr.2017.04.002.
- Meky, F. A. *et al.* (2003) 'Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol', *Food and Chemical Toxicology*, 41(2), pp. 265–273. doi: 10.1016/S0278-6915(02)00228-4.
- Mengelers, M. *et al.* (2019) 'Biomonitoring of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside in human volunteers: Renal excretion profiles', *Toxins*, 11(8), pp. 1–16. doi: 10.3390/toxins11080466.
- Meyer, K. *et al.* (2003) 'Residue formation of fumonisin B1 in porcine tissues', *Food Additives and Contaminants*, 20(7), pp. 639–647. doi: 10.1080/0265203031000119043.
- Mitragotri, S. *et al.* (2011) 'Mathematical models of skin permeability: An overview', *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier B.V., 418(1), pp. 115–129. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.02.023.
- Mukherjee, D. *et al.* (2014) 'Physiologically-based toxicokinetic modeling of zearalenone and its metabolites: Application to the Jersey girl study', *PLoS ONE*, 9(12), pp. 1–30. doi: 10.1371/journal.pone.0113632.
- Muri, S. D. *et al.* (2009) 'Comparison of human health risks resulting from exposure to fungicides and mycotoxins via food', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 47(12), pp. 2963–2974. doi: 10.1016/j.fct.2009.03.035.
- Murphy, P. A. *et al.* (2006) 'Food mycotoxins: An update', *Journal of Food Science*, 71(5), pp. 51–65. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00052.x.
- Nagl, V. *et al.* (2012) 'Metabolism of the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-glucoside in rats', *Toxicology Letters*. Elsevier Ireland Ltd, 213(3), pp. 367–373. doi: 10.1016/j.toxlet.2012.07.024.
- Nitsche, J. M., Wang, T.-F. and Kasting, G. B. (2006) 'A Two-Phase Analysis of Solute Partitioning into the Stratum Corneum', *Journal of pharmaceutical sciences*, pp. 649–666. doi: 10.1002/jps.
- Norred, W. P., Plattner, R. D. and Chamberlain, W. (1993) 'Distribution and Excretion of [<sup>14</sup>C] Fumonisin B<sub>1</sub> in Male Sprague-Dawley Rats', 346, pp. 341–346.
- Osselaere, A. *et al.* (2013) 'Toxicokinetic study and absolute oral bioavailability of deoxynivalenol, T-2 toxin and zearalenone in broiler chickens', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 51(1), pp. 350–355. doi: 10.1016/j.fct.2012.10.006.



- Oswald, I. P. *et al.* (2003) 'Mycotoxin Fumonisin B1 Increases Intestinal Colonization by Pathogenic Escherichia coli in Pigs', *Applied and Environmental Microbiology*, 69(10), pp. 5870–5874. doi: 10.1128/AEM.69.10.5870-5874.2003.
- Osweiler G. D. 1999, Mycotoxins. In Diseases of Swine (8th edn), Strew B. E., D'Allaire S., Mengeling W.L. Taylor D.J. (eds), Iowa State University Press/ Ames, Iowa U.S.A pp 731-742.
- Palliyaguru, D. L. and Wu, F. (2013) 'Global geographical overlap of aflatoxin and hepatitis C: Controlling risk factors for liver cancer worldwide', *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 30(3), pp. 534–540. doi: 10.1080/19440049.2012.751630.
- Pantaya, D. *et al.* (2016) 'Bioavailability of aflatoxin B1 and ochratoxin A, but not fumonisin B1 or deoxynivalenol, is increased in starch-induced low ruminal pH in nonlactating dairy cows', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 99(12), pp. 9759–9767. doi: 10.3168/jds.2016-11421.
- Papadaki, K. C., Karakitsios, S. P. and Sarigiannis, D. A. (2017) 'Modeling of adipose/blood partition coefficient for environmental chemicals', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 110, pp. 274–285. doi: 10.1016/j.fct.2017.10.044.
- Partanen, H. A. *et al.* (2009) 'Aflatoxin B1 transfer and metabolism in human placenta', *Toxicological Sciences*, 113(1), pp. 216–225. doi: 10.1093/toxsci/kfp257.
- Payros, D. *et al.* (2016) 'Toxicology of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms', *Archives of Toxicology*. Springer Berlin Heidelberg, 90(12), pp. 2931–2957. doi: 10.1007/s00204-016-1826-4.
- Pestka, J. J. (2010) 'Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance', *Archives of Toxicology*, 84(9), pp. 663–679. doi: 10.1007/s00204-010-0579-8.
- Pestka, J. J. and Amuzie, C. J. (2008) 'Tissue distribution and proinflammatory cytokine gene expression following acute oral exposure to deoxynivalenol: Comparison of weanling and adult mice', *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), pp. 2826–2831. doi: 10.1016/j.fct.2008.05.016.
- Peyret, T. and Krishnan, K. (2011) 'QSARs for PBPK modelling of environmental contaminants', *SAR and QSAR in Environmental Research*, 22(1–2), pp. 129–169. doi: 10.1080/1062936X.2010.548351.
- Prelusky, D. B. *et al.* (1986) 'Excretion profiles of the mycotoxin deoxynivalenol, following oral and intravenous administration to sheep', *Toxicological Sciences*, 6(2), pp. 356–363. doi: 10.1093/toxsci/6.2.356.
- Prelusky, D. B. *et al.* (1988) 'Pharmacokinetic Fate of 14 C-labeled Deoxynivalenol in Swine 1 the recovery of DON and metabolites follow- a 5-day period . Data indicated that DON was', 286, pp. 276–286.
- Prelusky, D. B., Savard, M. E. and Trenholm, H. L. (1995) 'Pilot study on the plasma pharmacokinetics of fumonisin B1 in cows following a single dose by oral gavage or intravenous administration', *Natural Toxins*, 3(5), pp. 389–394. doi: 10.1002/nt.2620030511.
- Prelusky, D. B., Veira, D. M. and Trenholm, H. L. (1985) 'Plasma pharmacokinetics of the mycotoxin deoxynivalenol following oral and intravenous administration to sheep', *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 20(6), pp. 603–624. doi: 10.1080/03601238509372499.

Ran, R. *et al.* (2013) 'Determination of deoxynivalenol (DON) and its derivatives: Current status of analytical methods', *Food Control*. Elsevier Ltd, 34(1), pp. 138–148. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.04.026.

Richard, J. L. (2007) 'Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-An overview', *International Journal of Food Microbiology*, 119(1–2), pp. 3–10. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.019.

Ringot, D. *et al.* (2006) 'Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update', *Chemico-Biological Interactions*, 159(1), pp. 18–46. doi: 10.1016/j.cbi.2005.10.106.

Rotter, B. A. *et al.* (1991) 'Evaluation of potential interactions involving trichothecene mycotoxins using the chick embryotoxicity bioassay', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 21(4), pp. 621–624. doi: 10.1007/BF01183886.

Rowland, M. (1986) 'Species scaling', 29, pp. 49–68.

Rupp H.S, Determination of deoxynivalenol in whole wheat flour and wheat bran, *J. AOAC Int.*, 2002, 85, pp 1355-1359.

Sargeant K., J. O'Kelly, R.B.A. Carnaghan, R. Allcroft, The assay of a toxic principle in certain groundnut meals, *Veterinary Record*, 73, 1961, pp 1219-1222.

Sarigiannis, Dimosthenis; Karakitsios, S. (2011) 'ISEE 22nd Annual Conference , Seoul , Korea , States : Recent Developments Choice of Temperature Thresholds for the French Heat Warning System', *Epidemiology*, 22(1), p. 172.

Sarigiannis DA, Karakitsios SP. 2012. A dynamic physiology based pharmacokinetic model for assessing lifelong internal dose. In: *AICHe 2012*. Pittsburgh, PA.

Sarigiannis, D, Karakitsios, S, Gotti, A, Loizou, G, Cherrie, J, Smolders, R, De Brouwere, K, Galea, K, Jones, K, Handakas, E, Papadaki, K & Sleenwenhoek, A 2014, *Integra: From global scale contamination to tissue dose*. in *Proceedings - 7th International Congress on Environmental Modelling and Software: Bold Visions for Environmental Modeling, iEMSs 2014*. vol. 2, International Environmental Modelling and Software Society, pp. 1001-1008, 7th International Congress on Environmental Modelling and Software, San Diego, United Kingdom, 15/06/14.

Šarkanj, B. *et al.* (2013) 'Urinary analysis reveals high deoxynivalenol exposure in pregnant women from Croatia', *Food and Chemical Toxicology*, 62, pp. 231–237. doi: 10.1016/j.fct.2013.08.043.

Schelstraete, W., Devreese, M. and Croubels, S. (2020) 'Comparative toxicokinetics of Fusarium mycotoxins in pigs and humans', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 137, p. 111140. doi: 10.1016/j.fct.2020.111140.

Scudamore, K. A. and Patel, S. (2009) 'Fusarium mycotoxins in milling streams from the commercial milling of maize imported to the UK, and relevance to current legislation', *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 26(5), pp. 744–753. doi: 10.1080/02652030802688394.

Shephard, G. S. *et al.* (1992) 'Fate of a single dose of the 14C-labelled mycotoxin, fumonisin B1, in rats', *Toxicol*, 30(7), pp. 768–770. doi: 10.1016/0041-0101(92)90011-S.

Shephard, G. S. *et al.* (2013) 'Multiple mycotoxin exposure determined by urinary biomarkers

in rural subsistence farmers in the former Transkei, South Africa', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 62, pp. 217–225. doi: 10.1016/j.fct.2013.08.040.

Sirot, V., Fremy, J. M. and Leblanc, J. C. (2013) 'Dietary exposure to mycotoxins and health risk assessment in the second French total diet study', *Food and Chemical Toxicology*, 52, pp. 1–11. doi: 10.1016/j.fct.2012.10.036.

Sobrova, P. *et al.* (2010) 'Deoxynivalenol and its toxicity', *Interdisciplinary Toxicology*, 3(3), pp. 94–99. doi: 10.2478/v10102-010-0019-x.

Solfrizzo, M., Gambacorta, L. and Visconti, A. (2014) 'Assessment of multi-mycotoxin exposure in southern Italy by urinary multi-biomarker determination', *Toxins*, 6(2), pp. 523–538. doi: 10.3390/toxins6020523.

Steyn, P. S. (1995) 'Mycotoxins, general view, chemistry and structure', *Toxicology Letters*, 82–83(C), pp. 843–851. doi: 10.1016/0378-4274(95)03525-7.

Sun, G. *et al.* (2007) 'Fumonisin B1 contamination of home-grown corn in high-risk areas for esophageal and liver cancer in China', *Food Additives and Contaminants*, 24(2), pp. 181–185. doi: 10.1080/02652030601013471.

Tajreja, P. S. *et al.* (2001) 'Visualization of the lipid barrier and measurement of lipid pathlength in human stratum corneum', *AAPS PharmSci*, 3(2). doi: 10.1208/ps030213.

Touitou, E. (2002) 'Drug delivery across the skin', *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2(7), pp. 723–733. doi: 10.1517/14712598.2.7.723.

Turner, P. C. *et al.* (2008) 'Urinary deoxynivalenol is correlated with cereal intake in individuals from the United Kingdom', *Environmental Health Perspectives*, 116(1), pp. 21–25. doi: 10.1289/ehp.10663.

Turner, P. C., White, K. L. M., *et al.* (2010) 'A comparison of deoxynivalenol intake and urinary deoxynivalenol in UK adults', *Biomarkers*, 15(6), pp. 553–562. doi: 10.3109/1354750X.2010.495787.

Turner, P. C., Hopton, R. P., *et al.* (2010) 'Determinants of urinary deoxynivalenol and de-epoxy deoxynivalenol in male farmers from normandy, France', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), pp. 5206–5212. doi: 10.1021/jf100892v.

Turner, P. C. *et al.* (2011) 'Assessment of deoxynivalenol metabolite profiles in UK adults', *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 49(1), pp. 132–135. doi: 10.1016/j.fct.2010.10.007.

Turner, P. C. *et al.* (2012) 'A pilot survey for Fusarium mycotoxin biomarkers in women from Golestan, Northern Iran', *World Mycotoxin Journal*, 5(2), pp. 195–199. doi: 10.3920/WMJ2011.1337.

Turner, Paul C. *et al.* (2012) 'The role of biomarkers in evaluating human health concerns from fungal contaminants in food', *Nutrition Research Reviews*, 25(1), pp. 162–179. doi: 10.1017/S095442241200008X.

Valcke, M. and Krishnan, K. (2011) 'Evaluation of the impact of the exposure route on the human kinetic adjustment factor', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Elsevier Inc., 59(2), pp. 258–269. doi: 10.1016/j.yrtph.2010.10.008.

- Verner, M. A. *et al.* (2008) 'Physiologically based pharmacokinetic modeling of persistent organic pollutants for lifetime exposure assessment: A new tool in breast cancer epidemiologic studies', *Environmental Health Perspectives*, 116(7), pp. 886–892. doi: 10.1289/ehp.10917.
- Vidal, A. *et al.* (2018) 'Humans significantly metabolize and excrete the mycotoxin deoxynivalenol and its modified form deoxynivalenol-3-glucoside within 24 hours', *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1–11. doi: 10.1038/s41598-018-23526-9.
- Vudathala, D. K. *et al.* (1994) 'Pharmacokinetic fate and pathological effects of <sup>14</sup>C-fumonisin B1 in laying hens', *Natural Toxins*, 2(2), pp. 81–88. doi: 10.1002/nt.2620020206.
- Wagner, C. *et al.* (2015) 'Application of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling to support dose selection: Report of an FDA public workshop on PBPK', *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 4(4), pp. 226–230. doi: 10.1002/psp4.33.
- Wallin, S. *et al.* (2013) 'Biomonitoring study of deoxynivalenol exposure and association with typical cereal consumption in Swedish adults', *World Mycotoxin Journal*, 6(4), pp. 439–448. doi: 10.3920/WMJ2013.1581.
- Wallin, S. *et al.* (2015) 'Biomonitoring of concurrent mycotoxin exposure among adults in Sweden through urinary multi-biomarker analysis', *Food and Chemical Toxicology*, 83, pp. 133–139. doi: 10.1016/j.fct.2015.05.023.
- Wan, D. *et al.* (2014) 'Metabolism, distribution, and excretion of deoxynivalenol with combined techniques of radiotracing, high-performance liquid chromatography ion trap time-of-flight mass spectrometry, and online radiometric detection', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), pp. 288–296. doi: 10.1021/jf4047946.
- Wan Norhasima, W. M. *et al.* (2009) 'The health and toxic adverse effects of Fusarium fungal mycotoxin, fumonisins, on human population', *American Journal of Infectious Diseases*, 5(4), pp. 280–288. doi: 10.3844/ajidsp.2009.273.281.
- Wang, T.-F. (2006) 'A Multiphase Microscopic Diffusion Model for Stratum Corneum Permeability. I. Formulation, Solution, and Illustrative Results for Representative Compounds', *Journal of pharmaceutical sciences*, pp. 620–648. doi: 10.1002/jps.
- Warth, B. *et al.* (2012) 'Assessment of human deoxynivalenol exposure using an LC-MS/MS based biomarker method', *Toxicology Letters*. Elsevier Ireland Ltd, 211(1), pp. 85–90. doi: 10.1016/j.toxlet.2012.02.023.
- Warth, B. *et al.* (2013) 'New insights into the human metabolism of the Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone', *Toxicology Letters*. Elsevier Ireland Ltd, 220(1), pp. 88–94. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.04.012.
- Warth, B. *et al.* (2016) 'Biomonitoring of Mycotoxins in Human Breast Milk: Current State and Future Perspectives', *Chemical Research in Toxicology*, 29(7), pp. 1087–1097. doi: 10.1021/acs.chemrestox.6b00125.
- Waśkiewicz, A., Beszterda, M. and Goliński, P. (2012) 'Occurrence of fumonisins in food - An interdisciplinary approach to the problem', *Food Control*, 26(2), pp. 491–499. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.02.007.
- Van der Merwe K.J., Steyn P.S., Fourie L., Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxin A, B and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh., *Journal of the Chemical Society*, 5,

1965, pp 7083-7088. (να διορθώσω αυτό που θα βγάλει το mendeley)

Van Der Westhuizen, L. *et al.* (2003) 'Fumonisin contamination and Fusarium incidence in corn from Santa Catarina, Brazil', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), pp. 5574–5578. doi: 10.1021/jf034298z.

Willmann, S. *et al.* (2003) 'PK-Sim®: A physiologically based pharmacokinetic "whole-body" model', *Drug Discovery Today: BIOSILICO*, 1(4), pp. 121–124. doi: 10.1016/s1478-5382(03)02342-4.

Wu, Q.-H. *et al.* (2014) 'Deoxynivalenol: Metabolism and Regional Differences in Human Exposure', *Military Medical Science Letters*. *Military Medical Science Letters*, 83(3), pp. 114–119. doi: 10.31482/mmsl.2014.021.

Yang, Y., Xu, X. and Georgopoulos, P. G. (2010) 'A Bayesian population PBPK model for multiroute chloroform exposure', *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 20(4), pp. 326–341. doi: 10.1038/jes.2009.29.

Zeng, D. *et al.* (2019) 'Assessing Global Human Exposure to T-2 Toxin via Poultry Meat Consumption Using a Lifetime Physiologically Based Pharmacokinetic Model', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society, 67(5), pp. 1563–1571. doi: 10.1021/acs.jafc.8b07133.

Zidek, A. *et al.* (2017) 'A review of human biomonitoring data used in regulatory risk assessment under Canada's Chemicals Management Program', *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Elsevier GmbH., 220(2), pp. 167–178. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.10.007.

Κιοσέογλου Β., Μπλέκας Γ., 2010, Αρχές Τεχνολογίας Τροφίμων, 75-76