

Expertos Invitados

● CUALES SON LAS CAUSAS DEL CANCER DE TESTICULO



Columnista Experto de SIIC
Dr. Schwartz, Gary

Associate Professor,, Winston-Salem, EE.UU.

Introducción

En el mito de Edipo, la esfinge aterrizaba al pueblo de Tebas con un acertijo: "¿Cuál es el animal que camina en cuatro patas por la mañana, en dos por la tarde y en tres por la noche" Aquellos que no podían resolver el acertijo eran devorados. Edipo respondió: "El hombre, que gatea cuando es lactante, camina erguido cuando es joven y utiliza un bastón cuando es anciano". Enfurecida por la solución a su acertijo, la esfinge se arrojó desde un acantilado, terminando con su vida y con el reino del terror. La etiología del cáncer de testículo es un acertijo como el de la esfinge. La epidemiología de esta neoplasia plantea una serie de interrogantes atractivos. Si estos interrogantes pudieran responderse, el flagelo del cáncer de testículo podría ser eliminado. Este artículo descifra el acertijo del cáncer de testículo y propone una solución posible para este problema. La versión completa de este trabajo ha sido publicada en Cancer Causes and Control, 2002;13:91-100.



Figura 1. Como la esfinge, el espectro del cáncer de testículo amenaza la vida de hombres jóvenes. Como en el mito, el acertijo del cáncer de testículo tiene solución. Edipo y la Esfinge, Jean August Dominique Ingres (1780-1867), Galería Nacional de Londres.

El acertijo del cáncer de testículo

El cáncer de testículo es la neoplasia más frecuente entre los 15 y los 34 años en hombres de raza

blanca.¹ Su epidemiología muestra una serie de pautas inusuales. En primer lugar, a diferencia de otros tumores, el pico en la tasa de incidencia se observa entre los 25 y los 34 años y luego declina. En segundo lugar, el cáncer de testículo presenta una notable variabilidad geográfica. Las tasas de incidencia son más altas en el norte de Europa comparadas con el sur y el centro de Europa.² La tasa de incidencia multiplicó 10 veces su valor a lo largo de Europa en 1980, los valores más altos se registraron en Dinamarca, donde la tasa ajustada por edad es de 7.8×10^5 por año y con tasas más bajas en Lituania y Finlandia (con tasas de 0.9 y 1.3×10^5 por año, respectivamente). La incidencia de cáncer de testículo en las poblaciones de raza blanca experimentó un incremento de 2.3% anual desde 1940. El pico de aparición de cáncer de testículo en hombres jóvenes sugiere que la exposición crítica tiene lugar en etapas tempranas de la vida o durante la vida intrauterina.³ La criptorquidia es un factor de riesgo establecido de cáncer de testículo pero se produce en menos del 10% de los casos.⁴ Se encontró que los hombres con atrofia testicular y con semen de baja calidad presentan riesgo aumentado de cáncer de testículo.^{5,6} Esto parece indicar que el cáncer de testículo y la disgenesia testicular comparten una etiología común.^{7,8} La alta tasa de cáncer de testículo en las naciones ricas y entre individuos de elevado nivel socioeconómico^{9,10} implica la asociación del cáncer de testículo con alguna conducta o algún aspecto de la vida moderna.¹¹ La clave final para explicar la etiología del cáncer de testículo es la reducción en los factores de riesgo entre daneses y noruegos nacidos durante la Segunda Guerra Mundial (SGM) y el aumento entre aquellos nacidos luego de finalizada ésta.^{12,13} Esto sugiere que la causa del cáncer de testículo podría relacionarse con la disminución de mercancías y víveres en estos países durante la ocupación militar alemana. Como el acertijo de la esfinge, la etiología del cáncer de testículo también es una adivinanza. ¿Cuál es el carcinógeno con elevada incidencia en el Norte de Europa, especialmente en Dinamarca, cuya prevalencia se incrementa a lo largo del tiempo –excepto entre varones noruegos, daneses y suecos nacidos durante la SGM–, asociado con elevado nivel socioeconómico y que es causa de infertilidad

Una solución posible para el acertijo

Proponemos que la respuesta al acertijo es la ocratoxina A (OTA), un contaminante muy extendido de los alimentos para consumo humano.¹⁴ Las ocratoxinas, entre las cuales la OTA es la más frecuente, son micotoxinas derivadas de la proliferación de hongos *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus Ostianus* y *Penicillium verrucosum* en los cereales almacenados a una temperatura de 15°C y una humedad de 15% a 19%.¹⁵⁻¹⁸ La OTA es una fracción dihidroisocumarina unida a través de su grupo 7-carboxilo a la fenilalanina mediante un enlace amida. Además de los cereales, la OTA contamina otros productos de origen vegetal como café, nueces y especias. En productos porcinos se encontraron niveles altos de OTA como consecuencia de ser alimentados con forraje enmohecido.¹⁹ En 1994, en Europa se realizó un trabajo cooperativo (*Scientific Co-operation on Questions Relation to Food* [SCOOP]) para determinar la exposición a la OTA en la población europea. El ensayo SCOOP determinó que la contaminación por OTA se halla ampliamente diseminada, ya que el 50% de las muestras de sangre provenientes de Alemania y Dinamarca resultaron positivas.²⁰ Una investigación reciente acerca de la importación de cereales y café en los EE.UU. encontró OTA en 11% de las muestras de cebada, en 15% de las muestras de trigo y en 69% de las muestras de café tostado (límites de detección > 0.03 ng/g).²¹ En Canadá, 36% de 1 588 muestras de sangre de cerdo obtenidas en mataderos resultaron positivas para la detección de OTA con una concentración media de 12.3 ng/ml. En 40% de las muestras de sangre de canadienses se encontraron niveles detectables de OTA; los niveles en sangre eran similares a los observados en individuos europeos.²² Varios hechos sugieren que la OTA podría ser carcinógena para el ser humano. En primer lugar, la OTA es genotóxica y carcinógena para muchas especies.²³ En segundo lugar, en los países escandinavos la OTA provoca en los cerdos un tipo de nefropatía (nefropatía danesa)^{24,25} que es semejante a una enfermedad renal potencialmente fatal para los seres humanos: la nefropatía endémica de los Balcanes (NEB).^{26,27} La NEB es una nefropatía crónica endémica en Bulgaria, Rumania y la ex Yugoslavia. La tercera parte de los pacientes que mueren por NEB presentan carcinomas del tracto urinario. Hay firmes sospechas de que la OTA es la causa de la NEB y de los tumores del tracto urinario asociados con esta nefropatía.²⁸



Figura 2: Estructura de la ocratoxina A. Es una micotoxina producida por *Aspergillus* y *Penicillium*. Se encuentra en los cereales enmohecidos y en los animales que los consumen, como el cerdo. Los cereales, la carne porcina y los granos de café suelen estar contaminados por OTA. La exposición a OTA en seres humanos está ampliamente diseminada. Muestras de sangre provenientes de Dinamarca resultaron positivas para OTA en un porcentaje cercano al 50%.

Cómo puede la ocratoxina resolver el acertijo

Nosotros sugerimos que la OTA puede responder el acertijo del cáncer de testículo citado precedentemente. Por ejemplo, el riesgo aumentado en el Norte de Europa es comprensible porque la contaminación de los alimentos y el forraje es especialmente alta en las regiones templadas al norte de Europa.²⁹ En esta región se detectó incidencia elevada de OTA en muestras de sangre humana. El valor promedio más alto de OTA en sangre, 1.8 ng/ml, corresponde a Dinamarca (de 144 muestras de plasma 49% resultaron positivas).³⁰ En segundo lugar, cualquier hipótesis acerca de la etiología del cáncer de testículo debería explicar la incidencia inusualmente elevada del cáncer de testículo en Dinamarca (7.8×10^5 /año) si se la compara con la de otros países nórdicos, especialmente Finlandia (1.3×10^5 /año). Esta diferencia podría reflejar el consumo elevado de OTA en Dinamarca. Luego de los cereales, la carne de cerdo contiene los mayores niveles de OTA, con valores en sangre porcina, hígado y embutidos cercanos a $8 \mu\text{g}/\text{kg}$.³¹ El consumo de cerdo en Dinamarca es uno de los más elevados del mundo y es más del doble que en Finlandia. Los cereales constituyen la fuente más importante de OTA en Dinamarca y el que se contamina con mayor frecuencia es el centeno. Resulta intrigante que la cantidad recomendada de centeno para lactantes en las dietas oficiales a nivel nacional sea cinco veces más alta en Dinamarca que en Finlandia.³² En tercer lugar, el incremento en la incidencia del cáncer de testículo a lo largo del tiempo en países desarrollados es compatible con un mayor consumo de alimentos contaminados por OTA, por ejemplo, la carne de cerdo. Entre 1961 y 1994, el consumo de "carne" en los países desarrollados creció a una tasa promedio de 1.9% anual. En su mayor parte se trataba de carne de cerdo.³³ La magnitud de estos incrementos (aproximadamente 2%) es similar a la registrada en las tasas de incidencia del cáncer de testículo. La reducción del riesgo de cáncer de testículo en las cohortes de hombres noruegos y daneses nacidos durante la SGM es congruente con la reducción notable en la provisión de cerdo y otros alimentos contaminados con OTA, durante la ocupación militar alemana en esos países. En cuarto lugar, la asociación de cáncer de testículo con individuos de elevado nivel socioeconómico podría reflejar que las dietas de las mujeres pudientes poseen un alto contenido de cerdo o que la lactancia materna se observa con mayor frecuencia en este estrato social, o ambas situaciones. El consumo elevado de OTA durante el embarazo o durante la lactancia, o en ambas circunstancias, podría desembocar en mayor exposición a este contaminante durante la etapa prenatal o neonatal, a través del plasma o de la leche materna, respectivamente.³⁴ La leche materna frecuentemente está contaminada con OTA. Por ejemplo, se detectó OTA en 23/40 (58%) muestras de leche materna en Suecia (intervalo: 10-40 ng/l) y en 38/115 (33%) en Noruega (intervalo: 10-130 ng/l).^{35,36} Datos firmes acerca de la lactancia materna demuestran que, en los países desarrollados, las mujeres con mayor nivel socioeconómico y con alto nivel de educación amamantan con mayor frecuencia y por períodos más prolongados que aquellas con bajos niveles de instrucción.³⁷ Finalmente, la asociación del cáncer de testículo con la atrofia testicular y con el semen de baja calidad es comprensible ya que la OTA es tóxica para el testículo. Por ejemplo, la presencia de esta toxina en cultivos de células intersticiales de testículos de jerbos adultos produce inhibición dependiente de la dosis en la secreción de testosterona,³⁸ la inyección intratesticular de 4 a 5 mg/kg de OTA en ratas provoca citólisis a nivel del epitelio de los túbulos seminíferos.³⁹ Incluso ante la presencia de dosis muy bajas de OTA se observa el deterioro en la función testicular. La administración oral de OTA a ratones suizos en dosis equivalentes a la concentración observada en la dieta humana de $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal/día provoca un incremento en el número de espermatozoides defectuosos y un descenso en el recuento espermático mayor al 50%.⁴⁰ Por último, en ratas macho destetadas que consumían dietas naturalmente contaminadas con trazas de OTA se observó la aparición de hipoplasia testicular en el

epitelio germinal y producción de espermatozoides no maduros.⁴¹ Estos datos demuestran que la OTA puede ejercer efectos tóxicos en el testículo en etapas tempranas de la vida y que incluso pequeñas concentraciones de la toxina producen esperma de baja calidad.

Pruebas ecológicas de la hipótesis de la ocratoxina A

La hipótesis de la OTA predice que la pauta geográfica del cáncer de testículo podría correlacionarse con el patrón geográfico de la exposición a OTA. Utilizamos datos del consumo *per capita* de OTA de aquellos productos alimenticios en los que se conoce la contaminación por esta toxina como una medida indirecta de la exposición a la OTA. Analizamos la correlación existente, a través de los coeficientes de correlación de Pearson (r), entre la incidencia de cáncer de testículo en 20 países y el consumo *per capita* de cereales, café y carne porcina; principales fuentes dietarias de OTA. Sobre la base del *Cancer Incidence of Five Continents* se calcularon los promedios ponderados de la incidencia por cáncer de testículo por cada país.⁴² Los datos acerca del consumo de alimentos *per capita* por país fueron extraídos a partir de fuentes conocidas.^{43,44}

TABLA 1

Variables	N	R	p-valor
Cebada	19	0.30	0.22
Centeno	15	0.31	0.26
Trigo	20	-0.17	0.45
Maíz	19	-0.39	0.09
Café	19	0.49	0.03
Carne de cerdo	20	0.54	0.01

Tabla 1. Los coeficientes de correlación entre la incidencia del cáncer de testículo por país y el consumo *per capita* de alimentos potencialmente contaminados por la ocratoxina A. El N para cada comparación refleja el número de observaciones apareadas disponibles en este estudio.

La r de Pearson para el consumo *per capita* de cereales, café y carne porcina se muestra en la tabla 1. La correlación con cebada, centeno, trigo y maíz no fue significativa. Se observó correlación significativa para el consumo *per capita* de café y carne de cerdo ($r = 0.49$ y 0.54 , $p = 0.03$ y $p = 0.01$, respectivamente).

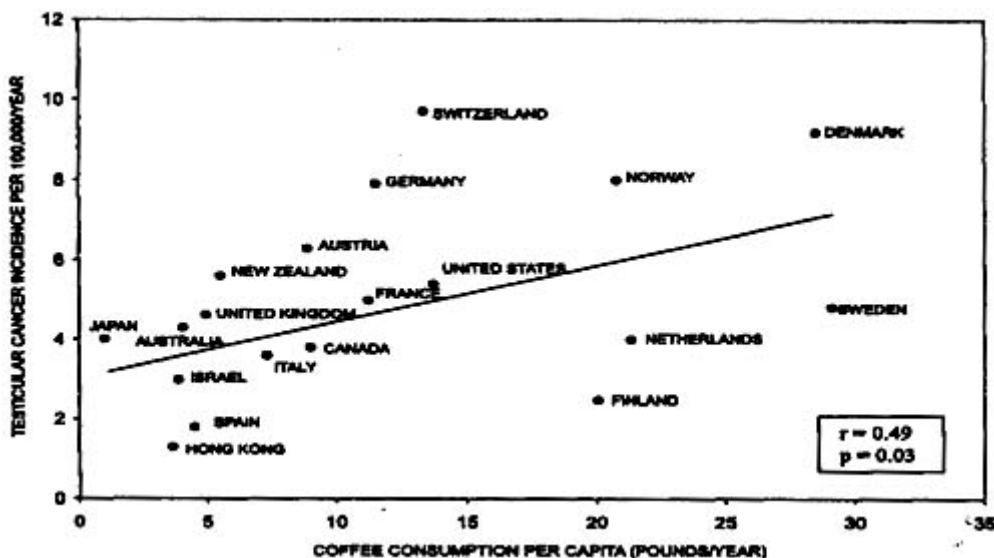


Figura 3. Gráfico de dispersión de la incidencia de cáncer de testículo en 19 países vs. el consumo *per capita* de café.

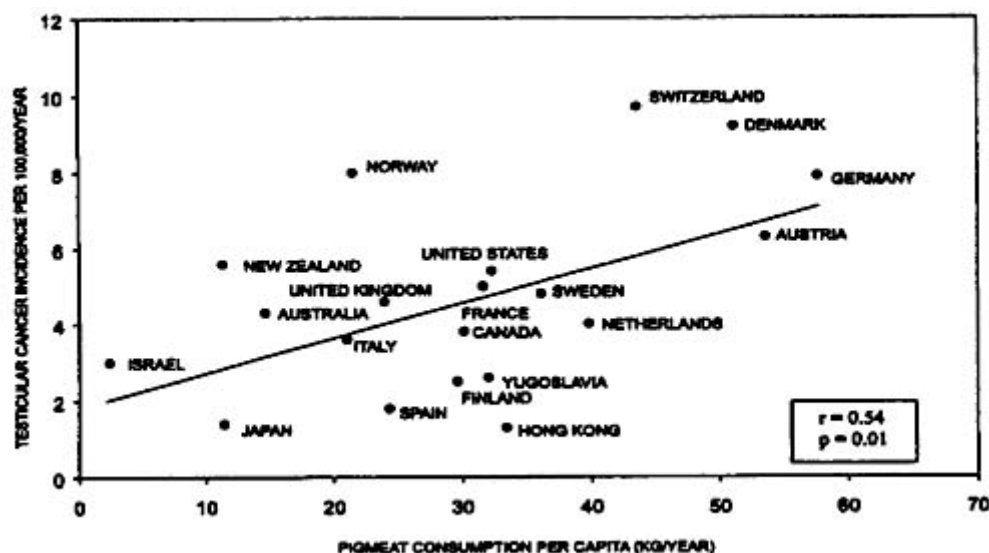


Figura 4. Gráfico de dispersión de la incidencia de cáncer de testículo en 19 países vs. el consumo *per capita* de carne porcina. Estos datos tienen algunas limitaciones, incluidas aquellas que son comunes en las planillas de equilibrio alimentario y los datos ecológicos. Por ejemplo, las planillas de equilibrio alimentario no ofrecen información acerca de los alimentos manufacturados que contienen diversos ingredientes básicos, como el pan de centeno. Estos factores podrían haber limitado nuestra habilidad para detectar una correlación significativa entre el cáncer de testículo y el consumo de cereales. Utilizamos el consumo *per capita* de alimentos que contienen OTA como una medida indicativa de la exposición a esta toxina. Este enfoque es conservador ya que asume que la exposición diferencial a la OTA es consecuencia de las diferencias en los niveles de consumo de alimentos contaminados por OTA más que de las diferencias en los niveles de contaminación por OTA en estos alimentos. A pesar de esto, observamos correlaciones significativas entre el consumo *per capita* de café y carne porcina en 20 países y la incidencia de cáncer de testículo (figuras 3 y 4). El hecho de que estos artículos se seleccionaran *a priori* y de que sólo se utilizara un número pequeño de pruebas estadísticas, sugiere que estas correlaciones no son simplemente el resultado de comparaciones múltiples.

La plausibilidad biológica de la hipótesis de la ocratoxina A

La OTA es conocida como un carcinógeno genotóxico para los animales y una causa probable de los tumores del tracto urinario en los seres humanos. Entonces, es concebible que la OTA sea responsable de otros tipos de neoplasias humanas. Nosotros proponemos que el consumo de alimentos contaminados con OTA durante el embarazo y la infancia induce lesiones en el ADN testicular y que el crecimiento del testículo durante la pubertad promueve que estas lesiones evolucionen hacia el cáncer de testículo. El modelo conceptual de esta hipótesis se describe en la figura 5. Entre los datos que avalan esta propuesta se incluyen: *Los animales expuestos a la OTA presentan OTA en los testículos.* Fuchs y col. administraron OTA marcada con ^{14}C en dosis de 200 ng/g de peso corporal por vía intravenosa en la vena caudal de ratones. Dentro de los 5 minutos de aplicada la inyección se detectó OTA radiactiva en los testículos y los niveles detectables persistieron hasta las 24 horas.⁴⁵ En un estudio similar Galtier y col. administraron a ratas adultas 2.5 mg/kg de OTA marcada con ^{14}C por vía oral o intravenosa en una única dosis. Se detectaron niveles de OTA a nivel testicular en cada medición, a la hora, a las 6 y a las 48 horas. Las concentraciones halladas en los testículos eran comparables con los niveles detectados a nivel renal, el sitio clásico de toxicidad para la OTA.⁴⁶ *La OTA es transferida al feto a través de la circulación transplacentaria.* La transferencia de OTA *in utero* se informó en estudios experimentales realizados en ratones,⁴⁷ ratas,⁴⁸ cerdos⁴⁹ y seres humanos.⁵⁰ En Suiza, Zimmerli y Dick⁵¹ estudiaron 10 pares de muestras de suero materno (venoso) y de cordón umbilical (durante el parto) en madres y lactantes. Las concentraciones de OTA en el plasma fetal eran el doble de las del plasma materno. *La OTA se trasmite al recién nacido a través de la lactancia.* La transferencia de la OTA a los lactantes a través de la leche materna es importante. Las crías de ratas expuestas a la OTA sólo durante el amamantamiento presentan niveles en sangre y riñón 4 a 5 veces mayores que en aquellas expuestas a la OTA sólo a través de la circulación transplacentaria. Las crías acumulan altos niveles de OTA; a los 14 días de vida los valores de la OTA en sangre y riñón eran 4 a 6 veces mayores que los encontrados en sus madres.⁵² *La OTA causa aductos en el ADN*

testicular. Gharbi y col.⁵³ trataron con OTA ratas macho adultas con una dosis equivalente a la contaminación de 2 ppm/día en los alimentos. A las 3 semanas de exposición se observaron aductos en el ADN testicular. Estos aductos resultaron cromatográficamente similares a los aductos encontrados en hígado y riñón luego de la alimentación con OTA.⁵⁴ Este hallazgo es importante ya que la OTA es una causa reconocida de tumores hepáticos y renales en los roedores.^{55,56} *Los aductos en el ADN predicen la aparición ulterior de tumores*. Diversos estudios demostraron que existe una fuerte correlación entre la cantidad de aductos en el ADN y el potencial carcinogénico.^{57,58} Por ejemplo, la incidencia de aductos en el ADN inducidos por OTA en el riñón se correlaciona en forma significativa con la frecuencia de aparición de tumores renales.⁵⁹ Este hallazgo sugiere que los aductos en el ADN testicular podrían ser precursores de los tumores de testículo. Esta posibilidad es convincente porque durante la embriogénesis los testículos se originan a partir del riñón fetal.



Figura 5. Modelo conceptual de la hipótesis de la ocratoxina A como causa del cáncer de testículo.

Las oportunidades para estudios futuros

La hipótesis de la OTA incluye numerosas predicciones acerca de los lugares y las personas. Por ejemplo, aunque el papel preciso que desempeña la OTA en la etiología de la NEB es poco claro, en los Balcanes se encontraron niveles elevados de esta toxina en cereales, carne de cerdo y sangre y leche humanas.⁶⁰ Esto implica que el aumento en la tasa de cáncer de testículo podría manifestarse en hombres jóvenes que estuvieron expuestos a la OTA *in utero* o en su infancia. Existen indicios recientes acerca de un tipo de cáncer testicular epidémico en Eslovenia (ex Yugoslavia) que podrían ser relevantes para esta predicción.⁶¹ Debido a que en las personas que se abstienen de consumir carne de cerdo ha disminuido el riesgo de cáncer de testículo, la hipótesis sobre la OTA indica que la incidencia de esta neoplasia debería ser menor entre judíos y musulmanes practicantes y adventistas del séptimo día. Si los estudios analíticos confirman la asociación entre la OTA y el cáncer de testículo, los esfuerzos en la salud pública deberían dirigirse a reducir la exposición a la OTA. Además, podría lograrse la disminución en la toxicidad genética de dicha exposición.⁶² Por ejemplo, la cantidad de aductos en el ADN de animales inducidos por la OTA podría descender mediante el tratamiento previo de éstos con aspirina e indometacina. Ambas drogas inhiben la síntesis de la prostaglandina H, un paso en el metabolismo de la OTA hacia los metabolitos reactivos del ADN.⁶³ De manera similar, el aspartamo, un edulcorante artificial, presenta una estructura análoga a la de la OTA y es un potente antagonista de esta toxina.⁶⁴ Estas observaciones sugieren que el cáncer de testículo podría evitarse con la administración de suplementos vitamínicos, de aspartamo o de ambos; así como los defectos del tubo neural pueden evitarse con suplementos de ácido fólico.⁶⁵ De un modo u otro la decisión última acerca de si la OTA es la respuesta al acertijo del cáncer de testículo, se podrá determinar a través de estudios experimentales y epidemiológicos. Actualmente estamos tratando con OTA ratonas preñadas y examinando los testículos de sus crías para determinar la presencia de aductos en el ADN inducidos por la OTA y de tumores de testículo. Si estos tumores se producen de este modo,

podríamos dar un paso importante para terminar con la plaga del cáncer más común entre los hombres jóvenes. El autor no manifiesta conflictos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schottenfeld D (1996) Testicular cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF Jr. eds. *Cancer Epidemiology and Prevention*, Ed.2, New York: Oxford University Press, pp. 1207-1219
2. Jensen OM, Esteve J, Møller H, Renard, H (1990) Cancer in the European community and its member states. *Eur J Cancer* 26:1167-1256.
3. Ekblom A (1998) Growing evidence that several human cancers may originate in utero. *Sem. Cancer Biology* 8:237-244.
4. Chivers C, Pike MC (1992) Cancer risk in the undescended testicle. *Europ Urol Update Series*, 1:74-79.
5. Moller H, Prener A, Skakkebaek NE (1996) Testicular cancer, cryptorchidism, inguinal hernia, testicular atrophy, and genital malformations: case-control studies in Denmark. *Cancer Causes Contr* 7:264-274.
6. Jacobsen R, Bostofte E, Engholm G, Hansen J, Olsen JH, Skakkebaek NE (2000) Risk of testicular cancer in men with abnormal semen characteristics: cohort study. *Brit Med J* 321:789-792.
7. Sharpe RM, Skakkebaek NE (1993) Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract *Lancet* 341:1392-1395.
8. Petersen PM, Skakkebaek NE, Giwercman, A (1998) Gonadal function in men with testicular cancer: Biological and clinical aspects. *APMIS* 106:24-36.
9. Davies JM (1981) Testicular cancer in England and Wales: some epidemiologic aspects. *Lancet*, 1:928-932.
10. Ross RK, McCurtis, JW, Henderson, BE, Menck HR, Mack, TM, Martin SP (1979) Descriptive epidemiology of testicular and prostatic cancer in Los Angeles. *Br J Cancer* 39:284-292.
11. Forman D, Møller H (1994) Testicular cancer. *Cancer Surveys: Trends in Cancer Incidence and Mortality* 19/20:323-341.
12. Hoff Wanderas E, Tretli S, Fossa SD (1995) Trends in incidence of testicular cancer in Norway 1955-1992. *Eur J Cancer* 31A:2044-2048.
13. Bergstrom R, Adami HO, Mohner M, et al. Increase in testicular cancer in six European countries: A birth cohort phenomenon. *J Natl Cancer Inst* 88:727-733.
14. Pitt JI (2000) Toxicogenic fungi and mycotoxins. *Brit Med Bull* 56:184-192, 2000.
15. Lillehoj H, Elling F (1983) Environmental conditions that facilitate ochratoxin contamination of agricultural commodities. *Acta Agric Scand* 33:113-128.
16. Kuiper-Goodman T, Scott PM (1989) Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomed Environ Sci* 2:179-248.
17. International Agency for Research on Cancer (1993) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, Lyon, Vol. 56.
18. Pohland AE, Nesheim S, Friedman L (1992) ochratoxin A: A Review. *Pure & Appl Chem*, 64:1029-1048.
19. Petzinger E, Zeigler K (2000) ochratoxin A from a toxicologic perspective. *J Vet Pharmacol Therap* 23:91-98.
20. Commission of the European Communities (1996) Reports on tasks for scientific cooperation. Report of experts participating in task 3.2.2: assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population in EU member states. Report EUR 17523 EN.
21. Trucksee MW, Giler J, Young K, White KD, Page SW (1999) Determination and survey of ochratoxin A in wheat, barley, and coffee - 1997. *J AOAC Internat* 82:85-89.
22. Bauer J, Gareis M (1987) ochratoxin A in the food chain. *Z Veterinarmed [B]* 34:613-627 (in German).
23. Boorman, G (ed.) (1989) NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of ochratoxin A. NTH Publication No. 89-2813. U.S. Dept. Health and Human Services, N.I.H., Research Triangle Park, NC.
24. Larsen S (1928) On chronic degeneration of the kidneys caused by mouldy rye. *Maanedsskr. Dyrl.*, 40:259-294; 289-300 (in Danish).
25. Krogh P (1976) Epidemiology of Mycotoxic Porcine Nephropathy. *Nord Vet-Med* 28:452-458.
26. Ceovic S, Pleština R, Miletic-Medved M, Stavljenic A, Mitar J, Vukelic M (1991). Epidemiological aspects of Balkan Endemic Nephropathy in a typical focus in Yugoslavia. In Castegnaro M, Pleština R, Dirheimer G, Chernozemsky IM, Bartsch H (eds.) *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours*. Lyon: IARC Scientific Pub. No. 115 New York: Oxford University Press, pp. 5-10.
27. Radovanic Z, Jankovic S, Jeremovic I (1991) Incidence of tumors of urinary origin in a focus of Balkan endemic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 34:S75-S76.
28. Tatu CA, Orem WH, Finkelman RB, Feder GL (1998) The etiology of Balkan Endemic Nephropathy: Still more questions than answers. *Env Health Perspect* 106: 689-700.
29. Höhler D. ochratoxin A in food and feed: Occurrence, legislation, and mode of action (1998) *Z Ernährungswiss* 37: 2-12.
30. Hald, B. ochratoxin A in human blood in European countries. (1991). In Castegnaro M, Pleština R, Dirheimer G, Chernozemsky IN, Bartsch H (eds.) *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours*. Lyon: IARC Scientific Pub. No. 115. New York: Oxford University pp 159-164.
31. Scheuer R (1989) Untersuchungen zum Vorkommen von ochratoxin A. *Fleischwirtschaft* 69:1400-1404.
32. Ascher H, Holm K, Dristiansson B, Mäki M (1993) Different features of coeliac disease in two neighbouring countries. *Arch Dis Child* 69:375-380.
33. Rosegrant MW, Leach N, Gerpacio RV (1999) 'Meat or wheat for the next millennium'. Plenary Lecture. Alternative futures for world cereal and meat consumption. *Proc Nutr Soc* 58:219-234.
34. Skaug MA, Helland I, Solvoll K, Saugstad OD (2001) Presence of ochratoxin A in human milk in relation to dietary intake. *Food Add Contam* 18: 321-327.
35. Breittoltz-Emanuelsson A, Olsen M, Oskarsson A, Palminger I, Hult K (1993) ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. *J AOAC Int* 76:842-846.
36. Skaug MA, Stormer FC, Saugstad OD (1998) ochratoxin A: a naturally occurring mycotoxin found in human milk samples from Norway. *Acta Paediatr* 87:1275-1278.
37. Scott JA, Binns CW (1999) Factors associated with the initiation and duration of breastfeeding: a review of the literature. *Breastfeed Rev* 7:5-16.

38. Fenske M, Fink-Gremmels J (1990) Effects of fungal metabolites on testosterone secretion in vitro. *Arch Toxicol* 64:72-75.
39. More J, Camguilhem R (1979) Effects of low doses of ochratoxin A after intratesticular injection in the rat. *Experientia* 35:890-892.
40. Bose S, Sinha SP (1994) Modulation of ochratoxin-produced genotoxicity in mice by vitamin C. *Food Chem Toxicol* 32:533-537.
41. Kazanas N, Ely RW, Fields ML, Erdman JW Jr (1984) Toxic effects of fermented and unfermented sorghum meal diets naturally contaminated with mycotoxins. *Appl Environ Microbiol* 47:1118-1125.
42. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L, Young J (1997) *Cancer Incidence in Five Continents Vol.VII*. Lyon: IARC Scientific Publications No. 143.
43. Binstock M, Krakow D, Stamler J, Reiff J, Persky V, Liu K, Moss D (1983) Coffee and pancreatic cancer: An analysis of international mortality data. *Am J Epidemiol* 118:630-640.
44. Galal OM (1998) Uses of food consumption data: with an example exploring the impact of food consumption on economic growth. *Public Health Rev* 26:109-122.
45. Fuchs R, Appelgran LE, Hutt K (1988) Distribution of ¹⁴C-ochratoxin A in the mouse monitored by whole-body autoradiography. *Pharmacol Toxicol* 63:355-360.
46. Galtier P, Charpentreau J-L, Alvinerie M, Labouche C (1979) The pharmacokinetic profile of ochratoxin A in the rat after oral and intravenous administration. *Drug Metab Distribut* 7: 429-434.
47. Fukai YC, Hoshino K, Kameyama T, Yasui T, Toda C, Nagiono H (1987) Placental transfer of ochratoxin A and its cytotoxic effect on the mouse embryonic brain. *Food Chem Toxicol* 25:17-24.
48. Ballinger MB, Phillips TE, Kubena LF (1986) Assessment of the distribution and elimination of ochratoxin A in the pregnant rat. *J Food Safety* 8:11-24.
49. Barnikol H, Thalmann A (1988) Klinische Beobachtungen beim Schwein in Zusammenhang mit den Mykotoxinen ochratoxin A und Zearalenon. *Tierärztl Umsch* 43:74-82.
50. Jonsyn FE, Maxwell SM, Hendrickes RG (1995) Human fetal exposure to ochratoxin A and aflatoxins. *Ann Trop Paed* 15:3-9.
51. Zimmerli B, Dick R (1995) Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: methodology and Swiss data. *J Chromat B Biomed Appl* 666:85-99.
52. Hallén IP, Breitholtz-Emanuelsson A, Hult K., Olsen M, Oskarsson A (1998) Placental and lactational transfer of ochratoxin A in rats. *Nat Toxins* 6:43-49.
53. Gharbi A, Trillon O, Betbeder AM, et al. (1993) Some effects of ochratoxin A, a mycotoxin contaminating feeds and food, on rat testis. *Toxicology* 83:9-18.
54. Kane A, Creppy EE, Roth A, Röschenhaler R, Dirheimer G (1986). Distribution of the [³H]-label from low doses of radioactive ochratoxin A ingested by rats, and evidence from DNA single-strand breaks caused in liver and kidneys. *Arch Tox* 58: 219-224.
55. Kanisawa M, Suzuki S (1978) Induction of renal and hepatic tumors in mice by ochratoxin A, a mycotoxin. *Gann* 69:599-600.
56. Bendele AM, Carlton WW, Krogh P, Lillehoj EB (1985) ochratoxin A carcinogenesis in the (C57BL/6J x C3H)F1 mouse. *J Natl Cancer Inst* 75: 733-742.
57. Lutz WK, Gaylor D (1996) Significance of DNA adducts at low dose: shortening the time to spontaneous tumor occurrence. *Regul Toxicol Pharmacol* 23:29-34.
58. Poirior MC, Beland FA (1992) DNA adduct measurements and tumor incidence during chronic carcinogen exposure in animal models: implications for DNA adduct-based human cancer risk assessment. *Chem Res Toxicol* 5:749-755.
59. Castegnaro M, Mohr U, Pfohl-Leszkwicz A, et al. (1998) Sex- and strain-specific induction of renal tumors by ochratoxin A in rats correlates with DNA adduction. *Int J Cancer* 77:70-75.
60. Radic B, Fuchs R, Peraica M, Lucic A (1997) ochratoxin A in human sera in the area with endemic nephropathy in Croatia. *Toxicol Lett* 91:105-109.
61. Buetow SA (1995) Epidemiology of testicular cancer. *Epidemiologic Rev* 17:433-449.
62. McMasters DR, Vedani A (1998) ochratoxins: Molecular strategies for developing an antidote. *Altex* 15:218-221.
63. Obrecht-Pfumio S, Gross Y, Pfohl-Leszkwicz A, Dirheimer G (1996) Protection by indomethacin and aspirin against genotoxicity of ochratoxin A, particularly in the urinary bladder and kidney. *Arch Toxicol* 70:244-248.
64. Creppy EE, Baudrimont I, Betbeder AM (1995) Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A, a food contaminant. *Toxicol Lett* 82-83:869-877.
65. McNulty H, Cuskelly GJ, Ward M (2000) Response of red blood cell folate to intervention: Implications for folate recommendations for the prevention of neural tube defects. *Am J Clin Nutr* 71 Suppl 5:1308S-1311S.