

Exposición a aflatoxina: un problema de salud pública

Andrea Carreño Venegas¹, Juan José Hurtado Guerra¹, María Cristina Navas Navas¹

RESUMEN

La aflatoxina, una micotoxina producida por hongos contaminantes, es un potente tóxico hepático y un agente carcinógeno. La exposición a ella en la dieta es de particular importancia en ciertas regiones del Sureste de Asia y de África subsahariana, cuyas poblaciones presentan alta frecuencia de carcinoma hepatocelular y de la mutación en el codón 249 del gen p53; además, tienen alta prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis B. Este factor de riesgo es muy importante si se tiene en cuenta que se ha demostrado sinergia entre la infección por dicho virus y la exposición a aflatoxina en la patogénesis del carcinoma hepatocelular. Pocos estudios han explorado la exposición a aflatoxinas en la dieta de la población latinoamericana y se desconoce el papel en ella de esta micotoxina como factor de riesgo para dicho carcinoma. En este artículo se presenta una revisión sobre diversos aspectos de las aflatoxinas, con énfasis en su relación con la infección por el virus de la hepatitis B y con el carcinoma hepatocelular.

PALABRAS CLAVE

Aflatoxina B1; Carcinoma Hepatocelular; Dieta; Factores de Riesgo; Neoplasias Hepáticas

SUMMARY

Exposition to aflatoxin: A public health problem

Aflatoxin, a mycotoxin produced by pollutant molds, is a potent hepatotoxic and carcinogenic agent. Dietary exposition to it is of particular importance in certain regions of Southeast Asia and sub-Saharan Africa. Populations in these regions suffer from high incidence of hepatocellular carcinoma, and have high frequency of the mutation in the codon 249 of p53 gene; besides, prevalence of Hepatitis B virus (HBV) infection is high in those populations. Synergism between infection with HBV and the exposition to this mycotoxin in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma has been demonstrated. Few studies have explored the exposition to aflatoxin in the diet of populations in Latin America, and the role in them of this mycotoxin as a risk factor for hepatocellular carcinoma is unknown. In this article different aspects

¹ Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: María Cristina Navas. Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia. Tel. 57.4.2196573, Fax. 57.4.2196565, Email: mcnavasn@gmail.com

Recibido: diciembre 29 de 2012

Aceptado: julio 02 de 2013

of aflatoxin are reviewed with emphasis on its relationship with HBV infection and with such neoplasia.

KEY WORDS

Aflatoxin B1; Diet; Hepatocellular Carcinoma; Liver Neoplasms; Risk Factors

INTRODUCCIÓN

Numerosos problemas de salud pública que afectan tanto al hombre como a los animales están relacionados directa o indirectamente con la agricultura; entre ellos se cuenta la acción de agentes químicos, físicos o biológicos que interfieren con la adecuada producción, procesamiento y/o distribución de alimentos. Algunos de estos agentes han sido considerados como factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades de gran impacto mundial, entre ellos las micotoxinas (1). Estas son sustancias químicas naturales, producto del metabolismo de algunos hongos que colonizan cultivos y alimentos almacenados; se ha calculado que afectan a más del 25% de los cultivos en el mundo cada año (2).

La exposición aguda a aflatoxinas en la dieta, llamada aflatoxicosis aguda, puede causar necrosis hepática, hemorragia, falla hepática aguda y edema (3). En cuanto a la exposición crónica en la dieta a niveles bajos se ha asociado con trastornos en la digestión, la absorción y/o el metabolismo de los nutrientes, con cirrosis y con el desarrollo de carcinoma hepatocelular (HCC, por su sigla en inglés), el más importante cáncer primario de hígado (CPH) (1,4,5). Estudios epidemiológicos han permitido establecer que la asociación entre la exposición a aflatoxinas y el desarrollo de HCC es un fenómeno común en poblaciones de países con ingresos bajos o medianos, en particular en África y Asia.

Aunque los primeros casos de micotoxicosis se describieron en la Edad Media, solo en 1850 se demostró la asociación de esta enfermedad, conocida como ergotismo, con el consumo de cereales, especialmente de centeno (5).

Se acuñó el término aflatoxina tras un episodio de intoxicación fatal de más de 100.000 pavos, por consumo de torta de maní contaminada con metabolitos secundarios producidos por el hongo *Aspergillus*

flavus (6-8), a los que se les dio el nombre de aflatoxinas; las diferentes aflatoxinas se denominaron con base en su fluorescencia (de azul a verde) y su movilidad en cromatoplasmas de sílica gel normal. Las cuatro aflatoxinas producidas por hongos son la B1, B2, G1 y G2 (5,9,10).

A comienzos de los años 60, la aflatoxina B1 (AFB1) fue considerada un potente carcinógeno en algunas especies de animales; este hallazgo fue ratificado en 1993 por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (10). Diversos estudios han permitido demostrar una tendencia endémica de la exposición en regiones con características particulares como condiciones ambientales óptimas para el crecimiento del hongo, métodos y condiciones inadecuadas de almacenamiento de los alimentos y falta de prevención y protección de las poblaciones expuestas.

Se han publicado trabajos de diversa índole acerca de este asunto, a saber: sobre aspectos bioquímicos y biológicos de las aflatoxinas; sobre las especies de mohos productores y estudios epidemiológicos y experimentales que demuestran la asociación entre la toxina y el HCC.

AFLATOXINAS EN LA NATURALEZA

Las aflatoxinas son una familia de sustancias producidas por los hongos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius* (3,11). Estos hongos son ubicuos, abundantes en climas cálidos y húmedos y considerados saprofitos en casi todos los sustratos (8). Además, se ha encontrado que ciertas especies de *Penicillium* son también productoras de aflatoxinas (12).

Las aflatoxinas son productos del metabolismo del hongo (13), generados por la vía biosintética de poliquétidos en condiciones subóptimas de crecimiento y de estrés. En general, las micotoxinas actúan como antibióticos, favoreciendo la persistencia del hongo en determinados sustratos (14). Se ha descrito una mayor producción de micotoxinas en presencia de factores que disminuyen la inmunidad de las plantas hospedadoras, como daño por insectos, mala fertilización y sequía, entre otros. Además, las condiciones de transporte, almacenamiento y procesamiento del alimento, en particular la humedad, la temperatura, el tiempo de almacenamiento y el grado de invasión fúngica antes del mismo y la actividad de insectos y ácaros (3) son variables que favorecen el crecimiento y reproducción de los mohos.

Las especies del género *Aspergillus* se caracterizan por presentar facultades adaptativas que facilitan su subsistencia, puesto que requieren una humedad relativa ambiental de 70% a 90% y un contenido de agua en el sustrato de 15% a 20%; además, pueden crecer en un rango amplio de temperatura (0 a 45 °C) y a baja concentración de oxígeno (12).

La contaminación por aflatoxinas es una causa importante de grandes pérdidas económicas en la agricultura mundial: anualmente se afectan alrededor de 16 millones de toneladas de maíz, 12 millones de toneladas de arroz, 1,8 millones de toneladas de nueces y 2,3 millones de toneladas de soya, entre otros cultivos. Recientemente se han implementado estrategias de control biológico para prevenir la contaminación, mediante la utilización de cepas de *A. flavus* no productoras de aflatoxinas, para que compitan con las cepas toxígenas (15).

En años recientes se han llevado a cabo en Latinoamérica algunos estudios para determinar los niveles de aflatoxinas en alimentos producidos en Brasil, Argentina, Colombia, Venezuela y Uruguay; estos países son los principales exportadores de granos en la región (16).

En Colombia, en particular en Medellín, se ha demostrado contaminación con aflatoxina en muestras de maíz, con niveles por encima del máximo establecido por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, por su sigla en inglés) y la Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO, por su sigla en inglés); estos hallazgos fueron confirmados en estudios posteriores (17).

En 2001 Díaz y colaboradores evaluaron un total de 248 muestras, obtenidas en supermercados, tiendas minoristas y centros de acopio. Se detectó aflatoxina en 22 de ellas, incluyendo 14/109 (12,8%) muestras de maíz y 4/40 (10%) muestras de arroz. Doce de las 22 muestras positivas excedieron el nivel máximo tolerado de AFB1 adoptado por la mayoría de los países (5 ng/g). Dado que el maíz es uno de los principales cultivos del país (614.509 hectáreas sembradas en 2004) y hace parte de la dieta básica de los colombianos, es probable que su contaminación con AFB1 pueda ser un factor de riesgo para la población (18).

BIOACTIVACIÓN Y DETOXIFICACIÓN DE LA AFB1

La citotoxicidad y genotoxicidad de la AFB1 están estrechamente relacionadas con los procesos metabólicos de bioactivación y detoxificación de esta micotoxina en el hígado. En la bioactivación actúan primordialmente enzimas de la superfamilia citocromo P450 (CYP450); estas enzimas catalizan la oxidación de una amplia variedad de sustancias y las transforman en productos solubles, que se pueden eliminar fácilmente. En particular, las enzimas CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6 y CYP3A4 cumplen un papel fundamental en la transformación de la AFB1; algunos de los metabolitos son: aflatoxina Q1, aflatoxina B2a, aflatoxina P1 y aflatoxina M1; los tres primeros son productos de detoxificación y el último (aflatoxina M1) es un metabolito citotóxico y carcinógeno (19). El principal metabolito es una forma reactiva muy inestable, AFB1-8,9-exo-epóxido (AFBO), responsable de la mayoría de los efectos tóxicos y carcinógenos. La AFBO tiene la capacidad de unirse covalentemente al nitrógeno 7 del nucleótido guanina en el ADN y formar aductos (8,9-dihidro-8-(N7-guanil)-9-hidroxi-AFB1 o AFB1-N7-Gua) (20,21). De esta unión se pueden generar sitios apurínicos (AP) o la apertura del anillo imidazol del aducto (AFB1-N7-Gua); este último genera una molécula química y biológicamente más estable y menos susceptible de reparar, conocida como AFB1 formamido pirimidina (AFB1-FAPY) (22) (figura 1).

La detoxificación de la AFBO es un proceso complejo en el que están implicadas las enzimas glutatión S-transferasa (GST) y epóxido hidrolasa (EPHX). La GST media la conjugación del glutatión reducido (GSH) con el endo y el exoepóxido para formar el conjugado AFB1-S-G, que se puede excretar como ácido mercaptúrico-AFB en la orina (23) (figura 1).

Diferentes estudios en el modelo murino han demostrado la eficiente conjugación de la AFBO con el glutatión mediante una GST clase α , lo que se correlaciona con mayor resistencia a la mutagenicidad asociada a esta toxina, en comparación con especies susceptibles como la rata (24). Los seres humanos presentan menor actividad de la GST para la conjugación de la AFBO que las ratas y los ratones, lo que sugiere menor capacidad de detoxificación de este importante metabolito (21,25,26).

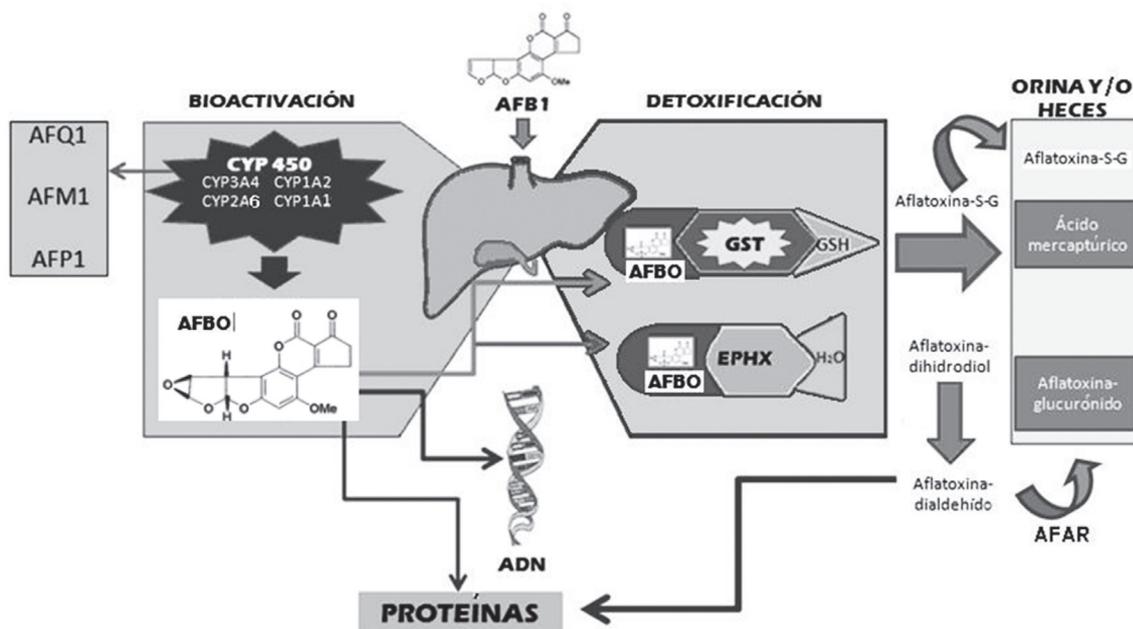


Figura 1. Metabolismo de la aflatoxina (AFB1): citocromo P450 (CYP450), CYP3A4, CYP1A2, CYP2A6, CYP1A1 (miembros de la superfamilia de enzimas citocromo P450), aflatoxina-B1-8,9-exo-epóxido (AFBO), glutatión S-transferasa (GST), glutatión (GSH), epóxido-hidrolasa (EPHX), AFB1- aldehído reductasa (AFAR). Adaptado de Wild C.P., Turner P.C., 2002.

Por otra parte, la EPHX puede disminuir los niveles de AFB1 exo y endoepóxido mediante hidrólisis generando AFB1-8,9-dihidrodiol, que por apertura del anillo puede dar lugar al ion fenolato-dialdehído (AFB1-dialdehído) y unirse con los grupos amino de las proteínas. Por otra parte, el AFB1-dialdehído puede ser sustrato de la AFB1-aldehído reductasa (AFAR) produciendo aflatoxina-dialcohol, que se puede excretar en la orina en su forma de dialcohol o como monoalcohol (19,27).

Estudios recientes en distintos tipos de cáncer humano sugieren que existe una asociación entre la exposición a un carcinógeno particular y la generación de una mutación específica. En el caso de la AFB1, se ha encontrado que la exposición en la dieta está asociada con la mutación puntual en el gen p53 (exón 7, codón 249). Hasta en el 60% de los casos de HCC se han documentado mutaciones en el gen p53, específicamente la antes nombrada (28). Esta mutación se ha evidenciado en poblaciones que habitan en áreas consideradas de alto riesgo de exposición a aflatoxinas y que presentan alta incidencia de HCC.

AFB1 COMO FACTOR DE RIESGO DEL HCC

La Sociedad Americana del Cáncer calculó que en el 2005 se presentaron alrededor de 667.000 casos de CPH en el mundo, lo que representa la quinta neoplasia más común en la población masculina y la tercera causa de mortalidad por cáncer (29). El HCC representa más del 80% de los casos de CPH. Los principales factores de riesgo asociados incluyen la infección crónica por el virus de la hepatitis B (HBV, por su sigla en inglés) y/o el virus de la hepatitis C (HCV, por su sigla en inglés), el consumo crónico de alcohol y el consumo de alimentos contaminados con AFB1 (29,30). Existen otros factores de riesgo, entre ellos el tabaquismo, la exposición a metales pesados, el uso de anticonceptivos orales y esteroides anabólicos y la exposición a aflatoxina (29,31).

La prevalencia del HCC es significativamente diferente según el país, lo que sugiere una variabilidad en la exposición a los factores de riesgo. La infección crónica por HBV y/o HCV es la causa del 70% al 80% de los casos de HCC, aproximadamente (32); el HBV es el

más importante desde el punto de vista epidemiológico en áreas con alta incidencia de HCC como África, Asia (excluyendo Japón) y la cuenca Amazónica (33). El riesgo de desarrollar HCC es aproximadamente 25 a 35 veces más alto en pacientes con infección crónica por HBV que en los no infectados, y 130 veces más alto en los individuos coinfectados por HBV y HCV, respecto a los no infectados (32,34).

La mayoría de los casos de HCC ocurren en África Subsahariana y en el Este de Asia, regiones en las que la exposición a la AFB1 en la dieta es de particular importancia, además de que tienen una alta prevalencia de infección por HBV (29,30). China tiene más del 50% de los casos en el mundo con una incidencia en hombres de 35,2/100.000 y en mujeres de 13,3/100.000. Por el contrario, en América, el norte de Europa y Oceanía se presentan tasas bajas de incidencia (5,0/100.000) (35).

Evidencias epidemiológicas han demostrado una clara asociación entre la exposición crónica a AFB1 en la dieta y el riesgo de desarrollar HCC. Los primeros estudios hechos en los años 60 y 80 identificaron los alimentos contaminados con mayor frecuencia, las concentraciones de la toxina y la frecuencia del consumo en relación con la incidencia de CPH (36-38). En 1982 se efectuó un estudio de casos y controles en Filipinas que evaluó la ingesta de aflatoxina, el consumo de alcohol y el riesgo de CPH. La evaluación del riesgo relativo (RR) de desarrollar CPH, en relación con el efecto combinado de la aflatoxina y el alcohol, permitió evidenciar un incremento en el riesgo de carcinogénesis hepática en la población con alta exposición a aflatoxina y consumo pesado de alcohol. El RR con baja exposición a aflatoxina y consumo pesado de alcohol fue de 3,9; en el caso de alta exposición a aflatoxina y consumo leve de alcohol fue de 17,5, mientras que el RR asociado con alta exposición a aflatoxina y consumo pesado de alcohol fue de 35 (39).

En los años 90 se llevaron a cabo los primeros estudios de biomarcadores en poblaciones con alta incidencia de HCC; dichos estudios permitieron obtener evidencias contundentes de la asociación entre el HCC y la alta exposición a aflatoxina, además de la sinergia entre esta y otros factores de riesgo (29,40-45). En 1992 Ross y colaboradores demostraron una asociación entre el marcador de infección por HBV y la presencia de metabolitos de AFB1 en muestras de orina de pacientes chinos con diagnóstico de HCC (46).

Posteriormente Lunn y colaboradores (1993) y Wang y colaboradores (1996) hicieron estudios independientes en pacientes con HCC en población de Taiwán, en los cuales se evaluaron la infección por HBV y la exposición a aflatoxinas por detección de metabolitos en la orina, complejos AFB1-albúmina y la presencia de aductos. Se logró demostrar con ambos estudios un riesgo mayor de HCC en la presencia simultánea de estos dos factores de riesgo, en comparación con lo observado por exposición a HBV o AFB1 (47,48).

En 1996, el estudio de Chen y colaboradores ratificó estos resultados gracias a la evidencia del riesgo de HCC atribuible a la alta exposición a AFB1 y la endemia de la infección por HBV en una cohorte de habitantes, de 30 a 65 años, de las islas Pescadores, en Taiwán (49). La prevalencia de la infección crónica por HBV fue de 94% en los casos de HCC diagnosticados en el grupo de estudio. Además, se demostró una frecuencia de 65% de complejos AFB1-albúmina en los casos de HCC, comparada con 37% en el grupo control, diferencia estadísticamente significativa según el análisis multivariado (49).

El marcador de exposición a aflatoxina más utilizado y mejor documentado en casos de HCC es la detección de una mutación puntual en el codón 249 del exón 7 del gen p53. Debido a que se ha demostrado que la AFB1 forma aductos en posiciones específicas (*hotspot*) en este gen, se ha sugerido que la proteína mutante p53 puede ser responsable de la expansión clonal selectiva de hepatocitos transformados (50). Los aductos en AFB1-N7-Gua han sido relacionados específicamente con la transversión de G:C→T:A en la tercera base en el codón 249 (48). Esto se describió por primera vez en dos estudios independientes en el Sureste de África (51) y en Quidong, China (52); en este último estudio se evidenció la transversión puntual en ocho de 16 casos de HCC; también se ha demostrado esta modificación genética en estudios experimentales (50,53).

En general, los estudios han evidenciado algún grado de heterogeneidad en la frecuencia de la mutación en el codón 249 en el gen p53; sin embargo, se considera esta mutación como un marcador de exposición a aflatoxina (48,54). La transversión G→C y la transición G→A son también mutaciones inducidas por la AFB1, aunque con menor frecuencia (55).

La asociación geográfica de la exposición a aflatoxina y la mutación en el codón 249 se han relacionado también con la alta endemia de HBV; la mayoría de las mutaciones en el codón 249 se han comprobado en muestras provenientes de individuos con infección por HBV. Estudios que comparan la frecuencia de esta mutación en áreas con prevalencias similares de infección por HBV, pero con exposición variable a aflatoxina demostraron un alto porcentaje de la mutación en el codón 249 en regiones de alta exposición a esta micotoxina (48,56).

Estudios moleculares han apoyado estos hallazgos epidemiológicos; al parecer, la proteína viral HBx podría favorecer la fijación de mutaciones en el sitio de la formación de aductos o cerca de él, por inhibición de la reparación por escisión de nucleótidos (NER) dependiente o independiente de p53 (57). Otras investigaciones han demostrado la interacción de HBx con moléculas implicadas en el sistema NER acoplado a la transcripción como xeroderma pigmentosum grupo B (XPB) y el factor de transcripción 'F' de tipo II (TFIIIF), lo que impide la reparación por

unión directa al ADN (58). En ensayos *in vitro* en la línea celular HepG2, que se caracteriza por expresar la proteína p53 silvestre, y luego de transfección con HBx, se demostró una mayor susceptibilidad a la acción citotóxica de la AFBO, con respecto a las células control, además de un aumento en la frecuencia de la mutación AGG a AGT en comparación con las células control (58).

Otra hipótesis de la sinergia entre el HBV y la exposición a aflatoxina es que la infección viral altera la expresión de las enzimas involucradas en el metabolismo de la aflatoxina y como consecuencia se genera un incremento en la formación de aductos. Estudios en ratones transgénicos que expresan el antígeno de superficie del HBV (HBsAg) han revelado la inducción de la expresión del citocromo P450 (CYP1A y CPY2A5) en asociación con el daño hepático (59); también se ha observado una disminución significativa en la expresión de la GST, lo que provoca un desequilibrio en la activación y detoxificación del carcinógeno durante la infección (20).

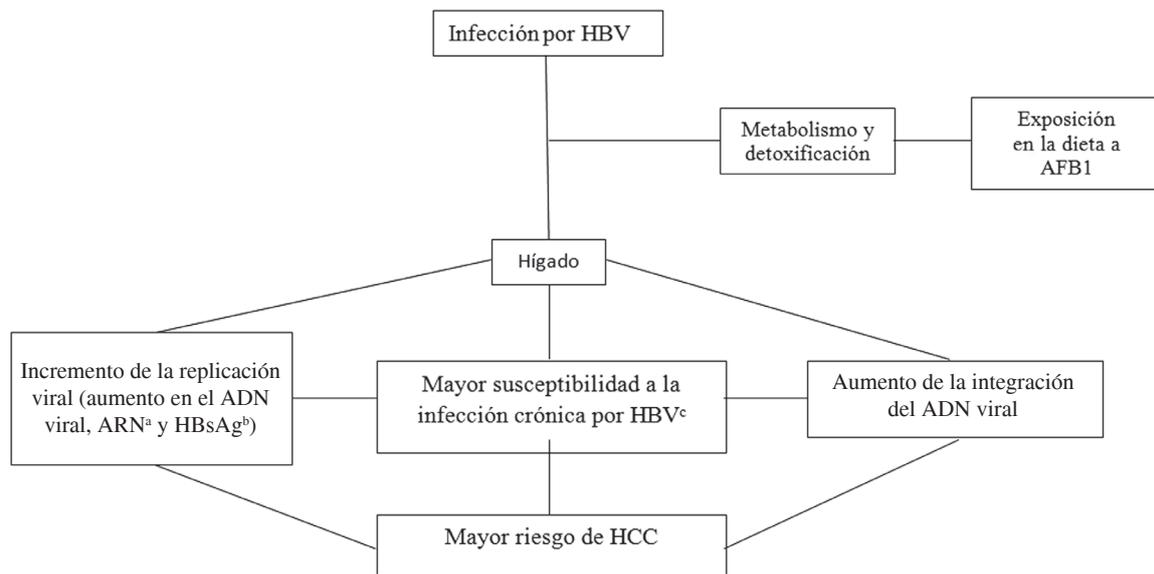


Figura 2. Modelo de interacción entre el HBV y la AFB1: efectos de la exposición en la dieta a AFB1 en la infección crónica por HBV. La exposición a la AFB1 favorece la infección por el HBV; los mecanismos propuestos para este efecto son: mayor tasa de replicación viral, incremento en la integración del ADN viral al genoma del hospedero y aumento de la susceptibilidad a la infección viral crónica por el efecto inmunosupresor de la aflatoxina.

^a En patos; ^b en células HepG2; ^c en animales

Una hipótesis alternativa con respecto a esta sinergia es que la exposición al carcinógeno puede alterar la infección y replicación virales. En un estudio en el modelo animal de la infección por el virus de la hepatitis del pato (DHBV, por su sigla en inglés) y tras la exposición a AFB₁, se encontró un aumento en la carga viral (60); además, en estudios *in vitro* en células HepG2 también se demostró una elevación de los niveles de HBsAg después del tratamiento con AFB₁ (61) (figura 2).

Con respecto a la exposición a aflatoxinas en Latinoamérica los datos publicados son escasos. La exploración de biomarcadores se limita a algunos estudios en Cuba, México, Brasil y Colombia (62-66), así como a la evaluación de la incidencia del HCC y su relación con la exposición a aflatoxinas en la dieta (16). Un estudio en Cuba con 40 pacientes demostró la presencia de complejos AFB₁-albúmina en 32,5% de las muestras de pacientes con infección crónica por HBV y en 15% de los individuos sanos (62); estos resultados sugieren la validez de los complejos AFB₁-albúmina como un marcador de exposición a la micotoxina. Por otra parte, un estudio de 210 pacientes en México detectó la presencia de aductos de AFB₁-ADN en muestras de orina en 50% de los casos con infección por HBV, 26% de los pacientes con cirrosis hepática de origen viral, 10% de los que tenían cirrosis alcohólica y 10% en los individuos sanos (63).

La transversión G:C→T:A en la tercera posición del codón 249 ocasiona el cambio de un aminoácido arginina por serina (mutación 249ser); esta mutación altera el dominio de unión de la proteína p53 al ADN (28). Con respecto a esta mutación en casos de HCC solo se han publicado tres estudios. El primero, hecho en México con 16 muestras de HCC, en el que se describió una frecuencia de 19% de la mutación 249ser (64). El segundo, en Brasil, país en que el nivel máximo permitido de AFB₁ en los alimentos es mayor que en Norteamérica y Europa; la frecuencia de la mutación 249ser fue de 28% (21/74) detectada por la técnica de PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), y de 16% detectada por secuenciación directa (65). En un estudio reciente se evaluó por primera vez la presencia de esta mutación puntual 249ser en casos de HCC en Colombia, registrados en cuatro instituciones de las tres ciudades más importantes, Bogotá, Medellín y Cali. La presencia de la mutación 249ser se confirmó por las técnicas PCR-RFLP y secuenciación

en el 10,5% (4/38) de las muestras (66). Los datos de frecuencia de la mutación 249ser de 16% en población de Brasil y 10,5% en población de Colombia sugieren que estos países latinoamericanos podrían tener una exposición moderada a AFB₁.

Aunque en Colombia la tasa de incidencia de HCC es baja (2,2/100.000 en hombres y 2,0/100.000 en mujeres para el año 2001) (31,67), posiblemente el consumo de aflatoxinas en la dieta sea un factor de riesgo importante en la etiología de esta neoplasia, ya sea de manera independiente o debido a una sinergia con el HBV en las regiones del país en donde es prevalente la infección por este virus, y/o una sinergia con el consumo crónico de alcohol.

FACTORES GENÉTICOS, METABOLISMO Y SUSCEPTIBILIDAD AL HCC

Además de los factores de riesgo asociados al desarrollo de HCC, estudios de epidemiología molecular han demostrado que el riesgo puede estar condicionado tanto en la población como individualmente por las diferencias en la susceptibilidad genética, principalmente relacionada con polimorfismos de genes que codifican para las enzimas implicadas en mecanismos de bioactivación y detoxificación de sustancias carcinógenas como la AFB₁ (68-72).

Numerosos estudios han demostrado que existe variabilidad en el nivel de expresión de las familias enzimáticas más importantes involucradas en el metabolismo de la AFB₁, algunas de las cuales permiten que la AFBO pueda unirse al ADN, al ARN y/o a proteínas como la albúmina (73).

Por ejemplo, el gen que codifica para la EPHX tiene dos sitios polimórficos de importancia en los exones 3 y 4. En el exón 3, el alelo 113Y codifica para una tirosina (Try), mientras que el 113H lo hace para una histidina (His). Las variantes alélicas en el exón 4, 139H y 139R, resultan en proteínas con histidina y arginina en la posición 139, respectivamente. Tanto el alelo 113H como el 139H están relacionados con la disminución en la expresión de la enzima o de la estabilidad y por tanto esto puede estar asociado con el riesgo de desarrollar HCC. En particular, la poca actividad de la enzima descrita para la variante 113H se ha asociado con un aumento en el riesgo de HCC en diferentes estudios en población de China (68,69). La frecuencia de este

polimorfismo es muy variable según la población de estudio. En Gambia, menos del 2% de la población es homocigota para la variante 113H (EPXH HH), mientras que este porcentaje en poblaciones caucásica y china es del 8% y el 35%, respectivamente (72).

Además se ha planteado que los individuos que expresan un alto nivel de CYP3A5 pueden tener un riesgo mayor de desarrollar HCC, debido a que al haber mayor activación es posible que se sature el sistema de detoxificación, favoreciendo la formación de aductos en el ADN (74).

La importancia de los estudios de epidemiología molecular en poblaciones expuestas a los factores de riesgo involucrados en el desarrollo del HCC, en especial la exposición a AFB1 en la dieta, radica en que el conocimiento de las variantes genéticas de las enzimas implicadas en su metabolismo es una herramienta para las autoridades de salud pública en programas de prevención o disminución del riesgo de poblaciones expuestas; también para establecer los límites en los niveles de exposición según el perfil genético.

CONCLUSIONES

Los estudios epidemiológicos sobre la exposición a aflatoxinas en la dieta evidencian que este fenómeno es propio de ciertas regiones donde las condiciones ambientales y de salud, el manejo inadecuado de los alimentos y la escasez de recursos facilitan la contaminación de los mismos; sin embargo, es posible que este problema también esté afectando a otras regiones del mundo con condiciones menos extremas, en donde se han hecho pocos estudios o se desconoce el problema por completo. Es importante llevar a cabo investigaciones que permitan conocer el impacto de este factor de riesgo en regiones diferentes a países de Asia y África, especialmente en donde se conoce o se presume que es alta la endemia de infección por HBV o que hay otros factores (virales, ambientales o genéticos) que puedan incrementar el riesgo de desarrollar HCC.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación del programa de sostenibilidad de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Antioquia y del Departamento Nacional de Ciencia, Innovación y Tecnología, Colciencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hall AJ, Wild CP Liver cancer in low and middle income countries. *BMJ*. 2003 May 10;326(7397):994–5.
2. Lawlor PG, Lynch PB. Mycotoxin management. *Afr. Farming Food Process*. 2005;(46):12–3.
3. Hocking A. Toxigenic aspergillus species. In: Doyle M, Beuchat L, Montville T, editors. *Food Microbiol. – Fundam. Front*. 2nd ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 2001. p. 451–465.
4. Fung F, Clark RF Health effects of mycotoxins: a toxicological overview. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2004 Jan;42(2):217–34.
5. Smith J, Moss M. *Mycotoxins: formation, analysis and significance*. Chichester: John Wiley & Sons; 1985.
6. Moss MO. Recent studies of mycotoxins. *Symp Ser Soc Appl Microbiol*. 1998 Jan;27:62S–76S.
7. Moss MO. Mycotoxin review. 1. aspergillus and penicillium. *Mycologist*. 2002;16:116–9.
8. Blount WP. Turkey “X” Disease. *J. Brit. Turkey Fed*. 1961;(9):52–61.
9. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev*. 2003 Jul;16(3):497–516.
10. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, World Health Organization. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Geneva: World Health Organization; 1993.
11. Hsieh D. Potential human health hazards of mycotoxins. In: Natori KH, Ueno Y, Third Joint Food and Agriculture Organization, World Health Organization, United Nations, Program International Conference of Mycotoxins, editors. *Mycotoxins and phytotoxins*. Amsterdam: Elsevier; 1988. p. 69–80.
12. Christensen C. Field and storage fungi. In: Beuchat LR, editor. *Food beverage Mycol*. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold; 1987. p. 211–32.
13. Sanz López de Alda A. Aislamiento y caracterización de genes de la ruta biosintética de un antifúngico oxopentaeno producido por *Streptomyces* sp. [Madrid]: Centro Nacional de Biotecnología (CSIC); 2005.
14. Carrillo L. Micotoxinas. In: Carrillo L, editor. *Microbiol. Agric. Salta, Argentina: Universidad Nacional de Salta*; 2003.

15. Lyn ME, Abbas HK, Zablotowicz RM, Johnson BJ. Delivery systems for biological control agents to manage aflatoxin contamination of pre-harvest maize. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2009 Mar;26(3):381-7.
16. Scussel VM. Aflatoxin and food safety: recent South American perspectives. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 2004;23:179-216.
17. Gaviria I, Giraldo J. Evaluación genotóxica de aflatoxinas aisladas de maíz almacenado para consumo humano y animal. Medellín: Universidad de Antioquia - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Departamento de Biología; 1995.
18. Diaz G, Perilla N, Rojas Y. Occurrence of aflatoxins in selected colombian foods. *Mycotoxin Res.* 2001 Mar;17(1):15-20.
19. Diaz GJ, Murcia HW. Biotransformation of Aflatoxin B1 and Its Relationship with the Differential Toxicological Response to Aflatoxin in Commercial Poultry Species. In: Guevara-González RG, editor. *Aflatoxins - Biochem. Mol. Biol.* Rijeka, Croacia: InTech; 2011.
20. Smela ME, Currier SS, Bailey EA, Essigmann JM. The chemistry and biology of aflatoxin B(1): from mutational spectrometry to carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 2001 Apr;22(4):535-45.
21. Wild CP, Turner PC. The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis.* 2002 Nov;17(6):471-81.
22. Smela ME, Hamm ML, Henderson PT, Harris CM, Harris TM, Essigmann JM. The aflatoxin B(1) formamido-pyrimidine adduct plays a major role in causing the types of mutations observed in human hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 May 14;99(10):6655-60.
23. Gross-Steinmeyer K, Eaton DL. Dietary modulation of the biotransformation and genotoxicity of aflatoxin B(1). *Toxicology.* 2012 Sep 28;299(2-3):69-79.
24. Wilson AS, Williams DP, Davis CD, Tingle MD, Park BK. Bioactivation and inactivation of aflatoxin B1 by human, mouse and rat liver preparations: effect on SCE in human mononuclear leucocytes. *Mutat Res.* 1997 Feb 3;373(2):257-64.
25. Raney KD, Meyer DJ, Ketterer B, Harris TM, Guengerich FP. Glutathione conjugation of aflatoxin B1 exo- and endo-epoxides by rat and human glutathione S-transferases. *Chem Res Toxicol.* 1992;5(4):470-8.
26. Buetler TM, Eaton DL. Complementary DNA cloning, messenger RNA expression, and induction of alpha-class glutathione S-transferases in mouse tissues. *Cancer Res.* 1992 Jan 15;52(2):314-8.
27. Sabbioni G, Skipper PL, Büchi G, Tannenbaum SR. Isolation and characterization of the major serum albumin adduct formed by aflatoxin B1 in vivo in rats. *Carcinogenesis.* 1987 Jun;8(6):819-24.
28. Uribe-Yunda DF, Navas M-C. Mecanismos moleculares involucrados en la mutagenicidad inducida por aflatoxina B1. *Rev Cienc Salud.* 2012;10(3):403-19.
29. Montesano R, Hainaut P, Wild CP. Hepatocellular carcinoma: from gene to public health. *J Natl Cancer Inst.* 1997 Dec 17;89(24):1844-51.
30. Farazi PA, DePinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nat Rev Cancer.* 2006 Sep;6(9):674-87.
31. McGlynn KA, Tsao L, Hsing AW, Devesa SS, Fraumeni JF. International trends and patterns of primary liver cancer. *Int J Cancer.* 2001 Oct 15;94(2):290-6.
32. Wands JR. Prevention of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med.* 2004 Oct 7;351(15):1567-70.
33. Tran TT, Martin P. Hepatitis B: epidemiology and natural history. *Clin Liver Dis.* 2004 May;8(2):255-66.
34. Yu MW, Chen CJ. Hepatitis B and C viruses in the development of hepatocellular carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1994 Oct;17(2):71-91.
35. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2007 Jun;132(7):2557-66.
36. Lohiya G, Nichols L, Hsieh D, Lohiya S, Nguyen H. Aflatoxin content of foods served to a population with a high incidence of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 1987;7(4):750-2.
37. Jackson PE, Groopman JD. Aflatoxin and liver cancer. *Baillieres Best Pr. Res Clin Gastroenterol.* 1999 Dec;13(4):545-55.
38. Wogan GN. Aflatoxin as a human carcinogen. *Hepatology.* 1999 Aug;30(2):573-5.
39. Bulatao-Jayme J, Almero EM, Castro MC, Jardeleza MT, Salamat LA. A case-control dietary study of primary liver cancer risk from aflatoxin exposure. *Int J Epidemiol.* 1982 Jun;11(2):112-9.
40. Groopman JD, DeMatos P, Egner PA, Love-Hunt A, Kensler TW. Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-N7-guanine

- and serum aflatoxin-albumin adducts predicts chemoprotection by 1,2-dithiole-3-thione in rats. *Carcinogenesis*. 1992 Jan;13(1):101–6.
41. Cheng Z, Root M, Pan W, Chen J, Campbell TC. Use of an improved method for analysis of urinary aflatoxin M1 in a survey of mainland China and Taiwan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1997 Jul;6(7):523–9.
 42. Careri M, Bianchi F, Corradini C. Recent advances in the application of mass spectrometry in food-related analysis. *J Chromatogr A*. 2002 Sep 13;970(1-2):3–64.
 43. Sun C-A, Wu D-M, Wang L-Y, Chen C-J, You S-L, Santella RM. Determinants of formation of aflatoxin-albumin adducts: a seven-township study in Taiwan. *Br J Cancer*. 2002 Oct 21;87(9):966–70.
 44. Szymańska K, Lesi OA, Kirk GD, Sam O, Taniere P, Scoazec J-Y, et al. Ser-249TP53 mutation in tumour and plasma DNA of hepatocellular carcinoma patients from a high incidence area in the Gambia, West Africa. *Int J Cancer*. 2004 Jun 20;110(3):374–9.
 45. Everley RA, Ciner FL, Zhan D, Scholl PF, Groopman JD, Croley TR. Measurement of aflatoxin and aflatoxin metabolites in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol*. 2007 Apr;31(3):150–6.
 46. Ross RK, Yuan JM, Yu MC, Wogan GN, Qian GS, Tu JT, et al. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 1992 Apr 18;339(8799):943–6.
 47. Wang LY, Hatch M, Chen CJ, Levin B, You SL, Lu SN, et al. Aflatoxin exposure and risk of hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Int J Cancer*. 1996 Sep 4;67(5):620–5.
 48. Lunn RM, Zhang YJ, Wang LY, Chen CJ, Lee PH, Lee CS, et al. p53 mutations, chronic hepatitis B virus infection, and aflatoxin exposure in hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Cancer Res*. 1997 Aug 15;57(16):3471–7.
 49. Chen CJ, Wang LY, Lu SN, Wu MH, You SL, Zhang YJ, et al. Elevated aflatoxin exposure and increased risk of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 1996 Jul;24(1):38–42.
 50. Puisieux A, Lim S, Groopman J, Ozturk M. Selective targeting of p53 gene mutational hotspots in human cancers by etiologically defined carcinogens. *Cancer Res*. 1991 Nov 15;51(22):6185–9.
 51. Bressac B, Kew M, Wands J, Ozturk M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature*. 1991 Apr 4;350(6317):429–31.
 52. Hsu IC, Metcalf RA, Sun T, Welsh JA, Wang NJ, Harris CC. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature*. 1991 Apr 4;350(6317):427–8.
 53. Aguilar F, Hussain SP, Cerutti P. Aflatoxin B1 induces the transversion of G→T in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Sep 15;90(18):8586–90.
 54. Chan K-T, Hsieh DPH, Lung ML. In vitro aflatoxin B1-induced p53 mutations. *Cancer Lett*. 2003 Sep 10;199(1):1–7.
 55. Levy DD, Groopman JD, Lim SE, Seidman MM, Kraemer KH. Sequence specificity of aflatoxin B1-induced mutations in a plasmid replicated in xeroderma pigmentosum and DNA repair proficient human cells. *Cancer Res*. 1992 Oct 15;52(20):5668–73.
 56. Shen HM, Ong CN. Mutations of the p53 tumor suppressor gene and ras oncogenes in aflatoxin hepatocarcinogenesis. *Mutat Res*. 1996 Oct;366(1):23–44.
 57. Bergametti F, Prigent S, Lubet B, Benoit A, Tiollais P, Sarasin A, et al. The proapoptotic effect of hepatitis B virus HBx protein correlates with its transactivation activity in stably transfected cell lines. *Oncogene*. 1999 May 6;18(18):2860–71.
 58. Sohn S, Jaitovitch-Groisman I, Benlimame N, Galipeau J, Batist G, Alaoui-Jamali MA. Retroviral expression of the hepatitis B virus x gene promotes liver cell susceptibility to carcinogen-induced site specific mutagenesis. *Mutat Res*. 2000 Jun 30;460(1):17–28.
 59. Chemin I, Takahashi S, Belloc C, Lang MA, Ando K, Guidotti LG, et al. Differential induction of carcinogen metabolizing enzymes in a transgenic mouse model of fulminant hepatitis. *Hepatology*. 1996 Sep;24(3):649–56.
 60. Barraud L, Guerret S, Chevallier M, Borel C, Jamard C, Trepo C, et al. Enhanced duck hepatitis B virus gene expression following aflatoxin B1 exposure. *Hepatology*. 1999 Apr;29(4):1317–23.
 61. Banerjee R, Caruccio L, Zhang YJ, McKercher S, Santella RM. Effects of carcinogen-induced transcription factors on the activation of hepatitis B virus expression in human hepatoblastoma HepG2 cells and its

- implication on hepatocellular carcinomas. *Hepatology*. 2000 Aug;32(2):367–74.
62. Alvarez MT, Castañeda C, Ruisanchez N, Aleaga M, García E, Escobar MP [Immunological detection of aflatoxin-albumin adducts in children with chronic hepatitis B infection]. *G E N*. 1995;49(1):36–41.
 63. Álvarez-Bañuelos MT, Carvajal-Moreno M, Ruisánchez-Peón N, Rojo F. Aductos ADN-Aflatoxina como biomarcador de exposición en grupos de riesgo de cáncer de hígado. *Rev Cuba. Oncol*. 2000;16(1):35–9.
 64. Soini Y, Chia SC, Bennett WP, Groopman JD, Wang JS, DeBenedetti VM, et al. An aflatoxin-associated mutational hotspot at codon 249 in the p53 tumor suppressor gene occurs in hepatocellular carcinomas from Mexico. *Carcinogenesis*. 1996 May;17(5):1007–12.
 65. Nogueira JA, Ono-Nita SK, Nita ME, de Souza MMT, do Carmo EP, Mello ES, et al. 249 TP53 mutation has high prevalence and is correlated with larger and poorly differentiated HCC in Brazilian patients. *BMC Cancer*. 2009 Jan;9:204.
 66. Navas M-C, Suarez I, Carreño A, Uribe D, Rios WA, Cortes-Mancera F et al. Hepatitis B and Hepatitis C Infection Biomarkers and TP53 Mutations in Hepatocellular Carcinomas from Colombia. *Hepat Res Treat*. 2011 Jan;2011:582945.
 67. Botero Toro A, Londoño Sanín M, Navas Navas MC. Epidemiología y factores de riesgo de carcinoma hepatocelular. *Iatreia*. 2007;20(1):64–73.
 68. Bedard LL, Alessi M, Davey S, Massey TE. Susceptibility to aflatoxin B1-induced carcinogenesis correlates with tissue-specific differences in DNA repair activity in mouse and in rat. *Cancer Res*. 2005 Feb 15;65(4):1265–70.
 69. Tiemersma EW, Omer RE, Bunschoten A, van't Veer P, Kok FJ, Idris MO, et al. Role of genetic polymorphism of glutathione-S-transferase T1 and microsomal epoxide hydrolase in aflatoxin-associated hepatocellular carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001 Jul;10(7):785–91.
 70. Chen X, Wang H, Xie W, Liang R, Wei Z, Zhi L, et al. Association of CYP1A2 genetic polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility: a case-control study in a high-risk region of China. *Pharmacogenet Genomics*. 2006 Mar;16(3):219–27.
 71. Dash B, Afriyie-Gyawu E, Huebner HJ, Porter W, Wang JS, Jolly PE, et al. Determinants of the variability of aflatoxin-albumin adduct levels in Ghanaians. *J Toxicol Env. Heal. A*. 2007 Jan;70(1):58–66.
 72. Wild CP, Yin F, Turner PC, Chemin I, Chapot B, Mendy M, et al. Environmental and genetic determinants of aflatoxin-albumin adducts in the Gambia. *Int J Cancer*. 2000 Apr 1;86(1):1–7.
 73. Guo Y, Breeden LL, Fan W, Zhao LP, Eaton DL, Zarbl H. Analysis of cellular responses to aflatoxin B(1) in yeast expressing human cytochrome P450 1A2 using cDNA microarrays. *Mutat Res*. 2006 Jan 29;593(1-2):121–42.
 74. Wojnowski L, Turner PC, Pedersen B, Hustert E, Brockmüller J, Mendy M, et al. Increased levels of aflatoxin-albumin adducts are associated with CYP3A5 polymorphisms in The Gambia, West Africa. *Pharmacogenetics*. 2004 Oct;14(10):691–700.

