





# ACTUALIZACIÓN

## AFLATOXINAS: MECANISMOS DE TOXICIDAD EN LA ETIOLOGÍA DE CÁNCER HEPÁTICO CELULAR

José R. Urrego Novoa<sup>1</sup>, Gonzalo J. Díaz<sup>2</sup>

1. *Químico Farmaceuta, Estudiante de Maestría. Departamento de Toxicología, Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.*
2. *Médico Veterinario. MSc. PhD. Profesor de Toxicología. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.*

\* Correspondencia: gjdiazg@unal.edu.co

### Resumen

La aflatoxina B1 (AFB1), producida por algunos hongos del género *Aspergillus*, está entre los más potentes carcinógenos conocidos. Su acción carcinogénica se basa en la biotransformación por el sistema hepático microsomal P450 a AFB1-8,9-epóxido, un intermediario altamente reactivo capaz de unirse a las proteínas, a los ácidos ribonucleico y desoxirribonucleico; formando un compuesto estable con el N7 de los residuos guanil que puede causar mutaciones en el codón 249 del gen *p53* supresor de tumores. Esta alteración es característica de varios carcinomas, especialmente del carcinoma hepático en el hombre. La AFB1-8,9-epóxido forma uniones covalentes (aductos) con los residuos de guanina del ADN, que se excretan por vía urinaria y pueden utilizarse como biomarcadores de exposición en los grupos a riesgo de cáncer del hígado.

Dado que las aflatoxinas son frecuentes en los granos de consumo humano, los países tropica-

les como Colombia, requieren estudios para determinar su presencia en alimentos de consumo humano y la de sus biomarcadores.

Esta información podía ayudar a generar normatividades que permitan delinear políticas de salud pública para un adecuado control de estos carcinógenos.

**Palabras clave:** aflatoxinas, cáncer hepático, carcinoma, marcadores biológicos de tumor, mecanismos moleculares de acción, toxicología, mutágenos.

### Summary

Aflatoxin B1 (AFB1) is produced by some fungus of the *Aspergillus* genus and it is one of the most potent known carcinogens. Action mechanisms, involves its biotransformation by the hepatic microsomal system P450 to AFB1-8, 9-epoxide. This epoxide is very reactive and electrophilic and may react with intracellular proteins, RNA or DNA. When the epoxide reacts

with nucleic acids it forms a stable adduct with the N7 of the guanine residues and may induce mutations at codon 249 of the tumor suppressor gene *p53*. This alteration is characteristic of several carcinomas, particularly human liver carcinoma. The AFB1-8, 9-epoxide forms covalent bonds (adducts) with guanil residues in DNA; these adducts are excreted in the urine and can be used as biomarkers in risk groups for liver cancer.

Given the high frequency of aflatoxins occurrence in grains for human consumption in tropical countries like Colombia, it is necessary to conduct studies to determine both the presence of aflatoxins in food and biomarkers in urine. This information could lead to the implementation of regulations intended to define public health measures for the control of aflatoxins exposure.

**Key words:** aflatoxins, hepatic cancer, carcinoma, tumor markers, biological, molecular mechanisms of action, toxicology, mutagens.

## Introducción

La exposición en la dieta a carcinógenos y mutágenos depende de los hábitos individuales de consumo, los cuales varían con la edad, la disponibilidad de alimentos y el estilo de vida. Los individuos se exponen a veces a un agente particular de una forma intermitente o discontinua y en otras ocasiones de forma continua. La exposición humana a micotoxinas por consumo de alimentos contaminados es un tema de salud pública en el mundo. La contaminación de los alimentos puede ocurrir en el campo antes o después de la cosecha o durante el transporte y almacenamiento del producto. Las micotoxinas son metabolitos secundarios de ciertos hongos filamentosos que ejercen efectos tóxicos en la salud humana y animal. Estos metabolitos son producidos por varios géneros y especies de

hongos y se generan cuando hay deficiencia de nutrientes esenciales o cuando el crecimiento del hongo termina y los procesos de síntesis del mismo se encaminan hacia la producción de metabolitos secundarios incluyendo pigmentos, antibióticos y micotoxinas (1). Las micotoxicosis pueden presentarse tanto en países industrializados como en desarrollo cuando el medio ambiente social y económico se combina con condiciones meteorológicas (humedad, temperatura) a favor del crecimiento de los hongos (2). Las micotoxinas son estructuralmente un grupo diverso de compuestos con bajo peso molecular (generalmente 300 a 400 D) que se producen principalmente por el metabolismo secundario de cepas de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* y *Alternaria* (3).

La severidad de los efectos de las micotoxinas depende del tipo de micotoxina, la intensidad de la exposición, la edad, el sexo y de posibles efectos de sinergia con otras sustancias o patologías propias del individuo. Las aflatoxinas son contaminantes comunes de ciertos alimentos, particularmente en cereales usados en la dieta en muchos países en desarrollo. Son consideradas contaminantes inevitables de alimentos por la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO).

El propósito de este artículo es presentar una revisión de los mecanismos de toxicidad hepática de las aflatoxinas en humanos.

## Origen

En la naturaleza muchos cereales, semillas de oleaginosas, nueces de árboles y frutos deshidratados son susceptibles a contaminación por hongos toxigénicos y la formación de micotoxinas dependiendo de las condiciones de almacenamiento.



**Tabla 1.** Características químicas de las aflatoxinas

Tipo Aflatoxina	Fórmula Estructural	Peso Molecular (g/mol)	Punto Fusión °C
<b>Serie 1 difuro-cumaro-ciclo-pentanonas</b>			
B <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	268-269
B <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289
G <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	328	244-246
G <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240
M <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299
M <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293
<b>Serie 2 difuro-cumaro-lactonas</b>			
G <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	328	244-246
G <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240

La acumulación de aflatoxinas depende de las condiciones del medio ambiente. Antes de la cosecha, el riesgo para el desarrollo de aflatoxinas es más grande durante los periodos de sequía. Cuando la humedad está debajo del valor normal y la temperatura es alta, el número de esporas en el aire de *Aspergillus* se incrementa. Estas esporas infectan las cosechas a través de los insectos. Una vez infectada una planta, la producción de aflatoxinas se favorece (4).

Durante la fase de post-cosecha, la proliferación de hongos y producción de aflatoxinas puede exacerbarse en sitios calientes y húmedos de almacenamiento.

### Características químicas

Las aflatoxinas son inodoras, insípidas e incoloras. Químicamente, son estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales. Es difícil eliminarlas una vez que se producen.

Las aflatoxinas son un grupo de hepatocarcinógenos pertenecientes a la familia de las difurano-cumarinas, se clasifican en dos grandes grupos de acuerdo a su estructura química; la serie 1 difuro-cumaro-ciclo-pentanonas (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFB<sub>2A</sub>, AFM<sub>1</sub>, AFM<sub>2</sub>, AFM<sub>2A</sub> y

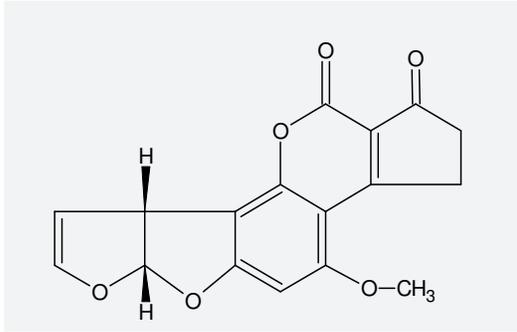
aflatoxicol) y la serie 2 difuro-cumaro-lactonas (AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, AFG<sub>2A</sub>, AFGM<sub>1</sub>, AFGM<sub>2</sub>, AFGM<sub>2A</sub> y AFB<sub>3</sub>) (Tabla 1) (5).

Las dos principales especies de *Aspergillus* que producen aflatoxinas son *A. flavus* que origina únicamente aflatoxinas B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> y *A. parasiticus* que puede producir aflatoxinas B y G. Sin embargo, las más importantes son B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>, distinguidos por su color fluorescente bajo la luz ultravioleta (B: “blue”, azul y G: “green”, verde) (Figuras 1,2,3,4).

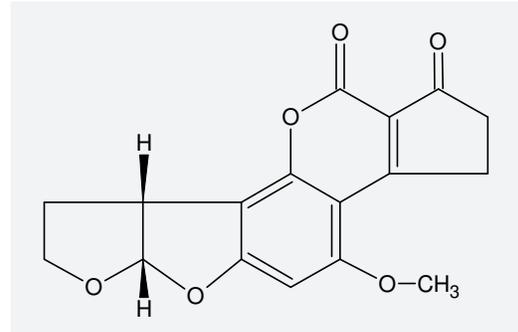
Las aflatoxinas M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub> son respectivamente productos hidroxilados del metabolismo oxidativo de las aflatoxinas B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> estos metabolitos pueden eliminarse en la leche (tanto en humanos como en animales).

Las aflatoxinas B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> son menos frecuentes y casi nulas en ausencia de AFB<sub>1</sub>. Las aflatoxinas pueden causar toxicidad aguda y crónica en los animales. Los efectos como daños de tipo agudo en hígado, cirrosis, inducción de tumores y efectos teratogénicos se han documentado en la literatura.

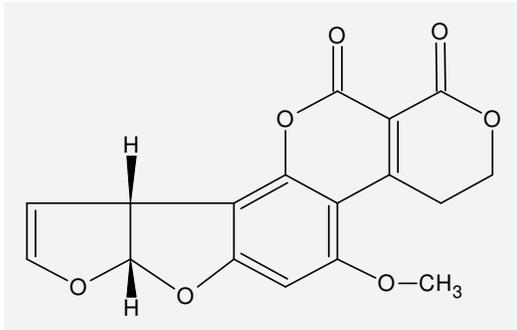
Actualmente, la toxicidad aguda por aflatoxinas en humanos presenta muy baja incidencia. Los síntomas pueden incluir fiebre, vómito e ictericia. El



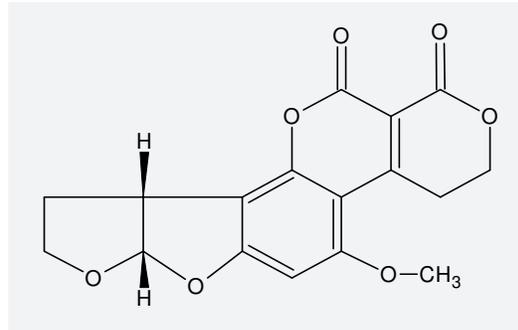
**Figura 1.** Aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>): 2,3, 6a á, 9a á-TETRAHIDRO-4-METOXICICLOPENTA (C) FURO (3',2':4,5) FURO (2,3-h) (1) BENZO-PIRANO-1,11-DIONA.



**Figura 2.** Aflatoxina B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>): 2, 3, 6a, 8, 9, 9a á-HEXADIDRO-4-METOXICICLOPENTA (C) FURO (3',2':4,5) FURO (2,3-h) (1) BENZO-PIRANO-1,11-DIONA.



**Figura 3.** Aflatoxina G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>): 3,4,7a, 10 á-TETRAHIDRO-5-METOXI-1H, 12H-FURO-(3',2': 4,5) FURO (2,3-h)-PIRANO (3,4c) (1)-BENZOPIRANO-1,12-DIONA.



**Figura 4.** Aflatoxina G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>): 3,4,7a, 9, 10, 10a á-HEXAHIDRO-5-METOXI-1H, 12H-FURO (3',2':4,5) FURO (2,3-h)-PIRANO-(3,4c) (1)-BENZOPIRANO-1,12-DIONA.

daño agudo del hígado puede ser fatal en casos severos. Las aflatoxinas de la serie 1 son en general mucho más tóxicas que las de la serie 2. La aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) ha sido clasificada en el grupo 1 por la IARC (International Agency Research Cancer) como carcinógeno cuyo órgano blanco es el hígado (6). Las aflatoxinas se encuentran en una gama amplia de cacahuets de regiones tropicales o subtropicales. La AFB<sub>1</sub> es más frecuente en maíz, maní, nueces, arroz, cereales y torta de algodón (7).

### Efectos tóxicos

La exposición humana a aflatoxinas se produce principalmente por ingestión de comidas conta-

minadas. La inhalación de estas toxinas también puede suceder ocasionalmente debido a exposición de tipo laboral o profesional.

Dentro de los efectos agudos por micotoxinas se hallan: hepatitis aguda, los síndromes de Reye y de Kwashiorkor especialmente en niños de los trópicos (8); el cuadro clínico incluye hígado graso y edema cerebral severo; a largo plazo se presentan efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, estrogénicos, inmunotóxicos, nefrotóxicos y neurotóxicos (2,3,8,9).

### Toxicocinética

Las aflatoxinas son absorbidas en el tracto



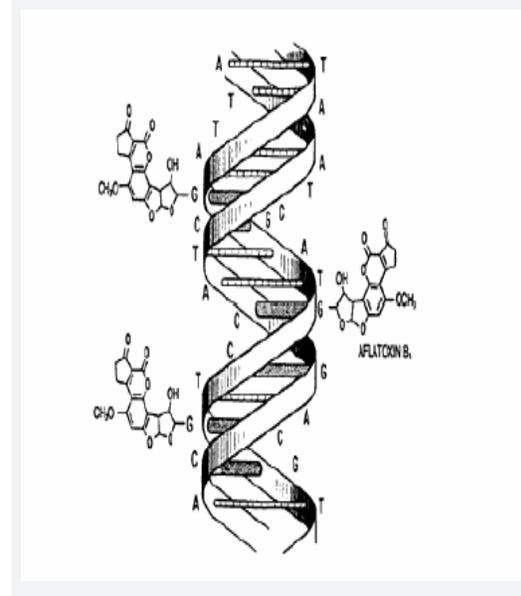
gastrointestinal debido a su alta liposolubilidad (6), son biotransformadas en el hígado por enzimas microsomales de la superfamilia del citocromo P450 entre las que se encuentran CYP1A2, 3A4, 3A5 y 3A7. Las dos enzimas más importantes son representadas por la CYP3A4 que interviene en la formación de la forma *exo*-epóxido y el metabolito AFQ<sub>1</sub>. La CYP1A2 forma en su mayoría la forma *endo*-epóxido y la AFM<sub>1</sub>. En humanos adicionalmente se producen otros metabolitos como son aflatoxicol, AFP<sub>1</sub>, AFB<sub>2a</sub> y AFB<sub>1</sub>-2,2 dihidrodiol, el tiempo de vida media plasmática para la AFB<sub>1</sub> es de 36.5 minutos, su volumen de distribución 14 por ciento del peso corporal y el aclaramiento renal 1,25 l/kg/h. Aproximadamente el 80 por ciento de la dosis total de AFB<sub>1</sub> se excreta en una semana. La AFM<sub>1</sub> se excreta en las 48 horas siguientes a la ingestión y representa entre el 1-4 por ciento de la AFB<sub>1</sub> ingerida (6).

### Mecanismos de carcinogenicidad de la AFB<sub>1</sub>

El primer paso al asignar el rol de la AFB<sub>1</sub> en cáncer humano es la elucidación de los mecanismos que llevan a la mutagenicidad, primer evento en la iniciación del tumor.

La mutagenicidad ha sido establecida previamente mediante ensayos con *Salmonella typhimurium* empleando la prueba de Ames. Los resultados obtenidos para varios tipos de *Salmonella* indican que la AFB<sub>1</sub> requiere una activación para producir mutaciones. La ruta de activación es la conversión de AFB<sub>1</sub> en el metabolito electrofílico AFB<sub>1</sub>-8,9-epóxido (anteriormente denominado AFB<sub>1</sub>-2,3 epóxido) (10,11).

La formación del epóxido requiere la presencia de un doble enlace entre los carbonos C8-C9, por esta razón las aflatoxinas B<sub>2</sub> y G<sub>2</sub> son prácticamente atóxicas en comparación con las aflato-



**Figura 5.** Formación de aductos aflatoxina B1-DNA  
Fuente: Referencia 14.

xinas B<sub>1</sub> y G<sub>1</sub>. La AFM<sub>1</sub>, aunque presenta el doble enlace entre los carbonos C8 y C9, es dos órdenes de magnitud menos tóxica que la AFB<sub>1</sub> en cuanto a carcinogenicidad se refiere (12).

La AFB<sub>1</sub>-epóxido presenta dos conformaciones: una *endo* y una *exo*. La forma *endo* posee aproximadamente 500 veces más poder mutagénico que la forma *exo* (3). El fenómeno de mutagenicidad puede explicarse mediante la formación de un compuesto estable por la unión covalente con el nitrógeno N-7 de los residuos guanil del DNA (o RNA) mediante la inducción de depurinación y escisión de la hebra lo que puede inducir mutación en células somáticas. Esta formación de ligandos o aductos persistentes se lleva a cabo en regiones del DNA ricas en guanina. En el proceso de replicación del DNA, el complejo formado se intercala causando mutación: la guanina sufre transversión a timina; esto ocurre en el codón 249 del gen *p53* (este gen está implicado como punto de chequeo durante la síntesis y reparación del DNA. Si el daño no se repara, esta

misma proteína induce apoptosis) (5,6,13,14).

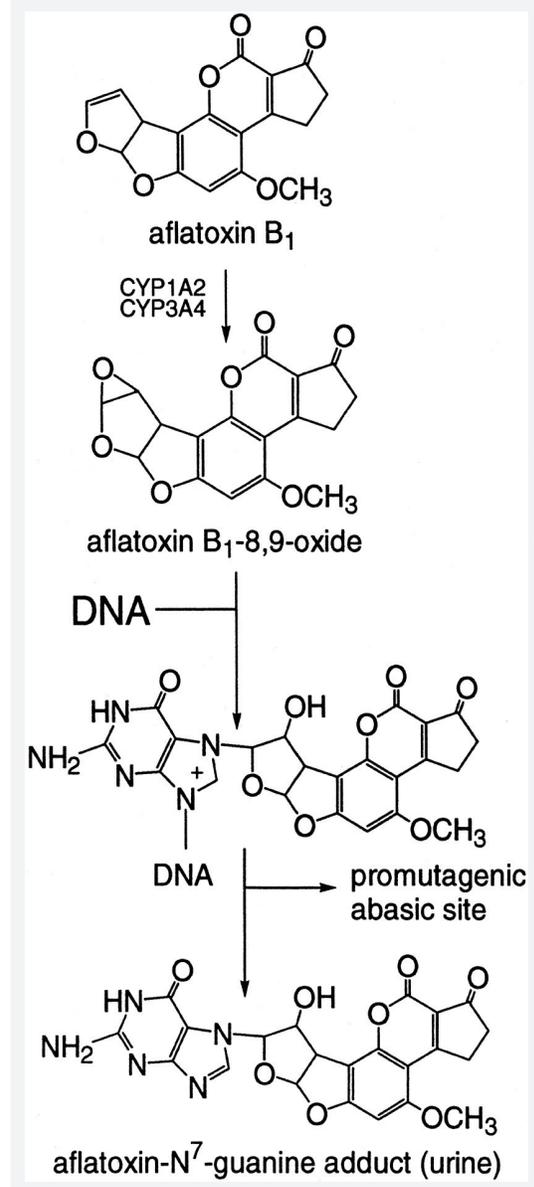
La ocurrencia de este tipo de alteración se ha determinado como carcinoma hepatocelular en pacientes de China y Africa (Figura 5) (3,12).

Después de la formación de la AFB<sub>1</sub>-epóxido pueden formarse dihidrodioles (8,9-dihidro-8,9-dihidroxi-aflatoxina B<sub>1</sub>) metabolitos de la AFB<sub>1</sub> que se unen a proteínas celulares mediante la formación de bases de Schiff induciendo daño celular y eventualmente muerte celular; es importante resaltar que la AFB<sub>1</sub>-epóxido puede también formar aductos con los residuos de lisina de la albúmina y otras proteínas celulares. Cerca del 5 por ciento de la dosis ingerida de AFB<sub>1</sub> se une a la albúmina (3).

La AFB<sub>1</sub>-epóxido puede también reaccionar con glutatión mediante un mecanismo mediado por una glutatión-S-transferasa; esta conjugación de tipo competitivo representa el paso de detoxificación más importante con respecto a otros tipos de biotransformación en la obtención de metabolitos menos tóxicos de AFB<sub>1</sub>, incluyendo entre ellos aflatoxicol y otros derivados como la M<sub>1</sub>, P<sub>1</sub> y Q<sub>1</sub> (15).

La comparación entre la activación y detoxificación de la AFB<sub>1</sub>-epóxido en diferentes especies animales provee la base para entender por qué las especies varían en su sensibilidad a los efectos tóxicos y carcinogénicos inducidos por la AFB<sub>1</sub>. En contraste con experimentos en roedores se ha evidenciado que en los humanos la CYP3A4 tiene una menor afinidad por la AFB<sub>1</sub> y en cambio la enzima CYP1A2 posee una alta afinidad. La CYP1A2 se conoce por su capacidad para bioactivar muchos procarcinógenos a su forma carcinogénica activa (Figura 6) (16,17).

Esto implica que las bajas concentraciones de



**Figura 6.** Formación aducto aflatoxina-DNA y compuesto utilizado como biomarcador de exposición en orina. Fuente: Referencia 14.

AFB<sub>1</sub> presentes en los alimentos pueden ser activadas por vía metabólica de CYP1A2 mientras que la CYP3A4 participa en procesos de biotransformación en donde predomina la detoxificación de los metabolitos de la AFB<sub>1</sub> (18).

Las modificaciones del gen *p53* se han demos-



trado en una variedad de carcinomas humanos. La proteína p53 es un polipéptido con peso molecular de 53000 daltons. Su importancia como arma antitumoral se evidencia en el hecho de que casi el 50 por ciento de todos los cánceres humanos contienen células con mutaciones puntuales o supresiones en ambas copias del gen *p53*. Estas neoplasias tienden a ser más invasivas y provocan metástasis con mayor frecuencia, correlacionándose con una menor tasa de supervivencia (19).

El espectro de mutación de *p53* en el carcinoma hepatocelular humano muestra una incidencia casi igual de transiciones y transversiones con una alta frecuencia de mutaciones. Preferencialmente las mutaciones ocurren en dos puntos específicos: el dominio IV del codón 234-258 y el dominio V involucrando al codón 270-286. Esto incrementa la evidencia de la mutación en donde la guanina sufre transversión a timina en la tercera base del codón 249, un rasgo específico de la AFB<sub>1</sub> como inductora de carcinoma hepatocelular humano.

Dado que la AFB<sub>1</sub> puede alterar el codón 249 del *p53* por esta vía se puede inactivar o perder su función controladora del ciclo celular y facilitar la aparición de tumores. Sin embargo este codón también puede ser mutado por otros factores como la hepatitis B (18).

### **Papel de las aflatoxinas en la etiología de cáncer hepático celular**

Estudios epidemiológicos en África y Asia Oriental apoyaron una correlación positiva entre el logaritmo de ingestión de alimentos contaminados con AFB<sub>1</sub> y la ocurrencia de cáncer primario en humanos; los estudios revelaron que la co-existencia del virus de la hepatitis B podría contribuir a la incidencia más alta de cáncer en poblaciones expuestas a aflatoxinas (20).

Uno de los inconvenientes para la comprobación científica sobre el desenvolvimiento de las aflatoxinas en la etiología del cáncer hepático en humanos radica en que la mayoría de estudios epidemiológicos fueron realizados en áreas donde la infección por el virus de la hepatitis B (HBV) es endémica y también se correlaciona con la incidencia de carcinoma hepatocelular (11,21). De hecho, la infección por hepatitis B es considerada el principal factor de riesgo para cáncer hepático. En países como Taiwán existe una alta incidencia de carcinoma hepatocelular en portadores del HBV. Se han encontrado secuencias del virus HBV en genomas de hepatocitos con carcinoma hepatocelular; sin embargo esta integración no constituye un componente obligatorio de cáncer hepático o de una hepatitis crónica (11). La relación entre la hepatitis B crónica y el carcinoma hepatocelular se ha basado en la presencia de ADN viral en células hepáticas tumorales, es 300 veces superior al riesgo de desarrollar un hepatocarcinoma por un portador crónico de la hepatitis B que en un no portador (20).

### **Biomarcadores de exposición a AFB<sub>1</sub>**

La determinación de AFB<sub>1</sub> libre refleja exposiciones en las 24 a 48 horas previas, en tanto los metabolitos AFM<sub>1</sub>, AFP<sub>1</sub> indican medidas de detoxificación metabólica. Cuando se complementan con la detección mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography) de aductos de ADN-AFB<sub>1</sub>-N7-Gua en orina, muestran la exposición reciente. De la misma forma un biomarcador para exposición crónica a aflatoxinas es la detección mediante aductos AFB<sub>1</sub>-Albúmina en sangre (5,21).

El aducto AFB<sub>1</sub>-N7-Gua en orina puede ser un buen biomarcador molecular del riesgo de daño por aflatoxinas y de su importancia como agente etiológico de cáncer hepático primario (20,22,23).

## Incidencia de cáncer hepático primario en humanos

Aunque el cáncer hepático primario no está entre las primeras causas de muerte por cáncer en el mundo, no tiene menos importancia que los que le preceden en este orden. Por lo tanto se debe aprovechar todos los medios posibles para lograr una prevención efectiva.

Cada año en el mundo se presentan 250 mil casos nuevos de cáncer hepático, de los cuales más de 190 mil ocurren en países en desarrollo, principalmente África y China. En América Latina, se registra el cáncer de hígado en el cuarto lugar de muerte por cáncer, sin que esto se asocie a altas tasas de hepatitis B, cirrosis u otras enfermedades hepáticas. A pesar de que más del 60 por ciento se codifica como cáncer de hígado no especificado como primario ni como secundario, con frecuencia el cáncer secundario por metástasis se diagnostica y luego se codifica como primario, cuando en realidad se trata de lesiones malignas producto de una lesión de origen no determinado o de diagnóstico tardío (24).

En Colombia el Instituto Nacional de Cancerología en el año 2003 diagnosticó 19 casos nuevos de cáncer de hígado y vías biliares intrahepáticas; de estos tres fueron diagnosticados por exploración clínica y 16 mediante histología. En relación con grupos etareos de los casos diagnosticados mediante histología el 36.8 por ciento se encuentra entre 0-34 años, 26.3 por ciento entre 35-64 y el 36.8 por ciento más de 65 años. De la misma forma del total de casos nuevos 10 corresponden a hombres y nueve a mujeres (25).

La evidente relevancia de las aflatoxinas en la salud pública, particularmente debido a su carcinogenicidad demostrada en humanos hace necesario implementar medidas para prevenir el consumo de alimentos contaminados con estas

micotoxinas.

Es necesario realizar vigilancia permanente de los principales cereales que puedan contaminarse con aflatoxinas, legislar con relación a los niveles máximos permisibles en Colombia y establecer mecanismos de control.

La cuantificación de biomarcadores de exposición a aflatoxinas puede ayudar a establecer el riesgo de carcinoma hepatocelular en la población colombiana por tal razón se deben generar estrategias tendientes al desarrollo de investigaciones que permitan avanzar en este campo y contribuir a la determinación oportuna de este tipo de compuestos.

## Referencias

1. **Díaz GJ.** Micotoxinas y micotoxicosis en salud humana y animal. Primera parte. *Veterinaria al Día* 1996; 2: 28-34.
2. **Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M.** Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the Health Organization: World Health Organization*; 1999, 77 Ref No:0024.
3. **Steyn PS, Stander MA.** Mycotoxins as causal factors of disease in humans. *J. Toxicol.-Toxin Review* 1999; 18: 229-243.
4. **Christensen CM.** *Food and Beverage Mycology* 2 ed, New York: Van Nostrand Reinhold, 1987. p. 23-134.
5. **Redy SV, Waliyar F.** Properties of aflatoxin and its producing fungi. *Aspergillus and Aflatoxin in Groundnut* 2003 Octubre (visitado Marzo 18) 2005. Available from: URL: <http://www.aflatoxin.com>
6. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Expert Committee. Lyon, International Agency for Research on Cancer. 2002; 82:171.
7. **Díaz GJ.** Regulación de niveles máximos tolerables de micotoxinas en materias primas y alimentos terminados. *Veterinaria al Día* 1995; 1: 22-27.
8. **Tortajada J, García J, Tornero OB, Gimeno SC.** Micotoxinas y cáncer pediátrico. *Rev. Esp. Pediatr.* 2001; 57: 279-280.
9. **Wild CP, Hall AJ.** Epidemiology of mycotoxin-rela-



- ted disease. In: Howard, Miller, ed. *The Mycota VI Human and Animal Relationships*. Berlin: Springer - Verlag; 1996: 213-27.
10. **Ellenhorn MJ**. Natural Toxins. In: *Ellenhorn MJ, Ed. Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997: 1876-80.
  11. **Fernández de Oliveira CA, Leal Germano PM**. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. *Re. Saúde Pública* 1997; 31: 417-24.
  12. **Díaz GJ**. Micotoxinas y micotoxicosis en salud humana y animal. Segunda parte. *Veterinaria al Día* 1996; 2: 3-8.
  13. **Wang SS, O' Neill JP, Qian G, Zhu Y, Wang J, Armenian H, et al**. Elevates HPRT mutation frequencies in aflatoxin-exposed residents of Daxin, Qindong County, People's Republic of China. *Carcinogenesis* 1999; 20: 2181- 84.
  14. **McGlynn K, Hunter K, Le Voyer T, Roush J, Wise P, Michielli R, et al**. Susceptibility to aflatoxin B1-related primary hepatocellular carcinoma in mice and humans. *Cancer Research* 2003 August 1; 63:4594-4601.
  15. **Ross RK, Wogan GN, Groopman JD, Yuan JM, Qian GS, Gao YT, et al**. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1992; 339:943-46.
  16. **Hardman JG, Lee E**, editors. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10 Ed. New York: Mc Graw Hill; 2001.
  17. **Klaassen CD**, ed. *Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons*. 6 Ed. New York: McGraw Hill; 2001.
  18. **Fink J**. Micotoxins: Their Implications for Human and Animal Health. *The Veterinary Quarterly* 1999; 21: 115-20.
  19. **Klaassen CD, Watkins III JB**. *Casarett & Doull's. Essentials of toxicology*. New York: McGraw Hill; 2003.
  20. **Álvarez MT, Carvajal M, Ruisánchez N, Rojo F**. Aductos-ADN-Aflatoxina como biomarcadores de exposición en grupos de riesgo de cáncer de hígado. *Rev. Cubana Oncol.* 2000; 16: 35-9.
  21. **Ming L, Thorgeirsson S, Gail M, Lu P, Harris C, Wang N, et al**. Dominant role of hepatitis B virus and cofactor role of aflatoxin in hepatocarcinogenesis in Qindong, China. *Hepatology* 2002; 35: 1214- 20.
  22. **McGlynn KA, Edmonson MN, Michielli RA, London T, Lin WY, Chen GC, et al**. A phylogenetic analysis identifies heterogeneity among hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2002; 36: 1341- 48.
  23. **McGlynn KA, Tsao L, Hsing AW, Devesa SS, Fraumeni Jr JF**. International trends and patterns of primary liver cancer. *Int. J Cancer* 2001; 94:290-6.
  24. **Gallardo MG, Rodríguez J**. La Carga de la enfermedad en Santa Fe de Bogotá: Indicadores de años de vida ajustados por discapacidad (Avisa) y mortalidad, 1985-1996. Bogotá: Secretaría Distrital de Salud de Santa Fe de Bogotá; 1999.
  25. Instituto Nacional de Cancerología COLOMBIA. Registro institucional de cáncer 2003. Santa Fe de Bogotá: Subdirección General de Investigación-Vigilancia Epidemiológica-Promoción y Prevención; 2004.