

Aflatoxinas: Uma Abordagem da Associação da AFB1 como Fator de Risco Envolvido na Gênese do Carcinoma Hepatocelular (CHC)¹

DÉBORAH ACÁSSIA MAMED RODRIGUES

Médica Residente-R5 em Hepatologia na Fundação de Medicina Tropical

Doutor Heitor Vieira Dourado FMT/DHV-AM

FLAMIR DA SILVA VICTORIA

Médico Supervisor da Residência Médica em Hepatologia no

Estado do Amazonas

MARILU BARBIERI VICTORIA

Médica Infectologista da FMT/DHV-AM vinculada à

Diretoria de Assistência Médica

Abstract

The general objective of this article was to verify whether exposure to aflatoxin B1 (AFB1) is associated with the development of hepatocellular carcinoma (HCC). As for the methodology, the work fits as an article of systematic and integrative bibliographic review. This combination included different methods combined in the literature review, thus expanding the possibilities for analyzing the literature. As a conclusion, it is emphasized that exposure to AFB1 contributes to its appearance as a potent liver carcinogen, and that it is associated with the development of HCC. Studies have shown that ingestion and / or exposure to aflatoxins, however small, can trigger damage to the human body. Research also reveals that a small exposure to aflatoxins is enough to increase the chances of developing the disease by three times, and consequently prolonged exposure or ingestion will increase the risk of developing HCC.

Keywords: Aflatoxins; AFB1; Hepatocellular carcinoma; Liver.

¹ *Aflatoxins: An AFB1 Association Approach as a Risk Factor Involved in Genesis Hepatocellular Carcinoma (CHC)*

Resumo

O objetivo geral desse artigo foi verificar se a exposição à aflatoxina B1 (AFB1) está associada ao desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC). Quanto à metodologia, o trabalho se enquadra como um artigo de revisão bibliográfica sistemática e integrativa. Essa combinação contemplou diferentes métodos combinados na revisão da literatura, ampliando dessa forma, as possibilidades de análise da literatura. Como conclusão, destaca-se que, a exposição à AFB1, contribui para que a mesma se apresente como um potente carcinógeno hepático, e que está associada ao desenvolvimento de CHC. Os estudos revelaram que, a ingestão e/ou exposição à aflatoxinas por menor que seja, pode desencadear danos ao organismo humano. As pesquisas ainda revelam que, uma pequena exposição às aflatoxinas é suficiente para aumentar em três vezes a chances de desenvolver a doença, e conseqüentemente uma exposição ou ingestão por tempo prolongado irá aumentar os riscos para desenvolver o CHC.

Palavras chave: Aflatoxinas; AFB1; Carcinoma Hepatocelular; Fígado.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas, de modo particular a aflatoxina B1 (AFB1), constitui-se no objeto de estudo desse artigo, cuja delimitação contempla uma abordagem dos aspectos geoepidemiológicos do carcinoma hepatocelular (CHC), também denominado hepatocarcinoma e a associação da AFB1 como fator de risco envolvido na gênese do CHC.

O presente artigo buscou responder ao seguinte questionamento: A exposição à aflatoxina B1 (AFB1) está associada ao desenvolvimento de CHC? A hipótese que norteia a pesquisa, parte da premissa de que, a exposição à AFB1, contribui para que a mesma se apresente como um potente carcinógeno hepático, e que está associada ao desenvolvimento de CHC.

As aflatoxinas, de modo particular a aflatoxina B1 (AFB1), têm sido estudadas de forma extensiva no que se refere ao seu mecanismo de ação, mutagenicidade e atividade carcinogênica. E o conhecimento acerca desses mecanismos culminou no

desenvolvimento de biomarcadores, como os adutos de macromoléculas (BANDO et al., 2007).

Alguns estudos revelam que, a ingestão e/ou exposição à AFB1, por menor que seja pode acarretar danos ao organismo humano, além de potencializar o risco para desenvolver CHC, principalmente, se associado ao vírus da hepatite B (HBV), atribuídos como causadores de inúmeras mortes por CHC, em nível mundial, envolvendo fatores ambientais na incidência deste tipo de câncer. Mesmo que seja uma pequena exposição às aflatoxinas, a mesma já é suficiente para aumentar em três vezes a chances de desenvolver o CHC, e por consequência uma exposição ou ingestão por um tempo mais prolongado irá aumentar esse risco (HARRIS, 1991; ROSS et al., 1992; HUSSEIN e BRASEL, 2001; HAAS et al., 2015).

No Brasil, os estudos de perfil clínico e geoepidemiológico ainda são escassos, embora tenham sido observadas maiores frequências de consultas ambulatoriais e hospitalizações. Não se acham com facilidade estudos com ampla cobertura territorial brasileira, no que se refere aos aspectos demográficos e clínicos. Essas dificuldades devem-se, ao fato de que a prevalência do CHC, esteja subestimada.

Na cidade de Manaus, essa realidade não é diferente, pois não existem estudos com o perfil clínico e geoepidemiológico, devidamente registrados para consulta, apenas alguns dados isolados. No entanto, durante o período de residência médica, nota-se na prática, um aumento nos casos, em parte em decorrência de melhorias no diagnóstico, e em parte por razões, ainda não totalmente esclarecidas. Levando-se em consideração o contexto exposto, o presente estudo assume a relevância necessária, em decorrência do CHC, muitas vezes, estar associado a desfechos desfavoráveis e falhas nas terapêuticas.

No que se refere à metodologia que foi empregada na elaboração do artigo, quanto aos meios de investigação, o trabalho se enquadra como um artigo de revisão bibliográfica sistemática e integrativa. Essa combinação contemplou diferentes métodos combinados na revisão da literatura, ampliando dessa forma, as possibilidades de análise da literatura.

Quanto à natureza da pesquisa, foi qualitativa, pois buscou verificar se a exposição à aflatoxina B1 (AFB1) está associada ao

desenvolvimento de CHC, abordando sobre as aflatoxinas e o CHC em seus aspectos conceituais e epidemiológicos.

Quanto aos fins esta pesquisa se enquadra como descritiva, explicativa e exploratória. Descritiva, pois se propôs a descrever, a partir do aprofundamento dos resultados de outras pesquisas se a exposição à aflatoxina B1 (AFB1) está associada ao desenvolvimento de CHC. E explicativa, uma vez que se buscou demonstrar a correlação da aflatoxina B1 (AFB1) ao desenvolvimento de CHC. Exploratória, pois na literatura local, há poucas pesquisas sistematizadas sobre o assunto e algumas questões de relevo, ainda não foram devidamente exploradas em âmbitos acadêmicos, no contexto local e na forma aqui exposta.

A partir da metodologia proposta, o presente artigo se propôs a realizar uma pesquisa bibliográfica, de cunho exploratório, baseado na análise da literatura para demonstrar além da incidência das aflatoxinas em alimentos, seu alto poder de toxicidade e seus efeitos para a saúde humana, com enfoque para a carcinogenicidade da AFB1, abordando ainda os danos hepáticos que essa aflatoxina pode causar ao homem.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS: AFLATOXINAS

No que se refere à evolução dos estudos sobre as aflatoxinas, não seria possível furtar-se à perspectiva etimológica e histórica das mesmas, que são uma espécie de micotoxinas. O termo micotoxina deriva do grego *Mikes* que significa fungo e do latim *Toxicum*, que significa veneno, sendo utilizado para descrever um conjunto complexo de substâncias químicas produzidas por fungos filamentosos (FASSBINDER, 2010). Desde a antiguidade, há relatos sobre micotoxinas e suas consequências estão relacionadas ao início da atividade agrícola. Durante toda a Idade Média, epidemias de ergotismo² foram descritas (DRUMOND, 2012).

No entanto, foi somente no ano 1960, quando ocorreu a “doença X” dos perus, ocasionando um surto de aflatoxicose, que

² Também conhecido por envenenamento por Ergot. O ergotismo é uma das doenças mais antigas do ser humano causadas por micotoxinas, apresentando sintomas como sensação de queima da pele, insetos caminhando sob a pele e a perda de mãos e pés (SACRAMENTO, 2016).

vitimou milhares de aves na Inglaterra, é que houve uma maior atenção para as implicações das micotoxinas à saúde. Nesse ano, os filhotes de perus desenvolviam letargia, anorexia e fraqueza muscular, seguidos de espasmos e morte. Pesquisas constataram que o surto estava relacionado à ração composta de amendoim importado do Brasil, contaminada por uma substância fluorescente produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, então denominada aflatoxina (MAIA, SAKATA e SABBAG, 2011).

Conceitualmente, as micotoxinas compreendem um grupo de metabólitos secundários tóxicos de baixo peso molecular que, quando ingeridos com os alimentos, causam prejuízos à saúde humana (CARVALHO, 2005).

Aproximadamente 300 micotoxinas já foram descritas e destas cerca de 20 são encontradas em alimentos e rações a níveis considerados de risco para o organismo humano. Dentre elas, as mais incidentes são as aflatoxinas produzidas por *Aspergillus spp.*, das quais destacam-se os tipos B1, B2, G1 e G2; a patulina produzida por diversos fungos, dentre eles espécies de *Penicillium*; as fumonisinas e os tricotecenos originárias de espécies do gênero *Fusarium*, e as ocratoxinas que têm como produtores fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. No entanto, a aflatoxina é a mais significativa por sua elevada ação tóxica e ampla ocorrência (LANG, 2005).

As aflatoxinas, caracterizadas pela sua alta toxicidade e ampla ocorrência, são compostos tóxicos produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, conhecidos como aflatoxigênicos desde a década de 1960 (LANG, 2005; MAIA, SAKATA e SABBAG, 2011).

Historicamente, desde a descoberta das aflatoxinas, em 1960, diversos países adotaram limites de tolerância para essas toxinas em produtos destinados ao consumo humano. O Brasil, com base nos conhecimentos então disponíveis na época, estabeleceu, no ano de 1977, o limite de 30 mg/kg para a soma das frações B1 e G1 em qualquer tipo de alimento (BRASIL, 1977). Desconhece-se, contudo, se este valor ainda representa ou não risco significativo para o desenvolvimento do câncer hepático, por exemplo, (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

As aflatoxinas são metabólitos secundários, produzidos por algumas cepas de fungos. No que se refere à tipologia, são conhecidos,

aproximadamente, 17 compostos similares designados pelo termo aflatoxina, porém, os principais tipos de interesse médico-sanitário são identificados como B1, B2, G1 e G2. Estes compostos caracterizam-se pela elevada toxicidade que apresentam. Em saúde animal, várias espécies domésticas e de experimentação são sensíveis aos seus efeitos tóxicos agudos, mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos, sendo o fígado o principal órgão atingido (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; CARVALHO, 2005; MAIA, SAKATA, e SABBAG, 2011).

Em uma revisão mais recente, destaca-se que, existem mais de 20 tipos de aflatoxinas e derivados isolados, sendo os principais com relevância médico-sanitário, B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1) e G2 (AFG2). A AFB1 e AFB2 quando sofrem hidroxilação originam as aflatoxinas M1 e M2, encontradas nos produtos lácteos e carne. A AFB1, também pode formar aflatoxicol por meio de redução enzimática. Dentre eles, a AFB1 possui um maior poder toxigênico e concentração nos substratos, seguida da AFG1, AFB2 e AFG2. Além dos efeitos carcinogênicos, têm propriedades teratogênicas e mutagênicas (FASSBINDER, 2010; DRUMOND, 2012; SACRAMENTO, 2016).

As aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 são as mais estudadas, e os efeitos tóxicos das aflatoxinas podem ser: agudo, imunossupressor, mutagênico, teratogênico, carcinogênico e hepatotóxico, e o fígado constitui o órgão-alvo primário (BANDO et al., 2007).

A principal é aflatoxina B1 (AFB1), que é produzida pelo fungo *Aspergillus flavus* que, em geral contamina grãos e cereais, cuja contaminação pode ocorrer desde o momento do plantio, até a colheita e/ou transporte dos grãos. As aflatoxinas se ligam de forma covalente ao ácido desoxirribonucléico (DNA), podendo desencadear mutações nos genes supressores tumorais, a exemplo do gene p53, ou em oncogenes, originando dessa forma um hepatocarcinoma (SHIMIZU et al., 1999; PIMENTA e MASSAKI, 2010).

A AFB1 é considerada a mais tóxica das aflatoxinas, sendo que a infecção por esta pode ocasionar hemorragias, icterícia, edemas, alterações na digestão, no metabolismo, danos ao fígado podendo levar ao CHC, e possivelmente a morte (HAAS et al., 2015).

As aflatoxinas podem ser encontradas em inúmeros produtos alimentícios, dentre os quais se destacam: leite, macaxeira, farinha,

castanha do Pará (BANDO et al., 2007), dentre outros como: milho, farinha de trigo, cevada, nozes, pistache, arroz, amêndoa, feijão, semente de algodão, côco, gengibre, pimenta e pimenta malagueta, frutas, pimentão-doce e frutas secas, além de estar presente também em rações e produtos de origem animal que estejam contaminados por rações (SAKATA et al., 2011).

O controle sobre os limites legais para aflatoxinas em alimentos e rações variam entre os países, com tendência a serem mais altos em países produtores de insumos agrícolas e mais baixos em nações consumidoras. A comissão européia adverte níveis mínimos e estabelece limite de 2 mg/kg de AFB1 e, 4 mg/kg para aflatoxina total em cereais, frutas secas e nozes para consumo humano (MAIA, SAKATA e SABBAG, 2011).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da RDC Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011 determinou os Limites Máximos Toleráveis (LMT) para micotoxinas em alimentos prontos para o consumidor e matérias-primas. Os LMT para aflatoxinas M1, B1, B2, G1 e G2 variam de 0,5 a 20,0 mg/Kg (BRASIL, 2011).

No entanto, apesar da legislação e fiscalização da vigilância sanitária no Brasil, a ocorrência de aflatoxinas tem sido observada frequentemente, em altos níveis no Estado de São Paulo, por exemplo, em culturas de alimentos utilizados para consumo humano e animal como o milho, amendoim e derivados. O principal cuidado, e conseqüentemente receio que se tem é em relação aos derivados de amendoim como paçocas, pé-de-moleque e outros doces, considerando que, os principais consumidores desses doces são crianças, por esse motivo as aflatoxinas, principalmente a AFB1 assumem destacada relevância em saúde pública (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; SACRAMENTO, 2016).

A umidade e temperatura do solo interferem diretamente na pré-colheita de grãos e podem também favorecer a contaminação e a infecção de aflatoxina causada pelo fungo *Aspergillus flavus*. Foram feitas observações sobre os efeitos da época de semeadura e os cuidados com o fator hidráulico na produção de vagem. O resultado obtido mostrou que, mesmo quando os períodos de estresse foram breves, houve a infecção e a contaminação no campo de Níger, portanto, o amendoim pode ter o nível de infecção e contaminação

previstas pela fração de solo extraído. Com essas relações, o prognóstico do risco de aflatoxina pode ser relacionado (CRAUFURD et al., 2006).

As aflatoxinas se caracterizam por possuir baixo peso molecular, solubilidade em solventes polares e termoestabilidade. Ainda apresentam fluorescência sob luz ultravioleta, aspecto utilizado em procedimentos de identificação (REIS, 2009). As aflatoxinas B1 e B2 recebem essa denominação por emitirem fluorescência azul (*Blue* em inglês), e as aflatoxinas G1 e G2 devido apresentarem fluorescência verde (*Green* em inglês) (BAGGIO, 2006).

A exposição humana às aflatoxinas pelo consumo de alimentos contaminados é uma questão de saúde pública mundial. A contaminação de produtos alimentícios pode ocorrer nas etapas de produção, processamento e distribuição. Com isso, programas de monitoramento dos níveis de contaminação alimentar por micotoxinas são essenciais para estabelecer prioridades em ações de vigilância sanitária (CALDAS, SILVA, OLIVEIRA, 2002).

Estima-se que 25% da produção mundial agrícola esteja contaminada por aflatoxinas, cujos níveis variam de um país para outro (IAMANAKA et al., 2010). O Brasil, por exemplo, tem cerca de 45% do milho produzido afetado pela ação das micotoxinas, o que leva a enormes prejuízos financeiros, pois representa uma perda estimada de 14 a 16 milhões de toneladas por ano (CIB, 2004). Além dos produtos agrícolas, alimentos de origem animal também podem ser contaminados, o que leva a um risco de intoxicação humana por via indireta (FASSBINDER, 2010).

As aflatoxinas representam um grave problema de saúde. Nas últimas décadas, intensas pesquisas contribuíram para melhor caracterizar os possíveis efeitos das aflatoxinas sobre a saúde humana, com destaque para os experimentos sobre a atividade biológica da AFB1 nas células hepáticas, no âmbito molecular, e sua aplicação em estudos populacionais.

CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC)

O câncer é uma alteração neoplásica ocasionada por mudanças no material genético (DNA), denominadas mutações que levam ao crescimento desordenado de células capazes de invadir tecidos e

órgãos. Existem vários tipos de câncer devido à diversidade de células encontradas no corpo humano. O carcinoma hepatocelular (CHC), uma neoplasia epitelial agressiva, tem sua origem nos hepatócitos (INCA, 2020).

Nos pacientes com hepatopatia crônica, inflamação contínua dos hepatócitos e regeneração celular, com conseqüente progressão para cirrose, parece resultarem em danos cromossômicos que provavelmente iniciam a hepatocarcinogênese. Pesquisas recentes sugerem que a carcinogênese do CHC ocorre em múltiplas etapas, envolvendo número variável de alterações genéticas e epigenéticas que ocasionam transformação maligna do hepatócito (OKUDA, 2007).

A inflamação crônica e a regeneração celular, com aumento do *turnover* celular, podem causar várias alterações genéticas envolvidas na hepatocarcinogênese: inativação de genes supressores tumorais, ativação de oncógenes, rearranjos cromossômicos, dentre outros. Surgem, então, focos de hepatócitos com alterações fenotípicas que podem evoluir como focos displásicos, nódulos displásicos e, por fim, carcinoma hepatocelular (OKUDA, 2007).

Os nódulos displásicos e o CHC precoce são geralmente assintomáticos e usualmente são descobertas acidentais em estudos radiográficos ou detectados como resultado de procedimentos de rastreamento. O CHC precoce pode ser indolente ou de crescimento lento (até 1 ano) até sofrer progressão tumoral rápida (LLOVET e BRUIX, 2008).

Nesses estágios precoces, o CHC progride gradualmente com o aumento do volume tumoral, seguido de invasão dos ramos da veia porta, estendendo-se à veia porta principal. A invasão da veia porta é geralmente acompanhada de rápido aumento da concentração sérica da alfa fetoproteína (AFP), mesmo sem haver alterações do tamanho do tumor primário do fígado. O tumor pode também invadir diretamente os ramos da veia hepática ou a veia cava inferior intra-hepática, propagando para a veia cava superior ou para a aurícula direita como trombo tumoral. A invasão da artéria hepática é muito menos comum (LLOVET e BRUIX, 2008).

Em termos conceituais, o carcinoma hepatocelular (CHC) pode ser caracterizado como um tumor epitelial derivado dos hepatócitos e seu parênquima é formado por células neoplásicas arranjadas em um padrão trabecular ou acinar em meio a pouca quantidade de estroma,

por isso sua consistência é geralmente amolecida (KUMAR, ABBAS e FAUSTO, 2005).

Macroscopicamente pode ser classificado quanto à sua forma, tamanho ou padrão de crescimento. Nessa última classificação, relacionada ao padrão de crescimento, destacam-se as seguintes informações: uma massa unifocal (usualmente grande); nódulos multifocais, amplamente distribuídos, de tamanho variável; um câncer difusamente infiltrante, permeando amplamente e às vezes comprometendo todo o fígado. Os três padrões podem causar o aumento do fígado, especialmente os padrões maciços, unifocal e multinodular. O tumor difusamente infiltrante pode fundir-se imperceptivelmente para dentro de um fundo de fígado cirrótico. Uma variedade atípica de CHC é o carcinoma fibrolamelar (KUMAR, ABBAS e FAUSTO, 2005).

Em geral, o CHC ocorre em adultos jovens, homens e mulheres, com igual incidência, não tem associação com vírus da hepatite B (VHB) ou fatores de risco de cirrose, sendo que, na maioria das vezes tem melhor prognóstico. Usualmente se apresenta como um tumor único, grande, duro, de aspecto cirrótico com faixas fibrosas correndo através dele (PIMENTA e MASSAKI, 2010).

A disseminação do CHC ocorre primariamente via hematogênica para pulmões, ossos e cérebro em estágios tardios. Essas lesões metastáticas são tipicamente hipervasculares, como o tumor primário, e predisõem-se a hemorragias (hemoptise ou hemorragia intracraniana). As metástases ósseas podem ser solitárias ou múltiplas, e podem produzir sintomatologia isolada, como a compressão de par craniano ou de nervo periférico. Para a detecção de metastização de CHC, a tomografia computadorizada (TC) com contraste de crânio, tórax, abdome e pelvis, bem como as cintilografias ósseas, são exames padronizados (LLOVET e BRUIX, 2008).

As aquisições dinâmicas com contraste não são geralmente necessárias, mas caso sejam realizadas podem demonstrar hipervascularização arterial das lesões metastáticas do mesmo modo que o tumor primário. O exame “Tomografia por Emissão de Pósitrons” (PET) não tem demonstrado consistência confiável que justifique sua incorporação em exames de rotina no estadiamento do CHC (LLOVET e BRUIX, 2008). Múltiplos tumores podem surgir em fígado cirrótico, particularmente com infecção crônica por VHC, ou

podem representar metástase hepática consequente a trombose da veia porta, a partir do tumor primário e da disseminação hematogênica para o fígado. A heterogeneidade clínica e genética desta doença dita o fato da pouca resposta terapêutica efetiva no CHC. A terapia dirigida a alvos moleculares, quer a genes, quer aos seus receptores, pretende inativar oncogenes ativados, recuperar genes supressores tumorais ou qualquer molécula ou gene envolvido no desenvolvimento do CHC, corrigindo assim erros ou funções anormais ou comportamento biológico (THOMAS, 2009; MIDORIKAWA et al., 2010).

Recentemente, muitas moléculas baseadas no genoma são candidatas à terapia dirigida. Foram descobertas por meio de estudos com microarray, na análise de aberrações epigenéticas do genoma total, de sistemas de sequenciação de alto rendimento. Alguns genes ou moléculas-alvo em estudo são VEGFR, EGFR, DDEFL, VANGL1, WDRPUH, Ephrin-A1, GPC3, PFTK1, dentre outros (THOMAS, 2009; MIDORIKAWA et al., 2010).

Muitas dessas moléculas para terapia dirigida, como anticorpos monoclonais, moléculas pequenas e moléculas antisense, já estão na fase II e III de ensaios clínicos, havendo no momento dados promissores. Atualmente, apenas o Sorafenibe, inibidor multiquinase do VEGFR e da quinase RAS, está aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela *European Medicines Agency* (MIDORIKAWA et al., 2010).

Em nível mundial, os tumores malignos primários do fígado correspondem à quinta causa de câncer e à terceira causa de morte por câncer. Em todo o mundo, o CHC corresponde a 85 a 90% das neoplasias primárias do fígado. A incidência global estimada é de 500 mil a 1 milhão de casos novos de CHC por ano, ocasionando 600 mil mortes por ano (PARKIN et al., 2005). Hoje, o CHC é a complicação mais freqüente e a principal causa de óbito em pacientes com cirrose hepática compensada (SANGIOVANNI et al., 2006).

A partir de uma perspectiva epidemiológica, o carcinoma hepatocelular caracteriza-se, por uma grande variabilidade geográfica, com distribuição mundial bastante heterogênea, o que provavelmente está relacionado com fatores etiológicos, como hepatites B (VHB) e C (VHC) e exposição à aflatoxina B1. Na África Subsaariana e no Leste da Ásia, concentram-se a maioria dos casos (> 80%), sendo

consideradas áreas de alta incidência (EL-SERAG e RUDOLPH, 2007).

No entanto, nas últimas décadas, tem-se observado declínio nas taxas de incidência nessas regiões consideradas de alto risco, provavelmente relacionado com a vacinação para hepatite B, bem como a menor exposição à aflatoxina B1. Do contrário, nas áreas consideradas de baixo risco, como América do Norte, Norte da Europa e América do Sul, tem-se observado aumento progressivo da incidência, que parece estar relacionado com a alta prevalência de VHC e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) nessas áreas (EL-SERAG e RUDOLPH, 2007).

No Brasil, um estudo realizado com 1.037 pacientes cirróticos, em programa de rastreamento no serviço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFM/USP), revelou uma incidência anual de 3,5% de CHC em pacientes cirróticos. Entretanto, tem-se observado nos últimos anos aumento progressivo desses índices (PARANAGUÁ-VEZOZZO et al., 2014). Em um estudo com 22 casos de CHC, associado ao HBV no Estado do Amazonas, em um período de 13 anos, encontrou-se uma população de 81,8% de homens e 18,2% de mulheres, em uma faixa etária entre 20-45 anos (CHALUB et al., 2013).

Um outro estudo com uma análise descritiva mais recente realizado em 2019, com 107 pacientes com CHC da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado FMT/HVD (RODRIGUES et al., 2019) teve o objetivo de relacionar casos de CHC com a naturalidade dos pacientes na Bacia Hidrográfica da Região Amazônica (figura 1).

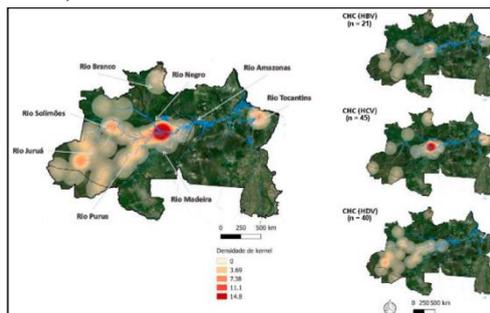


Figura 1 - Distribuição geoepidemiológica de pacientes portadores de CHC na Região Norte (N=107).

Fonte: Rodrigues et al. (2019).

Nesse estudo foi realizada uma análise descritiva de 107 pacientes com CHC: 20% (n=21) portadores do HBV, 42% (n=45) do HCV, 37% (n=40) do HDV e um HBV/HCV. Destes 70% (n=75) eram do gênero masculino e 30% (n=32) feminino. O gênero masculino foi observado em 76% (n=16) dos pacientes portadores do HBV, 78% (n=35) do HCV e 60% do HDV (n=24) e o gênero feminino em 24% dos portadores do HBV (n=5), 22% do HCV (n=10), 40% do HDV (n=16) e em 100% (n=1) do HBV/HCV. A idade média dos pacientes foi 54 anos. Nos portadores do HBV a idade média foi 50 anos, do HCV 63 anos, do HDV 45 anos e do HBV/HCV 72 anos (RODRIGUES et al., 2019).

Quanto à naturalidade dos pacientes na Bacia Hidrográfica da Região Amazônica, foi observado que 36% dos portadores do HBV eram do Rio Purus, 79% do HDV eram do Rio Juruá e 75% do HCV eram do Rio Negro. Neste estudo, não se observou predominância do HBV, HCV ou HDV entre os pacientes, entretanto, a análise da naturalidade e idades médias dos pacientes foi significativa, em relação a atividade viral HDV, HBV ou HCV, respectivamente nos pacientes naturais do Rio Juruá (79%) com 45 anos, do Rio Purus (36%) com 50 anos e do Rio Negro (75%) com 66 anos (RODRIGUES et al., 2019).

O estudo ainda revelou que, o ambiente e a idade dos pacientes poderiam modificar a história natural da infecção viral e influenciar na evolução para o CHC, sugerindo assim, que mais estudos sobre as variáveis geoepidemiológicas e demográficas são necessários para entender a complexidade da heterogênea distribuição do CHC na Região Norte do Brasil. O Estado do Amazonas apresenta um dos mais elevados índices das infecções virais B (VHD) e Delta (VHD) do mundo. Aliado a isso, a infecção pelo vírus da hepatite C (VHC), vem crescendo a cada dia nesta região. Mesmo com a introdução dos novos tratamentos de alta eficácia para a cura do VHC, não há segurança para aqueles que já apresentam fibrose hepática de graus F3 e F4 (Metavir), haja vista que, mesmo curados podem vir a desenvolver o CHC anos (RODRIGUES et al., 2019).

A alta taxa de mortalidade detectada na Região Norte do Brasil pode se dever à elevada prevalência da hepatite B nessa região, além da coinfeção ou superinfecção pela hepatite Delta, principalmente, dentre as populações indígenas, conforme descrito em

vários estudos (CLEMENS et al., 2000; BRAGA et al., 2001; ECHEVARRIA e LEON, 2003; TAUIL et al, 2012).

Essa região também apresentou maior concentração de óbitos em um grupo etário mais novo. Uma possível explicação pode estar relacionada à superinfecção pela hepatite Delta, que tem sido apontada como causa de diversos surtos e hepatite grave na bacia amazônica brasileira (GONÇALVES, PEREIRA e GAYOTTO, 1997; BRAGA et al., 2001).

Nesse sentido, uma tentativa visando à redução dos índices de desenvolvimento e morte por CHC, seria o controle dos vírus da hepatite B e C, através de vacinas, aliada às campanhas massivas para uso de preservativos e maiores cuidados em relação às drogas. Além disso, medidas implantadas para o controle e redução do consumo e exposição à AFB1 poderia melhorar o estado de saúde da população, bem como reduzir as estatísticas de desenvolvimento e morte por CHC. Vale ressaltar que, embora apresentem falhas, o que compromete a saúde da população, em alguns países já existem programas de supervisão do nível de AFB1 nos alimentos (HAAS et al., 2015).

ASSOCIAÇÃO DA AFB1 E CHC

A presença de aflatoxinas em alimentos destinados ao consumo humano tem sido associada a efeitos adversos agudos e crônicos, os quais variam conforme o tempo de exposição, a dose, a dieta, o estado nutricional, o gênero e a idade dos indivíduos. Alguns estudos epidemiológicos realizados com populações expostas e experimentos feitos em animais levaram a Organização Mundial de Saúde (OMS) a classificarem as aflatoxinas como carcinógeno humano do Grupo 1 (BAGGIO, 2006).

A partir de então, desde a descoberta das aflatoxinas, diversos países adotaram limites de tolerância para estas toxinas em alimentos destinados ao consumo humano. No entanto, não está claro se as quantidades admissíveis oferecem risco significativo para o desenvolvimento de patologias (OLIVEIRA e GERMANO, 1997). O fígado constitui o órgão-alvo primário para esses compostos, uma exposição em curto prazo produz necrose e degeneração lipídica, quadro denominado de aflatoxicose. A ingestão de baixos teores das

micotoxinas, com uma dada frequência e por tempo prolongado, pode resultar em carcinomas hepáticos (ROCHA et al., 2008; MAIA, SAKATA e SABBAG, 2011).

Os fungos toxigênicos podem infectar os cultivos em crescimento e produzir toxinas antes da colheita, durante essa e após seu armazenamento, quando as condições seguras não forem praticadas (CARVALHO, 2008). A intoxicação do homem pelas aflatoxinas pode ocorrer de forma direta e indireta: a primeira ocorre pelo consumo de alimentos com a toxina; e a segunda pelo consumo de produtos derivados de animais, que tiveram sua ração contaminada, como leite, carne e ovos (MAZIERO e BERSOT, 2010).

A ingestão de produtos alimentícios contaminados pela micotoxina produz diversos efeitos tóxicos em seres humanos, quadro designado de “aflatoxicose”. Fatores como idade, estado nutricional, extensão da exposição e possíveis efeitos sinérgicos de outros agentes químicos influenciam na severidade da intoxicação (FASSBINDER, 2010).

As aflatoxinas, derivadas do bisfurano cumarina, também estão envolvidas na etiologia do carcinoma hepático em humanos (LEVISION, 2010). Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA) o fígado constitui o órgão alvo primário. Além desse, o rim, baço e pâncreas podem ser afetados pelas propriedades mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas das micotoxinas (FASSBINDER, 2010). A termoestabilidade permite que as aflatoxinas resistam a determinados tratamentos térmicos, assim elas podem permanecer no alimento mesmo após a eliminação do fungo (BAGGIO, 2006; MAZIERO e BERSOT, 2010).

Em decorrência do seu potencial carcinogênico, a biotransformação da AFB1 tem sido a mais estudada. O metabolismo hepático da aflatoxina B1, em especial, envolve a ação de enzimas microsossomais do sistema de funções oxidases mistas, pertencentes à superfamília do citocromo P-450. A forma pura da AFB1 não tem propriedade mutagênica e é biotransformada nos compostos AFP1, AFB1-epóxido (tóxico, mutagênico e carcinogênico), AFBa2, aflatoxicol e AFM1 (tóxica) (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; SACRAMENTO, 2016). Alguns desses produtos de biotransformação podem ser revertidos em outros ou convertidos em produtos de detoxificação. O aflatoxicol, por exemplo, pode ser reconvertido em AFB1 e também se

converter em aflatoxicol M1, este, por sua vez, é potencialmente convertido em AFM1, ou ainda transformado em compostos conjugados com ácido glicurônico (SILVA, 2005; ROMERO, 2007).

Os efeitos tóxicos da AFB1 estão relacionados com o fato desta sofrer bioativação, processo que, segundo a maioria dos especialistas, classifica a micotoxina como um pró-carcinógeno, cuja forma ativada é o 8,9-óxido de AFB1 ou AFB1-epóxido. Este composto possui a capacidade de reagir por ligações covalentes com o ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e proteínas, originando adutos, responsáveis pela lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas (CRUZ, 2010).

A AFB1-epóxido ao se ligar com o DNA modifica a sua estrutura e, por conseguinte, sua atividade biológica, desencadeando os mecanismos básicos dos efeitos mutagênicos e carcinogênicos da AFB1. A formação dos adutos ocorre através da ligação com guaninas da molécula de DNA, na posição N7, ao nível do códon 249, do gene supressor de tumores p53, que perde a função de controlar a duplicação celular e passa a acelerar a proliferação das células e a carcinogênese. Essa ocorrência é característica de vários carcinomas, sobretudo hepáticos (GONÇALVES et al., 2014).

A carcinogênese envolve duas fases distintas denominadas: iniciação e promoção do câncer. A fase de iniciação resulta de mutações ocorridas a nível celular, e a promoção neoplásica relaciona-se com a expressão fenotípica das modificações primárias. As lesões bioquímicas geradas em RNA e proteínas caracterizam mecanismos de toxicidade aguda da AFB1 por conduzir à morte celular pela inativação de macromoléculas essenciais às células (MAIA, SAKATA e SABBAG, 2011).

Além da epoxidação, a biotransformação primária da AFB1 inclui a hidroxilação, para formar as aflatoxinas M1 (AFM1), Q1 (AFQ1) e B2a (AFB2a); e, O-demetilação, para formar a aflatoxina P1 (AFP1). Por serem solúveis em água, essas substâncias podem ser excretadas através da urina ou bile e, nas fezes, ainda, em lactentes e animais em lactação a AFM1 é eliminada no leite, característica que sugere a participação destes derivados no processo de detoxificação da AFB1 (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

Apesar da intensa discussão acerca da associação da AFB1 como fator de risco envolvido na gênese do CHC, de modo geral, a

tendência entre os pesquisadores, é considerar a etiologia do câncer hepático como multifatorial, com uma provável interação sinérgica entre as aflatoxinas, atuando como iniciadoras do processo cancerígeno, e o HBV, o qual teria um efeito promotor sobre o desenvolvimento do tumor (fenótipo transformado) (HARRIS, 1991; WOGAN, 1992; OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

Inicialmente, em experimentos com animais, Cova et al. (1990) observaram ação sinérgica entre a AFB1 e o vírus da hepatite B de patos (DHBV), no desenvolvimento de hepatomas em animais expostos a ambos os fatores. Este mesmo efeito foi verificado por Sell et al. (1991), com relação a camundongos transgênicos, ou seja, com sequências do HBV no genoma, expostos à ingestão de AFB1.

Os resultados de alguns trabalhos baseados em revisão da literatura demonstram uma forte correlação entre a incidência de câncer hepático e o grau de exposição às aflatoxinas. Na China e na África sub-saariana, por exemplo, cerca de 250.000 mortes são ocasionadas por CHC anualmente, atribuídas, muitas vezes às aflatoxinas e ao HBV. Em Moçambique, país no qual existe um consumo regular de alimentos contaminados pelas toxinas, a incidência de câncer no fígado é de aproximadamente, 13 casos por 10.000 habitantes ao ano (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; CRUZ, 2010; SACRAMENTO, 2016).

Historicamente, desde a década de 1960 suspeitava-se da contribuição da AFB1 para o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC) humano, desde quando sua atividade potente como carcinógeno também foi relatada em muitas espécies de animais. A AFB1 é a toxina fúngica com maior potencial tóxico e carcinogênico (BANDO et al., 2007).

Então, com base em trabalhos científicos divulgados, é que a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) concluiu, em 1987, que existem evidências suficientes para considerar a aflatoxina B1 como fator etiológico do câncer hepático em populações humanas. Com isso, a AFB1 foi classificada na classe 1 dos carcinógenos humanos pela IARC (SILVA, 2005). Oficialmente, no ano de 1993, a IARC classificou a AFB1 como carcinogênica para humanos, ou seja, genotóxico da classe 1, colocando-a no mesmo patamar de

carcinógenos como o tabaco, o amianto e a fumaça de óleo diesel (IARC, 1993).

Alguns estudos epidemiológicos revelaram uma forte associação entre exposição à AFB1 e o aumento da incidência de carcinoma hepatocelular (CHC). Nesse sentido, essa associação levou à necessidade de técnicas mais precisas para evidenciar a exposição às aflatoxinas, bem como o risco individual de desenvolvimento do CHC. As técnicas devem ser específicas, sensíveis e principalmente aplicáveis a um número de amostras (MAKARANANDA et al., 1998; JACKSON e GROOPMAN, 1999).

Ao longo dos anos, disponibilizaram-se diferentes métodos analíticos para quantificar esses indicadores em amostras biológicas, dentre os quais se destacam os métodos cromatográficos, a saber: cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia a gás (CG), além dos testes imunológicos com anticorpos específicos, ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA), radioimunoensaio (RIE) e teste imunohistoquímico, e a espectrometria de massas (GROOPMAN e KENSLER, 1999).

Os possíveis biomarcadores de exposição evidenciados são os metabólitos de AFB1 como aflatoxina M1 (AFM1), aflatoxina P1 (AFBP1) e aflatoxina Q1 (AFBQ1), encontrados na urina (WILD e TURNER, 2002) ou a própria AFB1, que pode ser quantificada no sangue, por ser hepatocarcinogênica. Dentre os adutos mais importantes, os biomarcadores mais utilizados em estudos epidemiológicos são o AFB-N7-guanina e o AFB-albumina para avaliar a exposição a AFB1, pois são produtos diretos de danos causados a um alvo macromolecular celular crítico (GROOPMAN e KENSLER, 1999).

O aduto AFB-N7-guanina é resultado da ligação entre a aflatoxina-exo-8,9-epóxido, metabólito de AFB1, altamente reativo com o DNA de células hepáticas, sendo excretado na urina. Uma pesquisa realizada na China e na Gâmbia (GROOPMAN et al., 1992) onde há áreas de grande incidência de CHC, avaliaram-se os níveis de biomarcadores urinários para aflatoxinas, e em ambas as populações a quantidade de aduto AFB-N7-guanina e AFM1 urinários revelaram uma boa relação com a quantidade de aflatoxinas. No entanto, o nível

de adutos AFB-N7-guanina demonstrou apenas exposição recente às micotoxinas (MONTESANO, 1990).

Já os adutos AFB-albumina são formados pela ligação da aflatoxina-dialdeído, que é um produto da hidrólise da aflatoxinaexo-8,9-epóxido, com a albumina e são encontrados no sangue periférico (WILD e TURNER, 2002). Na Gâmbia, os níveis de aflatoxinas e adutos AFB-albumina no sangue periférico foram determinados, e para dosar os adutos AFB-albumina, utilizaram-se os testes de ELISA e CLAE. Foi encontrada uma correlação positiva em adutos AFB-albumina, além de boa concordância de resultados entre a metodologia analítica (WILD et al., 1992).

No contexto dos estudos epidemiológicos para a exposição às aflatoxinas provavelmente, esse é o mais prático biomarcador, pois sua avaliação é rápida e aplicável a um grande número de pessoas (JACKSON e GROOPMAN, 1999). Outra vantagem apresentada em relação aos adutos de AFB-N7-guanina é que, os adutos AFB-albumina possuem meia-vida de 30-60 dias no organismo humano, podendo refletir exposição por um período mais longo (WILLIAMS et al., 2004).

Alguns autores têm reportado à presença de aflatoxinas no soro e em biópsias de fígado de pacientes com câncer hepático (OLUBUYIDE, 1992). Entretanto, a hipótese de que a ingestão de aflatoxinas constitui fator de risco para o CHC no homem é melhor amparada por evidências experimentais e epidemiológicas. As experimentais derivam da extrapolação para o homem, dos resultados obtidos em estudos de biotransformação, mutagenicidade e carcinogenicidade em animais e em preparações *in vitro* (McLEAN e DUTTON, 1995).

As evidências epidemiológicas resultam de estudos efetuados em áreas geográficas onde a contaminação de alimentos por aflatoxinas e o CHC são frequentes. Esta associação é mais evidente em indivíduos do sexo masculino (BRUCE, 1990; BOSCH e PEERS, 1991).

Com base nos estudos disponíveis da “*International Agency for Research on Cancer*” (IARC) concluído no ano de 1987, verificou-se que existiam evidências suficientes para considerar a AFB1 como fator etiológico do câncer hepático em populações humanas (OLIVEIRA e GERMANO, 1997). A análise global dos dados sobre a ingestão de

aflatoxinas *versus* incidência do CHC, pelo método de Gold e colaboradores no ano de 1984, forneceu, de acordo com Wogan (1992), uma DT50 igual a 132 mg/kg p.c./dia. Este valor está próximo da DT50 observada em algumas espécies de primatas, porém, é consideravelmente superior às das espécies de roedores mais sensíveis.

Ao comparar esses valores, entretanto, deve-se ressaltar que a DT50 para o homem é teórica, uma vez que, para o seu cálculo, foram assumidas várias condições, entre elas, a de que a AFB1 seja a única causa do CHC e que a exposição a este carcinógeno tenha ocorrido continuamente durante cerca de 50 anos da vida do indivíduo (WOGAN, 1992).

Apesar da consistência dos dados, não existe ainda uma caracterização completa da relação dose-resposta para as aflatoxinas no homem. Isto se deve, dentre outras causas, ao fato de que, nos estudos epidemiológicos, o grau de exposição não é preciso, uma vez que foi estimado a partir dos níveis de contaminação por AFB1 na dieta das populações, e não na dose efetivamente ingerida individualmente, tal como ocorre em animais submetidos à experimentação (BOSCH e PEERS, 1991).

A comprovação científica do envolvimento das aflatoxinas na etiologia do câncer hepático, no homem, é dificultada pelo fato de que, em sua grande maioria, os estudos epidemiológicos foram realizados em áreas onde a infecção pelo HBV é endêmica e, também, correlacionada à incidência do CHC (OLIVEIRA e GERMANO, 1997). Esta afirmativa encontra respaldo em alguns estudos como o efetuado por Campbell et al. (1990), os quais não observaram relação entre a ingestão de aflatoxinas e a mortalidade por CHC em 48 áreas da República Popular da China, ao contrário da prevalência de portadores do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), a qual revelou-se fortemente associada ao CHC.

Entretanto, esse estudo foi severamente criticado por Wild e Montesano (1991), de modo particular, em relação à metodologia empregada para estimar o grau de exposição dos indivíduos às aflatoxinas. O HBV é considerado o principal fator de risco para o câncer hepático em certas populações, como a de Taiwan. Nesse país, estudos prospectivos como os realizados por Beasley e colaboradores, realizado no ano de 1981, demonstraram que existe uma alta

incidência do CHC em portadores de HBV (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

Inversamente, em estudos clínicos realizados por Beasley no ano de 1988, grande parte dos pacientes com CHC revelaram-se HBsAg seropositivos (OLIVEIRA e GERMANO, 1997). Além disso, sequências do vírus HBV têm sido encontradas no genoma de hepatócitos de pacientes com CHC, embora esta integração não constitua componente obrigatório do câncer hepático ou da hepatite crônica (WOGAN, 1992).

As conclusões da IARC, porém, foram bastante favorecidas a partir do final da década de 1980, pelos resultados obtidos em estudos de biomonitoramento individual de adutos de AFB1 com proteínas e DNA em populações expostas, de modo particular, na China. Isto possibilitou uma quantificação mais precisa do grau de exposição às aflatoxinas. Groopman e colaboradores, no ano de 1988, concluíram que, no homem, cerca de 1-2% da AFB1 ingerida liga-se covalentemente à albumina plasmática, e que a dosagem destes adutos evidencia exposição à AFB1 ao longo de aproximadamente 20 dias (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

Wild et al. (1990) pesquisaram a presença de adutos de albumina plasmática em adultos e crianças de vários países, como Kenia, Senegal, Gâmbia e Uganda, observando positividade entre 12-100% das amostras. Na Tailândia, os níveis destes adutos foram menores, sendo que nenhuma amostra foi positiva entre indivíduos da Polônia e França. Esses resultados são compatíveis com as incidências do CHC nos países citados. Estudos experimentais demonstraram que a formação de adutos AFB1-DNA é diretamente proporcional à dose de AFB1 ingerida, e à indução de tumores hepáticos em animais expostos (CHOY, 1993). No que se refere aos seres humanos, Groopman et al. (1992) observaram uma alta correlação entre a ingestão total de AFB1 e a excreção urinária total de adutos AFB1-N7-guanina.

Com base nestes dados, Ross et al. (1992), em estudo prospectivo realizado em Shangai, República Popular da China, evidenciaram que a exposição às aflatoxinas potencializou o risco de câncer hepático associado ao HBV. Observou-se que o risco relativo para os indivíduos com seropositividade para o HBsAg, e com presença de adutos AFB1-N7-guanina na urina, foi de 60,1; em

contraste, o risco relativo para os indivíduos com seropositividade para o HBsAg, e com ausência de adutos e outros derivados da AFB1 na urina, foi de 4,8.

O hepatocarcinoma é uma das neoplasias malignas mais comuns no mundo, com predomínio em alguns países. As diferenças extremas observadas na prevalência do CHC entre os diversos países revelam envolvimento de fatores ambientais em sua etiologia. Dentre os fatores identificados, as aflatoxinas e o vírus da hepatite B (HBV) possuem maior importância (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; SACRAMENTO, 2016).

De acordo com Baggio (2006), a exposição a AFB1 potencializa o risco de carcinoma hepático quando associada ao HBV, que atuaria como favorecedor da manifestação fenotípica do tumor causado pela toxina. Na China, Vietnã e África do Sul, essa combinação de aflatoxina com a exposição ao vírus da hepatite B aumenta os riscos de ocorrência de câncer de fígado em 60 vezes (FAPESP, 2009).

Evidências experimentais que derivam da extrapolação para o homem de resultados obtidos em estudos de biotransformação, mutagenicidade e carcinogenicidade em animais e nas preparações *in vitro* indicam que as aflatoxinas constituem um fator de risco para o CHC. Os estudos epidemiológicos com seres humanos também amparam a hipótese de que em áreas geográficas contaminadas frequentemente por aflatoxinas há uma incidência de CHC mais acentuada (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; SACRAMENTO, 2016).

Algumas pesquisas realizadas no Departamento de Saúde de Pittsburgh relatam o papel causal da aflatoxina em 4,6% a 28,2% de todos os casos de hepatocarcinoma globais (LIU e FELÍCIA, 2010). Alguns estudos realizados têm sugerido que aAFB1 participa da proto-oncogênese e também causa alterações no gene supressor de tumor p53, com consequente perda do controle do crescimento de hepatócitos (MAIA, SAKATA e SABBAG, 2011).

No entanto, é importante ressaltar, por outro lado, e como já foi destacado anteriormente, que, não existe ainda uma caracterização completa da relação dose-resposta para as aflatoxinas na espécie humana. Isto decorre, dentre outras causas, ao fato de que, nos estudos epidemiológicos, há uma imprecisão no grau de exposição, uma vez que se estima a partir dos níveis de contaminação por AFB1 na dieta das populações, e não na dose efetivamente ingerida

individualmente (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; SACRAMENTO, 2016).

Nessa perspectiva, estudos feitos em amostras de soro e biópsia de cadáveres destas regiões que vieram a óbito por CHC revelam um percentual considerável de positividade para a presença de aflatoxina. Fato que reafirma o papel das aflatoxinas como um fator de risco para o carcinoma hepatocelular no homem, melhor do que os estudos e experimentos epidemiológicos, devido à dificuldade de cobaias humanas (FASSBINDER, 2010).

Nesse contexto, uma pesquisa desenvolvida nos Estados Unidos (EUA) e publicada na Revista Nature, edição datada de 22 de outubro de 2009, reforça a ação da aflatoxina sobre o organismo humano, ao retratar que a ingestão de forma crônica pode causar câncer do fígado (SACRAMENTO, 2016).

Segundo esse estudo dos EUA, a toxina destrói o gene p53 que atua na prevenção de neoplasias em humanos, apontando que sem a proteção do p53, a aflatoxina pode comprometer a imunidade, de modo a causar uma grave desnutrição e, por fim, o câncer (FAPESP, 2009). Dessa forma, a ingestão dietética de aflatoxinas constitui um importante fator de risco para o CHC, de modo que se deve atentar quanto à origem de grãos e cereais, visto que quando armazenados em locais inadequados e úmidos podem ser contaminados pelo fungo *A. flavus*, produtor da substância cancerígena (INCA, 2020).

Portanto, levando-se em consideração essas informações iniciais, aliadas aos princípios básicos para a avaliação do risco à saúde propostos pela OMS, representado por contaminantes químicos em alimentos, considera-se fundamental a realização, no Brasil, de estudos sobre: “a mensuração dos níveis de exposição da população às aflatoxinas, mediante a utilização de técnicas atuais de biomonitoramento de derivados metabólicos da AFB1”; bem como “a avaliação dos níveis de exposição encontrados, à luz dos conhecimentos disponíveis, particularmente em relação à atividade biológica da AFB1 em células humanas”; além “da contribuição das aflatoxinas para a incidência do CHC na população, considerando-se os níveis de exposição através dos alimentos contaminados, excluídas outras possíveis causas, como o HBV” (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

Não restam dúvidas de que, o esclarecimento dessas questões poderá contribuir para uma melhor caracterização do risco à saúde humana representado pelo consumo de alimentos contaminados com aflatoxinas, bem como orientar a revisão e a elaboração de normas legais de tolerância mais seguras para essas toxinas.

CONCLUSÃO

As aflatoxinas têm sido extensivamente estudadas em relação ao seu mecanismo de ação, mutagenicidade e atividade carcinogênica. A identificação e a mensuração dos biomarcadores para a avaliação da exposição humana às aflatoxinas por meio de metodologias analíticas simples, rápidas, precisas e exatas podem ajudar a prevenir ou minimizar os agravos à saúde decorrentes da exposição do organismo humano a essas substâncias.

O objetivo principal desse trabalho foi esclarecer a relação entre exposição e ingestão de aflatoxinas e sua relação com a incidência de carcinoma hepatocelular. Ao final desse estudo pode-se inferir que, a ingestão e /ou exposição a aflatoxinas por menor que seja pode acarretar danos ao organismo. Uma pequena exposição às aflatoxinas é suficiente para aumentar em três vezes a chances de desenvolver a doença. Consequentemente uma exposição ou ingestão por tempo prolongado irá aumentar esse risco.

A aflatoxina B1 (AFB1) é considerada a mais tóxica desta espécie, sendo que a infecção por esta pode ocasionar hemorragias, danos ao fígado, icterícia, edema, alterações na digestão, no metabolismo, e possivelmente a morte. A ingestão de aflatoxinas em produtos alimentícios causa intoxicação aguda e crônica no homem. A aflatoxina B1, especialmente, constitui um fator de risco para o carcinoma hepático, por induzir uma mutação no gene p53 supressor de tumor.

A contaminação de alimentos varia em função de fatores geográficos e sazonais e também das condições de cultivo, colheita e armazenamento dos mesmos. Países tropicais, como o Brasil, apresentam uma maior vulnerabilidade para a ocorrência de fungos nas plantações. Os maiores índices de contaminação fúngica nos produtos agrícolas ocorrem nas etapas de produção, que abrange desde o plantio até a armazenagem.

A estabilidade das aflatoxinas impõe o uso de processos extremos de detoxificação (altas temperaturas, radiação), mecanismos que destroem as propriedades nutritivas dos produtos, além de não serem economicamente viáveis. Além disso, a contaminação inviabiliza o processamento do alimento, visto que a toxina permanece ativa e torna-o impróprio para o consumo.

Ainda existe uma considerável quantidade de alimentos contaminados por aflatoxinas e essa contaminação ocorre principalmente pela falta de cuidados que devem ser tomados na fase de cultivo. Dessa forma, é fundamental serem desenvolvidas ações de monitoramento contínuo e estímulo às boas práticas agrícolas. Desta forma, medidas implantadas para controlar e reduzir o consumo e exposição a aflatoxinas poderia melhorar o estado de saúde da população mundial, assim como reduzir as estatísticas de desenvolvimento e morte por carcinoma hepatocelular. Vale lembrar que em alguns países há um programa de supervisão do nível de AFB1 nos alimentos, mas esses programas muitas vezes são falhos, comprometendo a saúde da população.

Outra tentativa de diminuir os índices de desenvolvimento e morte por carcinoma hepatocelular seria controlar os vírus da hepatite B e C, através de vacinas, campanhas massivas para uso de preservativos e maiores cuidados em relação às drogas. A presença de aflatoxinas em grãos e alimentos tem sérias implicações na saúde humana e animal. Inúmeros casos de neoplasias em humanos podem estar diretamente relacionados à alimentação e à presença de aflatoxinas na dieta.

A melhor forma de prevenção da contaminação de alimentos são as boas práticas agrícolas, transporte e armazenagem, além de uma legislação que assegure a qualidade dos produtos tanto de origem vegetal como animal. Assim, é necessário um trabalho conjunto entre produtores, indústria e a vigilância sanitária, de forma a contribuir com a caracterização dos fatores de risco à saúde humana em relação à contaminação dos alimentos por aflatoxinas.

REFERÊNCIAS

1. BAGGIO, E.C.M. **Determinação de aflatoxina M1 em leite pasteurizado pelos métodos de CCD e CLAE utilizando coluna de imunoafinidade.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
2. BANDO, E. et al. **Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas.** In: J Bras Patol Med Lab, v. 43, n. 3, p. 175-180, junho 2007.
3. BOSCH, F.X.; PEERS, F. Aflatoxins: data on human carcinogenic risk. In: O'NEILL, I.K.; CHEN, J.; BARTSCH, H. (Eds). **Relevance to human cancer of N-nitroso compounds, tobacco smoke and mycotoxins.** Lyon, IARC, p.48-53, 1991.
4. BRAGA, W.S.M. et al. **Ocorrência da infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) e delta (VHD) em sete grupos indígenas do Estado do Amazonas.** In: Rev Soc Bras Med Trop., v.34, p.349-355, 2001.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011.** Dispõe sobre limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 18 fev. 2011.
6. BRUCE, R.D. **Risk assessment for aflatoxin. II. Implications of human epidemiology data.** In: Risk Anal., v. 10, p. 561-569, 1990.
7. CALDAS, E.D.; SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N. **Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana.** In: Rev Saúde Pública, v. 36, n.3, p. 319-323, 2002.
8. CAMPBELL, T.C. et al. **Nonassociation of aflatoxin with primary liver cancer in a cross-sectional ecological survey in the People's Republic of China.** In: Cancer Res., v. 50, p.6882-6893, 1990.
9. CARVALHO, A.P.P. **Aflatoxinas: ocorrência, distribuição e estimativa de ingestão através de produtos de amendoim na cidade de Piracicaba - São Paulo.** Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.
10. CARVALHO, R.A. **Incidência de fungos e aflatoxinas em arroz (Oriza sativa L.).** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
11. CHALUB, S.R.S. **Evaluation of a histocompatibility antigen related to hepatitis B virus in patients with hepatocellular carcinoma in the western Brazilian Amazon Genet.** In: Mol. Res., v.12 n.2, p.1336-1346, 2013.
12. CHOY, W.N. A review of the dose-response induction of DNA adducts by aflatoxin B1 and its implications to quantitative cancer-risk assessment. In: Mutat. Res., v. 296, p.181-98, 1993.
13. CIB. Conselho de Informações sobre Biotecnologia. **Ingestão de aflatoxina pode causar câncer.** In: Biotech, v. 2, n. 5, p. 01-04, 2004.
14. CLEMENS, S.A.C. et al. **Soroprevalência para hepatite A e hepatite B em quatro centros no Brasil.** In: Rev Soc Bras Med Trop., v. 33, p.1-10, 2000.

15. COVA, L. et al. **Contribution of aflatoxin B1 and hepatitis B virus infection in the induction of liver tumors in ducks.** In: *Cancer Res.*, v.50, p. 2156-63, 1990.
16. CRAUFURD, P.Q. et al. **Drought, pod yield, pre-harvest Aspergillus infection and aflatoxin contamination on peanut in Niger.** In: *Field Crops Research*, v. 98, p. 20–29, 2006.
17. CRUZ, J.V.S. **Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia, comercializados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.
18. DRUMOND, V.L.M.M. **Presença de aflatoxinas em arroz e cereais importados na União Européia - Revisão bibliográfica e análise de dados RASFF.** Dissertação de Mestrado. Universidade Nova Lisboa, Monte de Caparica, 2012.
19. ECHEVARRIA, J.M.; LEON, P. **Epidemiology of viruses causing chronic hepatitis among populations from the Amazon Basin and related ecosystems.** In: *Cad Saúde Pública*, v. 19, p.1583-1591, 2003.
20. EL-SERAG, H.B.; RUDOLPH, K.L. **Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis.** In: *Gastroenterology*, v.132, n.7, p.2557-2576, 2007.
21. FAPESP. **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Substância cancerígena tem atuação desvendada.** Agência FAPESB, São Paulo, 2009.
22. FASSBINDER, E.F. **Estudo bibliográfico sobre a incidência de aflatoxina em alimentos, e o poder carcinogênico da aflatoxina B1.** Monografia de Graduação. Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, 2010.
23. GONÇALVES, E.S. et al. **A importância da determinação analítica de intermediários reativos e de seus produtos de reações com biomacromoléculas: uma mini revisão.** In: *Quim Nova*, vol. 37, n. 2, p. 317-322, 2014.
24. GROOPMAN, J.D. et al. **Molecular dosimetry of aflatoxin-N7-guanine in human urine obtained in the Gambia, West Africa.** In: *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 1, n. 3, p. 221-7, 1992.
25. GROOPMAN, J.D.; KENSLER, T.W. **The light and the end of the tunnel for chemical-specific biomarkers: daylight or headlight?** In: *Carcinogen*, v. 20, n. 1, p. 1-11, 1999.
26. HAAS, P. et al. **Exposição a aflatoxinas: fator de risco para câncer de fígado.** In: *ResearchGate*. Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Araranguá, p.13-20, dezembro de 2015.
27. HARRIS, C.C. **Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s.** In: *Cancer Research*, Philadelphia, v.51, p.5023-5044, 1991.
28. HUSSEIN, S.H. BRASEL, J.M. **Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals.** In: *Toxicology*, Amsterdam, v.167, n.2, p.101-134, 2001.

29. IAMANAKA, B.T. et al. Micotoxinas em alimentos. In: An Acad Pernamb Ciênc Agron, vol. 7, p. 138-161, 2010.
30. IARC. **Iarc Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. n. 56. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins.** Lyon: Iarc Scientific Publication, 1993.
31. INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Câncer de fígado.** Rio de Janeiro, 2020.
32. JACKSON, P.E.; GROOPMAN, J.D. **Aflatoxin and liver cancer.** In: Baillière's Clin Gastroenterol, v. 13, n. 4, p. 545-55, 1999.
33. KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. O Fígado e as Vias Biliares. In: ROBBINS & COLTRAN. **Patologia - Bases Patológicas das Doenças.** 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
34. LANG, R.M. **Ocorrência de fungos toxigênicos e micotoxinas em erva-mate (Ilex paraguariensis St. Hil. var. paraguariensis) comercializada em Santa Catarina.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
35. LEVISION, W. **Microbiologia Médica e Imunologia.** 10. ed. Porto Alegre. Artmed, 2010.
36. LIU, Y.; FELÍCIA, W. **Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A Risk Assessment.** In: Environ Health Persp, vol. 118, n. 6, p. 818-824, 2010.
37. LLOVET, J.M.; BRUIX, J. **Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma.** In: Hepatology, v.48, p.1312–1327, 2008.
38. MCLEAN, M.; DUTTON, M.F. Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. In: Pharmacol. Ther., v.65, p.163-192, 1995.
39. MAIA, J.T.L.S.; SAKATA, R.A.P.; SABBAG S.P. **Ocorrência de aflatoxinas em produtos alimentícios e o desenvolvimento de enfermidades.** In: Enciclopédia Biosfera, vol. 7, n. 13, p. 1477-1498, 2011.
40. MAKARANANDA K et al. **Monitoring of aflatoxin exposure by biomarkers.** In: J Toxicol Sci, v. 23, suppl. 2, p. 155-159, 1998.
41. MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. DOS S. **Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil.** Rev Bras Prod Agroind, vol. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.
42. MIDORIKAWA, Y et al. **Molecular targets for liver cancer therapy: From screening of target genes to clinical trials.** In: Hepatol Res.,v.40, p.49-60, 2010.
43. MONTESANO, R. Approaches to detect individual exposure to carcinogens. In: VAINIO, H.; SORSA, M.; MCMICHAEL, A.J. (Ed.). **Complex mixtures and cancer risk.** Lyon: International Agency for Research on Cancer Press, p. 11-19, 1990.
44. OKUDA, H. **Hepatocellular carcinoma development in cirrhosis.** In: Best Pract Res Clin Gastroenterol., v. 21, n.1, p.161-163, 2007.
45. OLIVEIRA, C. GERMANO, P.M.L. **Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular.** Rev. Saúde Pública, v. 31, n. 4, p. 417-24, 1997.
46. OLUBUYIDE, I.O. **The natural history of primary liver cell carcinoma: a study of 89 untreated adult Nigerians.** In: Cent. Afr. J. Med., v. 38, p.25-30, 1992.

47. PARANAGUÁ-VEZOZZO, D.C. et al. **Epidemiology of HCC in Brazil: incidence and risk factors in a ten-year cohort.** In: *Ann Hepatol.*, v.13, n.4, p.386-393, 2014.
48. PARKIN, D.M. et al. **Global cancer statistics, 2002.** In: *CA Cancer J Clin.*; 55(2), p.74-108, 2005.
49. PIMENTA, R.J., MASSAKI, P.S. **Hepatocellular carcinoma: a clinical outlook.** In: *Rev Bras Clin Med.*, v.8, p.59-67, 2010.
50. ROCHA, M.D. et al. **Incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas - MG, Brasil.** *Rev Bras Toxicol*, vol. 21, n. 1, p. 15-19, 2008.
51. ROMERO, A.C. **Mensuração de biomarcador da exposição às aflatoxinas em fluidos biológicos.** Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.
52. ROSS R.K. et al. **Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma.** In: *Lancet*, London, v.339, p.943-946, 1992.
53. SACRAMENTO, T.R. **Importância da Contaminação de Alimentos por Aflatoxinas para a Incidência de Câncer Hepático.** In: *RECEN*, v. 18, n.1 p. 141-169, 2016.
54. SAKATA, R.A.P. et al. **Ocorrência de aflatoxinas em produtos alimentícios e o desenvolvimento de enfermidades.** In: *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.7, n.13, p.1477-1498, 2011.
55. SANGIOVANNI, A. et al. **The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: a 17-year cohort study of 214 patients.** In: *Hepatology*, v.43, n. 6, p.1303-1310, 2006.
56. SELL, S. et al. **Synergy between hepatitis B virus expression and chemical hepatocarcinogens in transgenic mice.** In: *Cancer Res.*, v.51, p. 1278-1285, 1991.
57. SHIMIZU, Y. et al. **Different frequencies of p53 codon-249 hot-spot mutations In hepatocellular carcinomas in Jiang-Su province of China.** In: *Int. J. Cancer*, v.82, p. 187-190, 1999.
58. SILVA, J.O. **Ocorrência de aflatoxina B1 em arroz consumido por militares do exército brasileiro por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência Curitiba.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
59. TAUIL, M.C. et al. **Mortalidade por hepatite viral B no Brasil, 2000-2009.** In: *Cad. Saúde Pública*, v.28, n.3, p.472-478, Rio de Janeiro, 2012.
60. THOMAS, M. **Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma.** In: *J Gastroenterol.*, v.44 Suppl 1, p.136–141, 2009.
61. WILD, C.P. et al. **Dietary intake of aflatoxins and the level of albumin-bound aflatoxin in peripheral blood in The Gambia, West Africa.** In: *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 1, n. 3, p. 229-34, 1992.
62. WILD, C.P.; TURNER, P.C. **The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions.** In: *Mutagen*, v. 17, n. 6, p. 471-81, 2002.
63. WILLIAMS, J.H et al. **Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potencial health consequences, and interventions.** In: *Am J Clin Nutr*, v. 80, n. 5, p. 1106-22, 2004.

Déborah Acássia Mamed Rodrigues, Flamir da Silva Victoria, Marilu Barbieri Victoria–
Aflatoxinas: Uma Abordagem da Associação da AFB1 como Fator de Risco Envolvido na Gênese do Carcinoma Hepatocelular (CHC)

64. WOGAN, G.N. **Aflatoxin carcinogenesis: interspecies potency differences and relevance for human risk assessment.** In: Prog. Clin. Biol. Res., v.374, p.123-137, 1992.



DÉBORAH ACÁSSIA MAMED RODRIGUES

Graduada em Medicina pela Universidade Nilton Lins (2011). Pós-Graduação em Medicina do Trabalho. Especialista em Medicina de Família e Comunidade (MFC) pelo Hospital Adriano Jorge. Atuou como coordenadora, estrategista e Gestora do PSF durante sua residência médica em MFC. Médica Infectologista pelo Hospital Geral de Roraima (HGR). Durante o período da Residência Médica de Infectologia, atuou como médica colaboradora da Liga Acadêmica de Medicina Tropical e Infectologia de Roraima (LAMTIR) e Preceptora Colaboradora do Internato Médico. Atualmente, fazendo Residência Médica-R5 em Hepatologia, na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado FMT/DHV-AM.



FLAMIR DA SILVA VICTORIA

Possui graduação em Medicina pela Universidade Federal do Rio Grande (1981), mestrado em Ciências de Alimentos pela Universidade Federal do Amazonas (1996) e doutorado em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas (2007). Atualmente é professor da disciplina de Gastroenterologia da Universidade do Estado do Amazonas (UEA) e Universidade Nilton Lins no curso de medicina. É médico da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado FMT/DHV-AM. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Gastroenterologia, atuando principalmente na área de Hepatologia. Supervisor da Residência Médica em Hepatologia no Estado do Amazonas.



MARILU BARBIERI VICTORIA

Graduada em Medicina pela Universidade Federal do Amazonas (UFAM) (1996), Residência Médica em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (1999), Mestrado em Doenças Tropicais e Infecciosas pela Universidade do Estado do Amazonas (UFAM) (2004). Doutorado em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas (2009). Atualmente é professora titular da disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade do Estado do Amazonas (UEA) e Universidade Nilton Lins, no curso de Medicina. É médica infectologista da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado FMT/DHV-AM, vinculada à Diretoria de Assistência Médica, atuando na pesquisa sobre hepatites virais.