

**EXPOSIÇÃO CRÔNICA A AFLATOXINA B1 E ONCOGÊNESE DO
CARCINOMA HEPATOCELULAR**

**CHRONIC EXPOSURE TO AFLATOXIN B1 AND ONCOGENESIS OF
HEPATOCELLULAR CARCINOMA**

Marcos Vinícios Pitombeira Noronha

Rômulo da Nóbrega de Alencar

Juliana Ciarlini Costa

Tatiana Paschoalette Rodrigues Bachur

Recebido em 15 de julho, 2020 aceito em 27 de agosto, 2020

Registro DOI: <http://dx.doi.org/10.22280/revintervol13ed3.480>

**RESUMO**

O carcinoma hepatocelular (CHC) é a neoplasia maligna mais frequentemente encontrada no fígado humano, sendo extremamente agressivo, porém silencioso. A aflatoxina B1 (AFB1) representa um importante agente causador do CHC, quando há exposição crônica a esta substância através da ingestão de grãos contaminados com o fungo produtor desta toxina, o *Aspergillus flavus*. A presente pesquisa bibliográfica teve como objetivo caracterizar a oncogênese do CHC por exposição à aflatoxina B1. Foi conduzida uma busca por artigos científico nas bases de dados MEDLINE, Science Direct e Scopus, através dos descritores "aflatoxins", "carcinoma hepatocelular" e "carcinogenesis", além da utilização de informações de sites governamentais. A partir dos 26 artigos selecionados, verificou-se que: existem biomarcadores precoces da hepatocarcinogênese induzida por AFB1, sendo o principal a impressão mutagênica (mutações G→T nos contextos GGC e CGC); os mecanismos e vias para o desenvolvimento do CHC incluem processos inflamatórios, formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e mutações em oncogenes e genes supressores tumorais, principalmente da via p53; existe sinergismo entre a AFB1 e outras substâncias (microcistinas e fumonisinas), com potencialização dos efeitos tóxicos da AFB1, sendo necessária a prevenção desta coexposição. Por fim, verificou-se a existência de substâncias (licopeno e fisetina) ou características genéticas (polimerase ζ (pol ζ) e Neil 1) que podem atuar como fator de proteção contra a carcinogênese por exposição à AFB1. Ressalta-se a necessidade do controle do armazenamento, conservação e consumo de grãos sujeitos à presença da AFB1, evitando a exposição crônica à esta aflatoxina.

Palavras-chave: Aflatoxinas. Carcinoma Hepatocelular. Carcinogênese.

ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common malignant neoplasm found in the human liver, being extremely aggressive, but silent. Aflatoxin B1 (AFB1) represents an important causative agent of HCC, when there is chronic exposure to this substance through the ingestion of grains contaminated with the fungus that produces this toxin, *Aspergillus flavus*. The present bibliographic research aimed to characterize the oncogenesis of HCC by exposure to aflatoxin B1. A search for scientific articles was conducted in the MEDLINE, Science Direct and Scopus databases, using the descriptors "aflatoxins", "hepatocellular carcinoma" and "carcinogenesis", in addition to the use of information from government websites. From the 26 selected articles, it was found that: there are early biomarkers of AFB1-induced hepatocarcinogenesis, the main one being the mutagenic impression (G→T mutations in the GGC and CGC contexts); the mechanisms and pathways for the development of HCC include inflammatory processes, formation of reactive oxygen species (ROS) and mutations in tumor oncogenes and suppressor genes, mainly of the p53 pathway; there is synergism between AFB1 and other substances (microcystins and fumonisins), with the potentialization of AFB1's toxic effects, making it necessary to prevent this coexposure. Finally, it was found the existence of substances (lycopene and fisetin) or genetic characteristics (polymerase ζ (pol ζ) and Neil 1) that can act as a protective factor against carcinogenesis due to exposure to AFB1. The need to control the storage, conservation and consumption of grains subject to the presence of AFB1 is emphasized, avoiding chronic exposure to this aflatoxin.

Keywords: Aflatoxins. Hepatocellular carcinoma. Carcinogenesis.



1 INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos contendo aflatoxinas na dieta humana é a segunda causa de carcinogênese associada ao meio ambiente no mundo. As aflatoxinas são metabólitos secundários cancerígenos produzidos por fungos do gênero *Aspergillus*, especialmente as espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, que crescem naturalmente em produtos alimentícios (MURPHY et al., 2006). Existem cerca de 20 tipos de aflatoxinas (AFs) descritas, contudo, em termos de interesse médico relativo à saúde humana, as principais são as AFs B1, B2, G1 e G2 (DIAZ, 2005).

As aflatoxinas são conhecidas por causar doenças em humanos, incluindo aflatoxicoses, resultantes de exposição aguda a altas quantidades, e de câncer hepático primário, como resultado de exposição crônica a baixas concentrações de AFs. Dentre as aflatoxinas, a AFB1, além de ser a mais frequentemente encontrada em substratos vegetais, é a que possui maior poder toxigênico, sendo classificada como carcinogênica do Grupo 1 pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (International Agency for Research on Cancer – IARC) (MURPHY et al., 2006; KENSLER et al., 2011; KHLANGWISSET et al. 2011). A toxina é ingerida juntamente com alimentos contaminados, principalmente aqueles que são mantidos armazenados antes do consumo, como grãos, a exemplo do amendoim, milho, feijão e arroz (MURPHY et al., 2006).

O envolvimento na carcinogênese hepática é o efeito de maior relevância da toxicidade crônica da aflatoxina B1 (IARC, 2002). Esta aflatoxina representa um dos agentes causadores mais prevalentes do carcinoma hepatocelular (CHC), especialmente em partes do mundo onde é comum o consumo de grãos que podem estar contaminados com o fungo deteriorador de alimentos *Aspergillus flavus* (CHAWANTHAYATHAM et al., 2017). Assim, a exposição crônica à AFB1 é responsável por 4,6-28,2% de todos os casos globais de CHC (RIESWIJK et al., 2016).

O CHC é a neoplasia maligna mais frequentemente encontrada no fígado humano, compreendendo a cerca de 75 a 85% dos

cânceres hepáticos (BRAY et al., 2018). É causada por uma multiplicação excessiva das células do fígado na tentativa de reparar lesões no órgão. Esse tipo de câncer é extremamente agressivo, porém silencioso, sendo frequentemente diagnosticado em estágios mais avançados, quando os sintomas começam a surgir. Nessa fase, tal tumor apresenta alta mortalidade, o que o torna a quarta causa mais importante de mortes por câncer no mundo, responsável por 782.000 mortes a cada ano (GOMES et al., 2013; BRAY et al., 2018).

No Brasil, entre 2011 e 2015, foram registrados 44.541 casos de morte por CHC, de acordo com dados do Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Além disso, segundo dados do DataSUS, entre julho de 2014 e junho de 2015, 5.487 pacientes foram diagnosticados com CHC no país.

A maior ocorrência de CHC está relacionada a agressões crônicas às células hepáticas, acontecendo, na maioria dos casos, associadas à cirrose, que pode ser causada por infecções pelos vírus das hepatites B e C, por consumo excessivo de álcool e por esteatose hepática não-alcoólica. Além desses fatores, há a influência da obesidade, do tabagismo e do diabetes mellitus tipo 2, somados à exposição a aflatoxinas e a condições genéticas como hepatites autoimunes. A maior exposição de indivíduos do sexo masculino a esses fatores de risco influencia diretamente nas maiores taxas de incidência e de mortalidade por CHC em homens em relação às mulheres sendo estas, então, 2 a 3 vezes mais elevadas no sexo masculino (GOMES et al., 2013; LLOVET; FUSTER; BRUIX, 2010; LONDON; PETRICK MCGLYNN, 2018).

Apesar das evidências e de todo o conhecimento a respeito dos vários fatores de risco químicos e microbiológicos para o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular e do conhecimento sobre as formas para reduzir ou mesmo eliminar esses riscos, o CHC continua chamando atenção no cenário mundial de saúde, sendo uma doença prevalente e mortal, que traz ônus sociais diversos, visto ser comumente assintomática até que atinja um estágio muito



tardio, em que são poucos os tratamentos disponíveis e efetivos. (GOMES et al., 2013; CHAWANTHAYATHAM et al., 2017). Portanto, discutir sobre tal temática é de indubitável importância para se conseguir modificar o cenário atual que envolve o CHC, especialmente em relação à exposição a aflatoxinas.

Assim, a presente pesquisa bibliográfica teve como objetivo caracterizar a oncogênese do CHC por exposição à aflatoxina B1, identificando biomarcadores precoces, os principais mecanismos e mutações relacionados, esclarecendo relações de sinergia entre a AFB1 e outras toxinas e elencando fatores protetores para o desenvolvimento de CHC.

2 METODOLOGIA

Esta pesquisa bibliográfica foi conduzida a partir de uma revisão de literatura, buscando uma abordagem narrativa de natureza qualitativa. Esse tipo de pesquisa tem como base a análise do material pela organização e pela interpretação no atendimento ao objetivo da investigação (TAQUETTE; MINAYO; RODRIGUES, 2015).

As fontes de pesquisa utilizadas foram as bases de dados bibliográficas MEDLINE, Science Direct e Scopus, através do uso dos seguintes descritores MeSH (Medical Subject Headings): "aflatoxins", "carcinoma, hepatocelular", "carcinogenesis" e de suas combinações. Foram utilizadas também informações de sites de instituições oficiais nacionais e internacionais como Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) e DataSUS, via Ministério da Saúde do Brasil (MS).

Os critérios de inclusão para a seleção de artigos científicos consistiram em artigos originais com abordagem referente ao assunto, publicados entre os anos de 2010 e 2020 nos idiomas português, inglês e espanhol. Produções que não atenderam aos critérios de seleção foram excluídas. Outros 11 artigos obtidos a partir de outras fontes de pesquisa e que atenderam aos critérios de inclusão foram também utilizados.

Assim, 26 produções científicas foram selecionadas para compor esta revisão (Figura 1).

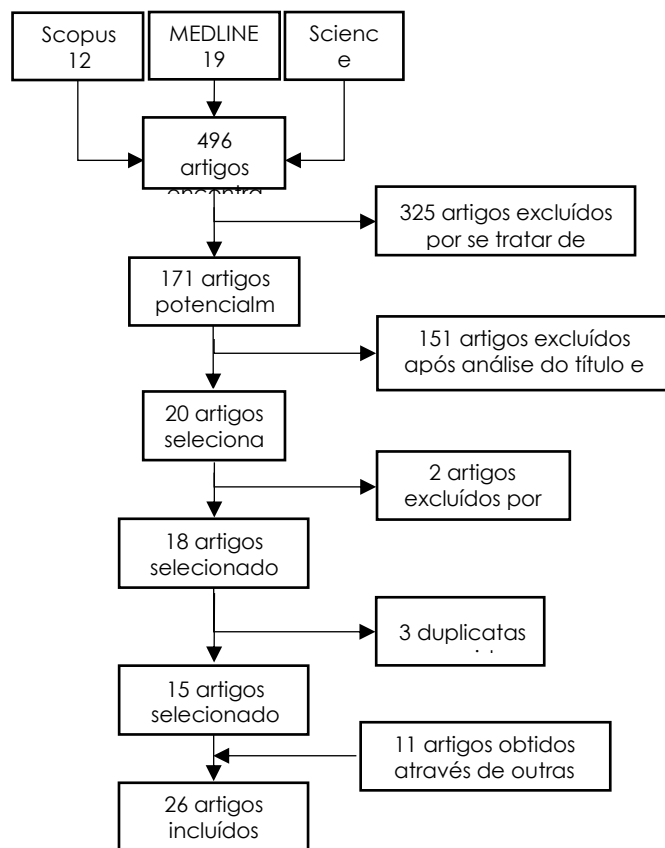


Figura 1. Diagrama de fluxo da seleção dos artigos utilizados na revisão sobre aflatoxina B1 e carcinoma hepatocelular.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mecanismos e mutações mais prevalentes no desenvolvimento do CHC pela exposição à aflatoxina B1

Após a ingestão, a aflatoxina B1 é absorvida no trato gastrointestinal e sofre biotransformação, principalmente no fígado, por meio de enzimas microsossomais de fase I, como o sistema de monooxigenases dependente do citocromo P450 (incluindo CYP1A1, CYP1A2 e CYP3A4) (WANG et al., 2020).



A AFB1 não é um agente cancerígeno direto, uma vez que só exerce carcinogenicidade após ativação metabólica (WANG et al., 2020). Sua forma carcinogênica é, portanto, o metabólito eletrofílico altamente ativo AFB1-8,9-óxido ou AFB1-epóxido, produzido a partir da biotransformação da AFB1 no fígado (MADRIGAL-SANTILLAN et al., 2010). Este metabólito constitui-se em um marcador de exposição a toxinas fúngicas na dieta (RAMALHO et al., 2018).

A forma ativada da AFB1 (AFB1-epóxido) reage rapidamente com algumas macromoléculas do organismo, como DNA, RNA e proteínas, formando ligações covalentes. Quando ocorre ligação a proteínas, leva à toxicidade aguda, conhecida como aflatoxicose (RAMALHO et al., 2018). Ao reagir com as macromoléculas de DNA ou de RNA, adutos estereoespecíficos AFB1-N7-GUA e AFB1-FABY são formados, os quais são os principais precursores químicos responsáveis por causar danos genéticos, dando início a carcinogênese, com a ativação de oncogenes e inativação de genes supressores tumorais, levando ao desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (BAHARI et al., 2014; CHAWANTHAYATHAM et al., 2017).

A AFB1 forma adutos fortemente mutagênicos durante um período inicial de rápido crescimento replicativo, resultando na conversão eficiente de adutos em mutações. Devido a sua persistência e à alta mutabilidade inerente, o aduto AFB1-FAPY provavelmente responde pela maioria das mutações induzidas pela aflatoxina B1, visto que quando atravessado por polimerases replicativas ou de transcrição, o aduto AFB1-FAPY causa principalmente mutações G→T (CHAWANTHAYATHAM et al., 2017).

As vias afetadas para o desenvolvimento de tumores incluem ainda as vias inflamatórias, sinalização de estrogênio, via p53 e modificações de histonas, refletindo a natureza sistêmica da doença que surge das perturbações iniciais através do componente ativo da aflatoxina AFB1 (TEOH et al., 2015).

O desenvolvimento do carcinoma hepatocelular está relacionado a diversas mutações em genes críticos, exemplificados por

oncogenes e por genes supressores de tumor, além de genes responsáveis por manter a homeostase da replicação celular, como p53 e proteína supressora de tumor (PB). A PB nuclear parece ser essencial na regulação de processos celulares, como apoptose, proliferação e transcrição de genes. Os genes Rb e p16 atuam como genes supressores de tumor, quando a ciclina D1 é ativada como oncogene (RAMALHO et al., 2018). Os tumores induzidos por AFB1 apresentam maior número de genes alterados em relação a outros fatores etiológicos para CHC, como o vírus da Hepatite B (203 versus 381 genes) (TEOH et al., 2015).

A mutação de transverso (G→T) no códon 249 do gene supressor de tumor p53 foi associada à exposição a AFB1. Uma mutação nesse gene pode causar o silenciamento de sua função de supressão tumoral e permitir a proliferação descontrolada de células (RIESWIJK et al., 2016). Entre as muitas alterações genéticas associadas ao CHC, as mutações no p53, que frequentemente comprometem a capacidade desse fator de transcrição para interromper a progressão do ciclo celular e permitir o reparo do DNA, são as mais comuns (CHAWANTHAYATHAM et al., 2017).

Mudanças na expressão de PB relacionadas à p53 foram observadas em amostras de CHC humanas de pacientes expostos à aflatoxina AFB1, com superexpressão de PB mesmo em fígados não neoplásicos, corroborando a participação da aflatoxina B1 nas vias de estresse oxidativo. Ademais, na hepatocarcinogênese induzida por aflatoxina B1, com a presença de AFB1 residual no fígado, foi observada uma estreita relação entre a depleção do gene Rb e o desenvolvimento de CHC, visto que a supressão da via Rb promove a ativação da via da ciclina e a progressão do tumor (RAMALHO et al., 2018).

A inflamação crônica, as vezes presente, juntamente com a necrose induzida por AFB1 local, pode resultar na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), contribuindo com lesões ao material genético e com mutações. Além disso, a inflamação pode induzir polimerases de by-pass de baixa fidelidade e/ou causar



tentativas fracassadas de reparo do DNA, o que pode induzir mutações adicionais (CHAWANTHAYATHAM et al., 2017).

Biomarcadores precoces da hepatocarcinogênese induzida pela exposição à aflatoxina B1

Chawanthayatham et al. (2017), sequenciou o DNA de um grupo de células que foram cronicamente expostas à AFB1 por 10 semanas, revelando o Espectro Mutacional de Alta Resolução (HRMS) no grupo celular. A partir disso, sua pesquisa conseguiu estabelecer um biomarcador precoce dessa exposição, no qual há a impressão mutagênica. Foram observadas as mutações G→T nos contextos GGC e CGC. Isso reforça a noção de que essas mutações são hotspots mutacionais específicos precoces para AFB1.

Ademais, essa impressão mutagênica precoce foi encontrada nos hepatócitos que circundavam o tumor após a exposição crônica ao AFB1, visto que foram identificadas características específicas compartilhadas com os hepatócitos na análise inicial da exposição crônica ao AFB1 (baseada na similaridade qualitativa observadas pela inspeção visual resultou em altamente semelhantes – 0,96, em que 1,00 denota identidade). Apesar dos espectros mutacionais de tecidos tumorais após a exposição crônica à aflatoxina B1 serem mais complexos, as células tumorais ainda apresentavam o marcador mutacional específico para AFB1 (hotspot G→T), reafirmando sua importância na hepatocarcinogênese. (CHAWANTHAYATHAM et al., 2017).

As mutações nas sequências de CGC são robustas, ocorrendo na maioria dos locais de CGC presentes. Várias razões podem explicar o padrão mutagênico a depender do contexto observado no domínio G→T. Alguns contextos de três bases de guanina são melhores alvos para ligação covalente com AFB1-epóxido do que outros. De fato, o CGC é a terceira sequência mais reativa para o AFB1-epóxido. Além disso, um aduto, em alguns contextos, pode evitar um reparo de

maneira mais efetiva do que tal aduto em outros contextos. Por fim, um aduto no contexto de hotspot CGC pode ser mal interpretado por uma polimerase com maior frequência do que o mesmo aduto em outro contexto (CHAWANTHAYATHAM et al., 2017).

Contudo, a aparência do espectro mutacional específico para a exposição à AFB1 não é um preditor estrito de câncer, visto que outros fatores relevantes para a progressão do câncer, como inflamação, podem ser necessários para direcionar o tecido para o estágio avançado e, por fim, terminal da doença (CHAWANTHAYATHAM et al., 2017).

Sinergismo entre a aflatoxina B1 e outras substâncias no desenvolvimento do CHC

Água e alimentos proveem os seres humanos com suas necessidades nutricionais básicas, mas algumas vezes, são inevitavelmente contaminadas por toxinas ambientais. Essas toxinas podem ter efeitos deletérios na saúde, mesmo quando a exposição do organismo é pequena. Os métodos tradicionais de tratamento de água e alimentos, como filtração e a lavagem, respectivamente, podem não remover completamente todos os contaminantes, deixando o organismo exposto a estas substâncias (LIU et al., 2018).

O carcinoma hepatocelular é um dos tipos de cânceres mais graves do mundo, com 500,000-1,000,000 novos casos diagnosticados e 600,000 mortes anualmente (KUCUKCAKAN; HAYRULAI-MUSLIU, 2015; LIU et al., 2018). Fatores de risco para o carcinoma hepatocelular são complexos, incluindo, dentre outros fatores, a exposição a toxinas, as quais trazem uma relevante contribuição para a carcinogênese hepática, principalmente quando há uma combinação entre diferentes fatores (LIU et al., 2018). Aflatoxinas (AFTs) e microcistinas (MCs), comumente encontradas em água ou alimentos contaminados em ambientes quentes e úmidos têm sido reportadas como genotóxicas para o fígado em muitos estudos in vitro e in vivo. A aflatoxina B1 é, comprovadamente, um



importante hepatocarcinógeno, com 4,6-28,2% dos casos de carcinoma hepatocelular sendo relacionados à exposição a esta substância (KUCUKCAKAN; HAYRULAI-MUSLIU, 2015). As AFTs e MCs acumulam-se em seu alvo primário, o fígado. O estresse oxidativo e dano ao DNA são importantes mecanismos tóxicos por meio dos quais a carcinogênese hepática relacionada a AFB1 e MC-LR ocorre (LIU et al., 2018).

Liu et al. (2018) demonstrou os efeitos do uso combinado da AFB1 e da MC-LR na genotoxicidade de células hepáticas, encontrando aumento significativo na genotoxicidade induzida pela coexposição a AFB1 e MC-LR, com aumento na produção de ERO. Ambas as biotoxinas demonstraram uma tendência a um aumento de dose dependente dos níveis de catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione (GSH). Ademais, o autor também demonstrou o efeito regulador da MC-LR, em vez da AFB1, no gene “base excision repair” (BER) durante a resposta a dano ao DNA. Os resultados do estudo indicam que MC-LR exacerba a genotoxicidade induzida pela AFB1 pelo efeito do estresse oxidativo, além de ter sido demonstrada, pela primeira vez, a importância da regulação do gene BER nesses efeitos (LIU et al., 2018).

A coexposição a aflatoxinas (AFs) e a fumonisinas B (FBs) é uma importante preocupação de saúde pública principalmente nos países em desenvolvimento, onde o milho compõe uma das bases da alimentação (IARC, 2016). Populações em alto risco para essa coexposição a AFs e FBs incluem humanos na África Subsaariana, no sudeste Asiático, no México, na América Central e em partes da América do Sul (KANG et al., 2015; MARROQUIN-CARDONA et al., 2014; TORRES et al., 2014; WILD; GONG, 2010).

Qian et al. (2016) demonstraram que ocorre interação sinérgica entre a exposição à aflatoxina AFB1 e a infecção pelo vírus da hepatite B no desenvolvimento do carcinoma hepatocelular em humanos e, provavelmente, quando milho compõe a dieta base também haverá exposição à FB (BULDER et al., 2012; QIAN

et al., 2016). A coexposição a aflatoxina B1 e fumonisina B1 (FB1) é particularmente relevante no que se refere ao aumento sinérgico de lesões pré-neoplásicas no fígado demonstrada em animais (CARLSON et al., 2001; QIAN et al., 2016). De acordo com Qian et al. (2016), a alimentação sequenciada de ratos com uma dieta exposta a AFB1 e FB1, em um ensaio de oito semanas mostrou um efeito de sinergismo pré-neoplásico e indicou que o seu modelo provê um ensaio útil para prever a eficácia da potenciação de estratégias de intervenção que buscam reduzir um possível efeito adverso da dieta com coexposição a AFB1 e FB1 em animais e humanos.

Substâncias e características genéticas com potencial fator de proteção para hepatocarcinogênese induzida por AFB1

Xu et al. (2017) demonstrou, em modelo murino, que o licopeno (LIC) foi capaz de reduzir o acúmulo de derivados da AFB1-DNA no fígado, amenizando o dano hepático através da supressão do estresse oxidativo induzido pela AFB1 e aumentando o efeito de detoxificação mediado pela glutathione transferase (GST). O autor também demonstrou o efeito hepatoprotetor do LIC contra os efeitos hepatotóxicos da AFB1 através da ativação do gene Nrf2, cuja expressão posterior do RNAm da Nrf2 inclui as isoenzimas GST. No entanto, o LIC falhou em recuperar a redução de citocromo P450 nos microsomos hepáticos e em expressar RNAm de P4501A2 e 3A4, indicando que LIC não tem efeito significativo na bioativação da AFB1 mediado por P450. Em suma, o licopeno protegeu os animais testados da lesão hepática mediada pela AFB1 via aumento de antioxidantes e de potencial detoxificante hepático, o que possivelmente advém da ativação do mecanismo de sinalização do Nrf2.

Maurya et al. (2016) demonstraram que a fisetina, uma substância antioxidante que funciona como agente citotóxico contra certos tipos celulares, foi capaz de recuperar, em ratos, os níveis normais de enzimas antioxidantes que encontravam-se reduzidas no câncer hepático



induzido por AFB1. Além disso, o uso da fisetina normalizou os níveis de TNF α e IL-1 α , duas citocinas pró-inflamatórias envolvidas na patogênese do câncer hepático e que encontravam-se elevadas nos animais do estudo. Os achados sugerem que fisetina atenua a hepatocarcinogênese induzida pelo estresse oxidativo inflamatório causado por exposição a AFB1.

Para compreender como as características genéticas podem modular a sensibilidade individual à exposição a aflatoxinas presentes na dieta, convém conhecer a via bioquímica que contribui para o reparo do aduto AFB1-FAPY, formado a partir da reação com a forma ativa da AFB1 (AFB1-epóxido). No estudo de Vartanian et al. (2017), o autor demonstrou, em ratos, a habilidade da endonuclease NEIL 1 em catalisar a liberação do aduto AFB1-FAPY de oligodeoxinucleotídeos. Os animais Neil 1 $-/-$ acumularam mais adutos AFB1-FAPY do que os animais controle e foram consideravelmente mais suscetíveis ao desenvolvimento do câncer hepatocelular induzido por AFB1 (VARTANIAN et al., 2017).

A habilidade da polimerase ζ (pol ζ) de incorporar uma oposição a AFB1-FAPY e de estender esse desarranjo foi demonstrada por Lin et al. (2016), sugerindo que o gene o pol ζ é essencial para o processo de adução do DNA induzido por AFB1 e que, na sua ausência, células não têm um backup de polimerase eficiente ou um mecanismo de reparo/tolerância que facilite a sua sobrevivência (LIN et al., 2016).

Os efeitos da coexposição a longo prazo à AFB1 e microcistina-LR vem sendo estudados in vitro e in vivo. As microcistinas são cianotoxinas, dentre as quais a mais estudada é a microcistina-LR (MC-LR), classificada no Grupo 2B pela IARC (possivelmente carcinogênico para humanos). A MC-LR pode promover o câncer através da inibição das proteínas fosfatases 1 e 2A (PP1 e PP2A), interferindo no reparo do DNA e induzindo danos ao DNA ao produzir EROs (CHEN et al., 2016; MA et al., 2016; LIU et al., 2018; SVIRCEV et al., 2019).

Liu et al (2018), demonstrou que AFB1 e MC-LR apresentaram forte sinergia atuando

negativamente sobre os genes de reparo do DNA após coexposição aguda, potencializando a hepatocarcinogenicidade promovida por AFB1. No entanto, Wang et al. (2020) concluiu que a coexposição crônica a MC-LR pode inibir a transformação maligna induzida por AFB1 das células hepáticas humanas. Segundo Wang et al. (2020), a coexposição crônica a MC-LR pode reprimir tanto a transformação maligna induzida por AFB1 das células normais, quanto a lesão pré-cancerosa do fígado em animais, visto que foram identificados efeitos antagônicos do MC-LR na proliferação e na formação de células expostas ao AFB1. Além disso, o estudo mostrou que a coexposição não aumentou a lesão hepática induzida pela aflatoxina AFB1, ocorrendo a inibição da hepatocarcinogênese induzida pela AFB1. Isso pode ser explicado pelo fato de o MC-LR ter reduzido a formação de adutos de AFB1-DNA, o qual é um biomarcador da produção de AFBO e do dano ao DNA associado a AFB1, e ter reprimido a regulação positiva da expressão e a ativação da enzima CYP1A2 induzida por AFB1, o que pode resultar em uma redução dos adutos de DNA de AFB1 (WANG et al., 2020).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo identificou na literatura a descrição de biomarcadores precoces da hepatocarcinogênese induzida por AFB1, sendo o principal deles a impressão mutagênica: mutações G \rightarrow T nos contextos GGC e CGC. Ademais a literatura pesquisada apresentou os principais mecanismos e vias no desenvolvimento do CHC, as quais incluem processos inflamatórios, formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e mutações em genes críticos, como oncogenes e genes supressores tumorais, principalmente da via p53.

A potencialização dos efeitos tóxicos da AFB1 foi citada na literatura quando ocorre a exposição concomitante desta com as substâncias microcistinas (em coexposição aguda) e fumonisinas. O estudo dessa relação de



sinergismo chama a atenção para a importância da prevenção desta coexposição, especialmente para evitar o desenvolvimento do carcinoma hepático.

Por fim, também foram identificadas, na literatura pesquisada, substâncias ou características genéticas que atuam como fator de proteção contra as ações hepatotóxicas da AFB1, a exemplo das substâncias licopeno, fisetina e microcistinas (estas em exposição crônica), e de características genéticas como polimerase ζ (pol ζ) e a expressão do gene Neil1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAHARI, Abbas; MEHRZAD, Jalil; MAHMOUDI, Mahmoud; BASSAMI, Mohammad Reza; DEGHANI, Hesam. Cytochrome P450 isoforms are differently up-regulated in aflatoxin B1-exposed human lymphocytes and monocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 1-10, 30 out. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/08923973.2013.850506>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08923973.2013.850506?scroll=top&needAccess=true>. Acesso em: 13 abril 2020.
2. BRAY, Freddie; FERLAY, Jacques; SOERJOMATARAM, Isabelle; SIEGEL, Rebecca L.; TORRE, Lindsey A.; JEMAL, Ahmedin. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, [s. l.], v. 68, n. 6, p. 394-424, 12 set. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21492>. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21492>. Acesso em: 13 abril 2020.
3. BULDER, A. S.; ARCELLA, D.; BOLGER, M.; CARRINGTON, C.; KPODO, K.; RESNIK, S.; RILEY, R. T.; WOLTERINK, G.; WU, F. Fumonisin. In: JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 74., 2012, Roma. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives Series. Roma, No. 65, p. 325-527, 2012.
4. CHAWANTHAYATHAM, Supawadee; VALENTINE, Charles C.; FEDELES, Bogdan I.; FOX, Edward J.; LOEB, Lawrence A.; LEVINE, Stuart S.; SLOCUM, Stephen L.; WOGAN, Gerald N.; CROY, Robert G.; ESSIGMANN, John M. Mutational spectra of aflatoxin B1 in vivo establish biomarkers of exposure for human hepatocellular carcinoma. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, [s. l.], v. 114, n. 15, p. 3101-3109, 28 mar. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1700759114>. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/pnas/114/15/E3101.full.pdf>. Acesso em: 13 abril 2020.
5. CHEN, Liang; LI, Shangchun; GUO, Xiaochun; XIE, Ping; CHEN, Jun. The role of GSH in microcystin-induced apoptosis in rat liver: Involvement of oxidative stress and NF- κ B. *Environmental Toxicology*, [s. l.], v. 31, n. 5, p. 552-560, mai. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/tox.22068>
6. DIAZ, D. E. *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham: Nottingham University Press, 2005. ISBN 978-1899043521.
7. GOMES, M. A.; PRIOLLI, D. G.; TRALHÃO, J. G.; BOTELHO, M. F. Carcinoma hepatocelular: epidemiologia, biologia, diagnóstico e terapias. *Revista da Associação Médica Brasileira*, São Paulo, v. 59, n. 5, p. 514-524, set. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ramb.2013.03.005>.



8. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans: Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Lyon: IARC, v. 82, p. 301–366, 2002.
9. KANG, Min-su; NKURUNZIZA, Peter; MUWANIKI, Richard; QIAN, Guoqing; TANG, Lili; SONG, Xiao; XUE, Kathy; NKWATA, Allan; SSEMPBWA, John; LUTALO, Tom. Longitudinal evaluation of aflatoxin exposure in two cohorts in south-western Uganda. *Food Additives & Contaminants: Part A*, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 1322-1330, 24 jul. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2015.1048749>.
10. KENSLER, T. W.; ROEBUCK, B. D.; WOGAN, G. N.; GROOPMAN, J. D. Aflatoxin: A 50-Year Odyssey of Mechanistic and Translational Toxicology. *Toxicological Sciences*, [s. l.], v. 120, n. 1, p. 28-48, 29 set. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfq283>.
11. KHLANGWISSET, Pornsri; SHEPHARD, Gordon S.; WU, Felicia. Aflatoxins and growth impairment: A review. *Critical Reviews in Toxicology*, [s. l.], v. 41, n. 9, p. 740-755, 28 jun. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/10408444.2011.575766>.
12. KUCUKCAKAN, Basak; HAYRULAI-MUSLIU, Zehra. Challenging Role of Dietary Aflatoxin B1 Exposure and Hepatitis B Infection on Risk of Hepatocellular Carcinoma. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 363-363, 25 mar. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.3889/oamjms.2015.032>
13. LIN, Ying-chih; OWEN, Nichole; MINKO, Irina G.; LANGE, Sabine S.; TOMIDA, Junya; LI, Liang; STONE, Michael P.; WOOD, Richard D.; MCCULLOUGH, Amanda K.; LLOYD, R. Stephen. DNA polymerase ζ limits chromosomal damage and promotes cell survival following aflatoxin exposure. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, [s. l.], v. 113, n. 48, p. 13774-13779, 14 nov. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1609024113>. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/pnas/113/48/13774.full.pdf> Acesso em: 13 abril 2020.
14. LIU, Wenyi; WANG, Lingqiao; ZHENG, Chuanfen; LIU, Lebin; WANG, Jia; LI, Daibo; TAN, Yao; ZHAO, Xilong; HE, Lixiong; SHU, Weiqun. Microcystin-LR increases genotoxicity induced by aflatoxin B1 through oxidative stress and DNA base excision repair genes in human hepatic cell lines. *Environmental Pollution*, [s. l.], v. 233, p. 455-463, fev. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.067>.
15. LLOVET, J. M.; FUSTER, J.; BRUIX, J. The Barcelona approach: diagnosis, staging, and treatment of hepatocellular carcinoma. *Liver Transplant*, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 115-120, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/lt.20034>.
16. LONDON, W. T.; PETRICK J. L.; MCGLYNN K. A. Liver Cancer. In: THUN, Michel J.; LINET, Martha S.; CERHAN, James R.; HAIMAN, Christopher A.; SCHOTTENFELD, David. *Cancer Epidemiology and Prevention*. 4th Ed. New York: Oxford University Press, 2018. p. 635-660.
17. MADRIGAL-SANTILLÁN, Eduardo; MORALES-GONZÁLEZ, José A.; VARGAS-MENDOZA, Nancy; REYES-RAMÍREZ, Patricia; CRUZ-JAIME, Sandra; SUMAYA-MARTÍNEZ, Teresa; PÉREZ-PASTÉN, Ricardo; MADRIGAL-BUJAJIDAR, Eduardo. Antigenotoxic Studies of Different Substances to Reduce the DNA Damage Induced by Aflatoxin B1 and Ochratoxin A. *Toxins*, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 738-757, 19 abr. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/toxins2040738>.



18. MA, Junguo; FENG, Yiyi; LIU, Yang; LI, Xiaoyu. PUMA and survivin are involved in the apoptosis of HepG2 cells induced by microcystin-LR via mitochondria-mediated pathway. *Chemosphere, Henan*, v.157, p. 241-249, 26 maio. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.051>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516306993?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020.
19. MARROQUÍN-CARDONA, A.g.; JOHNSON, N.m.; PHILLIPS, T.d.; HAYES, A.w.. Mycotoxins in a changing global environment – A review. *Food and Chemical Toxicology*, [s.l.], v. 69, p. 220-230, julho. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.04.025>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691514002075>. Acesso em: 13 abril 2020.
20. MAURYA, Brajesh Kumar; TRIGUN, Surendra Kumar. Fisetin Modulates Antioxidant Enzymes and Inflammatory Factors to Inhibit Aflatoxin-B1 Induced Hepatocellular Carcinoma in Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [s.l.], v. 2016, p. 1-9, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1972793>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2016/1972793/>. Acesso em: 13 abril 2020.
21. MURPHY, Patricia A.; HENDRICH, Suzanne; LANDGREN, Cindy; BRYANT, Cory M. Food Mycotoxins: an update. *Journal of Food Science*, [s.l.], v. 71, n. 5, p. 51-65, junho. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00052.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1750-3841.2006.00052.x>. Acesso em: 13 abril 2020.
22. QIAN, Guoqing; TANG, Lili; LIN, Shuhan; XUE, Kathy S.; MITCHELL, Nicole J.; SU, Jianjia; GELDERBLOM, Wentzel C.; RILEY, Ronald T.; PHILLIPS, Timothy D.; WANG, Jia-Sheng. Sequential dietary exposure to aflatoxin B1 and fumonisin B1 in F344 rats increases liver preneoplastic changes indicative of a synergistic interaction. *Food and Chemical Toxicology*, [s.l.], v. 95, p. 188-195, setembro. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.07.017>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869151630237X?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020.
23. RAMALHO, Leandra N.z.; PORTA, Livia D.; ROSIM, Roice E.; PETTA, Tânia; AUGUSTO, Marlei J.; SILVA, Deisy M.; RAMALHO, Fernando S.; OLIVEIRA, Carlos A.F. Aflatoxin B1 residues in human livers and their relationship with markers of hepatic carcinogenesis in São Paulo, Brazil. *Toxicology Reports*, [s.l.], v. 5, p. 777-784, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.07.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221475001830009X?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020.
24. Acesso em: 13 abril 2020.
25. RIESWIJK, Linda; CLAESSEN, Sandra M.H.; BEKERS, Otto; HERWIJNEN, Marcelvan; THEUNISSEN, Daniël H.J.; JENNEN, Danyel G.J.; KOK, Theo M.C.M.; KLEINJANS, Jos C.S.; VAN BREDA, Simone G.J.. Aflatoxin B1 induces persistent epigenomic effects in primary human hepatocytes associated with hepatocellular carcinoma. *Toxicology*, [s.l.], v. 350-352, p. 31-39, março. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2016.05.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X16300427?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020.



26. SVIRČEV, Zorica; LALIĆ, Dijana; SAVIĆ, Gorenka Bojadžija; TOKODI, Nada; BACKOVIĆ, Damjana Drobac; CHEN, Liang; MERILUOTO, Jussi; CODD, Geoffrey A.. Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Archives Of Toxicology*, [s.l.], v. 93, n. 9, p. 2429-2481, 26 julho. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-019-02524-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-019-02524-4>. Acesso em: 13 abril 2020.
27. THEUMER, M.G.; HENNEB, Y.; KHOURY, L.; SNINI, S.P.; TADRIST, S.; CANLET, C.; PUEL, O.; OSWALD, I.P.; AUDEBERT, M.. Genotoxicity of aflatoxins and their precursors in human cells. *Toxicology Letters*, [s.l.], v. 287, p. 100-107, maio. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.02.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378427418300456?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020.
28. TAQUETTE, Stella Regina; MINAYO, Maria Cecília de Souza; RODRIGUES, Adriana de Oliveira. Percepção de pesquisadores médicos sobre metodologias qualitativas. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 722-732, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00094414>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-311X2015000400722&script=sci_arttext&lng=pt. Acesso em: 13 abril 2020.
29. TEOH, W. W.; XIE, M.; VIJAYARAGHAVAN, A.; YALIGAR, J.; TONG, W. M.; GOH, L. K.; SABAPATHY, K.. Molecular characterization of hepatocarcinogenesis using mouse models. *Disease Models & Mechanisms*, [s.l.], v. 8, n. 7, p. 743-753, 5 maio 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/dmm.017624>. Disponível em:
- <https://dmm.biologists.org/content/8/7/74>
3. Acesso em: 13 abril 2020
30. TORRES, Olga; MATUTE, Jorge; WAES, Janee Gelineau-van; MADDOX, Joyce R.; GREGORY, Simon G.; ASHLEY-KOCH, Allison E.; SHOWKER, Jency L.; ZITOMER, Nicholas C.; VOSS, Kenneth A.; RILEY, Ronald T.. Urinary fumonisin B1 and estimated fumonisin intake in women from high- and low-exposure communities in Guatemala. *Molecular Nutrition & Food Research*, [s.l.], v. 58, n. 5, p. 973-983, 23 dezembro. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201300481>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mnfr.201300481>. Acesso em 13 abril 2020
31. VARTANIAN, Vladimir; MINKO, Irina G.; CHAWANTHAYATHAM, Supawadee; EGNER, Patricia A.; LIN, Ying-Chih; EARLEY, Lauriel F.; MAKAR, Rosemary; ENG, Jennifer R.; CAMP, Matthew T.; LI, Liang; STONE, Michael P.; LASAREY, Michael R.; GROOPMAN, John D.; CROY, Robert G.; ESSIGMANN, John M.; MCCULLOUGH, Amanda K.; LLOYD, R. Stephen. NEIL1 protects against aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma in mice. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [s.l.], v. 114, n. 16, p. 4207-4212, 3 abril. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1620932114>. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/114/16/4207>. Acesso em: 13 abril 2020
32. WANG, Lingqiao; HE, Lixiong; ZENG, Hui; FU, Wenjuan; WANG, Jia; TAN, Yao; ZHENG, Chuanfen; QIU, Zhiqun; LUO, Jiaohua; LV, Chen. Low-dose microcystin-LR antagonizes aflatoxin B1 induced hepatocarcinogenesis through decreasing cytochrome P450 1A2 expression and aflatoxin B1-DNA adduct generation.



- Chemosphere, [s.l.], v. 248, junho. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126036>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653520302290?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020
33. WILD, C. P.; GONG, Y. Y.. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 71-82, 29 outubro. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgp264>. Disponível em: <https://academic.oup.com/carcin/article/31/1/71/2392129>. Acesso em: 13 abril 2020
34. WILD Christopher P.; MILLER J. David; GROOPAMAN John D (ed.). Mycotoxin control measures in low and middle income countries. Lyon: IARC Working Group Report No. 9. 2016.
35. WU, Hui-chen; WANG, Qiao; YANG, Hwai-i; TSAI, Wei-yann; CHEN, Chien-jen; SANTELLA, Regina M. Global DNA methylation in a population with aflatoxin B1 exposure. *Epigenetics*, [s.l.], v. 8, n. 9, p. 962-969, setembro. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/epi.25696>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/epi.25696>. Acesso em: 13 abril 2020
36. XU, Feibo; YU, Kaiyuan; YU, Hongyan; WANG, Peiyan; SONG, Miao; XIU, Chunyu; LI, Yanfei.
37. Lycopene relieves AFB1-induced liver injury through enhancing hepatic antioxidation and detoxification potential with Nrf2 activation. *Journal of Functional Foods*, [s.l.], v. 39, p. 215-224, dezembro. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.027>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464617306369?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020
38. ZHANG, Weilong; HE, Huan; ZANG, Mengya; WU, Qifeng; ZHAO, Hong; LU, Lingling; MA, Peiqing; ZHENG, Hongwei; WANG, Nengjin; ZHANG, Ying; HE, Siyuan; CHEN, Xiaoyan; WU, Zhiyuan; WANG, Xiaoyue; CAI, Jianqiang; LIU, Zhihua; SUN, Zongtang; ZENG, Yi-Xin; JIAO, Yuchen. Genetic Features of Aflatoxin-Associated Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*, [s.l.], v. 153, n. 1, p. 249-262, jul. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2017.03.024>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016508517303335?via%3Dihub>. Acesso em: 13 abril 2020.