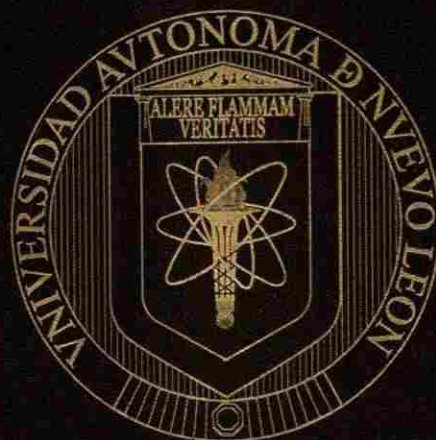


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**DETECCIÓN DE ADUCTOS DE AFLATOXINA B<sub>1</sub>-ALBUMINA SERICA POR  
RADIO INMUNO ANÁLISIS EN PACIENTES CON PATOLOGÍAS ASOCIADAS  
CON SU PRESENCIA EN H. MATAMOROS, TAM; MEXICO**

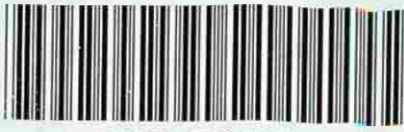
**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

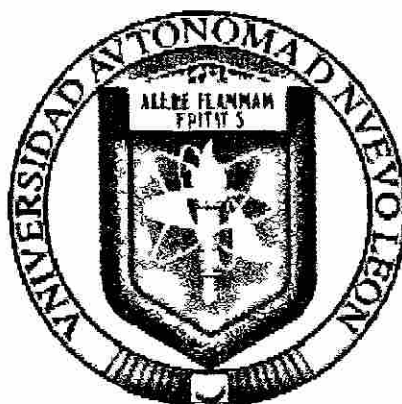
**ABEL MORON GUZMÁN**

TD  
25720  
FEB  
2003  
M676



1020150696

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**DETECCIÓN DE ADUCTOS DE AFLATOXINA B<sub>1</sub>-ALBUMINA SÉRICA POR  
RADIO INMUNO ANÁLISIS EN PACIENTES CON PATOLOGÍAS ASOCIADAS  
CON SU PRESENCIA EN H. MATAMOROS, TAM; MÉXICO.**

---

**TESIS**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA**

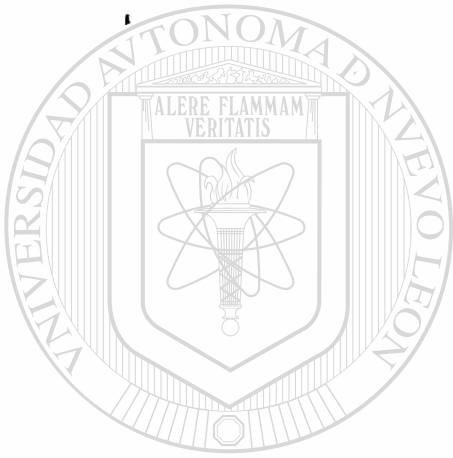
**PRESENTA**

**ABEL MORON GUZMÁN**

**SAN NICOLAS, N. L.**

**DIC 2003**

TD  
Z530  
3  
2003



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**DETECCIÓN DE ADUCTOS DE AFLATOXINA B<sub>1</sub>-ALBUMINA SERICA POR  
RADIO INMUNO ANALISIS EN PACIENTES CON PATOLOGÍAS ASOCIADAS  
CON SU PRESENCIA EN H. MATAMOROS, TAM; MÉXICO.**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

**ABEL MORON GUZMÁN**

**APROBADA**

**COMISION DE TESIS**



**DR. LUIS J. GALAN WONG  
PRESIDENTE**




**DRA. ISELA QUINTERO ZAPATA  
SECRETARIA**



**DR. HUGO A. LUNA OLVERA  
VOCAL**



**DRA. LILIA H. MORALES RAMOS  
VOCAL**



**DRA. KATUSKA ARÉVALO NIÑO  
VOCAL**



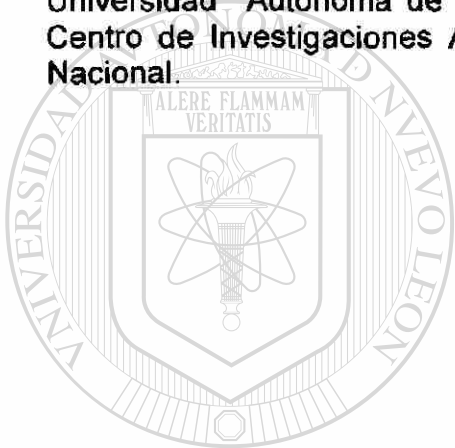
**DRA. DORALINDA GUZMÁN DE PEÑA  
DIRECTOR EXTERNO**

**SAN NICOLAS, N. L.**

**DIC 2003**

**DETECCIÓN DE ADUCTOS DE AFLATOXINA B<sub>1</sub>-ALBUMINA SERICA POR RADIO INMUNO ANALISIS EN PACIENTES CON PATOLOGÍAS ASOCIADAS CON SU PRESENCIA EN H. MATAMOROS, TAM; MÉXICO.**

**Este trabajo fue realizado bajo la Dirección del Dr. Luis J. Galán Wong y la Co Dirección de la Dra. Doralinda Guzmán de Peña, en el Laboratorio de Microbiología e Inmunobiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en el Laboratorio de Micotoxinas del Centro de Investigaciones Avanzadas, Unidad Irapuato del Instituto Politécnico Nacional.**



**UANL**

---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**



**DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS**

## DEDICATORIA.

A mis padres:

Sr. Pascual Morón Tapia (†) y

Sra. Concepción Guzmán de Morón (†).

Porque lo que soy es producto de lo que ustedes sembraron en mi.

A mi esposa:

Dra. Azucena Marín de Morón.

Por su amor, apoyo y comprensión que siempre me ha brindado aun  
en los momentos difíciles. Te quiero.

A mis hijos:

Azucena y Abel.

Que son la bendición que Dios me ha dado, los amo con todo mi  
corazón.

A mis hermanos:

Pascual, Jovita, Isabel, Mariano, Candelario, Concepción y Daniel.

Gracias por su amor.

Especialmente a la memoria de mi hermano Samuel.

Tu Recuerdo Siempre estará en mi Corazón, tus hijos: son mis hijos,  
a ti Chela, mi reconocimiento y todo mi apoyo.

A la Dra. Doralinda Guzmán de Peña.

Porque gracias a su apoyo y tiempo, fue posible la realización de  
esta Tesis; pero sobre todo, gracias por tu amistad.

Al Dr. Luis J. Galán Wong.

A ti; mi mas profundo agradecimiento, estimable amigo.



## **AGRADECIMIENTOS.**

**Al Dr. Juan José Peña Cabriales:**

**Mi agradecimiento por tus consejos y sobretodo por contar con tu amistad.**

**Al Dr. Juan Salazar Reyna:**

**Gracias por su estímulo para ver coronados los esfuerzos realizados.**

**Al equipo de trabajo de la Dra. Doralinda Guzmán de Peña:**

**Gracias por su ayuda.**

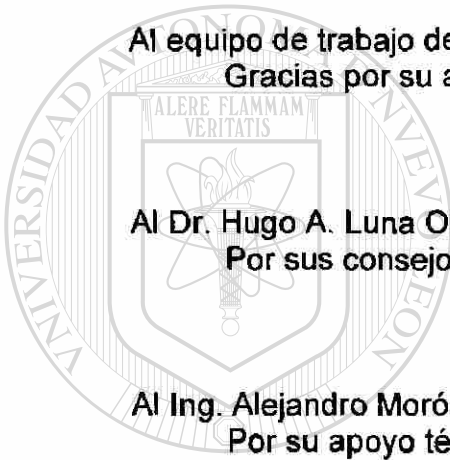
**Al Dr. Hugo A. Luna Olvera:**

**Por sus consejos para la realización de este proyecto.**

**Al Ing. Alejandro Morón Quiroz:**

**Por su apoyo técnico.**

**Gracias.**



**UANL**

---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**Al personal de mi Laboratorio de Análisis Clínicos del C. E. M. Q.**



**DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS**

## INDICE DE CONTENIDO

Página de Título	I
Dedicatoria	V
Agradecimientos	VI
Índice de Contenido	VII
Lista de Figuras	X
Lista de Tablas	XI
Lista de Diagramas	XVII
Lista de Esquemas	XVIII
Lista de Abreviaturas	XIX
Resumen	XXIII
Introducción	1
Antecedentes	3

---

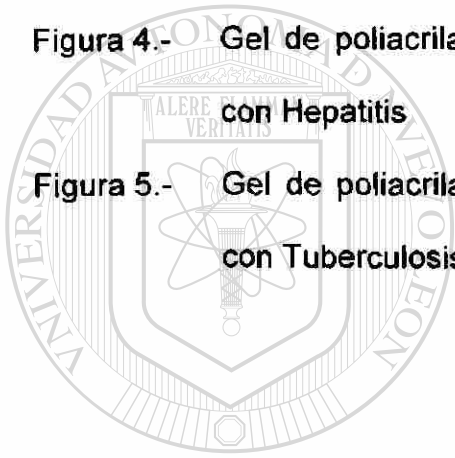
Generalidades de aflatoxinas	3
Tipos y naturaleza química de las aflatoxinas	4
Presencia de aflatoxinas en el mundo	6
Presencia de aflatoxinas en México	7
Legislación sobre aflatoxinas	10
Regulación de aflatoxinas en México	14
Toxicidad de aflatoxinas en animales de experimentación	15
Patologías asociadas con la presencia de aflatoxinas	18
Toxicidad de las aflatoxinas	23
Aflatoxicosis aguda	24

Quimioprotección	25
Métodos para la detección de Biomarcadores	28
Cuantificación de aductos	32
Hipótesis	35
Objetivo General	35
Objetivos Específicos	35
Materiales y Métodos	36
Primer Muestreo (2001)	37
Recolección de sangre	37
Obtención de albúmina	39
Método de Bradford para cuantificación de proteínas	41
Determinación de proteínas	42
Electroforesis en gel de poliacrilamida	43
Geles de Electroforesis	44
Obtención del aducto AFB <sub>1</sub> – Lisina del hidrolizado	46
Digestión de albúmina con Pronase	46
Radio inmuno Análisis	50
Sep Pak	52
Determinación de la concentración de anticuerpos para calcular	
Ab curva de calibración para RIA	55
AFB <sub>1</sub> curva de calibración y RIA de muestras	57
Resultados	
1° Pacientes 2001 (Primer Muestreo)	59
Pacientes con Tuberculosis	61

Pacientes con Cirrosis Hepática	70
Pacientes con Cáncer	78
Pacientes con Hepatitis	86
Pacientes Clasificados como Controles Sanos	93
Pacientes 2002 (Segundo Muestreo)	104
Pacientes con Cáncer	105
2° Resultados de obtención de albúmina pacientes 2001	116
Resultados de obtención de albúmina pacientes 2002	116
3° Resultados de la Electroforesis en poliacrilamida	120
4° Cuantificación de la molécula AFB <sub>1</sub> – Lisina en los sueros de pacientes 2001.	123
Cuantificación de la molécula AFB <sub>1</sub> – Lisina en los sueros de pacientes 2002.	130
<hr/>	
Discusión	132
Conclusiones	134
Bibliografía	135

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.-	Extracción de sangre de paciente	59
Figura 2.-	Gel de poliacrilamida de albúmina humana en pacientes con cáncer	120
Figura 3.-	Gel de poliacrilamida de albúmina humana en pacientes con cirrosis	121
Figura 4.-	Gel de poliacrilamida de albúmina humana en pacientes con Hepatitis	121
Figura 5.-	Gel de poliacrilamida de albúmina humana en pacientes con Tuberculosis	122



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.-	Ocurrencia de aflatoxina en México	8
Tabla 2.-	Incidencia de aflatoxina en maíz blanco y amarillo recién cosechado en Tamaulipas.	9
Tabla 3.-	Niveles de aflatoxinas permitidos en diferentes alimentos en Estados Unidos de Norteamérica	11
Tabla 4.-	Niveles de aflatoxinas permitidos en diferentes alimentos en algunos países	12
Tabla 5.-	Niveles permitidos de aflatoxinas diferentes alimentos de consumo humano en Italia	13
Tabla 6.-	Niveles Máximos de aflatoxinas permitidos en diferentes alimentos para consumo humano en Europa.	14
Tabla 7.-	Limites permitidos de aflatoxinas en cereales para consumo pecuario en México	15
Tabla 8.-	Lesiones celulares encontradas en diferentes animales alimentados con dietas contaminadas con aflatoxinas.	16
Tabla 9.-	Hepatocarcinogenicidad de las aflatoxinas B <sub>1</sub> en distintas especies de animales	17
Tabla 10.-	Incidencia de cáncer hepático en humanos y nivel de ingestión de aflatoxinas	20
Tabla 11.-	Métodos para cuantificar diferentes aductos	33

Tabla 12.-	Distribución de pacientes por patologías del presente estudio	36
Tabla 13.-	Ficha de identificación de pacientes	37
Tabla 14.-	Concentración de datos de pacientes Primer Muestreo 2001.	60
Tabla 15.-	Clasificación de pacientes con Tuberculosis de acuerdo a la edad. 2001	62
Tabla 16.-	Clasificación de pacientes con Tuberculosis de acuerdo al peso. 2001	63
Tabla 17.-	Clasificación de pacientes con Tuberculosis de acuerdo a varios parámetros. 2001	64
Tabla 18.-	Clasificación de pacientes con Tuberculosis de acuerdo a la ocupación. 2001	66
Tabla 19.-	Clasificación de pacientes con Tuberculosis de acuerdo al lugar de origen. 2001	67
Tabla 20.-	Clasificación de pacientes con Tuberculosis de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001	68
Tabla 21.-	Clasificación de pacientes con Tuberculosis de acuerdo al nivel socio económico. 2001	69
Tabla 22.-	Clasificación de pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a la edad. 2001	71
Tabla 23.-	Clasificación de pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo al peso. 2001	72

Tabla 24.-	Clasificación de pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a varios parámetros. 2001	73
Tabla 25.-	Clasificación de pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a la ocupación. 2001	74
Tabla 26.-	Clasificación de pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo al lugar de origen. 2001	75
Tabla 27.-	Clasificación de pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001	76
Tabla 28.-	Clasificación de pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo al nivel socio económico. 2001	77
Tabla 29.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a la edad. 2001	79
Tabla 30.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo al peso. 2001	80
Tabla 31.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a varios parámetros. 2001	81
Tabla 32.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a la ocupación. 2001	82
Tabla 33.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo al lugar de origen. 2001	83
Tabla 34.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001	84



Tabla 35.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo al nivel socio económico. 2001	85
Tabla 36.-	Clasificación de pacientes según tipo de Cáncer. 2001	87
Tabla 37.-	Clasificación de pacientes con Hepatitis de acuerdo a la edad. 2001	88
Tabla 38.-	Clasificación de pacientes con Hepatitis de acuerdo al peso. 2001	89
Tabla 39.-	Clasificación de pacientes con Hepatitis de acuerdo a varios parámetros. 2001	90
Tabla 40.-	Clasificación de pacientes con Hepatitis de acuerdo a la ocupación. 2001	92
Tabla 41.-	Clasificación de pacientes con Hepatitis de acuerdo al lugar de origen. 2001	92
Tabla 42.-	Clasificación de pacientes con Hepatitis de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001	94
Tabla 43.-	Clasificación de pacientes con Hepatitis de acuerdo al nivel socio económico. 2001	95
Tabla 44.-	Pacientes clasificados como Controles Sanos de acuerdo a la edad. 2001	96
Tabla 45.-	Pacientes clasificados como Controles Sanos de acuerdo al peso. 2001	98
Tabla 46.-	Pacientes clasificados como Controles Sanos de acuerdo a varios parámetros. 2001	99

Tabla 47.-	Pacientes clasificados como Controles Sanos de acuerdo a la ocupación. 2001	100
Tabla 48.-	Pacientes clasificados como Controles Sanos de acuerdo al lugar de origen. 2001	101
Tabla 49.-	Pacientes clasificados como Controles Sanos de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001	102
Tabla 50.-	Pacientes clasificados como Controles Sanos de acuerdo al nivel socio económico. 2001	103
Tabla 51.-	Concentración de datos de pacientes Segundo Muestreo 2002.	104
Tabla 52.-	Clasificación de pacientes según tipo de Cáncer. 2002	106
Tabla 53.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a la edad. 2002	107
Tabla 54.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo al peso. 2002	108
Tabla 55.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a varios parámetros. 2002	110
Tabla 56.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a la ocupación. 2002	111
Tabla 57.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo al lugar de origen. 2002	112
Tabla 58.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2002	114

Tabla 59.-	Clasificación de pacientes con Cáncer de acuerdo al nivel socio económico. 2002	115
Tabla 60.-	Concentración de albúmina en pacientes con Hepatitis. 2001	117
Tabla 61.-	Concentración de albúmina en pacientes con Cáncer. 2001	117
Tabla 62.-	Concentración de albúmina en pacientes con Cirrosis Hepática. 2001	118
Tabla 63.-	Concentración de albúmina en pacientes con Tuberculosis. 2001	118
Tabla 64.-	Concentración de albúmina en pacientes con Cáncer. 2002	119
Tabla 65.-	Radio Inmuno Análisis del aducto de AFB <sub>1</sub> – Lisina en suero de pacientes con Tuberculosis. 2001	124
Tabla 66.-	Radio Inmuno Análisis del aducto de AFB <sub>1</sub> – Lisina en suero de pacientes con Cirrosis Hepática. 2001	125
Tabla 67.-	Radio Inmuno Análisis del aducto de AFB <sub>1</sub> – Lisina en suero de pacientes con Hepatitis. 2001	127
Tabla 68.-	Radio Inmuno Análisis del aducto de AFB <sub>1</sub> – Lisina en suero de pacientes con Cáncer. 2001	128
Tabla 69.-	Radio Inmuno Análisis del aducto de AFB <sub>1</sub> – Lisina en suero de pacientes usados como Controles Sanos. 2001	129
Tabla 70.-	Radio Inmuno Análisis del aducto de AFB <sub>1</sub> – Lisina en suero de pacientes con Cáncer. 2002	131

## LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1.-	Uso racional de Biomarcadores para evaluación de un riesgo	29
Diagrama 2.-	Concepto de paralelograma	31
Diagrama 3.-	Biomarcadores de exposición	32
Diagrama 4.-	Obtención de sangre de pacientes	38
Diagrama 5.-	Obtención de albúmina	40
Diagrama 6.-	Separación de AFB <sub>1</sub> – Lisina del hidrolizado	50



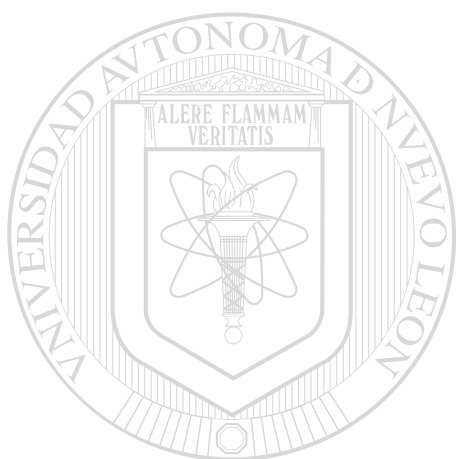
# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.-	Metabolismo de las aflatoxinas	24
Esquema 2.-	distribución de pacientes para verificación de banda de albúmina en gel de electroforesis	45



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE ABREVIATURAS.

### *A*

AFB <sub>1</sub>	Aflatoxina B <sub>1</sub>
AFB <sub>2</sub>	Aflatoxina B <sub>2</sub>
AFG <sub>1</sub>	Aflatoxina G <sub>1</sub>
AFG <sub>2</sub>	Aflatoxina G <sub>2</sub>
AFM <sub>1</sub>	Aflatoxina M <sub>1</sub>
Add	Adicionar

BSA	Albúmina Serica Bovina
BCP	Púrpura de Bromocresol

### *B*

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

### *C*

CPM	Cuentas por minuto
°C	Grados Centígrados
CHL	Clorofila
CA	Cáncer

### *D*

DNA	Ácido Desoxirribonucleico
-----	---------------------------

*F*

FDA Administración de Drogas y Alimentos

*H*

HCC Hepatocarcinoma

HBV Virus de la Hepatitis "B"

HCV Virus de la Hepatitis "C"

HIV Virus de la Inmunodeficiencia Humana

HPLC Cromatografía líquida alta presión

kg

Kilogramo

*K*  
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

*M*

mgr Miligramo

ml Mililitro

mmol Milimol

MeOH Metanol

µg Microgramo

µl Microlitro

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

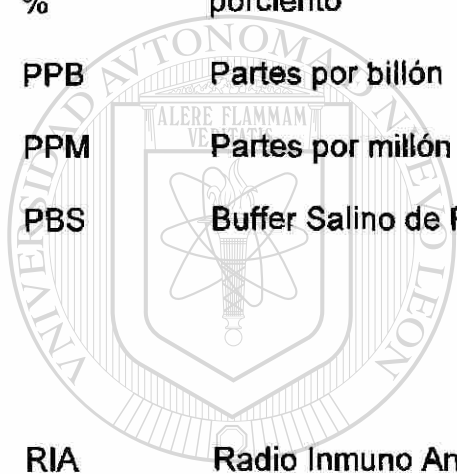
*N*

NOM	Norma Oficial Mexicana
NAD	NicotinAdenindinucleotido
ngr	nanogramo

*P*

%	por ciento
PPB	Partes por billón
PPM	Partes por millón
PBS	Buffer Salino de Fosfato

RIA	Radio Inmuno Análisis
-----	-----------------------



*U* *R* *A* *N* *L*

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

*S*

SDS	Dodecil sulfato sodico
SSA	Secretaria de Salud y Asistencia

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

*T*

tons	Toneladas
------	-----------



*v*

USA      Estados Unidos de Norteamérica

*v*

Vol      Volumen

*x*

xg      Revoluciones por minuto



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

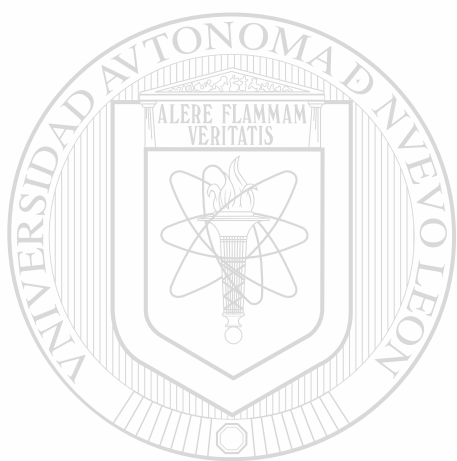
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESUMEN.

En México como en otros países hay un interés muy grande por el conocimiento de los riesgos que significan la contaminación de alimentos con compuestos tóxicos como las aflatoxinas; estas sustancias están consideradas como agentes carcinogénicos potentes que causan además una gama muy grande de patologías. Sabiendo que los hongos que las producen se encuentran en granos almacenados y que uno de ellos es el maíz, el que constituye uno de los alimentos básicos del mexicano y que el Noreste del país es una zona altamente contaminada, razón por la cual se procedió a realizar un muestreo en la Ciudad de H. Matamoros, Tamaulipas; con pacientes que presentaban diferentes patologías como HBV, HCV, Cáncer, Cirrosis Hepática y Tuberculosis para conocer los niveles de AFB<sub>1</sub> – Lisina en Sangre y tratar de establecer una correlación con las distintas patologías del estudio. Se procedió a estandarizar la cuantificación del aducto por la técnica de RIA se efectuaron dos muestreos uno en el año 2001 y otro en el 2002, con un total de 80 pacientes llenándose una ficha con los datos generales de cada uno, para graficarse posteriormente, se les determino albúmina por el Método de Wild et. al., para la obtención del aducto y se cuantifico por el Método de RIA de Sheabar et. al., modificado por Trudel y Wogan. Los valores encontrados indican que la población a ingerido alimentos contaminados con aflatoxinas; considerando la vida media de la albúmina es probable que la población este ingiriendo en forma cotidiana alrededor de 1

$\mu\text{gr}/\text{día}$ ; no se encontró correlación entre la AFB<sub>1</sub> – Lisina y las patologías presentes en los pacientes del estudio.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

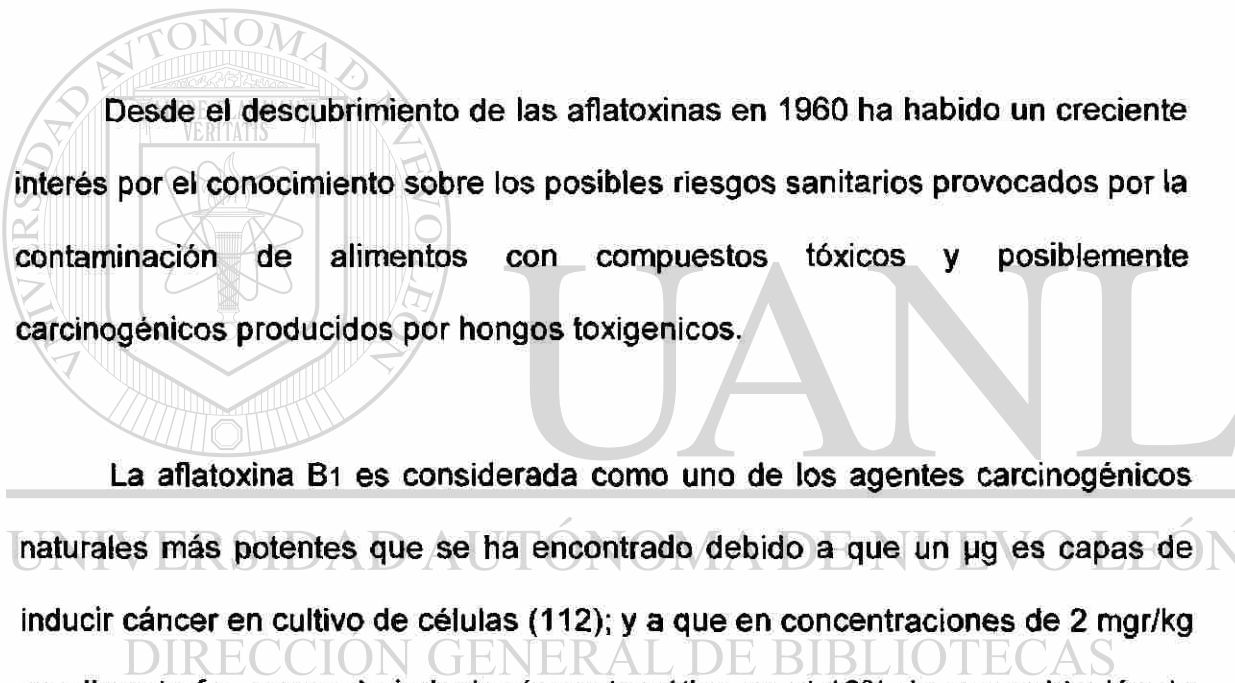
## ABSTRACT.

In México as in other countries there is a great interest for the knowledge of the risks that signify the contamination of food with toxic components such as aflatoxins; these substances are considered as potent carcinogenic agents that also cause a large degree of pathologies. Knowing that the fungi that produce them are found in stored grains and one of them is corn, which constitutes one of the most basic nourishment of the Mexican population to carry out a sampling in the city of H. Marmoros, Tamaulipas; with patients who presented different pathologies such as HBV, HCV, cancer, liverwort cirrhosis, and tuberculosis to know the levels of AFB<sub>1</sub> – Lysine in the blood and try to establish a correlation with the different pathologies of the study. It was proceeded to standardize the quantification of the aduct by the technique of RIA, two samplings were carried out in the years 2001 and 2002, with the total of 80 patients filling out a questionnaire with each individuals' personal data, to graph afterwards, albumin was determined using the method of Wild et. al., for the obtaining of the aduct and it was quantified by the method of RIA of Sheabar et. al., modified by Trudel and Wogan. The values found indicate that the population has ingested nourishments contaminated with aflatoxins, considering the half life of the albumin it is likely that the population is ingesting on a daily basis about 1 µgr/day; no correlation was found between the AFB<sub>1</sub> – Lysine and the pathologies present in the patients of the study.

## TITULO

DETECCIÓN DE ADUCTOS DE AFLATOXINA B<sub>1</sub>-ALBUMINA SERICA  
POR RADIO INMUNO ANALISIS EN PACIENTES CON PATOLOGÍAS  
ASOCIADAS CON SU PRESENCIA EN H. MATAMOROS, TAM; MÉXICO.

## INTRODUCCIÓN



Desde el descubrimiento de las aflatoxinas en 1960 ha habido un creciente interés por el conocimiento sobre los posibles riesgos sanitarios provocados por la contaminación de alimentos con compuestos tóxicos y posiblemente carcinogénicos producidos por hongos toxigenicos.

---

La aflatoxina B<sub>1</sub> es considerada como uno de los agentes carcinogénicos naturales más potentes que se ha encontrado debido a que un µg es capaz de inducir cáncer en cultivo de células (112); y a que en concentraciones de 2 mgr/kg en alimento fue capaz de inducir cáncer hepático en el 10% de una población de animales de experimentación (97, 137, 310); se ha establecido una correlación positiva alta entre el consumo de alimentos contaminados con la aflatoxina B<sub>1</sub> y cáncer hepático en humanos en países como África y China (119), así como cirrosis hepática, cáncer de tubo digestivo, tuberculosis, efectos teratogenicos, trastornos de la coagulación, degeneración grasa, así como trastornos inmunitarios (27, 60, 155, 298) entre otros padecimientos.

La acción hepatocarcinogénica de esta micotoxina en animales de experimentación, incluyendo primates; contemplando además su amplia distribución en alimentos humanos y animales, ha determinado que al estar presente en alimentos se considere como un alto riesgo potencial para la salud (24, 119, 147, 197).

Esta demostrado que granos básicos como el maíz y oleaginosas pueden estar contaminados con aflatoxinas. En México se ha reportado una alta incidencia de maíz contaminado con aflatoxinas sobre todo en la región de H. Matamoros (noreste del país) (46, 227); en donde los niveles de contaminación durante los últimos 10 años han sido de mas de 125  $\mu\text{gr}/\text{kg}$  (195). Considerando que la principal fuente de alimento de los mexicanos es el maíz en forma de tortilla, podría ser posible que la población esté ingiriendo aflatoxinas constantemente. Una forma de establecer si existe este riesgo, es determinar la cantidad de aflatoxina unida a albúmina presente en el suero humano, ya que esta AFB<sub>1</sub> – lisina es catalogada como un potente biomarcador (101).

## ANTECEDENTES

### Generalidades de aflatoxinas

Las aflatoxinas son sustancias naturales producidas por hongos en alimentos y que causan efectos tóxicos en humanos y animales cuando los consumen (227, 234); Estas micotoxinas son el producto del metabolismo secundario de los hongos imperfectos: *Aspergillus flavus*, *A. nomius* y *A. parasiticus* (21), los que se descubrieron en 1960 como consecuencia de una epizootia, que causó la muerte de miles de guajolotes jóvenes, patos y faisanes en el este y en el sur de Inglaterra (105, 252) . Este padecimiento se conoció como enfermedad "X" de los pavos que se caracterizó por letargia, pérdida del apetito y muerte. La necropsia evidenció necrosis hemorrágica hepática extensa, congestión renal, degeneración parenquimatosa hepática y proliferación de los conductos biliares.

Los estudios que se realizaron para elucidar la etiología del problema no pudieron demostrar una causa microbiológica o viral en estas aves (105) por lo que se pensó en la posible contaminación química de los alimentos. El alimento estaba integrado con harina de cacahuete importada de Brasil, alimento que se le llamo Rosetti por el barco que lo transportó, encontrándose que estaba altamente contaminada con *Aspergillus flavus* (227, 17), y con una sustancia azul fluorescente al ser observada con luz ultravioleta; aislándose las toxinas B<sub>1</sub> y G<sub>1</sub>

por cromatografía en papel (252) y posteriormente por la técnica de cromatografía en capa fina (201) denominándoseles aflatoxinas.

El término de aflatoxina proviene de las siguientes raíces: "A" por el genero *Aspergillus*, "FLA" por la especie *flavus* y "TOXINA" que significa veneno, debido a que estas micotoxinas fueron aisladas primeramente en cultivos de *Aspergillus flavus* (84).

### Tipos y naturaleza química de las aflatoxinas

Químicamente las aflatoxinas son dihidrofuranocumarínicos altamente substituidos (158) los principios tóxicos fueron aislados (16, 119, 134, 201) e identificadas obteniéndose 4 principales aflatoxinas: 2 de la serie "B" (aflatoxina B<sub>1</sub> y aflatoxina B<sub>2</sub>) y dos de la serie "G" (aflatoxina G<sub>1</sub> y aflatoxina G<sub>2</sub>); las primeras se identifican por su fuerte fluorescencia azul bajo la luz ultravioleta mientras que las de la serie G tienen fluorescencia verdosa bajo la misma luz. Las aflatoxinas de la serie B presentan un ciclopentano unido al anillo cumarínico y las de la serie G presentan una fusión con una lactona (111).

Actualmente se consideran mas de 18 tipos diferentes de estas aflatoxinas pero indudablemente que las más importantes son las B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub> (30). Las aflatoxinas B<sub>1</sub> y en menor cantidad las aflatoxinas G<sub>1</sub> son las responsables de la contaminación en alimentos, estas dos toxinas tienen un puente instaurado en la posición 2, 3 en el anillo furano terminal. La B<sub>2</sub> y aflatoxina G<sub>2</sub> están saturadas



en esa posición; en el caso de las aflatoxinas M<sub>1</sub> y aflatoxinas M<sub>2</sub> son hidroxilados de las aflatoxinas B<sub>1</sub> y aflatoxinas B<sub>2</sub> respectivamente (76, 119, 284).

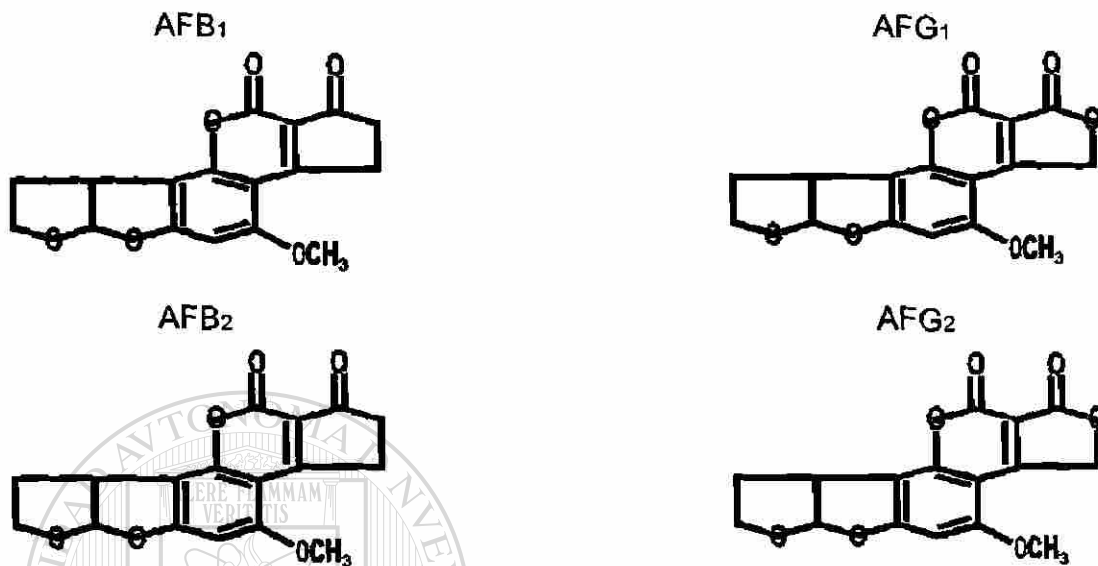


Fig.1 Estructura de aflatoxinas

Las aflatoxinas son solubles en solventes orgánicos como cloroformo y metanol entre otros; son poco solubles en agua, son sustancias termoestables (en alimentos) pudiendo resistir hasta 150° C durante 30 minutos cuando están en harina de maíz (103). Sin embargo son desactivadas con facilidad por pH extremos ya sea ácidos o alcalinos (menos de 3 o más de 10); o bien por agentes oxidantes o por la exposición a la luz ultravioleta en presencia de oxígeno (119).

## Presencia de aflatoxinas en el mundo.

La población humana esta expuesta a la aflatoxina por el consumo de alimentos que han sido contaminados directamente por cepas toxigenicas de *Aspergillus parasiticus* y *A. flavus*; estos hongos contaminan los diferentes alimentos en el campo, durante su cultivo o durante la cosecha y/o durante el almacenamiento de los mismos; puede ocurrir también una contaminación secundaria durante la vida de anaquel de los diferentes alimentos (5, 14, 97, 243).

Taubenhaus en 1920 describe por primera vez la contaminación del maíz por *Aspergillus flavus* en Estados Unidos de Norteamérica y no fue hasta 1975 que Anderson et al, demostró la presencia de aflatoxina en el maíz contaminado por este hongo.

---

En virtud de que los requerimientos para la producción de aflatoxinas son: una alto contenido de humedad en los alimentos, temperaturas de 27 – 37°C, alta humedad relativa del medio ambiente; los hongos antes descritos pueden producirlos en alimentos ricos en grasas y carbohidratos.

Las aflatoxinas se encuentran distribuidas ampliamente en el mundo, predominando en climas templados en productos gramíneos almacenados, y con mayor preferencia en el maíz, cacahuate y otros gramíneos (19, 82, 191, 251, 303, 304).

Los resultados obtenidos de diversas muestras internacionales revelaron un alto grado de contaminación, variando en un concentración de aflatoxinas de 4 – 1920  $\mu\text{gr}/\text{kg}$  para el maíz y de 24 – 5000  $\mu\text{gr}/\text{kg}$  para el cacahuete (127, 153, 215).

Las aflatoxinas han sido también reportados en grado variables en varios países de América Latina como el Salvador, Brasil, Costa Rica, Guatemala, Colombia y Ecuador (229). En el caso de Costa Rica de 3,000 muestras de maíz coleccionadas en todas las regiones del país, en diferentes etapas de desarrollo y diferentes contenidos de agua, se encontró contaminación con *A. flavus* en un 80% de las muestras conteniendo mas de 20  $\mu\text{gr}$  de aflatoxinas B<sub>1</sub>; en algunas regiones fue mayor de 274  $\mu\text{gr}$  (191).

### **Presencia de aflatoxinas en México.**

En nuestro país se ha investigado la presencia de aflatoxinas en diversos granos, teniendo en primer termino en orden de importancia el maíz (127) y sus derivados, alimento que es más factible de contaminarse por ser un excelente substrato y que además constituye una parte importante de la dieta básica del mexicano, consumiéndose aproximadamente 248 kg por capita anualmente (125). La leche, otros productos agrícolas como sorgo, nuez, semilla de algodón, cacao y oleaginosas como cacahuete y frijol, además de alimentos procesados como harina nixtamalizada y alimentos balanceados, en los que se encontró la presencia de aflatoxinas B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>; los resultados referentes a aflatoxina B<sub>1</sub> oscilan de 0.32 a 465.31  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (8, 130, 195, 229). Tabla (1) en la que se puede apreciar año,

producto, porcentaje de incidencia y diversas estados en las que se ha encontrado esta micotoxina.

Tabla 1.- Ocurrencia de aflatoxinas en México.

Año	Alimento	No. De muestras	Incidencia (%)	Lugar
1975-76	Tortilla	30	46	D.F.
	Frijol	30	100	D.F.
1978	Maíz	120	12	Puebla
	Frijol	120	1	Puebla
1978	Harina de maíz nixta malizado	20	35	Monterrey
1978	Balanceado para conejo	20	75	Coahuila y Nuevo León
1980	Nuez	28	39	Monterrey
	Cacahuate	238	48	D. F.
	Mazapán	238	17	Guadalajara y Monterrey
	Harina de Maíz	96	42	Monterrey
	Fécula de Maíz	41	0	Monterrey
1982	Maíz blanco	41	0	Guanajuato
1983	Maíz amarillo criollo	9	33	Guanajuato
1984	Maíz	5	0	Guanajuato
1984	Leche	110	100	Monterrey
1985	Maíz blanco	42	10	Guanajuato
1987	Sorgo blanco	120	48	Tamaulipas
1987	Maíz amarillo	39	42	Tamaulipas
1988	Maíz blanco	49	10	Chiapas
1988	Maíz	64	0	Durango y Chihuahua
1988	Maíz	26	0	Edo.deMéxico
1988	Fécula de maíz	4	0	Guadalajara
1989	Cacao	10	100	D.F.

Guzmán de Peña D. (102)

En distintos estados del País se han practicado monitores similares como en el caso de Chiapas, que en el año de 1993 se encontró en el maíz almacenado cantidades de aflatoxinas que variaban entre 16 – 74 µgr/kg y en los años siguientes las concentraciones fueron de 9 hasta 2100 µgr/kg (229).

En Tamaulipas en el año de 1989 se analizó maíz recién cosechado encontrándose niveles de contaminación de 68 y 102  $\mu\text{gr}/\text{kg}$ . Lo que propicio una serie de investigaciones en el maíz blanco y amarillo recién cosechado en 7 municipios del norte del Estado encontrándose niveles de contaminación que variaban de 34  $\mu\text{gr}/\text{kg}$  a 125  $\mu\text{gr}/\text{kg}$ . (188) (tabla 2).

Tabla 2.- Incidencia de Aflatoxinas en Maíz Blanco y Amarillo recién cosechado en Tamaulipas.

Municipio	Número de Bodegas	Numero de muestras	Aflatoxinas Incidencia %	Nivel X ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Río Bravo	17	22	50	62
Miguel Alemán	3	3	100	125
Reynosa	2	2	66	85
Matamoros	5	9	66	62
Camargo	1	1	100	100
Díaz Ordaz	2	2	100	100
Valle Hermoso	8	13	38	34

Guzmán de Peña D. (188)

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Posteriormente de los años de 1989 a 1992 el Gobierno Federal instituyo un programa con la Secretaria de Salud, de Agricultura, Recursos Hidráulicos y Conasupo, para evaluar la presencia de aflatoxinas en el maíz en el Estado de Tamaulipas; como resultado de estas supervisiones se encontró que durante la recepción del maíz en el año de 1989 en Conasupo el grano estaba altamente contaminado con aflatoxina con concentraciones que oscilaban entre 21 y 400  $\text{mgr}/\text{kg}$  por lo que se decidió ponerse en cuarentena la totalidad de la cosecha

(440,000 tons) y no autorizarse para consumo humano (172, 235). Posteriormente en el año 2000 se encontraron 27,000 toneladas de maíz contaminados con aflatoxinas en la región de H. Matamoros (225), sin que se especificara el grado de contaminación.

En base a los antecedentes antes descritos, se evidencia que el maíz que se cosecha en diversas partes de la Republica Mexicana ha estado contaminado con aflatoxinas, siendo por lo tanto un riesgo para el consumo humano.

### **Legislación sobre aflatoxinas**

En virtud de la alta toxicidad de estas micotoxinas, así como su distribución muy amplia a nivel mundial, se han establecido regulaciones sobre su presencia en insumos para alimentos humanos y pecuarios, incluyendo productos derivados de ellos como leche y carne. De acuerdo a la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica, las aflatoxinas son sustancias venenosas contempladas en la sección dos del acta referida a comida, drogas y cosméticos mencionándose los niveles permitidos de estas en las cantidades siguientes:

**Tabla 3.- Niveles de aflatoxina permitidos en diferentes alimentos en Estados Unidos de Norteamérica.**

Maíz para consumo humano	hasta 20 µgr/kg
Maíz para aves, ganado lechero y porcinos	hasta 20 µgr/kg
Maíz y derivados del cacahuete para el terminado de la engorda de vacunos	hasta 300 µgr/kg
Semilla de algodón para engorda de ganado	hasta 300 µgr/kg
Maíz o derivados del cacahuete para el terminado de la engorda de cerdos de mas de 100 kg.	hasta 200 µgr/kg
Maíz o derivados del cacahuete para pie de cría de ganado vacuno o porcino	hasta 100 µgr/kg
Maíz o derivados del cacahuete para animales jóvenes	hasta 20 µgr/kg
Nuez de Brasil	hasta 20 µgr/kg
Leche	0.5 µgr/kg (AFM1)
Cacahuete y sus derivados	20 µgr/kg
Pistaches	20 µgr/kg

Administración de Drogas y Alimentos (88, 89)

De la misma manera otros países, han establecido regulaciones en los niveles de estas toxinas en sus alimentos. En la tabla 4 se puede ver que Malasia no permite la presencia de aflatoxinas en ningún alimento; en cambio en México

permite 20 µgr/kg en uno de los alimentos más importantes para su población, el maíz.

Tabla 4.- Niveles de aflatoxinas permitidos en diferentes alimentos en algunos países.

País	Producto	Tolerancia para aflatoxinas µg/kg (ppb)
Brasil	Cacahuete (exportación)	50
Canadá	Nueces y productos de nueces	15
Dinamarca	Cacahuete y nueces de Brasil semillas	5 22
India	Cacahuete (alimento)	30
Israel	Todas las semillas	20
Japón	Todos los alimentos	10
Malasia	Todos los alimentos	cero
Malawi	Cacahuates	5
México	Maíz	20
Polonia	Todos los alimentos y semillas	5
Rhodesia	Cacahuates	25
Suecia	Todos los alimentos	10
U. S. A.	Todos estos productos	15
Inglaterra	Nueces y sus derivados	4
Suiza	Cereales	4

Stolofflin et al, (272)

En Italia específicamente se han establecido regulaciones más severas en los alimentos para bebés, como se puede ver en la Tabla 5.

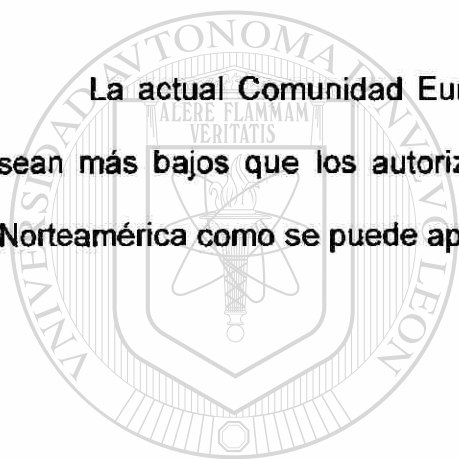


Tabla 5.- Niveles permitidos de aflatoxinas en diferentes alimentos de consumo humano en Italia.

AFLATOXINA	PRODUCTO	Ug/Kg
Aflatoxina B1	Condimentos	10
Aflatoxina B1	Hierbas de té	5
Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2)	Comida para bebe	0.1
Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2)	Condimentos	20

(Secretaria de Salud, Italia 1999).

La actual Comunidad Europea ha determinado que los niveles permitidos sean más bajos que los autorizados por la F. D. A. en los Estados Unidos de Norteamérica como se puede apreciar en la Tabla 6.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 6.- Niveles máximos de aflatoxinas permitidos en diferentes alimentos para consumo humano en Europa.

PRODUCTO	AFLATOXINA	µg/Kg
Cacahuates	Aflatoxina B1	2
	Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2)	4
Frutas Frescas	Aflatoxina B1	2
	Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2)	4
Cacahuates seleccionados	Aflatoxina B1	8
	Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2)	15
Frutas secas Seleccionados	Aflatoxina B1	5
	Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2)	10
Cereales y Procesados	Aflatoxina B1	
	Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2)	4
Leche y derivados	Aflatoxina M1	.5ng/L

(Comunidad Europea, julio 1998).

### Regulación de aflatoxinas en México

La Secretaría de Salud, en la norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios, control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal en la Sección 5.3.1 y 5.3.2 establecen que los cereales no deben excederse de 20 µgr/kg de aflatoxinas totales; en caso de observarse valores de 21-300 µgr/kg el cereal únicamente se usara para consumo animal.

Los cereales para consume pecuario deberán ajustarse a lo dispuesto en la tabla 7.

Tabla 7.- Límites permitidos de aflatoxinas en cereales para consumo pecuario en México.

	Limite Máximo $\mu\text{gr}/\text{kg}$
Aves excepto pollos de engorda	100
Cerdos en engorda:	
De 25 – 45 kg	100
Mayores de 45 kg	200
Cerdos adultos destinados a la reproducción	100
Rumiantes:	
Adultos destinados a la reproducción	100
De engorda en etapa de finalización	300

Secretaría de Salud (247)

### Toxicidad de las aflatoxinas en animales de experimentación

Desde el descubrimiento de las aflatoxinas por la muerte masiva de pavos en Inglaterra en 1961 (79, 250) en lo que se denominó la enfermedad "X" de estas aves; ha habido un interés creciente por el conocimiento de la actividad tóxica de estas micotoxinas en distintas especies de seres vivos, de los cuales los más utilizados para experimentar han sido: ratas, ratones, pollos, cerdos, borregos, ardillas, vacas, cultivos celulares, varias especies de monos y peces. Como se puede observar en la Tabla 8 las lecciones ocasionadas en el hígado como órgano y en sus unidades celulares son bastantes agresivas.

Tabla 8.- Lesiones Celulares encontradas en diferentes animales alimentados con dietas contaminadas con aflatoxinas.

Lesiones	Bovino	Cerdos	Borregos	Patos	Guajolotes	Pollo
<b>Lesiones de hígado</b>						
Necrosis aguda y Hemorragia	-	-	-	+	+	-
Fibrosis crónica	+	+	-	-	-	-
Nódulos regenerativos	+	+	-	-	+	-
Proliferación del ducto biliares	+	+	-	+	+	+
Lesiones veno-occlusivas	+	-	-	-	-	-
<b>Células hepáticas</b>						
<b>Megalocytosis (células</b>						
Engrandecidas)	+	+	-	+	+	-
Núcleo engrandecido	+	+	-	+	+	+
Infiltrado de células inflamatorias	-	-	-	-	+	+
<b>Tumores en hígado</b>	0	0	*	+	0	0

Lewis et al. (172)

La mayor parte de la información respecto a la toxicidad de las aflatoxinas se ha derivado sobre experimentos en ratas las que son muy susceptibles para este propósito; en los demás animales como conejos, bovinos, cerdos, borregos, se ha obtenido una respuesta en grado variable (2, 72, 86, 230, 286) razón por la que se han manejado con menor frecuencia.

## DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Con base a los estudios realizados se ha demostrado que la aflatoxina B<sub>1</sub> es un potente carcinogénico para animales y peces (23, 47, 78, 152, 306) en los que por lo general el hígado fue el órgano blanco, induciendo una alta presencia de hepatocarcinoma celular y en menor grado otro tipo de neoplasias y padecimientos diversos como: mutaciones y malformaciones congénitas (2, 51, 100, 189, 218, 269), alteraciones inmunitarias (72, 224), fibrosis incluyendo la hepática (242, 249) alteraciones del metabolismo (51, 91, 112, 226, 238)

trastornos de la fertilidad (149, 150) cursando con síntomas como: hepatomegalia, necrosis periportal, trastornos hemorrágicos, degeneración grasa, proliferación de los conductos biliares, diversos grados de fibrosis hepática, diarrea así como el desarrollo de tumores en hígado (149, 150). Tabla 9. Siendo estos de los efectos inducidos que se han presentado bajo circunstancias muy diversas como: especie y cepa de animales usados, dosis, vías de administración, dieta, edad y sexo; respecto al cual no se ha encontrado que haya diferencias respecto a los efectos en la toxicidad de las aflatoxinas; es importante considerar que la respuesta carcinogénica se ha evaluado incluyendo además de las ya mencionadas variables como: el status hormonal, la magnitud del daño hepático, actividad enzimática hepática y presencia de otros metabolitos (51, 112, 238, 306).

Tabla 9.- Hepatocarcinogenicidad de las aflatoxinas B1 en distintas especies animales.

Especies animales	Régimen de dosificación	Duración de tratamiento	Período de observación	Incidencia de tumores hepáticos
Mono rhesus (M)	1,655g total	5.5 años	8.0 años	1 de 1
Mono rhesus (H)	1,655g total	5.5 años	10.75 años	1 de 1
Titi	3.0 mg Total	50-55 semanas	50-55 semanas	1 de 3
Titi	5.04-5.85 mg/total	87-94 semanas	87-94 semanas	2 de 3
Pato	30ug/Kg	14 meses	14 meses	8 de 11
Trucha arco iris	4ug/Kg	12 meses	12 meses	15%
Embriones de trucha	.5ug/Kg en el agua	1 hora	296-321 días	38%
Salmón	12ug/Kg de dieta	20 meses	20 meses	50%

Torres E. (281)

Respecto a las experiencias que se han obtenido en primates alimentados por vía oral con aflatoxinas B1, incluidas en su dieta, se pudo inducir la producción de tumores clasificados como hepatocarcinomas celulares, similares a las

desarrolladas en las ratas (136, 152, 222, 268); en monos Rhesus también se ha probado la susceptibilidad a la carcinogenicidad de la aflatoxina B1 desarrollando carcinoma en la mayoría de los casos, habiendo algunos monos que desarrollaron carcinoma de vías biliares o de vesícula biliar (119).

### **Patologías asociadas con la presencia de las aflatoxinas**

La actividad toxica de la aflatoxina B1 ha sido demostrada por el cultivo en tejidos y células HELA en los que se observa inhibición en el crecimiento de células de hígado, aberraciones morfológicas hasta llegar a la muerte (289).

En células de riñón se observan alteraciones en la respiración y cambios morfológicos (166); hay también supresión de mitosis e inhibición en la síntesis del DNA dando como resultado la formación de células gigantes; así como la disminución en la actividad de la polimerasa del DNA. (99, 167, 299).

Se ha reportado alteraciones a nivel de cromosomas en células de hígado de embriones humanos y en células sanguíneas (308, 316).

Se ha encontrado que uno de los órganos blancos de las aflatoxinas es el hígado en el que causa desde una disfunción orgánica hasta la producción de hepatomas, como se ha evidenciado por sus propiedades carcinogénicas en distintas especies de seres vivos como aves, peces y mamíferos (9, 17, 286).

Además de las enfermedades que se asocian con las micotoxinas, especialmente las aflatoxinas que pueden ser implicadas como hepatotóxicas (8, 119, 157, 254); hay varios factores que pueden ser considerados propiciadores en la etiología de la cirrosis como: consumo de alcohol, infecciones virales, enfermedades de Kwashiorkor, hepatomegalia tropical causada por parásitos como Plasmodium y Schistosoma, sustancias químicas como el tetracloruro de carbono, micotoxinas como las producidas por Amanita, Fusarium, Rhizopus, Aspergillus y Penicillium, (65) en los que se ha encontrado que afectan el sistema nervioso y circulatorio y que los órganos blancos son hígado, bazo y vías respiratorias (160, 188).

Se ha encontrado que los enfermos de Hepatitis "C" presentan gran sensibilidad a las aflatoxinas, considerándose que existe un sinergismo entre esta enfermedad y la toxicidad de estas micotoxinas para el desarrollo de cáncer hepático en la especie humana (68, 95, 230, 256, 302).

Se han realizado diversos estudios epidemiológicos para obtener información acerca de la relación entre la ingestión de aflatoxinas en alimentos y la incidencia de hepatocarcinoma en diversas partes del mundo como Asia, Uganda, China, Filipinas, Swazilandia, Kenia, Tailandia y Mozambique el cual tiene la más alta incidencia de cáncer de hígado en humanos en el mundo con un consumo alto de aflatoxinas (119). Tabla 10.

Tabla 10.- Incidencia de cáncer hepático en humanos y nivel de ingestión de aflatoxinas (119).

Población	Consumo alimenticio de Aflatoxinas (ng/kg) del Peso del cuerpo/d	Casos de adultos con cáncer (>de 15 años)			
		Hombres		Mujeres	
		No./100,000 Población/año	Incidencia	No./100,00 población/año	Incidencia
Kenya					
Altitud alta	3-5	1	3.1	0	0
Altitud Media	6-8	13	10.8	6	3.3
Altitud baja	10-15	16	12.9	9	5.4
Swazilandia					
Llanura alta	5-9	9	7	2	1.4
Llanura media	9-14	24	14.8	5	2.2
Lebombo	15-20	4	18.7	0	0
Llanura baja	43-53	35	26.7	7	5.6
Tailandia					
Songkhala	5-8	-	-	-	-
Ratburi	45-77	-	-	-	-
Mozambique	222	-	35	-	15.7

Groopman, et al, (119)

En esta tabla se puede apreciar:

a): Que la ingesta de aflatoxinas y la incidencia de hepatocarcinoma celular (HCC) va en orden decreciente.

b): Que la ingesta de aflatoxinas varia entre 3-222  $\mu\text{mg/kg}$  de peso corporal / día

c): Que los valores estimados para HCC van desde un mínimo de 2.0 a un máximo de 35.0 casos por cada 100,000 habitantes por año



d): Hay una asociación positiva entre los dos parámetros en los que la ingesta elevada de aflatoxinas fueron fuertemente asociadas con altas tasas de incidencia de cáncer hepático.

e): Que la asociación fue más aparente en conexión con los índices de incidencia, por lo que un gran número de casos fueron involucrados dando estimados más precisos de la incidencia de las enfermedades.

f): Que la incidencia de cáncer de hígado en estos estudios fue una función lineal de logaritmo de la ingesta de aflatoxinas.

Los datos anteriores proporcionan evidencias circunstanciales de una relación causal importante entre la ingestión de aflatoxinas y la presencia de cáncer hepático en humanos; aun y cuando estas no son evidencias concluyentes de la etiopatogenia entre aflatoxinas y HCC, si no que son correlaciones para considerar que la exposición a estas sustancias esta asociada con un alto riesgo a este tipo de cáncer (119).

Se ha establecido también una asociación entre cirrosis hepática y la presencia de aflatoxinas que aun y cuando se ha visto cierta distribución geográfica de este padecimiento con una epidemiología alta en ciertas partes del sur de África: Sahara, Sureste de Asia; Sureste de la India y Japón (56); se ve también que puede ser favorecida con la dieta de la población potencialmente contaminada con aflatoxinas.

Es importante considerar que de acuerdo a la exposición directa a las aflatoxinas en aquellos individuos que se dedican al manejo de granos almacenados, la inhalación podría favorecer la bioactividad de estas sustancias a nivel de pulmón tal y como se ha demostrado que la mucosa de vías respiratorias es más susceptible que el hígado mismo (102, 165, 213).

Oyelami, (213) encontró una asociación muy importante entre la aflatoxina B<sub>1</sub> y la tuberculosis en niños que presentaban una enfermedad extrema como la enfermedad de Kwashiorkor, que aún y cuando deja la incertidumbre en la relación de desnutrición y tuberculosis contra tuberculosis y aflatoxinas; sabiendo que la tuberculosis está fuertemente asociada con la desnutrición; es importante considerar que al haber desnutrición hay una deplección del sistema inmunitario per se; y esto permite la predisposición a agentes infecciosos diversos; pero en forma similar se ha encontrado que la presencia de la aflatoxina provoca una disminución de la actividad del sistema inmune (57, 94, 137, 140, 189, 224).

Se ha reportado también una relación estrecha entre la degeneración grasa del hígado con la presencia de aflatoxinas (27) e interfiriendo, también con el transporte sanguíneo de la grasa, provocando niveles bajos de estas en sangre aunque esto se ha observado en menor grado. Ahora bien se encuentra cierta tendencia a otros tipos de cáncer, con mayor predominancia en individuos de raza negra que en la raza blanca, como: de estómago, intestino delgado, endometrio, ovario, cerebro (161, 210) pulmón y piel (184).

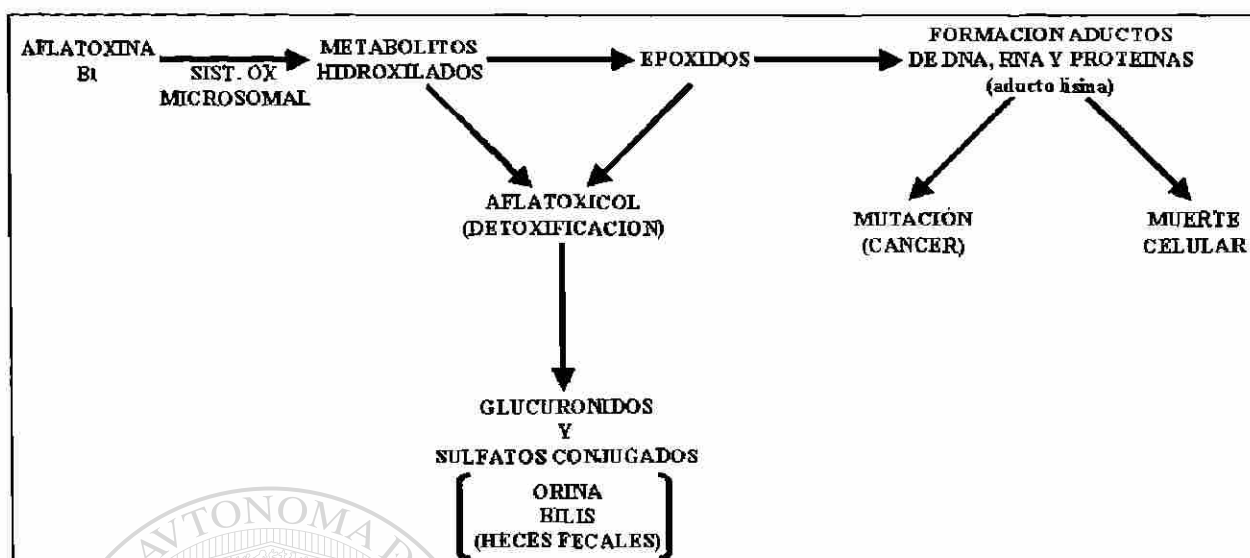
Herndrickson R. G., (81) y Cusumano V. et al (270); determinan que las aflatoxinas inducen a la inmunosupresión y que el cuadro clínico de los individuos con H.I.V. se agrava cuando están presentes las aflatoxinas; así mismo la sintomatología de las enfermedades parasitaria como la malaria y la coccidiosis se presentan en una forma más severa (18).

### **Toxicidad de las aflatoxinas**

De acuerdo con las descripciones de Groopman (120); la aflatoxina B1 con la acción de las enzimas microsomales se transforman en un metabolito hidroxilado; y este a la vez en epoxido el cual tiene reacción reversible con la formación de aflatoxicol. La otra alternativa es que el epoxido se una a la albúmina (Aflatoxina-Lisina); o bien al DNA (Aflatoxina-DNA); (Esquema 1); puede presentarse también un efecto mutagénico (210, 299) provocando mutaciones puntuales que ocurren en la tercera base del codón 249 del gen P53. (51, 276)

Estos epoxidos orgánicos pueden unirse a vitaminas, inhibiendo algunas enzimas e interferir con la función de la cortisona (309); también puede actuar reduciendo la viscosidad del DNA, actuar sobre la hemoglobina, inducir la esterilidad y provocar alteraciones hematológicas (161).

Esquema 1.- Metabolismo de las Aflatoxinas



(Groopman j. et al, (120, 121)

### Aflatoxicosis Aguda

La toxicidad aguda de la aflatoxina B<sub>1</sub> es debido probablemente a la producción del 2, 3 dihidrodiol a partir de la aflatoxina B<sub>1</sub> en el hígado (198, 287). Considerando el antecedente de los casos de intoxicación en animales, se han podido establecer casos de aflatoxicosis aguda en humanos, los que refieren evidencias sustanciales de la presencia de las aflatoxinas B<sub>1</sub> y M<sub>1</sub> en la leche humana, de madres que ingirieron alimentos contaminados con estas toxinas. Matsumara M., et al (184) encuentra altos niveles de aflatoxinas en pacientes que murieron de leucemia con lesiones concomitantes en pulmón y piel; Oyelami et al, (213) reporta evidencias de la presencia de altos niveles de aflatoxinas en las autopsias de niños de Nigeria que murieron de la enfermedad de Kwashiorkor. Cambel et al (45) encuentra el aducto de la aflatoxina B<sub>1</sub>; en la orina de pacientes

que habian ingerido cacahuates altamente contaminados con aflatoxina B<sub>1</sub>. En Taiwán y Uganda se presentan casos clínicos importantes de aflatoxicosis aguda en que los pacientes presentan náuseas, vómito, dolor abdominal, edema pulmonar, infiltración, grasa y necrosis del hígado, encontrándose la aflatoxina B<sub>1</sub> en la orina (116, 289). En 1974 en el oeste de la India se presenta una epidemia por un envenenamiento aparente con aflatoxinas en personas que habían consumido maíz altamente contaminado, de 400 pacientes examinados, 100 perecieron; se descarto el origen infeccioso de padecimiento y como causa de muerte se encontró hemorragia gastrointestinal así como una extensa proliferación de los conductos biliares, encontrándose altos niveles de metabolitos de aflatoxina en la orina (116, 289).

En Tailandia, en niños que murieron de lo que se denomina la Enfermedad de Reyes, presentaron síntomas que hicieron pensar en una aflatoxicosis caracterizándose por: vómito, convulsiones, coma y muerte; en el examen postmortem se encontró edema cerebral e infiltración grasa en hígado, riñones y corazón, encontrándose la aflatoxina B<sub>1</sub> y G<sub>1</sub> en el hígado, así como en el suero (116, 199, 281).

### **QUIMIOPROTECCIÓN**

En este proceso se puede considerar la administración de substancias naturales o químicas que van a impedir la carcinogenesis provocada por la

aflatoxina o bien la aflatoxicosis aguda impidiendo la formación de aductos (93, 242).

Kensler, 1997 (157) afirma que uno de los mejores mecanismos de quimioprotección para la carcinogenesis, efectos mutagénicos y otras formas de toxicidad es por medio de la inducción de enzimas como la glutathion transferasa, Urdindifosfato-glucuronotransferasa y NAD, así como la quinina reductasa.

Esta demostrado que lo primero que ocurre en el hígado humano es la acción de la enzima Lipoxigenasa, oxidando a la aflatoxina B<sub>1</sub> a dihidrodiol uniéndose a tris-diol; se ha demostrado que esta enzima puede modificar al efecto carcinogénico del tris-diol.

Hay diversas sustancias que pueden actuar como quimioprotectores; tal es el caso de la clorofila; que es conocida como un inhibidor del aducto DNA-AFB<sub>1</sub> y la producción de carcinogenesis, cuando se administra en dosis superiores a 4,000 PPM en la dieta junto con Aflatoxinas B<sub>1</sub>; explicándose que esto ocurre porque se forma un complejo de CHL- AFB<sub>1</sub>, bloqueándose por lo tanto la actividad de la aflatoxina libre; se ha encontrado que la aducción se reduce en un 95% y la Hepatocarcinogenesis de un 2-20.5% (39).

Substancias como los carotenoides ejercen un efecto protector a través de la desviación del metabolismo de la Aflatoxina B<sub>1</sub> como un mecanismo de protección, a través de una ruta de toxificación inhibiendo la formación de aductos

de albúmina y así como de DNA y como consecuencia disminuyendo la producción de lesiones neoplásicas en el hígado (112).

Se pueden citar los diterpenos, cafesol y kahwasol que son agentes químicos protectivos presentes en el café, los cuales actúan bloqueando las enzimas involucradas en la carcinogenesis en el ratón, encontrando una inhibición significativa a 2,300 PPM en la reducción del aducto de DNA, siendo la más alta inhibición a 6,200 PPM (47). Se ha demostrado en ratas que la administración del indol 3 carbinol retarda la inducción de la carcinogenesis en el hígado por un proceso de competencia (179). Se ha encontrado también que el ácido ascórbico funciona como una quimioprotector en la aflatoxicosis aguda en cerdo de Guinea, impidiendo la necrosis masiva del hígado e intestino (204).

El carcumín puede inhibir la carcinogenesis química por modulación de la función del citocromo P450, ya que este es un inhibidor de la formación del aducto de aflatoxinas B<sub>1</sub> y DNA, induciendo la inhibición de la actividad de la reductasa en P450 (93). También se demostró que los ditiocarbamatos provocan una disminución en la formación de los aductos de aflatoxinas, uniéndose la lactosa de los ditiocarbamatos a la aflatoxina prometiendo mucha ayuda en la quimiopreención de la carcinogenesis (108).

Una de las sustancias más prometedoras es el oltipráz, que es considerado como un quimioprotector para el desarrollo de hepatocarcinoma en presencia de aflatoxinas en ratas (40); se ha demostrado que el oltipráz actúa

como un antioxidante y que el gen que puede estar involucrado en esta inducción quimioprotectora puede ser al GSTAS, el cual puede estar localizado entre los 421 y 429 bp (136), en la administración simultanea del oltipráz con aflatoxinas en ratas se ha encontrado que la excreción de aflatoxinas en orina disminuyo en un 77% comprobando su papel quimioprotector (63), así como su protección para el hígado en el desarrollo de la hepatocarcinogenicidad (136).

En humanos se ha visto que el oltipráz funciona como un detoxificador pues al administrarlo por un tiempo determinado en personas que excretan altos niveles de aductos de aflatoxinas en orina; estos niveles bajan de una manera significativa (158). En la provincia china de Quidong, a un grupo de 234 adultos se les administro 500mgr/día de oltipráz, encontrando que funciona con muy buenos resultados como quimioprotector en el desarrollo del Hepatocarcinoma de hígado (299).

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
**MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE BIOMARCADORES**

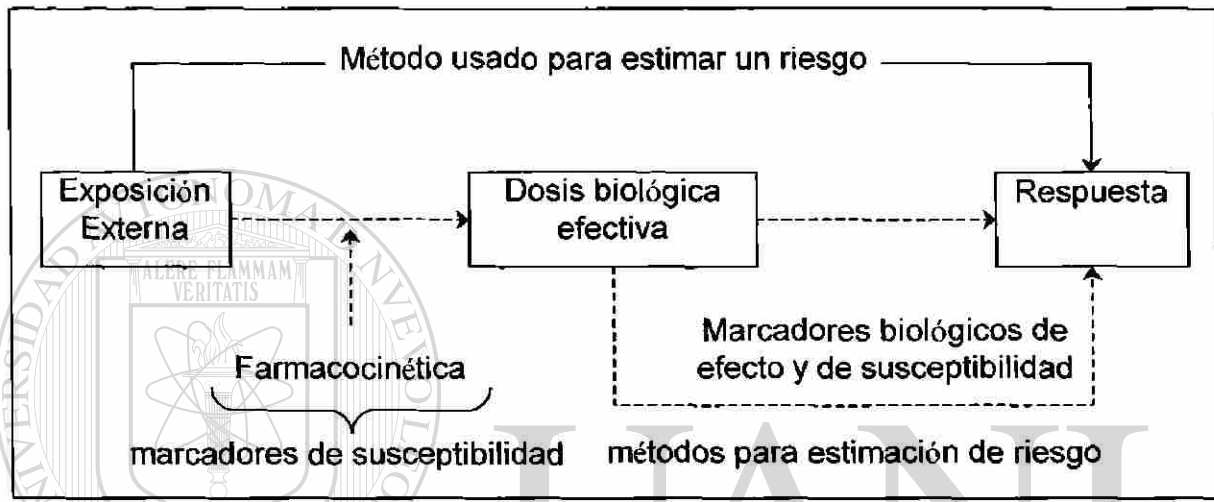
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Un biomarcador es cualquier sustancia, estructura o proceso que puede ser medido en el cuerpo o sus productos y que pueden influir para predecir la incidencia de una enfermedad (6); pueden ser clasificados como: de exposición, por sus efectos o por la susceptibilidad en función de un factor de riesgo para la salud.



Para poder evaluar un riesgo, debe de existir un conocimiento para uso racional de los biomarcadores.

Diagrama 1.- Uso racional de biomarcadores para evaluación de un riesgo.



Schute y Waters, (246)

En base al amplio conocimiento acumulado en las últimas décadas, se han podido desarrollar biomarcadores de aflatoxinas basados en el metabolismo, formación de aductos y mecanismos de acción en general que permiten el establecimiento de medidas preventivas en la población humana, así como considerar a la aflatoxina B1 como un factor de riesgo para el cáncer de hígado (122).

Unos de los aspectos más controversiales del factor de riesgo es el referente a los datos de altos o bajos niveles de exposición (108); cuando son

bajos los niveles de exposición es impracticable hacer estudios epidemiológicos, pero no imposible en virtud del gran tamaño de la muestra (272); con la presencia de los biomarcadores se han podido determinar dosis – respuesta relacionados con bajos niveles de exposición; estos marcadores pueden ser usados como indicadores de dosis para evaluar una medida en movilidad o mortalidad (163).

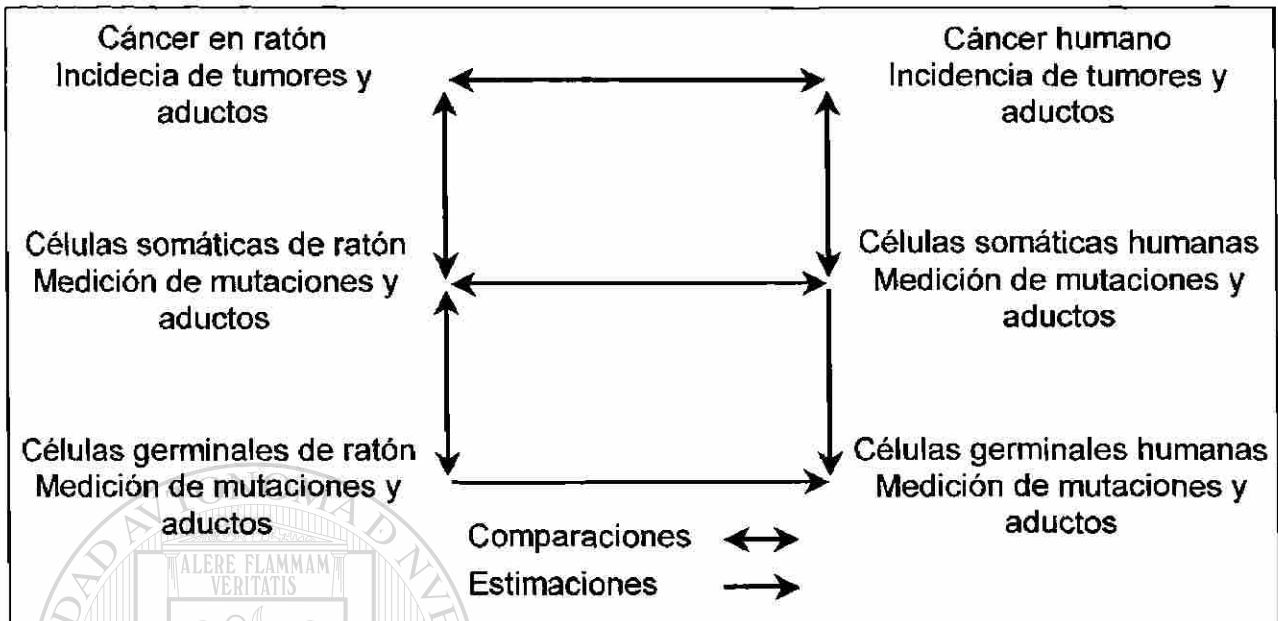
La validación de un biomarcador requiere de un estudio epidemiológico, que evalúa uno de los tres tipos de relaciones: exposición a la dosis, efecto biológico – enfermedad y la susceptibilidad (145, 232, 246).

El uso óptimo de los biomarcadores como factor de riesgo en la salud de humanos, puede evaluarse en forma paralela con estudios en animales de laboratorio o líneas celulares (11); este tipo de evaluaciones pueden concretarse con un paralelogramo que permite establecer el factor de riesgo entre los distintos

grupos de estudio, pudiendo realizar una extrapolación de datos de un grupo a otro en los efectos que tiene el biomarcador (267).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Diagrama 2.- Concepto de paralelograma.



Sobel (227)

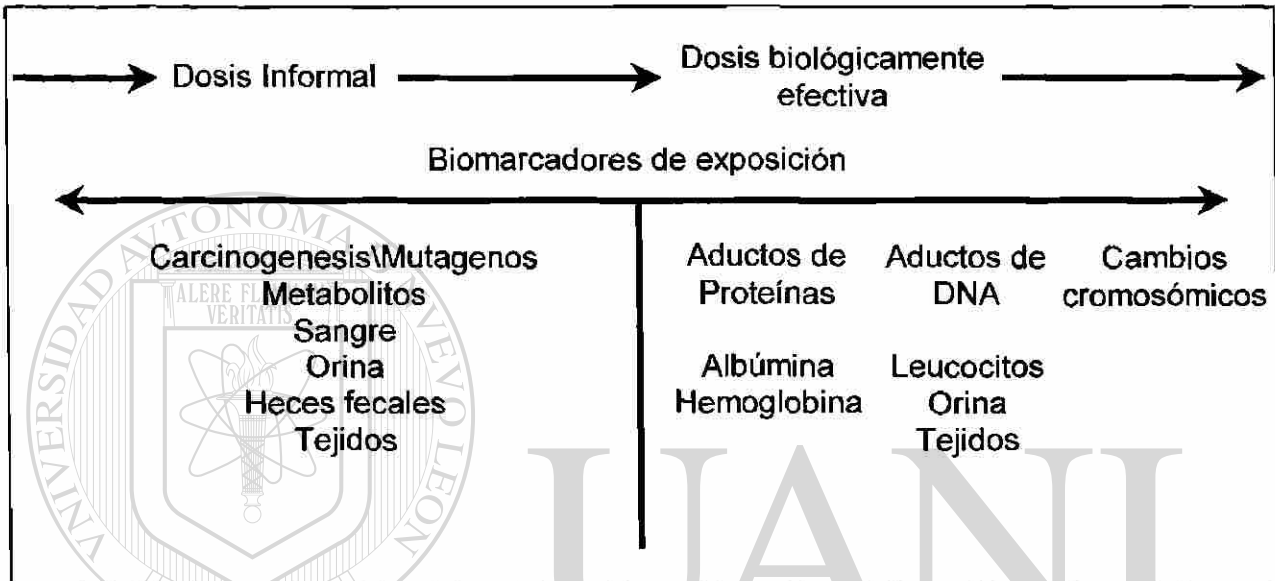
Aunque sabiendo que esta extrapolación no puede ser aplicada de forma completa, sí permite poder establecer expectativas de la respuesta o efecto que puede tener en la otra especie, específicamente en el caso del hombre.

Sabiendo que los biomarcadores sean dividido en: de exposición, de efectos o de susceptibilidad (6); pero es importante considerar las siguientes razones (149). Diagrama 3.

- Por medirse lo que son metabolitos.
- Porque son aplicables a humanos.

- Se pueden detectar en la salud individual (para evaluar condiciones precancerosas o de diagnóstico temprano de cáncer).
- Directamente asociado con cáncer (aductos de proteína y DNA)

Diagrama 3.- Biomarcadores de Exposición



IARC (149)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
**Cuantificación de aductos**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Los métodos utilizados con la finalidad de cuantificar biomarcadores requieren de alta sensibilidad, justificado esto porque los niveles de aductos son bajos; estos métodos pueden resumirse en la tabla (12).

Tabla 11.- métodos para cuantificar diferentes aductos.

METODO	APLICACIÓN	VENTAJAS	PRODUCTO BIOLÓGICO	DESVENTAJA
ELISA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sulfatos glucurónidos</li> <li>• glutationes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sensible</li> <li>• Fácil de procesar</li> <li>• Económico</li> <li>• Útil en estudios epidemiológicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Orina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poca especificidad</li> <li>• Requiere producción de anticuerpos</li> <li>• Método semi cuantitativo</li> </ul>
Radio Inmuno Análisis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AFB<sub>1</sub>-Lisina</li> <li>• AFB<sub>1</sub>-DNA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muy sensible</li> <li>• Pequeñas muestras</li> <li>• Cuantitativo</li> <li>• Muy específico</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suero</li> <li>• Plasma</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muy laborioso</li> <li>• Radioactivo</li> <li>• Altos costos</li> <li>• Equipo especial</li> </ul>
Cromatografía líquida a alta presión	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AFB<sub>1</sub>-Lisina</li> <li>• AFB<sub>1</sub>-DNA</li> <li>• Aflatoxicol</li> <li>• AFM<sub>1</sub></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muy sensible</li> <li>• Cuantitativo</li> <li>• Pequeñas muestras</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suero</li> <li>• Plasma</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laborioso</li> <li>• Equipo especial</li> </ul>

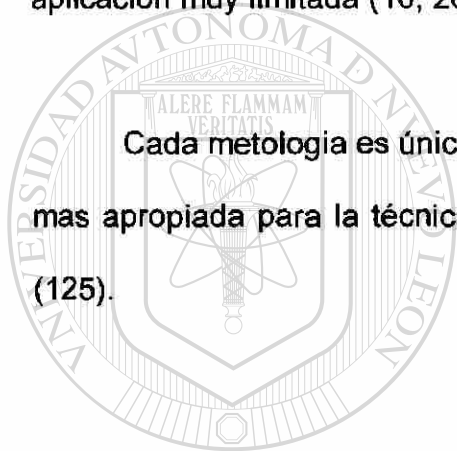
IARC (155, 147, 149)

Durante las últimas décadas la alta especificidad de los anticuerpos monoclonales y policlonales formados a partir de antígenos de aductos de aflatoxina, han permitido desarrollar métodos inmunoenzimáticos como ELISA; o bien estos anticuerpos pueden utilizarse con técnicas químicas analíticas no invasivas como cromatografía en capa fina, cromatografía líquida alta presión, radioinmunoensayo, inmunoistoquímicos, radioinmunoensayo enzima ultrasensitiva que permite monitorear la exposición humana a la aflatoxina del medio ambiente. Estos métodos dependen de la habilidad para cuantificar la aflatoxina y sus metabolitos, incluyendo aductos en el suero u orina (52, 123, 125, 138).

La espectrometría de masas combinada con la cromatografía de gases son técnicas muy buenas pero requieren de instrumentación muy especializada; además hay mucha evaporación de las muestras (149).

La espectroscopia de fluorescencia es fácil de realizar, es específica pero se contamina fácilmente y su uso es limitado, la detección electroquímica y la  $O^6$  Alkiltransferasa, así como la espectroscopia de absorción atómica que tienen una aplicación muy limitada (10, 26).

Cada metodología es única específica y sensible dependiendo de la aplicación más apropiada para la técnica usada, así como de la disponibilidad de recursos (125).



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## HIPÓTESIS

La presencia de aflatoxina B1-Lisina en suero humano podría correlacionarse con patologías como Hepatocarcinoma, Cáncer de tubo digestivo, Hepatitis “B” (HBV), Hepatitis “C” (HCV), Cirrosis hepática, cáncer de mama así como Tuberculosis en pacientes de H. Matamoros, Tamaulipas, México.

## OBJETIVO GENERAL

- Estandarizar la cuantificación del aducto AFB1 – Lisina en suero por la técnica de Radio Inmuno Análisis.
- Cuantificar el aducto AFB1 – Lisina en pacientes con diversas patologías.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Conocer los niveles del aducto AFB1 – Lisina en pacientes con distintas patologías en una región del país altamente contaminada con aflatoxinas.
- Determinar la asociación que hay entre la AFB1 – Lisina y las distintas patologías.

## MATERIALES Y METODOS

### MUESTREO:

Para la realización del presente trabajo se procedió a tomar muestras de sangre de 80 pacientes con las siguientes patologías en la población de H.

Matamoros, Tamaulipas, México.

Tabla 12.- Distribución de pacientes por patologías del presente estudio.

#### Pacientes 2001

Tuber-culosis	HBV	HCV	Cirrosis Hepática	Cáncer Laringe	Cáncer Mama	Cáncer Gástrico	Cáncer Pulmón	Cáncer Páncreas	Controles sanos
14	7	4	4	3	3	1	1	-	15

#### Pacientes 2002

Tuber-culosis	HBV	HCV	Cirrosis Hepática	Cáncer Laringe	Cáncer Mama	Cáncer Gástrico	Cáncer Pulmón	Cáncer Páncreas	Controles sanos
-	-	-	4	3	15	3	-	3	-

Los pacientes fueron contactados en las Instituciones de Salud como:

IMSS, Hospital General de la SSA, Centro de Control de Tuberculosis de la Jurisdicción Sanitaria, en clínicas y consultorios particulares. Se les explico el objeto del estudio para obtener su autorización e incluirlos en el muestreo (algunos no aceptaron), se procedió a recabar información de cada uno, llenando una ficha de identificación. Tabla 13.



Tabla 13.- Ficha de identificación de paciente.

Nombre: _____	Edad: _____	Peso: _____
Enfermedad: _____	Fumador: _____	Alcoholismo: _____
Consumo de Tortillas: Si _____ No _____	de Maiz _____	de Trigo _____
Ocupación : _____	Originario: _____	
Años de Residir e esta Ciudad: _____	Nivel Socioeconómico: _____	

### PROCESO PARTE I

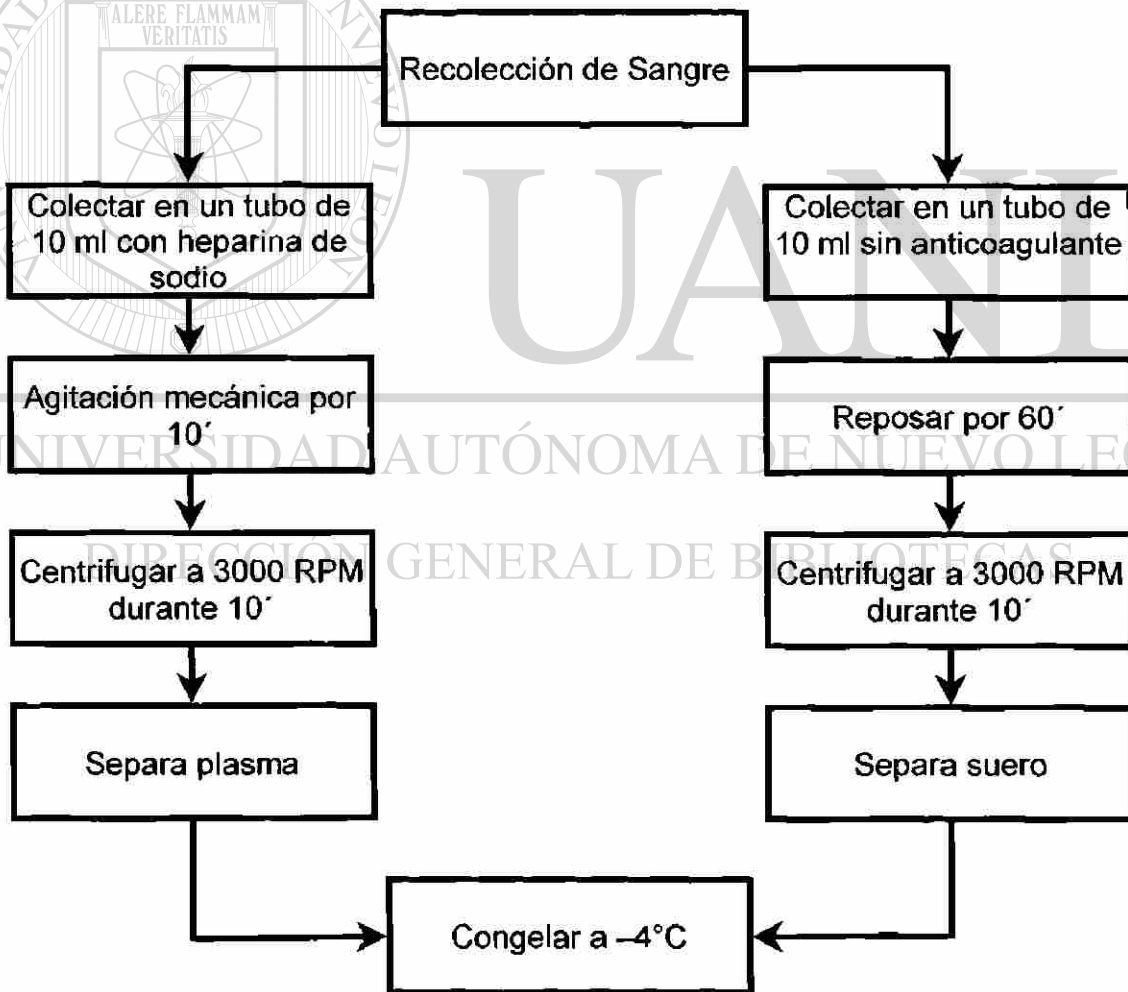
#### RECOLECCION DE SANGRE: (Diagrama 4)

- Se les pidió a los pacientes tener un ayuno de 4 horas mínimo previo a la toma de muestra.
- Las muestras se les tomaron en su domicilio particular, en la cama de hospital o bien acudiendo al laboratorio.

- El tipo de sangre que se tomo fue venoso.
- El volumen de sangre que se les extrajo fue de 20 mls. por paciente separado en dos tubos.
- La sangre se colecto en tubos con vacío de marca comercial con capacidad de 10 ml.
- Se utilizaron dos tipos de tubos con el mismo paciente: uno sin anticoagulante para la obtención de suero (tapón rojo) y uno con heparina de sodio (tapón verde) para al obtención de plasma.
- Antes de puncionar al paciente, se procedió a la identificación de los tubos.

- Después de tomar la muestra, los tubos sin anticoagulante se dejaron reposar por 60 minutos; los tubos con anticoagulante se mezclaron bien por 10 minutos en un agitador mecánico (Scientific Products R4185-10).
- Se procedió a centrifugar los tubos a 3,000 RPM durante 10 minutos para separar tanto el suero como el plasma.
- Se colocaron en congelación a  $-4^{\circ}\text{C}$  para su posterior procedimiento.

Diagrama 4.- Recolección de Sangre de Pacientes.



## OBTENCIÓN DE ALBÚMINA

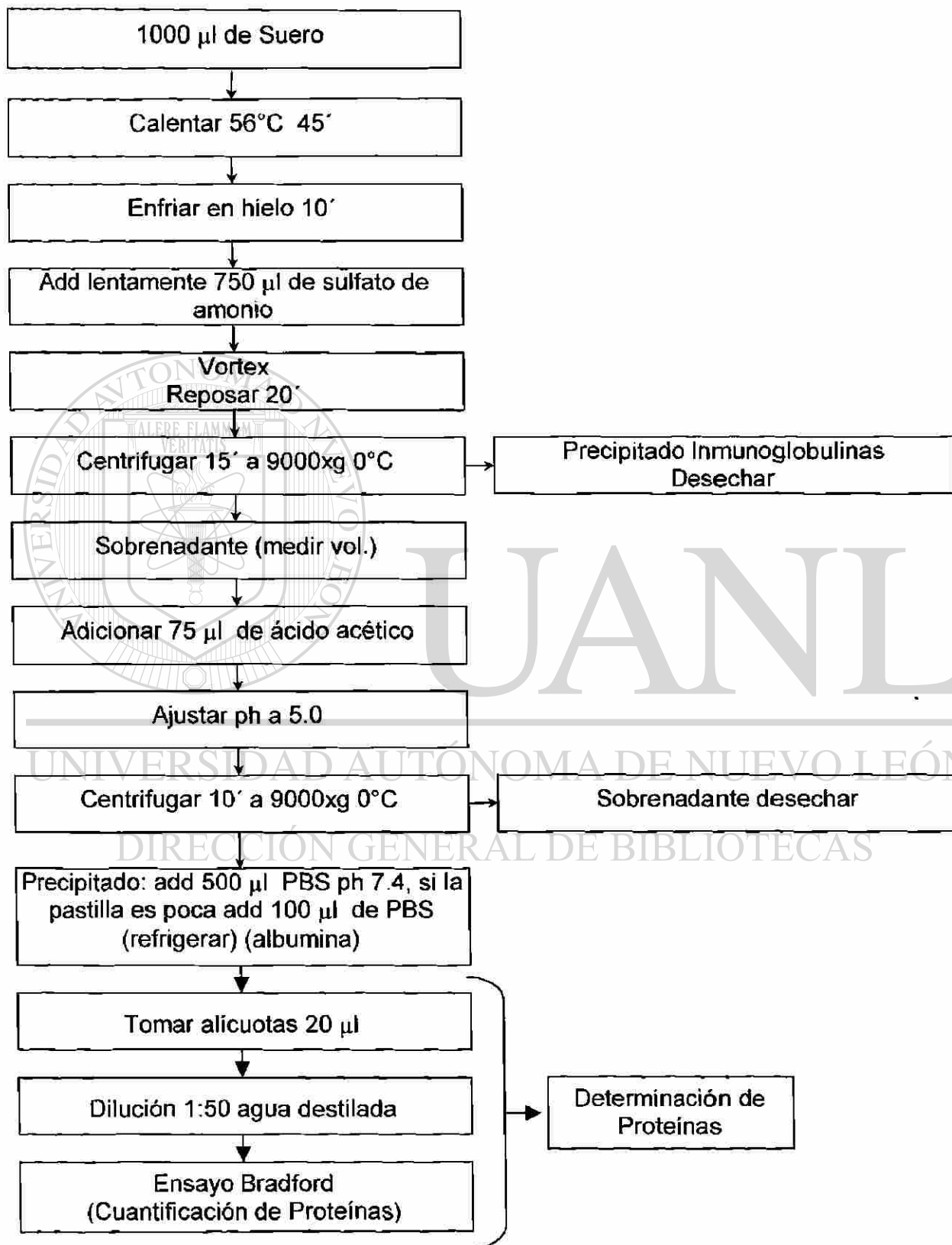
(Diagrama 5)

Todas las muestras de suero de los diferentes pacientes fueron procesadas de la siguiente manera:

- Las muestras se calentaron a 56°C durante 45 minutos en un termoblock para eliminar los posibles contaminantes infecciosos (HIV, Hepatitis) que pudieran estar presentes.
- Posteriormente se realizó una precipitación con sulfato de amonio para obtener la albúmina tal como se indica en el diagrama.
- Una vez obtenida la albúmina se cuantificó la proteína tomándose en alícuotas de 20 µl y se diluyeron para ser leídas por el método de Bradford (35), como se indica en el diagrama.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Diagrama 5.- Obtención de albúmina.



## **Método de Bradford para cuantificación de Proteínas**

**Reactivos:** Reactivo de albúmina Marca Sigma (BCP)

Solución estándar de proteína marca Sigma.

**Procedimiento:**

### **Determinación de albúmina.**

- Ajustar espectrofotómetro a 600 nm.
- Marcar 1.5 mls. En cubetas desechables.
- Adicionar 1 ml. de BCP a cada celda.
- A 1 ml. de BCP en una celda adicionar 10  $\mu$ l de PBS y mezclar por inversión, calibrar el espectrofotómetro con estas muestras.

- 
- A celdas conteniendo BCP adicionar 10  $\mu$ l del estándar de proteínas con 2, 4, 6, 8, 10 gr/dl; mezclar por inversión con parafilm.

- Leer.
- Repetir por duplicado.
- Hacer curva estándar y generar la regresión lineal.

## Determinación de proteínas.

Reactivos: estándar de albúmina marca Sigma; es también proteína humana total con la cual se hace una curva estándar.  
estándar de albúmina proteica humana marca Sigma  
Catalogo #540-10

Hacer su propio estándar usando 20  $\mu\text{l}$  del reactivo, usando 980  $\mu\text{l}$  de PBS

ph 7.4.

Concentraciones de la curva estándar:

Stock 1.6 mgr/ml de proteína total

$$2 \mu\text{l} = 3.2 \mu\text{gr}$$

$$4 \mu\text{l} = 6.4 \mu\text{gr}$$

$$8 \mu\text{l} = 12.8 \mu\text{gr}$$

$$10 \mu\text{l} = 16.0 \mu\text{gr}$$

$$12 \mu\text{l} = 19.2 \mu\text{gr}$$

$$16 \mu\text{l} = 22.4 \mu\text{gr}$$

Bio Rad Protein Assay (Dye reagent concentrate) guardar a 4°C.

Procedimiento:

- Poner espectrofotómetro a 590 nm.
- Adicionar 800 µl de PBS ph 7.4 a una celda y 1 µl de la muestra.
- Determinar absorbancia (nm) y tomar ecuaciones de la grafica, usando la curva estándar.
- Calcular µgr de proteína por ecuación.

Para calcular la cantidad de proteína se realizo un curva estándar de albúmina humana que contenía desde 2 µgr hasta 12 µgr graficando densidad óptica contra concentración de albúmina.

Para confirmar la pureza de la albúmina obtenida, se realizaron geles de electroforesis de la proteína de pacientes con cáncer, hepatitis y tuberculosis.

### Electroforesis en gel de Poliacrilamida

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Preparación del gel al 75%

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Acrilamida 30%	4.99 mls.
Buffer Tris 1 M ph 8.8	3.76 mls.
Agua desionizada	1.19 mls.
SDS 20%	25.0 µl
Persulfato de amonio 10%	5.0 µl
Temed	5.0 µl

**Nota 1:** El Temed se agrega hasta el final y se agita rápidamente una vez puesto, y con una pipeta Pasteur se coloca entre los vidrios rápidamente ANTES de que se gelifique.

**Nota 2:** Al gel separador (inferior) se le añadieron 75  $\mu$ l más de persulfato de amonio y 15  $\mu$ l de Temed para que gelifique más rápidamente (10 minutos).

### **Geles de Electroforesis**

Se correrá un gel de electroforesis para corroborar que la banda detectada en los geles anteriores, corresponde a la de albúmina.

**Estrategia:**

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
En uno de los carriles se pondrá un estándar de albúmina humana,  
igualmente se colocará un marcador de peso molecular.

El gel se hará con pacientes enfermos de: Cirrosis Hepática, Cáncer y Tuberculosis según el siguiente esquema:



Esquema 2.- Distribución de pacientes para verificación de banda de albúmina en gel de electroforesis.

Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6
Exp. 8 CAesofago	Exp. 8 CAcolón	Exp. 7 Cirrosis Hepática	Exp. 6 tuberculosis	Std. de albúmina Humana	Marcador de Peso molecular

Cantidad en  $\mu\text{l}$  puestos en el gel de cada muestra:

<p>CAesofago Exp. 8</p> <p>45 <math>\mu\text{gr}</math> / 11.25 <math>\mu\text{l}</math></p> $\frac{4 \mu\text{gr}}{1 \mu\text{l}} = \frac{45 \mu\text{gr}}{x}$ $x = 11.25 \mu\text{l}$ <p>+ 8.7 <math>\mu\text{l}</math></p> <p>20 <math>\mu\text{l}</math> vol. final</p>	<p>Cirrosis Exp. 7</p> <p>concentración de albúmina</p> <p>0.3 mgr / ml</p> $\frac{0.3 \mu\text{gr}}{1 \mu\text{l}} = \frac{x}{15 \mu\text{l}}$ <p>x = 4.5 <math>\mu\text{gr}</math></p> <p>+ 5 <math>\mu\text{gr}</math> buffer</p> <p>20 <math>\mu\text{l}</math> vol. final</p>
<p>CAcolon Exp. 8</p> <p>45 <math>\mu\text{gr}</math> / 5.6 <math>\mu\text{l}</math></p> <p>+14 <math>\mu\text{l}</math> buffer de muestra</p> <p>20 <math>\mu\text{l}</math> vol. final</p>	<p>Tuberculosis Exp. 6</p> <p>concentración de albúmina</p> <p>0.46 mgr / ml</p> <p>0.46 <math>\mu\text{gr} / \mu\text{l} \rightarrow 6.9 \mu\text{gr} / 15 \mu\text{l}</math></p> <p>+ 5 <math>\mu\text{l}</math></p> <p>20 <math>\mu\text{l}</math> vol. final</p>

albúmina humana

10  $\mu\text{l}$

Marcador de peso molecular 10  $\mu\text{l}$

## OBTENCION DEL ADUCTO AFB<sub>1</sub> – LISINA DEL HIDROLIZADO

Para obtener la molécula AFB<sub>1</sub> – Lisina es necesario primero realizar una hidrólisis con un complejo enzimático llamado Pronase, para después separar la molécula por medio de una columna de afinidad, todo el procedimiento esta ilustrado en el diagrama 6.

### Materiales utilizados:

- Suero de pacientes.
  - Solución saturada de sulfato de amonio.
  - Ácido acético glaciar.
  - Buffer salino de fosfatos (PBS) ph 7.0.
  - Reactivo de Bradford.
- 
- Tubos Eppendorfs.
  - Columnas de aflatest 10.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

### DIGESTIÓN DE ALBÚMINA CON PRONASE

#### Reactivos:

Pronase Protease. Calbiochem cat. 537088 (almacenar en desecador en cuarto frío) ordenar 25 ku cada vez.

Procedimiento:

- Usando la determinación de proteína, tomar la alícuota apropiada en el volumen de la muestra (ej. 8000  $\mu\text{gr}$  de proteína) en tubos Eppendorfs limpios.
  - Preparar la solución de Pronase (concentración 31.7 mgr / 3 ml) en PBS.
  - Adicionar Pronase en una relación de 1:4:1 (ej. para digerir 8000  $\mu\text{gr}$  de proteína, 1951  $\mu\text{gr}$  de Pronase en 185  $\mu\text{l}$  de buffer de Pronase es necesario).
  - vortex a cada tubo muy bien pero suavemente.
  - Poner las muestras en un baño de agua con agitación a 37°C toda la noche.
- 
- Tomar las muestras y darles un pulso en la centrífuga. Poner a 4°C.
  - El procedimiento puede detenerse en este punto, guardando las muestras a -20°C.

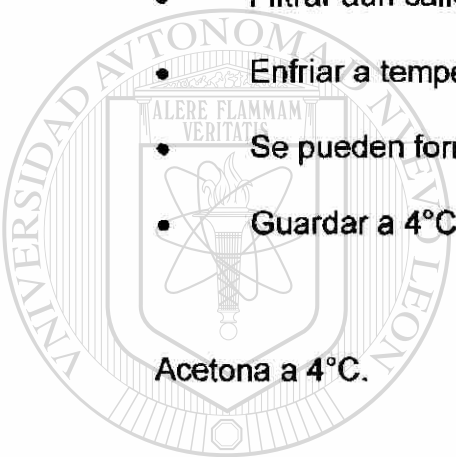
proteína	Pronase
1000 $\mu\text{gr}$	243.9 $\mu\text{gr}$
2000 $\mu\text{gr}$	487.8 $\mu\text{gr}$
3000 $\mu\text{gr}$	731.6 $\mu\text{gr}$
4000 $\mu\text{gr}$	975.4 $\mu\text{gr}$

Reactivos:

Solución saturada de sulfato de amonio:

- Adicionar 900 gr de sulfato de amonio a un litro de agua.
- Calentar hasta que se disuelva.
- Filtrar aun caliente.
- Enfriar a temperatura ambiente.
- Se pueden formar cristales.
- Guardar a 4°C.

Acetona a 4°C.



UANL

Reactor RIA:

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS  
Packard Tri-card 4640 contador de centelleo marca United  
Technologies.

Tracer:

10 ml 0.1% BSA/PBS en  $\text{NaN}_3$

100  $\mu\text{l}$  suero normal de ratón (1%)

107 CPM <sup>3</sup> HAFB<sub>1</sub>

Concentración final = 10,000 CPM/100 µl.

10% HS/PBS con 0.01% NaN<sub>3</sub> preparado de la siguiente forma:

445 ml PBS Ph 7.0

50 ml de suero de caballo

5 ml NaN<sub>3</sub> al 2%

Solución saturada de amonio.

**Nota: No mezclar sulfato de amonio con hipoclorito de sodio (se produce gas neurotóxico)**

Buffer salino de fosfatos:

8 gr de NaCl

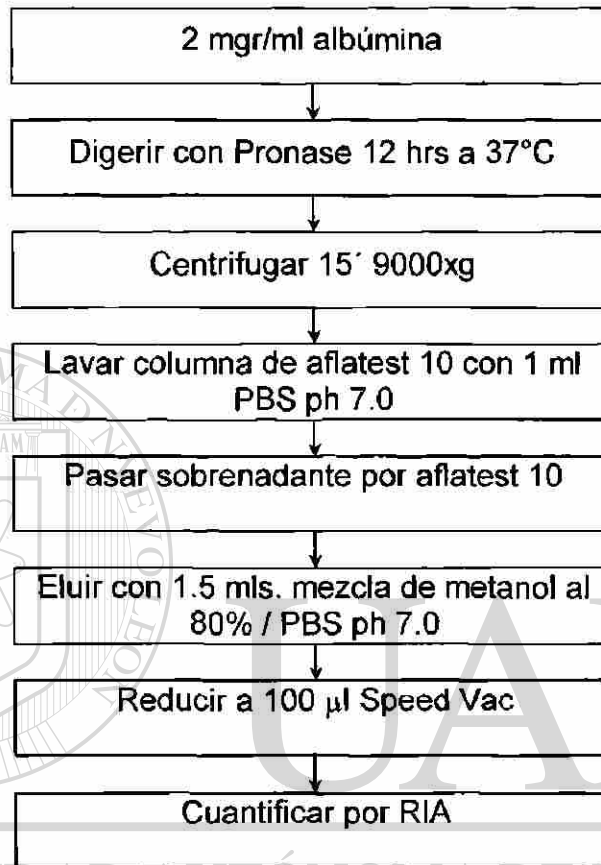
2 gr KCl

11.5 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

2 gr NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

adicionar 950 mls. de agua, ajustar Ph 7.0 y aforar a 1000 mls.

Diagrama 6.- Separación de AFB<sub>1</sub> – Lisina del hidrolizado.



### Radio Inmuno Análisis (RIA)

Este procedimiento consta de 4 partes:

1. Preparación de la dilución de aflatoxina marcada con <sup>125</sup>I para realizar las cuantificaciones.
2. Determinación del 50% de inhibición de los acytes (anti anticuerpos de aflatoxinas).

3. Determinación de la concentración de unión de la aflatoxina fría.
4. Determinación de la concentración del aducto AFB<sub>1</sub> – Lisina en las muestras procesadas.

Preparación de aflatoxina radioactiva.

<sup>3</sup>HAFB<sub>1</sub> contiene 1mCP/mmol

1mci =  $2.2 \times 10^9$  dpm

se necesita tener 10,000 cpm/100  $\mu$ l

$$\text{dpm} = \frac{10,000}{0.35} = 28,571.42$$

$2.2 \times 10^9$  dpm – 1,000  $\mu$ l

X

– 100  $\mu$ l

$$X = 2.2 \times 10^8$$

Tomar 100  $\mu$ l de HAFB<sub>1</sub> + 900  $\mu$ l MeOH HPLC

Se tiene 1 ml con  $2.22 \times 10^8$  dpm

0150696

## SEP PAK

1. Adicionar 3 mls. de agua desionizada

Desechar en tubo

2. Adicionar 1 ml HAFB1

Colectar en tubo

3. Adicionar 2 mls. de agua desionizada.

Colectar en tubo

4. Adicionar Metanol HPLC (5 mls).

5. Recuperar en frasco ámbar

①

100  $\mu$ l

cpm

②

100  $\mu$ l

+ 900  $\mu$ l MeOH  
cpm

4,800  $\mu$ l guardar  $-20^{\circ}\text{C}$

+ 3 mls liquido de centelleo

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

leer



<sup>3</sup>HAFB1 Sigma Co.

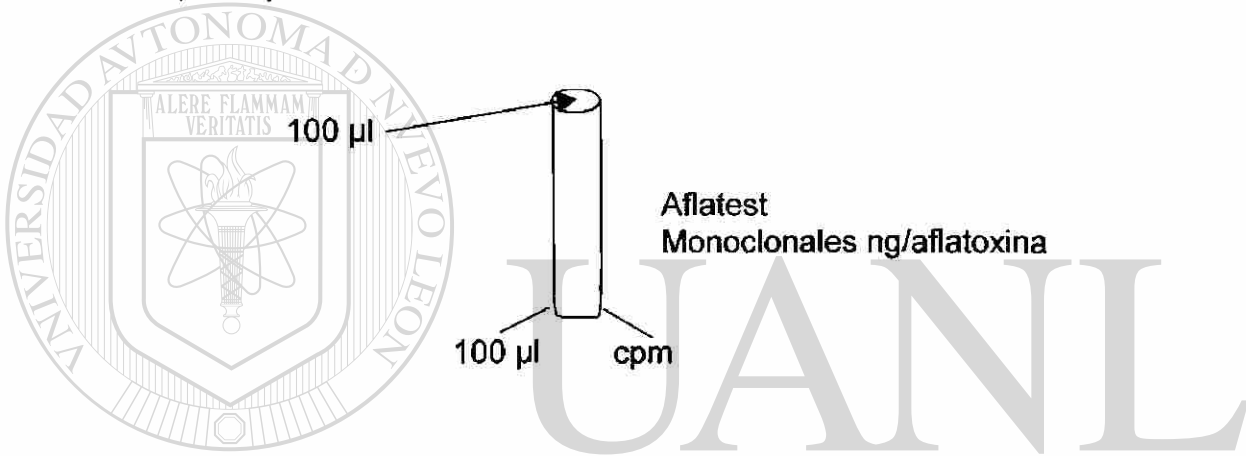
1 mci/ml A.S. 25 ci/mmol

1 mci =  $2.2 \times 10^9$  dpm

$25 \times 2.2 \times 10^{12}$  dpm =  $5.5 \times 10^{12}$  dpm

$5.5 \times 10^{12}$  dpm – 1mmol

11,000 dpm – X



Preparación del 10% HS/PBS con 0.01% NaN<sub>3</sub>

445 mls. PBS Ph 7.0

50 mls. suero de caballo

5 mls. NaN<sub>3</sub> 2% (1gr con 50 mls. de agua)

Preparación del TRACER:

10 mls. 0.1% BSA/PBS con/NaN<sub>3</sub>

100 µl suero normal de ratón (1%); se uso suero fetal de bovino.

107 cpm <sup>3</sup>HAFB1

concentración final = 10,000 cpm/100 µl

100 mls PBS + 100  $\mu$ l NaN<sub>3</sub> 2%  
↓  
agregar 0.1 gr BSA (albúmina bovina)

10 mls.

100  $\mu$ l de suero fetal bovino 1% (0.5 mls. + 45 PBS)

2,400  $\mu$ l

+

100  $\mu$ l <sup>3</sup>HAFB1 → Se colocaron 2,250  $\mu$ l de la <sup>3</sup>HAFB1 que provienen de 4,800  $\mu$ l que se pasaron por Sep Pak.

Se evaporaron a baño maria hasta obtener  $\pm$ 100  $\mu$ l

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

3 Bo 100  $\mu$ l PBS + 100  $\mu$ l TRACER + 100  $\mu$ l 10% HS/PBS

2 A 100  $\mu$ l 4 + 100  $\mu$ l TRACER + 100  $\mu$ l ASCITES (E)

5

6

2 B 100  $\mu$ l 4 + 100  $\mu$ l TRACER + 100  $\mu$ l 10% HS/PBS

5

6

Muestras 100  $\mu$ l + 100  $\mu$ l TRACER + 100  $\mu$ l ASCITES (E)

Todos los tubos se incubaron toda la noche a 4°C

Adicionar 300 µl de sulfato de amonio frío

Mezclar en Vortex

Dejar a temperatura ambiente 15 minutos.

Centrifugar 15 minutos a 11,000xg a 4°C

Tomar 300 µl del sobrenadante y colocarlos en viales de centelleo +  
10 mls. de liquido de centelleo.

Leer.

Cálculos

$$T = \frac{20,539}{9,583} - 100\%$$

$$Bo = \frac{9,583}{4,785} - X$$

50%

**Determinación de la concentración de anticuerpos para calcular Ab curva de  
calibración; requerida para el RIA.**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



Procedimiento:

1. Descongelar 2 B 11 ascites. Quitar cualquier fibrina con un palillo y centrifugar a 11,000xg / 10 – 15 min.
2. Hacer las siguientes diluciones:
  - A. 1:10 Tomar 540 µl HS/PBS 10% + 60 µl 2 B 11 ascites.
  - B. 1:30 Tomar 400 µl HS/PBS 10% + 200 µl la dilución 1:10
  - C. 1:90 Tomar 400 µl HS/PBS 10% + 200 µl la dilución 1:30
  - D. 1:270 Tomar 400 µl HS/PBS 10% + 200 µl la dilución 1:90

E. 1:810 Tomar 400 µl HS/PBS 10% + 200 µl la dilución 1:270

F. 1:2430 Tomar 400 µl HS/PBS 10% + 200 µl la dilución 1:810

Mezclar suavemente.

3. Tomar alícuotas de 100 µl en 3 tubos diferentes.
4. Tomar alícuotas de 100 µl HS/PBS 10% en 3 tubos diferentes. (estos serán los controles Bo).
5. Adicionar 100 µl de PBS a todos los tubos Ab diluciones (3) y controles (4).
6. Adicionar a todos 100 µl TRACER (10,000 cpm/100 µl)
7. Incubar a 37°C a temperatura ambiente, o a 4°C por dos horas.
8. Adicionar a todos los tubos 300 µl de sulfato de amonio (guardado a 4°C).
9. Mezclar en vortex e incubar a temperatura ambiente por 15 min.  
Centrifugar a 4°C y 11,000xg por 15 min.

---

10. Remover cuidadosamente 300 µl del sobrenadante y adiciónelo al vial de centelleo de 20 ml.

Adicionar Budget Solve y contar usando el Canal 3H.

11. Calcular la radioactividad precipitada (% de control) debido a cada Ab dilución, hacer curva logarítmica de dilución contra correspondiente inhibición y determine la dilución del anticuerpo la cual precipita 50% del total de (Bo) cuentas.
12. Hacer una solución de esa dilución, además otras 2 diluciones entre el rango y reanalizar, seleccionar la mejor dilución para precipitación de 40 – 50 % de cuentas.

### AFB1 Curva de Calibración y RIA de Muestras.

1. Hacer las siguientes diluciones de una solución stock de AFB1 en DMSO (300 pmol/100 µl).
2. Para hacer la solución stock 300 pmol/100 µl:
  - A. 5 mg AFB1 / 1 ml DMSO ( $1.6 \times 10^6$  pmol/100 µl).
  - B. 100 µl de solución 1 + 400 µl DMSO (3,200 pmol/1 ml).
  - C. 5 µl de solución 2 + 995 µl HS/PBS 10% (1,600 pmol/100 µl).
  - D. 112.5 µl de solución 3 + 487.5 µl HS/PBS 10% (300 pmol/100 µl).

3. Hacer las siguientes diluciones de una solución stock de AFB1 en DMSO (300 pmol/100 µl).

Para 300 pmol/100 tome 600 µl de la solución stock de AFB1 en DMSO.

	Concentración
600 µl de la Sol. 300 pmol/sol	300 pmol
200 µl de la Sol. 300 pmol sol + 400 µl PBS	100 pmol/100 µl
200 µl de la Sol. 100 pmol sol + 400 µl PBS	33.3 pmol/100 µl
200 µl de la Sol. 33.3 pmol sol + 400 µl PBS	11.1 pmol/100 µl
200 µl de la Sol. 11.1 pmol sol + 400 µl PBS	3.7 pmol/100 µl
200 µl de la Sol. 3.7 pmol sol + 400 µl PBS	1.2 pmol/100 µl
200 µl de la Sol. 1.2 pmol sol + 400 µl PBS	0.4 pmol/100 µl
200 µl de la Sol. 0.4 pmol sol + 400 µl PBS	0.13 pmol/100 µl

4. Tomar 3 alícuotas de 100 µl de las diluciones AFB<sub>1</sub> arriba descritas en tubos Eppendorf.
5. Poner 100 µl de PBS en 2 – 6 tubos marcar “A” (50%).
6. Poner 100 µl de PBS en 2 – 6 tubos marcar “B”
7. Redisolver las muestras en las cuales AFB<sub>1</sub> va a ser determinada en 100 µl de PBS (las cuales están secas a –20°C).
8. Adicionar 100 µl <sup>3</sup> HAFB<sub>1</sub> Tracer a todos los tubos.
9. A todos los tubos “A”, las muestras y las soluciones estándar de AFB<sub>1</sub> adicionar 100 µl de Ab (anticuerpo ascites) a la concentración determinada previamente.
10. A los tubos marcados “B” adicionar 100 µl de HS/PBS 10%.
11. Incubar todos los tubos a 37°C, a temperatura ambiente o 4°C por 2 horas, 5 - 6 horas, o toda la noche respectivamente.
12. Adicionar 300 µl de sulfato de amonio frío como hielo.
13. Mezclar en vortex, encubar a temperatura ambiente (28°C) por 15 min. y centrifugar a 4°C a 11000xg por 15 min.
14. Tomar 300 µl del sobrenadante cuidadosamente y poner en vial de centelleo. Adicionar 10 ml Budget Solve y contar usando el Canal 3H.
15. Calcular la Inhibición de enlace usando la siguiente fórmula.
$$\%BI = [ (S) - (A) ] / [ (B) - (A) ]$$
16. Graficar el logaritmo de la concentración de AFB<sub>1</sub> contra % de BI.  
Calcular los niveles de aducto de aflatoxina en las muestras desconocidas.

## RESULTADOS.

### 1º. PACIENTES 2001 (PRIMER MUESTREO).

Se procedió a analizar 52 sueros de pacientes con diferentes patologías, así como pacientes sanos usados como controles en el año 2001; de la población de H. Matamoros, Tamaulipas, México. (Foto 1)

Foto 1.- Extracción de Sangre de Paciente



Se obtuvo la información general de los pacientes según la ficha de identificación personal, datos que están consignados en la tabla 14.

Tabla 14.- Concentración de datos de pacientes. (1° Muestreo 2001)

TIPO CANCER	EDAD	PESO	FUMA	SEXO	ALCOHOL	T TRIGO	T MAIZ	DROGO R	DROGO SENS	OCCUPACION	L ORBGEN	AÑOS RESIDE H. MAT	NIVEL SOCIAL
<b>PRIMER MUESTREO 2001</b>													
<b>CANCER</b>													
3 mama	52	115	NO	M	NO	NO	NO	--	--	CONSEJERO	BROOKSVILLE TX	52	AÑOS MEDIO
4 laringe	46	65	NO	F	NO	NO	SI	--	--	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	46	AÑOS MEDIO
5 gástrico	57	80	NO	M	NO	NO	SI	--	--	EMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	57	AÑOS BAJO
7 laringe	70	70	NO	M	NO	SI	SI	--	--	MEDICO	H.MATAMOROS TAMP	70	AÑOS ALTO
8 laringe	73	75	SI	M	NO	NO	SI	--	--	AGRICULTOR	H.MATAMOROS TAMP	73	AÑOS ALTO
9 mama	43	60	NO	F	NO	SI	SI	--	--	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	43	AÑOS BAJO
10 mama	66	75	NO	F	NO	NO	SI	--	--	HOGAR	SAN LUIS POTOSI	40	AÑOS BAJO
11 pulmon	50	60	NO	F	NO	SI	SI	--	--	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	50	AÑOS MEDIO
<b>CIRROSIS HEPATICA</b>													
24	52	60	SI	M	NO	SI	SI	--	--	CHOFER	H.MATAMOROS TAMP	52	AÑOS MEDIO
25	60	64	NO	F	NO	SI	SI	--	--	HOGAR	CO VICTORIA TAMP	50	AÑOS MEDIO
26	20	50	NO	M	NO	NO	SI	--	--	ESTUDIANTE	H.MATAMOROS TAMP	20	AÑOS MEDIO
27	31	62	SI	M	NO	SI	SI	--	--	PEPELADOR	H.MATAMOROS TAMP	31	AÑOS BAJO
<b>TUBERCULOSIS</b>													
26	40	46	NO	M	NO	SI	SI	SI	--	ALBAÑIL	VERACRUZ	38	AÑOS BAJO
31	20	50	NO	M	NO	SI	SI	SI	--	ESTUDIANTE	H.MATAMOROS TAMP	20	AÑOS MEDIO
33	22	54	NO	M	NO	NO	SI	SI	--	EMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	22	AÑOS BAJO
34	40	68	NO	M	NO	SI	SI	SI	--	CHOFER	H.MATAMOROS TAMP	40	AÑOS MEDIO
35	60	66	NO	F	NO	NO	SI	--	SI	HOGAR	VERACRUZ	26	AÑOS BAJO
36	43	62	NO	M	NO	SI	SI	--	SI	VEND AMB	SAN LUIS POTOSI	30	AÑOS BAJO
37	39	60	NO	M	NO	SI	SI	SI	--	JORNALERO	H.MATAMOROS TAMP	39	AÑOS BAJO
39	23	51	NO	M	NO	SI	SI	SI	--	OBREIRO	TULA TAMP	4	AÑOS BAJO
40	47	50	NO	F	NO	NO	SI	--	SI	HOGAR	JALISCO TAMP	5	AÑOS BAJO
43	38	46	NO	M	SI	SI	SI	--	SI	DESEMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	38	AÑOS MEDIO
44	44	54	NO	F	NO	SI	SI	--	SI	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	44	AÑOS ALTO
45	36	60	NO	M	NO	NO	SI	--	SI	EMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	36	AÑOS MEDIO
62	60	50	NO	F	NO	SI	SI	--	SI	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	60	AÑOS BAJO
63	46	63	NO	M	NO	NO	SI	--	SI	INGENIERO	REYNOSA TAMP	4	AÑOS ALTO
<b>HEPATITIS</b>													
12	46	74	NO	M	SI	NO	SI	--	--	JORNALERO	H.MATAMOROS TAMP	46	AÑOS BAJO
14	31	72	NO	M	NO	NO	SI	--	--	OBREIRO	SAN FERNANDO TAMP	16	AÑOS BAJO
15	34	60	NO	M	NO	NO	SI	--	--	PANADERO	VERACRUZ	5	AÑOS BAJO
16	39	74	NO	M	NO	SI	SI	--	--	COMERCIANTE	VERACRUZ	20	AÑOS MEDIO
17	79	60	NO	F	NO	SI	SI	--	--	QUIMICA	DF	50	AÑOS ALTO
18	18	120	NO	M	NO	SI	SI	--	--	ESTUDIANTE	CALIFORNIA	10	AÑOS MEDIO
19	18	68	NO	M	NO	SI	SI	--	--	ESTUDIANTE	H.MATAMOROS TAMP	18	AÑOS MEDIO
20	31	70	NO	F	NO	NO	SI	--	--	EMPLEADA	H.MATAMOROS TAMP	31	AÑOS MEDIO
21	54	68	NO	M	NO	SI	SI	--	--	MEDICO	H.MATAMOROS TAMP	54	AÑOS ALTO
22	36	70	SI	M	SI	NO	SI	--	--	VEND AMB	H.MATAMOROS TAMP	36	AÑOS BAJO
23	40	60	NO	F	NO	SI	SI	--	--	SECRETARIA	H.MATAMOROS TAMP	40	AÑOS MEDIO
<b>CONTROLES SANOS</b>													
46	24	70	NO	M	NO	NO	SI	--	--	ESTUDIANTE	MONTERREY N.L.	19	AÑOS MEDIO
47	30	80	NO	M	SI	SI	SI	--	--	EMPLEADO	SAN LUIS POTOSI	20	AÑOS BAJO
48	45	89	SI	M	NO	SI	SI	--	--	CHOFER	H.MATAMOROS TAMP	45	AÑOS BAJO
49	48	78	NO	M	NO	SI	SI	--	--	LICENCIADO	H.MATAMOROS TAMP	48	AÑOS ALTO
50	32	54	NO	F	NO	NO	SI	--	--	SECRETARIA	H.MATAMOROS TAMP	32	AÑOS MEDIO
51	70	75	SI	M	NO	NO	SI	--	--	JUBILADO	VERACRUZ	60	MESES MEDIO
52	50	74	SI	M	NO	SI	SI	--	--	EMPRESARIO	H.MATAMOROS TAMP	50	AÑOS ALTO
53	36	60	NO	M	NO	SI	SI	--	--	INGENIERO	H.MATAMOROS TAMP	36	AÑOS ALTO
54	40	80	SI	M	NO	NO	SI	--	--	EMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	40	AÑOS BAJO
55	37	65	SI	M	NO	NO	SI	--	--	ALBAÑIL	H.MATAMOROS TAMP	37	AÑOS BAJO
56	25	59	NO	F	NO	SI	SI	--	--	SECRETARIA	MONTERREY N.L.	20	AÑOS MEDIO
57	18	64	SI	M	NO	SI	SI	--	--	ESTUDIANTE	H.MATAMOROS TAMP	18	MESES MEDIO
58	55	68	NO	M	NO	SI	SI	--	--	INGENIERO	H.MATAMOROS TAMP	55	AÑOS ALTO
59	38	85	NO	M	NO	SI	SI	--	--	OLIMICO	MATE TAMP	25	AÑOS MEDIO
60	35	50	NO	F	NO	SI	SI	--	--	SECRETARIA	VERACRUZ	26	AÑOS MEDIO



Con la finalidad de poder apreciar bien la información que nos proporcionan estos datos; se precedió a graficar los parámetros en función de cada patología en lo particular.

## **PACIENTES CON TUBERCULOSIS**

### **Edad:**

En este grupo de pacientes se puede apreciar que el mayor número está comprendido entre los 36 y 47 años de edad Tabla 15.

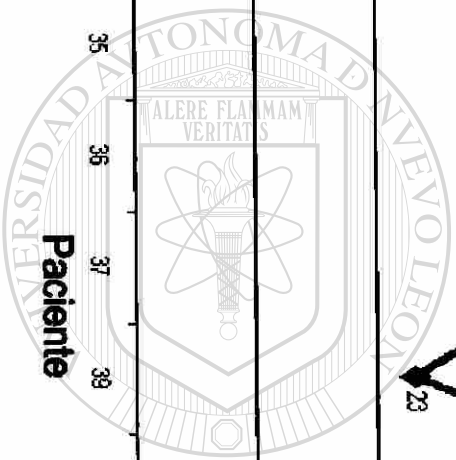
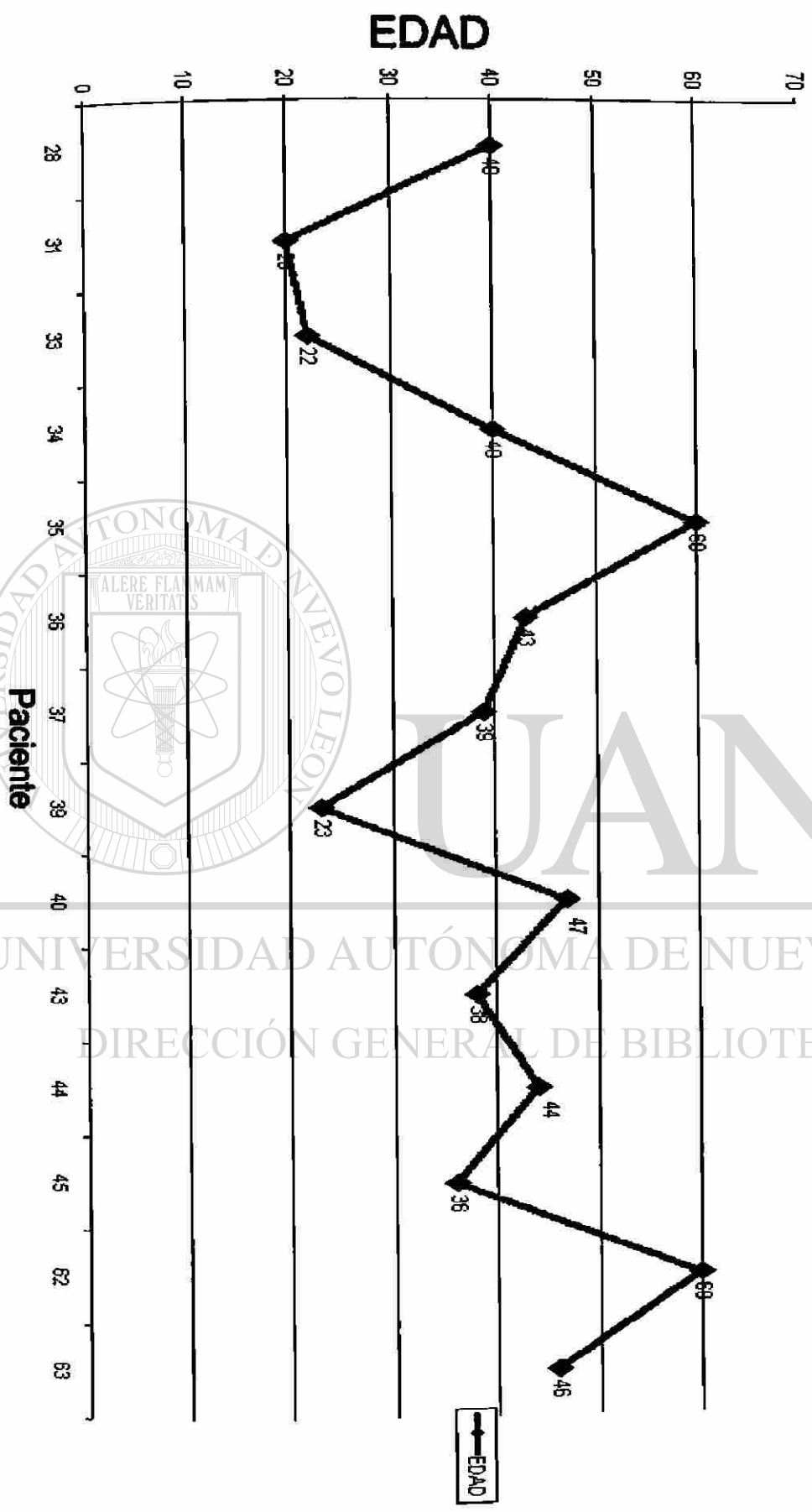
### **Peso:**

En este parámetro se puede apreciar que el peso promedio está entre los 50 y 60 Kg. y que la desnutrición no se puede evaluar bien en función del peso solamente, ya que muchos de los pacientes presentaban diversos grados de desnutrición, estado general muy afectado y que un poco menos de la mitad eran drogo resistentes al tratamiento. Tabla 16.

### **Tabaquismo:**

Se puede observar que los pacientes con este padecimiento no fuman, por una razón lógica de su problema. Tabla 17.

Tabla 15.- Clasificación de Pacientes con Tuberculosis de acuerdo a la edad. 2001



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 16. - Clasificación de Pacientes con Tuberculosis de acuerdo al peso. 2001

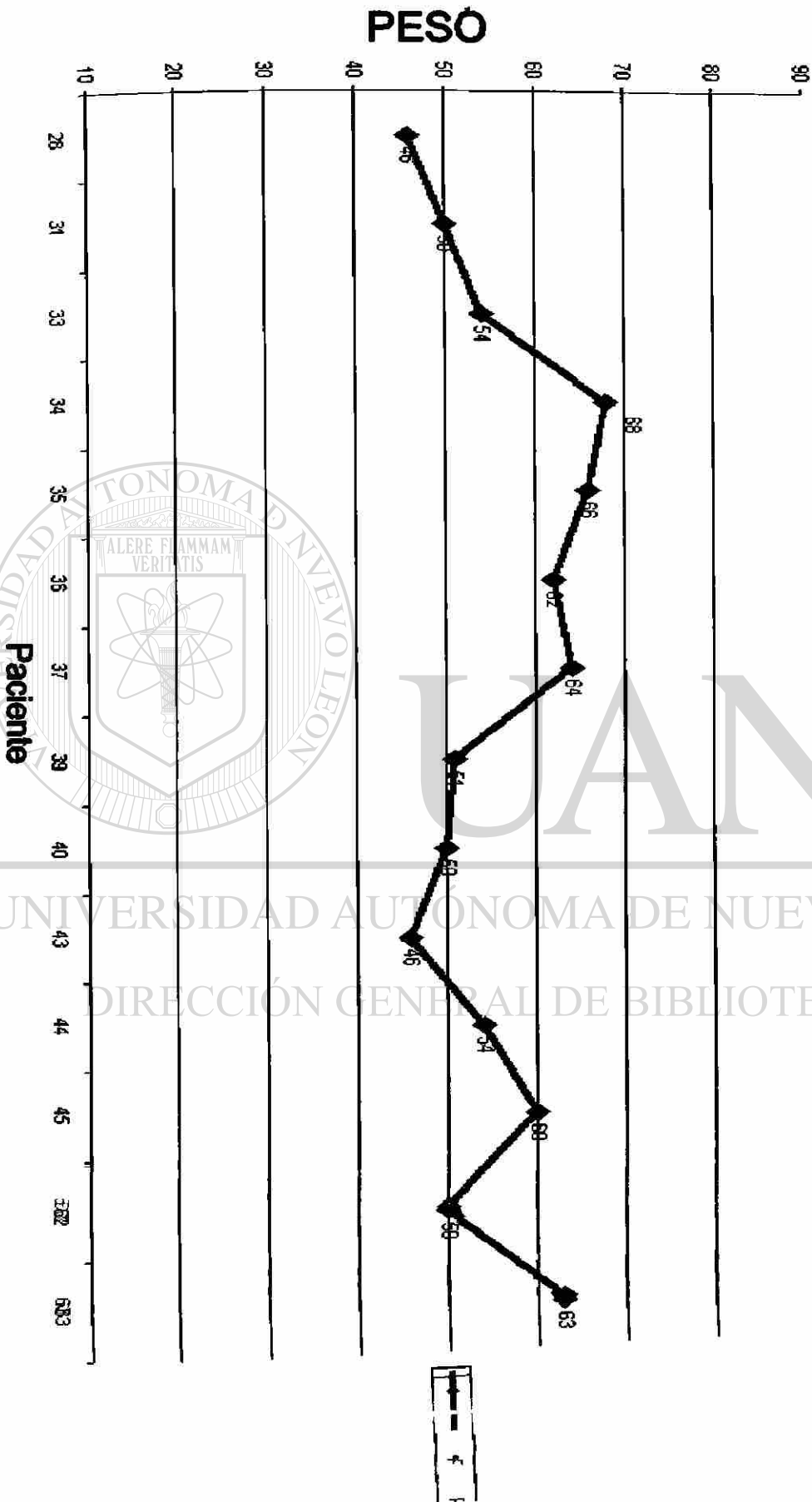
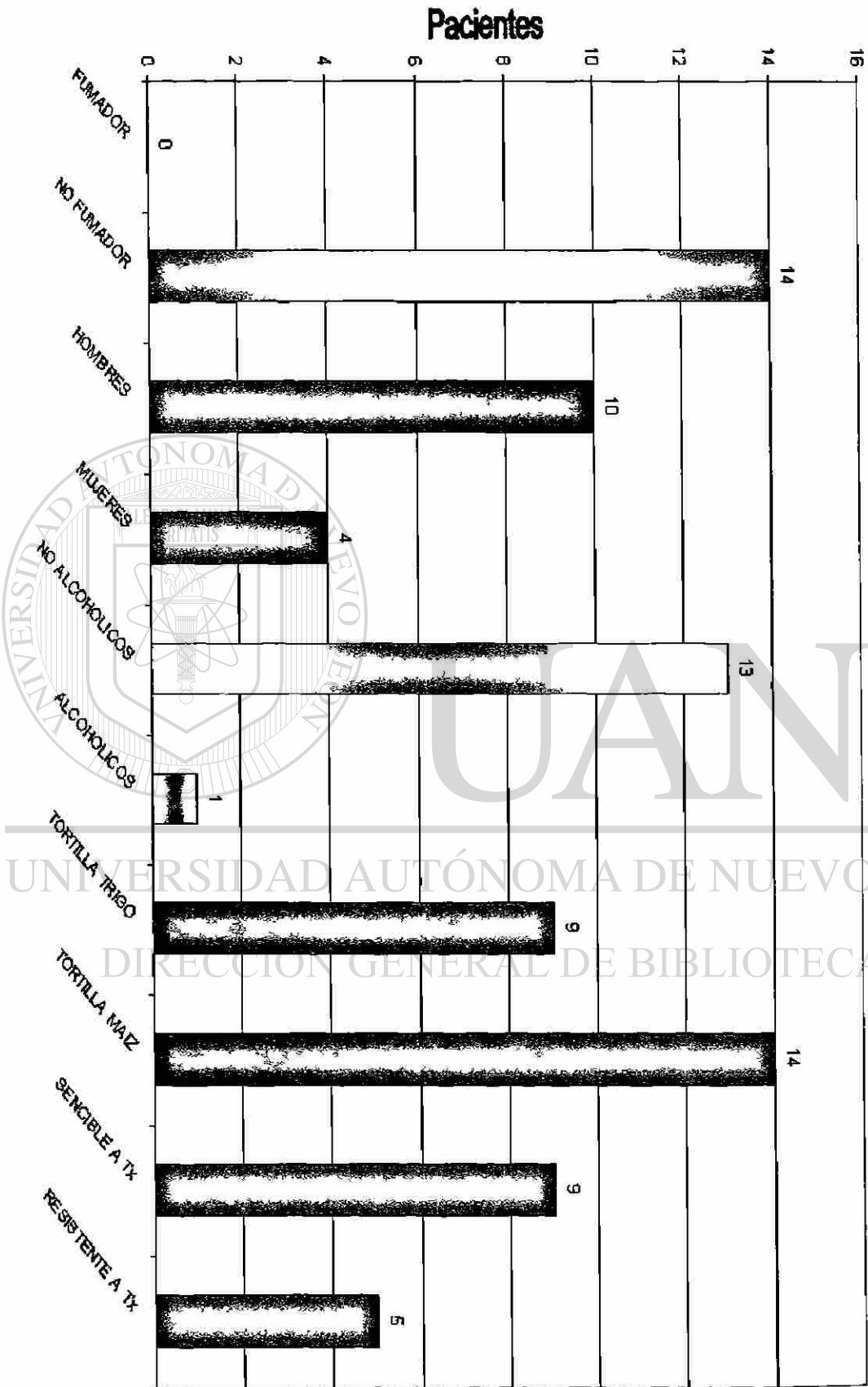


Tabla 17. - Clasificación de Pacientes con Tuberculosis de acuerdo a varios parametros. 2001



**Sexo:**

En esta gráfica se aprecia que hay mas del doble de hombres con tuberculosis que las mujeres. Tabla 17.

**Consumo de Alcohol:**

Respecto al consumo de alcohol 13 de los pacientes son no alcohólicos y solo 1 si lo es. Tabla 17.

**Consumo de tortilla de trigo y tortilla de maíz:**

Referente al consumo de estos productos, se puede apreciar que aun y cuando se consumen los 2 tipos de tortillas, hay mayor preferencia hacia la tortilla de maíz. Tabla 17.

**Sensibilidad a antifimicos:**

Aún y cuando la mayor parte de los pacientes son sensibles al tratamiento; se puede observar que casi más de la mitad de este grupo de estudio son drogoscensibles a los antifimicos. Tabla 17.

**Ocupación:**

A este respecto encontramos que 4 pacientes son amas de casa; pero que la mayoría de los pacientes tienen como ocupación un oficio. Tabla 18.

**Tabla 18.- Clasificación de Pacientes con Tuberculosis de acuerdo a la ocupación. 2001**

ALBAÑIL	1
OBRERO	1
ESTUDIANTE	1
EMPLEADO	2
CHOFER	1
HOGAR	4
VENDEDOR AMBULANTE	1
JORNALERO	1
DESEMPLEADO	1
INGENIERO	1

**Lugar de Origen:**

Como era de esperarse la mayor parte de los pacientes son originarios de la propia Cd. de Matamoros y muy pocos proceden de estados vecinos o de otros municipios del Estado. Tabla 19.

**Tabla 19.- Clasificación de Pacientes con Tuberculosis de acuerdo al lugar de origen. 2001**

MATAMOROS	8
VERACRUZ	2
SAN LUIS POTOSI	1
TULA TAMPS	1
JAUMAVE	1
REYNOSA	1

**Años de residir en Matamoros:**

En la presente gráfica se observa que los pacientes en su mayor parte tienen entre 20 - 40 años de residencia. Tabla 20.

**Nivel socio económico:**

Se puede apreciar que el mayor número de casos con tuberculosis comprende a pacientes de la clase baja y que también de igual manera en la clase alta se encuentra este padecimiento. Tabla 21.

Tabla 20.- Clasificación de Pacientes con Tuberculosis de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001

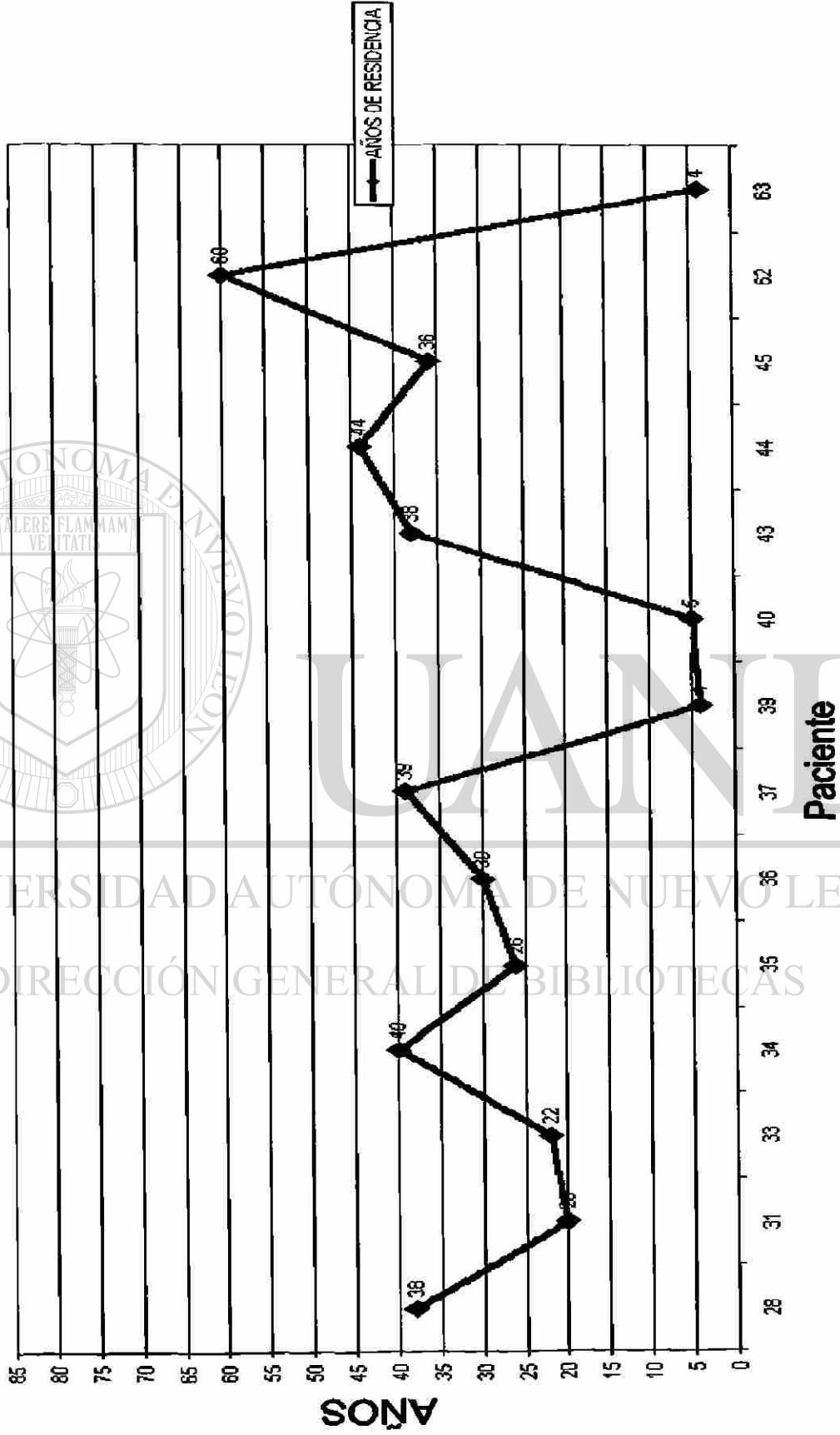
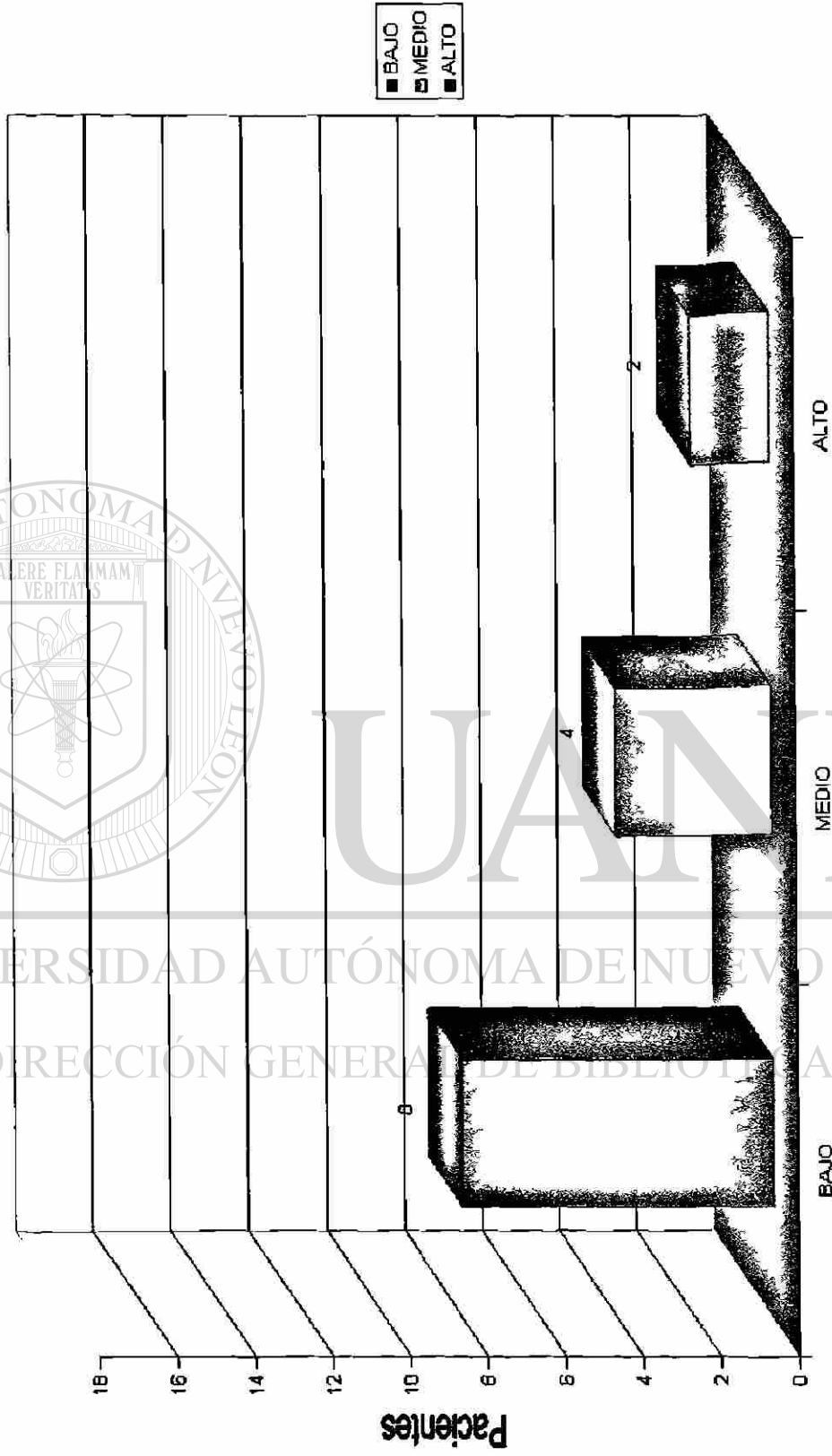




Tabla 21.- Clasificación de Pacientes con Tuberculosis de acuerdo al nivel socio económico. 2001



## PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA

### Edad:

Es importante considerar que la cirrosis hepática tiene diversas etiologías aun cuando las mas frecuentes son las causadas por HBV y HCV, no dependiendo de la edad, encontrándose en este caso 2 pacientes en 20 y 31 años y, 2 en 52 y 62 años. Tabla 22.

### Peso:

La distribución de los pacientes con cirrosis hepática en base al peso están ubicados entre los 50 y 62 Kg. Tabla 23.

### Tabaquismo:

A este respecto se observa que de los pacientes el 50% (2) son fumadores y el otro 50% son no fumadores. Tabla 24.

### Sexo:

Se encontró que los hombres son los que presentan mayor número de casos respecto a las mujeres (3 a 1). Tabla 24.

Tabla 22.- Clasificación de Pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a la edad. 2001

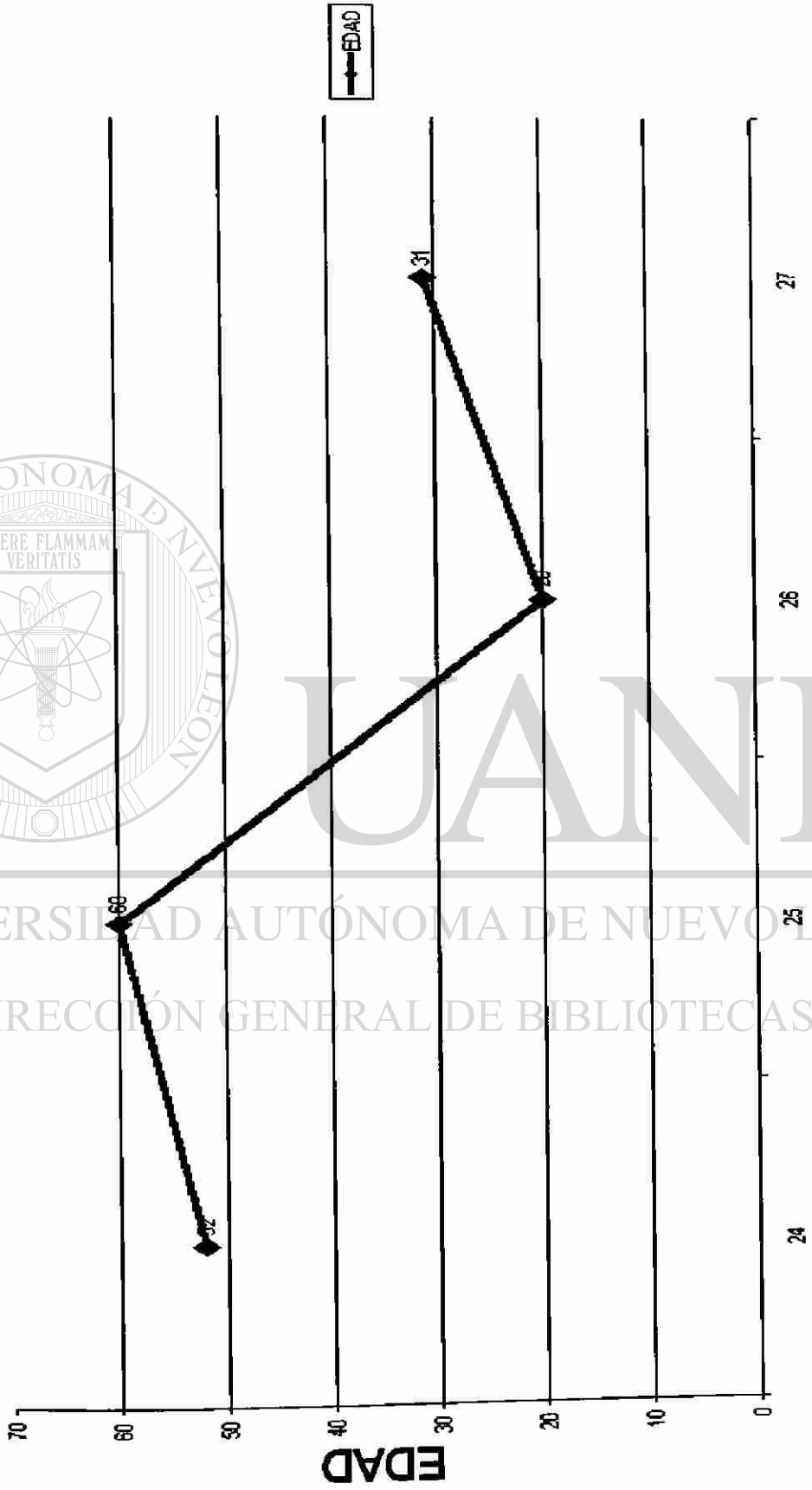


Tabla 23.- Clasificación de Pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo al peso. 2001

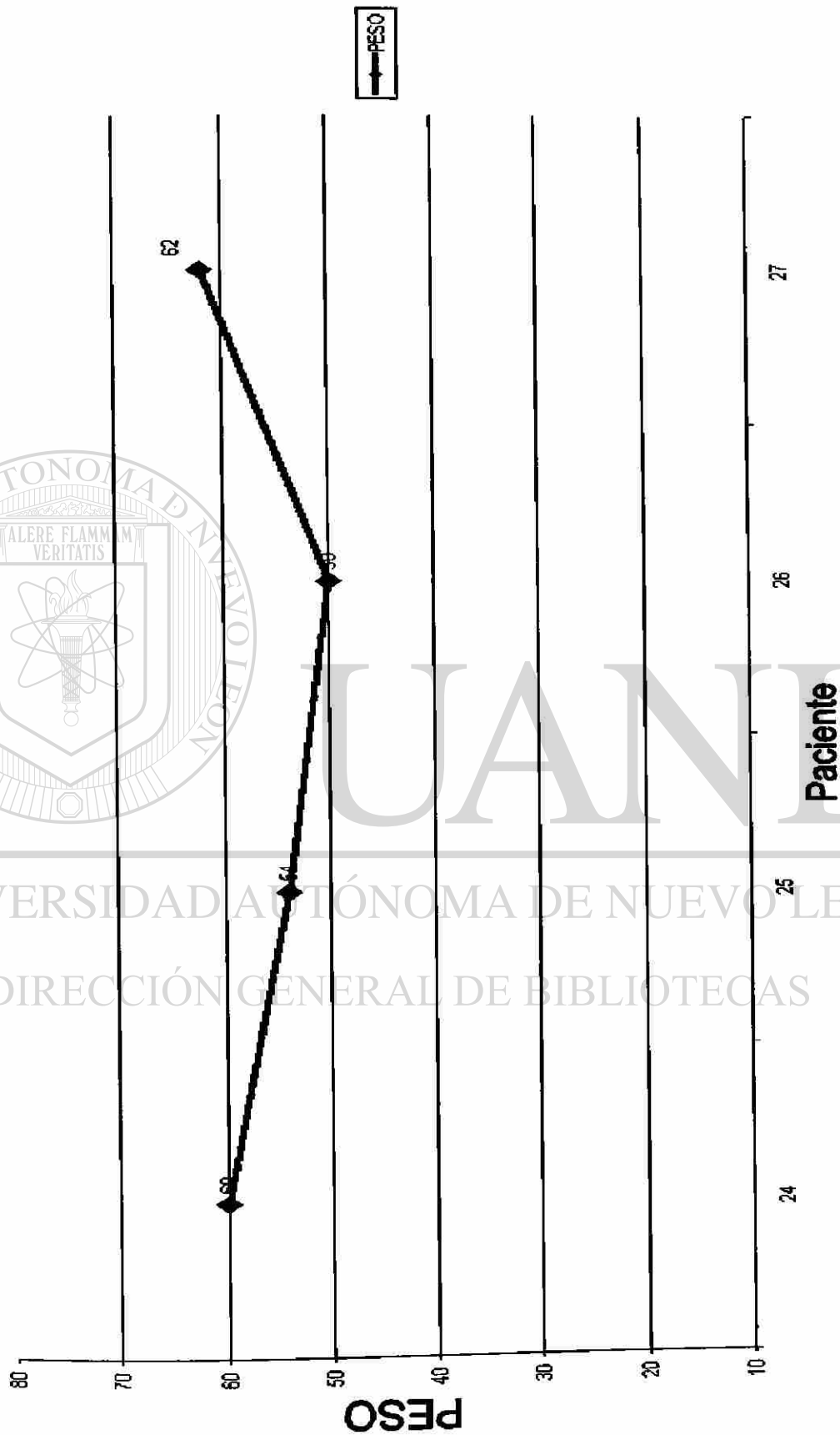
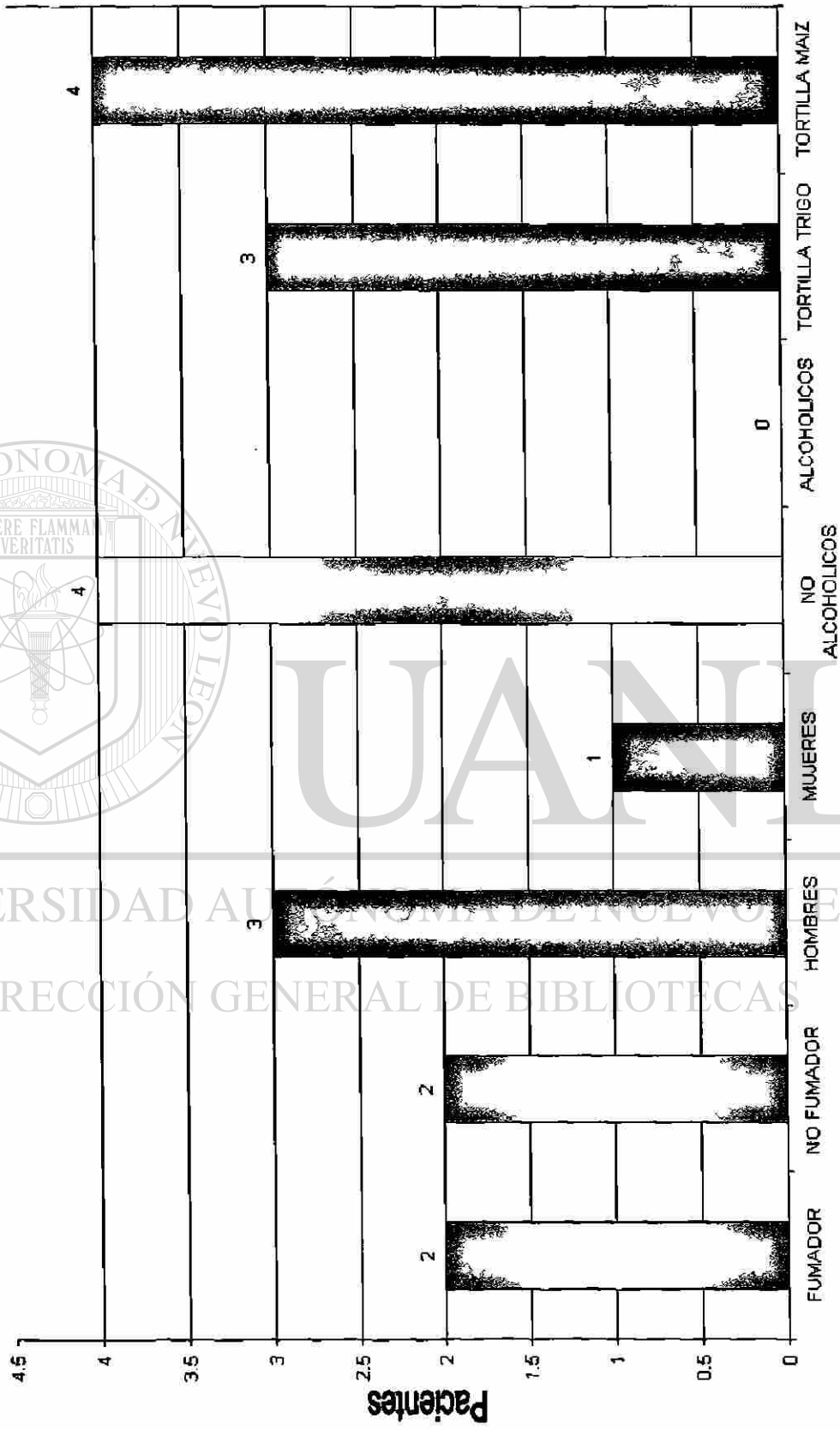


Tabla 24.- Clasificación de Pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a varios parametros. 2001



**Consumo de Alcohol:**

De los datos obtenidos se observa que el total de los pacientes no consumen bebidas alcohólicas; es de considerar que el alcohol esta contraindicado con este tipo de patología. Tabla 24.

**Consumo de tortilla de maíz y de tortilla de trigo:**

Se encontró que los pacientes con cirrosis hepática consumen de los 2 tipos de tortilla pero con mayor preferencia hacia la tortilla de maíz. Tabla 24.

**Ocupación:**

La ocupación de los pacientes con esta patología es muy variada como se puede observar. Tabla 25.

**Tabla 25.- Clasificación de Pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a la ocupación. 2001**

CHOFER	1
HOGAR	1
ESTUDIANTE	1
PEPENADOR	1

### Lugar de Origen:

A este respecto se encontró que los 4 pacientes son del Estado de Tamaulipas; de los cuales 3 son nativos de la ciudad de H. Matamoros y 1 de la Capital del Estado. Tabla 26.

**Tabla 26.- Clasificación de Pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo al lugar de origen. 2001**

CD VICTORIA	1
MATAMOROS	3

### Años de residencia en H. Matamoros:

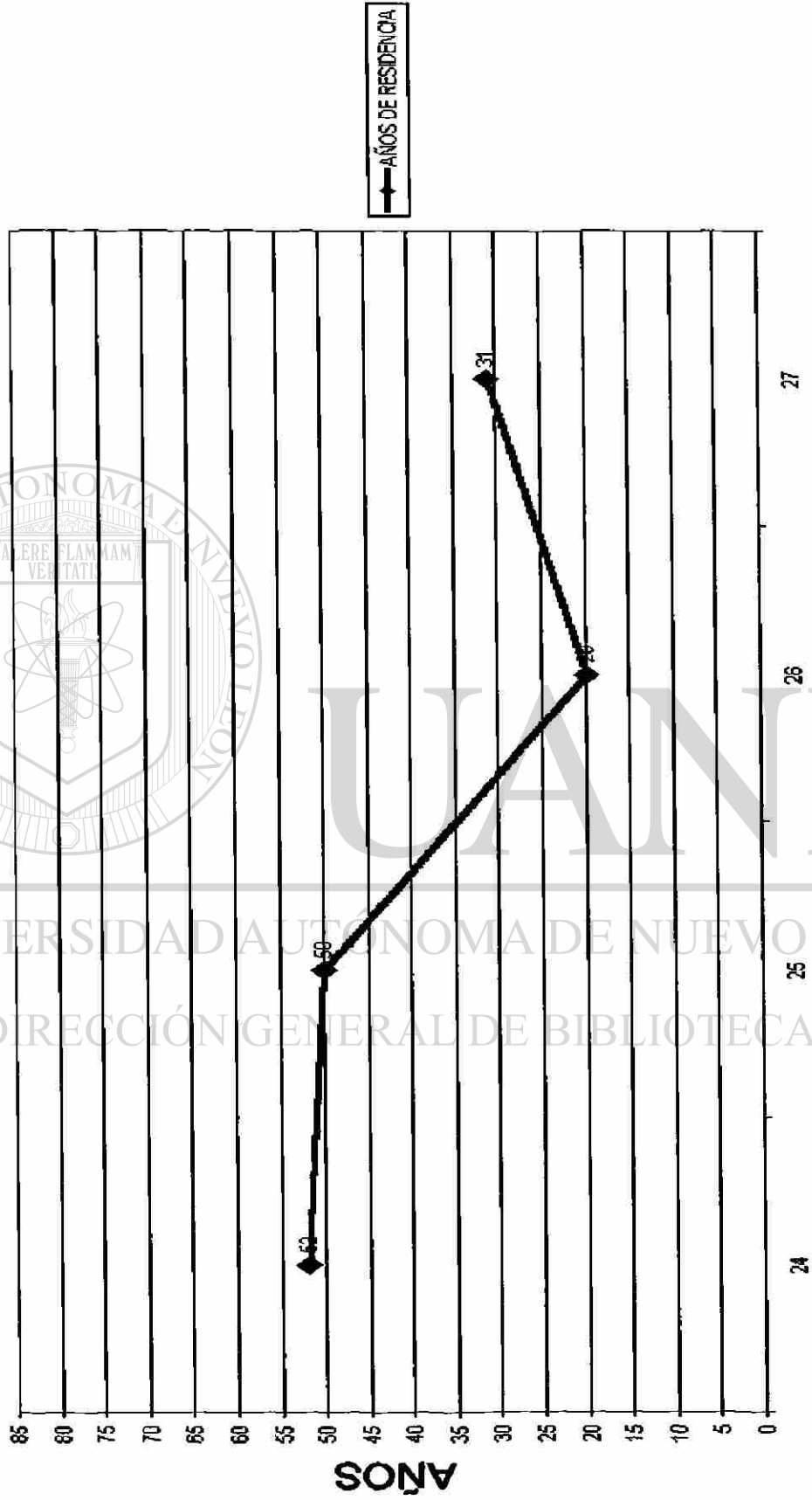
Los pacientes con cirrosis hepática tienen desde 20 a 56 años de vivir en H.

Matamoros; 3 de ellos (24, 26 y 27) son nacidos en esta ciudad. Tabla 27.

### Nivel socio económico:

3 de los pacientes son de clase media y 1 de clase baja. Tabla 28.

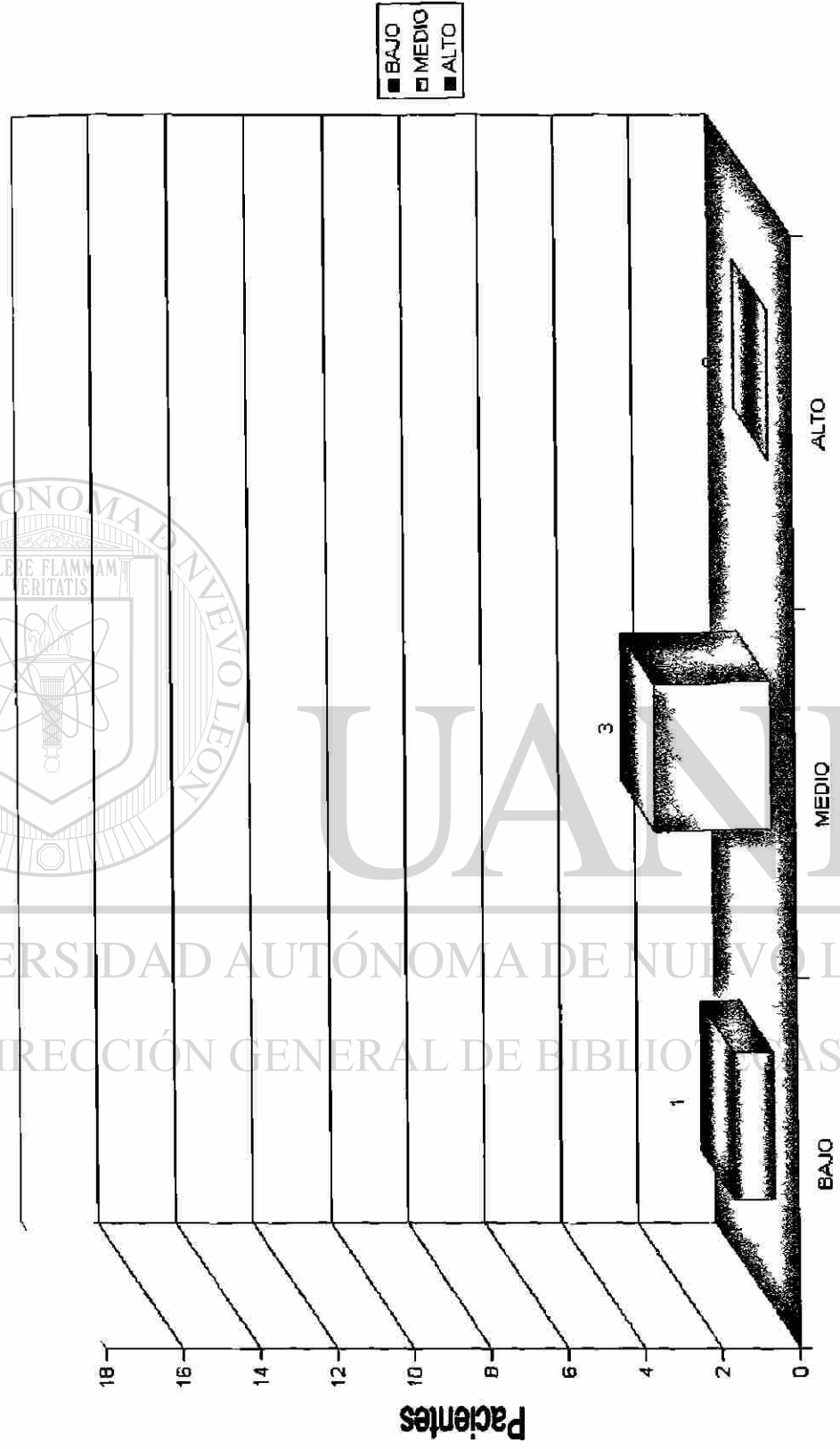
Tabla 27.- Clasificación de Pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001



Paciente



Tabla 28.- Clasificación de Pacientes con Cirrosis Hepática de acuerdo al nivel socio económico. 2001



## PACIENTES CON CÁNCER

### **Edad:**

La presencia de cáncer se hace más evidente en los pacientes comprendidos entre 43 - 57 años; el resto está distribuido de una manera amplia entre 65 - 73 años. Tabla 29.

### **Peso:**

La mayor cantidad de pacientes con cáncer están comprendidos entre los 60 - 75 Kg. (7 de 8) y con una medida aritmética de 72 Kg. Tabla 30.

### **Tabaquismo:**

A este respecto 7 de 8 pacientes son no fumadores; considerando que solo 1 paciente es de cáncer pulmonar. Tabla 31.

### **Sexo:**

Se observa de una proporción de un 50% en hombres y 50% en mujeres. Tabla 31.

Tabla 29. - Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a la edad. 2001

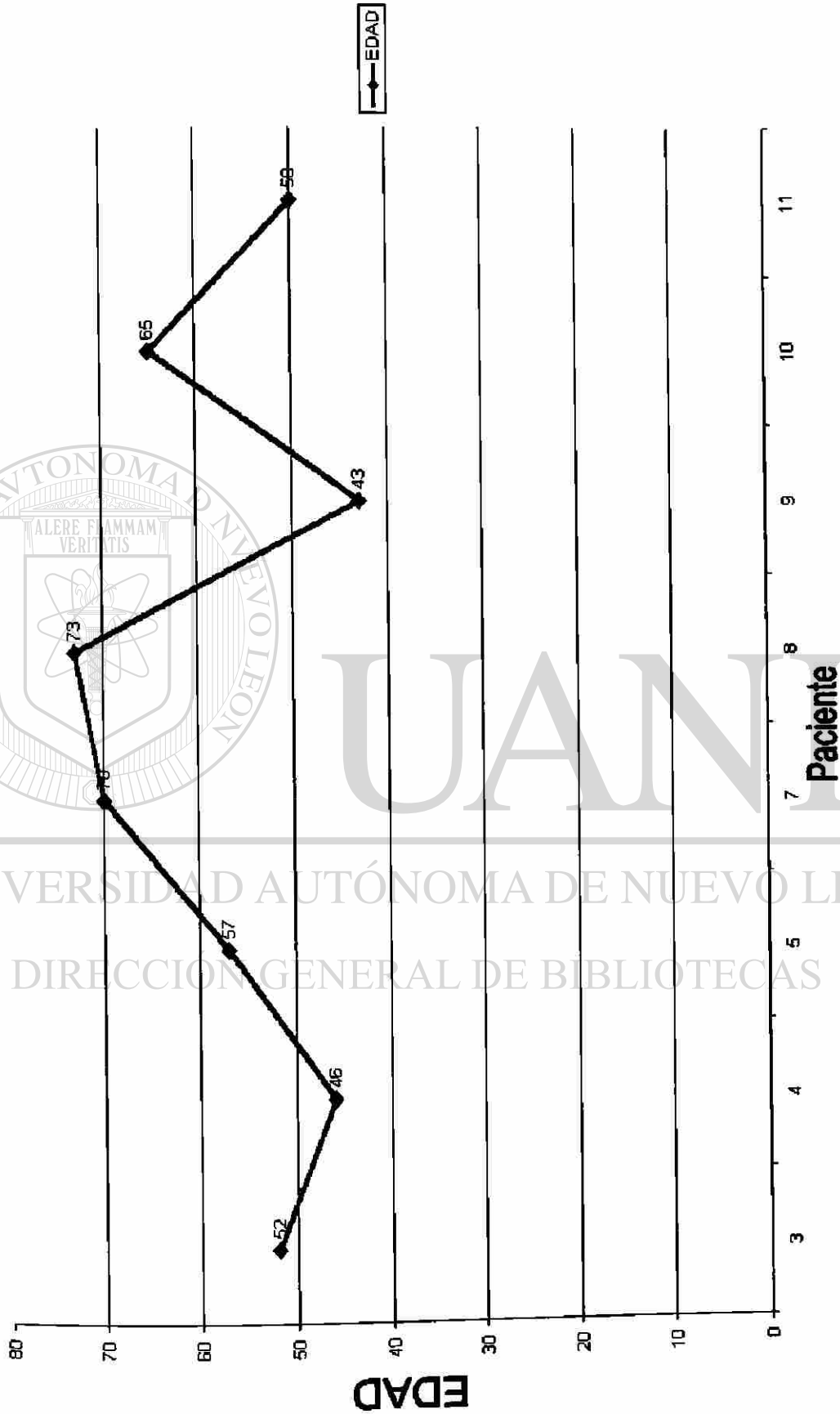


Tabla 30.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo al peso. 2001

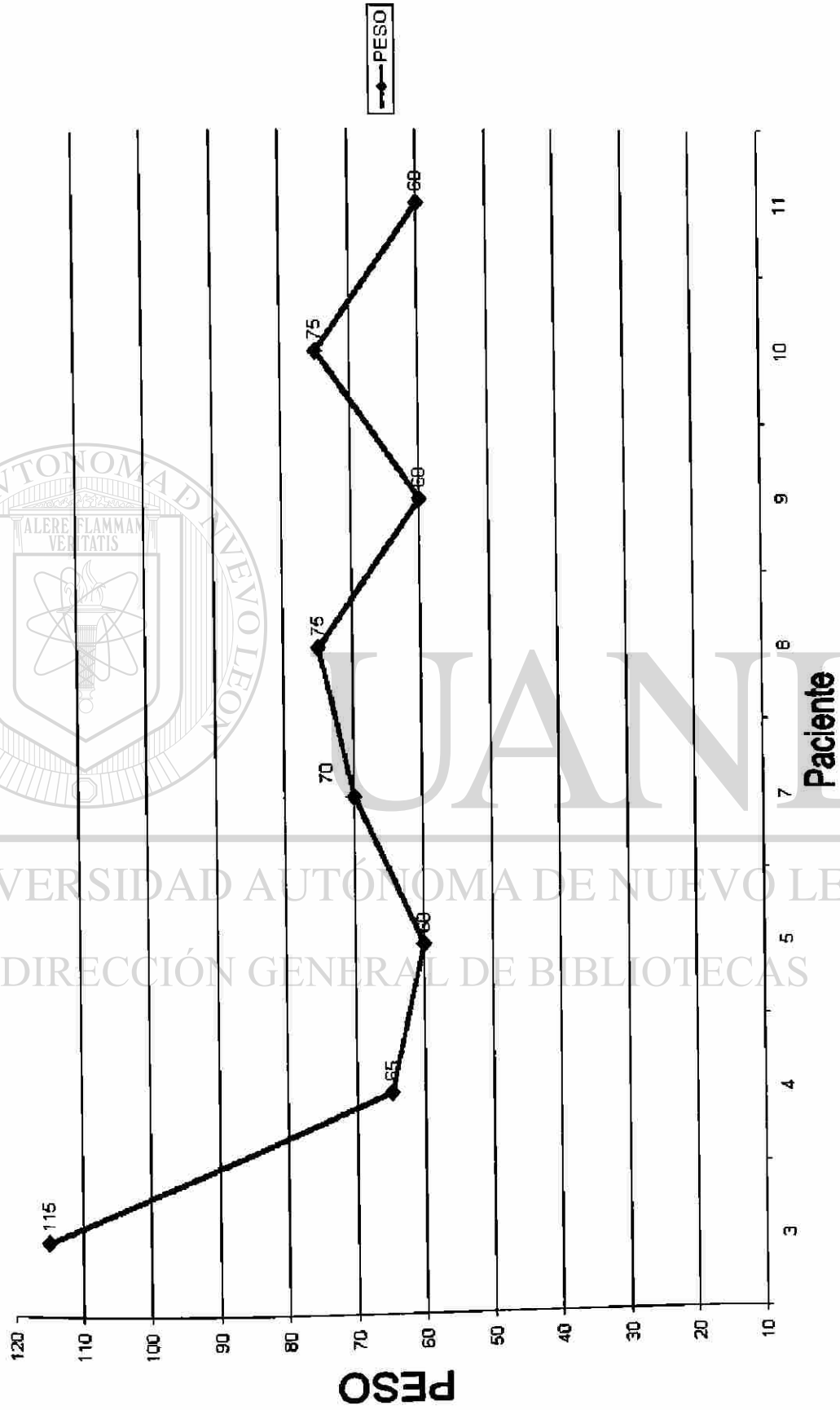
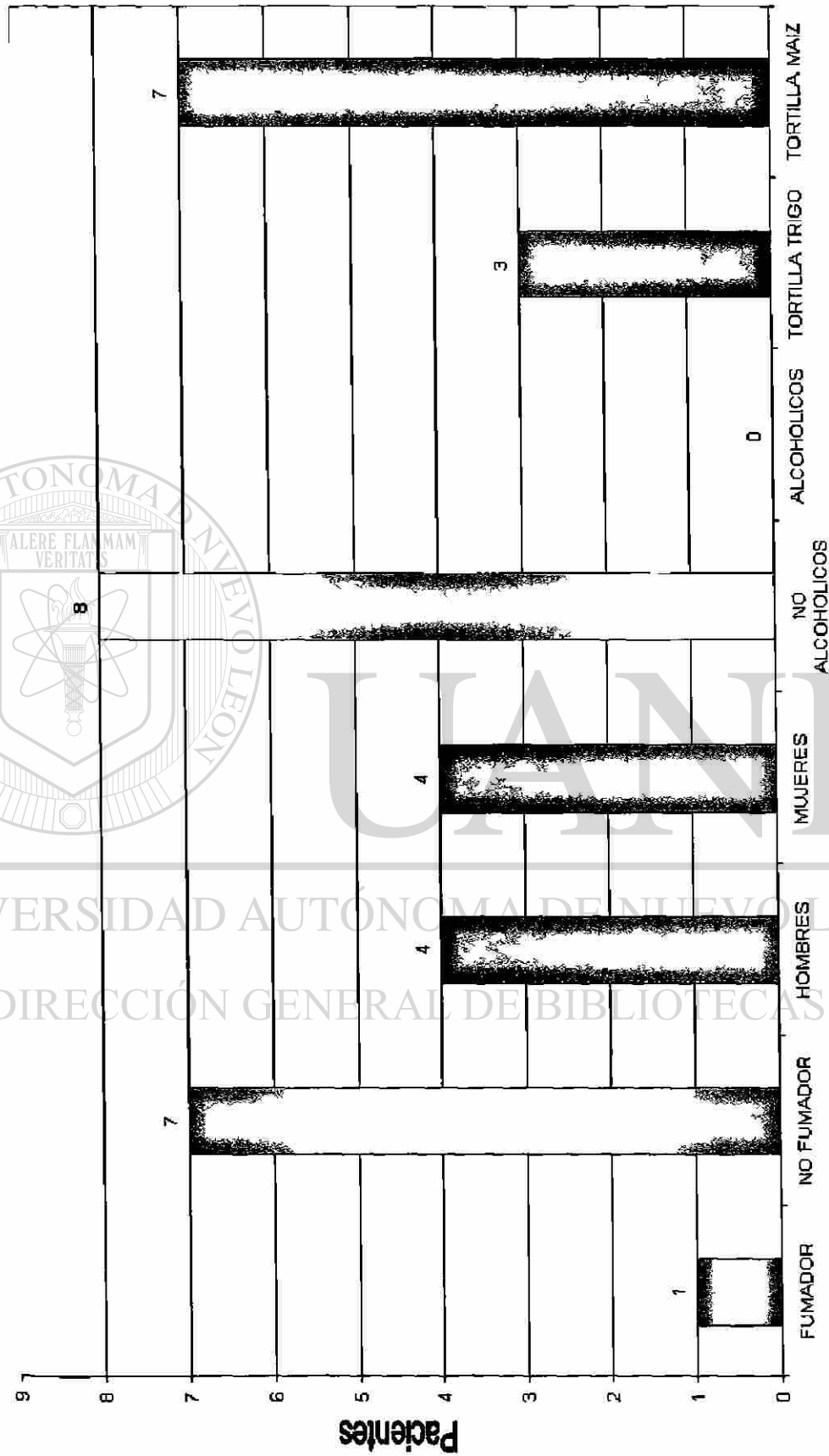


Tabla 31.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a varios parametros. 2001



### Consumo de Alcohol:

De los pacientes con cáncer ninguno consume bebidas alcohólicas.

Tabla 31.

### Consumo de Tortillas de maíz y tortillas de trigo:

En este grupo de pacientes se observa que se consume de ambos tipos de tortillas pero con mayor preferencia por la tortilla de maíz. Tabla 31.

### Ocupación:

Con el antecedente de la proporción de 50 a 50 de los casos de cáncer respecto al sexo, este resultado nos indica que 4 pacientes se dedican al hogar y los demás son de ocupaciones diversas. Tabla 32.

**Tabla 32.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a la ocupación. 2001**

HOGAR	4
AGRICULTOR	1
CONSEJERO	1
COMERCIANTE	1
MEDICO	1

**Lugar de Origen:**

Los pacientes con cáncer en su mayor parte son nativos de la Ciudad de H. Matamoros (6); de los restante 1 es de la vecina ciudad de Brownsville, Tx; y otro de San Luis Potosí. Tabla 33.

**Tabla 33.- Clasificación de Pacientes con Cancer de acuerdo al lugar de origen. 2001**

H. MATAMOROS, TAMPAS.	6
BROWNSVILLE, TX	1
SAN LUIS POTOSI	1

**Años de residencia en H. Matamoros.**

A este respecto 6 de 8 tienen de 40 a 57 de vivir en esta ciudad. Tabla 34.

**Nivel socio económico:**

Se encontró que el cáncer prácticamente tiene una distribución uniforme entre los distintos estratos económicos. Tabla 35.

Tabla 34.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001

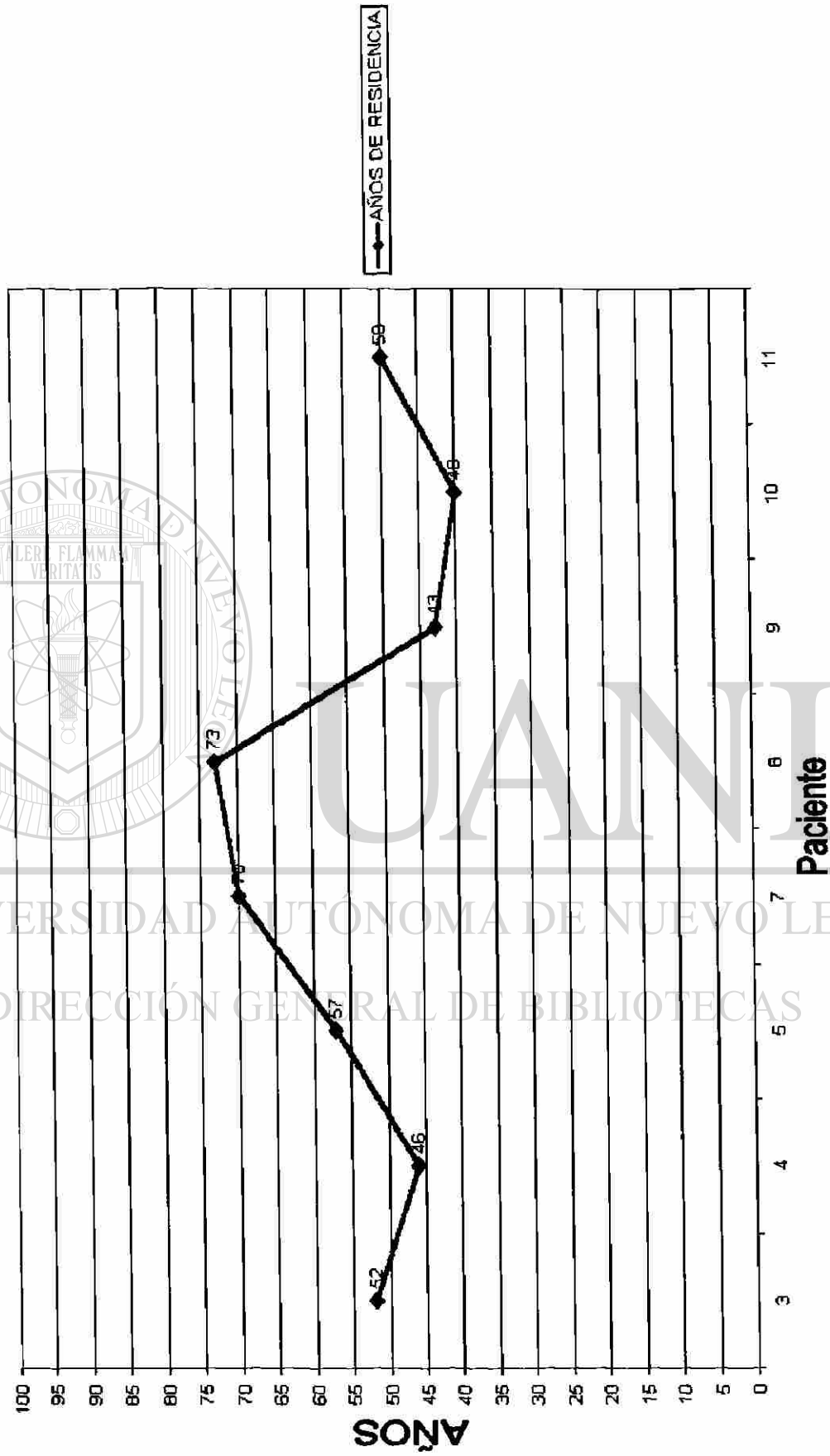
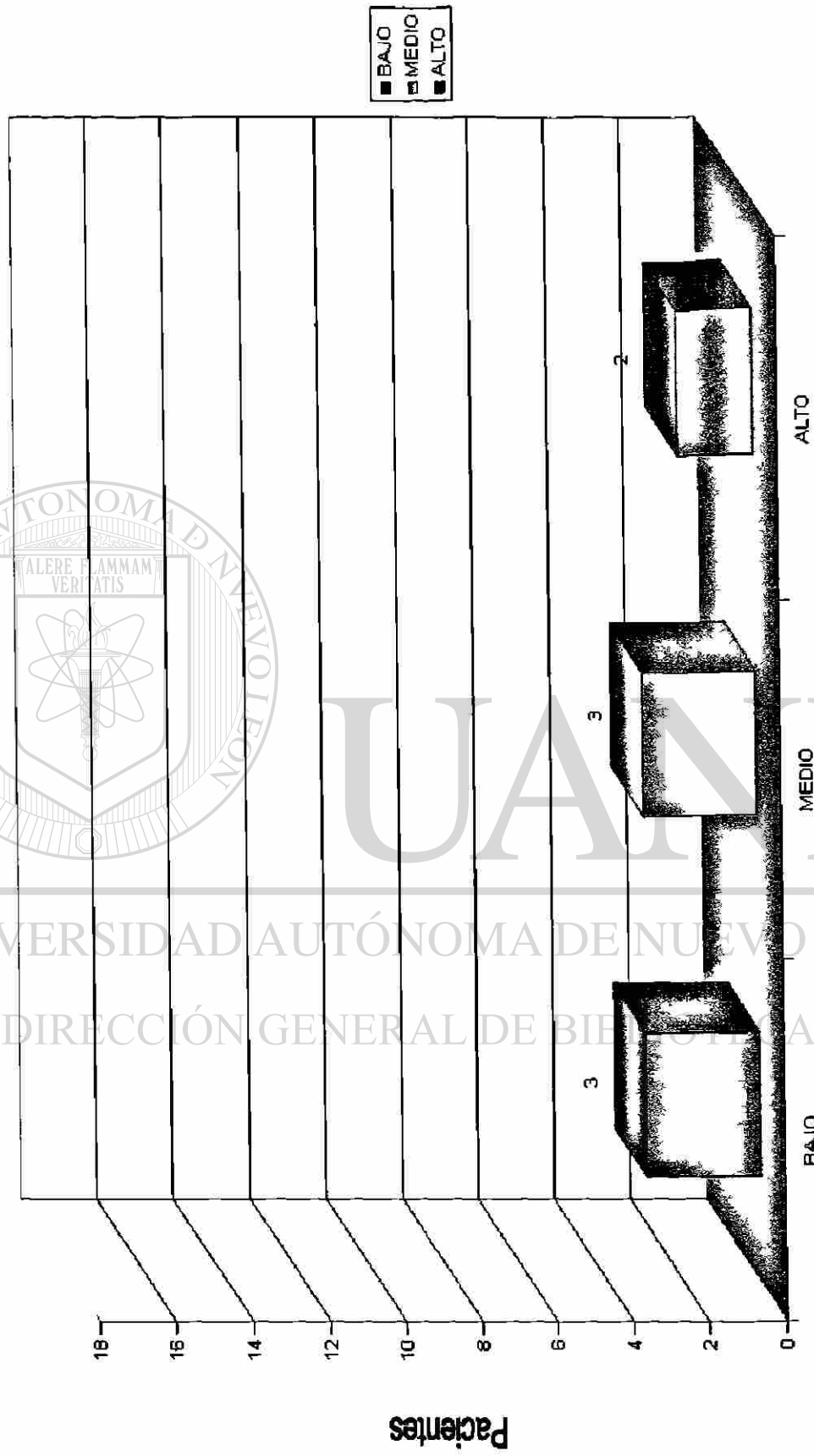




Tabla 35.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo al nivel socio económico. 2001



### **Tipos de Cáncer:**

Según el tipo de cáncer el mayor número de casos están entre los de mama y los de laringe en una proporción de 3:3 del total de ocho. Tabla 36.

## **PACIENTES CON HEPATITIS**

De este grupo de pacientes 7 presentaron HBV y 4 presentaron HCV.

### **Edad:**

De este grupo de pacientes se encontró que el promedio está entre los 18 y 40 años (8 de 11); llama la atención un caso a la edad de 79. Tabla 37.

### **Peso:**

Los pacientes con hepatitis tienen un promedio de edad de 60 a 74 Kg, (10 de 11), con excepción de uno que peso 120 Kg. Tabla 38.

### **Tabaquismo:**

De los pacientes con hepatitis solamente 1 se encontró como fumador. Tabla 39.

Tabla 36.- Clasificación de Pacientes según tipo de Cáncer. 2001

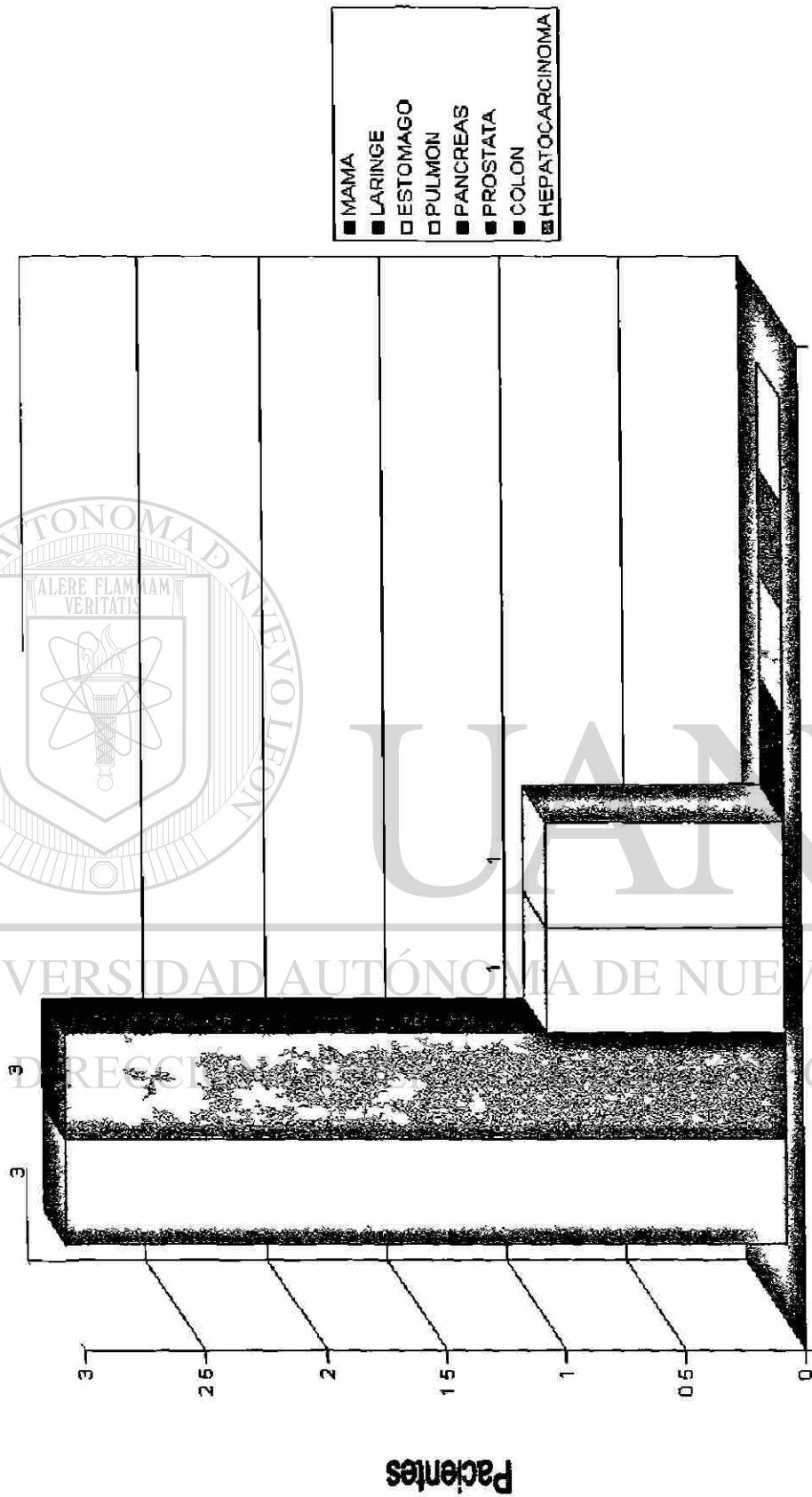


Tabla 37.- Clasificación de Pacientes con Hepatitis de acuerdo a la edad. 2001

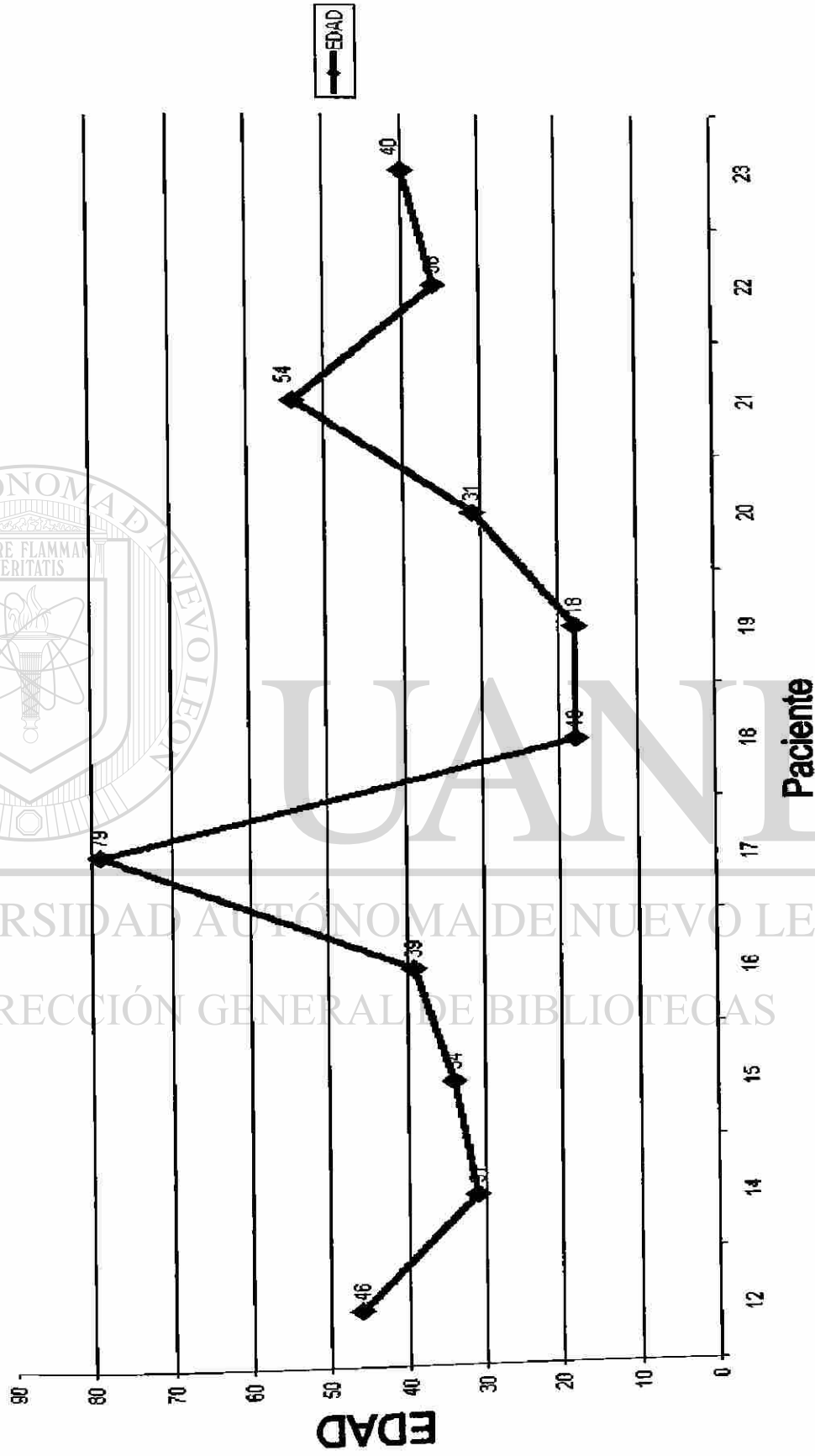


Tabla 38.- Clasificación de Pacientes con Hepatitis de acuerdo al peso. 2001

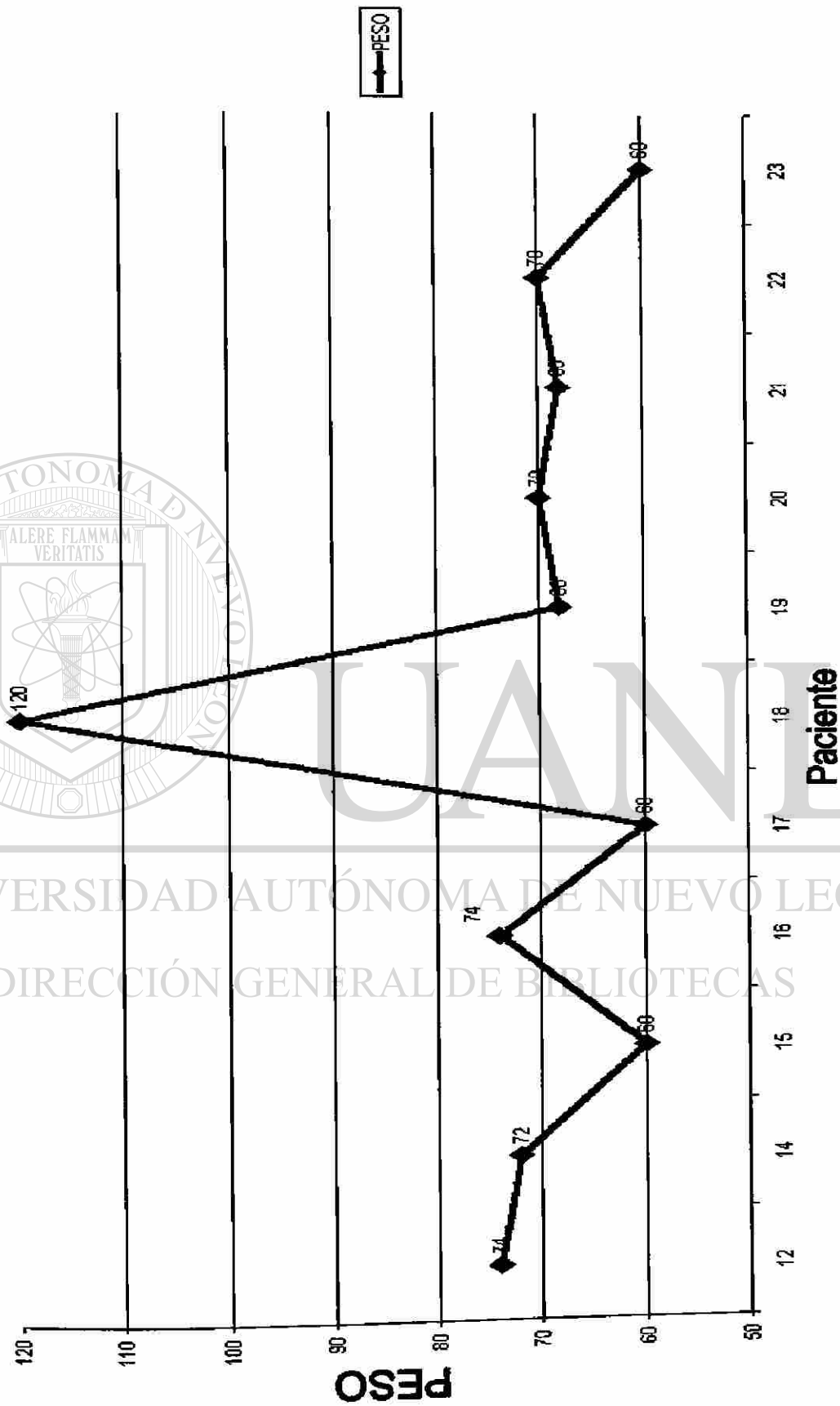
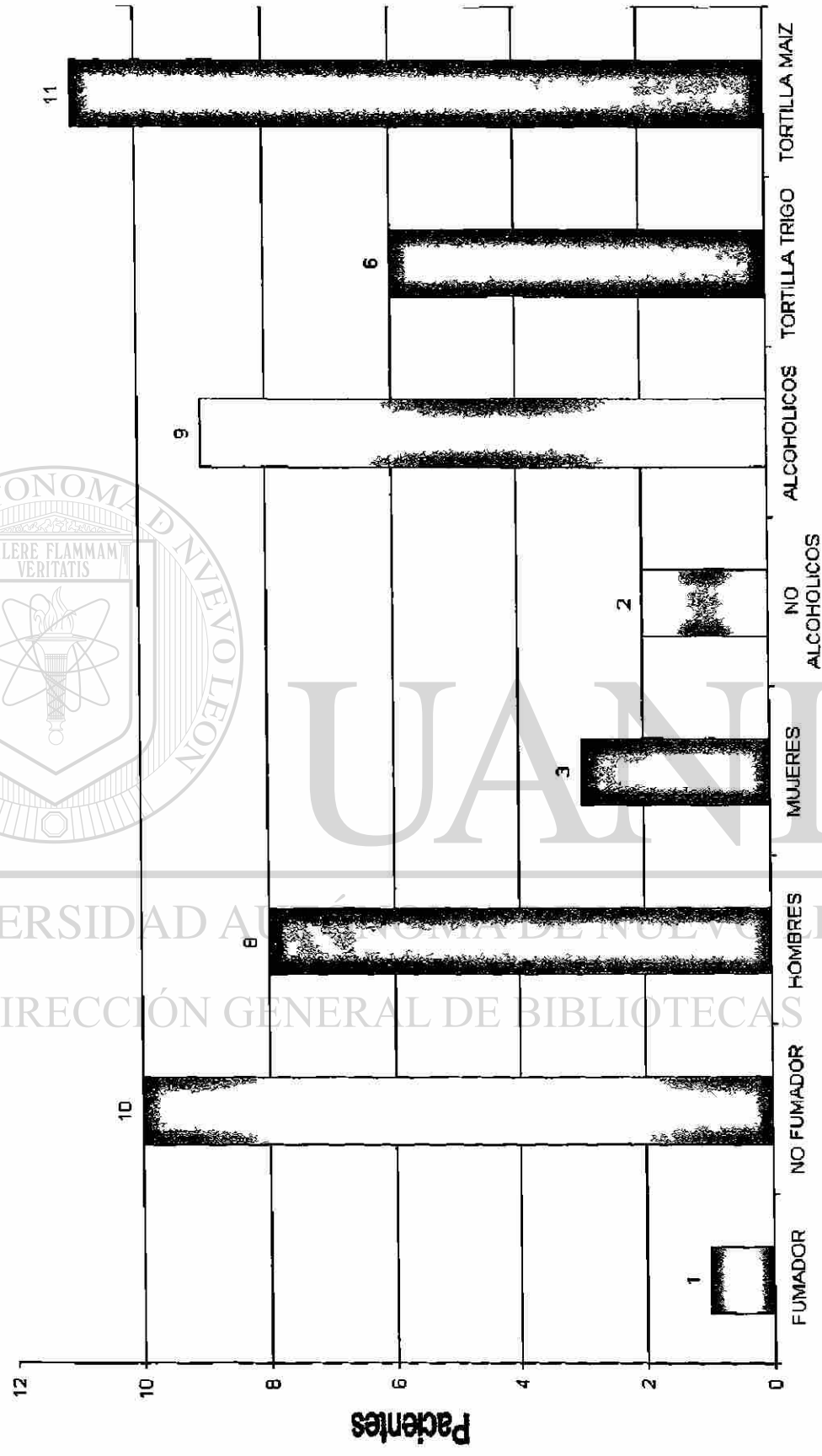


Tabla 39.- Clasificación de Pacientes con Hepatitis de acuerdo a varios parametros. 2001



**Sexo:**

A este respecto 8 pacientes con hepatitis fueron del sexo masculino y 3 del femenino. Tabla 39.

**Consumo de Alcohol:**

Llama la atención que 9 de los 11 pacientes, teniendo un problema hepático tienen el hábito del alcohol. Tabla 39.

**Consumo de tortilla de harina y tortilla de maíz:**

Se encontró que estos pacientes consumen ambos tipos de tortilla; pero tienen una gran preferencia por las de maíz. Tabla 39.

**Ocupación:**

De acuerdo a este parámetro; los pacientes con hepatitis tienen ocupaciones muy diversas. Tabla 40.

**Lugar de Origen:**

La mayor parte de ellos, son originarios de H. Matamoros, Tamps. (6 de 11), el resto son de diversos lugares. Tabla 41.

**Tabla 40.- Clasificación de Pacientes con HEPATITIS de acuerdo a la ocupación. 2001**

JORNALERO	1
OBRERO	1
PANADERO	1
COMERCIANTE	1
QUIMICA	1
ESTUDIANTE	2
SECRETARIA	1
MEDICO	1
VENDEDOR AMBULANTE	1
EMPLEADO	1

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

**Tabla 41.- Clasificación de Pacientes con HEPATITIS de acuerdo al lugar de origen. 2001**

SAN FERNANDO, TAM	1
VERACRUZ	2
MATAMOROS	6
DF	1
CALIFORNIA	1



### **Años de residencia en H. Matamoros:**

Podemos observar que hay una diversidad muy grande a este respecto, desde 5 a 54 años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. Tabla 42.

### **Nivel socio económico:**

El mayor número de casos de hepatitis esta comprendido en la clase media (5 de 11); 4 en la clase baja y solo 2 en la clase alta. Tabla 43.

### **PACIENTES CLASIFICADOS COMO CONTROLES SANOS 2001**

Se consideraron 15 pacientes a los cuales se les verificó por exámenes de laboratorio y clínicamente que no presentaran ninguna de las patologías sujetas al presente estudio. Se trata de individuos que son habitantes de la Cd. H. Matamoros, que llevan una vida normal igual que los pacientes que se han presentado previamente con patologías.

### **Edad:**

Como se puede observar hay una variación grande en la edad de los controles con un promedio entre los 30 - 50 años. Tabla 44.

Tabla 42.- Clasificación de Pacientes con Hepatitis de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001

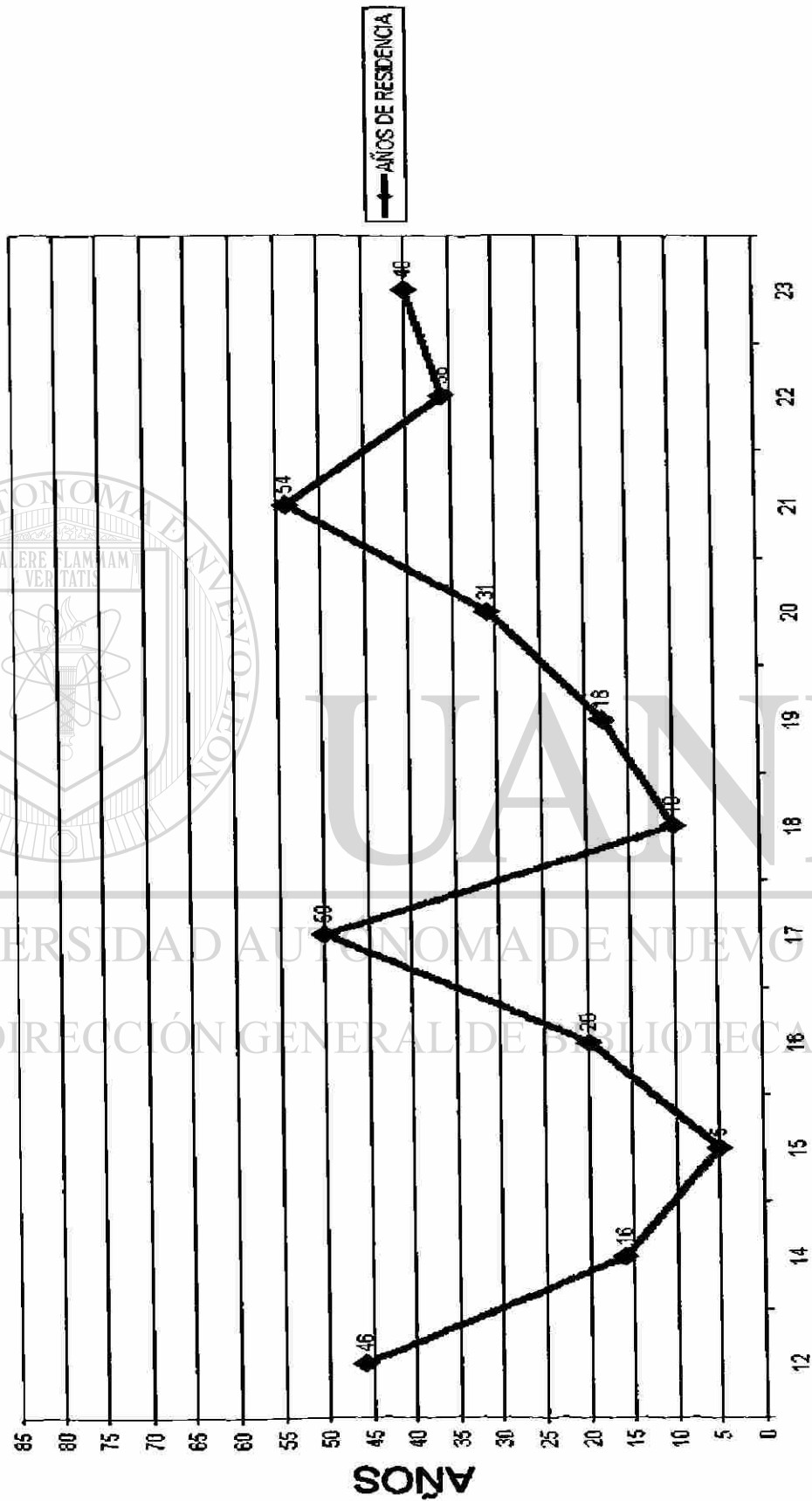


Tabla 43.- Clasificación de Pacientes con Hepatitis de acuerdo al nivel socio económico. 2001

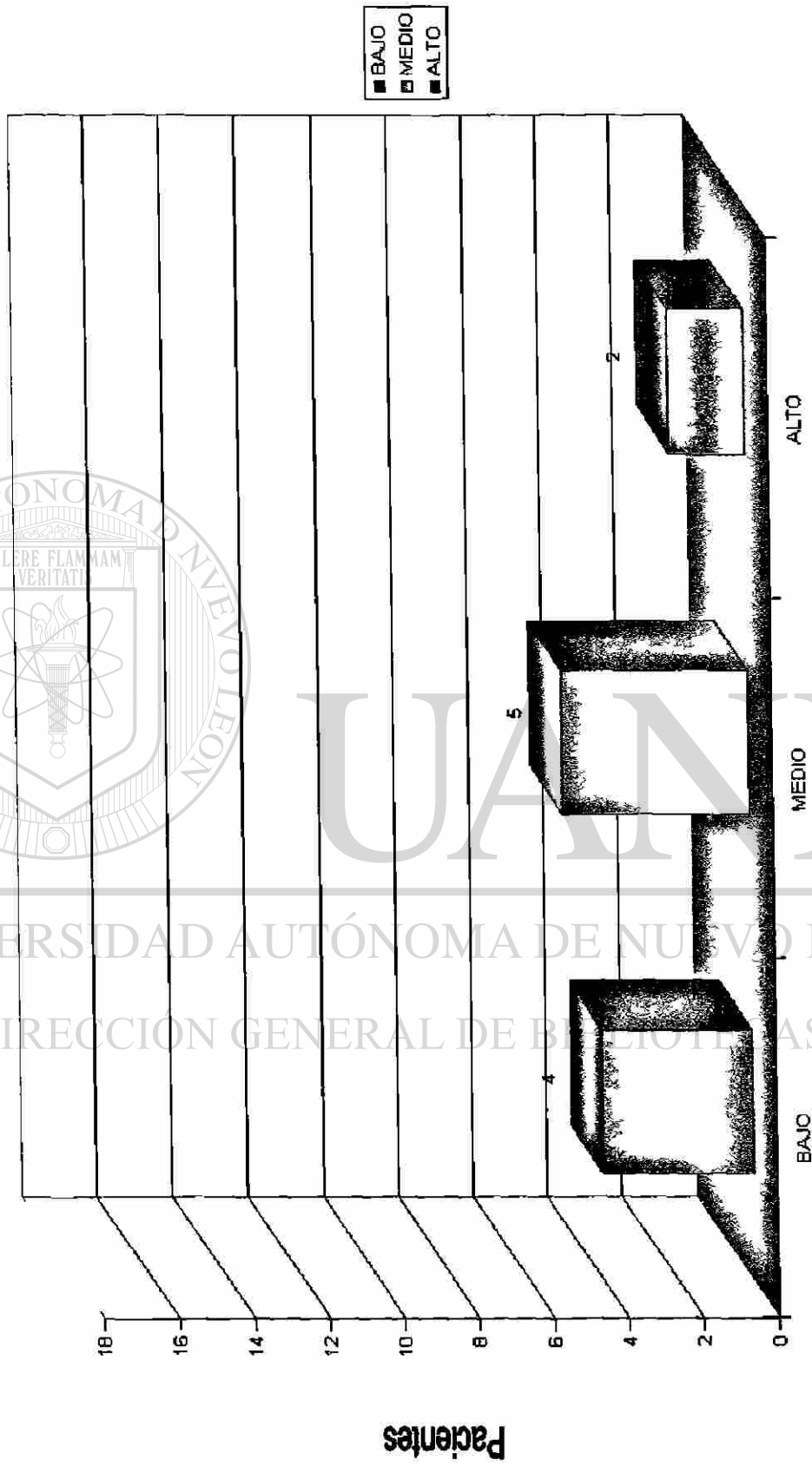
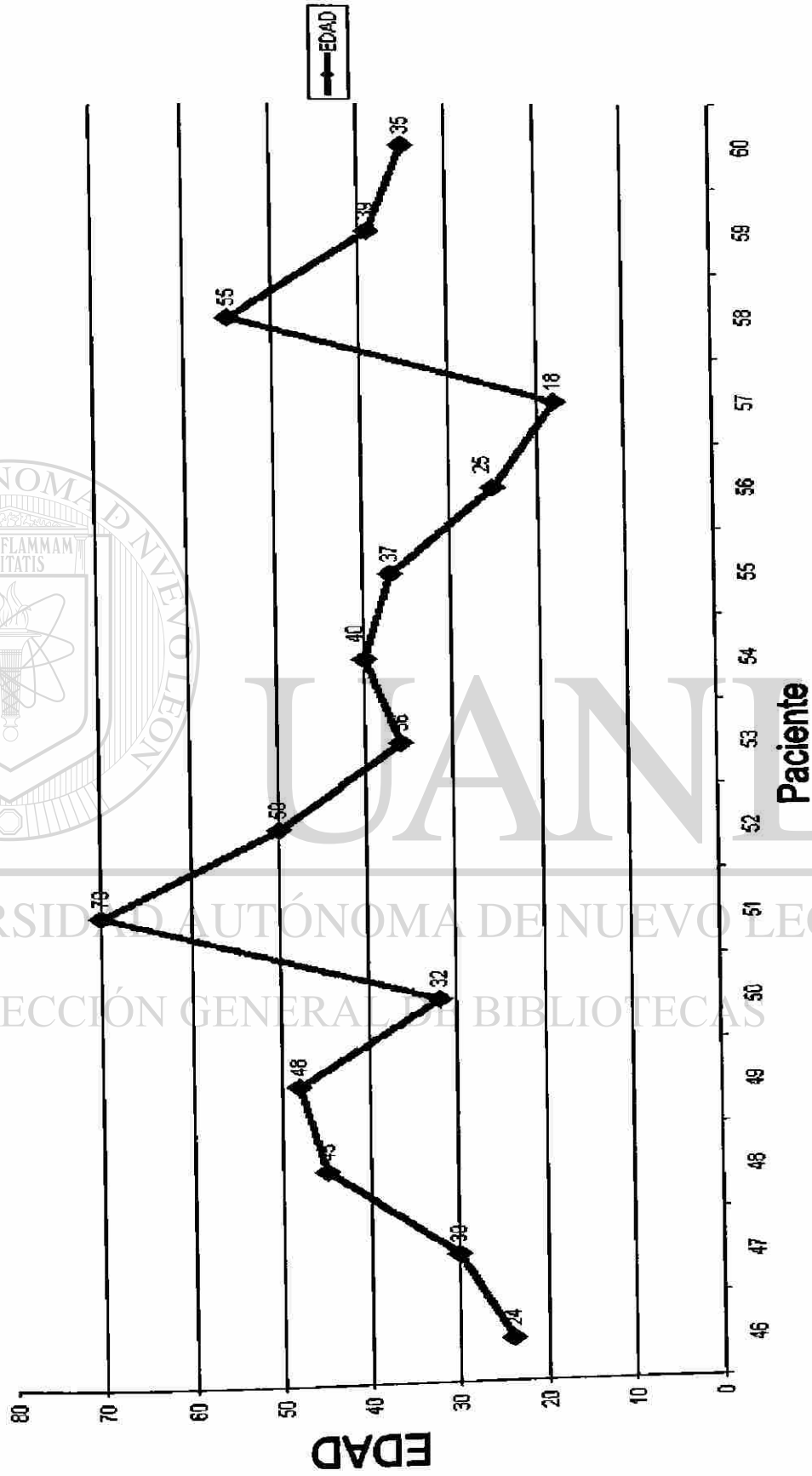


Tabla 44.- Pacientes Clasificados como Controles Sanos de acuerdo a la edad. 2001



**Peso:**

Respecto a este parámetro se encontró que el paciente control con menor peso fue de 50 Kg. y el de mayor peso fue de 85 Kg., con un promedio entre 59 - 83 Kg. Tabla 45.

**Tabaquismo:**

Se aprecia que como son pacientes sanos en muchos de ellos existe el habito de fumar (6 de 15). Tabla 46.

**Sexo:**

De este grupo doce pacientes corresponden a hombres y solamente tres son mujeres. Tabla 46.

**Consumo de alcohol:**

De estos pacientes solamente uno consume alcohol. Tabla 46.

**Consumo de tortilla de maíz y tortilla de harina:**

En este grupo consumen ambos tipos de tortillas teniendo predilección por las de maíz. Tabla 46.

Tabla 45. - Pacientes Clasificados como Controles Sanos de acuerdo al peso. 2001

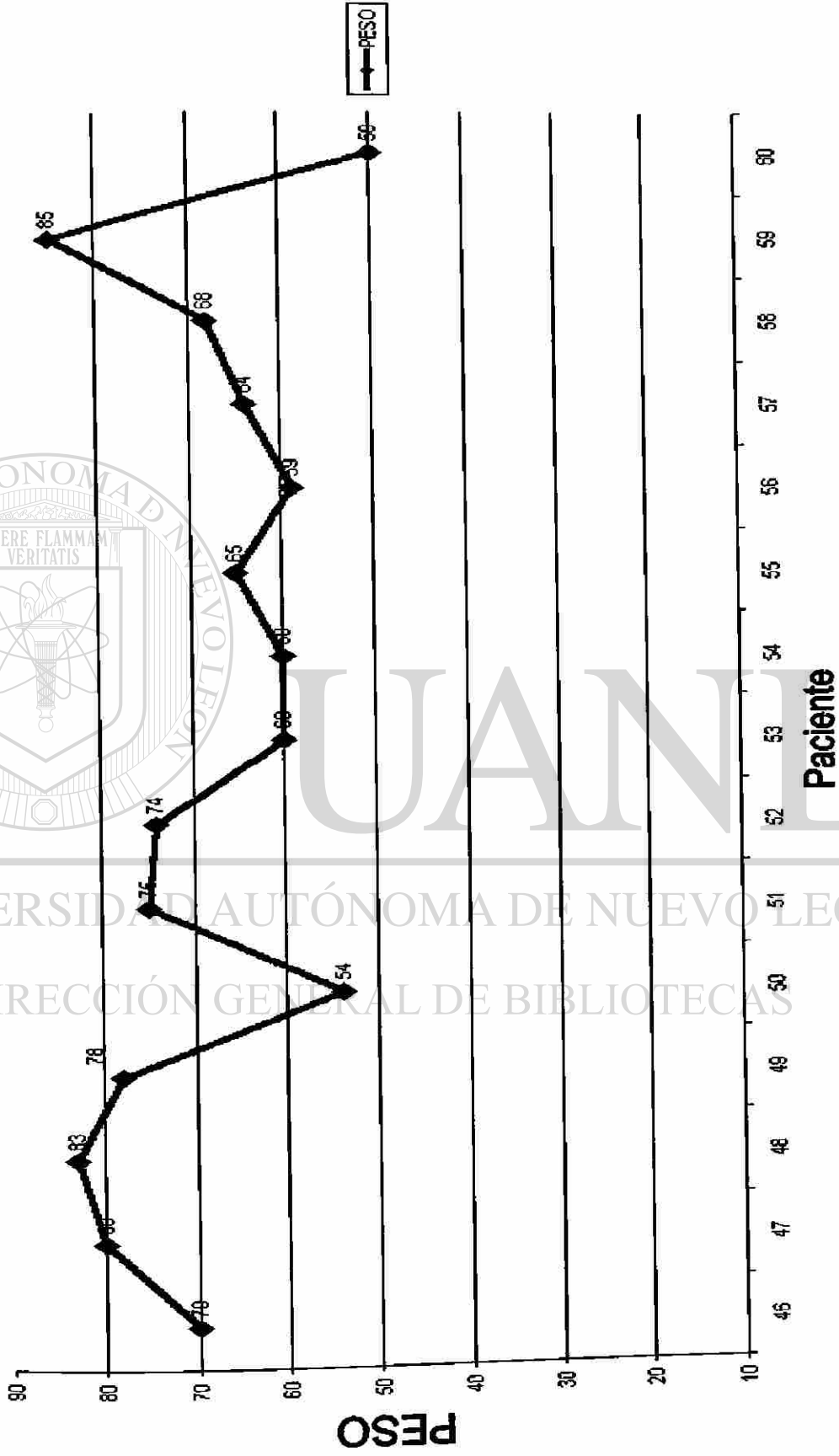
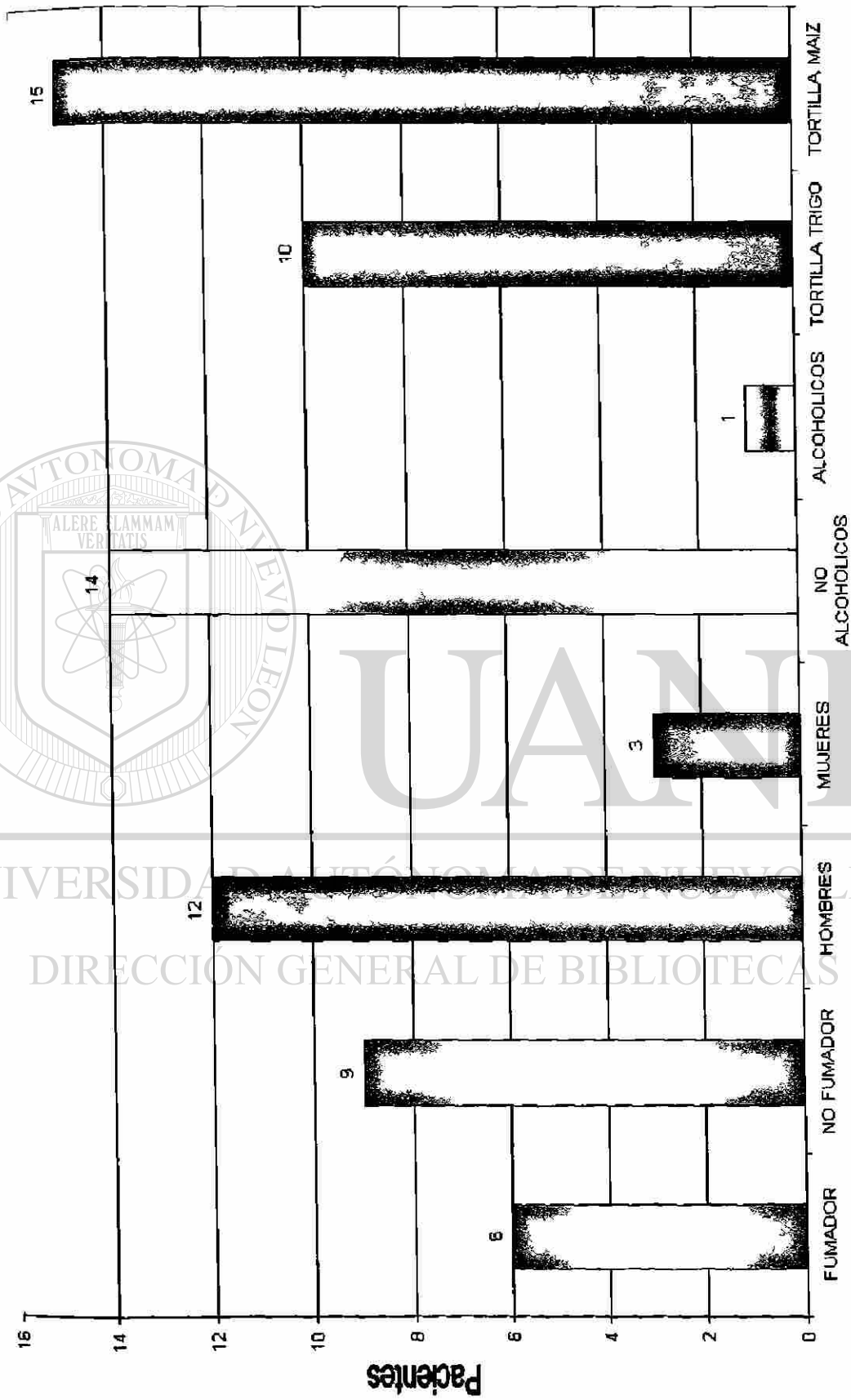


Tabla 46.- Pacientes Clasificados como Controlados Sanos de acuerdo a varios parametros. 2001



**Ocupación:**

Se puede apreciar que hay una diversificación muy grande respecto a la ocupación de los pacientes, solo 4 están en el hogar dato que es útil para el presente estudio. Tabla 47.

**Tabla 47.- Pacientes Clasificados como Controles Sanos de acuerdo a la ocupación. 2001**

ALBAÑIL	1
OBRERO	1
ESTUDIANTE	1
EMPLEADO	2
CHOFER	1
HOGAR	4
VENDEDOR AMBULANTE	1
JORNALERO	1
DESEMPLEADO	1
INGENIERO	1



**Lugar de origen:**

Es de apreciar que 8 pacientes son originarios de H. Matamoros y el resto provienen de otras partes del Estado y del País. Tabla 48.

**Tabla 48.- Pacientes Clasificados como Controles Sanos de acuerdo al lugar de origen. 2001**

MATAMOROS	8
VERACRUZ	2
SAN LUIS POTOSI	1
TULA TAMPS	1
JAUMABE	1
REYNOSA	1

**Años de residencia en H. Matamoros:**

De estos controles el que menos tiempo tiene de residencia en la localidad son 19 años hasta un máximo de 55. Tabla 49.

**Nivel socio económico:**

El mayor numero de los controles del presente estudio se ubicaron en un nivel socioeconómico medio (7 de 15); 4 en la clase baja y 4 en la alta. Tabla 50.

Tabla 49.- Pacientes Clasificados como Controles Sanos de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2001

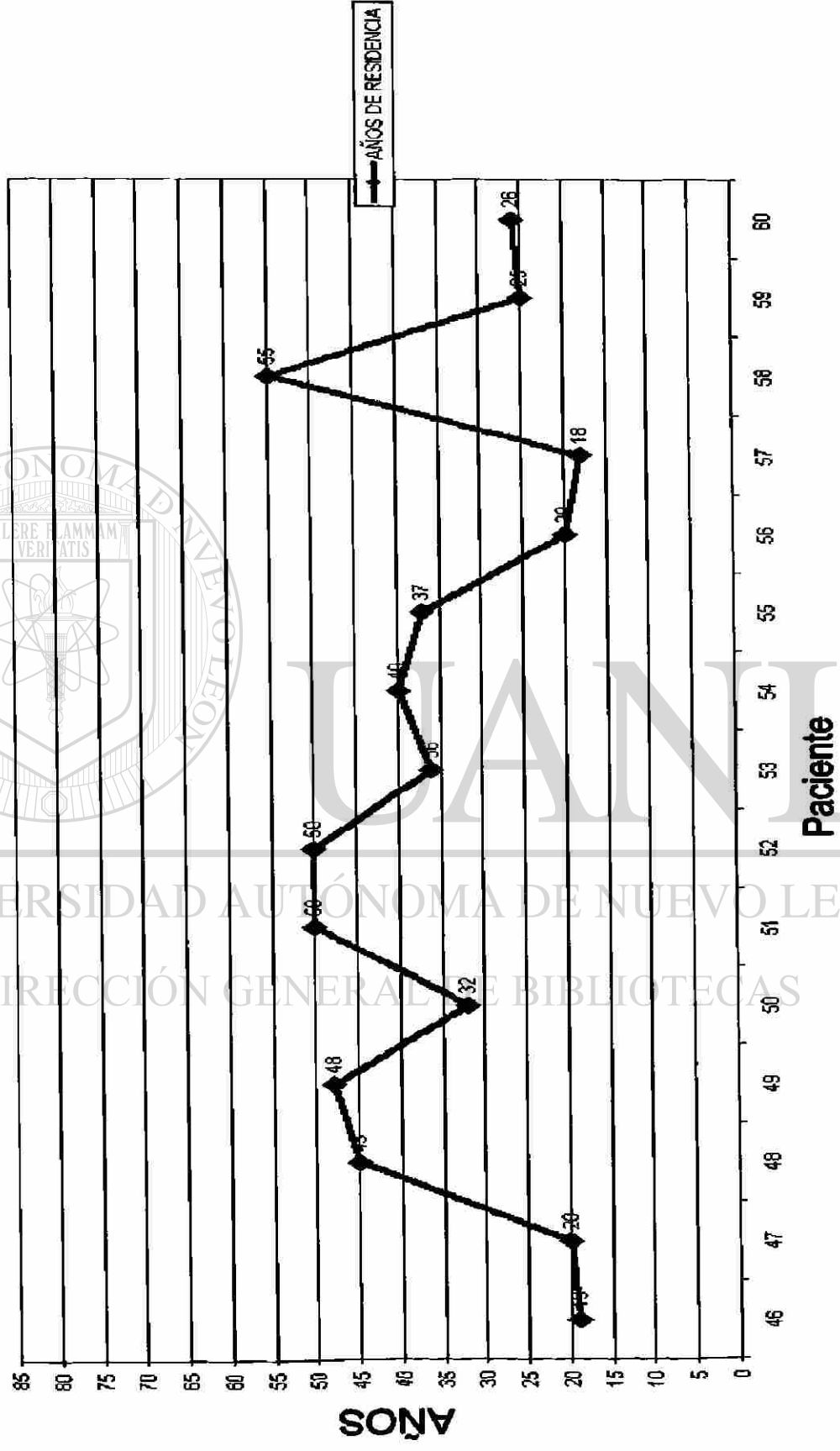
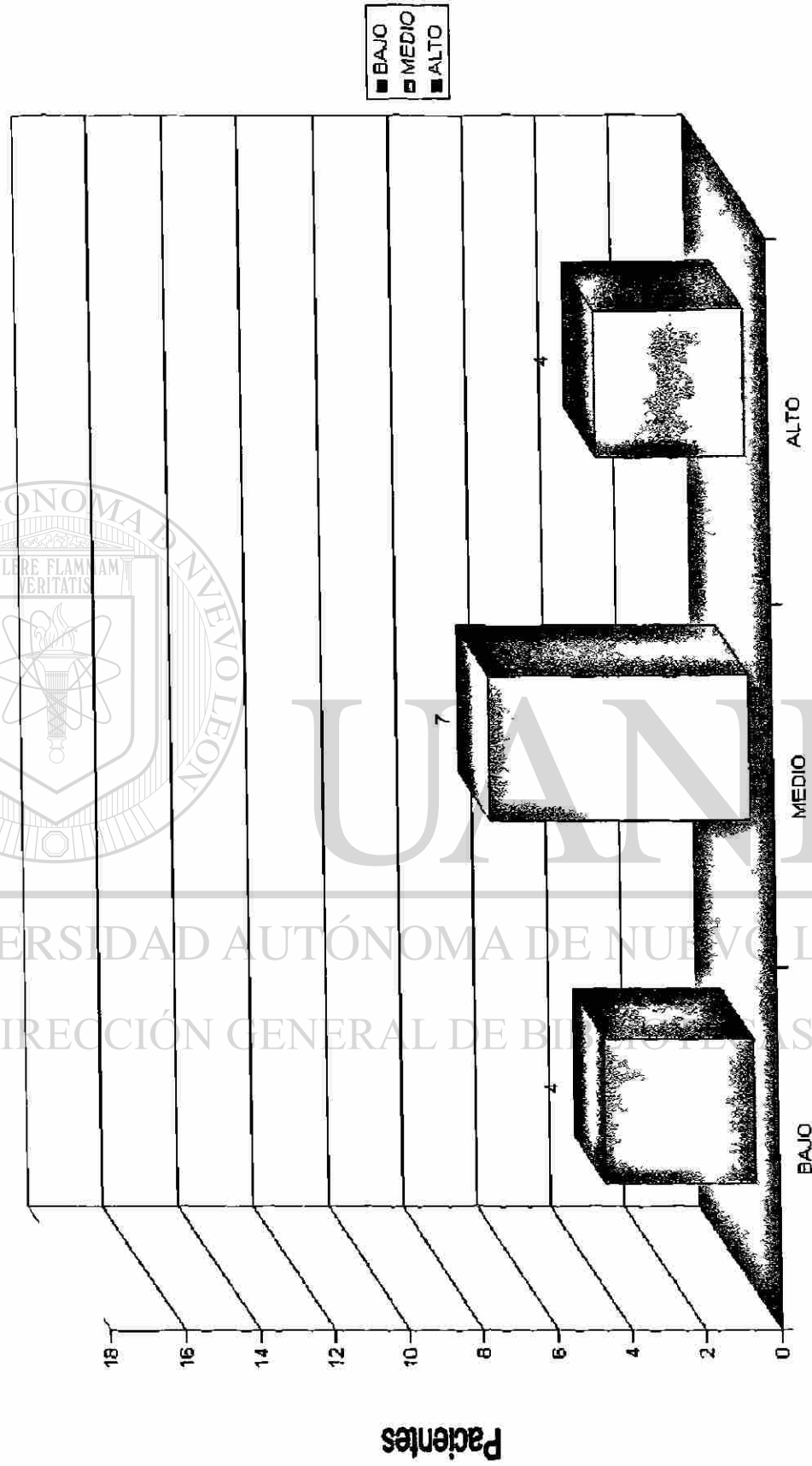


Tabla 50.- Pacientes Clasificados como Controles Sanos de acuerdo al nivel socio económico. 2001



## PACIENTES 2002 (SEGUNDO MUESTREO).

Se analizaron 28 sueros de pacientes con diferentes patologías, en el año 2002; de la población de H. Matamoros, Tamaulipas, México.

Se obtuvo la información general de los pacientes según la ficha de identificación personal, datos que fueron concentrados en la tabla 51.

Tabla 51.- Concentración de datos de pacientes. (2° Muestreo 2002).

TIPO CANCER	EDAD	PESO	FUMA	SEXO	ALCOHOL	T TRIGO	T MAIZ	DROGO R	DROGO SENS	OCCUPACION	L ORIGEN	AÑOS RESIDE H. MAT	NIVEL SOCIAL
<b>SEGUNDO MUESTREO 2002</b>													
<b>CANCER</b>													
1 OPRISIS HEPATICA	81	68	NO	M	NO	SI	SI	-	-	DESEMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	81	AÑOS BAJO
2 OPRISIS HEPATICA	49	52	NO	F	NO	NO	SI	-	-	HOGAR	MONTERREY NL	30	AÑOS MEDIO
3 MAMA	52	115	NO	F	NO	NO	NO	-	-	EMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	52	AÑOS MEDIO
41 CARINF	66	80	NO	M	NO	SI	SI	-	-	DESEMPLEADO	H.MATAMOROS TAMP	66	AÑOS BAJO
5 GASTRICO	58	85	NO	M	NO	SI	SI	-	-	COMERCIANTE	SAN FERNANDO TAMP	40	AÑOS ALTO
6 GASTRICO	70	73	NO	M	NO	SI	SI	-	-	MEDICO	H.MATAMOROS TAMP	70	AÑOS ALTO
7 LAPINDE	80	79	NO	M	NO	NO	SI	-	-	DESEMPLEADO	UNAFES NL	6	AÑOS BAJO
8 LAPINDE	49	89	SI	M	NO	NO	SI	-	-	OPERADOR	H.MATAMOROS TAMP	49	AÑOS MEDIO
9 MAMA	26	74	SI	F	NO	SI	SI	-	-	CONSTRUCTOR	TAMPICO TAMP	10	AÑOS ALTO
10 MAMA	64	54	NO	F	NO	SI	SI	-	-	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	64	AÑOS MEDIO
11 PANCREAS	32	42	NO	F	NO	SI	SI	-	-	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	32	AÑOS BAJO
12 GASTRICO	60	89	NO	M	NO	SI	SI	-	-	CHOFER	VERACRUZ	15	AÑOS BAJO
13 MAMA	30	71	NO	F	NO	SI	SI	-	-	HOGAR	COMILA	6	AÑOS BAJO
14 MAMA	80	83	NO	F	SI	NO	SI	-	-	HOGAR	PIO BRAVO TAMP	15	AÑOS MEDIO
15 PANCREAS	54	83	NO	F	NO	NO	SI	-	-	HOGAR	MONTERREY NL	25	AÑOS BAJO
16 MAMA	41	45	SI	F	NO	SI	SI	-	-	COCINERA	H.MATAMOROS TAMP	41	AÑOS BAJO
17 MAMA	46	48	SI	F	SI	SI	SI	-	-	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	46	AÑOS MEDIO
18 MAMA	35	65	NO	F	NO	SI	SI	-	-	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	35	AÑOS MEDIO
19 MAMA	30	59	NO	F	NO	NO	SI	-	-	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	30	AÑOS MEDIO
20 MAMA	36	88	NO	F	NO	SI	SI	-	-	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	36	AÑOS MEDIO
21 MAMA	50	54	NO	F	NO	NO	SI	-	-	VEND AMB	CD VICTORIA TAMP	40	AÑOS BAJO
22 MAMA	41	48	NO	F	NO	SI	SI	-	-	HOGAR	H.MATAMOROS TAMP	41	AÑOS MEDIO
23 MAMA	72	55	NO	F	NO	SI	SI	-	-	HOGAR	VERACRUZ	50	AÑOS BAJO
24 PANCREAS	33	68	NO	F	NO	SI	SI	-	-	DEBERA	H.MATAMOROS TAMP	33	AÑOS BAJO
25 MAMA	51	74	NO	F	NO	SI	SI	-	-	CONTADOR	H.MATAMOROS TAMP	51	AÑOS ALTO
26 MAMA	38	72	NO	F	NO	NO	SI	-	-	DEBERA	VERACRUZ	20	AÑOS BAJO
27 OPRISIS HEPATICA	66	83	NO	F	NO	NO	SI	-	-	INGENIERO	VERACRUZ	40	AÑOS MEDIO
28 OPRISIS HEPATICA	37	85	NO	F	NO	NO	SI	-	-	COMERCIANTE	SAN LUIS POTOSI	25	AÑOS MEDIO

Se procedió a graficar cada uno de los parámetros en función de la patología en estudio,

## **PACIENTES CON CANCER**

### **Tipos de Cáncer:**

Se recibieron un total de 28 pacientes para el presente estudio, fue el grupo mas numeroso y en este el mayor numero de casos fue el de CA de mama con 15 pacientes. Tabla 52.

### **Edad:**

Es mas común que el cáncer se presente a la edad avanzada pero aquí observamos que la mayor concentración de casos esta ubicada entre los 30 y 50 años. Tabla 53.

### **Peso:**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Todos los pacientes de este grupo fueron adultos; en gran parte de ellos el peso esta ubica entre 50 y 70 Kg. (13 de 28); llama la atención de un paciente que pesa 115 Kg. y otro de 42 Kg.. Tabla 54.

Tabla 52.- Clasificación de Pacientes según tipo de Cáncer. 2002

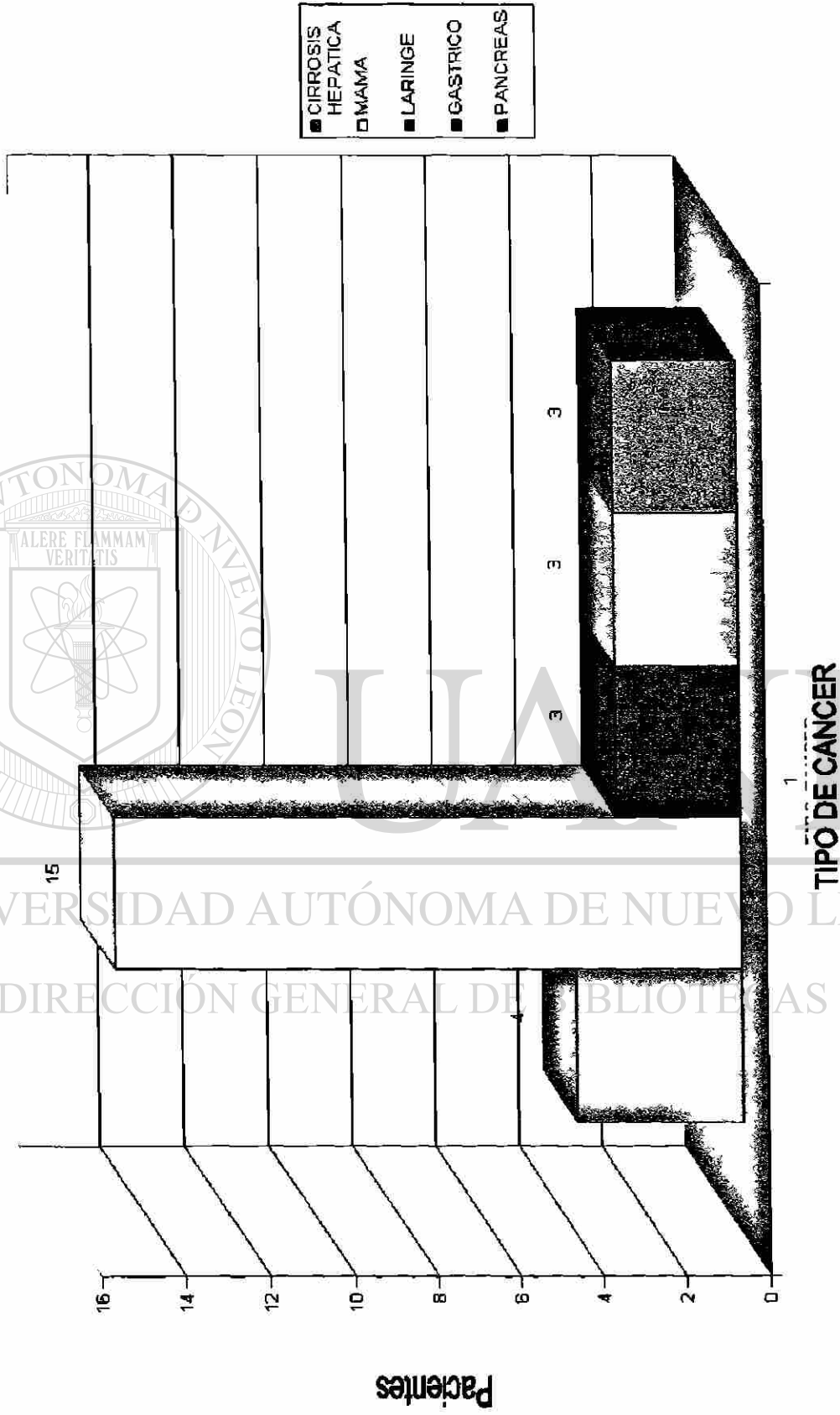


Tabla 53.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a la edad. 2002

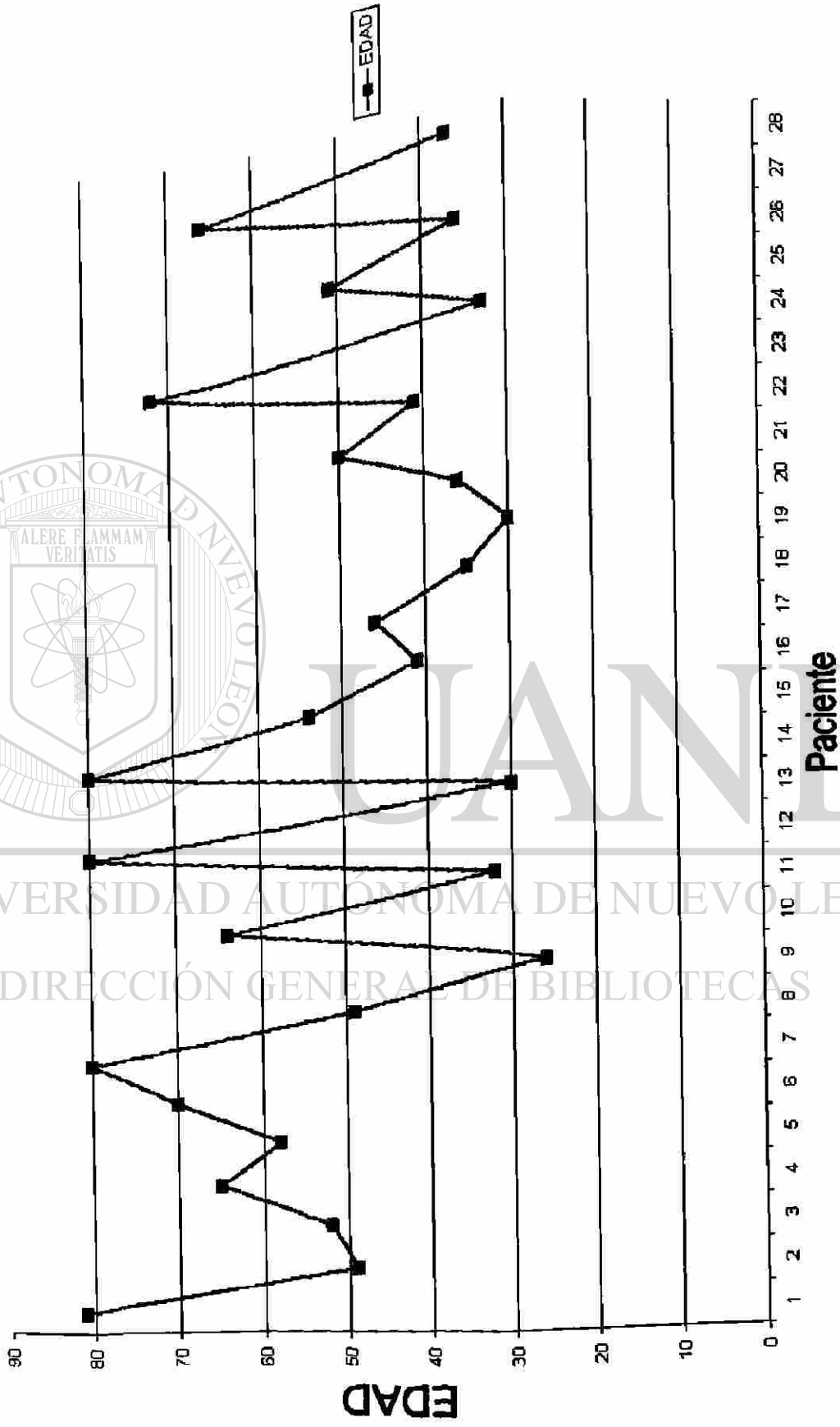
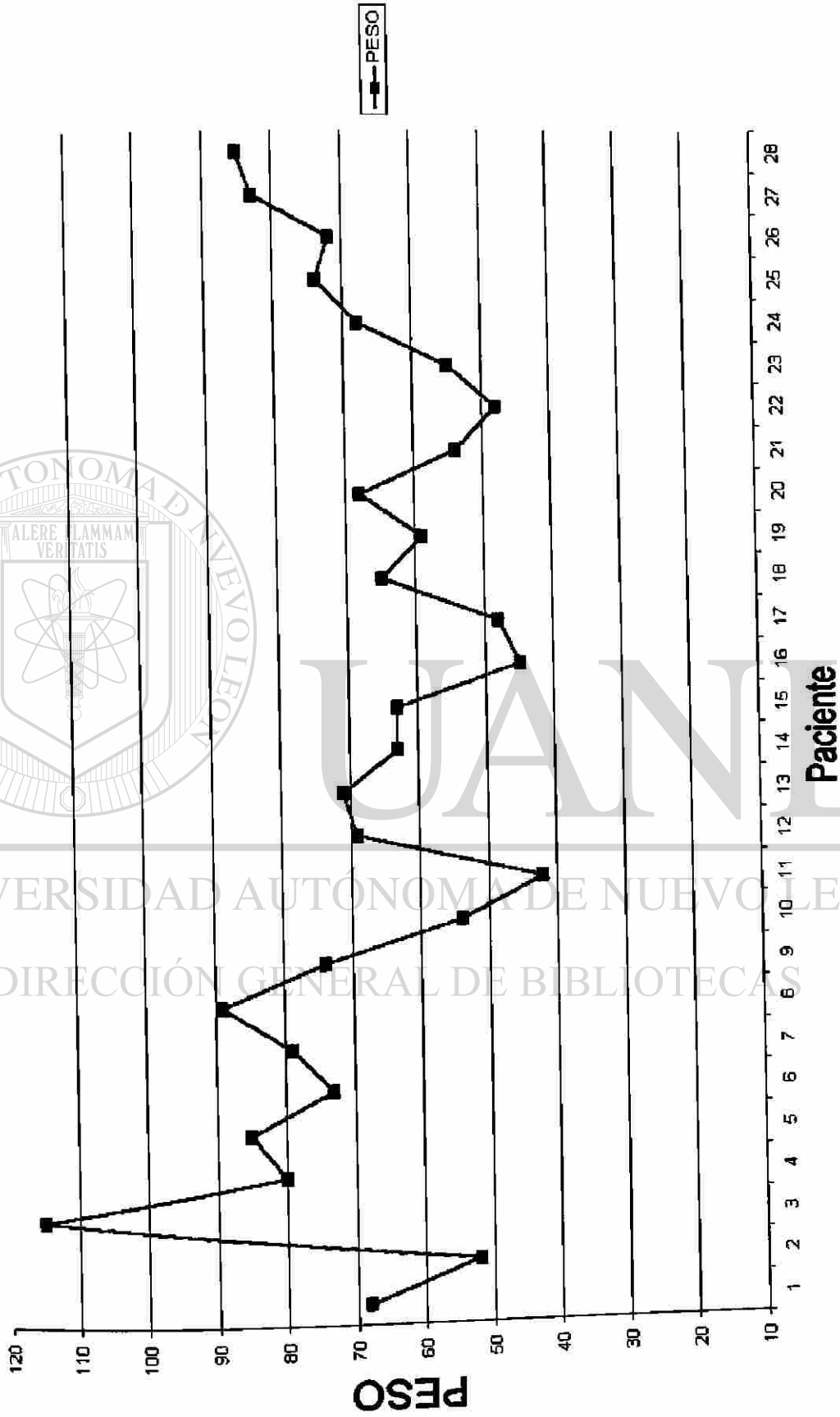


Tabla 54.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo al peso. 2002





### **Tabaquismo:**

Se encontró que de los 28 paciente solo 4 tienen el habito de fumar.

Tabla 55.

### **Sexo:**

Llama la atención que el mayor numero de casos de cáncer (21 de 28), están en sexo femenino y como se vio el tipo de cáncer predominante es el de mama. Tabla 55.

### **Consumo de Alcohol:**

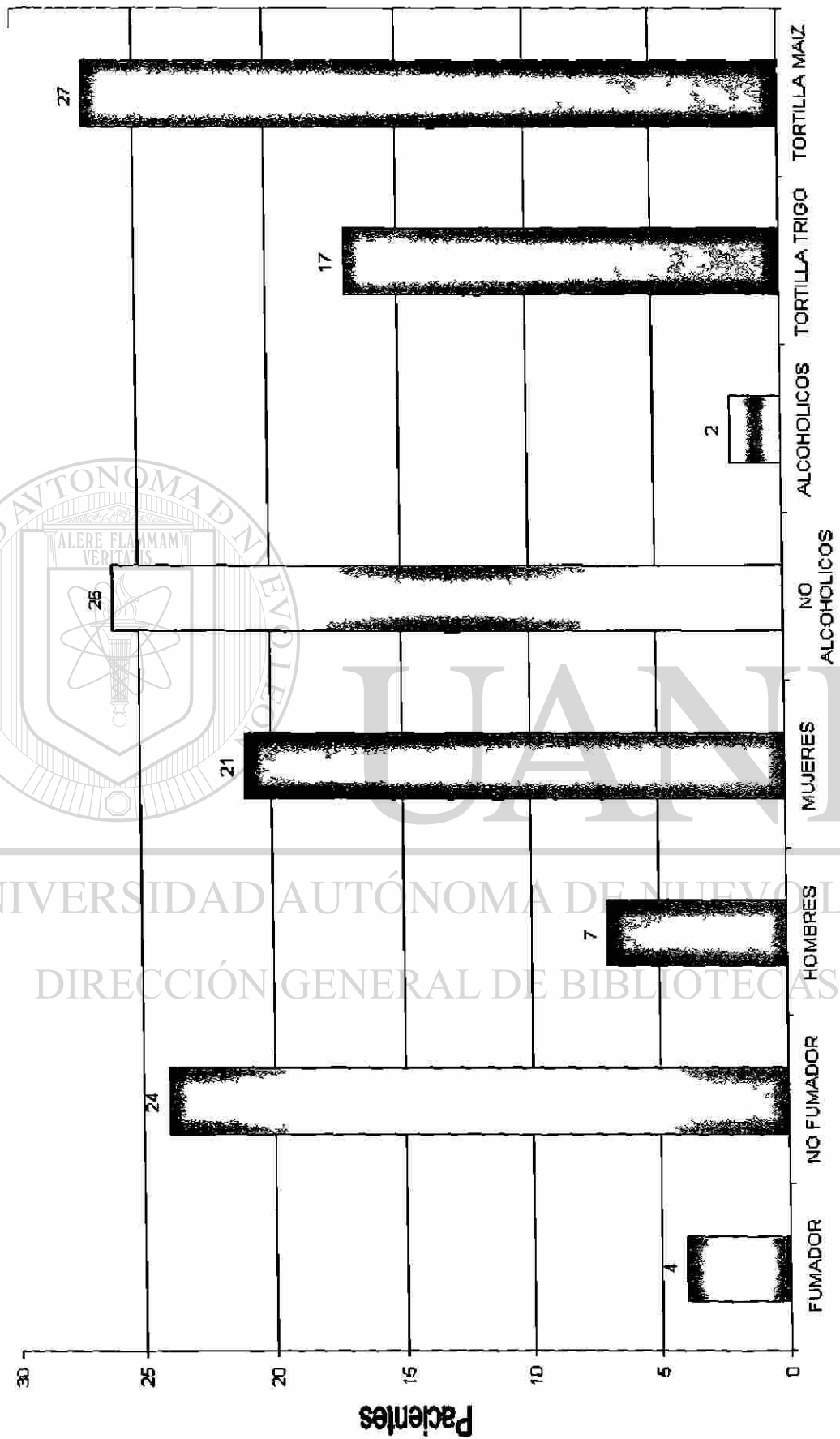
Se observa que prácticamente que el consumo de alcohol va de forma paralela con el tabaquismo, solo dos pacientes consumen bebidas alcohólicas.

Tabla 55.

### **Consumo de Tortillas de maíz y tortillas de trigo:**

En este grupo de pacientes se observa que consumen ambos tipos de tortillas pero con una preferencia muy marcada por la tortilla de maíz. Tabla 55.

Tabla 55.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a varios parametros. 2002



**Ocupación:**

Considerando que el mayor número de casos de cáncer están en mujeres (cáncer de mama), lo vemos reflejado en que 12 pacientes se ubican en labores del hogar; el resto del grupo es muy diverso en ocupación. Tabla 56.

**Tabla 56.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a la ocupación. 2002**

DESEMPLEADO	3
HOGAR	12
EMPLEADO	1
COMERCIANTE	2
MEDICO	1
OPERADOR	1
CONSTRUCTOR	1
CHOFER	1
COCINERA	1
VENDEDOR AMBULANTE	1
OBRERA	2
CONTADOR	1
INGENIERO	1

**Lugar de Origen:**

La predominancia en este grupo, son pacientes nativos de esta Ciudad (15 de 28); el resto proviene de diversos lugares como se puede observar en la Tabla 57.

**Tabla 57.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo al lugar de origen. 2002**

H. MATAMOROS, TAMPS.	15
MONTERREY, N.L.	2
SAN FERNANDO, TAMPS.	1
LINARES, N.L.	1
TAMPICO, TAMPS.	1
VERACRUZ	4
COAHUILA	1
RIO BRAVO, TAMPS.	1
CD. VICTORIA, TAMPS	1
SAN LUIS POTOSI, S.L.P.	1

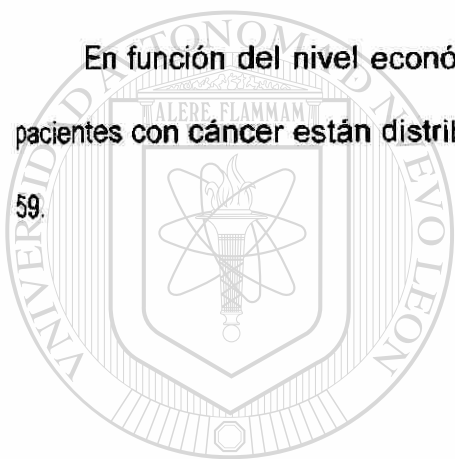
### **Años de residencia en H. Matamoros.**

Hay mucha variación en los años que tienen de residir en esta ciudad, se observa que ninguno tiene menos de 5 años y que la mayor concentración de pacientes esta entre los 20 y 50 años de residencia. Tabla 58.

### **Nivel socio económico:**

En función del nivel económico se observa que la mayor concentración de pacientes con cáncer están distribuidos entre la clase baja y la clase media. Tabla

59.



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 58.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo a años de residencia en H. Matamoros, Tamaulipas. 2002

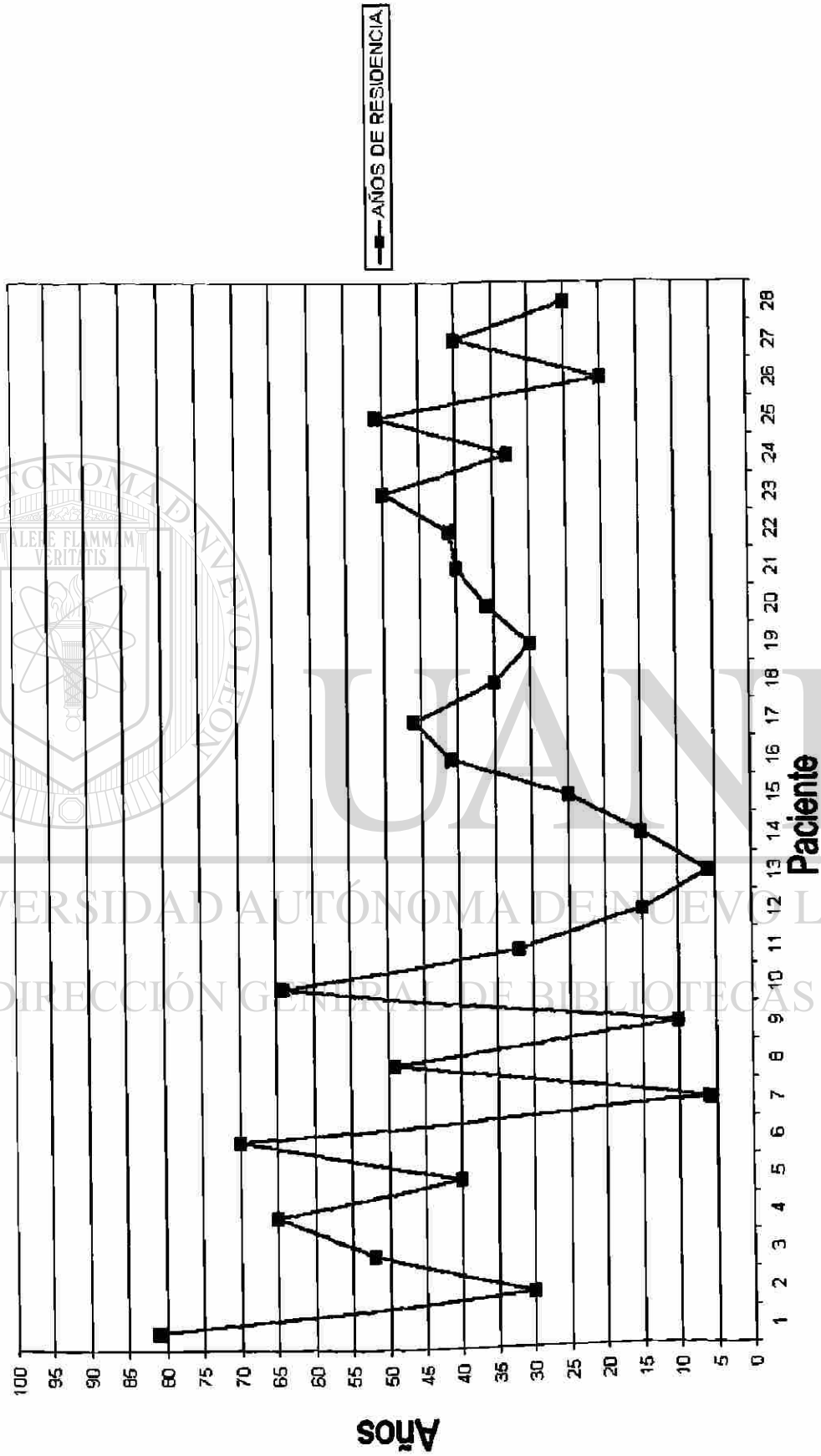
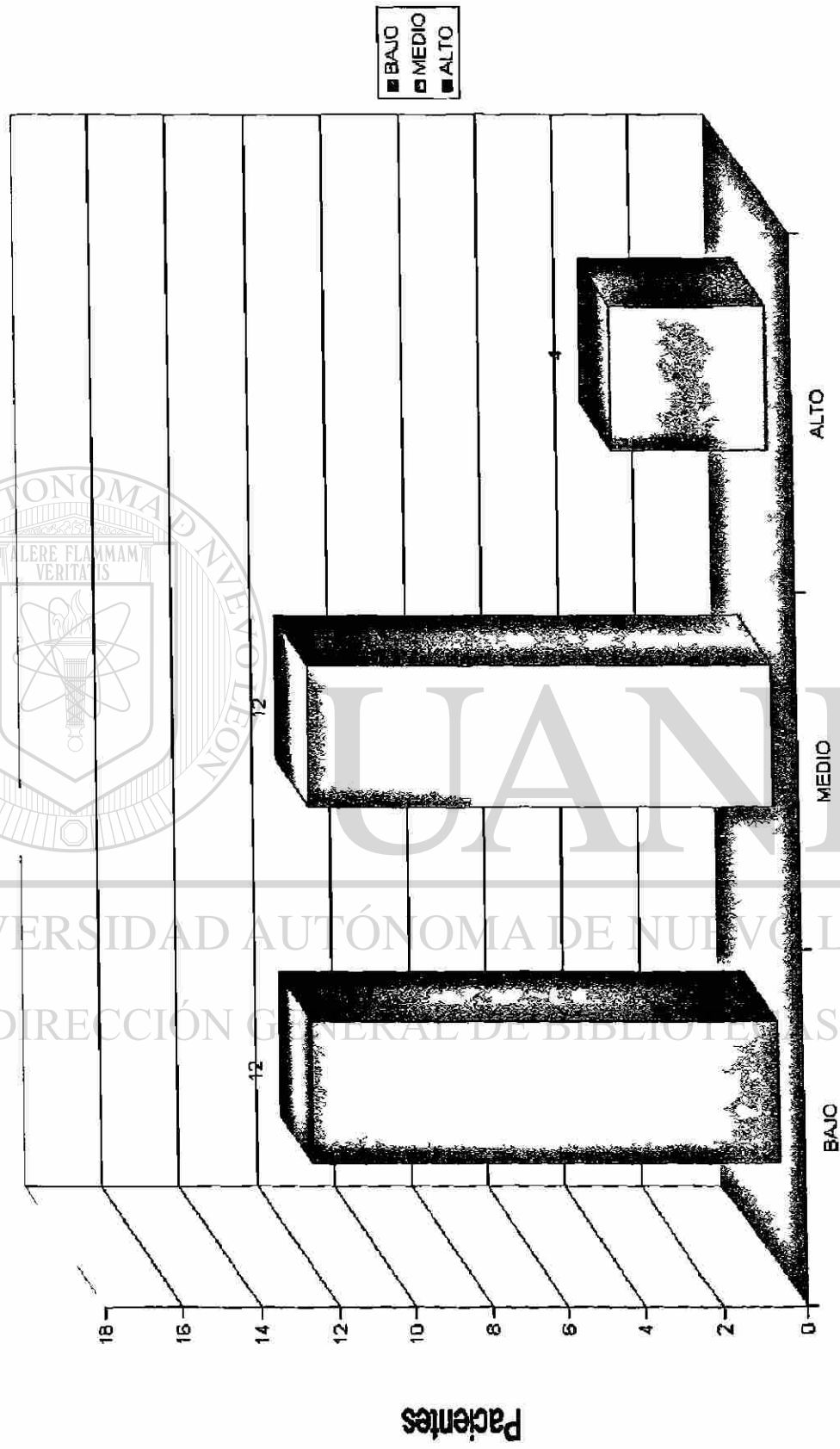


Tabla 59.- Clasificación de Pacientes con Cáncer de acuerdo al nivel socio económico. 2002



## **2º. RESULTADOS DE OBTECION DE LA ALBÚMINA 2001.**

La determinación de la concentración de la albúmina se realizo de acuerdo al método de Bradford; descrito en la sección de materiales y métodos.

Como se puede ver en la tabla 60, los pacientes con hepatitis presentaron por lo general valores bajos, aun y cuando hay algunos altos (12 y 23); es de considerar que su problema hepático influye de una manera determinante en este resultado; sin embargo los pacientes con cáncer (tabla 61), presentan por lo general valores normales, hay también algunos altos (4, 7 y 10), pero se considera que por su problema son pacientes mas estables metabólicamente; los pacientes con cirrosis hepática (tabla 62), presentaron valores normales, influido esto por un efecto compensador en su problema; en cambio los pacientes con tuberculosis (tabla 63), reflejan cifras bajas en donde se puede apreciar las asociación que hay entre este padecimiento con la desnutrición.

## **RESULTADOS DE OBTECION DE LA ALBÚMINA 2002.**

En este grupo de pacientes con cáncer (tabla 64), se observa que son valores normales pero con una tendencia a ser altos en muchos casos como en los pacientes de CA de Laringe y CA gástrico, y en algunos casos de Cirrosis Hepática.



Comparativamente con los pacientes del 2001, observamos que son resultados mas altos en función de su patología, pero que debemos de considerar toda la gama de variables que pueden influir en la dieta de un paciente como: edad, clase social y hábitos entre otros.

Tabla 60.- Concentración de albúmina en pacientes con Hepatitis 2001.

N°. de Muestra	mgr/ml
12	13.5
14	7.2
15	6.7
16	10.8
17	4.4
18	5.0
19	9.5
20	4.2
21	4.0
22	9.1
23	10.1

Tabla 61.- Concentración de albúmina en pacientes con Cáncer 2001.

N°. de Muestra	mgr/ml
3	2.0
4	14.6
5	8.0
7	13.3
8	3.6
9	4.9
10	11.2
11	8.5

Tabla 62.- Concentración de albúmina en pacientes con Cirrosis Hepática  
2001.

Nº. de Muestra	mgr/ml
24	9.5
25	7.0
27	6.0

Tabla 63.- Concentración de albúmina en pacientes con Tuberculosis  
2001.

Nº. de Muestra	mgr/ml
28	5.0
31	5.7
33	5.2
34	6.7
35	8.6
36	4.2
37	5.8
39	4.5
48	4.0
43	4.0
44	6.3
45	4.7
62	4.7
63	4.5

Tabla 64.- Concentración de albúmina en pacientes con Cáncer 2002.

<i>CA de mama</i>		<i>CA gástrico</i>	
Nº. de Muestra	mgr/ml	Nº. de Muestra	mgr/ml
3	29.1	5	18.3
9	18.9	6	24.4
10	29.1	12	29.7
13	8.6		
14	37.1		
16	7.5		
17	8.6		
18	7.9		
19	7.7		
20	9.7		
21	12.1		
22	7.7		
23	13.5		
25	13.9		
26	12.7		
		<i>CA de páncreas</i>	
		Nº. de Muestra	mgr/ml
		11	29.1
		15	9.6
		24	6.2
		<i>Cirrosis Hepática</i>	
		Nº. de Muestra	mgr/ml
		1	19.4
		2	23.2
		27	11.3
		28	8.9
<i>CA de laringe</i>			
Nº. de Muestra	mgr/ml		
4	25.8		
7	27.7		
8	26.9		

### 3°. RESULTADOS DE LA ELECTROFORESIS DE POLIACRILAMIDA PARA CONFIRMAR LA PUREZA DE LA ALBUMINA.

Los gels fueron realizados de acuerdo a la técnica descrita en la sección de materiales y métodos.

Como se puede observar se obtuvieron bandas de un peso molecular de 65,000 que corresponden a la banda de albúmina del marcador molecular.

Solo se utilizó una muestra de cada grupo de pacientes y se aplicaron concentraciones diferentes en cada carril (Fotos 2, 3, 4, 5).

Foto (2).- SDS-Gel de Poliacrilamida de albumina humana en pacientes con cáncer.

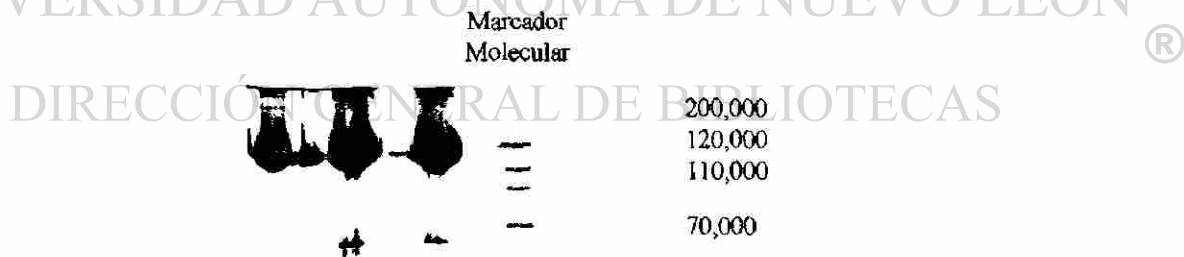


Foto (3).- SDS-Gel de Poliacrilamida de albumina humana en pacientes con cirrosis.

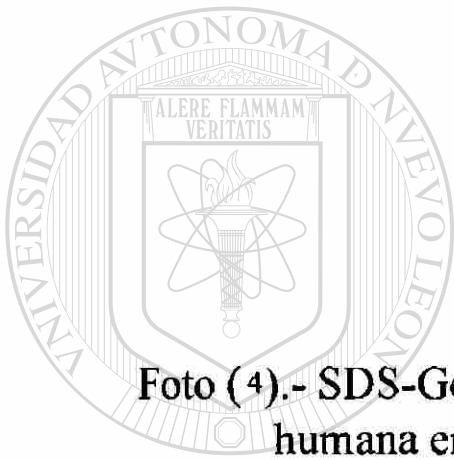
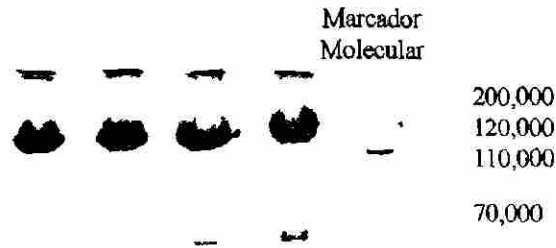
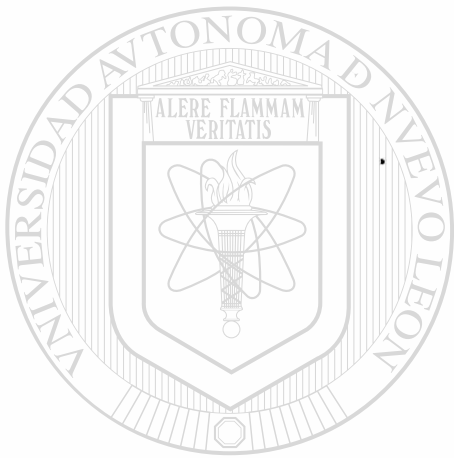
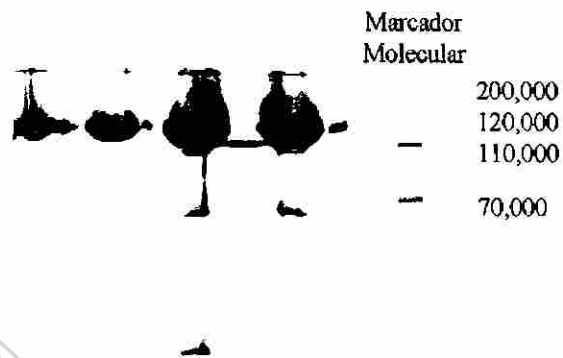


Foto (4).- SDS-Gel de Poliacrilamida de albumina humana en pacientes con hepatitis.



Foto (5).- SDS-Gel de Poliacrilamida de albumina humana en pacientes con tuberculosis.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

#### **4º. CUANTIFICACIÓN DE LA MOLÉCULA AFB1- LISINA EN LOS SUEROS DE PACIENTES CON DIFERENTES PATOLOGIAS.**

Se obtuvo el aducto de aflatoxina – Lisina y se cuantificó por RIA, según métodos descritos en la sección de materiales y métodos obteniéndose los siguientes resultados:

##### **PACIENTES CON TUBERCULOSIS**

Se puede apreciar que al mayoría de estos pacientes presentaron concentraciones muy bajas de la molécula AFB1 – Lisina, valores comprendidos entre 0.4 – 1.4 pmol/mgr de proteína. Tabla 65.

##### **PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA**

En este grupo de pacientes se encontró que los resultados son muy bajos y se presentan en una forma homogénea (1.1 – 1.6 pmoles del aducto AFB1 – Lisina /mgr de proteína). Tabla 66.

Tabla 65.- Radio Inmuno Análisis del aducto AFB<sub>1</sub> - Lisina en suero de Pacientes con Tuberculosis. 2001

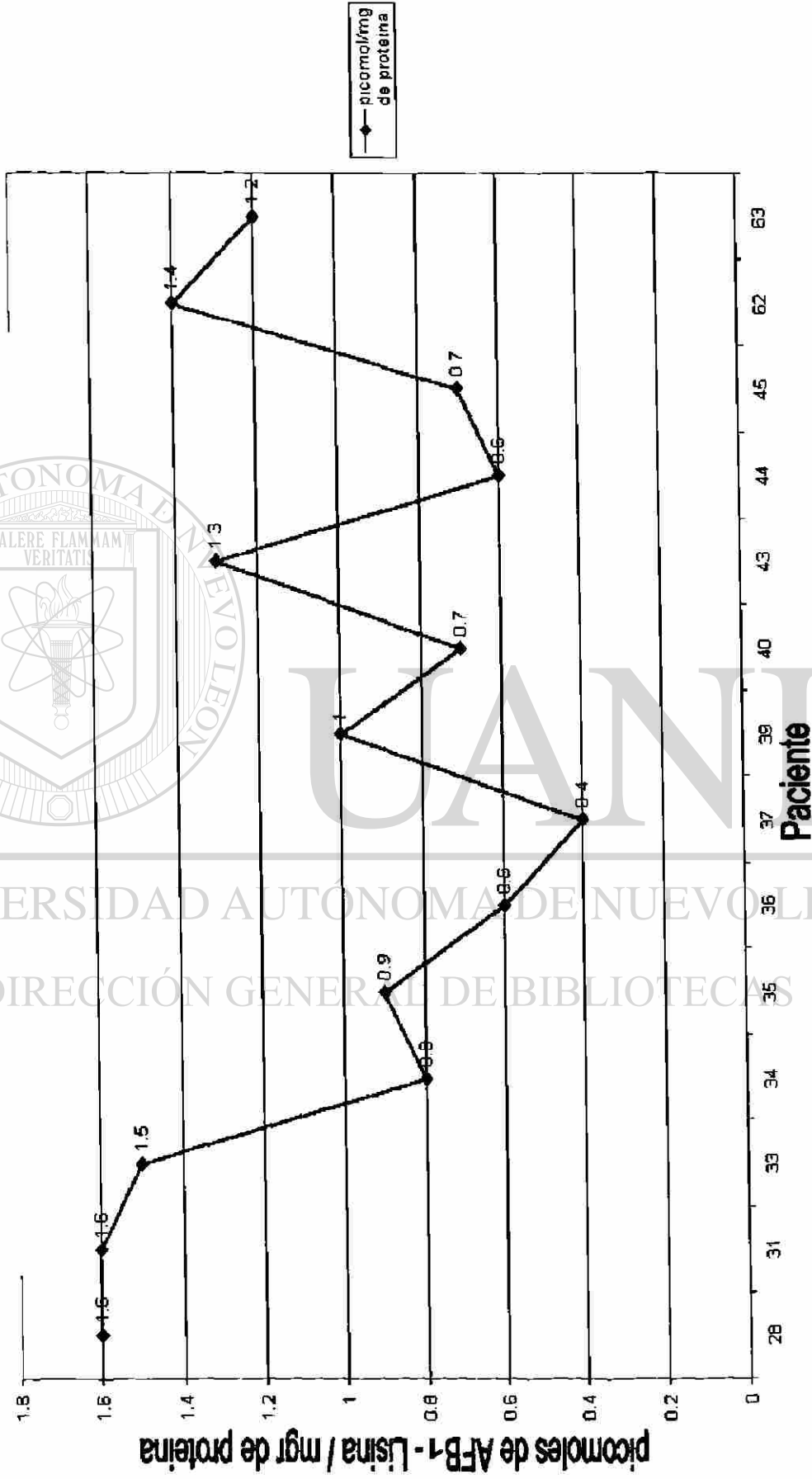
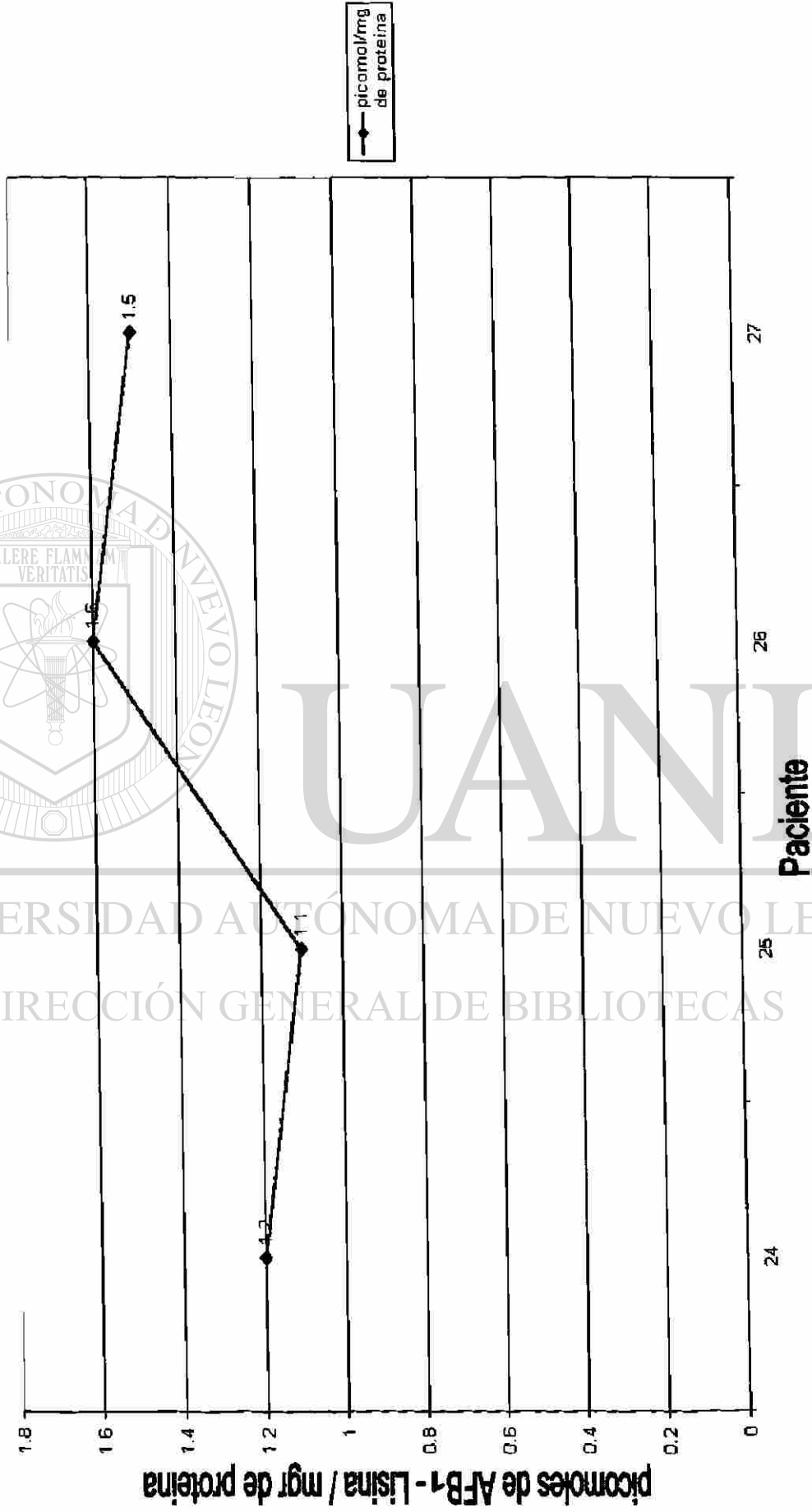




Tabla 66.- Radio Inmuno Análisis del aducto AFB<sub>1</sub> – Lisina en suero de Pacientes con Cirrosis Hepática. 2001



## **PACIENTES CON HEPATITIS**

En estos pacientes los niveles del aducto AFB<sub>1</sub> – Lisina en la mayor parte de los casos (9 de 11) fueron muy bajos, valores comprendidos entre 0.6 – 1.1 pmol/mgr de proteína. Tabla 67.

## **PACIENTES CON CANCER 2001**

En estos pacientes, la concentración del aducto AFB<sub>1</sub> – Lisina esta por lo general entre 0.5 – 1.7 pmol/mgr de proteína, habiendo un paciente con 2.3 pmoles y otro con valor de 0.3 pmoles. Tabla 68.

## **PACIENTES CONTROLES SANOS 2001**

Se puede apreciar que en este grupo de pacientes, 11 están entre 0.5 – 1.0 pmoles del aducto AFB<sub>1</sub> – Lisina, el resto (4) presentan de 1.1 a 1.5 pmol/mgr de proteína. Resulta interesante que estos pacientes que no presentan patologías relacionadas con las muestradas, tienen niveles sericos del aducto muy semejantes a los pacientes antes referidos. Tabla 69.

Tabla 67.- Radio Inmuno Análisis del aducto AFB<sub>1</sub> - Lisina en suero de Pacientes con Hepatitis. 2001

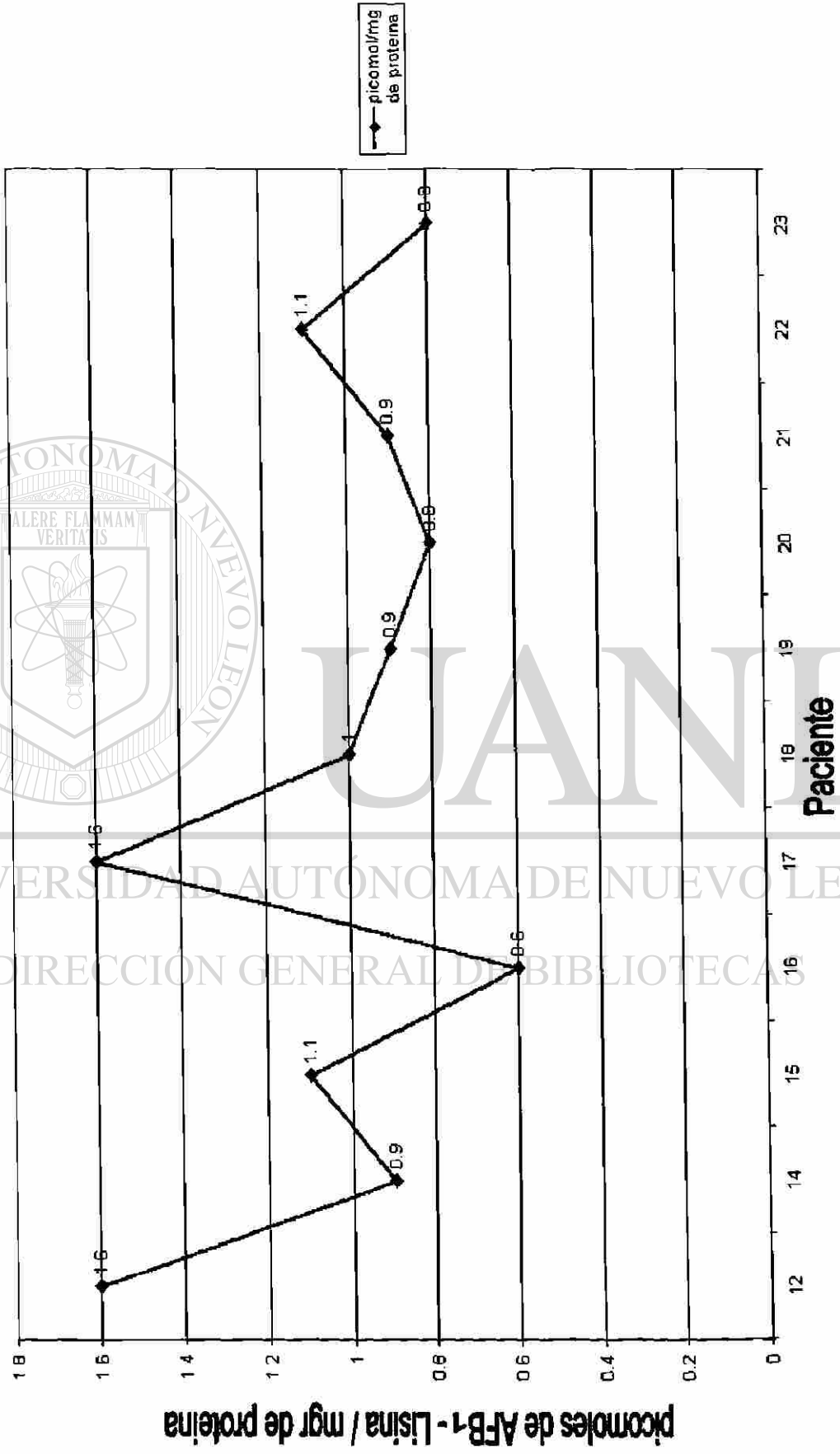


Tabla 68.- Radio Inmuno Análisis del aducto AFB<sub>1</sub> - Lisina en suero de Pacientes con Cáncer. 2001

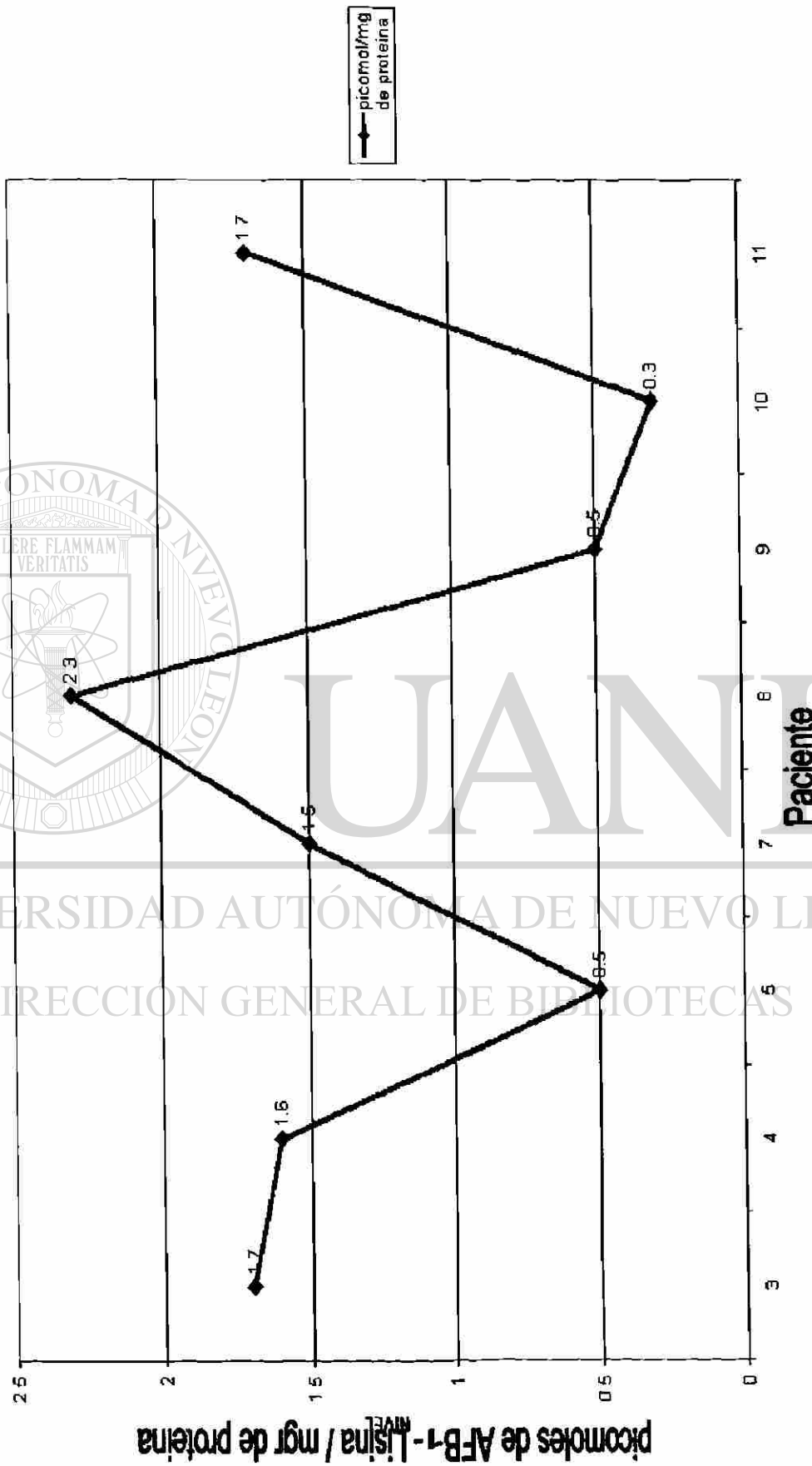
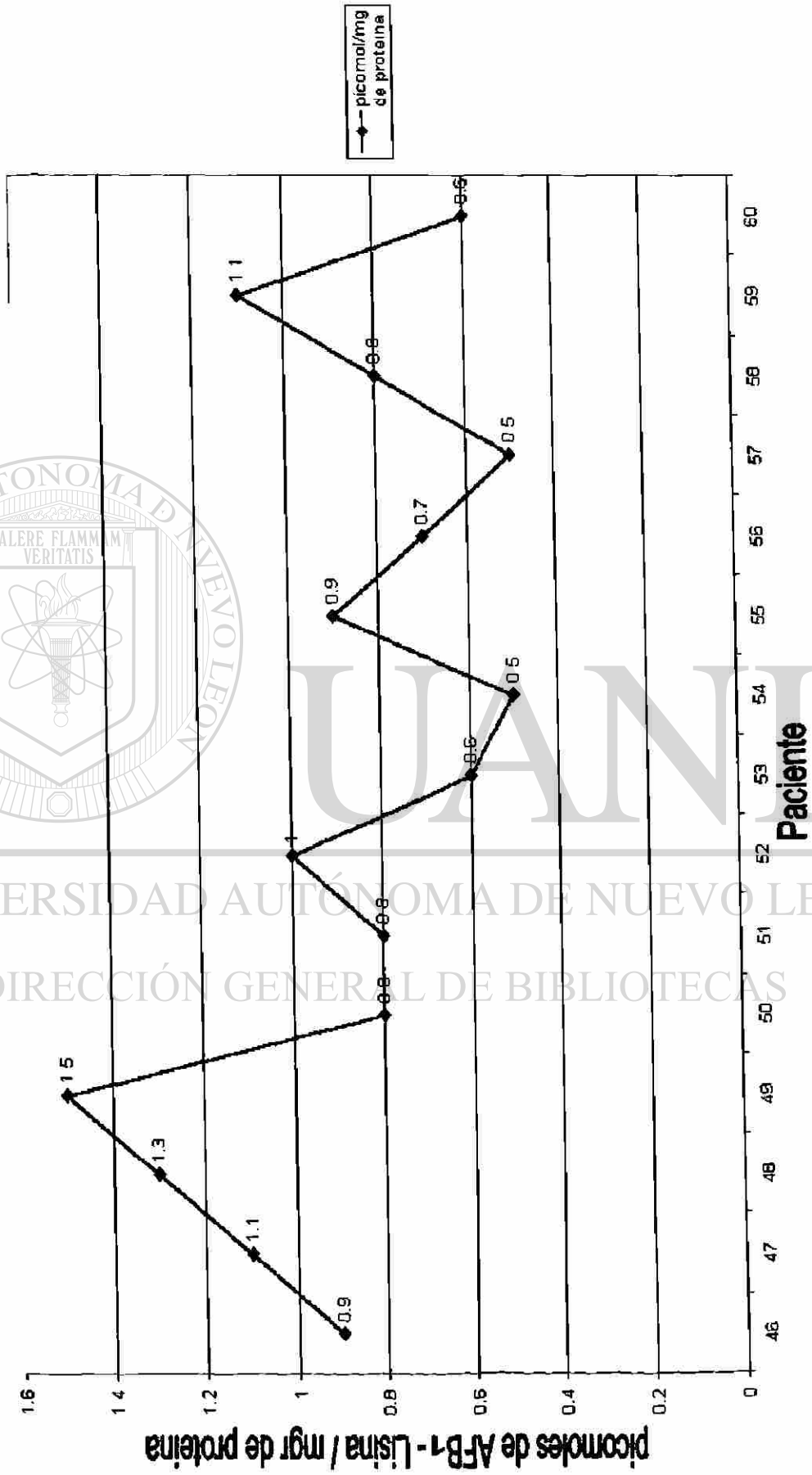


Tabla 69.- Radio Inmuno Análisis del aducto AFB<sub>1</sub>- Lisina en suero de Pacientes Clasificados como Controles Sanos. 2001



## PACIENTES CON CANCER 2002

### SEGUNDO MUESTREO

Del total de 80 pacientes estudiados, este grupo es el mas numeroso (28), y son los que presentaron valores mas altos; el promedio esta comprendido entre 0.8 – 2.7 pmol de AFB1 – Lisina /mgr de proteína, pero también llama la atención de que hubo un caso en 0.0 y uno que fue el mas alto (5.5 pmoles), correspondiendo a un caso de cáncer de mama y que estos a su vez fueron los mas numerosos. Tabla 70.



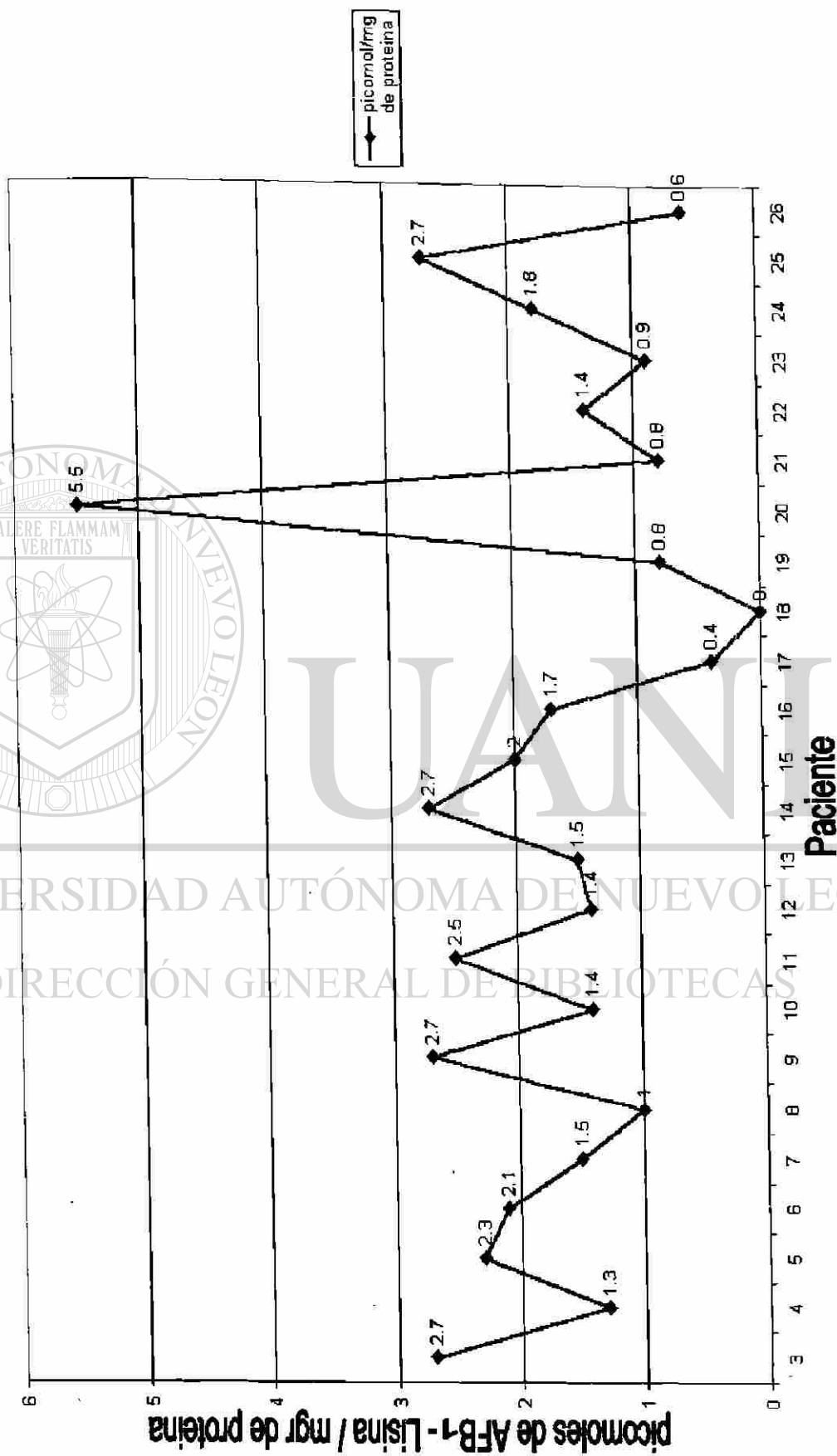
# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 70.- Radio Inmuno Análisis del aducto AFB<sub>1</sub>- Lisina en suero de Pacientes con Cáncer. 2002



## DISCUSIÓN

Los análisis epidemiológicos indican que del 20 - 50% de todos los tipos de cáncer de humanos están asociados con la dieta (274), con el antecedente de que la AFB<sub>1</sub> – Lisina, es la mas común de las micotoxinas encontrada en alimentos, así como caracterizada por sus efectos nocivos en la salud humana y animal (114, 117).

El uso del aducto AFB<sub>1</sub> – Lisina, utilizado como uno de los biomarcadores moleculares de exposición mas importantes como factor de riesgo esta basado en la vida media que tiene este aducto in vivo (300).

**Pacientes con Cáncer:** Este grupo de pacientes es el mas numeroso de casos patológicos que se caracteriza por el alto numero de CA de mama; encontrando una concentración del aducto AFB<sub>1</sub> – Lisina con una nivel 0.5 – 1.7 picomoles/mgr de proteína, considerando que igualmente son valores muy bajos, comparativamente con los que reporta Groopman, J. D. (124), en que habla de una ingesta de 3 - 222 ng/kg de peso/día en pacientes de África, y de 0.1 - 10 ngr/ml en orina de pacientes de China, que ingirieron previamente una dieta contaminada con AFB<sub>1</sub> en cantidades calculadas entre 13.4 - 87.5 µgr; asociando su presencia con epató carcinoma en estos pacientes, considerando además factores como sexo, edad, status nutricional y enfermedades predisponentes que pueden modificar la respuesta a la presencia de la aflatoxina B<sub>1</sub>, en este grupo de



pacientes llama la atención que si bien son valores bajos los encontrados, hacen pensar en que puede haber alguna otra causa asociada con el CA de mama.

**Pacientes con Tuberculosis:** Considerando que la mayor parte de los casos, son pacientes con un nivel socioeconómico medio o bajo y sabiendo que este padecimiento se asocia con desnutrición propiciando desajustes inmunitarios que permites establecer una correlación con la presencia de aflatoxinas (27, 60, 298); en este caso los valores encontrados oscilan entre 0.6 – 1.1 picomoles/mgr de proteína, siendo estos valores muy bajos.

**Pacientes con Hepatitis:** En los datos generados de estos pacientes es significativo el consumo de alcohol; los valores que se encontraron del AFB<sub>1</sub> – Lisina fue de 0.6 - 1.1 picomoles/mgr de proteína considerándose bajos ya que Álvarez Bañuelos, et. al. (7), reporta valores de 18.2 – 32.1 picomoles/mgr de proteína, en pacientes de HBV y de 42.6 – 113.5 para pacientes con HCV.

**Pacientes considerados Controles Sanos:** Este grupo de pacientes que en términos generales son individuos normales en todos sus aspectos evaluados, sin ninguna patología presente, llamando la atención que en ellos se encontraron valores similares (0.5 – 1.5 picomoles de AFB<sub>1</sub> – Lisina/mgr de proteína) a los que presentan los pacientes con diversas patologías dejando entrever que la población esta expuesta en forma amplia a la aflatoxina, todos los grupos de pacientes tiene preferencia por la tortilla de maíz que era uno de los datos que se esperaban.

## CONCLUSIONES.

- El método de obtención de albúmina y de AFB<sub>1</sub> – Lisina de Wild et. al. es eficiente y seguro.
- El método de RIA de Sheabar et. al. modificado por Trudel y Wogan; es suficientemente sensible para cuantificar AFB<sub>1</sub> – Lisina en suero humano.

- La sensibilidad del método es de 0.5 pmoles de AFB<sub>1</sub> – Lisina /mg de proteína.
- Los valores promedio encontrados en los sueros humanos con diferentes patologías indican que la población a ingerido alimentos contaminados con aflatoxina.

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

- Considerando la vida media de la albúmina es probable que la población este ingiriendo en forma rutinaria alrededor de menos de un µgr de AFB<sub>1</sub> al día.

- No se encontró correlación entre la AFB<sub>1</sub> – Lisina y las patologías presentes en los pacientes muestreados.

## BIBLIOGRAFÍAS.

1. Abbot, David and Andrews, R. S. (1973) Introducción a la cromatografía 3a. Ed. Colección Exedra. Ed. Alambra, España.
2. Abdel-Wahhab, M.A; Nada, S.A; Amra, H.A: (1999) "Effect of aminosilicats and bentonite on aflatoxin induced developmental toxicity in rat" J. Appl. Toxicol, 19(3):199-204
3. Abdullah, N; Nawawi, A; Othman, I: (1998) "Survey of fungal counts and natural occurrence of aflatoxin in Malaysian starch-based foods" Mycopathology, 143(1):53-8
4. Abulu, E.U; Uriah, N; Aigbefo, H; Oboh, P.A; Agbonlahor, D.E;(1998) "Preliminary investigation on aflatoxin in cord blood jauniced neonates " West Afr J. Rev 17(3):184-7
5. Ak Sit, S; Caglagan, S; Yaprak, I; Kansoy, S: (1997) "Aflatoxin: is it a neglected threat for formula.Fed instants?" Acta Paediatrica Jpn, 39(1):34-6
6. Albertini, R. S; Nicklas, J. A. y O'Neil, J. P.: (1996) "Future research directions for evaluating human genetic and cancer risk from environmental exposure. Environ Health Perspect 104 (Supp 3): 503-510
7. Alvarez Bañuelos, M.; Carvajal Moreno, M; Ruisánchez Peon, N, Rojo, F. (2000) Aductos ADN-Aflatoxina como biomarcadores de exposición en grupos de riesgo de cancer de hígado. Rev. Cubana Oncol 16(1)35-9

8. Alvarez Bañuelos, María T., Carvajal Moreno, Magda María., Ruisánchez Peón, Nora., Rojo Francisco., (2000), "Aductos-ADN-Aflatoxinas como biomarcadores de exposición en grupos de riesgo de cáncer de hígado", Rev Cubana Oncología, 16(1):35-9
9. Allam K, Saha M, & Giese RW (1990) "Preparation of electrophoretic derivatives of N7-(2-hydroxyethyl)guanine, an ethylene oxide DNA adduct." J Chromatogr, 499: 571-578.
10. Allcraft, R and Lewis, G; (1963) "Groundnut toxicity in cattle: Experimental poisoning of calves and a report on clinical effects in older cattle" Vet-Record 75:487-493
11. Anderson D, Sorsa M, & Waters MD (1994) "The parallelogram approach in studies of genotoxic effects." Mutat Res, 313: 101-115
12. Anderson, D; Yu, T.W; Hambly, R,J; Mendy, M; Wild, C.P: (1999) "Aflatoxin exposure and DNA damage in the comet assay in individuals from the Gambia, West Africa" Teratog Carcinog Mutagea, 19(2):147-55
13. Anderson, H.W; Nehring, E.W and Wwicher, W.R; (1975) "Aflatoxin contamination of corn in the field" J. Agric. Food Chem 2:775-782

14. Anderson, W.F; Holbrook, C.C; Wilson, D.M: (1966) "Development of greenhouse screening for resistance to *Aspergillus parasiticus* infection and preharvest AFL contamination in peanut" *Mycopathologia*, 135(2):115-8
15. Applebaun, R.S and Marth, E.H; (1980.) "Inactivation of aflatoxin M1 by Hydrogen Peroxide", *J. Food Prot* 43:820-825
16. Asao, T; Buchi, M.M; Abdel-Kadel; Chang, S.B; Wick, E.L and Wogan, G.N: (1965) "The structures of aflatoxin B1 and G1" *J.Am. Chem Soc.* 87:882-886
17. Asplin, F.D; Carnaghan, R.B.A: (1961) "The toxicity on certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens" *Vet. Record* 73:1215-1219
18. Awadala, S.F: (1988) "Influence of dietary aflatoxin on the severity of coccidial infection in quails". *Egypt Soc. Parental*, 28(2):437-47
- 
19. Awah, R.T; Kpodo, K: (1996) "High incidence of *Aspergillus flavus* and aflatoxin in stored groundnut in Ghana and the use of a microbial assay to assess the inhibitory effects of plant extracts on aflatoxin synthesis" *Mycopathologia*, 134(2):109-14
20. Aziz, N.H: (1997) "Influence of Whitelight near UV irradiation and other environmental conditions on production of aflatoxin B1 by *aspergillus flavus* and ochratoxin A by *aspergillus ochraceus*" *Nahrag* 41(3)150-4

21. Bactschi, S.W; Rancy, K.D; Stone, M.P; Harris, T.M: (1988)  
"Preparation of the 8,9 epoxide of the micotoxin aflatoxin B1"  
The ultimate carcinogenic species J. Chem Soc 110:7929
22. Bailar JC III & Bailer AJ (1999) "Common themes at the workshop on  
uncertainty in the risk assessment of environmental and  
occupational hazards." In: Bailer AJ, Maltoni C, Bailar JC III,  
Belpoggi F, Braz JV, & Soffritti M ed. Uncertainty in the risk  
assessment of environmental and occupational hazards. Ann  
NY Acad Sci, 895: 373-376.
23. Bailey, E.A; Iyer, R.S; Stone, M.P; Harris, T.M; Essigmann, J.M:  
(1996) "Mutational properties of the primary aflatoxin B1-DNA  
adduct", Proc Natl Acad SCI USA, 93(4):1535-9
24. Bailey, G.S; Dashwod, R; Loveland, P.M; Pereira, C; Hendricks, J.D:  
(1998). "Molecular dosimetry in fish: quantitative target organ  
DNA adduction and hepatocarcinogenicity for four aflatoxins  
by two exposure routes in rainbow trout". *Metab Res.*  
399(2):233-44
25. Bakthavachalam J, Annan R, Beland FA, Vouros P, & Giese P (1990)  
"Selection of electrophoretic derivatives of 1-aminopyrene and  
2-aminofluorene for determination by gas chromatography with  
electron-capture negative-ion mass spectrometry." *J  
Chromatogr*, 500: 373-386.

26. Bartsch H (1996) "DNA adducts in human carcinogenesis: etiological relevance and structure-activity relationship." *Mut Res*, 340: 67-79.
27. Becroft, D.M.O: (1966) "Sindrome of Encephalopathy and Fatty degeneration of vicera in New Zealand Children" *Br. Med J.* 2:135
28. Bernard A (1995) "Biokinetics and stability aspects of biomarkers: recommendations for application in population studies." *Toxicology*, 101: 65-71
29. Berson, J. A; Remanick, S; Suzuki, D. R.; Warnhoff, D.; Willner, D. Radioimmunoanalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 83. 3986. 1961
30. Beuchat, L.R: (1987) "Food and Beverage Mycology" 2nd Ed. Van Nostrand Reinhold, New York 28
31. Bhatnagar, D; Ehrlich, K.C; and Cleveland, T.E: (1992) "Oxidation –

---

Reduction reactions in biosynthesis of secondary metabolism".

In *Biosynthesis of secondary metabolism*, Chapter 10:255-286

Edited by Town

32. Bois FY, Krowech G, & Zeise L (1995) "Modeling human interindividual variability in metabolism and risk: The example of 4-aminobiphenyl." *Risk Analysis*, 15: 205-213.
33. Bonsi, P; Augusti-Tocco, G; Palmery, M; Giorgi, M: (1999) "Aflatoxin B1 is an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity" *Gen Pharmacol*, 32(5):615-9

34. Bradburn, Net al: (1993) "Aflatoxin contamination of maize" *Trap SCI* 33:418-428
35. Bradford, M. M. (1976) A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Ann clinic biochem* 72:248-254
36. Breinholt, V; Arbogost, D; Loveland, P; Pereira, C; Dashwod, R; Hendricks, J; Bailey, G: (1999) "Chlorophyllia chemoprevention in trout initiated by aflatoxin B(1) bath treatment: In evolution of reduced bioavailability vs target organ protective mechanisms" *Toxicol Appl. Pharmacol*, 158(2):141-51
37. Brekke, O.L; Peplinski, A.J; Lanceter, E.B: (1977) "Aflatoxin inactivation in corn by aqueous ammonia" *Trans. Soc. Agric. Eng.* 20:1160-1165
38. Bresler, G; Vaamonde, G; Degrossi, C; Fernandez Pinte V. 1998 "Amaranth grain as substrate for aflatoxin and zearalenone production at different water activity levels"
39. Buchi, G, and Rae, I.D; (1985) "The structure and chemistry of aflatoxins in aflatoxins, Goldblatt" L.A. Ed. Academic Press, New York 55
40. Buetler, T.M; Bammler, T.K; Hayes, J.D; Eaton, D.L: (1996) "Oltipraz-mediated changes in aflatoxin B(1) biotransformation in rat liver: implications for human chemoprevention" *Cancer Res*, 56(10):2306-13



41. Bullerman, L: (1974) "Inhibition of aflatoxins by Cinnamon" J.Food Prot. 39:1163-1165
42. Busby, W.F; Wogan, G.N; In Searte (ed) (1985) "Aflatoxins in chemical carcinogens" 2nd. Ed. Washington, D.C. american chemical society pp 945-1136
43. C.A.S.T; (1989) Council for Agricultural Science and Tecnology "Economic and Healt Risks Report" Report 116
44. Cambell, T.C; Chen, J; Liv, C; Li, J; Parpia, B: (1990) "Nonassociation of aflatoxin with primary liver cancer in a cross-sectional ecological survey in the People's Republic of China" Cancer Res 50:6882-6893
45. Campell, T.C; Hayes, J,R; (1976) "The role of aflatoxin metabolism in its toxic lesion" Toxicol. Appl Pharmacol 35:199-222
46. Carvajal, M; Arroyo, G; (1997) "Management of aflatoxin contaminated maize in Tamaulipas, Mexico" J. Agrie Food Chem 45:13011-1305
47. Cavin, C; Holzhauser, D; Constable, A; Huggett, A:C; Schilter, B: (1998) "The coffee specific diterpenes cafestol and kahweol protect aganist aflatoxin B1 induced genotoxicity through a dual mechanism" Carcinogenesis 19(8):1369-75

48. Cepeda, A; Francos, C.M; Fente, C.A; Vazquez, B.I; Rodriguez, J.L; Prognon, P; Mahuazier, G; (1996) "Postcolumn excitation of aflatoxins using ciclodextrins in liquid chromatography for food analisis" J.Chromatogr A; 721(1):69-74
49. Cespedes, A.E; Díaz G.J; (1997) "Analysis of aflatoxins in poultry and pig feeds and feedstuf used in Colombia" JAOAC inf, 80(6):1215-9
50. Ciegler, A; Lillehoj, E.B; Peterson, R.E; and Hall, H.H: (1966) "Microbial detoxification of aflatoxin" Appl. Microbial 14:934-937
51. Clifford, J.I; Rees, K.K; Steven, M.I.M; (1967) "Effect of aflatoxins, B1, G1and G2 on Protein and Nucleic Acid Sinthesis in rat liver" Biochem J. 103:258-305
52. Clingen PH, Arlett CA, Roza L, Mori T, Nikaido O, & Green MHL (1995) "Induction of cyclobutane pyrimidine dimers, pyrimidine(6-4)pyrimidone photoproducts, and Dewar valency isomers by natural sunlight in normal human mononuclear cell." Cancer Res, 55: 2245-2248.
53. Cotty, P.J; Cardwell, K.F; (1999) "Divergence of West African and North America communities of *Aspergillus section flavi*" Appl Environ Microbal, 65(5):2264-6
54. Coulombe, R. A; Shane, R. P; Shalunke, D. K. (1991) Micotoxins and Phytoalexis. (eds) CRC Press, Boca Raton. P.P. 103

55. Coulombe, R.A; (1991) "Aflatoxins. En Micotoxins and phytoalexins sharma, R.P. y D.K. Shalanke, eds CRC Press, Boca Ratón FL. Pp 103-43
56. Cruickshank, A.M; (1961) "The pathology of 111 cases of primary hepatic malignancy collected in the Liverpool region" J. Chin Pathol 14:120-31
57. Cusumano, V; Rossano, F; Merendino, R.A; Arena, A; Costa, G.B; Mancuso, G; Baroni, A; Losi, E; (1996) "Immunobiological activities of mould products functional impairment of human monocytes exposed to aflatoxin B1", Res Microbiol, 147(9):385-91
58. Chaudhary AK, Nokubbo M, Reddy GR, Yeola SN, Morrow JD, Blair IA & Marnett LJ (1994) "Detection of endogenous malondialdehyde-deoxyguanosine adducts in human liver." Science, 265: 1580-1582.
59. Chaudhary AK, Nokubo M, Oglesby TD, Marnett LJ, & Blair IA (1995) "Characterization of endogenous DNA adducts by liquid chromatography/ electrospray ionization tandem mass spectrometry." J Mass Spectrom, 30: 1157-1166.
60. Chen, C.J; Wang, L.Y; Lu, S.N; Wu, M.H; You, S.L; Zhang, Y.S; Wang, C.W; Santella, R.H; (1996) "Elevated aflatoxin exposure and increased risk of hepatocellular carcinoma" Hepatology, 24(1):38-42

61. Chen, C.J; Yu, M.W; Liaw, Y.F; Wang, L.W; Chiamprasert, S; Mat F; Hirvonen, A; Bell, D.A; Santella, R.M: (1966) "Chronic Hepatitis B carriers with null genotypes of glutathione transferase M1 and T1 polymorphisms who are exposed to aflatoxin are at increased risk of hepatocellular carcinoma.
62. Cheng, Z; Root, M; Pan, W; Cjen, J; Campbell, T.C: (1997) "Use of an improved method for analysis of urinary aflatoxin M1 in a survey of mainland China and Taiwan" *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6(7):923-9
63. Chung, F.L; Takahashi, M; Schell, P; Musser, S.M; Keasler, T.A; Groupman, J.D: (1996) "Inhibition of aflatoxin M1 excretion in rat urine during dietary intervention with oltipraz" *Carcinogenesis*, 17(6):1385-8
64. D'Souza, D.H; Brackett, R.E: (1998) "The role of trace metal ions in aflatoxin B1 degradation by *Fluorobacterium auranticum*", *Food Prat*, 61(12):1666-9
65. Davidson, C.S: (1961) "Some contribution of geographic, study undertaken the pathogenesis of cirrosis. In progress in liver diseases" (H. Poppr and F. Schaffers) Chaptr 1 pp 1-1 Grune and Stratton, New York.
66. De Oliveira, C.A; Germano, P.M: (1997) "Aflatoxins: current concepts on mechanisms of toxicity and their involvement in the etiology of hepatocellular carcinoma" *Rev Saude Publica*, 31(4):417-

73. Doyle, M.P; Applebaum, R.S; Bracket, R.E; and Marth, E.H: (1982)  
"Physical, chemical and biological degradation of micotoxins in  
food and agricultural commodities" J. Food Prot. 45:964-970
74. Draveen Rao J; Subramangam, C: (1999) "Requeriment of Ca 2 + for  
aflatoxin production: inhibitory effect of Ca 2 + channel  
blockers on aflatoxin production by *Aspergyllus parasiticus*  
NRRC 2999" Lett Appl Microbial, 28(1):85-8
75. Durackova, Z. V; Betina; and Nemeec, P: (1976) "Systematic Analysis  
of micotoxins by thin Layer chromatography" J. Chrom  
116:141-154
76. Dvorackva, L; (1990) "Aflatoxins and Human Health" Boca Ratón, F.L.  
CRC Press
77. Dwarakanath, C.T; Rayner, E.T; Mann, G.E; and Dollear, F.G; (1968)  
"Reduction of aflatoxin levels in cottonseed and peanut meals  
by ozonization" J. Am. Oli. Chem 45:93-100
78. Edrington, T.S; Sarr , A.B; Kubena, L.F; Harvey, R.B; Phillips, T.D; (1996) "Hidrated sodium calcium aluminisilicate (HSCAS),  
acidic HSCAS, and actived charcoal reduce urinary excretion  
of aflatoxin M1 in turkey poults. Lacks of effect by actived  
charcoal of aflatoxicosis" Toxicol Lett, 89(2):115-22
79. Egmond, V: (1995) "Micotoxinas Erradication micotoxins" Inform Vol 6  
#3

80. Eide I, Hagemann R, Zahlisen K, Tareke E, Törnqvist M, Kumar R, Vodicka P, & Hemminki K (1995) "Uptake, distribution, and formation of hemoglobin and DNA adducts after inhalation of C1-C8 1-alkenes (olefins) in the rat." *Carcinogenesis*, 16: 1603-1609.
81. Elizalde Gonzalez, M.P; Mattusch, J; Wennrich, R; (1988) "Stability and determination of aflatoxins high-performance liquid chromatography with amperometric detection " *J. Chromatogr A*, 828(1-2):439-44
82. Eltem, R: (1996) "Growth and aflatoxin B1 Reproduction on olives and olives paste by moulds insolated from Turkish style natural black olives in brine" *Int. J. Food Microbial*, 132(1-2):217-23
83. Ellis, J; and Paolo, J.A: (1967) "Aflatoxin B: Introduction of malformations" *Archives of pathology*, 83:53-57
- 
84. Ellis, W.O; Smith, J.P; Simpson, B.K; and Oldman, J.H: (1991) "Aflatoxin in food: Ocurrance, Biosynthesis, effects on oraganims, Detection and Methods of control" *Critical Rev. In Food SCI* 30(3):403-439
85. Farag, R.S; Rashed, M.M; Abo Hgger, A.A: (1966) "Aflatoxin destruction for microwave heating" *Int. J. Food Sci Nest* 47(3):197-208
86. FDA, Food and Drug Administration: (1977) "Compliance Policy Guides" *Ibid* 42:61630

87. FDA, Food and Drug Administration: (1982) "Compliance Policy Guides" Ibid; 47:33007
88. FDA, Food and Drug Administration: (1994) "Compliance Policy Guides" Ibid; 59:17383
89. FDA, Food and Drug Administration: (2000) "Action levels for poisonous or deleterious substances in human Food and animal Feed." US Food and Drug Administration, Industri Activities Staff Booklet.
90. Fennell, H.K: (1966) "Aflatoxins in ground nuts-IV Problems of Detoxification" Trop SCI 8:61-72
91. Fernández, A; Ramos, J,J; Sanz, M; Saez, T; Fernández de Luco, D: (1996) "Alterations in the performance, Hematology and chemical biochemistry of growing lamb sfed with aflatoxin in the diet" J. Appl Toxicol, 16(1):85-91
- 
92. Ferreira M, Tas S, dell'Omo M, Goormans G, Buchet J, & Lauwerys R (1994) "Determinants of benzopyrene diolepoxide adducts to albumin in workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons." Occup Environmen Medicine, 51: 451-455.
93. Firoz, P.F; Aboobaker, U.S; Bhattacharya, R.K: (1996) "Action of curcumin on the cytochrome P450-sistem catalyzing the activation of aflatoxin B1" Chero Bial Interact, 100(1):41-51
94. Frances, Trail et al: (1995) "Molecular biology of aflatoxin biosynthesis" Microbiology 141,765-775

95. Franco, C.M; Fente, C.A; Vazquez, B,I; Cepeda, A; Mahuzier, G; Pregon, P: (1998) "Interaction between cyclodextrin and aflatoxins Q1,M1,P1 Fluorescence and chromatographic studies". J.chromatogr A. 815(1):21-9
96. Frank, H.K; and Grunewald, T: (1970) "Radiation Resistance of aflatoxins" Food. Irrad 11:15-20
97. Freitas, V.P; Brigido, B.H: (1998) "Ocurrence of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in peanuts and their products marketed in the region of Campinas, Brazil in 1995 and 1996" Food Addict Contam, 15(7):807-11
98. Futa, H; Urga, K: (1966 "Screening of aflatoxins in shiro and ground red pepper in Addis Abeba" Athicip Med J. 34(4):243-9
99. Gabliks, J; Schaefer, W; Friedman, L; and Wogan, G.N: (1965) "Effect on aflatoxin B1 on cell cultures" J.Bacterial 90:720-723
- 
100. Gallagher, E.P; Kunze, K.L; Stapleton, P.L; Eaton, D.L: (1966) "The kinetics of aflatoxin B1 oxidation by human DNA-expressed and human liver microsomal cytochromes P450 1A2 and 3A4" Toxicol Appl Pharmacol, 141(2):595-606
101. Gemechu-Hatewn, M; Platt, K,L; Oesch, F; Hacker, H.J; Bannasch, P; Steinberg, P: (1997) "Metabolic activation of aflatoxin B1 to aflatoxin B1-8,9 epoxide in woodchucks undergoing chronic active hepatitis" Int J. Cancer 73(4):587-91



102. Ghosh, S.K; Desac, M.R; Pandya, G.L; Venkaiah K: (1997) "Airbone aflatoxin in the grain processing industries in India" Am Ind. Hyg Assoc J, 58(8):583-6
103. Goldblatt, L.A: (1971) "Control an Removal of aflatoxins" J.Am Oil Chem Soc. 48:605-608
104. Goldblatt, L.A; and Dollear, F.A: (1977) "Detoxification of contaminated crops". In micotoxins in Human and animal Health. Rodricks, Hesseltine and Mahman Eds Pathotox Pub. Pank Forest, 1L, 139
105. Goldblatt, L.A; Dollear, F.A: (1977) "Detoxificatun of contaminated grups in Micotoxins in Human and animal Health" Rodricks, Hesseltine and Mahtman Eds. Pathotek. Pub Park Forset, IL. 139
106. Goldblatt, L.A; In Goldblatt, L.A. (ed. 1969) "Aflatoxin" New York Academic Press pp. 1-11
107. Goldstein BD (1996) "Biological markers and risk assessment." Drug Metab Rev, 28: 225-233
108. Gopaldaswamy, U.V; Frei, E; Frank, N; Kliem, H.C; Wiessler, M; Bertram, B; Bhattacharga, R.K; (1998) "Chemopreventive effects of dithiocarbamates on aflatoxin B1 metabolism and formation of AFB1 adducts with glutathione" Anticancer Res., 18(3<sup>a</sup>):1827-32

109. Gotz; Wolfgang; Sachs; Albert and Wimmer, Hans (1980) Thin-layer chromatography. Gustav Fisher. Verlag, Germany.
110. Gourama, H; Bullerman, L.B: (1997) "Antiaflatoxic activity of *Lactobacillus casei pseudoplantarum*" *Int J. Food Microbiol*, 34(2):131-43
111. Gourmana, G; and Bullerman, L.B: (1995) "Aspergillus flavus and *Aspergillus parasiticus*: Aflatoxicogenic Fungi of concern in foods and feeds: A Review" *J. Food Protec* 58(12) 1395-1404
112. Gradelet, S: (1998) "Dietary carotenoids inhibit aflatoxin B1 induced liver preneoplastic foci and DNA damage in the rat: role of the modulation of aflatoxin B1 metabolism" *Carcinogenesis* 19(3):403-11
113. Gradelet, S; Le Bon A.M; Bergege, R; Suschetet, M; Astorg, P: (1998). "Dietary carotenoids inhibit aflatoxin B1 induced liver reneoplastic foci and DNA damage in the rat: role of the modulation of aflatoxin B1 metabolism carcinogenesis". *Carcinogenesis* 19(3):403-11
114. Granath FN, Vaca C, Ehrenberg L, & Tornqvist M (1999) "Cancer risk estimation of genotoxic chemicals based on target dose and a multiplicative model." *Risk Anal*, 19: 309-320.

115. Greene-Mc Dowelle, D.M; Ingher, B; Wright M.S; Zeringue, H.J. Jr; Bhatnager, D; Cleveland, T.E: (1999) "The effects of selected cotton-leaf volatiles on growth, development and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*". *Toxicon*, 37(6):883-93
116. Groopman J, Hall AJ, Whittle H, Hudson GJ, Wogan GN, Montesano R, & Wild CP (1992a) "Molecular dosimetry of aflatoxin-N7-guanine in human urine obtained in the Gambia, West Africa." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention*, 1: 221-227.
117. Groopman JD, Wild CP, Hasler J, Junshi C, Wogan GN, & Kensler TW (1993) "Molecular epidemiology of aflatoxin exposures: validation of aflatoxin-N7-guanine levels in urine as a biomarker in experimental rat models and humans." *Environ Health Perspect*, 99: 107-113.
118. Groopman JD, Zhu J, Donahue PR, Pikul A, Zhang L-S, Chen J-S, & Wogan GN (1992b) "Molecular dosimetry of urinary aflatoxin DNA adducts in people living in Guangxi autonomous region, People's Republic of China." *Cancer Res*, 52: 45-52.
119. Groopman, J,D; Busby, W.F. Jr; Donahue, P.R; Wogan G: (1985) "Aflatoxins as risk factors for liver Cancer: an application of monoclonal antibodies to monitor human exposure". *Bioch and mol Epidem of Cancer* 233-256

120. Groopman, J.D; Donahue, P.R; Zhu, J; Chen, J; Wogan, G: (1985)  
"Aflatoxin metabolism in humans: Detection of Metabolites and  
nucleic acid adducts in urine by affinity chromatographic" Proc.  
Natl Acad SCI Vol 82 pp 6492-6496
121. Groopman, J.D., Wogan, G.N., Roebuck, B.D., Kensler, T.W., (1994),  
"Molecular biomarkers for aflatoxins and their application to  
human cancer prevention.", Cancer Res. 1;54(7 Suppl):1907s-  
1911s.
122. Groopman, J.D; Wing, J.S; Scholl, P: (1996) " Molecellar biomarks for  
aflatoxins: from adducts to gene mutations to human liver  
cancer" Physiol Pharmacol, 74(2):203-9
123. Groopman, John D., Jackson, Peta., Egner Patricia., Kensler, Thomas  
W., (2001) "Molecular Epidemiology: Aflatoxin, p53 Mutation  
and Liver Cancer as a paradigm", Department of  
Environmental Health Sciences, Johns Hopkins University,  
Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD 21205.
124. Groopman, John D., Kensler, Thomas W., (1999) "The light at the end  
of the tunnel for chemical-specific biomarkers: daylight or  
headlight?", Carcinogenesis, Vol. 20, No. 1,1-11.
125. Guzman de Peña Doralinda (1989) Micotoxinas en el bajo  
Guanajuatense. Avances y Perspectiva # 40 Volumen 8.

126. Guzmán de Peña Doralinda; Anguiano R, Gloria; Medina Arredondo José J: (1992) "Modification of the method AOAC (CB method) for the detection of aflatoxins Bull environ contam Toxicol" 49:485-489
127. Guzmán de Peña, D: et al (1985) "Presencia de AFL en maíz recién cosechado" Centro de Inv. y Estudios avanzados del IPN Unidad Irapuato, Gto, Mex.
128. Guzmán de Peña, D; and Ruiz Herrera, J: (1997) "Relationship between aflatoxin biosynthesis and sporulation in *Aspergillus parasiticus*" Fungall Genetics and Biology 21,198-205
129. Guzmán de Peña, D; y Anguino, R.G.L: (1988) "Evaluación de la eficiencia de tres métodos analíticos para detección de aflatoxinas en maíz" Tec. Alimentos (Mex) Vol 23 #2
130. Guzmán, D: (1994) "Influencia del genotipo del maíz en la expresión genética de síntesis de AFL por *Aspergillus flavus*" Tesis Facultad de C. Biológicas; UABC
131. Hagmar L, Bonassi S, Strömberg U, Brøgger A, Knudsen LE, Norppa H, Reuterwall C, and the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (1998) "Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH)." Cancer Res, 58: 4117-4126.

132. Haltzapple, C.K; Carlin, R.J; Rose, B.G; Kabena, L.F; Stanker, L.H:  
(1996) "Characterization of monoclonal antibodies to aflatoxin  
M1 and molecular modeling studies of related aflatoxins".  
MolImmunol, 33(11-12):939-46
133. Harris C (1996) "P53 tumor suppressor gene: at the crossroads of  
molecular carcinogenesis, molecular epidemiology, and cancer  
risk assessment." Environ Health Persp, 104(Suppl 3): 435-  
439.
134. Hartley, R.D; Nesbitt, B.F; and Kelly, J.O: (1963) "Toxic Metabolism of  
Aspergillus flavus" Nature(London) 198:1056-1058
135. Hasan, H.A: (1999) "Mode of action of pesticides on aflatoxin  
biosynthesis and oxidase system activity" Microbiol Res,  
154(1):95-102
136. Hayes, J.D; Palfore, D,J; Ellis, E.M; McLeod, R; James, R.F;  
Seidegard, J; Moisialou, E; Jernstrom, B; Neal, G.E: (1998)  
"Regulation of rat glutathione s-transferase A5 by cancer  
chemopreventive agents: Mechanism of inducible resistance to  
aflatoxina B1" Chem Biol Intract, 111-112( ):51-67
137. Hemminki K, Autrup H, & Haugen A (1995) "DNA and protein  
adducts." Toxicol, 101: 41-53.
138. Hemminki K, Rajaniemi H, Koskinen M, & Hansson J (1997a)  
"Tamoxifen-induced DNA adducts in leucocytes of breast  
cancer patients." Carcinogenesis, 18: 9-13.

139. Hemminki K, Rajaniemi H, Lindahl B, & Moberger B (1996)  
"Tamoxifen-induced DNA adducts in endometrial samples from  
breast cancer patients." *Cancer Res*, 56: 4374-4377.

140. Hendrickse, R.G: (1997) "Of sick turkeys, Kwashiorkor, malaria,  
prinatal mortality, heroine addicts and fool poisoning: research  
on the influence of aflatoxins on child wealth in the tropics".  
*Aan Trop Med Parental*, 91(7):789-93.

141. Hill, P. G. and Wells, T. N. (1983) Bromocresol purple and  
measurement of albumin. Falsely high plasma albumin  
concentrations eliminated by increased reagent ionic strength.  
*Ann Clin Biochem* 20:264-270

142. Howe GR (1998) "Practical uses of biomarkers in population studies."  
In: Mendelsohn ML, Mohr LC, & Peeters JP ed. *Biomarkers:  
medical and workplace applications*, pp 41-49.

143. Hulka BS & Margolin BH (1992) "Methodologic issues in  
epidemiological studies using biomarkers." *Am J Epidemiol*,  
135: 200-204

144. Hulka BS (1991) "Epidemiological studies using biological markers:  
issues for epidemiologists." *Cancer Epidemiol Biomarkers  
Prev*, 1: 13-19.

145. IARC (1993) "Postlabelling methods for detection of DNA adducts." Phillips DH, Castegnaro M, & Bartsch H (eds). Lyon, International Agency for Research on Cancer (IARC Scientific Publication No. 124).
146. IARC (1994) "Scientific Publication No. 125, DNA Adducts: Identification and biological significance." Hemminki K, Dipple A, Shuker DEG, Kadlubar FF, Segerbäck D, & Bartsch H (eds). Lyon, International Agency for Research on Cancer.
147. IARC (1996) "Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 66. Some pharmaceutical drugs." Lyon, International Agency for Research on Cancer.
148. IARC (1997) "Scientific Publication No. 142, Application of biomarkers in cancer epidemiology." Toniolo P, Bofetta P, Shuker DEG, Rothman N, Hulka B, & Pearce N (eds). Lyon, International Agency for Research on Cancer.
149. Ibeh, I.N; Saxena, D.K: (1997) "Aflatoxin B1 and reproduction I Reproductive Performance in female rats" Afr. Reprod. Health, 1(2):79-84
150. Ibeh, I.N; Saxena, D.K: (1997) "Aflatoxin B1 and reproduction II Gametotoxicity in female rats" Afr. J. Reprod. Health, 1(2):85-9
151. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícola y Pecuarias (2003) Información Personal



152. Ip, S.P; Mak D.H; Li, P.C; Poon, M,K; Ko, K,M: (1996) "Effect of a lignan-enriched extract of Schisandra chinensis on aflatoxin B1 an cadmium chloride-induced hepatotoxicity in rats" Phasmacol Toxicol ,78(6):413-6

153. Jelinek, F.C; Pohland, A.E; and Wood, G.E: (1989) "Word wide occurrence of micotoxins in foods and feeds" An update J. Assoc. Anal Chem 72:223-230

154. Joksif G & Spasojevif -Tišma V (1998) "Chromosome analysis of lymphocytes from radiation workers in the tritium-applying industry." Int Arch Occupa Environ Health, 71: 213-220.

155. Jones, F.T; Wineland, M.J; Parsons J.T; Hagler, W.M.Jr: (1996) " Degradation of aflatoxin by pooltry Lilter" Poult Sci, 75(1):52-8

156. Karunaratane, A.E; Wezenberg; and Bullerman, L.B: (1990) "Inhibition of mold Growth and aflatoxin Production by Lactobacyllus SP"

---

J. Food Prot 53:230-236

157. Kensler, T.W: (1997) "Chemoprevention by inducers or carcinogen detoxication enzymes" Environt Medth Perfect, 105 Suppl 4:965-70

158. Kensler, T.W; He, X; Otiene, M; Egner, P.A; Jacebson, L.P; Chen, B; Wang, J.S; Zhu, Y.R; Zhang, B.C; Wang, J.B; Wu, Y; Zhang, Q.N; Qian, G.S; Kuang, S.Y; Fang, X; Li, Y.F; Yu, L.Y; Prochuska, H.J; Davidson, N,E; Gordon, G.B; Gorman, M,B; Zanba, A; Enger, C; Muñoz, A; Helzlsouer, K.J: etal (1998). "Oltipraz chemo prevention trial in Qidong, People's Republic of China: Modulation of serious aflatoxin albumin adduct biomarks-Cancer Epidemiol Biomarkers" Prev , 72(2):127-34

159. Kheiralla, Zeinab H: (1992) "Effect of incubation time, temperature and substrate on growth and AFL production" International Biodetermination y Biodegration 30(1992)17-27

160. Kinoshita, R; and Shikata, T: (1965) "On Toxic moldy rice. In Micotoxins in Food Staffs" (G.N. Wogan, ed) pp 111-132 Press, Cambrige Massanchusetts.

161. Kraybyll, Herman: et al cap. XV; "Implications of fungal toxicity to human Health" Cap XV

162. Kriebel D (1994) "The dosimetric model in occupational and environmental epidemiology." Occ Hyg, 1: 55-68.

163. Krugh, Palle: (1977) "Micotoxins tolerances in food stuffs" Pure and Appl Chem Vol 49 pp 1719-1721

164. Larman, A.S. Jr; Kuan, S.S; Ware, G.M; Vonrigar, P.P; Miller, K.V; Guerrero, H.G: (1996) "Robotic automated analisis of food for aflatoxin" JAOAC Int., 79(2):456-64

165. Larsson, P; Tjälre, H: (1966) "Bioactivation of aflatoxin B1 in the nasal and tracheal nuncasa in swine" *J. Anim Sci*, 74(7):1672-80
166. Lee, I.Y; Coe, E.L; and Freeman, S: (1965) "Effect of *Aspergillus fumigatus* endotoxin on the respiration and phosphorilation of Kidney tissue" *Arch. Biochem-Biophys* 110:23-31
167. Legator, M.S: (1966) "Biological effects on aflatoxin in cell culture" *Bacterial Rev.* 30:471-477
168. Lewis, G; Markson, L.M; and Allcraft, R: (1967) "The effect of feeding toxic groundnut meal to sheep over a period of five years". *Vet Record* 80,312-314
169. Lillehoj, E.B; Stabblefield, R.D; Shannon, G; and Shotweld, O.L: (1971) "Aflatoxin M1, Removal from Aqueous solutions by *Flavobacterium auranticum*" *Mycopathol. Mycol. Appl* 45:259-266

- 
170. Loe, D.W; Stewart, R.K; Massey, T.E; Deeley, R.G; Cole, S.P: (1997) "ATP-dependent transport of aflatoxina B1 and its glutathione conjugates by the product of the nullidrog resistance protein (MRP) gene" *Mol Pharmacol*, 51(6):1034-41

171. Loechler EL (1996) "The role of adduct site-specific mutagenesis in understanding how carcinogen-DNA adducts cause mutations: perspective, prospects and problems." *Carcinogenesis*, 17: 895-902.

172. López, J; Carvajal, M; and Ituarte, B: (1995) "Supervising Program of Aflatoxins in mexican corn" Food Additives and contaminants 12:297-312
173. Mac Donald, S; Castle,L: (1996) "A UK Retail survey of aflatoxins in herbs and spices and their fate during cooking. Food Addit Contam, 13(1):121-8
174. Mahanti, N; Bhatnagar, D; Cary, J.W; Joubran, J; y Linz, J.E: (1996) "Structure and function of fas-1A a gene encoding a putative fatty acid synthetase directly involved in aflatoxin biosynthesis in *Aspegyllus parasiticus*" *Appls. Environ Microbial* 62:191-5
175. Mahoney, N.E; Rodriguez, S.B: (1966) "Aflatoxin variability in pistachios" *Appl Enviroment Microbial*, 62(4):1197-202
176. Maller, R. S. (1980) *Iamenol Methods* 34:345-352
177. Mann, G.E; Codifer, L.P; and Dollear, F.G: (1976) "Effects of heat on aflatoxins in oilseed meals" *J. Agric Food Chem* 15:1090-1095
178. Manson M.M; Ball, H.W; Barret, M.C; Clark, H.L; Judah D.J; Williamson, G; Neal, G.E: (1997) "Mechanism of action of dietary chemoprotective agents in rat liver: induction of phase I and II drug metabolizing enzymes and aflatoxin B1 metabolism" *Carcinogenesis*, 18(9):1729-38

179. Manson, M.M; Hudson, E.A; Ball, H.W; Barrett, M.C; Clark, H.L; Judah, D.L; Verschuytle, R.D; Neal, G.E: (1998) "Chemoprevention of aflatoxin B1 induced carcinogenesis by indole 3 carbinol in rat liver predicting the outcome using early biomarkers" *Carcinogenesis*, 19(10):1829-36
180. Markaki, P; Melissarri, E: (1997) "Ocurrance of aflatoxin M1 in comercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC" *Food Addict Contain*, 14(5):451-6
181. Marsh, P.B: (1975) "Effects of trace metals on the production of aflatoxin by *Aspegyllus parasiticus*" *Appl. Microbiol* 30(1):52-7
182. Masimango, N.J; Remacle; Remant, J.L: (1978) "The role of absortion in the elimination of aflatoxin B1 from contaminated media" *Eur. J. Appl microbiol. Biotech* 6:101-105
183. Massey, T.E: (1966) "The 1995 pharmacological society of Canadian Merck Erosst Award. Cellular an Molecular targets in pulmonary chemical carcinogenesis: studies with aflatoxin B1"
184. Matsumara, M; Mori, T: (1998) "Detection of aflatoxins in autopsied materials from a patient infected with *Aspergyllus fleavus*". *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 39(3):167-71
185. Maureen, C Hatch; Chien-Jen Chen; Bruce Levin; Bu-Tian Ji; Guang-Yang Yang; Shang-Wei Hsu; Lian-Wen Wang; Ling-Ling Hsie; Hand, Regina M. Santella: (1993) "Urinay aflatoxin levels, Hepatitis B virus and infection and Hepatocellular carcinoma in

Taiwan" Int J. Cancer, 54:931-34

186. Mc Donagh, P.D; Juda, D.J; Hayes, J.D; Lian, L.Y; Neal, G.E; Wolf, C.R; Robets, G.C: (1999) "Determinants of specificity for aflatoxin B1-8,9 epoxide in alpha-class glutathione S-transfases" Biochem J, 339(pt1):95-101
187. Miele, M; Donato, F; Hall, A.J; Whittle, H; Chapot, B; Bonatti, S; de Frerrari, M; Artuso, M; Gallerani, E; Abbandandolo, A; Montesano, R; Wild, C.P: (1996) "Aflatoxin exposure and cytogenetic alterations in individuals from the Gambia, West Africa", Mutant Res, 349(2):209-17
188. Miller, M.W: (1961) "The pfizer handbook of microbial metabolism" Mc GrawHill, New York
189. Mocchegiani, E; Corradi, A; Santarelli, L; Tibaldi, A; De Angeli, E; Borghetti, P; Bonomi, A; Fabris, N; Cabassi, E: (1998) "Zinc, thimic endocrine activity and mitogen responsiveness (PHA) in piglets exposed to maternal aflatoxicosis B1 and G1" Vef Immanol Immanopathol, 62(3):245-60
190. Montesano, R; Hainaut, P; Wild, C.P: (1997) "Hepatocellular carcinoma: from gene to public health" J. Nat Cancer Inst., 89(24):1844-51
191. Mora, M; Lacey, J: (1997) "Handling and aflatoxin contamination of white maize in Costa Rica" Mycopathologia, 138(2):77-89

192. Moreau, C; and Moos, M; Eds: (1979) "Molds, Toxins and Food" John Wiley and sons, Chichester 43
193. Moss, M.O; and Smith J.E: (1985) "Micotoxins: Formation, Analysis and significance" John Wiley and Son, Chichester, 7
194. Muñoz A & Gange SJ (1998) "Methodological issues for biomarkers and intermediate outcomes in cohort studies." Epidemiologic Rev, 20: 29-42.
195. Nacha, L; Torres, E; Montoya, R; Castrellon, J. P; Acuña, K. (1996) Aflatoxias in food, foodstuffs and biological fluids in Monterrey, N. L., Mexico. IX International Symposiuion IUPAC on Micotoxins and Phycotoxins, Abstract Book, P. P. 143. Roma, Italia.
196. Nagao, M; Morita, N; Yahagi, T; Shimizu, M; Kuroyanagi, M; Fukuoka, M; Yoshihira, K; Natori, S; Fujino, T; Sugimmaru, T: (1981) "Mutagenicities of 61 Flavonoids and 11 Related compounds" Environ Mut. 3:401-419
197. Neal, G.E; Eaton, D.L; Juda, D.J; Verma, A: (1998) "Metabolismo y Toxicidad de aflatoxina M1 y B1 en sistema invitro derivada de humanos". Toxicol Appl. Pharmacol, 151(1):152-8

198. Neal, G.E; Judah, D.J; Stirpe, F; and Patterson. D.S.P: (1981), "The formation of 2,3 dihidroxy 2,3 Dihidro aflatoxin B1, by the metabolism of aflatoxin B1 by the liver microsomes insolated from certain avian and mammalian species and the possible role of this metabolite in the acute toxicity of aflatoxin B1" *Toxicology and Applied Pharmacology* 58:431-437
199. Nelson, D.B; Kimbrough, R; Landrigan, P.S; Hayes, A.W; Yang, G.C; and Benavides, J: (1980) "Aflatoxin and Reye's Syndrome: A case controls study" *Journal of the america academy of pediatric* 66,865-869
200. Nepote, M.C.; Piontelli, E.; Saubois, A: (1997). "Ocurrence of *Aspergillus flavus* strains and aflatoxina in cora from Santa Fe, Argentina". *Arch Latinoamerica Nutr.* 47(3):262-4.
201. Nesbitt, B.F; Kelly, J.O; Sargeang, K; and Sheridan, A: (1962) "Toxic metabolistes of *Aspergyllus flavus*" *Nature(London)* 195:1062-1063
202. Nesheim, S; Trucksess, M.W; Page, S.W: (1999) "Molar absorptivities of aflatoxins B1,B2, G1 and G2 in acinfonile, methanol and Toluene-acetronile(aH)(Modification of AOAC official Method 971.22): Collaborative Study" *JAOAC Int.*, 82(2):251-8
203. Nestmann ER, Bryant DW, & Carr CJ (1996) "Toxicological significance of DNA adducts: Summary of discussions with an expert panel." *Regul Toxicol Pharmacol*, 24: 9-18.



204. Netke, SP. et al (1997) "Ascorbic acid protects gineas pigs from acute aflatoxin toxicity" *Toxicol Appl pharmacol* 143(2):429-35
205. Neumann H-G (1984) "Analysis of hemoglobin as a dose monitor for alkylating and arylating agents." *Arch Toxicol*, 56: 1-6.
206. NRC (National Research Council) (1989b) "Biological markers in pulmonary toxicology." Washington, DC, National Academy Press, pp 179.
207. NRC (US National Research Council) (1983). "Risk assessment in the Federal Government: Managing the process." Washington, DC, National Academy Press.
208. Oettle, A.G: (1965) "The Etiology of primary carcinoma of the liver in Africa : A critical appraisal of previous idees with an outline of the micotoxin hipotesis" *S. Africans Med J.* 39,817-825
209. Omer, R.E; Bakker M.I; Vant Veer, P; Hoogenboom, R.L; Polman, T.H; Alink, G.M; Idris, M.O; Kadaru, A.M; Kok, F.J: (1998) "Aflatoxin an liver cancer in Sudan", *Nut Cancer*, 32(3):174-80
210. Ong, T.M: (1975) "Aflatoxin Mutagenesis" *Mutation Research* 32:35-53
211. Otteneder M & Lutz WK (1999) "Correlation of DNA adduct levels with tumor incidence: carcinogenic potency of DNA adducts." *Mutat Res*, 424: 237-247.

212. Oyelam O.A; Maxwell, S.M; Adelusola, K.A; Aladekoma, T.A; Oyelese, A.O: (1998) "Aflatoxins in autopsy kidney specimens from children in Nigeria" *J. Toxicol Environ Health*, 55(5):317-23
213. Oyelami, O.A; Maxwell, S.M; Adelusola, K.A; Aladekoma, T.A; Oyelese, A.O: (1997) "Aflatoxins in the lung of children with kwashiorkor and children with miscellaneous diseases in Nigeria" *J. Toxicol Environ health*, 51(6):623-8
214. Payne, G.A; Brown, M.P: (1998) "Genetic and Physiology of Aflatoxin Biosynthesis" *Annv. Rev. Phytopathol* 36:329-62
215. Payne, Gary. A: (1992) "Aflatoxin in Maize" *Critical Reviews in plant scines*, 10(5):423-440
216. Peers, F.G; and Linsell, C.A: (1975) "Aflatoxin contamination and its heat stability in Indian Cooking oils" *Trop. Sci*, 17:229-232
217. Philips, T.D; Kubena, L.F; Hayvey, R.B; Taylor; and Hiedelbaugh, N.D: (1988) "Hidrated sodium-calcium alluminosilicate: A High affinity serbent for aflatoxin" *Poultry Sci* 67:243-251
218. Phillips, J.C; Davies, S; Lake, B.G: (1999) "Dose reponse relationships for hepatic aflatoxin B1-DNA adduct formation in the rat in vivo and in vitro: the use of immunoslot blotting for adduct quantitation" *Teratog Carcinog Mutagen*, 19(2):157-70
219. Pitt, R.E: (1995) "A model of aflatoxin formulation in stored products" *American society of agricultural engineers* 1445-1453

220. Poirier MC (1997) "DNA adducts as exposure biomarkers and indicators of cancer risk." *Environ Health Perspect*, 105(Suppl. 4): 907-912.
221. Ponce RA, Bartell SM, Kavanagh TK, Woods JS, Griffith WC, Lee RC, Takaro TK, & Faustman EM (1998) "Uncertainty analysis for comparing predictive models of biomarkers: a case study of dietary methyl mercury exposure." *Reg Tox Pharm*, 28: 96-105.
222. Premalatha, B; Muthulakshmi, V; Sachdanandam, P: (1999) "Anticancer potency of the milk extract of semecarpus anacardicem Linn. Nuts against aflatoxina B1 medicted hepatocellular carcinoma bearing Wistar rats with reference to tumor marked enzymes" *Phytother Res* 13(3):183-7
223. Prieto, R; Yousibosa, G.L; Woloshuk, C.P: (1996) "Identification of aflatoxin biosynthesis genes by genetic complementation in an *Aspergillus flavus* mutant laking the aflatoxin gene cluster" *Appl Environ Microbiol*, 62(10):3967-71
224. Quereshi, M.A; Brake, J; Hamilton, P.B; Hagler, W.M. Jr; Mesheim, S: (1998) "Dietary exposure of broiler breeders to aflatoxin results in immune disfunction in progeny chicks" *Poult Sci*, 77(6):812-9
225. Ramírez Juan José; 2000 "Hallan 27 toneladas de maíz contaminado" *Periódico el Norte de Monterrey*, N.L. Mx. 9 Agosto pp 19<sup>a</sup>

226. Ramos, A.J; Hernandez, E: (1996) "In situ absorption of aflatoxin in rat small intestine" *Micopathologia*, 134(1):27-30
227. Rdz del B, Luis, A: (1995) "Control de aflatoxinas en maiz en Tamps" *Inst. Nac. De Inv. Forestales y Agropecuarios Folleto Tec. #17*
228. Resnik, S; Neira S; Pacin, A; Martínez, E; Apro, N; Latreite, S: (1996) "A survey of the natural occurrence of aflatoxins and zearaleanone in Argentine field maize: 1983-1994". *Food Addict contam*, 13(1):115-20
229. Reyes Méndez, C: (1995) "Control de aflatoxinas en el maíz de Tamps" apuntes del curso de precongreso patogenicidad de aflatoxinas. *Fac. Medicina. U. A. N. L.*
230. Rivkina, M; Cote, P,J; Robinson, W.S; Tennant, B.C; Marion, P.C: (1996) "Absence of mutation in the p53 tumor suppressor gene in woodduck hepatocellular carcinomas associated with hepadnavirus infection and intake of aflatoxina B1" *Carcinogenesis*, 17(12):2689-94
231. Ross, M.K; Mathison, B.H; Said, B; Shank, R.C: (1999) "Methylcytosine in CpG sites and the Reactivity of nearest neighboring toward the carcinogen aflatoxin B1-8,9-epoxide" *Biochem Biophys Res Commun*, 254(1):114-9

232. Rothman N, Stewart WF, & Schulte, PA (1995) "Incorporating biomarkers into cancer epidemiology: a matrix of biomarker and study design categories." *Cancer Epid Biomarkers Prevention*, 4: 301-311.
233. Roy, S.K; Kulkarni, A.P: (1997) "Aflatoxin B1 epoxidation catalysed by partially purified human liver hipoxigenosa" *Xenobiotica*, 28(2):231-41
234. Rubens, J.F.et al (1992) "Aflatoxins in animal and human health" *Rev. Environ Toxicol* 127:69-94
235. Ruiz Herrera, J. L; Guzmán de Peña, Doralinda; Peña Cabriales, J. J. (año) *Perspectiva de la microbiología en México*. Instituto Politécnico Nacional. P. P. 181-199
236. Sabbioni, G., Skipper, P.L., Buchi, G., Tannenbaum, S.R., (1987) "Isolation and characterization of the major serum albumin adduct formed by aflatoxin B1 in vivo in rats", *Carcinogenesis*, Vol. 8, 819-824.
237. Saito, I; Myamura, T; Ohbayashi, A; Harada, H; Katayama, T, Kikuchi, S; Watamabe, Y; Koi, S; Onji, M; Ohta, Y; Choo, Q.L; Houghton, M; and Kuo: (1990) "Hepatitis C Virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma" *Proc Natl Acad Sci* 87 pp 6547-49

238. Sajan, M.P. et al (1997) "Effect of aflatoxin B in vitro on rat liver mitochondrial respiratory functions" *Indian J. Exp Biol* 35(11):1187-90
239. Santella R, Hemminki K, Tang D, Paik M, Ottman R, Young TL, Savela K, Vodickova L, Dickey C, Whyatt R, & Perera FP (1993) "PAH-DNA adducts in white blood cells and urinary 1-hydroxypyrene in foundry workers." *Cancer Epi Biomarkers Prev*, 2: 59-62.
240. Santuario, J.M; Mallmann, C.A; Rosa, A.P; Appel, G; Heer, A; Dageforde, S; Botteher, M: (1999) " Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broile chickeas intoxicated with aflatoxins" *Br. Poult Sci*, 40(1):115-9
241. Scott, P.M; Lawrence, G.A: (1997) "Determination of aflatoxin s in beer" *JAOAC Int.* 80(6):1229-34
- 
242. Schiller, F; Lippold, U; Heinse, R; Hoffmann, A; Seffner, W: (1998) "Liverfibrosis in guinea pigs expirementally induced by combined cooper an afaltoxin application" *Exp Toxicol Pathol*, 50(4-6):519-27
243. Scholten, J.M; Spanjer, M.C: (1966) "Dtermination of aflatoxina B1 in pistachio kernels an shells" *JAOAC Int* 79(6):1360-4
244. Scholl, P.F; Musser, S.M; Groupman, J.D: (1997) "Sinthesis and characterization of aflatoxin B1 mercapturic acids and their identification in ratarine.

245. Schulte PA & Perera FP (1993) "Validation." In: Schulte PA & Perera FP ed. Molecular epidemiology: principles and practices, San Diego, CA, Academic Press, pp 79-107.
246. Schulte PA & Waters, M (1999) "Using molecular epidemiology in assessing exposure for risk assessment." Ann NY Acad Sci, 895: 101-111.
247. Secretaria de Salud Publica, Gobierno de Mexico.
248. Seffner, W; Schiller, F; Lippold,U; Dieter, M,H; Hoffmann, A: (1997) "Experimental induction of liver fibrosis in young quinea pigs by combined aplication of copper sulphate and aflatoxin B1" Toxicol Lett, 92(3):161-72
249. Selim, M.I; Juchems, A.M; Popendory W: (1998). "Assesing airborne aflatoxin B1 during on form grain handing activities". Am Ind. Hyg. Assoc J. 59(4):252-6
- 
250. Selina M.I; Popendon, W; Ibrahim, M.S; Sharkawy, S; Kashory, E.S: (1996) "Aflatoxin B1 in common Egyptian foods" JAOAC Int., 79(5):1125-9
251. Sell, S; Xu, K.L; Huff, W.E; Kabena, L.F; Harvery, R.B; Dunsford, H.A: (1998) "Aflatoxin exposure produces serius alphafetoprotein elevations and marked oval cell proliferation in young male" Pekin ducking. Pathology, 30(1):34-9

252. Sergeant, K; Sheridan, J; O'Kelly; and Carnaghan, R.B.A: (1961)  
"Toxicity Associated with certain samples of ground  
nuts" Nature (London) 192:1095-1097
253. Shank, R.C. (ed) (1981) "Micotoxins and N-Nitroso compound:  
Environmetal Riskes" Boca Ratón, FL. CRC. Pp 107-140
254. Shapiro, M. B. An algorithm for reconstructing protein and RNA  
sequences. Jour. ACM, 14(4): 720-731, Oct 1967
255. Shen, H.M; Ong, C.N: (1996) "Mutations of the p53 tumor suppresor  
gene and ras oncogenes in aflatoxin" Hepatocarcinogenesis  
Mutat Res, 366(1):23-44
256. Shigenaga MK, Aboujaoude EN, Chen, & Ames BN (1994) "Assays of  
oxidative DNA damage biomarkers 8-oxo-2'-deoxyguanosine  
and 8-oxoguanine in nuclear DNA and biological fluids by high-  
performance liquid chromatography with electrochemical  
detection." Methods Enzymol, 234: 16-33.
257. Shugart LR, McCarthy JF, & Halbrook RS (1992) "Biological markers  
of environmental and ecological contamination: An overview."  
Risk Analysis, 12: 353-360.
258. Shuker DE & Farmer PB (1992) "Relevance of urinary DNA adducts  
as markers of carcinogen exposure." Chem Res Toxicol, 5:  
450-460.



259. Siame, B.A; Mpuchane, S.F; Gashe, B.A; Allotey, J; Teffera, G: (1998)  
"Ocurrence of aflatoxins B1, fumonosin, and zearalenona in  
food and feeds in Botswana" J. Food Prot, 61(12):1670-3
260. Siloa, J.C; Minto, R.E; Barry, C.E. 3rd; Holland, K.A; Townsend, C.A:  
(1996) "Isolation and charaterization of the versicolorin B  
sinthetasa gene from *Aspergyllus parasiticus*, Expansion of the  
aflatoxin B1 Biosynthetic gene" cluster J. Biol Chem,  
271(23):13600-8
261. Silva, J.C; Townsend, C.A: (1997) "Heterologus expression, isolation,  
and characterization of versicolorin B synthetase from  
*Aspergyllus parasiticus*, Akeg enzyme in the aflatoxin B1  
biosythesic pathway" J. Biol Chem, 272(2):804-13
262. Simon, P; Delsaut, P; Lafontaine, M; Morele, Y; Nicat, T: (1998)  
"Automated column switching high performance liquid  
chromatography for the determination of aflatoxin M1"  
J.Chromatogr B Biomed Sci Appl 712(1-2):95-104
263. Sinz, Michael W. Et al (1991) "Aflatoxin Biosynthesis" J. Toxicol Rev.  
10(1):87-121
264. Sluis-Cremer, N; Wallace, L; Burke, J; Stevens, J; Dion, H: (1998)  
"Aflatoxin B1 and sulphobromophthalein binding to the dimeric  
human glutatione S-transfrase A 1-1: a fluorescence  
spectroscopic analysis". Evr J. Biochem, 257(2):434-42

265. Sobels FH (1993) "Approaches to assessing genetic risks from exposure to chemicals." *Environ Health Perspect*, 101(Suppl 3): 327-332.

266. Soini, Y: (1996) "An Aflatoxin-associated mutational hot spot at codon 249 in the P53 tumor suppressor gene occurs in hepatocellular carcinoma from México" *Carcinogenesis* Vol 17 #5 pp 1007-1012

267. Souza, M.F; Tome, A.R: (1999) "Inhibition by the foranoid termatin of aflatoxin B1-induced lipid peroxidation in rat liver" *J. Pharm Pharmacol*, 51(2):125-9

268. Sreenirasamurthy, V; Parpia, H.A.B; Srikanta, S; Srikanta, A; and Shankarmurti, A: (1967) "Detoxification of aflatoxin in peanut meal by hydrogen peroxide" *J. Assoc off Anal. Chem* 50:350-354

---

269. Stanley, L.A; Mandel, H.G; Riley, J; Sinha, S; Higginson, F.M; Juda, D.J; Neal, G.E: (1999) "Mutations associated with in vitro aflatoxin B1 induced carcinogenesis need not be present in the vitro transformations by this toxin" *Cancer Lett*, 137(2):173-81

270. Stayner L (1992) "Methodologic issues in using epidemiologic studies for quantitative assessment." In: Clewell HJ ed. Proceedings from Conference of Chemical Risk Assessment in the DOD: Science, Policy, and Practice. ACGIH, Cincinnati, OH, pp 43-51.
271. Stokinger HE & Mountain JT (1963) "Tests for hypersusceptibility to hemolytic chemicals." Arch Environ Health, 6: 495-502.
272. Stoloffin; Rodricks, J.V; Hesseltine, C.W; Mehlman, M.A: (1977) (eds) "Micotoxins in human and animal health" Park Forest South IL: Pathotox, pp 7-28
273. Strickland PT, Routeledge MN, & Dipple A (1993) "Methodologies for measuring of carcinogen adducts in humans." Cancer Epi Biomarkers Prev, 2: 607-619.
274. Strickland, P.T., Goodman, J.D., (1995), "Biomarkers for assessing environmental exposure to carcinogens in the diet", American Journal of Clinical Nitrition, Vol. 61,710S-720S
275. Swensen, D.H; Lin, J.K; Miller, J.A; and Miller, E.C: (1977) "Aflatoxin B1-2,3-epoxide as a Probable Intermediate in the covalent binding of aflatoxins B1, and B2 in rat liver DNA and RDA in vivo" Cancer Res 37:172-1801

276. Tagesson C, Kallberg M, Klintenberg C, & Starkhammar H (1995)  
“Determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by  
automated coupled-column high performance liquid  
chromatography: a powerful technique for assaying in vivo  
oxidative DNA damage in cancer patient.” Eur J Cancer, 31A:  
934-940.

277. Taubehaus, J.J., (1920) “A study of the black and the yellow molds of  
the ear corn.” Texas agricultural experimental station Bulletin  
270,3-38.

278. Törnqvist M & Landin HH (1995) “Hemoglobin adducts for in vivo dose  
monitoring and cancer risk estimation.” J Occup Environ  
Medicine, 37: 1077-1085.

279. Torres, E. E; Acuña, A. K. (1995) Cuantification of aflatoxins in corn  
distributed in the City of Monterrey, México. Food Additives  
and contaminants, 12(3) P.P. 383-386

280. Torres, E: (1996) “Aflatoxinas y otros factores Etiologicos, Diagnostico  
y Tratamiento del carcinoma hepatocelular” Curso Tecnico-  
Practico, Fact. Medicina UANL

281. Torres, E: (1995) “Historia e Importancia de las aflatoxinas” Memorias  
del curso Precongreso de la Investigación Biomédica, Fact  
Medicina, U. A. N. L.

282. Townsed, C.A; Crhistensen, S.B; Trautwein, K: (1984) “Hexanoato as  
a starter unit in poliketide sinthesis” J. Chem. Soc. 106:3868-9

283. Trail, F.N; Mahanti; and Linz, J: (1995) "Molecular Biology of aflatoxin biosynthesis" *Microbiology* 141:755-765
284. Troxel, C.M.; Buhler, D.R; Hendricks, J.D; Bailey, G.S: (1997) CYPIA "Induction by beta-naphthoflavone, Arodor 1254, and 2,3,7,8 Tetrachloro dibenzo p-dioxin and its influence on aflatoxin B1 metabol and DNA adduction in zebrafish". *Toxicol Appl Dharmacol*, 146(1):69-78
285. Tupule, P.G; Madhavan, T.V; and Gopalan, C: (1964) "Effect of feeding aflatoxin in young monkeys" *Lancet* i, 962-963
286. Turmo, E. et al (1991) "Sintesis and metagenicity of the aflatoxin B1, model 3<sup>a</sup>.8<sup>a</sup>-dihidro 4,6 dimethoxyfuro (2.3-b) benzofuran and its 2.3 epoxy derivative" *Journal of agriculture and Food Chemistry* 39:1723-1728
287. Turner, P.C; Dingley, K.H; Coxhead, J; Russell, S; Garner, C.R: (1998) "Detectable levels of serum aflatoxin B1-albumina adducts in the United Kingdom population implications for aflatoxin B1 exposure in the United Kingdom" *Cancer Epidemial Biomarks Prev*, 7(5):441-7
288. Umeda, M: (1964) "Cytotoxic effects of the micotoxins of *Penicillium islandicum* sopp luteoskin and chlorine containing peptide on chang's liver cells an Hela cells" *Acta Pathol Japan* 14:373-394

289. Van Reinsburg, S.J; In Rodricks, J.V; Hesseltine, C.W; Mehiman, M.A:  
(eds) (1977) "Micotoxins in human and animal health" Park  
Forest South, IL; Pathotex pp 699-711

290. van Sittert NJ, Boogaard PJ, Natarajan AT, Tates AD, Ehrenberg LG,  
& Tornqvist M (2000) "Formation of DNA adducts and induction  
of mutagenic effects in rats following 4 weeks inhalation  
exposure to ethylene oxide." Mut Res, 447: 27-48.

291. Vasanthi, S; Bhat, R.V: (1998) "Mycotoxins in food, occurrence, health  
and economic significance and food control measures" Indian  
J. Med Res, 108( ):212-24

292. Venitketkumvnen, U; Chewonarin, T; Kongtawelert, P; Lertianyarak, A;  
Peerakhom, S; Wild, C.P: (1997) "Aflatoxin exposure is haigher  
in vegetarians than nonvegetarians in Tailand" Nat. Toxins,  
5(4):168-71

293. Vidgasugar T; Sujatha, N; Sashidhar, R. B. (1997) Direct síntesis of  
aflatoxia B1 – N7 guanina adduct: a reference standard for  
biological monitoring of dietary aflatoxin expusure in molecular  
epidemiological standjes. Food Addit contam. 14(5):457-67

294. Vidgasugar, T; Sujatha, N; Sashidhar, R.B: (1997) "Determination of  
aflatoxin B1-DNA addict in rat liver by enzyme immnuassay"  
Analyst 122(6):609-13

295. Vidyasagar, T; Vyjayaathi, V; Sujatha, N; Rao, B.S; Bhat, R.V: (1997)  
Quantitation of aflatoxin B1-N7-guanina adduct in urine by  
enzyme-Linked immunosorbent assay coupled with  
immunoaffinity chromatography" JAOAC Int, 80(5):1013-22
296. Vongbuddhakit, A; Trucksess, M.W; Atisook, K; Suprasert, D;  
Horwitz, W: (1999) "Laboratory Proficiency testing of aflatoxin  
in corn and peanuts a cooperative project between Thailand  
and The United States" JAOAC Int., 82(2) :259-63
297. Wang, J.S; Qian G.S; Zamba, A; He X; Zhu, Y.R; Zhang, B.C;  
Jacobson, L; Gange, S.J; Muñoz, A; Kensler, T.W: Etal (1996).  
"Temporal patterns of aflatoxin-albumin adducts in Hepatitis B  
Surface antigen-positive and antigen-negative residents of  
Daxin, Qidong Country, People's Republic of China" Cancer  
Epidemiol Biomarkers Prev, 5(4):253-61.
- 
298. Wang, J.S; Shen, X; He, X; Zhu, Y.R; Zhang, B.C; Wang, J.B; Qian,  
G.S; Kuang, S.Y; Zamba, A; Egner, P.A; Jacobson, L.P;  
Muñoz, A; Helzlsouer, K.J; Groopman, J.D; Kensler, T.W:  
(1999) "Protective alterations in phase 1 and 2 metabolism of  
aflatoxin B1 by oltipraz in resident of Qidong People's Republic  
China" J. Natl Cancer Int., 91(4):347-54
299. Wang, Jia-Sheng. Et al (1999) "DNA damage by micotoxinas"  
Mutation Research 424(1999):167-181

300. Wang, Jia-Sheng., Abubaker, Salahaddin., He, Xia., Sun, Guiju., Strickland, Paul T., Groopman, John D., (2001), "Development of Aflatoxin B1-Lysine Adduct Monoclonal Antibody for Human Exposure Studies", *Applied and Environmental Microbiology*, p. 2712-2717. Vol. 67, No.6.
301. Wang, L.Y; Hatch, M; Chen, C.J; Levin, B; You, S.L; Lu, S.N; Wu, M.H; Wu, W.P; Wang, L.W; Wang, Q; Huang, G.T; Yang, P.M; Lee H.S; Santella, R.M: (1996) "Aflatoxin exposure and risk of hepatocellular carcinoma in Taiwan" *Int J. Cancer*, 67(5):620-5
302. Whitaker, T.B; Hagler, W.M. Jr; Giesbrecht, F.G: (1999) "Performance of sampling plans to determine aflatoxin in farmer's stock peanut lots by measuring aflatoxin in high-risk-grade components" *JAOAC Int.* 82(2):264-70
303. Whitaker, T.B; Hagler, W.M. Jr; Giesbrecht, F.G; Dorner, J.W; Dowell, F.E; Cole, R.J: (1998) "Estimating aflatoxin in farmers stock peanut lots by measuring aflatoxin in various peanut-grade components". *JAOAC Int.* 81(1):61-7
304. Wild, C.P., Turner, P.C., (2002) "The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions", *Mutagenesis*, Vol. 17, No. 6, 471-481.
305. Wild, C.P; Garner, R.C; Montesano, R; and Tursi, F: (1986) "Aflatoxin B1 binding to plasma albumin and liver DNA upon chronic administration to rats" *Carcinogenesis* Vol 7 #6 853-58



306. Wilson, D. M; Zaber, M. S; Lilleoj, E. B; Renfro, B. L. (1987) Aflatoxins in maize (eds) CIMMYT, Mexico; Chang, M. M; De Vries, J. W; Hobbs, W. E; J. Assoc. of Anal. Chem. Gz. (1979) 1281
307. Withers, R.F.J: (1965) "The action of some lactones and related compound on human chromosomes". Symp. Mutational Proc. Mechanism Mutation Inducing Factors, Prague, pp 359-364.
308. Wogan, G.N: (1965) "Experimental Toxicity and carcinogenicity of aflatoxins. In Micotoxins in foodstuffs" pp 163-173 MIT Press Cambridge, Massachusetts.
309. Wogan, G.N; Paglialungas, S; Newberne, P.M: (1974) "Carcinogenic Effects of low Dietary Levels of aflatoxin B1 in rats" Cosmet Toxicol 12:681-685
310. Yanborourgh, A; Zhang, Y.J; Hsu, T.M; Santella, R.M: (1996) "Immunoperoxidase detection of 8-hydroxydeoxyguanosine in aflatoxin B1-treated rat liver and human oral mucosal cells" Cancer Res, 56(4):683-8
311. Yoshizawa, T; Yamashita, A; Chokethaworn, N: (1996) "Occurrence of fumonosinas and aflatoxins in corn from Thailand" Food Addict Conform, 13(2):163-8

312. Yu, J; Chang, P.K; Cary, J.W; Bhatnagar, D; Cleveland, T.E: (1997)  
“ava A, a gene encoding a cytochrome P-450 monooxygenase,  
is involved in the conversion of averantin to averufin in  
aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus parasiticus*” *Appl Environ  
Microbiol*, 63(4):1349-56

313. Yu, J; Chang, P.K; Ehrlich K.C; Cary,J.W; Montalbano, B; Dyer, J.M;  
Bhatnagar, D; Cleveland, T.E: (1998) “Characterization of the  
critical amino acids of an *Aspergillus parasiticus* cytochrome  
P-450 monooxygenase encoded by ord A that is involved in the  
biosynthesis of aflatoxin B1, G1,B2 and G2” *Appl Environ  
Microbiol*,64(12):4834-41

314. Zaika, L.L; and Buchanan, R.L: (1987) Review of Compounds affecting  
the biosynthesis or bioregulation of aflatoxin” *J. Food Protect.*  
50(8):691-708

315. Zhao C, Tyndyk M, Eide I, & Hemminki K (1999) “Endogenous and  
background DNA adducts by methylating and 2-  
hydroxyethylating agents.” *Mutat Res*, 424: 117-125.

316. Zuckerman, A.J; Tsiquaye, K.N; and Fulton, G: (1967) Tissue culture  
of human embryo liver cells and the cytotoxicity of aflatoxin B1”  
*Brit J. Exptl Phatol* 48:20-27

