



Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación

INFORME FINAL

PREVALENCIA DE AFLATOXINA B1 EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE CIRROSIS HEPÁTICA.

Equipo de investigación

Dra. Kira Cristina Mochela Escobar García

Dra. Carmen Villagrán de Tercero

Dr. Alfonso Zetina

Auxiliar II Nidia Lemus Car

Guatemala Marzo 2016

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA

Hospital General San Juan de Dios – Hospital Roosevelt

Centro de Investigaciones de Facultad de Ciencias Médicas - CUM

Universidad de Louisville Kentucky

M.Sc. Gerardo Arroyo Catalán

Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar

Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Valencia

Coordinadora del Programa Universitario de Investigación-Interdisciplinario en Salud.

Dra. Kira Cristina Mochela Escobar García

Coordinador del proyecto.

Dra. Kira Cristina Mochela Escobar García

Dr. Alfonso Zetina

Dra. Carmen Villagrán de Tercero

Investigadores

Nidia Lemus Car

Auxiliar de Investigación II

Partida Presupuestaria

4.8.63. 1.78

Año de ejecución: 2015

INDICE

Contenidos

Resumen

Introducción

Marco teórico y estado del arte

Materiales y métodos

Resultados

Análisis y discusión de resultados

Conclusiones

Referencias bibliográficas

Figuras (fotografías, gráficas, diagramas)

Fotografía No. 1 Centrifuga en frío y suero de pacientes en criotubos

Fotografía No. 2 Criotubos en congelador a -80 grados

Fotografía No. 3 Criotubos en congelador a -80 grados

Fotografía No. 4 ELISA de hepatitis B

Fotografía No. 5 ELISA de hepatitis B

Fotografía No. 6 ELISA de hepatitis C

Fotografía No. 7 Prueba rápida DETERMINA para VIH

Tablas

Tabla No. 1 Casos presentados por sexo

Tabla No. 2 Controles presentados por sexo

Tabla No. 3 Etiología de la cirrosis

Tabla No. 4 Casos presentados por dependencia al alcohol

Tabla No. 5 Controles presentados por dependencia al alcohol

Tabla No. 6 Casos presentados por edades

Tabla No. 7 Controles presentados por edades

Tabla No. 8 Casos presentados por etnia

Tabla No. 9 Controles presentados por etnia

Tabla No. 10 Casos presentados por región de procedencia

Tabla No. 11 Controles presentados por región de procedencia

Tabla No. 12 Casos presentados por región de residencia

Tabla No. 13 Controles presentados por región de residencia

Tabla No. 14 Casos presentados según uso de medicamentos hepatotóxicos

Tabla No. 15 Controles presentados según uso de medicamentos hepatotóxicos

Tabla No. 16 Consumo de productos a base de maíz, casos

Tabla No. 17 Consumo de productos a base de maíz, controles

Tabla No. 18 Consumo de otros granos café/nueces, casos

Tabla No. 19 Consumo de otros granos café/nueces, controles

Tabla No. 20 Pruebas serológicas Casos

Tabla No, 21 Pruebas serológicas controles.

PREVALENCIA DE AFLATOXINA B1 EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE CIRROSIS HEPÁTICA.

2.

Resumen

La aflatoxina B1 es una micotoxina que causa retraso en el desarrollo y crecimiento infantil así como daño hepático por su capacidad cancerígena debida a la exposición crónica. El presente estudio busca establecer la prevalencia de aflatoxina B1 en el suero de los pacientes que presentan diagnóstico de cirrosis hepática, por medio de método de ELISA que identificará aductos de aflatoxina B1- albumina que evidenciará la exposición crónica a aflatoxina B1 presente en la dieta del guatemalteco. Se espera contribuir a la prevención de las enfermedades hepáticas con el mejoramiento de la vigilancia del contenido de aflatoxina en los productos de consumo de los guatemaltecos y proporcionar una nueva fuente de información para nuevos estudios en el país relacionados con estas micotoxinas.

Palabras claves

Aflatoxina B1, Cirrosis Hepática, Aductos de Aflatoxin

3. Introducción

En Guatemala no existen estudios que establezcan la prevalencia de niveles detectables en suero humano de aflatoxina B1 en pacientes que presentan diagnóstico de cirrosis hepática; estudios anteriores han establecido que la exposición a aflatoxina B1 es un factor de riesgo para el desarrollo de lesión hepática y es un potente cancerígeno, debe de estudiarse en nuestro país ya que existen estudios que demuestran que consumimos niveles superiores a los aceptados por la FDA de aflatoxina B1 en nuestra dieta. La presente investigación establecerá la presencia de Aflatoxina B1 en suero sanguíneo de los pacientes con diagnóstico de Cirrosis Hepática por método de HPLC con detector de Fluorescencia con esto se generará nuevo conocimiento para iniciar una mayor vigilancia del contenido de aflatoxina B1 en os alimentos y se podrá constituís un punto de partida para la generación de nuevas investigaciones.

Descripción del problema

En Guatemala no existen estudios que establezcan la prevalencia de niveles detectables en suero humano de aflatoxina B1 en pacientes que presentan diagnóstico de cirrosis hepática; estudios anteriores han establecido que la exposición a aflatoxina B1 es un factor de riesgo para el desarrollo de lesión hepática y es un potente cancerígeno, debe de estudiarse en nuestro país ya que existen estudios que demuestran que consumimos niveles superiores a los aceptados por la FDA de aflatoxina B1 en nuestra dieta. La presente investigación establecerá la presencia de Aflatoxina B1 en suero sanguíneo de los pacientes con diagnóstico de Cirrosis Hepática por método de ELISA con esto se generará nuevo conocimiento para iniciar una mayor vigilancia del contenido de aflatoxina B1 en os alimentos y se podrá constituís un punto de partida para la generación de nuevas investigaciones.

Definición del problema

Primaria

¿Cuál es prevalencia de aflatoxina B1 en el suero de los pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática en el Hospital San Juan de Dios y hospital Roosevelt?

Secundarias

¿Qué otros factores de riesgo presentan los pacientes para el desarrollo de cirrosis hepática?

Justificación

Las aflatoxinas, micotoxinas producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, problema de la post-cosecha de granos como el maíz, manías y otras nueces; estas pueden contaminar los productos al momento de ser cultivados, procesados, transformados o almacenados al ser expuestos a humedad y temperaturas no adecuadas.

Las aflatoxinas son factor de riesgo para una nutrición y crecimiento inadecuado y para el desarrollo de enfermedades hepáticas como carcinoma hepatocelular. Estudios recientes demuestran que la actividad mutagenética de las aflatoxinas se presenta con la exposición crónica a 15ppb de aflatoxinas en algunas especies de animales, y que en el ser humano se presentó un aumento en los casos de afección hepática al ser expuestos a 3 - 22ug/kg día de aflatoxinas.

La dieta del guatemalteco está basada de manera importante en el consumo de maíz, las técnicas inadecuadas de nixtamalización y almacenamiento de los granos que se cosechan muchas veces para el propio consumo del agricultor, llevan al guatemalteco a la exposición crónica de aflatoxinas.

En el año 2013 se publica el estudio “AFLATOXINAS: Cuello de botella para superar el Retardo en Talla de niños Guatemaltecos” que realizó mediciones de aflatoxina B1 en el maíz consumido en los 22 departamentos de la república donde se estableció que el maíz consumido por la población guatemalteca superaba las 22 ppb, lo que supera los niveles aceptados por la FDA de aflatoxina B1 en el maíz para consumo humano. Como se citó anteriormente las aflatoxinas son potentes factores de riesgo para el desarrollo de cirrosis y carcinoma hepatocelular. La cirrosis hepática fue reportada como la tercer causa de muerte en el plan operativo anual del Ministerio de Salud

Pública y Asistencia Social del año 2013, Guatemala es el país con más casos de cirrosis hepática sin diagnóstico de Latinoamérica, no se evalúa el nivel de Aflatoxina en estos pacientes lo que hace necesario esta evaluación para poder establecer la presencia de niveles detectables de aflatoxina B1 en personas que presentan este padecimiento en el país, en la actualidad se han publicado estudios donde se establece relación entre el consumo crónico de esta micotoxina y enfermedad hepática, así mismo estudios histológicos demuestran que al disminuir o erradicar el agente causal de la cirrosis hepática se logra una mejoría del tejido afectado, se busca contribuir al mejor control de los alimentos consumidos por los guatemaltecos.

Objetivos:

General

- Establecer la prevalencia de Aflatoxina B1 en suero de los pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática en el Hospital General San Juan de Dios y Hospital Roosevelt.

Específicos

- Establecer los diferentes factores de riesgo presentes para el desarrollo de cirrosis hepática

Hipótesis

Los pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática en el Hospital San Juan de Dios y Hospital Roosevelt presentan niveles detectables de aflatoxina B1 por técnica de HPLC detector de fluorescencia.

4. Marco teórico y estado del arte

AFLATOXINAS

Las aflatoxinas son un grupo de micotoxinas producidos principalmente por algunas especies de *Aspergillus*; *A. flavus*, *A. paraciticus* y *A. nominus*. Estas toxinas son capaces de desarrollarse en varios sustratos y pueden contaminar los productos de consumo humano en el momento de su cultivo, al ser procesados, transformados o almacenados en condiciones de temperaturas altas o de humedad.

El crecimiento de los mohos y la producción de toxinas dependen de muchos factores como el sustrato, la temperatura, el pH, la humedad relativa y la presencia de microflora competidora. Aunque las aflatoxinas pueden encontrarse en muchos productos agrícolas, los mayores niveles de contaminación se han encontrado en semillas de algodón y maíz, cacahuetes, nueces, avellanas y otros frutos secos. En cereales como el trigo, el arroz, el centeno o la cebada la presencia de aflatoxinas es menos frecuente, siendo los niveles generalmente bajos. Las condiciones climáticas de las zonas tropicales favorecen la formación de aflatoxinas, sin embargo, también pueden producirse en zonas más templadas.

Las aflatoxinas son un grupo de derivados difuranocumarínicos que se relacionan estructuralmente. Se han identificado varios tipos de aflatoxinas, las que se presentan con mayor frecuencia en los alimentos son las aflatoxinas B1, B2, G1, G2, M1 y M2.

Estas micotoxinas son potentes cancerígenos catalogados por la IARC, International Agency for Research on Cancer; como cancerígenas para el hombre, estudios recientes realizados en el laboratorio de Micotoxinas, Departamento de Biotecnología y Biología Molecular del Campus de Guanajuato México demuestran que la actividad mutagenética de las aflatoxinas

se presenta con la exposición crónica a 15ppb en algunas especies de animales, y que en el ser humano se presentó un aumento en los casos de afección hepática al ser expuestos a 3-22ug/kg día de aflatoxinas.

- EFECTO CANCERIGENO

El efecto cancerígeno de las aflatoxinas inicia con el metabolismo de las mismas en el hígado humano o de los animales que las consumen.

La molécula AFB1-8.9 epóxido es la responsable de la actividad cancerígena y mutagénica de la de la aflatoxina B1. Esto se debe a la unión N7 de la Guanina del ADN y la inducción de una carga positiva en el imidazol, lo que se traduce en la formación de un anillo abierto: la FORMAMIDOPIRIDINA; esta molécula se une permanente con el ADN de la célula formando aductos que se repiten en cada replicación de la cadena de ADN afectada, es este el aducto que nos permiten evidenciar la exposición crónica a esta aflatoxina utilizando método de HPLC.

El aducto formamidopiridina causa mutación en el codón 249 del gen p53 inhibiendo la muerte celular programada, que se activa inmediatamente después que la célula sufre un daño, permitiendo de esta manera que las células que presentan las mutaciones sigan proliferando y se desarrolle cáncer. El daño hepático inicia con la fibrosis del parénquima hepático lo que se denomina Cirrosis Hepática.

- AFLATOXINAS EN GUATEMALA

La dieta guatemalteca se basada en el consumo de granos básicos que se cultiva, cosechan, procesan y almacenan en nuestro país; en muchas ocasiones se siembra para el propio consumo del agricultor.

Guatemala es uno de los principales países a nivel mundial que consumen maíz como base de su dieta, este grano en nuestro país no es procesado con las medidas necesarias para eliminar las micotoxinas con las que se pudo contaminar en el proceso de siembra y cosecha, y al mismo tiempo no es almacenado adecuadamente, en nuestro país el maíz es expuesto a temperaturas mayores de 18°C y a humedad que son las condiciones adecuadas para el desarrollo de aflatoxinas, un inadecuado proceso de nixtamalización también es factor de riesgo para el desarrollo de aflatoxinas.

La presencia de aflatoxinas en alimentos de consumo humano causa disminución en el crecimiento y desarrollo de los niños expuestos crónicamente a estas y afecta de forma importante el hígado como se expuso anteriormente. En el año 2013 se publicó el estudio “AFLATOXINAS, cuello de botella para superar el retardo en talla de niños guatemaltecos” que realizó la medición de aflatoxina B1 en el maíz que se consumía en los 22 departamentos de la república donde se estableció que se presentaban niveles mayores a las 22ppb que es lo máximo aceptado por la FDA. Anteriormente se mencionó que la exposición a 15ppb causa cambios histológicos en el hígado y estar expuesto a cantidades mayores no hace una población en riesgo para el desarrollo de Carcinoma Hepatocelular.

CIRROSIS HEPÁTICA

La cirrosis es la culminación de los procesos crónicos que afectan el tejido hepático, se caracteriza por la formación de septos fibrosos y nódulos de regeneración. La fibrosis hepática juega un papel determinante en la evolución a cirrosis a partir de diversas enfermedades hepáticas, y consiste en un aumento difuso de la matriz extracelular en respuesta a un daño persistente en el hígado.

La cirrosis hepática presenta diversas etiologías, siendo las más comunes la infección por Virus de la Hepatitis C y el abuso del consumo de alcohol; también puede ser cirrosis medicamentosa, infección por virus de la hepatitis B, no alcohólica, genética, metabólica, autoinmune y causada por agresores externos como la exposición a aflatoxinas

La historia natural de la cirrosis se caracteriza por una fase asintomática, llamada también cirrosis hepática compensada, esta fase se sigue por una fase de progresión más rápida y sintomática conocida como cirrosis hepática descompensada, durante esta fase se presentan las complicaciones de la hipertensión portal y de la insuficiencia hepática. El punto donde se determina el paso de la fase compensada a la descompensada es el aumento de la presión portal. La cirrosis hepática precede al carcinoma hepatocelular.

El tratamiento de la cirrosis se basa en el manejo de las complicaciones y el tratamiento médico dirigido a la etiología de la misma. Estudios recientes demuestran que al tratar el agente causal de la cirrosis y disminuir la exposición al mismo se presenta mejoría histológica en el parénquima hepático al disminuir la fibrosis.

En Guatemala durante el año 2013 la cirrosis hepática fue reportada como la tercera causa de muerte en el Plan Operativo Anual del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, así mismo somos unos de los países en Latinoamérica con mayor número de casos de cirrosis idiopática; datos obtenidos en el departamento de gastroenterología del Hospital General San Juan de Dios demuestran que el 50% de los pacientes presentan diagnóstico de cirrosis hepática idiopática. Atendiendo a esto y que somos un país expuesto al consumo de aflatoxinas se hace necesario el estudio de estas en los pacientes que padecen cirrosis en Guatemala.

Tipo de Investigación:

Observacional, descriptiva y transversa.

Técnicas e instrumentos:

Se tuvo contacto con los pacientes que reciban tratamiento médico en el Hospital General San Juan de Dios y en Hospital Roosevelt en el departamento de Medicina Interna, se procederá a leer el consentimiento informado y a resolver cualquier duda que el paciente presente, luego se llenará una ficha de datos generales de cada paciente que acepte participar en la investigación. Se extraerá una muestra de sangre venosa de 10cc. que se colocará en un tubo sin anticoagulante, luego la muestra será transportada al laboratorio biológico del Centro Universitario Metropolitano, CUM; donde será centrifugada para separar completamente el suero sanguíneo al que se realizará prueba de Hepatitis B, Hepatitis C y VIH.

Parte del Suero se almacenó a -70°C , necesario para la realización del análisis por medio de la técnica de HPLC en la Universidad de Louisville, Kentucky en donde se cuenta con el apoyo del Dr. Steve Myers para el procesamiento de las muestras y la detección de aflatoxina B1 en suero humano.

La metodología de aislamiento de los aductos de aflatoxina será la siguiente:

CALIBRACIÓN DEL ESPECTOFOTÓMETRO

La calibración del espectrofotómetro se realizó de acuerdo a procedimiento de la AOAC:

- a).- Determinación de factor de corrección (FC) del espectrofotómetro y celdas utilizadas, mediante los coeficientes de extinción molar y las lecturas de absorbancias de soluciones de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (0.0625 mM, 0.125 mM, 0.250 mM) a 350 nm usando como blanco H_2SO_4 0.01N.
- b).- Cálculo de coeficientes de extinción molar (ϵ) para cada solución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

$$\varepsilon = (\text{Abs})/[\text{Conc} \times l]$$

c).- A partir del coeficiente de extinción molar promedio se calculó el factor de corrección:

$$\text{FC} = (3160/\varepsilon')$$

CÁLCULO DE CONCENTRACIONES DE SOLUCIONES PATRÓN DE AFLATOXINAS

$$\mu\text{g de aflatoxina/mL} = [(\text{Abs})(\text{PM})(\text{FC})]/(l)(\varepsilon)$$

Abs= absorbancia

PM= peso molecular

FC= factor de corrección

l= longitud de trayecto óptico

ε = coeficiente de extinción molar de aflatoxina a 350nm.

DETERMINACIÓN DE LOS CRITERIOS DE PUREZA

Los patrones de aflatoxinas son reconstituidos empleando metanol y se realiza la preparación de soluciones estándares mediante dilución.

Una vez preparadas las soluciones de aflatoxinas se procedió a determinar los criterios de pureza:

- PUREZA CROMATOGRÁFICA

La pureza cromatográfica de las soluciones patrón de AF se realizó mediante cromatografía en capa fina con los sistemas de elución A y B una vez realizada la cromatografía se procederá a la detección de las aflatoxinas por irradiación con luz ultravioleta.

Sistema A (extracción líquida- líquida con cloroformo): éter etílico/metanol/agua (96/3/1)

Sistema B (extracción fase sólida C18): cloroformo/acetona/metanol (90/10/2)

- RELACIÓN DE PICOS MAYORES DE ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA DENTRO DEL LÍMITE DE CONFIANZA DE 95%.

Se midieron las intensidades de absorbancia de los picos de las soluciones patrón de AF a dos diferentes longitudes de onda:

AFM1: 266 nm y 357nm

AFB1: 223 nm y 265 nm

- ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE LAS SOLUCIONES PATRÓN DE AFLATOXINAS EN CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS YA ESTABLECIDAS EN EL LABORATORIO

Condiciones cromatográficas

Fase móvil: MeOH/Agua (40/60)

Flujo: 0.9 mL/min

Volumen de inyección: 20µL

Detector: fluorescencia 0.02 RFU

Registro: 0.5 cm/min

EVALUACIÓN DE LOS SISTEMAS DE EXTRACCIÓN DE AFLATOXINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS (SUERO)

Se extrajo 10 mL de sangre venosa a los participantes, a partir de la cual se obtuvo el suero.

La metodología que se utilizó fue la siguiente: las muestras de suero, 1 mL, fue contaminadas intencionalmente con AFM1 y AFB1 en un rango de concentraciones de 1 a 23 ng/mL y 1 a 16 ng/mL, respectivamente; cada muestra de suero será desproteinizada utilizando 1.5 mL de acetonitrilo, posteriormente centrifugada durante 5 min a 3500 r.p.m y el sobrenadante será separado, para la extracción de aflatoxinas.

- EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

El sobrenadante fue diluido 1:10 con agua, posteriormente esta solución se pasó a través de la columna Sep-Pak C-18, a una velocidad de 5 a 7 mL/min, la cual previamente fue acondicionada con 5 mL de metanol y 5 mL de agua. Después de pasar la muestra la columna fue lavada con 5 mL de agua y 2 mL de hexano. La columna se secó empleando vacío durante 5 min. Las aflatoxinas retenidas en la columna serán eluidas con 5 mL de cloroformo, recibiendo el eluato en un vaso de 10 mL; esta solución clorofórmica se llevó a sequedad empleando nitrógeno, el extracto seco fue derivado con 200 µL de ácido trifluoroacético en atmósfera de nitrógeno. El residuo fue disuelto en 1 mL de solución metanol/agua (40/60) el cual fue filtrado empleando filtro de 0.22µm y analizado por HPLC.

Muestreo:

Población - infinita

Muestra: 100 casos y 100 controles, pareados uno a uno por sexo y edad que reciban tratamiento en el mismo hospital.

Muestra al azar.

Prevalencia esperada casos 50%

Prevalencia esperada controles 20%

Nivel de confianza 95%

Potencia 99%

CASOS:

Pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática mediante Ultrasonido, que reciban tratamiento médico en Hospital San Juan de Dios y Hospital Roosevelt en el departamento de Medicina Interna, durante los meses de febrero a noviembre del año 2015.

Criterios de inclusión:

- Ser mayor de 18 años.
- Sexo: Femenino o Masculino
- Pacientes que reciban tratamiento únicamente en Consulta Externa y emergencia.

Criterios de Exclusión:

- Estar internado en el área de emergencia de los hospitales por más de dos días.

CONTROLES

Pacientes que reciban tratamiento médico en departamentos de Medicina Interna de Hospital General San Juan de Dios y Hospital Roosevelt, por cualquier causa diferente a patología hepática.

Criterios de inclusión:

- No padecer ninguna enfermedad hepática.
- Sexo Femenino o Masculino
- Mayores de 18 años.

Criterios de exclusión

- Estar internados en los hospitales por más de dos días.

Descripción detallada y clara de los pasos utilizados para llegar a los resultados.

Tipo de variable	Dimensional (si procede)	Forma de análisis
Cualitativa	Presente/ No presente	Aflatoxina B1
Cualitativa	SI / NO	Hepatitis B
Cualitativa	SI/ No	Hepatitis C
Cualitativa	Si/No	Alcoholismo

Cualitativa	Femenino/masculino	Sexo
Cualitativa	Si/No	Consumo de tortilla

6. Resultados

TABLA No. 1

CASOS PRESENTADOS POR SEXO

SEXO	
HOMBRE	MUJER
50	50

Fuente: base de datos de proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 1

CASOS PRESENTADOS POR SEXO



Fuente: base de datos de proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 2

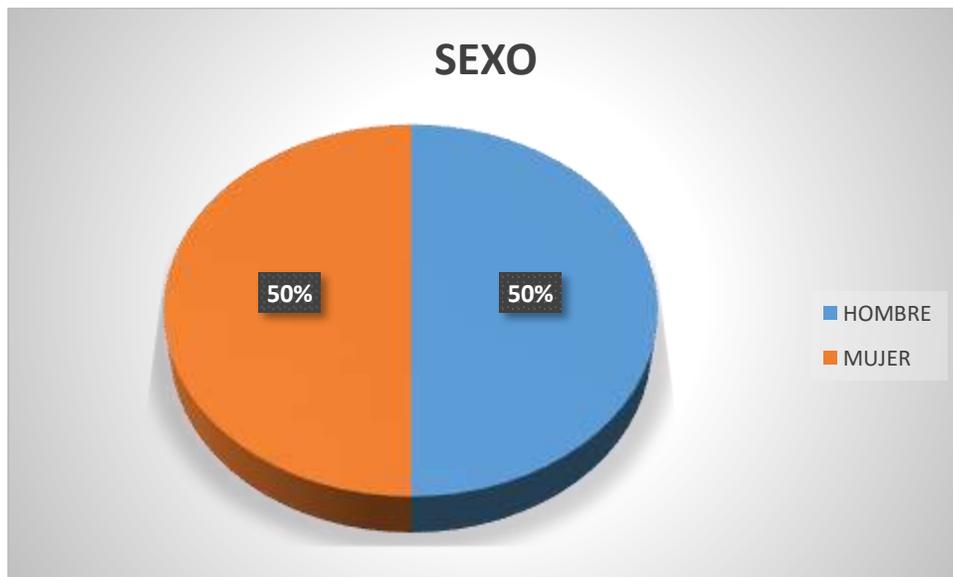
CONTROLES PRESENTADOS POR SEXO

SEXO	
HOMBRE	50
MUJER	50

Fuente: base de datos de proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 2

CONTROLES PRESENTADO POR SEXO



Fuente: base de datos de proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 3

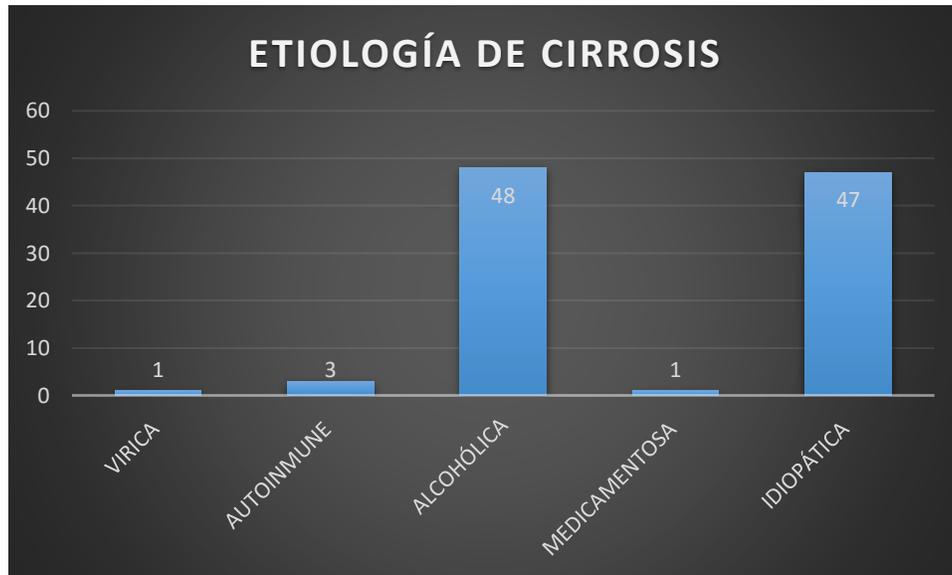
ETIOLOGIA DE LA CIRROSIS

ETIOLOGÍA DE CIRROSIS				
VIRICA	AUTOINMUNE	ALCOHÓLICA	MEDICAMENTOSA	IDIOPÁTICA
1	3	48	1	47

Fuente: expediente médico, Hospital General San Juan De Dios y Hospital Roosevelt.

GRÁFICA No. 3

ETIOLOGIA DE LA CIRROSIS



Fuente: expediente médico, Hospital General San Juan De Dios y Hospital Roosevelt.

TABLA No. 4

CASOS PRESENTADOS POR DEPENDENCIA AL ALCOHOL

DEPENDENCIA AL ALCOHOL	
DEPENDIENTE	NO DEPENDIENTE
50	50

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 4

CASOS PRESENTADOS POR DEPENDENCIA AL ALCOHOL



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 5

CONTROLES PRESENTADOS POR DEPENDENCIA AL ALCOHOL

CONSUMO DE ALCOHOL	
DEPENDIENTE	16
NO DEPENDIENTE	84

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 5

CONTROLES PRESENTADOS POR DEPENDENCIA DE ALCOHOL



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 6

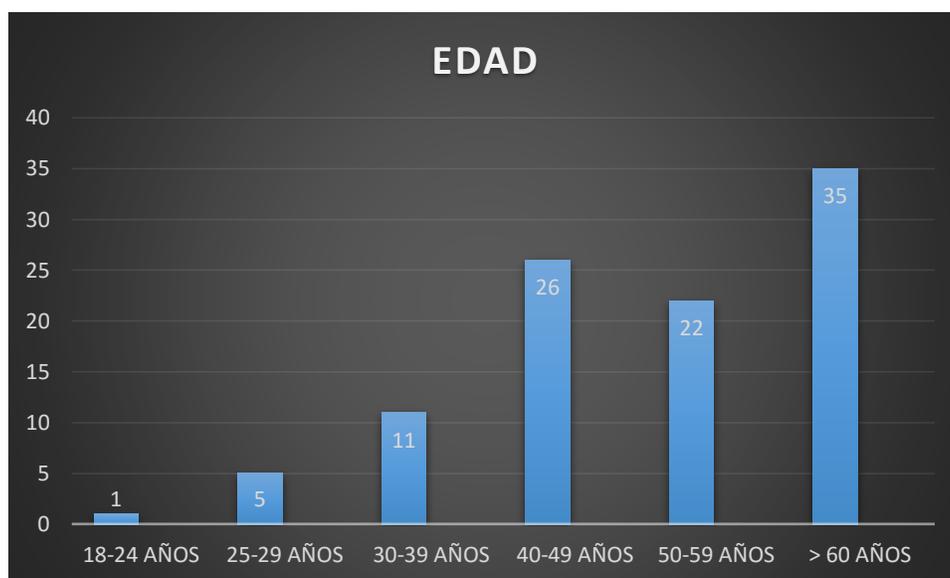
CASOS PRESENTADOS POR EDADES

EDAD	
18-24 AÑOS	1
25-29 AÑOS	5
30-39 AÑOS	11
40-49 AÑOS	26
50-59 AÑOS	22
> 60 AÑOS	35

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 6

CASOS PRESENTADOS POR EDADES



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 7

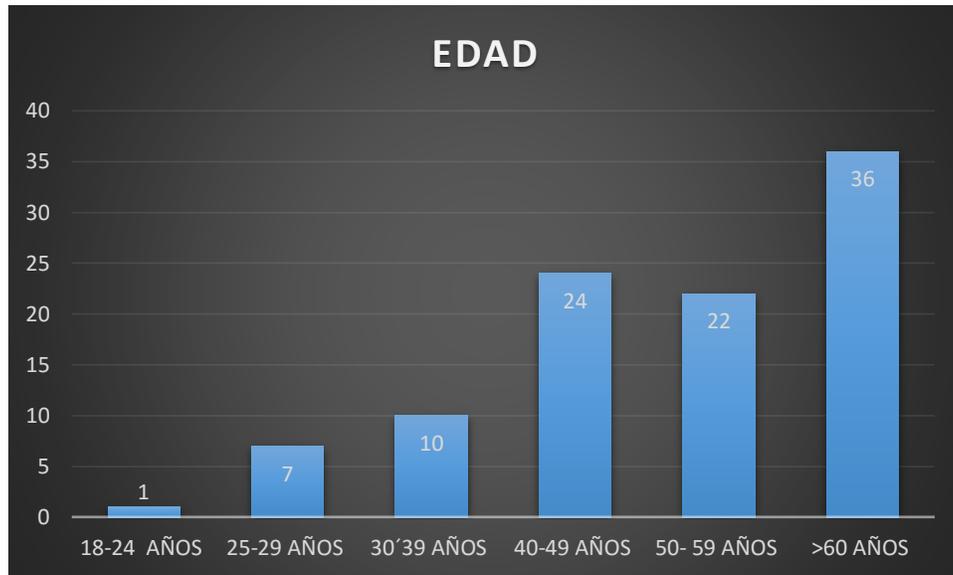
CONTROLES PRESENTADOS POR EDADES

EDAD	
RANGO DE EDAD	FRECUENCIA
18-24 AÑOS	1
25-29 AÑOS	7
30-39 AÑOS	10
40-49 AÑOS	24
50-59 AÑOS	22
>60 AÑOS	36

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 7

CONTROLES PRESENTADOS POR EDADES



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 8

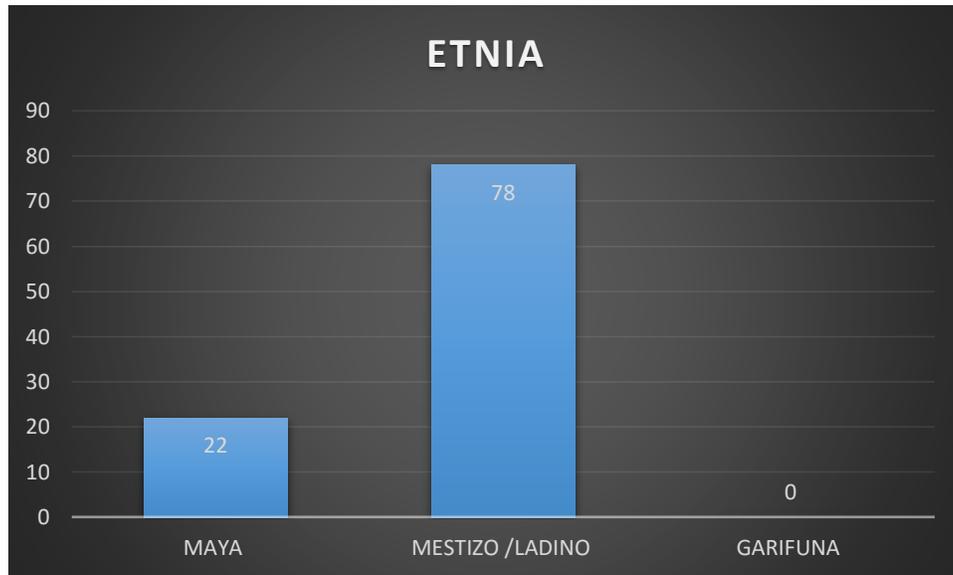
CASOS PRESENTADOS POR ETNIA

ETNIA	
MAYA	22
MESTIZO /LADINO	78
GARIFUNA	0

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 8

CASOS PRESENTADOS POR ETNIA



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 9

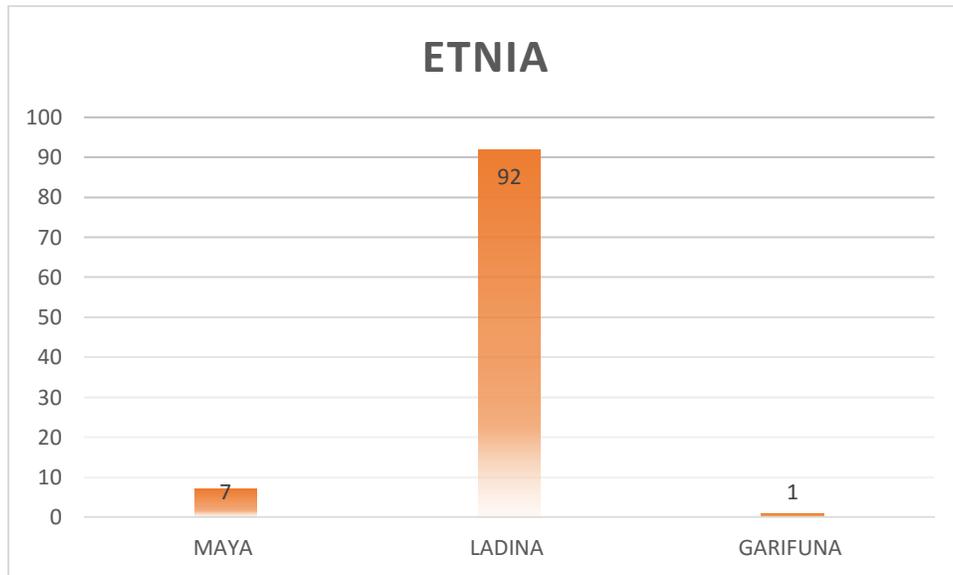
CONTROLES PRESENTADOS POR ETNIAS

ETNIA	FRECUENCIA
MAYA	7
LADINA	92
GARIFUNA	1

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 10

CONTROLES PRESENTADOS POR ETNIAS



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 11

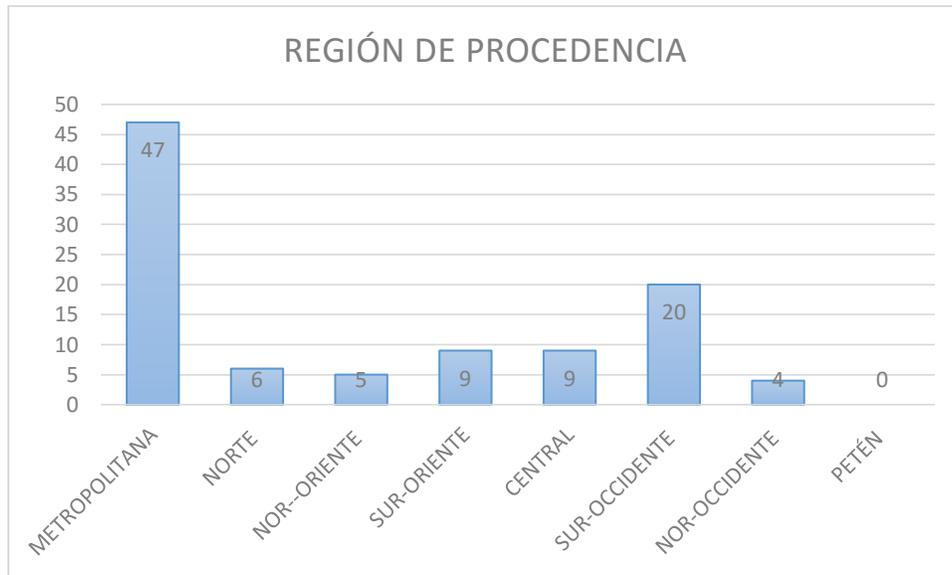
CASOS PRESENTADOS POR REGIÓN DE PROCEDENCIA

PROCEDENCIA	
REGIÓN	FRECUENCIA
METROPOLITANA	47
NORTE	6
NOR--ORIENTE	5
SUR-ORIENTE	9
CENTRAL	9
SUR-OCCIDENTE	20
NOR-OCCIDENTE	4
PETÉN	0

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 11

CASOS PRESENTADOS POR REGIÓN DE PROCEDENCIA



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 12

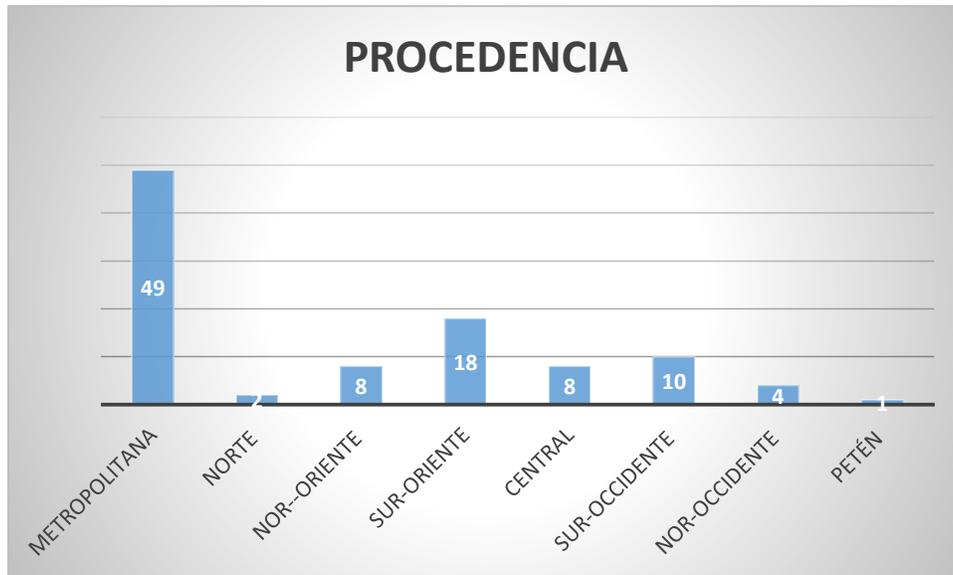
CONTROLES PRESENTADOS SEGÚN REGIÓN DE PROCEDENCIA

PROCEDENCIA	
REGIÓN	FRECUENCIA
METROPOLITANA	49
NORTE	2
NOR--ORIENTE	8
SUR-ORIENTE	18
CENTRAL	8
SUR-OCCIDENTE	10
NOR-OCCIDENTE	4
PETÉN	1

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 12

CONTROLES PRESENTADOS SEGÚN REGIÓN DE PROCEDENCIA



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 13

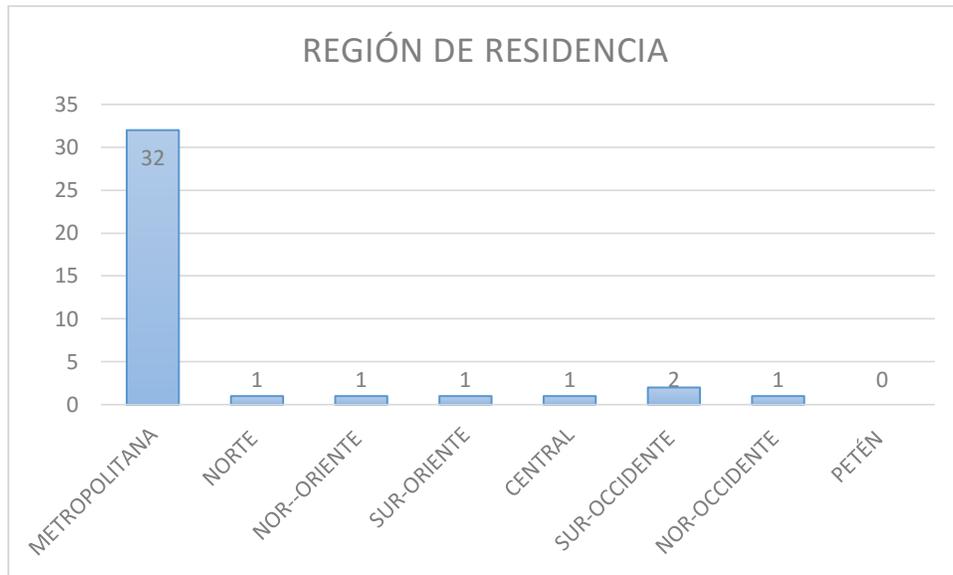
CASOS PRESENTADOS SEGÚN REGIÓN DE RESIDENCIA

RESIDENCIA	
REGIÓN	FRECUENCIA
METROPOLITANA	32
NORTE	1
NOR--ORIENTE	1
SUR-ORIENTE	1
CENTRAL	1
SUR-OCCIDENTE	2
NOR-OCCIDENTE	1
PETÉN	0

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No: 13

CASOS PRESENTADOS SEGÚN REGIÓN DE RESIDENCIA



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 14

CONTROLES PRESENTADOS SEGÚN REGIÓN DE RESIDENCIA

RESIDENCIA	
REGIÓN	FRECUENCIA
METROPOLITANA	77
NORTE	2
NOR--ORIENTE	3
SUR-ORIENTE	8
CENTRAL	2
SUR-OCCIDENTE	5
NOR-OCCIDENTE	1
PETÉN	2

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 14

CONTROLES PRESENTADOS SEGÚN REGIÓN DE RESIDENCIA



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 15

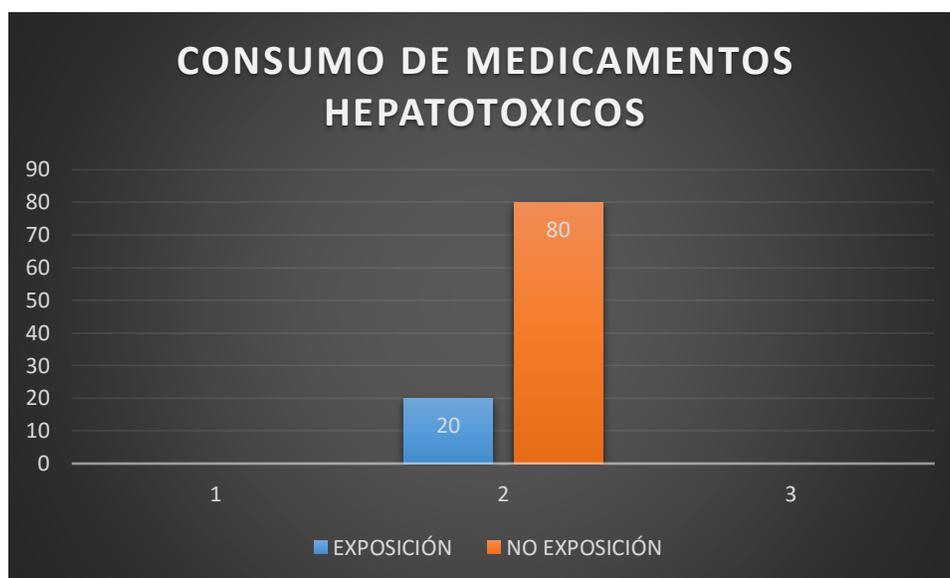
CASOS PRESENTADOS SEGÚN USO DE MEDICAMENTOS HEPATOTOXICOS

MEDICAMENTOS HEPATOTOXICOS	
EXPOSICIÓN	20
NO EXPOSICIÓN	80

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 15

CASOS PRESENTADOS SEGÚN USO DE MEDICAMENTOS HEPATOTOXICOS



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABALA No. 16

CONTROLES PRESENTADOS SEGÚN USO DE MEDICAMENTOS HEPATOTOXICOS

MEDICAMENTOS HEPATOTOXICOS	
EXPOSICIÓN	30
NO EXPOSICIÓN	70

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 16

CONTROLES PRESENTADOS SEGÚN USO DE MEDICAMENTOS
HEPATOTÓXICOS



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 17

CONSUMO DE PRODUCTOS A BASE DE MAIZ

CASOS

CONSUMO DE PRODUCTOS A BASE DE MAÍZ	
CONSUME	100
NO CONSUME	0

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 17

CONSUMO DE PRODUCTOS A BASE DE MAIZ
CASOS



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 18

CONSUMO DE PRODUCTOS A BASE DE MAIZ
CONTROLES

CONSUMO DE PRODUCTOS A BASE DE MAÍZ	
CONSUME	100
NO CONSUME	0

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 18

CONSUMO DE PRODUCTOS A BASE DE MAIZ
CONTROLES



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA 19

CONSUMO DE OTROS GRANOS, CAFÉ/ NUECES
CASOS

CONSUMO DE OTROS GRANOS CAFÉ/NUECES	
CONSUME	29
NO CONSUME	61

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 19

CONSUMO DE OTROS GRANOS, CAFÉ/ NUECES

CASOS



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 20

CONSUMO DE OTROS GRANOS, CAFÉ/ NUECES

CONTROLES

CONSUMO DE OTROS GRANOS CAFÉ/NUECES	
CONSUME	28
NO CONSUME	72

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 20
 CONSUMO DE OTROS GRANOS, CAFÉ/ NUECES
 CONTROLES



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

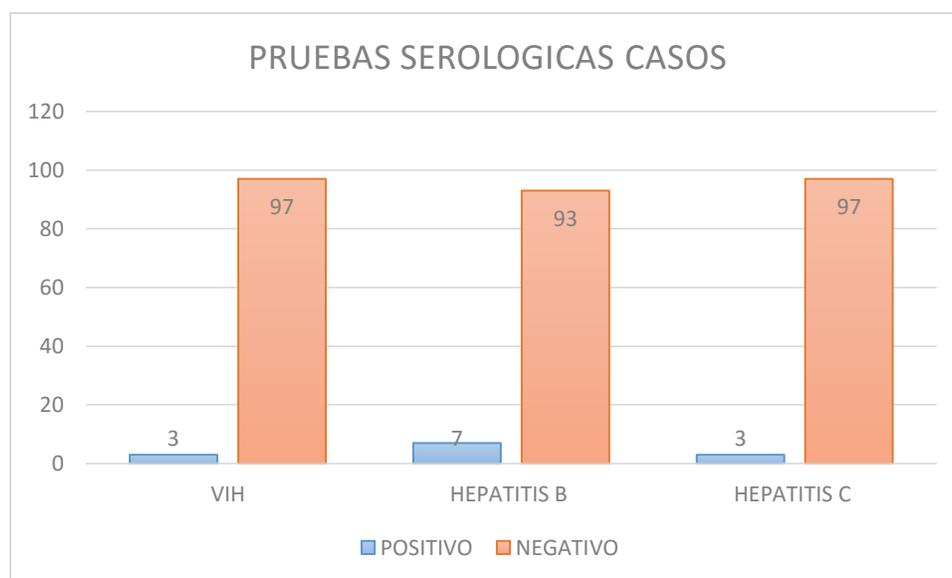
TABLA No. 21
 PRUEBAS SEROLOGICAS REALIZADAS, CASOS.

PRUEBAS SEROLOGICAS		
PRUEBA	POSITIVO	NEGATIVO
VIH	3	97
HEPATITIS B	7	93
HEPATITIS C	3	97

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 21

PRUEBAS SEROLOGICAS REALIZADAS, CASOS.



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

TABLA No. 22

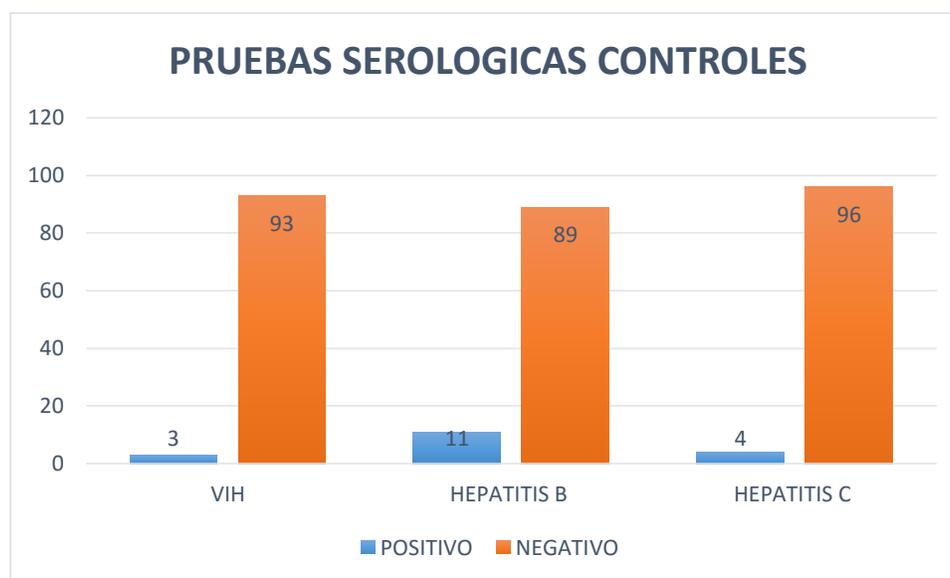
PRUEBAS SEROLOGICAS REALIZADAS, CONTROLES.

PRUEBAS SEROLOGICAS		
PRUEBA	POSITIVO	NEGATIVO
VIH	3	93
HEPATITIS B	11	89
HEPATITIS C	4	96

Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

GRÁFICA No. 22

PRUEBAS SEROLOGICAS, CONTROLES.



Fuente: base de datos proyecto “Prevalencia de aflatoxina B1 en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática”

6.2 Impacto esperado

Las enfermedades hepáticas son causa importante de muerte en la población guatemalteca, siendo más frecuente la cirrosis hepática; con este estudio se busca reconocer la exposición crónica a aflatoxina B1. Para iniciar a considerar la el consumo de esta micotoxina con factor de riesgo para desarrollar patologías hepáticas en nuestro país, y servir como punto de partida para iniciar estudios que establezcan la relación directa entre este tipo de enfermedades y el consumo de aflatoxina B1 en la población guatemalteca.

Al mismo tiempo se busca enriquecer el conocimiento sobre aflatoxina B1 en Guatemala que de esta manera se inicien iniciativas para mejorar el control de este tiempo de micotoxinas en los alimentos que se consumen en el país.

7. Análisis y discusión de resultados

Durante la ejecución del proyecto se recabo información que nos permite caracterizar epidemiológicamente a la población afectada por cirrosis hepática en nuestro país; así como la etiología de la misma.

En Guatemala la cirrosis hepática fue reportada como la tercera causa de muerte en el plan operativo anual del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social del año 2013 y el 50% de los casos en nuestro país no tienen una etiología establecida, esto se puede evidenciar claramente en la Tabla No. 3 y la gráfica No. 3 en donde se muestran las principales etiologías de la cirrosis siendo el 48% de los casos de etiología alcohólica y el 47% idiopática; dejando un 5% de los casos incluidos en este proyecto de etiología vírica, medicamentosa y autoinmune. La muestra que se obtuvo fue un 50% mujeres y 50% hombres.

Se evaluaron diferentes factores de riesgo para desarrollar cirrosis hepática en los pacientes que formaron parte de la muestra de este proyecto tanto a casos como a controles se les entrevistó y se estableció la presencia de estos factores; el consumo de alcohol en el grupo de casos fue un 50% de los pacientes estudiados y en el grupo de los controles solo el 16% de los participantes fueron dependientes al alcohol. Se evaluó el consumo de productos a base de maíz el 100% de los casos y de los controles consumen a diario por lo menos una porción de alimentos a base de maíz, siendo el más frecuente las tortillas. Pero solo el 30% de los casos y de los controles presentan consumo de otros granos que se ha establecido que son fuente de aflatoxina B1 en nuestro país como es el café y las nueces.

De los 200 pacientes que fueron evaluados en este estudio el 20% de los casos y el 30% de los controles tenían exposición a medicamentos hepatotóxicos como lo era el uso crónico de acetaminofén, diclofenaco, medicamentos antihipertensivos y medicamentos para enfermedades autoinmunes como lo era metotrexato.

Los pacientes que participaron en el estudio provenían de todas las regiones del país con un predominio de la región metropolitana, tanto casos como los controles estudiados. La profesión de los pacientes era importante ya que Guatemala es un país productor y consumidor de sus propios productos, 5% de los pacientes participantes se dedicaban a la

agricultura. La población guatemalteca consume el producto que ellos mismo producen, dejan en la mayoría de ocasiones el producto de una calidad no aceptable para la venta lo que los expone a maíz humedecido que tiene presencia de hongo y por consiguiente producción de micotoxinas entre estas aflatoxina B1.

Se realizaron pruebas serológicas a los pacientes ya que está establecido que los pacientes que tienen infección por virus de hepatitis B tienen mayor cantidad detectable de aductos de aflatoxina B1 en suero, de los pacientes estudiados el 7% de los casos y el 11% de los controles presentaron antígeno se superficie positivo en suero mediante técnica de ELISA. Al mismo tiempo se realizó prueba de hepatitis C, como factor de riesgo par desarrollo de cirrosis siendo los resultados 3% de los casos y 4% de los controles positivos para este virus por medio de técnica de ELISA. Se realizó prueba rápida DETERMINE de VIH donde el 3% de la muestra total tuvo un resultado positivo para este virus.

La cirrosis hepática en nuestro país es una enfermedad crónica muy común la población adulta joven es la más afectada lo que se puede evidencia en la tabla No. 6 y grafica No. 6, las poblaciones más jóvenes afectadas por la cirrosis son por etiologías autoinmunes.

8. Conclusiones

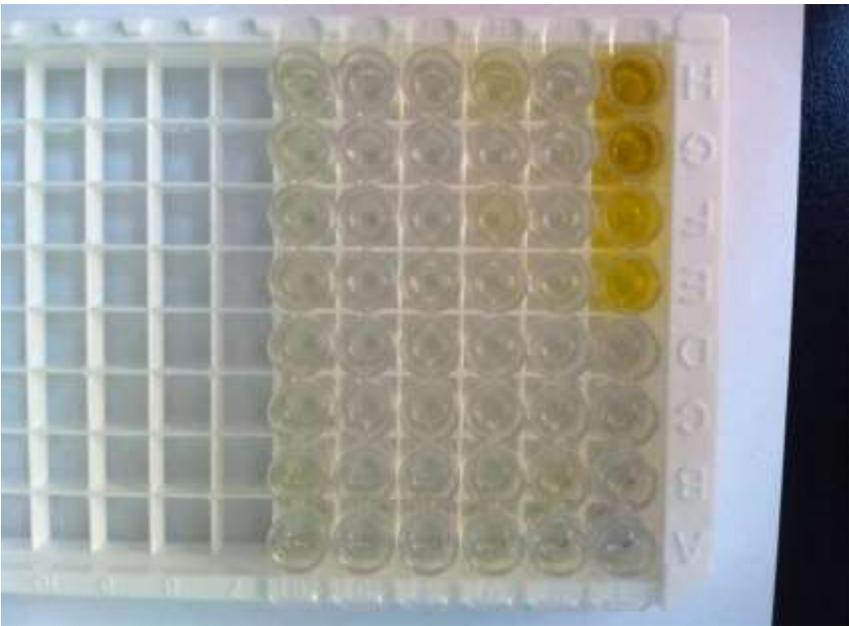
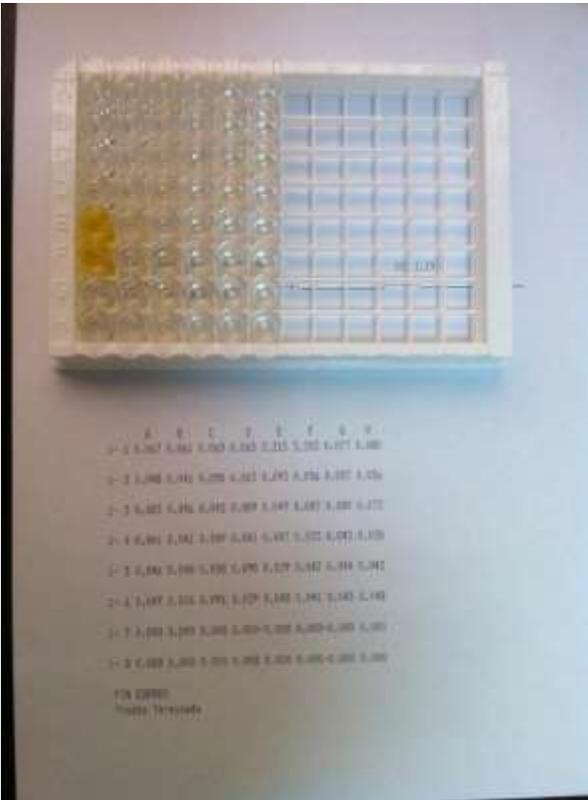
- La cirrosis alcohólica y la cirrosis idiopática fueron las causas más frecuentes de la cirrosis en la población estudiada.
- Ambos sexos de la población son afectados por igual por la cirrosis hepática.
- El 100% de la población estudiada tuvo contacto con productos a base de maíz uno de los principales productos contaminados con aflatoxina en nuestro país.

9. Referencias

- Torres O., (2013) *AFLATOXINAS: Cuello de botella para superar el Retardo en Talla de niños Guatemaltecos*, CIENSA y Diagnóstico Molecular S.A.
- National Center for Environmental Health, US Centers for Disease Control and Prevention. (2008). *Human aflatoxin albumin adducts quantitatively compared by ELISA, HPLC with fluorescence detection, and HPLC with isotope dilution mass spectrometry*, Atlanta, GA 30341, USA.
- Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, South-east University,(2007). *Detection of aflatoxin-albumin adducts in human serum and its application Nanjing*. China.
- Charles W. (2014). *Para romper el molde del moho: Nuevas estrategias para combatir las aflatoxinas*, Salud Pública Méx. Vol. 56(2):227-234 disponible en http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo_e2.php?id=002965
- Guzmán de Peña D.(2007). *La exposicion a la aflatoxina B1 en animales de laboratorio y su significado en la salud publica*. *Salud Publica*. Mexico. 49:227-2235
- Hamed MA, Ali S:A: (2013). *Non-viral factors contributing to hepatocellular carcinoma*. *Wordl J Hepato*.
- Villar S, Ortiz-Cuaran S, Abedi-Ardekani B, Gouas D, Nogueira da Costa A, et al. (2012). *Aflatoxin-Induced TP53 R249S Mutation in HepatoCellular Carcinoma in Thailand: association with tumors developing in the absence of liver cirrhosis*.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2013). *Plan operativo anual del ministerio de salud pública y asistencia social*. Guatemala.









11. Actividades de gestión, vinculación y divulgación

Productos esperados (consignados en el anteproyecto)

Actividades realizadas	Productos obtenidos	Responsables
<p>1.Campo y gabinete</p> <p>Cumplimiento con el protocolo de investigación del Hospital San Juan de Dios</p>	<p>Recolección de firmas de autorización para poder tener contacto con los pacientes en los diferentes servicios del hospital.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Jefa del departamento de medicina Interna - Coordinadora del Comité de Investigación. - Firma del Jefe de Consulta Externa. - Firma del Jefe del departamento de Gastroenterología. <p>Presentación del Protocolo de Investigación a Subdirección de Hospital General San Juan de Dios.</p>	<p>Titular</p> <p>Kira Escobar García</p>
<p>2. Apoyo a la investigación</p> <p>Son actividades de capacitación y</p>		

actualización de investigadores, gestión de recursos, etc.		
3. Otras Área Curricular de Investigación, Facultad de Ciencias Médicas. Centro Metropolitano Universitario.	Asesor Metodológico	Titular Kira Escobar García
FECHA	ACTIVIDAD	ENCARGADO
6-4-2015	Visita a Laboratorio del Viceministerio de seguridad agropecuaria, Ministerio de Agricultura, ganadería y alimentación.	Titula Kira Escobar Auxiliar II Nidia Lemus
7-4-2015	Visita de seguimiento de proceso de aprobación de proyecto en Hospital General San Juan de Dios.	Titular Kira Escobar
8-4-2015	Reunión notificación de avances Área Curricular de Investigación, Centro Metropolitano CUM	Titula Kira Escobar
9-4-2015	Reunión con Dra. Mayra Cifuentes Coordinadora del Comité de Ética del Hospital General San Juan De Dios para realizar correcciones al	Titular Kira Escobar

	protocolo para su autorización,	
10-4-2015	Reunión notificación de avances Centro de Investigaciones de Ingeniería	Titular Kira Escobar
13-4-2015	Entrega de protocolo corregido a Sub-Dirección Médica del Hospital San Juan De Dios. Para autorización de Protocolo.	Titular Kira Escobar
14-4-2015	Reunión notificación de avances Área Curricular de Investigación, Centro Metropolitano CUM	Titular Kira Escobar
15-4-2015	Visita a Hospital General San Juan de Dios para seguimiento de trámite de autorización de protocolo.	Titular Kira Escobar
16-4-2015	Visita a Hospital General San Juan de Dios para seguimiento de trámite de autorización de protocolo.	Titular Kira Escobar
17-4-2015	Reunión notificación de avances Centro de Investigaciones de Ingeniería	Titular Kira Escobar
20-4-2015	Visita a Hospital General San Juan de Dios para seguimiento de trámite de autorización de protocolo.	Titular Kira Escobar
21-4-2015	Reunión notificación de avances Área Curricular de Investigación, Centro Metropolitano CUM	Titular Kira Escobar
22-4-2015	Visita a Laboratorio del Viceministerio de seguridad	Titular

	<p>agropecuaria, Ministerio de Agricultura, ganadería y alimentación.</p> <p>Visita para establecer materiales para medición de aflatoxina B1 en suero humano</p>	<p>Kira Escobar</p> <p>Auxiliar II</p> <p>Nidia Lemus</p>
23-4-2015	<p>Reunión notificación de avances Área Curricular de Investigación, Centro Metropolitano CUM</p> <p>Reunión con Lic. Gerardo Arroyo para notificación de avances en proyecto, Dirección General de Investigación.</p>	<p>Titular</p> <p>Kira Escobar</p>
24-4-2015	<p>Reunión notificación de avances Centro de Investigaciones de Ingeniería</p>	<p>Titular</p> <p>Kira Escobar</p>
27-4-2015	<p>Reunión notificación de avances Área Curricular de Investigación, Centro Metropolitano CUM</p> <p>Se inicia trámite para apoyo de Laboratorio Nacional de Salud.</p>	<p>Titular</p> <p>Kira Escobar</p>
28-4-2015	<p>Reunión notificación de avances Centro de Investigaciones de Ingeniería</p>	<p>Titular</p> <p>Kira Escobar</p>
30-4-2015	<p>Visita a Programa Mundial de Alimentos para solicitud de apoyo.</p>	<p>Titular</p> <p>Kira Escobar</p>

<p>Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia</p>	<p>Laboratorio donde se realizará la medición de aflatoxina B1 en suero humano.</p>	<p>Titular Kira Escobar Auxiliar I Nidia Lemus</p>
<p>Área Curricular de Investigación, Facultad de Ciencias Médicas. Centro Metropolitano Universitario.</p>	<p>Colaboración en actividades de Laboratorio Multidisciplinario del CUM</p>	<p>Titular Kira Escobar Auxiliar I Nidia Lemus Car</p>
<p>Junio 2015</p>	<p>Gestión para procesamiento de pruebas para aflatoxina B1 en la Universidad de Hopkins Dr. John Groopman</p>	<p>Titular Kira Escobar</p>
<p>8-5-2015</p>	<p>Gestión para procesamiento de pruebas para aflatoxina B1 en la Universidad de Louisville Kentucky Dr. Gabino Fernandez Dr. Myers</p>	<p>Titular Kira Escobar</p>
<p>Junio 2015</p>	<p>Gestión para procesamiento de pruebas para aflatoxina B1 en la Universidad de Costa Rica</p>	<p>Titular Kira Escobar Dra. Carmen Villagrán de Tercero</p>

	Licda. Andrea Molina Alvarado	
Junio 2015	Gestión para procesamiento de pruebas para aflatoxina B1 en la Universidad Rosario Argentina Dra. Clara Lopez	Titular Kira Escobar

12. ORDEN DE PAGO (deberá estar contenida en una sola hoja)

LISTADO DE TODOS LOS INTEGRANTES DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

Contratados por contraparte y colaboradores	
-----	-----

CONTRATADOS POR LA DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN

Nombre	Categoría	Registro de Personal	Pago	
			SI	NO
Kira Cristina Mochela Escobar García	Titular I	20150180	x	

Nombre	Firma
Kira Cristina Mochela Escobar García	