

## **INTERVENCIÓN DE LOS NUTRIENTES EN LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER**

MARÍA CASCALES ANGOSTO, ADORACIÓN URREA SALAZAR,  
PILAR CASCALES ANGOSTO Y EVANGELINA PALACIOS ALÁIZ

### **1. INTRODUCCIÓN**

El comportamiento dietético se ha identificado como uno de los factores determinantes que pueden modificar el riesgo del cáncer. Aunque en algunos casos se estima que de un 30 a 40% de los cánceres tienen relación con la dieta, estos valores dependen, en la mayoría de casos, de los componentes de la dieta y del tipo específico de cáncer. Hay que considerar la gran variedad de componentes integrantes de los alimentos, entre los que cabe destacar los compuestos bioactivos como los nutrientes esenciales, ácidos grasos poliinsaturados y fitocompuestos como los flavonoides y glucosinolatos. Muchos de ellos poseen propiedades inhibitoras de la proliferación celular e inductoras de la apoptosis y pueden actuar de manera aditiva o sinérgica cuando se combinan con otros componentes de la dieta. La ingestión óptima de alimentos específicos y de sus componentes bioactivos supone una estrategia efectiva para reducir el riesgo del cáncer, pero esto está lejos de ser un simple proceso. El problema es identificar, entre los miles de compuestos consumidos cada día, aquellos que se encuentran más implicados en aminorar el riesgo del cáncer. A esto hay que añadir la falta de información sobre muchos de los componentes de la dieta, lo cual limita la capacidad de desentrañar qué compuestos bioactivos son los más importantes. Parte del problema surge de las interacciones de los compuestos bioactivos y las combinaciones de nutrientes, las cuales pueden aumentar o disminuir la respuesta celular a alimentos específicos. Es necesario profundizar en estas interacciones para determinar las combinaciones de alimentos que muestran la mayor eficacia frente al cáncer. La respuesta se complica porque son muchos los mecanismos celulares implicados en la carcinogénesis que pueden ser modificados simultáneamente, tales como los relacionados con el metabolismo de fármacos, reparación del DNA, proliferación celular, diferenciación, inflamación apoptosis y angiogénesis.

Otro aspecto a determinar es la ingesta crítica de los componentes dietéticos: cuándo y en qué momento han de ser ingeridos para que la respuesta del organismo sea la óptima. Nos enfrentamos a un problema de gran magnitud que necesita ser investigado a nivel celular y molecular para detectar las dianas moleculares de los compuestos bioactivos de los alimentos y las respuestas que desencadenan. También hay que investigar los objetivos moleculares de los componentes bioactivos y los eventos genéticos y epigenéticos que dictan la dirección y magnitud de la respuesta celular.

Un nuevo término se ha introducido recientemente, que puede traducirse como acreditabilidad (*credentiability*), que se define como la determinación de aquellos mecanismos celulares y aquellos componentes bioactivos que son capaces de producir un cambio fenotípico.

## 2. NUTRIENTES BIOACTIVOS Y RESPUESTA CELULAR

El advenimiento de las tecnologías genómica y proteómica están cambiando el panorama del conocimiento de los eventos celulares y moleculares que se relacionan con la salud y la prevención de la enfermedad. La revolución genómica ha llevado al desarrollo de nuevas tecnologías que pueden ser aplicadas para evaluar de manera más comprensiva los cambios moleculares que ocurren durante el proceso multiescalonado que conduce al cáncer. Estas nuevas tecnologías están proporcionando medios muy útiles para establecer el control simultáneo de miles de moléculas implicadas en las vías clave y evaluar la influencia de los constituyentes bioactivos de los alimentos sobre los complejos mecanismos celulares. Estas nuevas oportunidades están transformando la ciencia de la nutrición integrándola con la genética y la biología molecular, y también con la patología, toxicología, fisiología y otras disciplinas. Esta integración no sólo va a permitir el control efectivo, sino que va a caracterizar aquellas alteraciones celulares que pueden ser modificadas o corregidas por estos componentes bioactivos. La era genómica ha transformado los medios de experimentación hacia un análisis más comprensivo de los procesos biológicos, incluyendo los asociados con el cáncer. Se hace necesario la implicación potencial de vías tales como la bioactivación de carcinógenos, reparación del DNA, comunicación celular, señalización celular, apoptosis y angiogénesis.

Es cada vez más evidente que las células contienen docenas de genes que son anormales en estructura o número de copias y que cientos de ellos se expresan de manera diferente dependiendo del medio ambiente y de sus características fenotípicas. La inestabilidad genética es un evento temprano y esencial en el desarrollo tumoral que puede, en sus últimas causas, ejercer influencia sobre los procesos fisiológicos del organismo. Esta inestabilidad es la que va a ocasionar la variación o heterogeneidad genómica característica de los tumores individuales. El esclarecimiento de las diferencias en las perturbaciones genómicas entre células normales y neoplásicas ha de ayudar en la caracterización de nuevas dianas y biomarcadores y en la identificación de estrategias nutricionales apropiadas para reducir el riesgo de desarrollar cáncer o cambiar el comportamiento biológico del tumor.

Oltvai y Barabasi han utilizado una pirámide compuesta en su base por varios componentes moleculares de la célula (genes, RNA, proteínas y metabolitos), que sirven, a modo de bloques, para construir y organizar vías recurrentes metabólicas y redes genéticas reguladoras. Estas vías se integran formando módulos o grupos funcionales que son los responsables de las funciones celulares. Los módulos se disponen de manera jerárquica y definen la organización funcional de la célula. Los componentes bioactivos de los alimentos han de considerarse en el contexto de su capacidad de ejercer influencia sobre la función celular y las características fenotípicas (Figura 1), que pueden, a su vez, ejercer influencia sobre la respuesta de los componentes bioactivos y de ahí las estrategias utilizadas para modificar las moléculas, motivos y procesos. Los nutrientes bioactivos pueden modificar eventos celulares y, a su vez, los eventos celulares pueden modificar la respuesta a los nutrientes bioactivos.

Está ampliamente demostrado que los alimentos individuales ofrecen ventajas sobre sus constituyentes aislados, lo que ha llevado a la conclusión de la existencia de factores en dichos alimentos que pueden actuar sobre la absorción, metabolismo o retención de los componentes bioactivos o que los múltiples compuestos bioactivos, presentes en el alimento, pueden ejercer efectos aditivos o sinérgicos. Por ejemplo, el té verde total es más eficaz que el galato de epigallocatequina en la inhibición de la liberación del TNF $\alpha$  y en la elevación del número de células del cáncer de pulmón humano que mueren por apoptosis. Estos efectos parece que están mediados por la mayor incorporación de los polifenoles del té a la célula. De la misma manera el consumo de polvo de tomate completo fue más eficaz en su acción inhibitoria del cáncer de próstata inducido por N-metil-N-nitrosourea y testosterona, que su principal componente, el licopeno. También otro extracto vegetal liposoluble fue más eficaz que el  $\beta$ -caroteno en la inhibición de la proliferación celular y en la inducción de la apoptosis en una línea celular de cáncer de pulmón. Sin embargo, en otros casos el alimento completo muestra menor efectividad que sus componentes aislados, debido a que el alimento contiene constituyentes que inhiben la absorción, metabolismo o sitio de acción del constituyente bioactivo. Tales componentes antagonistas pueden explicar la menor capacidad de la harina de soja y de los copos de soja que contienen toda su grasa, que de la genisteína aislada, para inhibir la formación de focos de criptas aberrantes.

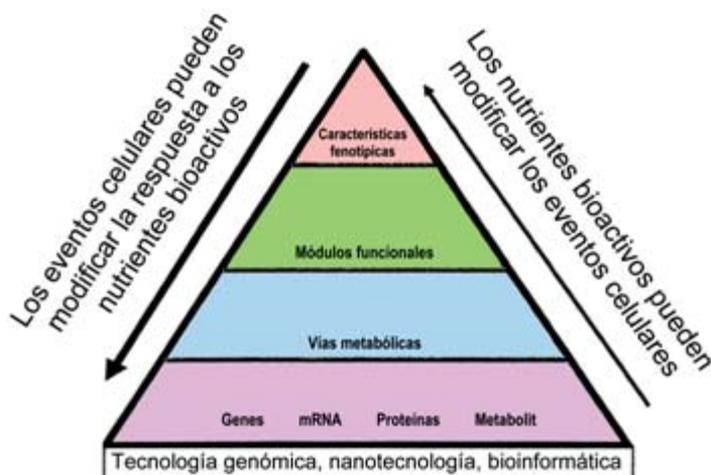


FIGURA 1. *Nutrición, procesos celulares y características fenotípicas.* La respuesta a los componentes dietéticos depende de un número de intermediarios celulares que pueden ejercer influencia sobre las vías genéticas, los módulos funcionales y en último lugar las características fenotípicas. De igual manera las características fenotípicas influyen la respuesta a los componentes nutricionales bioactivos. El modelo pirámide, para describir el sistema biológico, se basa en la publicación de Olvai y Barabasi (2002).

### 3. DIETA Y CÁNCER

A pesar de que los hábitos dietéticos continúan siendo un factor significativo que puede ejercer efecto sobre la incidencia del cáncer y el comportamiento tumoral, existe considerable incertidumbre científica. El conocimiento inadecuado de las posibles respuestas de un individuo dentro de su marco genético (efectos nutrigenéticos), el efecto

acumulativo de los componentes de los alimentos sobre los perfiles de expresión genética (transcriptómicos y epigenómicos), el efecto sobre la actividad de las proteínas (proteómicos), la dosis y los cambios temporales de los metabolitos y sus efectos sobre la célula (efectos metabolómicos), pueden llevar a la identificación de sistemas que responden o que no responden. La expansión de la información sobre similitudes y diferencias en las respuestas a través de los tejidos, no sólo ha de proporcionar mayor conocimiento acerca de la especificidad de la respuesta a los componentes bioactivos, sino que ha de ayudar a la identificación de biomarcadores que pueden ser útiles para pronosticar y profundizar en una respuesta. Son numerosas las publicaciones que tratan de mostrar evidencias sobre la asociación de la dieta con el cáncer (mama, próstata, colon, pulmón e hígado), pero son muchas las que aún no están claras. Es difícil hoy reflejar la naturaleza multifactorial y compleja del cáncer asociada son la especificidad que los constituyentes dietéticos individuales ejercen modificando vías genéticas.

Un exceso de calorías en la ingesta se asocia con mayor riesgo de cáncer. Según esto, un gran número de compuestos nutricionales bioactivos puede proporcionar protección en las diversas etapas del proceso tumoral. Los compuestos bioactivos más representativos que se han identificado en alimentos como protectores frente al cáncer incluyen nutrientes esenciales (calcio, zinc, selenio, folato, vitaminas C, D y E), y nutrientes no esenciales (carotenoides, flavonoides, indoles, compuestos alílicos sulfurados, ácido linoleico conjugado y ácidos grasos omega-3). Los componentes bioactivos pueden modificar simultáneamente más de un proceso canceroso, entre los que se incluyen eventos diversos tales como metabolismo de agentes carcinógenicos, hormonas, señalización celular, control del ciclo celular, apoptosis y angiogenesis.

Las variaciones en la incidencia del cáncer entre poblaciones con hábitos dietéticos similares sugiere que una respuesta individual puede reflejar interacciones de los factores genéticos, que influyan en la expresión de genes, proteínas y metabolitos (Figura 2). La nutrigenómica o genómica nutricional, definida como la interacción

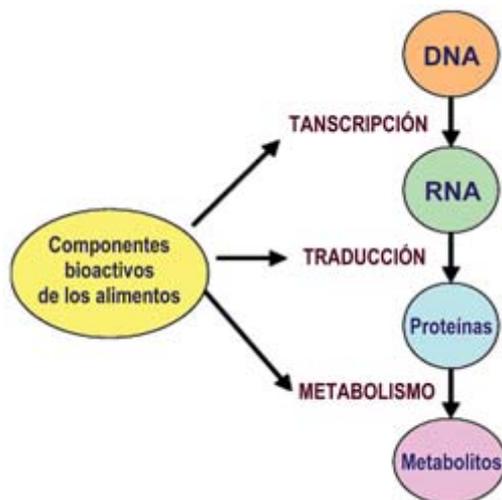


FIGURA 2. Componentes bioactivos de los alimentos que pueden modificar mecanismos celulares implicados en la transcripción (DNA → RNA), traducción (RNA → proteínas) y metabolismo → Metabolitos derivados del alimento (Davies y Milner 2004, modificado).

entre la nutrición y el genoma de un individuo, o la respuesta de un individuo a diferentes dietas, ha de proporcionar un mayor conocimiento de los mecanismos que responden y los que no responden.

Las técnicas usadas para desentrañar la genómica nutricional no son diferentes de las de la moderna biología molecular. Estamos ante un marco integrado que examina simultáneamente:

- La genética y los polimorfismos asociados con las enfermedades relacionadas con la dieta (nutrigenética).
- Los cambios inducidos por los nutrientes en la metilación del DNA y alteraciones de la cromatina (epigenómica nutricional).
- Los cambios inducidos por nutrientes en la expresión génica (transcriptómica nutricional), y
- La formación alterada y la bioactivación de proteínas (proteómica).

Todo esto ha de conducir a un mayor conocimiento de las interrelaciones entre la dieta, el riesgo del cáncer y el comportamiento tumoral (Figura 3). Como la respuesta a un componente bioactivo de los nutrientes tiene que ser sutil, se necesita una cuidadosa atención para caracterizar la cantidad y el tiempo de exposición a los constituyentes celulares de bajo peso molecular (metabolómica).

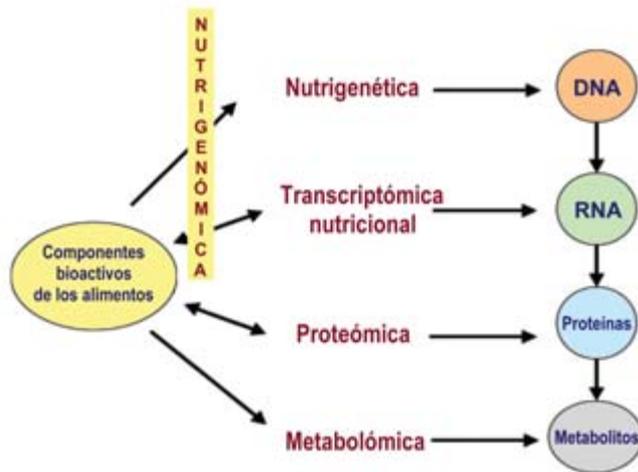


FIGURA 3. *Nutrigenética, transcriptómica nutricional, proteómica y metabolómica son necesarias para comprender el papel de la nutrición en la carcinogénesis.*

#### 4. DIETA Y PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD

La prevención nutricional de la enfermedad incluye estrategias para evitar deficiencias de nutrientes esenciales. Aunque la ciencia de la nutrición ha experimentado un significativo avance en los últimos años, permanecen aún muchas incertidumbres acerca de las estrategias que reducen el riesgo de enfermedad. Son varios los factores que ejercen influencia sobre la respuesta celular a los componentes de la dieta (Figura 4). El perfil genético del individuo puede afectar la respuesta a componentes bioactivos de los alimentos respecto a la absorción, metabolismo y sitio de acción. De igual manera, la metilación del DNA y otros eventos epigenéticos pueden regular la respuesta a componentes alimentarios al intervenir en la expresión de genes. La respuesta a los componentes de los alimentos depende también de la capacidad de producir cambios en los perfiles de expresión genética. Por último, las alteraciones en la síntesis, degradación y modificación postraduccional de las proteínas puede determinar la respuesta a los alimentos y a sus componentes.

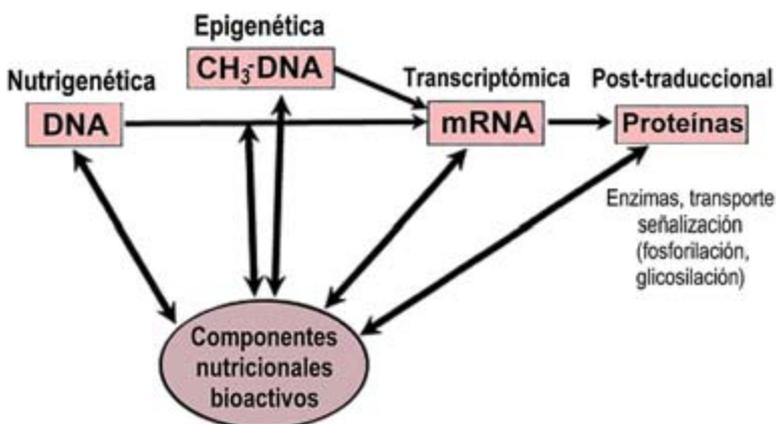


FIGURA 4. **Relación entre componentes nutricionales bioactivos y procesos celulares.** La respuesta a los componentes bioactivos depende de su absorción, metabolismo y sus dianas o sitios de acción. De igual manera, la respuesta a los componentes de la dieta depende de la metilación del DNA y otros eventos epigenéticos. La capacidad de los componentes bioactivos de la dieta de intervenir en la expresión genética es también un factor importante en la respuesta. Finalmente, los componentes bioactivos pueden ejercer influencia en la síntesis, degradación y modificación post-traduccional de las proteínas (Milner, 2003, modificado).

Numerosos estudios apuntan que los componentes bioactivos nutricionales pueden ser muy útiles por sus efectos sobre muchos mecanismos celulares, efectos que pueden manipularse y dirigirse hacia evitar el riesgo de cáncer (Figura 5). Gran parte de los datos obtenidos sugieren que la mayor protección frente al riesgo de cáncer la proporciona un mayor consumo de frutas, verduras y granos. Experimentos con modelos animales han proporcionado datos que demuestran que la infusión de té es muy beneficiosa y efectiva frente a la tumorigénesis inducida por agentes químicos, ya que influye inhibiendo la inducción del tumor, el tamaño y la metástasis; sin embargo, los estudios epidemiológicos no han conseguido demostrar algo parecido.

El licopeno es otro ejemplo de la controversia que existe entre los diferentes grupos de investigadores acerca de sus efectos protectores sobre el cáncer de próstata.

Unos estudios describen una reducción de 30-40% en el riesgo del cáncer en casos de consumo elevado de tomate o licopeno. Sin embargo, otros estudios no apoyan esta relación preventiva. La razón de esta discrepancia no está clara, pero puede relacionarse con la cantidad o tiempo de exposición al licopeno o a las diferencias genéticas entre los sujetos sometidos a estudio. La base genética del individuo se encuentra implicada en la dirección del proceso canceroso y puede considerarse como modificadora de la respuesta a la dieta. Las evidencias de la interacción nutrientes-genes se han conseguido a partir de una serie de estudios en ratas BHE/Cdb, un modelo experimental reconocido de diabetes mitocondrial que se debe a una mutación en el gen de la ATPasa. Es interesante destacar que estas ratas necesitan más vitamina A para mantener la función mitocondrial que las ratas Sprague-Dawley normales.

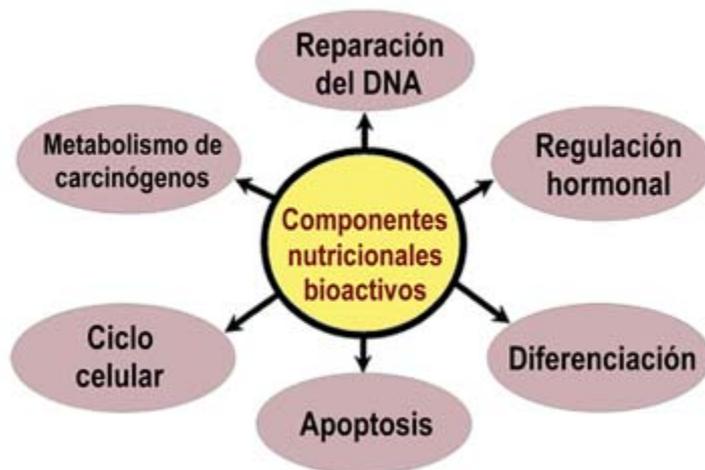


FIGURA 5. *Los componentes nutricionales bioactivos pueden ejercer influencia sobre eventos asociados con procesos carcinogénicos, tales como reparación del DNA, regulación hormonal, diferenciación, apoptosis, ciclo celular y metabolismo de carcinógenos.*

## 5. COMPONENTES NUTRICIONALES BIOACTIVOS Y CÁNCER

La relación entre dieta y carcinogénesis ha sido un tópico de discusión y debate durante años. Parte de la confusión surge de la complejidad de la dieta y del hecho que numerosos componentes esenciales y no esenciales pueden modificar una o más de las etapas que conducen al cáncer. Los componentes dietéticos con una probable influencia beneficiosa sobre el cáncer no se limitan al reino vegetal, porque los agentes zooquímicos que surgen del consumo de productos animales pueden proporcionar compuestos tales como el ácido linoleico conjugado y ácidos grasos  $\omega$ -3, que ejercen también influencia frente al cáncer. De la misma manera, compuestos procedentes de las setas tienen propiedades anticáncer. Incluso los microorganismos que residen en el tracto gastrointestinal pueden jugar un papel clave en la formación de productos que pueden elevar o disminuir el riesgo de cáncer.

La magnitud del problema tiene su base en el hecho que son miles de compuestos los que se consumen en la ingesta de alimentos cada día por cada persona. Por ejemplo, se estima que los humanos estamos expuestos a unos 5.000 flavonoides, pero sólo unos pocos se han examinado por sus propiedades anticarcinogénicas. La generalización de las propiedades de clases o grupos de compuestos conduce a menudo a impresiones falsas acerca de cuáles son los compuestos clave que ejercen influencia sobre el desarrollo del cáncer y cuáles no. Son necesarios varios factores para conseguir una respuesta de un componente bioactivo: momento, duración, frecuencia, etc., de la exposición a tal componente. Existen razones para creer que en muchos casos la respuesta en humanos puede ser similar a la observada en modelos experimentales, pero se poseen pocos datos que documenten estas razones con biomarcadores del riesgo de cáncer o del comportamiento tumoral.

La complejidad de la dieta hace de las simples recomendaciones un desafío extremado. Los alimentos no son elementos simples purificados que actúan sobre un objetivo molecular específico, sino que son mezclas complejas de moléculas que modulan probablemente muchas vías metabólicas. Para poder recomendar la ingestión de un alimento o sus componentes bioactivos se necesita poseer mayor conocimiento científico y tener una base de escrutinio regulador que asegure la eficacia y seguridad de dicho alimento. La designación de una dieta para mejorar la salud fisiológica es un hecho laudable, pero no carece de riesgos.

Un tema fundamental en la frontera de la investigación sobre la nutrición y la prevención del cáncer es conocer qué muestras biológicas son las que pueden predecir la respuesta a un componente bioactivo en el tejido diana. Una limitación a la validación de biomarcadores es en muchos casos su inaccesibilidad. Aunque la sangre y los constituyentes de la sangre han sido usados frecuentemente para evaluar la respuesta a los componentes bioactivos de alimentos, la concentración y los efectos moleculares de estos agentes en la sangre y en el tejido al que van dirigidos no se han descrito. Las células exfoliadas o desprendidas retienen el potencial para supervisar en humanos la exposición a componentes bioactivos en tejidos diana, pero no han sido evaluadas de manera adecuada. Ejemplos incluyen las células epiteliales colónicas, células epiteliales de la vejiga, células epiteliales broncoalveolares, etc. Moléculas tales como el DNA, el RNA y proteínas aisladas a partir de células exfoliadas se han evaluado mediante análisis genéticos y epigenéticos. Aunque existen limitaciones para la obtención de células, dado el acceso limitado a algunos cánceres, surge la posibilidad de que algunas células puedan servir de indicadores sustitutivos de la respuesta a la dieta en términos de su incorporación, cambios genéticos ocasionados y alteraciones en el perfil de proteínas y metabolitos.

## **6. POLIMORFISMOS GENÉTICOS**

Como un grupo de la nutrigenómica, la nutrigenética se ocupa de los efectos de las variaciones estructurales en los genes en un esfuerzo para comprender la respuesta variable a la dieta. Los polimorfismos genéticos pueden ser parcialmente responsables de las variaciones de una respuesta individual a los componentes bioactivos de alimentos. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) tienen una importante repercusión en el riesgo de enfermedad. Así, aparecen polimorfismos hereditarios en la susceptibilidad al cáncer de mama. Algunos SNP comunes en genes implicados en

el metabolismo de nutrientes, activación metabólica y/o detoxificación, pueden establecer si es positiva o negativa la respuesta a un componente bioactivo. Por ejemplo, mujeres que consumían frutas y hortalizas por debajo de la media (< 764 g/día), ácido ascórbico (< 155 mg/día) y  $\alpha$ -tocoferol (< 7,5 mg/día), presentaron mayor riesgo de cáncer de mama como resultado de un polimorfismo que causa un cambio de valina a alanina en la posición 9 de la secuencia señalizadora de la superóxido dismutasa dependiente de manganeso. El consumo de carne muy hecha se relacionó con susceptibilidad a cáncer de mama y colon entre individuos con un genotipo *N*-acetiltransferasa rápido/intermedio, pero no entre individuos con genotipo acetilador lento. Una interacción entre el genotipo de la glutatión-*S*-transferasa (GST) y de los isotiocianatos de la dieta, que se encuentran en las crucíferas, estuvo asociada a un menor riesgo de cáncer colorectal entre individuos que tenían ambos fenotipos GSTM1 y T1-nulos, posiblemente debido a ritmos más lentos del metabolismo y excreción de este componente bioactivo. La limitación severa de muchos de los estudios actuales que relacionan la dieta y los polimorfismos, es la falta de información sobre las consecuencias celulares que acompañan a los polimorfismos y si las relaciones observadas son coherentes o no con una causa/efecto.

Cambios en el metabolismo de nutrientes se han observado entre individuos con diferentes genotipos metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR). La sustitución de C por T en el nucleótido 677 originó una menor conversión de 5,10-metileno tetrahidrofolato en 5-metileno tetrahidrofolato, la forma de folato que circula en plasma. Los individuos con este polimorfismo tienen mayor necesidad de folato. Los hábitos dietéticos pueden afectar a los efectos de este polimorfismo sobre el riesgo de cáncer. Por ejemplo, sujetos con el genotipo MTHFR tuvieron menor riesgo de adenomas colorectales cuando su concentración de folato en plasma era elevada (> 5,5 ng/mL) y mayor riesgo cuando dicha concentración en plasma era baja ( $\leq$  5,5 ng/mL). Como no existe clara relación entre la concentración de folato del plasma y los adenomas colorectales, sólo un subgrupo de individuos con el genotipo CC o CT pudo beneficiarse de la ingesta elevada de folato. No obstante, esta relación entre la concentración de folato y el riesgo de adenomas colorectales puede depender de la ingesta de otros nutrientes. En otros estudios se ha demostrado que la ferritina, proteína que posee la capacidad de almacenar hierro, puede catabolizar el folato *in vitro* e *in vivo*. Así, se ha demostrado que el incremento de la síntesis de la cadena pesada de la ferritina hace que disminuya la concentración intracelular de folato de manera independiente de sus concentraciones exógenas. Tales relaciones nutrigenéticas pueden también explicar las reconocidas asociaciones entre la ingesta de diversos componentes de alimentos, como la vitamina E y el selenio, o el calcio y la vitamina D.

No está claro si los efectos nutrigenéticos son constantes en todos los tejidos. Por ejemplo, el polimorfismo MTHFR (mutación del gen que codifica para la metileno tetrahidrofolato reductasa) o el TT (forma homocigótica de MTHFR), se ha asociado a una elevación en la predisposición a cáncer de ovario y endometrio. También permanece poco claro cuál de estas interacciones gen-nutriente es fisiológica. Esto puede indicar que los efectos primarios del folato en el proceso canceroso implican una alteración en la incorporación de uracilo durante la síntesis del DNA, que conduce a la inestabilidad del DNA durante el cáncer de mama, ovario y endometrio, pero no de colon y también que bajas concentraciones de 5-metileno tetrahidrofolato, que hacen disminuir la síntesis de metionina causando así hipometilación del DNA y en consecuencia expresión genética anormal, son más importantes para el colon que

el desarrollo de los tumores de mama, ovario y endometrio. En base a la literatura disponible, ambas cosas son posibles.

El polimorfismo múltiple de los genes puede contribuir a cambios fenotípicos ocasionados por los componentes de los alimentos. Por ejemplo, los polimorfismos en el terminal 5' (*FokI* sitio de restricción) y en el terminal 3' (*BsmI*, *TaqI* sitios de restricción y cola poliA), del gen del receptor nuclear de la vitamina D (VDR), puede influenciar la respuesta a 1,25 D<sub>3</sub>. El polimorfismo *FokI* se ha asociado con una disminución en la actividad intracelular de 1,25 D<sub>3</sub> y el polimorfismo 3' se asocia con una menor transcripción del gen. Todos estos polimorfismos se asocian con susceptibilidad al cáncer.

La variación en riesgo de cáncer asociado al genotipo VDR parece estar confinada a individuos que ingieren poca grasa o calcio. El bajo consumo relativo de grasa y calcio puede contribuir a enmascarar la interacción de este genotipo con el riesgo de cáncer colorectal, pues en poblaciones donde se ingieren mayores cantidades de calcio y grasa no se pudo encontrar esta relación. Otros resultados sugieren que la vitamina D de la dieta y la ingesta de calcio modifican la relación entre el genotipo *BsmI* VDR y el riesgo de adenoma colorrectal. También se ha encontrado que las variantes del polimorfismo 3' VDR (*BsmI*, *TaqI* y poliA), pero no el polimorfismo 5' VDR (*FokI*), se asociaron con riesgo reducido de cáncer de colon. Docenas de variaciones adicionales polimórficas dentro del gen *VDR* pueden cada una de ellas tener diferentes consecuencias biológicas. Estudios futuros sobre la relación entre los polimorfismos VDR, dieta y susceptibilidad al cáncer, necesitan profundizar en estos polimorfismos múltiples, como también en las consecuencias funcionales sobre los genes regulados por 1,25 D<sub>3</sub>. En las fronteras de estos estudios estarán implicadas las combinaciones de variantes de la secuencia funcional y haplotipos que modulan el sistema endocrino de la vitamina D y confieren riesgo de cáncer. Es posible que la respuesta a varios de los componentes bioactivos de alimentos dependa de los polimorfismos múltiples.

Los estudios con animales han descrito las consecuencias fisiológicas de los polimorfismos genéticos. El producto genético p21<sup>WAF1/cip1</sup>, un efector de p53, es un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina y es, por tanto, un regulador importante del ciclo celular y potencialmente, de la apoptosis y de la diferenciación celular. La inactivación del gen *p21*<sup>WAF1/cip1</sup> causó una elevación en la formación de tumores y una disminución de la supervivencia del animal en la neoplasia intestinal múltiple (Min) en ratón, modelo genético de susceptibilidad al cáncer de colon humano. Este efecto se magnificó cuando los ratones consumieron una dieta de alto riesgo que contiene elevada cantidad de grasa y fosfatos y bajas cantidades de calcio y vitamina D. De igual manera, la inactivación del inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina, la proteína p27<sup>kip1</sup>, unida a la alimentación elevada en grasa y fosfatos y baja en calcio y vitamina D, fueron aditivas en términos de incidencia tumoral, frecuencia, tamaño, y menor supervivencia del animal. La inactivación de p27<sup>kip1</sup> y la consiguiente alteración de la maduración normal en la mucosa colónica se asociaron con expresión modestamente elevada de *c-myc*, *cdk4* y *ciclina D1*. Es importante conocer que la ausencia de p21<sup>WAF1/cip1</sup> o p27<sup>kip1</sup>, combinada con la alimentación anteriormente mencionada de elevado contenido en grasa y fosfatos y deficiente en calcio y vitamina D, puede exacerbar la formación tumoral en mayor medida que cualquier otro factor. Esto demuestra la importancia de considerar ambos factores, el genético y el dietético

en la formación del tumor y en su quimioprevención. Los resultados también insisten en el papel crítico que juegan los factores dietéticos, tanto en la iniciación como en la progresión del tumor, mediante interacciones con vías que normalmente mantienen la homeostasis intestinal.

También se ha descrito que el alelo que dirige la síntesis de la leucina en posición 198 de la glutatión peroxidasa respondió menos al selenio que la proteína que contenía prolina. Como el alelo leucina se ha relacionado con una mayor incidencia de cáncer de pulmón y de mama, las alteraciones en los requerimientos de selenio para la actividad enzimática máxima de la glutatión peroxidasa puede explicar la mayor susceptibilidad al cáncer en individuos que poseen el alelo leucina. Son urgentes estudios adicionales que revelen la consecuencia funcional de los polimorfismos genéticos, no sólo sobre esta actividad enzimática sino también sobre su expresión fenotípica.

Estudios con animales transgénicos están revelando especificidad de tejido en las interacciones nutrientes-genes. La deficiencia de Zinc en ratones *knockout* p53 acelera la inducción y progresión de tumores inducidos con *N*-nitrosometilbenzilamina (NMBA) en el preestómago más que en el esófago. Por el contrario, los ratones deficientes en p53 o en zinc, pero no en ambos, no tuvieron tumores esofágicos después del tratamiento. La importancia de esta observación es que las mutaciones en el gen supresor de tumores *p53* son muy relevantes para el estudio nutrigenético, debido a que son las alteraciones genéticas observadas más frecuentemente en cáncer humano, y la inactivación en la línea germinal de un alelo del gen *p53* es una característica del síndrome de Li-Fraumeni, un síndrome familiar de cáncer. Estos datos refuerzan la importancia de las interacciones genes-nutrientes y dan buena cuenta que la dieta puede mejorar alguna de las predisposiciones genéticas que conducen al cáncer.

Aunque son muchos los componentes dietéticos que pueden reducir el riesgo de cáncer, el excesivo consumo de alimentos no es beneficioso. El consumo energético elevado, unido a actividad física disminuida, se asocia a la obesidad y, a su vez, la obesidad se asocia con un incremento en el riesgo al cáncer. La restricción calórica de la ingesta es probablemente la manipulación experimental mejor documentada para disminuir el desarrollo tumoral en roedores, incluyendo los modelos transgénicos y *knockout*. Los ratones deficientes en p53 han sido y son un modelo muy útil para estudiar los efectos de la restricción calórica de la dieta sobre el desarrollo espontáneo de cáncer. Esta restricción calórica iniciada después del destete de ratones deficientes en p53, elevó de manera significativa el tiempo de latencia del desarrollo espontáneo de tumores (75%). La disminución de los niveles circulantes de IGF-1 parece mediar muchos de los efectos anticancerosos de la restricción calórica en este modelo. Los polimorfismos en muchos genes implicados en la homeostasis energética, incluidos los genes de los adrenorreceptores  $\beta$ -2 y  $\beta$ -3 y PPAR $\gamma$ , se han asociado a susceptibilidad al cáncer. Puede esperarse que surjan otras variantes genéticas asociadas con la regulación del balance energético que puedan jugar un papel importante en el campo de la susceptibilidad al cáncer.

Enfocar estos problemas sobre la base de las interacciones entre polimorfismos de un solo gen y un componente bioactivo puede ser muy simple. Los animales de experimentación proporcionan alguna de las evidencias más claras de que la genética ejerce influencia sobre la respuesta a los componentes de los alimentos. Por ejemplo,

ratones resistentes a la grasa A/J, pero no sensibles a la grasa C57BL/6J, elevaron su capacidad termogénica en respuesta a dietas ricas en grasa. Diferentes razas de ratones tienen susceptibilidad diferente al cáncer de mama espontáneo y al inducido por estrógenos o carcinógenos. Uno de los desafíos hoy en la nutrigenética es conocer la dinámica de las interacciones gen-gen como determinantes de la respuesta a los componentes bioactivos de los alimentos.

## 7. NUTRIENTES Y TRANSCRIPCIÓN GENÉTICA

El uso de tecnologías genómicas de elevada productividad, para identificar las vías moleculares que resultan afectadas por los componentes de alimentos, está siendo cada vez más interesante en el área de la nutrición. Como sugieren Muller y Kersten, estas tecnologías han de servir para esclarecer tres aspectos diferentes del perfil de la expresión génica en el área de la investigación nutricional, ya que pueden:

- esclarecer los mecanismos que se encuentran influenciados de manera beneficiosa o adversa por ciertos componentes dietéticos,
- identificar los genes que se alteran en estados previos a la enfermedad y puedan servir como *biomarcadores moleculares*, y
- ayudar a la caracterización de vías moleculares básicas que sean afectadas por componentes alimentarios.

Ya se comentó con anterioridad que la restricción calórica de la ingesta es un potente inhibidor del cáncer. La restricción energética inhibe el ciclo celular, posiblemente por disminuir los niveles del mRNA de los genes de la ciclina y del E2F. Es interesante destacar que la mayoría de los cambios moleculares inducidos por la restricción energética fueron revertidos en una semana de alimentación *ad libitum*. Así que estos estudios proporcionan no sólo información fundamental sobre las vías moleculares, sino también indican la necesidad de conocer las interrelaciones entre tiempo de ingestión y expresión génica.

Los análisis de *microchips* se han utilizado para identificar objetivos potenciales moleculares de los componentes bioactivos, tales como el selenio. La deficiencia en selenio en ratón origina mayor expresión de genes cuyas proteínas producto intervienen en la reparación del DNA, estrés oxidativo y control del ciclo celular, y menor expresión en los genes que codifican proteínas que intervienen en la destoxicación de fármacos. En la línea celular de cáncer humano premaligno MCF10AT, se ha investigado el efecto del selenio sobre la expresión de genes asociados con la apoptosis y la regulación del ciclo celular. Los genes cuya expresión fue modificada por selenio fueron los que codifican para GADD153, ciclinaA, CDK1, CDK2, CDK4, CDC25, E2F, como también los implicados en las vías MAPK/JNK y fosfoinositol-3 quinasa. Muchos de estos cambios en la expresión génica han sido también observados en células de cáncer de próstata, lo que demuestra una similitud en la respuesta a selenio entre los diferentes tejidos tumorales. De los 12.000 genes estudiados, unos 2.500 respondían al tratamiento con selenio en células de cáncer de próstata. Debido al gran número de genes cuya expresión fue modificada por selenio, las células se analizaron por grupos (Figura 6). Los resultados obtenidos en doce grupos de distin-

tos patrones cinéticos demuestran que el selenio afecta muchos objetivos moleculares clave (Figura 6).



FIGURA 6. Categorías de genes que están influenciados por el selenio de la dieta en células de cáncer de próstata humano, determinado por análisis de microchips (Dong *et al.*, 2003).

El perfil de la expresión genética puede ser usado también para analizar similitudes y diferencias en la respuesta molecular a agentes quimiopreventivos. Mariadason *et al.*, han comparado cambios en la expresión genética en respuesta al ácido butírico, a la curcumina y a los causados por dos fármacos, la tricostatina A y el sulindac (fármaco antiinflamatorio no esteroideo con actividad quimiopreventiva), sobre una línea celular de cáncer de colon SW620. Los cuatro agentes ensayados ejercieron efectos similares en la respuesta transcripcional en esta línea celular. Al comparar los efectos del butirato y la tricostatina A, ambos conocidos agentes inhibidores de la histona desacetilasa, sobre la expresión genética, se identificaron subgrupos de genes inducidos y reprimidos regulados de manera coordinada por la alterada acetilación de las histonas. Esto es importante para la caracterización de agentes quimiopreventivos y el reconocimiento de la toxicidad potencial y las sinergias de manera que el perfil de expresión puede ser útil para comparar y contrastar la respuesta a nutrientes y fármacos.

## 8. COMBINACIONES DE COMPONENTES BIOACTIVOS QUE PREVIENEN EL CÁNCER

La utilización de combinación de agentes (componentes bioactivos de alimentos o fármacos), en vez de agentes individuales, ofrece una magnífica oportunidad para aumentar la prevención del cáncer disminuyendo la toxicidad. La combinación ha de ser diseñada para que sea dirigida a vías celulares múltiples o para reforzar los efectos en una vía particular. Esta propuesta ha incrementado la posibilidad de conocer y profundizar en los beneficios de la combinación de fármacos. Por ejemplo, una combinación del sulindac, que inhibe la COX2 y el EKB-569 inhibidor del EGFR, protegió completamente a ratones APCmin de la formación de adenomas. Además la dosis efectiva de sulindac pudo disminuirse en un 75%.

Se ha encontrado que los componentes dietéticos ejercen efectos aditivos o sinérgicos con medicamentos al modificar diferentes dianas moleculares. La sinergia se utiliza para describir el resultado en el cual la respuesta celular a la combinación de componentes bioactivos es estadísticamente superior que la suma de la respuesta de los dos tratamientos por separado. Por ejemplo, dietas que contienen elevados niveles de aceite de oliva ejercen un efecto protector frente al cáncer de colon, efecto que es aditivo con los efectos inhibidores de sulindac, posiblemente relacionado a la regulación de la expresión y actividad de proteínas clave implicadas en las vías de la biosíntesis de las prostaglandinas (COX-2) e inducción de la apoptosis (Bcl-2 y caspasa). La isoflavona de la soja daizneína mejora la capacidad del tamoxifeno frente a la incidencia y multiplicidad del tumor mamario, e incrementa la latencia tumoral. Estos efectos parece que son mediados al proteger la daizneína al DNA del daño oxidativo. Otros estudios sugieren que los componentes dietéticos, tales como genisteína, curcumina, epigallocatequina-3-galato, resveratrol, indol-3-carbinol, proantocianidina, y vitamina D3 elevan la eficacia de la quimioterapia y la radioterapia, modificando la actividad de las vías clave de la proliferación celular y supervivencia, tales como aquellas controladas por Akt, factor nuclear- $\kappa$ B y COX-2. Las relaciones aditivas o sinérgicas pueden relacionarse con diferentes objetivos moleculares y de esa manera se consigue un efecto combinado o una respuesta máxima.

Los componentes dietéticos que modifican los mismos objetivos moleculares que los fármacos pueden permitir la administración de cantidades menores de los fármacos utilizados para la prevención del cáncer, con lo que se disminuye los efectos adversos de dichos fármacos. Por ejemplo, una dieta enriquecida en ácidos grasos omega-3, puede inhibir la actividad COX-2 y ejercer efectos sinérgicos con dosis bajas de celecoxib, fármaco administrado para la prevención de cáncer de colon. El indol-3-carbinol, producto de la hidrólisis de los glucosinatos, que existe en las crucíferas, es un agente protector frente a la hepatotoxicidad de los fármacos antitumorales ET743 o trabectedina, sin comprometer por ello su eficacia. De igual manera, el ácido docosahexanoico (DHA) y la genisteína atenúan la inducción de la actividad de la HMG-CoA reductasa en células MCF-7 tratadas con mevastatina. Esto sugiere que la genisteína de la dieta o el DHA pueden disminuir la dosis de estatina necesaria para conseguir el mismo grado de inhibición de la reductasa, disminuyendo así los efectos adversos de estos medicamentos administrados para la prevención del cáncer mamario.

Las combinaciones de componentes de la dieta pueden también modificar la dosis de los nutrientes que son necesarios para producir un efecto fisiológico. Esto se explica por el hecho de que dosis bajas de ácido 9-cis-retinoico y vitamina D3, que no eran efectivas por sí solas, en la prevención de cáncer mamario, fueron efectivas cuando se administraron en combinación eliminándose con ello los efectos adversos de dosis elevadas. El mecanismo responsable de esta interacción no se conoce, pero puede implicar a los receptores RAR, RXR y VDR, los cuales pueden regular los genes implicados en la proliferación, diferenciación y apoptosis. También dosis bajas de S-alilcisteína y licopeno en combinación, fueron capaces de suprimir el desarrollo de cáncer gástrico inducido por MNNG, vía modulación de proteínas asociadas a la apoptosis (disminución del cociente Bcl-2/Bax e inducción de Bim y las caspasas 8 y 3), a concentraciones mucho más bajas que cuando fueron administradas por separado. Finalmente, la combinación de vitamina D3 y genisteína causó inhibición del crecimiento de células de cáncer de próstata DU145 a concentraciones muy bajas de ambos compuestos. La

genisteína parece que potencia la actividad de la vitamina D3 por inhibición directa de CYP24 lo que eleva la vida media de la vitamina D3 y resulta en la activación homóloga de la concentración celular de VDR. Esta doble acción de la genisteína conduce a una intensificación de las respuestas mediadas por la vitamina D y la activación de genes diana, que vuelven a la célula más sensible a los efectos inhibidores del crecimiento y estimuladores de la apoptosis de la vitamina D3.

Los componentes de la dieta que alteran objetivos moleculares múltiples, dentro de un proceso biológico específico, ejercen también efectos aditivos. Por ejemplo, los componentes que inhiben diferentes fases del ciclo celular cooperan en la inhibición del crecimiento tumoral. La quercetina y la genisteína actúan de manera sinérgica inhibiendo la proliferación de células del carcinoma ovárico, por modificación de diferentes vías de transducción de señales. La quercetina detiene el ciclo celular en la transición G1/S, mientras que la genisteína afecta la fase G2 o la temprana M. De igual manera, la quercetina interacciona con el resveratrol causando una parada transitoria del ciclo celular en células humanas leucémicas y la epigallocatequina-3-galato y la curcumina inhiben de manera aditiva el crecimiento de células epiteliales orales normales, premalignas y malignas. Mientras que la epigallocatequina-3-galato bloquea las células en G1, la curcumina las bloquea en la transición S/G2. De esta manera las interacciones sinérgicas entre fitocompuestos de la dieta contribuyen a la inhibición del crecimiento celular.

La apoptosis es otro proceso celular donde los componentes bioactivos de la dieta pueden ejercer sus efectos anticáncer. El selenio y la vitamina E ejercen efectos sinérgicos inductores de la apoptosis en células de cáncer de próstata. Selenio y vitamina E actúan sobre vías señalizadoras que activan las caspasas. El selenio activa las caspasas 1 y 9, mientras que la vitamina E activa la caspasa 9. Así, estos dos componentes en combinación activan múltiples objetivos moleculares implicados en la inducción de la apoptosis. Dirigiéndose hacia la batería completa de las caspasas iniciadoras, el selenio y la vitamina E actúan de manera cooperativa desencadenando el poder total de la maquinaria apoptótica. Estos estudios demuestran que la combinación de los nutrientes y sus interacciones con diferentes mecanismos celulares puede ejercer efectos sinérgicos beneficiosos en la prevención del cáncer.

## 9. CONCLUSIONES

Las combinaciones de alimentos y/o de los constituyentes bioactivos de los alimentos pueden ser eficaces para prevenir el cáncer. Sin embargo, cuáles son estos alimentos o sus componentes bioactivos que combinados producen la máxima protección frente al cáncer, es algo que queda por resolver. La respuesta a los componentes dietéticos depende de la dosis y de la célula a la que va dirigida y alguno de estos componentes puede ejercer influencia sobre múltiples mecanismos. Las nuevas tecnologías genéticas han de utilizarse para profundizar en el impacto de los componentes bioactivos de los alimentos, aislados e interactivos sobre las redes complejas moleculares y celulares para mejor comprender las bases de las interacciones de los alimentos sobre la prevención del cáncer.

## 10. ABREVIATURAS

DADS, dialil sulfuro; COX-2, ciclooxigenasa-2; DHA, ácido docosahexanoico; 1, 25 D3, 25-dihidroxitamina D3; 2D-PAGE, electroforesis de gel de poli(acrilamida) bidimensional; ERK, quinasa regulada por señales extracelulares; GST, glutation-S-transferasa; Min, neoplasia intestinal múltiple; MnSOD, superóxido dismutasa dependiente de manganeso; MS, espectrómetro de masas; MNNG, N-metil-N'-nitro-N-nitroguanidina, carcinógeno; MTHFR, metilene tetrahidrofolato reductasa; NAT, N-acetiltransferasa; NMBA, N-nitrosometilbenzilamina; NMR, resonancia magnética nuclear; nrf2, factor nuclear E2 p45-factor relacionado 2; PPAR $\alpha$ , receptor  $\alpha$  receptor activado por proliferador de peroxisomas; PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; RAR, receptor del ácido retinoico; RXR, receptor retinoide X; RAR-RXR, heterodímero, receptor nuclear; SELDI-TOF, *surface-enhanced laser desorption/ionization time of flight*; SNP, polimorfismo de un solo nucleótido; VDR, Vitamin D receptor.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Boticario, C. y Cascales, M. (2008). «Nutrición y prevención del cáncer», en *Innovaciones en cáncer* (C. Boticario y M. Cascales), pp. 577-597. UNED. Madrid.
2. Cabrerizo, L. y Charro, A. (2005). «Nutrición y cáncer», en *Bioquímica y Fisiopatología de la Nutrición* (Eds. M. Cascales, D. Espinós y P. García Barreno), Instituto de España. Madrid, pp. 353-370.
3. Davis, C. D. (2007). «Nutritional interactions: credentialing of molecular targets for cancer prevention». *Exp Biol Med* **232**, 176-183.
4. Davis, C. D. y Hord, N. G. (2005): «Nutritional “omics” technologies for elucidating the role(s) of bioactive food components in colon cancer prevention». *J Nutr* **135**, 2694-2697.
5. Davis, C. D. y Milner, J. A. (2004). «Frontiers in nutrigenomics, proteomics, metabolomics and cancer prevention». *Mutat Res* **551**, 51-64.
6. Dong, H.; Zhang, L., Hawthorn, H. E. *et al.* (2003). «Delineation of the molecular basis for selenium-induced growth arrest in human prostate cancer cells by oligonucleotide array». *Cancer Res.* **63**, 52-59.
7. German, J. B.; Roberts, M. A.; Fay, L. y Watkins, S. M. (2002). «Metabolomics and individual metabolic assessment: The next great challenge for nutrition». *J Nutr* **132**, 2486-2487.
8. Gillies, P. J. y Krul, E. S. (2007). «Using genetic variations to optimize nutritional preemption». *J Nutr* **137**, 270S-274S.
9. Jones, P. A. y Baylin, S. B. (2002). «The fundamental role of epigenetic events in cancer». *Nat Rev Genet* **3**, 415-428.
10. Liu, R. H. (2004). «Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention». *J Nutr* **134**, 3479S-3485S.
11. Mariadason, J. M.; Corner, G. A., y Augenlicht, L. H. (2000). «Genetic reprogramming in pathways of colonic cell maturation induced by short chain fatty acids: comparison with trichostatin A, sulindac and curcumin and implication for chemoprevention of colon cancer». *Cancer Res.* **60**, 4561-4572.
12. Martínez, M. E. (2005). «Primary prevention of colorectal cancer: lifestyle, nutrition exercise». *Recent Results Cancer Res* **166**, 177-211.
13. Milner, J. A. (2003). «Incorporating Basic nutrition science into health inter-

- ventions for cancer prevention». *J Nutr* **133**, 3820S-3826.
14. Milner, J. A. (2006). «Diet and cancer: facts and controversies». *Nutr Cancer* **56**, 216-224.
  15. Milner, J. A. (2002). «Strategies for cancer prevention: the role of diet». *Br J Nutr* **87**, Suppl 2, S265-S272.
  16. Muller, M. y Kersten, S. (2003). «Nutrigenomics: goals and strategies». *Nat Rev* **4**, 315-322.
  17. Molloy, A. M. (2004). «Genetic variation and nutritional requirements». *Word Rev Nutr Diet* **93**, 153-163.
  18. Oltvai, Z. N. y Barabasi, A. L. (2002). «Systems biology. Life's complexity pyramid». *Science* **298**, 763-764.
  19. Ordovas, J. M. y Corella, D. (2007). «Nutritional genomics». *Ann Rev Genomics Hum Genet* **5**, 71-118.
  20. Rist, M. J.; Wenzel, U., y Daniel, H. (2006). «Nutrition and food science go genomics». *Trends Biotechnol* **24**, 172-178.
  21. Surh, Y. J. (2003). «Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals». *Nat Rev Cancer* **3**, 768-780.
  22. Wong, H. L.; Seow, A., Arakawa, K. *et al.* (2003). «Vitamin D receptor start codon polymorphism and colorectal cancer risk: effect modification by dietary calcium and fat in Singapore Chinese». *Carcinogenesis* **24**, 1091-1095.