

SISTEMAS DE DEFENSA QUÍMICA EN EL HOMBRE. PREVENCIÓN EN ONCOLOGÍA.

IMPORTANCIA CLINICA DEL ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE SUSCEPTIBILIDAD METABÓLICA

- La importancia de la prevención en oncología
- La epidemiología molecular: al servicio de la valoración del riesgo personal.
- Los sistemas de defensa química:
- Familia del citocromo P450
- Familia de la Glutathion transferasas
- Polimorfismos de susceptibilidad metabólica en oncología
- Análisis Genético del riesgo frente a carcinógenos. Implicaciones Clínicas

La importancia de la prevención en oncología

Las terapias sólo tienen una modesta efectividad en la reducción de las tasas de mortalidad debidas al cáncer. Entre los hombres Europeos, sólo cuatro tipos relativamente infrecuentes (testículos, laringe, pene y enfermedad de Hodgkin's) presentan unas tasas de supervivencia que exceden el 50%. En mujeres la situación es mejor, ocho tipos (mama, cervix, cuerpo uterino, laringe, cavidad oral, vagina, enfermedad de Hodgkin's y leucemia linfoide crónica) tienen unas tasas de supervivencia por encima de este nivel (Berrino et al 1995).

En Europa, las cifras de incidencia ajustadas a la edad se incrementaron en un 8,7% entre 1970 y 1990 en hombres y decrecieron en este periodo un 1,4 % en mujeres. La prevención es claramente la mejor estrategia para reducir la mortalidad. En los países industrializados se ha estimado en un 50% el número de casos de cáncer que podrían prevenirse (Tomatis 1997).

Existe un amplio consenso en cuanto a que la mayoría de los canceres son el resultado de la exposición a agentes producidos por el hombre y a exposiciones ambientales (humo del **tabaco**, contaminantes químicos en el aire, agua, alimentos, drogas; radiaciones; componentes dietarios, radon y agentes infecciosos).

Doll y Peto estimaron en un 75% el número de casos de cáncer atribuibles a sustancias químicas. En nuestro país el número de personas expuestas es muy elevado. Se estiman en mas de 12 millones en número de fumadores y de los resultados de la III Encuesta Nacional de Condiciones de trabajo (INST. 1998) sabemos que unos 11.400.000 trabajadores están expuestos a contaminantes químicos (bien por inhalación de gases y vapores bien por la manipulación de productos nocivos o tóxicos).

El riesgo frente a estos carcinógenos está condicionado por factores: genéticos, edad, sexo, estado inmunitario, enfermedades preexistentes y nutrición.

La constitución genética personal es un factor importante en la interacción agente etiológico-sujeto. Podemos apreciar su importancia en la tabla I, en la que la contribución de los factores genéticos se evalúa en función del número de sujetos afectados según el grado de parentesco con el caso índice infectado por un agente causal definido (M. Tuberculosis).

EFFECTO DEL PARENTESCO GENETICO SOBRE LA RESPUESTA DEL HUÉSPED AL M.Tuberculosis EN FAMILIAS CON UN CASO INDICE (Evans, 1993)	
Relación del miembro de la familia con el caso índice	% de individuos expuestos y susceptibles que presentan manifestaciones clínicas de tuberculosis
Esposa	7.1
Hermano	11.9
Gemelo dicigótico	25.5
Gemelo monocigótico	83.3

Tabla I .

La epidemiología molecular al servicio de la valoración del riesgo personal en Medicina Preventiva

El conocimiento de las interacciones entre los agentes presentes en el medio ambiente y el hombre se ha ido adquiriendo sobre todo en la última década gracias a la Epidemiología Molecular mediante el análisis de biomarcadores de exposición y daño presentes en células, tejidos y fluidos corporales. Ejemplos de estos biomarcadores son:

A.-Los aductos, productos que se forman como consecuencia de la unión covalente al ADN de las moléculas reactivas (carcinógenos o especies reactivas).

B.-Los cambios en genes clave (oncogenes o genes supresores) que actúan disparando o bloqueando procesos básicos de la fisiología celular como la división, diferenciación apoptosis o los que se heredan en genes que afectan a la metabolización de carcinógenos o reparación del ADN.

La epidemiología molecular tiene la ventaja de ser directamente relevante para evaluar el riesgo humano, a diferencia de otros modelos experimentales en animales que requieren la extrapolación a humanos. En contraste con la epidemiología tradicional que centra su atención en la incidencia y mortalidad como punto final, **la epidemiología molecular tiene el potencial de constituir una llamada de aviso o advertencia.** Señala los efectos preclínicos de la exposición y de una susceptibilidad aumentada. Proporciona una gran oportunidad para advertir del peligro a tiempo de poder intervenir en el curso de la enfermedad.

Una clase especial de interacción entre la exposición a agentes externos y factores del hospedador está representada por las interacciones entre genes y

ambiente, incluidos los polimorfismos metabólicos. Cuando hablamos de **polimorfismos metabólicos** nos referimos a **las variaciones en la secuencia de ADN de los genes que codifican enzimas de metabolización. Estas variaciones en la secuencia originan proteínas con actividades variables que dan lugar a diferentes capacidades en la metabolización por parte de subgrupos de población o por individuos aislados.**

Desgraciadamente, los métodos actuales de evaluación de los riesgos ambientales no tienen en cuenta estos factores. Aunque las Agencias Estatales como la EPA suelen utilizar criterios conservadores de valoración del riesgo (en función de los niveles de exposición), estos criterios subestiman el riesgo frente a ciertos carcinógenos ambientales al considerar **que todos los individuos en una población tienen la misma respuesta biológica** a dosis específicas de agentes causales.

Actualmente se ha cuestionado y demostrado científicamente la no-homogeneidad de la población. Extrapolando la variación observada en el hombre en algunos índices de susceptibilidad (metabolismo de carcinógenos y daño genético) a una exposición dada, **una persona puede ser de 10 a varios cientos de veces más susceptible al cáncer que otra.** Esta información tiene obvias implicaciones para el asesoramiento del riesgo frente al cáncer.

Los sistemas de defensa química

Son los grandes desconocidos en medicina a diferencia del sistema inmunitario. Idealmente un sistema biológico de defensa frente a sustancias químicas debería ser:

- Capaz de reconocer a las sustancias con las que se encontrase, con amplio espectro de moléculas
- Capaz de eliminarlas y preferiblemente detoxificarlas, con una capacidad ilimitada.
- Tener un cierto grado de variabilidad biológica.
- Tener una adecuada localización tisular y celular para poder actuar sobre las sustancias antes de que provocasen daño.

Para cumplir esta misión el hombre y la mayoría de los seres vivos disponemos del sistema del Citocromo P450 cuya misión es actuar sobre sustancias químicas exógenas, convirtiéndolas en formas solubles, fácilmente excretables, evitando que se acumulen en los organismos alcanzando concentraciones letales o tóxicas.

En el curso de la evolución ha sido necesario que las especies desarrollaran unos sistemas de defensa química que les permitiese adaptarse y sobrevivir al hábitat diferente y con disponibilidades dietarias muy diversas. Por ello en estas familias de genes de metabolización de xenobióticos **hay una gran variabilidad interindividual e inter especies** en sus estructuras y funciones

Dado que muchos carcinógenos son sustratos de enzimas de metabolización podemos asumir que los humanos tenemos una capacidad variable para activar o

inactivar carcinógenos. Muchos de los genes hoy conocidos son polimórficos y existen numerosas variantes alélicas relevantes para el fenotipo en la población. Podemos señalar que los polimorfismos en las enzimas de metabolización son casi la regla mas que la excepción y constituyen un factor decisivo en la supervivencia de las especies.

Numerosos estudios han demostrado que la **variabilidad en el metabolismo de carcinógenos es un factor de riesgo** en la carcinogénesis química. Los miembros más importantes de estos sistemas son además del citocromo P450, la familia de la Glutathion S-transferasa y la N-acetil transferasa, entre otros.

A medida que los avances tecnológicos están facilitando su estudio y análisis, va siendo mayor el número de circunstancias y patologías en los que son relevantes. Así por ejemplo se conoce su importancia en mujeres embarazadas fumadoras por sus repercusiones sobre el bajo peso al nacer, ciertas malformaciones y tumores infantiles. También se ha descrito su importancia en patologías cardiovasculares, colitis ulcerosa, glaucoma, etc.

Familia del citocromo P450

Los genes del sistema Citocromo P450 se conocen en mamíferos como genes CYP. Forman una superfamilia que comparten estructuras génicas (exones-intrones) similares y codifican productos similares. Estos genes existen en la mayoría de seres vivos y comprende una superfamilia de casi 500 miembros.

Las primeras formas aparecieron hace 3,5 billones de años, antes de la divergencia procariontes/eucariontes. Las funciones de las formas primitivas fueron posiblemente metabolizar compuestos endógenos como esteroides o ácidos grasos, mas que xenobióticos. Los primeros genes de metabolización de xenobióticos aparecieron hace unos 400-500 millones de años para metabolizar sustancias químicas presentes en las plantas. Nebert y González han propuesto que la guerra entre animales-plantas ha sido la fuerza conductora en la evolución de la superfamilia de genes CYP. Las plantas producen toxinas para su protección y los animales desarrollan enzimas para eliminarlas.

Se ha desarrollado una nomenclatura basada en la homología de la secuencia, para esta familia de genes, según la cual estos y sus productos génicos se agrupan en familias y subfamilias. Así por ejemplo CYP1A2, refleja el miembro 2 en la familia 1, subfamilia A. De las varias enzimas de la familia de genes CYP expresadas en el hombre, sólo las que pertenecen a las familias 1-3 juegan un papel significativo en el metabolismo de carcinógenos.

CYP1A1 es la enzima principal de metabolización de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) tales como el benzo(a)pireno y dimetilbenzoantraceno. Estos compuestos son carcinógenos muy importantes y están presentes en el **humo del tabaco** y contaminación aérea urbana.. Se han descrito polimorfismos genéticos del gen CYP1A1 y los estudios demuestran su asociación con el cáncer.

La superfamilia de las Glutation S-transferasas (GST)

Como resultado de diversas reacciones de oxidación catalizadas por enzimas de la fase I, muchos xenobióticos son transformados en intermediarios de naturaleza electrofílica muy reactivos que atacan rápidamente a moléculas nucleofílicas en las células, proteínas y ácidos nucleicos. Estas sustancias de naturaleza electrofílica también pueden proceder de procesos endógenos como la respiración o inflamación que producen especies reactivas de oxígeno (ROS).

Para sobrevivir los seres vivos necesitamos protegernos de estos compuestos electrofílicos. Existen varios sistemas de detoxificación que participan en la protección, uno de los más eficientes en la eliminación de electrofilos es el del Glutation reducido (GSH) y glutacion transferasa (GSTs).

El glutacion es un tripeptido nucleofílico que sirve como diana para los compuestos electrofílicos evitando el ataque y daño de estos a las macromoléculas celulares (ADN, proteínas, lípidos). El papel de las enzimas catalíticas (GSTs) es facilitar la reacción por unión con el GSH.

Sobre la base de homología estructural los genes se han agrupado en familias o clases análogas a las del sistema del Citocromo P450. De acuerdo con este sistema, se conocen cinco clases de GSTs que se expresan en mamíferos: GST alfa c, GSTmu, GSTpi, GSTtheta y I gstmic. Las cuatro primeras son citosólicas y la última microsomal. Existen al menos 20 enzimas GST en el hombre. Para la GST alfa, cinco genes diferentes codifican las formas A1, A2, A3, A4 y A5. A1 y A2 se expresan principalmente en el hígado.

La clase mu (GSTM) también se expresa en el hígado. Además de las formas hepáticas, se han identificado subunidades M2, M3, M4 y M5 que se expresan tejidos extrahepáticos. La clase pi (GSTP) se expresa en varios tejidos extrahepáticos. La clase theta (GSTT) presenta dos productos génicos expresados en el hígado.

Existen polimorfismos en las enzimas GSTs: GSTM, GSTT; GSTP. Siendo de especial interés en carcinogénesis el genotipo nulo de la GSTM (prevalente en el 50% de las personas de raza caucásica)

Polimorfismos de susceptibilidad metabólica en oncología

La incorporación del análisis genético de polimorfismos metabólicos en la epidemiología del cáncer es de particular interés por que:

A.-Permite la **identificación de subpoblaciones de sujetos** que son más susceptibles al cáncer inducido por agentes químicos

B.-El análisis de los polimorfismos es importante con relación **a bajos niveles de exposición**. Este conocimiento condiciona por una parte el proceso **de evaluación del riesgo**, y por otra **el establecimiento de unos límites tolerables** de exposición (que tenga en cuenta la sensibilidad individual) y por tanto **el establecimiento de unas pautas de seguimiento y diagnóstico diferenciadas en función de los genotipos de riesgo**.

La susceptibilidad genética podemos considerarla como un espectro que abarca un rango intermedio de situaciones entre dos extremos. En uno, tenemos las **enfermedades monogénicas** de elevada penetrancia (Ej. Mutaciones heredadas en los genes APC o BRCA1, en los cánceres hereditarios de colon o mama y ovario). En estos casos los riesgos acumulados a lo largo de la vida entre los portadores de mutaciones es muy alto (50-90%), sin embargo tales mutaciones, son raras en la población general, por lo que sólo una pequeña fracción de los cánceres en cuestión puede ser atribuidos a caracteres heredados.

El otro extremo está representado por los polimorfismos metabólicos: en este caso, nos encontramos con mutaciones muy frecuentes (del orden del 40-50% de la población, como es el caso de los alelos acetiladores lentos de NAT-2 y el GSTM1 nulo en la raza caucásica), con un incremento del riesgo modesto. **El riesgo individual se incrementa en una pequeña fracción pero el número de cánceres atribuibles a estas características genéticas es alto.**

Estos conceptos podemos aplicarlos a otras patologías tanto crónicas (cardiovasculares, neurodegenerativas e inflamatorias) como en agudas (toxicidad ocupacional o ambiental).

Conocemos algunos polimorfismos que están asociados con el cáncer pero no con el metabolismo de sustancias carcinogénicas endógenas o exógenas por ejemplo el complejo de múltiple resistencia a drogas (Mdr complejo), gen del factor de necrosis tumoral beta (TNF-beta), el receptor de la vitamina D o genes implicados en los mecanismos de reparación del ADN

Análisis Genético del riesgo a carcinógenos

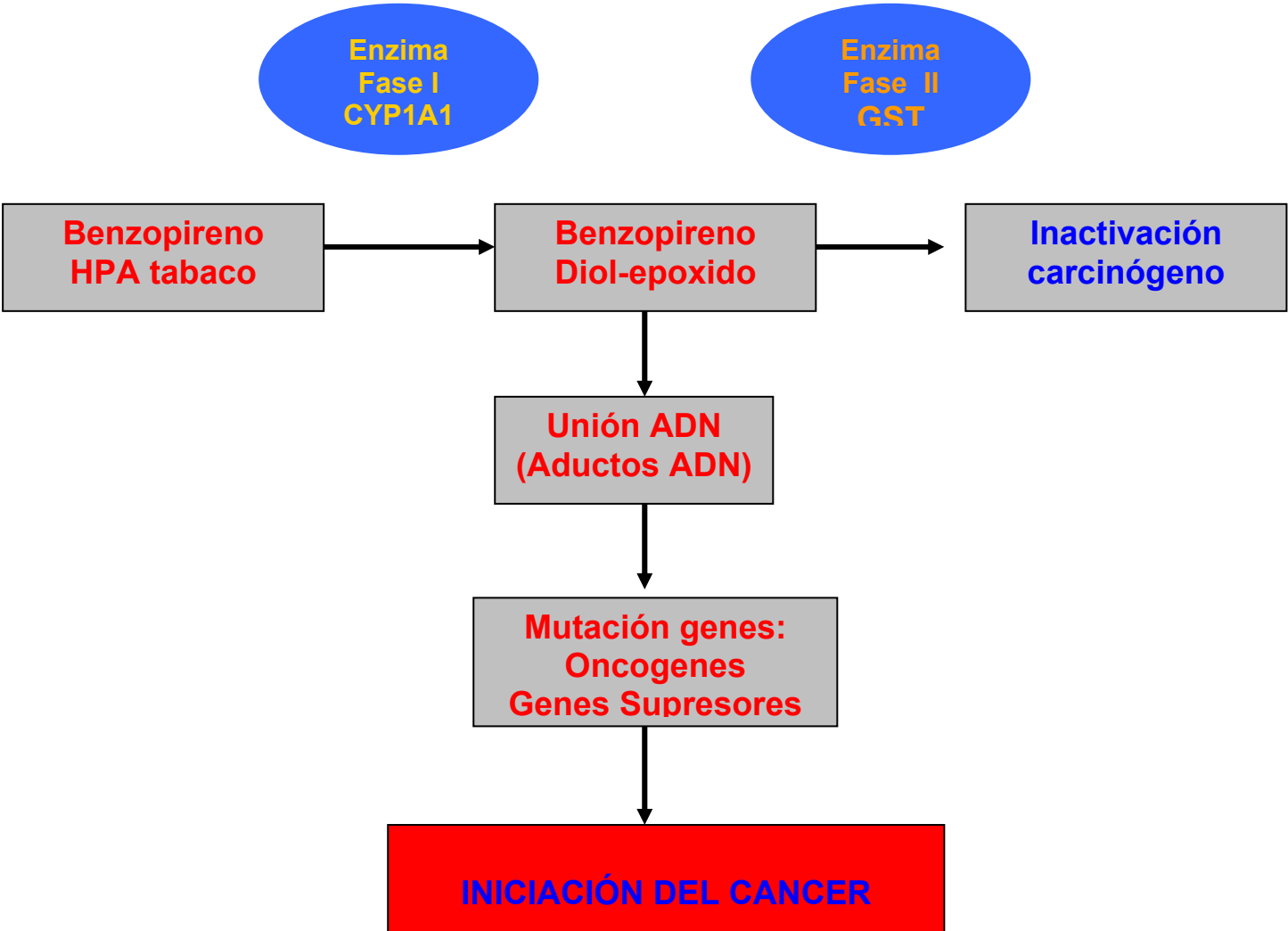
Este estudio genético consiste en el análisis a partir de los ácidos nucleicos de cada sujeto de los genes CYP1A1 y GSTM1 y GSTT1, amplificando las regiones de interés mediante la técnica de la PCR para posteriormente analizar el polimorfismo existente en ellos.

El genotipo obtenido partiendo de sangre periférica (2-3ml) o frotis de mejilla se refleja en **un informe en el que se valora el riesgo frente a carcinógenos químicos**. Los resultados están disponibles en **15 días**. Acompañando el informe de las recomendaciones preventivas oportunas según cada persona.

El estudio en los polimorfismos de estos genes GSTM1, GSTT1, CYP1A1 y otros como el CYP2D6, CYP1B1, NAT-2 son relevantes con relación a la exposición de sustancias químicas en los siguientes tumores:

Pulmón, Vejiga, Mama, Colorrecta, Laringe, Estómago, Hígado, Endometrio, BCC y Cerebro.

ESQUEMA DE INTERACCION DE PROCARCINOGENOS Y
ENZIMAS METABOLICAS DE FASE I Y II EN LA INICIACION DEL
CANCER DE PULMON



Bibliografía

- Brüske-Hohfeld I et al. Occupational lung cancer risk for men in Germany: Results from a pooled case-control study. **Am J. Epidemiol** 2000;151:384-395.
- Boffeta P et al. Epidemiologic research and prevention of occupational cancer in Europa. **Environ Health Perspect** 1999,107(Supl 2): 229-231.
- Bepler G. Lung cancer epidemiologic and genetics. **J Thorac Imaging** 1999,14:228-234.
- Perera FP. Environmental and cancer:who are susceptible?. **Science** 1997,278:1068-1073.
- Ladero JM. Polimorfismos enzimáticos y cáncer de pulmón. **Med Clin** 1998,111,465-470.
- Bartsch H et al. Genetic polymorphisms of CYP genes ,alone or in combination as a modifier of tobacco related cancers. **Cancer Epidemiol Biomark Prev** 2000,9:3-28.
- Houlston RS.CYP1A1 polymorphisms and lung cancer risk: a metaanalysis. **Pharmacogenetics** 2000;10: 105-114
- Ambrosone CB.Cigarette smoking ,N-acetyltransferase 2 genetic polymorphisms, and breast cancer risk. **JAMA ,November 13,1996,276: 1494-1501**
- Lin HJ. Smokers and breast cancer. Chemical Individuality and cancer predisposition. **JAMA,2001, November 13,1996,276, 1511-1512.**
- Probst-Hensch NM. Acetylation polymorphism and prevalence of colorectal adenomas. **Cancer Res,55,2017-2020,May 15,1995.**
- Brockmöller J.Combined Analysis of Inherited Polymorphisms in arylamine N-acetyltransferase 2,glutathione S-transferases M1 and T1,microsomal epoxide hydrolase and cytochrome 450 enzymes as modulators of bladder cancer risk. **Cancer Res 56,3915-3925,Sept 1,1996.**