

**Efecte de l'oli d'oliva sobre la carcinogènesi i la producció local
d'eicosanoides en un model de càncer colorectal per azoximetà**

Tesi presentada per optar al títol de doctor

per

Josep Mañé Almero

Hospital Universitari "Germans Trias i Pujol"

Facultat de Medicina

UAB

2002

El sotasignat, Dr. Miquel Àngel Gassol i Duró, Professor Associat de Patologia Mèdica de la Universitat Autònoma de Barcelona i Cap del Servei de l'Àpares Digestiu de l'Hospital Universitari "Germans Trias i Pujol" de Badalona.

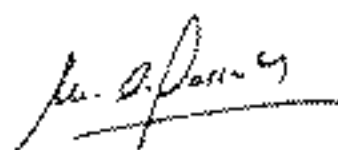
DECLARA:

Que ha co-dirigit amb el Dr. Fernando Fernández Bañares el treball d'investigació intitulat "Efecte de l'oli d'oliva sobre la carcinogènesi i producció local d'eicosanoides en un model de càncer colorectal per aproximeta" realitzat pel Sr. Josep Mañé i Almero per optar al Grau de Doctor en Medicina per la Universitat Autònoma de Barcelona.

En aquest sentit, es la meua opinió que el contingut científic d'aquesta memòria reuneix les condicions necessàries per a ser presentada i defensada davant el tribunal corresponent.

El que faig constar als efectes oportuns

Badalona, 17 d'abril de 2002



Signat

Dr. Miquel Àngel Gassol i Duró



**HOSPITAL
MÚTUA
DE TERRASSA**

Plaça Dr. Bover, 2
Tel. 93 736 00 00
Fax 93 736 10 00
08221 TERRASSA

El sota signant **Fernando Fernández Barfaraes**, Doctor en Medicina i Cirurgia, metge
adjunt d'Àrea Digestiu de l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa,

DECLARA:

Que ha co-dirigit amb el Doctor **Miguel A. Gassut Dam** el projecte titolat: "Efecte de
l'oli d'oliva sobre la carcinogènesi i la producció local d'eicosanoides en un model de
càncer colorectal per azoximetà" que presenta el Doctorand **Josep Mafé Aïmero** per
aconseguir el grau de Doctor per aquesta universitat.

El sota signant a llegit en detall el contingut d'aquesta memòria i considera que reuneix
totes les condicions per ser presentada i defensada davant del tribunal corresponent.

El que faig constar a tots els efectes.

Terrassa, 17 d'abril de 2002.

Fernando Fernández Barfaraes

Agraïments:

Al Dr. Miquel Àngel Gassull i Duró, Cap del Servei d'Àparell Digestiu de l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, per haver-me brindat l'oportunitat de realitzar aquesta Tesi, així com per la confiança dipositada en mi i, sobre tot, per inculcar-me un esperit i coherència científics que, indubtablement, ha marcat la meua vida.

Al Dr. Fernando Fernández Bañares, per haver-se convertit en un referent constant en el meu treball, pel seu ànim i inesgotable capacitat de treball; així com per la seva honestetat, sentit crític i elevadíssima qualitat humana que ha suposat un inestimable ajut en la realització d'aquesta Tesi.

El meu sincer agraïment als Drs. Eduard Cabré, Maria Esteve i Fina Malloles per la seva paciència vers als meus dubtes i per saber transmetre'm un afany de superació i realització personal amb els seus consells, el que ha esdevingut en una gran amistat.

En especial al Dr. Ramon Bartolí, amb qui he compartit moments de sacrifici i glòria, no tan sols científica, i que l'han convertit en el meu millor amic i col·laborador en aquest i altres estudis portats a terme tant al laboratori com fora d'ell.

A la resta de companys del Servei d'Àparell Digestiu, encapçalats pel Dr. Ramon Planas i els Drs. Eugèni Domenech i Rosa Morillas, així com als metges residents pel seu suport i ànim en els moments més difícils.

A la Elisabet Navarro, Marta Álvarez, Elisenda Pons, Lourdes Fluvia, José M^e Hernández, Justiniano Santos, Rosa Durandez, Dr. Xavier Llor, Dra. Cruz Pastor i,

en definitiva, tota la gent amb qui he compartit hores de laboratori i m'han aportat tots els seus coneixements i suport en la realització de la Tesi.

A la Dra. Eva Castellà del Servei d'Anatomia Patològica, pels estudis histològics que formen part d'aquesta Tesi.

A la Sra. Margarita Ortiz, encarregada del manteniment del Centre d'Experimentació Animal, per veïllar de manera tan eficient, pel benestar dels animals.

Als companys Pere Joan, Sergi, Isabel i Jorge, de la Unitat de Tuberculosi Experimental, amb qui he compartit coneixements i emocions en un espai quelcom més que imprescindible pels nostres estudis: El Centre d'Experimentació Animal de l'Hospital "Germanans Trias i Pujol".

A la meva família per la seva estimació

*...y al pisar la seca y dura tierra de aquel extraño,
pero exitante lugar, descubrí en cuestión de un segundo,
"lo que dura un suspiro, que el viaje no había sido en vano.*

Carmen Sereno

Índex i abreviatures

INDEX:

PART TEÒRICA

Capítol 1. Patogènesi del càncer colorectal	1
1.1. Introducció	1
3.2.3 Epidemiologia descriptiva del càncer colorectal	2
3.2.2.1. Incidència	2
3.2.2.2. Mortalitat	4
3.2.3 Etiologia del càncer de còlon i recte	5
3.2.2.1. Factors genètics i ambientals	5
3.2.2.2. Estil de vida	6
1.2. Hipòtesi actual de la carcinogènesi colònica	9
3.2.3 Mecanismes moleculars de la transformació i progressió del carcinoma colorectal	10
3.2.2.1. Via activadora d'oncògens i inactivadora d'antioncògens	10
3.2.2.2. Inestabilitat genètica progressiva	15
1.3. Models experimentals de carcinogènesi colorectal	16
1.4. Lesions preneoplàsiques: focus de criptes aberrants	19
1.5. Lesions neoplàsiques premalignes: els adenomes	23
1.6. Lesions neoplàsiques malignes: els carcinomes	24
Capítol 2. Factors dietètics i el càncer de còlon	26
2.1. Ingesta calòrica	26
2.2. Fibra	28
2.3. Carbohidrats	31
2.4. Proteïnes	32
2.5. Alcohol	33
2.6. Micronutrients	34
2.7. Greix	37
Capítol 3. Estructura química, nomenclatura i biosíntesi dels àcids grassos	40

3.1.	Estructura química i nomenclatura dels àcids grassos	40
3.2.	Biosíntesi del àcids grassos	42
3.2.1.	Biosíntesi dels àcids grassos saturats	42
3.2.2.	Biosíntesi dels àcids grassos insaturats	44
3.2.2.1.	Biosíntesi dels àcids grassos monoinsaturats	46
3.2.2.2.	Biosíntesi dels àcids grassos poliinsaturats	47
3.2.3.	Regulació de la dessaturació i elongació	49
3.2.3.1.	Les dessaturases	49
3.2.3.2.	Les elongases	53
3.3.	Esterificació i biosíntesi d'acilglicerols	54
3.3.1.	Biosíntesi	55
3.3.2.	Deacilació i reacilació	55
3.3.3.	Especificitats cel lulars de la biosíntesi d'acilglicerols	56
Capítol 4. Funcions dels àcids grassos poliinsaturats		58
4.1.	Funcions energètiques dels àcids grassos poliinsaturats	58
4.2.	Àcids grassos i el paper estructural a la membrana	59
4.2.1.	Lípids a la membrana plasmàtica	61
4.2.2.	Interacció lípid-proteïna i funció cel lular	64
4.2.3.	Distribució intracel lular dels àcids grassos	66
4.3.	Els àcids grassos com a segons missatgers	66
4.3.1.	Mecanismes de transducció de senyals relacionats amb el lípids	67
4.3.2.	PAF i l'àcid lisofosfatídic	71
4.3.3.	Missatgers derivats dels esfingolípid	72
4.3.4.	Cicle del fosfatidilinositol com a promotor de segons missatgers	73
4.3.5.	Proteïna quinasa C: exemple de proteïna diana efectora	75
4.3.6.	Els eicosanoides	77
4.3.6.1.	Metabolisme ciclooxigenàsic	79
4.3.6.2.	Metabolisme lipoxigenàsic	83
Capítol 5. Els àcids grassos poliinsaturats a la carcinogènesi colorectal		88
5.1.	Introducció	88

5.2. Estudis d'intervenció dietètica	91
5.3. Estudis amb animals d'experimentació	93
5.4. Accions dels àcids grassos poliinsaturats sobre els mecanismes moleculars i cel lulars a la carcinogènesi colorectal	96
5.4.1. Expressió de gens i oncògens	97
5.4.2. Senyals intracel lulars	98
5.4.2.1. Proteïna quinasa C	98
5.4.2.2. Tirosines quinases	100
5.4.2.3. Altres quinases intracel lulars	101
5.4.2.4. Ornitinadescarboxilasa	102
5.4.2.5. Cicle Inositol fosfat	103
5.4.3. Àcid araquidònic i els eicosanoides	105
5.4.4. Apoptosi	108

PART EXPERIMENTAL

Capítol 6. Hipòtesi i objectius	112
6.1. Hipòtesi	112
6.2. Objectius	114
Capítol 7. Material i mètodes	115
7.1. Animals i estabulació	115
7.2. Dietes	115
7.3. Disseny experimental	118
7.4. Inducció de la carcinogènesi	119
7.5. Estudi metabòlic	120
7.6. Sacrifici i colectomia	121
7.7. Estudi dels focus de criptes aberrants	121
7.8. Estudi dels tumors	122
7.9. Anàlisi del patró d'àcids grassos a la mucosa colònica	123
7.10. Diàlisi intracolònica	125
7.11. Quantificació dels eicosanoides	126
7.11.1. Extracció líquid-sòlid dels eicosanoides amb minicolumnes C18	126
7.11.2. Separació i purificació de LTB ₄ /B ₅ mitjançant cromatografia líquida d'alta eficàcia (HPLC)	128
7.11.3. Quantificació per enzim immunoassaig de LTB ₄ i LTB ₅	130
7.11.4. Separació i purificació de PGE ₂ i PGE ₃ mitjançant HPLC	132
7.11.5. Quantificació per enzim immunoassaig de PGE ₂ i PGE ₃	133
7.12. Anàlisi estadístic	134
Capítol 8. Resultats	136
8.1. Estudi metabòlic i evolució ponderal	136
8.2. Formació de focus de criptes aberrants	137
8.3. Estudi dels àcids grassos de la mucosa	139
8.4. Estudi d'inducció de tumors	144
8.5. Producció intracolònica d'eicosanoides	149
8.5.1. Determinació de PGE ₂ i PGE ₃ a la setmana 12 de l'estudi	149
8.5.2. Determinació de LTB ₄ i LTB ₅ a la setmana 12 de l'estudi	152

Capítol 9. Discussió	155
Capítol 10. Conclusions	163
Annex 1.	164
Annex 2.	165
Annex 3.	166
Annex 4.	167
Annex 5.	168
Bibliografia	169

Abreviatures:

5-HETE	Àcid 5-hidroxi-6,8,11,14-eicosatetraenoic
5-HPETE	Àcid 5-hidroperoxi-6,8,11,14-eicosatetraenoic
AA	Àcid araquidònic
AG	Àcid(s) gras(-ssos)
AGMI	Àcid(s) gras(-ssos) monoïnsaturat(s)
AGPI	Àcid(s) gras(-ssos) poliïnsaturat(s)
AOM	Azoximetà
CA	Cripta(-es) aberrant(s)
CDP	Citidina difosfat
COX	Ciclooxigenasa(-es)
CTD	Citidina trifosfat
DAG	Diacilglicerol
DHA	Àcid docosahexaenoic
EIA	Enzim immunoassaig
EPA	Àcid eicosapentaenoic
FCA	Focus de criptes aberrants
GTP	Guanosina trifosfat
HPLC	Cromatografia líquida d'alta eficàcia
IFN	Interferò
IL-1	Interleucina-1
IP₃	Inositol trifosfat
LOX	Lipoxigenasa(-ses)
LTB₄/B₅/A₄/A₅	Leucotriè B ₄ /B ₅ /A ₄ /A ₅
MAP(K)	Proteïna activada per mitògens (quinasa)
PAF	Factor activador de les plaquetes
PGE₂/E₃/G₂/H₂	Prostaglandina E ₂ /E ₃ /G ₂ /H ₂
PGI₂	Prostaciclina
PIP₂	Fosfoinositol (4,5)-difosfat
PKC	Proteïna quinasa C
PLA₂	Fosfolipasa A ₂
PLC	Fosfolipasa C
PLD	Fosfolipasa D
TNF	Factor de necrosi tumoral
TX	Tromboxà (-ans)
UV	Ultraviolat

Part teòrica

CAPÍTOL 1. PATOGÈNESI DEL CÀNCER COLORECTAL

1.1 INTRODUCCIÓ

El càncer i en particular el càncer colorectal representen un dels majors problemes no solament per la salut pública i per la medicina preventiva, sinó per la ciència en general. De fet, el càncer de còlon té una gran rellevància sanitària en països econòmicament desenvolupats, mentre que els que es troben en vies de desenvolupament augmenten les seves xifres a mesura que l'increment de la industrialització va modificant l'estil de vida i els comportaments alimentaris dels seus habitants.

A l'actualitat el càncer colorectal és la tercera patologia neoplàsica més comú al món. A l'any 1998, es va estimar l'aparició de 131.600 nous casos al món, el que representa el 9% de tots els càncers diagnosticats durant aquest període; a la vegada, la mortalitat atribuïble al càncer colorectal va estar al voltant del 10% de tots els càncers.⁸⁷ Malgrat els avenços realitzats pel que fa a la diagnosi, tractament i prevenció d'aquesta patologia cancerígena, aquestes xifres reflecteixen un elevat risc de patir una neoplàsia colònica entre la població.

La probabilitat de patir càncer de còlon augmenta entre els individus amb una història familiar d'aquesta patologia cancerígena. Dues són les formes de càncer colorectal hereditari descrites fins ara: la poliposi adenomatosa familiar i el càncer colorectal hereditari no polipoide. La primera d'aquestes síndromes genètiques es caracteritza per l'aparició de múltiples pòlips adenomatosus al còlon acompanyats, en nombroses ocasions, de manifestacions extraintestinals,¹⁵⁴ i poden ésser detectats en edats juvenils; de fet, el 95% dels portadors d'aquesta alteració genètica manifesten aquesta patologia abans dels 35 anys de vida.²⁴⁶ El 100% dels pacients amb poliposi adenomatosa familiar poden desenvolupar

adenocarcinomes colònics a una edat que oscil·la entre els 34 i 45 anys. No obstant això, aquesta forma hereditària de càncer colònic representa menys de l'1% dels càncers colorectals.

El càncer colorectal hereditari no polipoide presenta un fenotipus diferent a la poliposi adenomatosa familiar caracteritzat per l'aparició de tumors sincrònics i metacrònics principalment al còlon proximal.^{286,496} Els pacients amb aquesta síndrome familiar desenvolupen tumors colònics a una edat al voltant dels 42 anys i representen entre el 2 i el 6% de totes les neoplàsies colòniques.²⁴⁶

Aquestes alteracions genètiques familiars es transmeten entre generacions seguint un patró autosòmic d'herència mendeliana.^{218,246} En canvi, el càncer colorectal esporàdic comporta l'aparició de mutacions somàtiques als colonòcits amb una posterior evolució maligna a través de la seqüència adenoma-càncer.¹⁵⁵ Això és, en el 80% dels casos a través d'un patró similar al dels malalts amb poliposi adenomatosa familiar i entre un 10 i un 20% seguint les alteracions dels malalts amb càncer colorectal hereditari no polipoide.^{86,216,246} A diferència de les síndromes familiars, la mitjana d'edat per la diagnosi d'un carcinoma colònic és de 67 anys. Al voltant del 50% de la població occidental, als 70 anys, pot desenvolupar un adenoma colorectal que progressa a formes malignes aproximadament en 1 de cada 10 individus.²⁴⁶

1.1.1. Epidemiologia descriptiva del càncer colorectal

1.1.1.1. Incidència.

El càncer de còlon i recte és una patologia freqüent a Nord Amèrica, nord-oest d'Europa, Austràlia i Nova Zelanda.⁵³² Els països desenvolupats aporten el 63% de la incidència d'aquesta patologia neoplàsica al món. En canvi, el Japó manté una incidència, respecte a la resta de països industrialitzats, relativament baixa. El

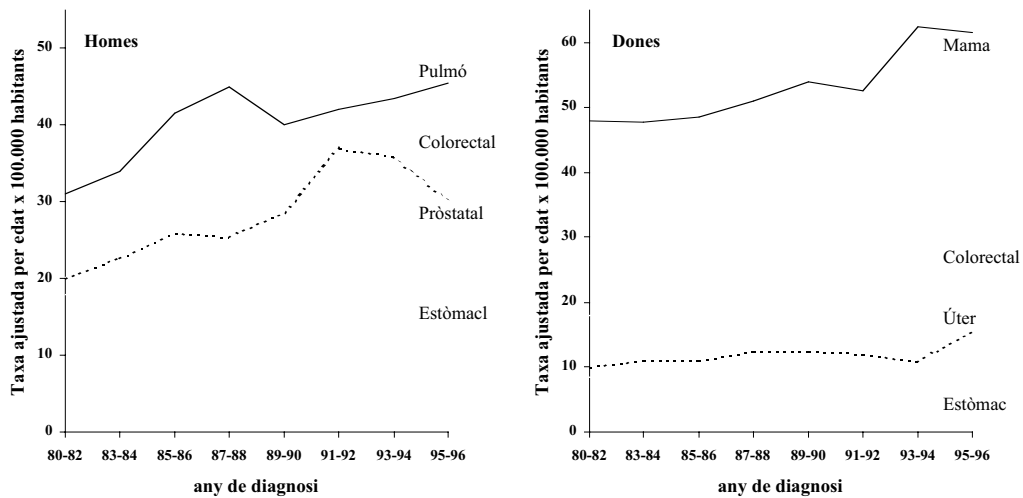
sud i centre d'Amèrica, Àsia i Àfrica són les àrees amb un menor risc de patir tumors colònics i rectals.

El càncer colorectal està fortament relacionat amb l'edat: la incidència s'incrementa ràpidament després dels 40 anys i és doblada cada 5 anys fins arribar al 60 anys a partir de la qual el risc augmenta exponencialment, sent als 80 anys quan s'observa el risc més elevat.^{316,532} La incidència del càncer colònic és similar entre homes i dones, mentre que el càncer de recte és, en un rang entre el 20 i el 50%, més elevat en els homes que en les dones. A més, a excepció de Sud Àfrica, la carcinogènesi colònica és més comú entre la població blanca que la negra.³¹⁶

D'altra banda, estudis realitzats en poblacions d'immigrants provinents de regions amb un baix risc de patir càncer colorectal i que s'estableixen en països amb un elevat risc tendeixen a adquirir, en un curt període de temps, les mateixes taxes enregistrades als països de destí.⁵³² Aquests estudis suggereixen una forta intervenció de l'ambient, principalment de la dieta, en el procés carcinogènic.

Dins el context europeu, cal distingir entre les regions del nord i les del sud pel que fa a la incidència del càncer colorectal. En aquest sentit, Catalunya, a l'igual que la resta d'Espanya, mostra taxes relativament baixes respecte a la resta de països de la Unió Europea.⁸ No obstant això, des de 1980 fins 1996 la tendència enregistrada a Tarragona, a l'igual que succeeix als demés països occidentals, mostra un notable ascens de la incidència de càncer colorectal tan sols superada pel càncer de pulmó en els homes i pel de mama en les dones (**figura 1.1**).³⁷² L'aparició de nous casos de neoplàsies colorectals en el període 1998-2005 s'estima que s'incrementarà un 40,2% en els homes i un 62,9% en les dones.

Figura 1.1. Tendències temporals de la incidència de diversos càncers a Tarragona durant el període 1980-1996.(Registre de Càncer de Tarragona.³⁷²



1.1.1.2. Mortalitat.

La mortalitat atribuïble al càncer colorectal està al voltant del 7.2% de tots els càncers apareguts durant l'any 1997.⁵³⁴ A Catalunya la carcinogènesi colorectal representa la tercera causa de mort per càncer entre els homes, després del de pulmó i pròstata, mentre que per les dones és la segona causa de mort després del de mama.³⁷² En el marc Europeu, Catalunya ocupa, a l'igual que Espanya, posicions baixes tant per homes com per dones (**taula 1.1**).^{8,372} Malgrat això, s'observa un lleuger augment en la probabilitat de morir per càncer colorectal a Catalunya.⁷⁷ Així, als anys 1975-76, 1 de cada 67 homes amb càncer moria per aquest tipus de tumor abans dels 75 anys d'edat, mentre que en el període 1991-92 eren 1 de cada 52. Pel que fa a les dones, l'increment ha estat més moderat: ha passat d'1 de cada 100 morts a 1 de cada 88. Amb tot, la mortalitat per càncer colorectal ha anat estabilitzant-se en la darrera dècada (**figura 1.2**).³⁷²

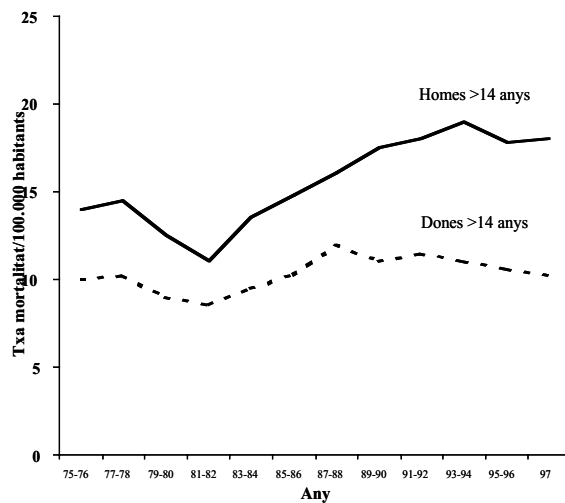
Pel que fa a la supervivència, la probabilitat de sobreviure 5 o més anys després d'haver-se diagnosticat el càncer colorectal en el període 1995-96 a Catalunya va ésser del 50% per les dones i del 46% pels homes.³⁷² Mentre que la supervivència en l'any del diagnòstic del tumor colònic ha passat de ser al voltant del 65% en el

període 1985-89 a un 74% en el període 1995-96 per ambdós sexes, segons dades obtingudes del Registre de Càncer de Tarragona.³⁷² Aquestes xifres no són del tot diferents a les obtingudes en altres àrees geogràfiques i expliquen com, tot i l'augment en la incidència d'aquesta patologia intestinal, la mortalitat ha anat estabilitzant-se.

Taula 1.1. Mortalitat per càncer colorectal als països de la Unió Europea 1990-94. La taula representa les taxes per 100.000 habitants i ajustades a la població mundial.³⁷²

	Homes	Dones
Alemania	22,6	16,0
Bèlgica	19,2	12,7
Catalunya	17,3	10,5
Dinamarca	23,3	17,4
Espanya	16,7	10,6
França	20,8	11,9
Grècia	9,5	7,6
Holanda	20,1	14,6
Irlanda	24,8	15,4
Itàlia	19,5	12,8
Noruega	20,6	14,4
Portugal	18,8	12,3
Regne Unit	21 ,3	14,2
Suècia	15,2	11,3

Figura 1.2. Tendències temporals de la mortalitat per càncer colorectal a Catalunya en el període 1975-97.³⁷²



1.1.2. Etiologia del càncer de còlon i recte.

1.1.2.1. Factors genètics i ambientals.

Bàsicament, el càncer pot considerar-se una patologia cel·lular com a conseqüència de l'acumulació de mutacions en gens claus que acaben alterant el seu creixement i la proliferació. La predisposició genètica a patir una neoplàsia qualsevol significa l'augment de susceptibilitat individual a patir un procés carcinogènic. D'altra banda, l'aparició de mutacions esporàdiques és un fet relativament freqüent a la cèl·lula i que pot esdevenir en la transformació cel·lular. Ara bé, la cèl·lula està dotada de mecanismes compensadors que frenen l'evolució maligna. En qualsevol cas, a la carcinogènesi, a diferència d'altres patologies

genètiques, la interacció de l'ambient amb el genotip pot reequilibrar o desequilibrar el balanç homeostàtic cel·lular. Això provoca un marc complex d'interrelacions que la ciència intenta identificar a fi i efecte de promoure els aspectes beneficiosos i reduir els efectes deleteris.

En el cas concret de la carcinogènesi colònica, la influència de l'ambient ve donada per les característiques de l'òrgan afectat. Així, la dieta es considera el principal factor ambiental capaç d'influir en el procés neoplàssic al còlon i al recte. Que un individu sigui portador d'una alteració genètica inicialitzadora del procés oncogènic, com és el cas dels dos síndromes hereditaris: poliposi familiar adenomatosa i càncer colorectal hereditari no polipoide, no vol dir que necessàriament tingui que desenvolupar el procés neoplàssic colorectal, tan sols que la probabilitat de desenvolupar una neoplàsia colònica és més elevada que en la població general. Les mutacions addicionals requerides poden, òbviament, estar afectades per factors ambientals. Així doncs, la dieta pot alterar la taxa mutacional, interaccionar amb esdeveniments epigenètics i afectar processos cel·lulars com l'apoptosi.^{91,266,357,402} El que, en definitiva, pot influenciar la inicialització o progressió tumoral.

En els apartats i capítols posteriors d'aquesta tesi es detallaran amb més precisió les pautes genètiques i com la dieta en general i el greix en particular afecten a la carcinogènesi colorectal. D'altra banda, un dels aspectes que ha estat objecte d'estudi que pot afectar el procés oncogènic és l'estil de vida.

1.1.2.2. Estil de vida.

L'estil de vida inclou aspectes culturals i socio-econòmics de l'individu. La complexitat de la dieta humana i la complexitat de les interaccions d'aquesta amb la carcinogènesi colorectal queda palès en multitud d'estudis epidemiològics. Els estudis amb immigrants són els que millor reflecteixen com els canvis d'hàbits

poden afectar a diferents patologies. Els estudis realitzats en colònies japoneses o amb poblacions indígenes als Estats Units relacionen els canvis dietètics amb l'increment de la incidència i mortalitat per càncer colorectal.^{79,188,275} Contràriament, a Austràlia immigrants de la conca mediterrània que han mantingut la seva cuina segueixen mostrant les taxes relativament baixes de tumors colorectals dels seus països d'origen.³⁰²

L'estil de vida que podem anomenar com occidental comporta, per regla general, un canvi dietètic, l'adquisició d'hàbits tòxics, un descens en l'activitat física i una tendència al sobreprès. A més, l'home occidental està sotmès a un augment de l'estrès psíquic, laboral i social. Aquest patró de vida occidentalitzat es creu que pot contribuir a augmentar el risc de patir una neoplàsia colònica.^{79,294,458} Malgrat això, un bon nivell educacional i una classe socioeconòmica mitja/alta s'han correlacionat amb un descens de la incidència del càncer colorectal,^{167,527} possiblement fruit d'una major preocupació per un model de vida sa i prudent. D'altra banda, les peculiaritats dietètiques i una elevada activitat física laboral observades al sud d'Europa són considerades com un estil de vida saludable per la baixa incidència de patologies cròniques en aquestes comunitats.^{440,528} En aquest sentit, la dieta mediterrània clàssica ha estat considerada com exemple paradigmàtic de patró dietètic saludable.^{159,440,528}

La dieta té un especial protagonisme en l'adquisició o manteniment d'un model de vida saludable. L'estudi d'aquests aspectes a nivell subpoblacional aporta una important informació pel coneixement de la influència de la dieta en l'aparició de patologies cròniques. Aquest és el cas de l'esmentada dieta mediterrània, però també cal destacar grups amb dietes característiques com els vegetarians estrictes o moderats, els quals se'ls ha associat amb una reducció en el risc de patir i morir per càncer colorectal.^{167,309,368} Ara bé, malgrat que els components dietètics d'una dieta vegetariana poden ajudar a explicar els aspectes guaridors d'aquesta davant el desenvolupament oncogènic colorectal, hi ha aspectes del comportament social,

no dietètics, que s'han relacionat amb beneficis per la salut. Entre els aspectes referits destaca l'actitud espiritual adquirida per alguns grups religiosos que, a diferència de l'home modern d'àrees industrialitzades, adopten una filosofia especial en la presa de decisions davant els esdeveniments de la vida.^{167,368}

L'activitat física és un element que interacciona amb paràmetres nutricionals i fisiològics en els estudis epidemiològics. La majoria d'aquests, evidencien un descens en el risc de desenvolupar càncer colorectal especialment quan l'activitat física ha estat elevada o d'una intensitat elevada durant tota la vida.^{294,458,459} Els mecanismes pels que l'activitat física obté aquests efectes beneficiosos poden involucrar l'augment del peristaltisme colònic i la millora de l'estatus immunològic i metabòlic en general.^{298,452}

Contràriament, el tabaquisme, tot i no respondre a una acció directa sobre el còlon, té efectes que s'han correlacionat de forma positiva amb la carcinogènesi colorectal. Ara bé, no falten estudis on el tabaquisme no es considera un factor de risc per la tumorigènesi colònica.⁴³⁰ En general, els estudis actuals detecten una elevada incidència d'adenomes colònics entre fumadors habituals i exfumadors.^{273,294,330} S'ha suggerit que el tabaquisme augmenta el risc oncogènic rectal després d'un període d'inducció aproximadament de quatre dècades, en canvi en els fumadors novells amb menys de 4 anys d'hàbit no s'observen efectes immediats amb el risc oncogènic colorectal.^{177,179} Això evidencia el caràcter inductor i/o promotor del tabac sobre l'aparició de neoplàssies colòniques. Els fumadors estan exposats a potents carcinògens. Tant la circulació sistèmica com el material fecal poden ser les vies d'accés al còlon d'aquests agents mutagènics.³³⁰ Addicionalment, s'ha observat l'existència alteracions genètiques que afecten al metabolisme d'amines policíclics aromàtiques, presents en el tabac, que poden sensibilitzar al fumador a patir un procés carcinogènic al còlon.²⁷⁰

1.2. HIPÒTESI ACTUAL DE LA CARCINOGENÈSI COLÒNICA.

La transformació neoplàsica de la mucosa colònica és un procés progressiu que constitueix una de les síndromes carcinogèniques més ben il·lustrades. A una fase inicial hiperproliferativa li segueix un trastorn creixent en la diferenciació cel·lular o displàsia. Aquest trastorn dóna lloc a etapes intermèdies caracteritzades per l'aparició de pòlips adenomatosos de naturalesa benigna que poden evolucionar a pòlips displàsics premalignes i, finalment, a pòlips carcinomatosos malignes de gran capacitat invasiva.^{246,287,342,422,424} En aquesta fase, les cèl·lules neoplàsiques són capaces de progressar a través de la paret intestinal fins arribar al peritoneu i estructures vasculars per les quals es disseminarà, donant lloc a les metàstasis.

El procés tumorigènic es caracteritza a nivell molecular per l'aparició de múltiples alteracions genètiques de la cèl·lula neoplàsica. A més, es produeixen una sèrie de canvis a nivell del microentorn tumoral fruit dels senyals intercel·lulars entre la cèl·lula tumoral i les sanes que es tradueixen en fenòmens d'angiogènesi i neovascularització, junt amb la interacció amb el sistema immunitari de l'individu, la qual cosa determinarà la capacitat invasiva i metastatitzant del tumor.^{86,506}

Des d'un punt de vista general, les modificacions que pateix una cèl·lula normal per transformar-se en cèl·lula tumoral resideixen en alteracions del seu cicle cel·lular, el que provoca el descontrol del creixement i la immortalització de la cèl·lula cancerígena. De fet, en aquesta última dècada s'han descrit mutacions en gens claus que afecten de manera epigenètica a vies metabòliques i que, consegüentment, evidencien un fenotipus cel·lular tumoral. Així, els gens relacionats amb la transformació neoplàsica estan associats a processos cel·lulars com la proliferació, diferenciació, apoptosi i el manteniment de la integritat genòmica (receptors de superfície, proteïnes citoplasmàtiques, factors de transcripció nuclears i proteïnes reparadores d'errades en la replicació de l'ADN).

Bàsicament, podríem establir que la majoria de càncers són síndromes genètiques.

1.2.1. Mecanismes moleculars de la transformació i progressió del carcinoma colorectal.

Els coneixements actuals sobre les bases moleculars del càncer de còlon són deguts principalment a l'estudi de famílies amb mutacions genètiques presents a les seves cèl·lules germinals i que mostren una predisposició molt més elevada de patir la malaltia. Concretament, dos són les síndromes lligades a l'herència mendeliana considerats com paradigmàtics pel càncer colorectal: la poliposi familiar hereditària i el càncer colorectal hereditari no polipoide. Aquestes dues síndromes, independents en la promoció tumoral, convergeixen en una mateixa entitat patològica: la carcinogènesi colorectal.

1.2.1.1. Via activadora d'oncògens i inactivadora d'antioncògens.

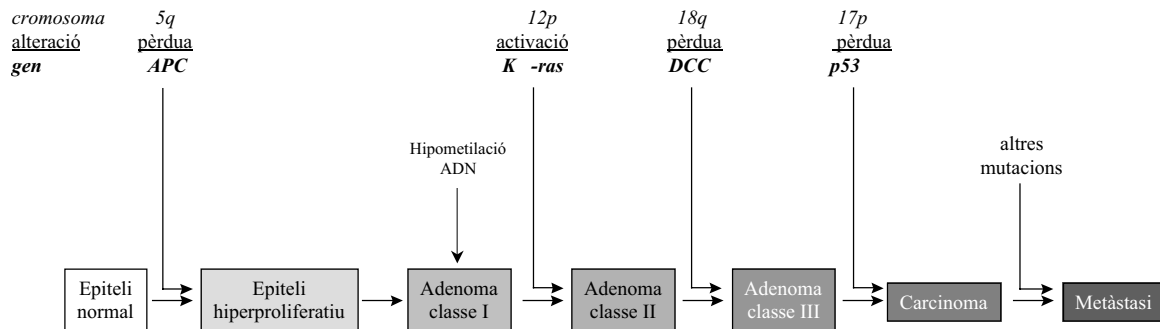
Aquest procés tumorigènic és el resultat d'una sèrie d'activacions d'oncògens acoplats a la inactivació mutacional de gens de supressió tumoral. Encara que aquestes alteracions acostumen a donar-se en una seqüència preferent, l'activitat biològica tumoral és més el resultat del conjunt d'oncògens activats i el gens supressors inactivats que no pas l'ordre en què s'han produït les alteracions moleculars.^{130,155,222}

La seqüència d'alteracions genètiques en l'evolució d'adenoma a carcinoma al càncer colorectal es va proposar per primera vegada l'any 1990,¹⁵⁵ i ha estat acceptada sense pràcticament modificacions fins a l'actualitat (**figura 1.3**).^{86,130,246,310}

Aquesta via genètica de progressió neoplàsica és la que mostren els malalts afectats de poliposi colònica familiar hereditària i al voltant del 80% dels

carcinomes colorectals esporàdics.¹⁵⁵ Apareixent implicats, almenys, un oncogen dominant (*K-ras*) i tres gens supressors tumorals (*APC*, *DCC* i *p53*).

Figura 1.3.: Representació de la seqüència adenoma-carcinoma amb les alteracions genètiques que l'acompanyen.



El model de la seqüència gènica en la progressió del càncer colorectal correlaciona la morfologia del creixement tumoral amb les múltiples mutacions involucrades en la transformació d'una cèl·lula normal a cancerosa.^{155,515}

El primer pas en el desenvolupament del càncer colorectal inclou la pèrdua, per mutació, del gen que codifica la proteïna APC (de l'anglès Adenomatous Polyposis Coli) que es troba en el braç llarg del cromosoma 5, concretament 5q21.¹⁵⁶ Com que la presència d'una sola còpia del gen correcte és suficient per no alterar el comportament cel·lular, cal que es produeixi una posterior mutació somàtica sobre l'al·lel normal per què apareixi una pèrdua de funcionalitat de la proteïna APC. En aquest sentit, l'existència d'una mutació hereditària monoal·lelica predisposa a patir un procés neoplàssic, és el cas dels malalts amb poliposi familiar hereditària on el desenvolupament d'un pòlip i la seva posterior evolució maligna es pot observar dues o tres dècades abans que en la població general.⁴⁸ A l'actualitat, la mutació bial·lelica del gen *APC* està considerada com l'esdeveniment inicialitzador en el 80% dels neoplasmes colorectals esporàdics,^{48,222,246} mentre que, aproximadament, l'1% de tots els casos estan lligats a la síndrome polipoide hereditari.^{156,246} La mutació inactivadora sobre el gen *APC* resulta en l'expressió truncada d'una proteïna supressora tumoral relacionada

amb els primers estadis hiperproliferatius i la formació de pòlips, és a dir un estat precancerós benigne conegut també com a *adenoma de classe I*.

Els coneixements actuals apunten a una intervenció de la proteïna APC sobre el control de la concentració citoplasmàtica de la β -catenina a través del complex APC- β -catenina-Glicògen sintasa quinasa 3β .^{156,319} Alhora, la β -catenina pot unir-se al domini citoplasmàtic de la molècula d'adhesió E-cadherina o al factor de transcripció nuclear Tcf-4 que indueix l'expressió de gens que promouen la proliferació cel·lular i prevenen la mort de la cèl·lula (*c-myc* i ciclina D1).⁴⁸ En conseqüència, una mutació silenciadora sobre el gen *APC* comportaria un augment citoplasmàtic de la β -catenina, traduint-se possiblement en una modificació de l'arquitectura cel·lular i en una activació transcripcional d'oncògens que estimularien la proliferació cel·lular.

El segon pas en la seqüència molecular de la carcinogènesi colònica inclou l'activació del protooncogen *K-ras*. Aquest gen es localitza en el braç curt del cromosoma 12. La mutació somàtica d'aquest protooncogen el converteix en una forma oncogènica relacionada amb les primeres fases de progressió tumoral, present aproximadament en el 50% dels carcinomes colorectals i dels adenomes de més d'un 1cm de diàmetre.¹⁵⁵ Mentre que tant sols un 10% dels adenomes d'una mida inferior a 1cm presenten el gen *K-ras* mutat.⁸⁶ A més, s'ha suggerit que la mutació en el gen *K-ras* comporta un alt potencial de progrés neoplàssic quan es produeix després de la del gen *APC*, de manera que augmenta el grau de displàsia i el creixement del tumor.^{222,246} Estem davant d'una fase encara benigne que es coneix com a *adenoma de classe II*. Però, a diferència de la mutació del gen supressor tumoral *APC*, els esdeveniments epigenètics que acompanyen a la mutació monoal·lèlica de *K-ras* comporten una hiperactivació de la proteïna codificada per aquest gen. Així, el caràcter dominant d'aquesta mutació es tradueix en una continua estimulació de gens promotors de la proliferació cel·lular a través de la via Ras-GTP/Raf-quinasa/MAP-quinasa-quinasa/MAP-quinasa sense necessitat

d'un estímul extracel·lular.⁴⁸

El tercer pas en el procés multifàsic de l'esdevenir neoplàsic és la delecció d'una regió del braç curt del cromosoma 18 on s'allotja el gen que codifica la proteïna DCC. Aquesta alteració cromosòmica s'observa en més del 70% dels carcinomes colorectals i al voltant d'un 50% dels adenomes.^{154,155} La funció del gen *DCC* no és coneguda, però la proteïna té un elevat grau d'homologia amb glucoproteïnes de la superfície cel·lular, particularment amb la molècula d'adhesió neuronal N-CAM.¹⁵⁴ Les pèrdues al·lèliques d'aquest gen s'associen a un descens en la seva expressió suggerint que *DCC* és candidat a gen supressor tumoral.⁸⁶ El resultat de la pèrdua total de la proteïna esmentada és l'increment en la taxa de proliferació i extensió del tumor, que encara és benigne i que es coneix com a *adenoma de classe III*.

La proteïna p53 és una fosfoproteïna nuclear codificada per la regió cromosòmica 17p13. Habitualment, té uns nivells d'expressió molt baixos i una vida mitja de tant sols uns minuts.^{229,384} La seva funció normal no està establerta amb claredat, però s'associa al control de la integritat de l'ADN en l'etapa tardana de la fase G₁ del cicle cel·lular, el que suggereix assignar a la proteïna p53 un paper de supressora tumoral.¹⁵⁵ A les cèl·lules tumorigèniques colorectals s'han detectat deleccions mutacionals en les que es troba involucrat el locus *p53*. Concretament, entre el 70% i el 80% dels carcinomes i entre el 10% i el 20% dels adenomes colorectals presenten aquesta mutació.⁸⁶ Diferents estudis han detectat la proteïna mutada p53 preferentment a les regions més displàsiques i més invasives dels adenomes.^{229,317,384} Això pot ser degut a que la proteïna mutada p53 té una vida mitja molt superior a la proteïna salvatge i a que l'expansió clonal de les cèl·lules tumorals es produeix a les àrees de l'adenoma més displàsiques. Aquestes evidències relacionen l'aparició de la mutació de *p53* amb la progressió de l'adenoma a carcinoma. A la vegada, la mutació monoal·lelica de *p53*, preferentment als adenomes,²² manifesta un fenotipus dominant negatiu per la

capacitat de la proteïna mutada d'inactivar la p53 salvatge.¹⁵⁵ Addicionalment, l'aparició de delecions o mutacions puntuals bial·lèliques sobre *p53* identificades en els carcinomes inicials contrasten amb el descens de p53 mutada en els carcinomes més agressius.³¹⁷ En definitiva, les mutacions inactivadores de p53 podrien comportar l'eliminació del bloqueig de la proliferació de les cèl·lules que han sofert mutacions carcinogèniques i permetrien l'acumulació de noves mutacions a mesura que les cèl·lules anessin proliferant degut a l'incapacitat de detectar anomalies en l'ADN. És a dir, la pèrdua de funcionalitat de p53 podria associar-se amb l'aparició d'un fenotipus dominant positiu com si es tractés d'un veritable oncogen.¹³⁰ En aquest sentit, la delecio de *p53* incrementaria la inestabilitat cromosòmica que es manifesta citogenèticament amb l'aparició de cèl·lules aneuploides.^{155,246}

Com s'ha pogut observar, fins arribar a l'estat de carcinoma són necessàries l'acumulació d'unes 7 mutacions inactivadores de, principalment, 4 gens claus en el control del creixement cel·lular.¹⁵⁵ La capacitat invasiva del carcinoma als teixits adjacents i de disseminar cèl·lules canceroses i establir tumors secundaris precisa, probablement, de la presència de tot un seguit de mutacions addicionals.⁸⁶ Sembla, doncs, que el procés de metàstasi tumoral és complex i requereix l'activació i inactivació de diferents gens que controlen la interacció de les cèl·lules tumorals entre si i amb les altres cèl·lules de l'organisme, i particularment la matriu extracel·lular i les estructures vasculars. En aquest procés juguen un paper fonamental diverses molècules d'adhesió (integrines, galactines, CD44, cadherines),^{7,86,317} i proteases que degraden la matriu extracel·lular (metaloproteases, serin-proteases, cistein-proteases).^{223,506} L'alteració en l'expressió d'aquestes molècules en el procés de transformació neoplàsica fa que les cèl·lules tumorals modifiquin la capacitat adhesiva entre elles i, a la vegada, s'activi la degradació enzimàtica de la matriu extracel·lular obrint vies per les que es poden disseminar aquestes cèl·lules tumorals.

1.2.1.2. Inestabilitat genètica progressiva.

Recentment s'ha identificat un nou mecanisme genètic de progressió del càncer colorectal. En aquest cas el que es produeix és una alteració en els mecanismes de reparació dels errors de replicació de l'ADN donant lloc a una inestabilitat genètica progressiva. Observacions inicials van identificar una sèrie de carcinomes que manifestaven una inestabilitat a les seqüències repetides simples dels desoxinucleotids.^{216,359} Es definí així l'existència d'un grup de carcinomes colorectals caracteritzats per presentar un fenotipus mutador de microsatèlits.

Aquesta via de progressió està implicada en el carcinoma colorectal hereditari no associat a poliposi i també en el 15-20% dels carcinomes esporàdics.^{1,216,218,286,496} Com a dada significativa cal dir que aquests tumors presenten un número significativament menor de mutacions als gens *APC*, *p53* i *K-ras*;^{86,216,286,367} citogenèticament, són euploides o pseudoploides;^{86,246} topogeogràficament, són tumors localitzats al còlon proximal i de tipus mucinós o poc diferenciat, mostrant-se com a tumors delimitats sense metàstasi i d'un millor pronòstic en comparació amb els malalts afectats d'altres tipus de tumors colònics.^{242,367} La inestabilitat genètica es detecta en fases inicials adenomatoses i s'incrementa a mesura que progressa cap a carcinomes, suggerint un paper fonamental a l'oncogènia colorectal.²¹⁸

Estudis posteriors han identificat fins a 4 gens: *hMSH2*, *hMLH1*, *hPMS1* i *hPMS2* localitzats en els cromosomes 2p22,3p21,2q31 i 7p22, respectivament, com a responsables d'aquest fenotipus mutador.¹⁵⁶ Concretament, estudis sobre les mutacions de microsatèlits en bacteris relacionaven les mutacions sobre els gens humans anteriors amb l'alteració dels mecanismes de replicació o reparació de les cèl·lules tumorals.^{271,353} Les mutacions als microsatèlits es deuen a la inserció o delecció per errors espontanis d'aparellament de bases durant la replicació normal de l'ADN. Són de caire recessiu. I quan es produeixen sobre les proteïnes del

sistema de reparació d'errors de l'ADN comporten un fenotipus hipermutable dels microsatèlits.^{48,246,367}

Malgrat haver-se descrit aquestes mutacions mutadores, el significat de l'acumulació d'alteracions als microsatèlits no es coneix ja que la majoria d'aquestes seqüències no són codificadores de proteïnes. Recentment s'han identificat seqüències de microsatèlits localitzades de forma crítica a regions codificadores de gens involucrats en el control del creixement (receptor II del TGF- β , receptor II del IGF i β -catenina), a l'apoptosi (BAX), i en gens del sistema de reparació d'errors de replicació de l'ADN (hMSH6 i hMSH3). Aquestes mutacions inactivadores en seqüències de 8 o 10 desoxiguanosines o desoxiadenosines han estat descrites en els gens anteriors, el que les relaciona amb un impuls del procés tumorigènic als neoplasmes colorectals associats a la via molecular d'instabilitat genètica progressiva.^{48,293,367,390}

Com a recapitulació, aquesta via carcinogènica de fenotipus mutador de microsatèlits comportaria en una primera fase la inactivació permanent o transitòria d'una proteïna primària del sistema de reparació d'errors de replicació de l'ADN (per exemple: hMLH1), aquesta primera fase d'instabilitat conduiria a mutacions mutadores secundàries (hMSH3 i hMSH6), el que generaria un nivell d'instabilitat progressiva que podria evolucionar alterant gens contenidors de seqüències de microsatèlits i involucrats en el control del creixement cel·lular (com són el receptor II del TGF- β i BAX).

1.3. MODELS EXPERIMENTALS DE CARCINOGENÈSI COLORECTAL.

Els estudis experimentals de carcinogènesi colònica amb animals es poden dividir en tres categories: models genètics, models de trasplantament cel·lular o de formacions tumorals i models induïts químicament. El model genètic més rellevant és el dels ratolins amb una alteració heterozigòtica al gen homòleg humà

APC, per tant estem davant un model experimental ideal per l'estudi de la poliposi familiar hereditària.^{203,319,520} Els animals immunodeficients als que s'hi inoculen cèl·lules tumorals humanes constitueixen un sistema *in vivo*, proper al cultiu cel·lular, on les condicions ambientals repercuteixen en el desenvolupament tumoral a l'animal.^{75,82} La carcinogènesi colònica induïda químicament ha estat el model més extensament utilitzat entre la comunitat científica. Aquest model s'adapta perfectament a l'estudi de diferents fases oncogèniques al còlon. Això possibilita conèixer a quina fase del desenvolupament neoplàssic s'exerceixen accions antitumorals o protumorals entre les substàncies estudiades.⁴⁰²

Els carcinògens específics pel còlon més utilitzats són l'1,2-dimetilhidrazina i el seu derivat azoximetà (AOM). Ambdós, un cop administrats a l'animal, principalment per via subcutània, són metabolitzats pel fetge generant productes amb una alta capacitat bioreactiva.^{160,233} Aquests metabòlits carcinogènics arriben via sistèmica al còlon on podran modificar macromolècules. L'especificitat pel còlon dels derivats carcinogènics d'1,2-dimetilhidrazina i AOM no es coneix, però pot ser deguda a la capacitat dels colonòcits d'activar catalíticament aquestes substàncies paral·lelament amb una destoxicació a la resta d'òrgans no-diana.¹⁶⁰ Al mateix temps, aquests carcinògens poden exercir la seva capacitat mutagènica metilant locus específics dels àcids nucleics i altres macromolècules i, consegüentment, produir interaccions amb la regulació de la transcripció o reparació del material genètic.^{160,371} També cal destacar que tan l'AOM com la 1,2-dimetilhidrazina exerceixen preferentment el seu potencial carcinogènic al còlon distal. Així, a l'especificitat pel còlon d'aquests carcinògens caldria afegir-hi una intraespecificitat que pot ser deguda a una diferent resposta fisiològica entre el còlon proximal i el distal. Com a exemple d'això, hi ha estudis on s'observa una desigualtat en l'expressió de certes isoformes de proteïna quinasa C (PKC) en rates induïdes amb AOM entre els dos trams colònics.^{121,122}

Com s'ha esmentat, el model de carcinogènesi induïda químicament permet

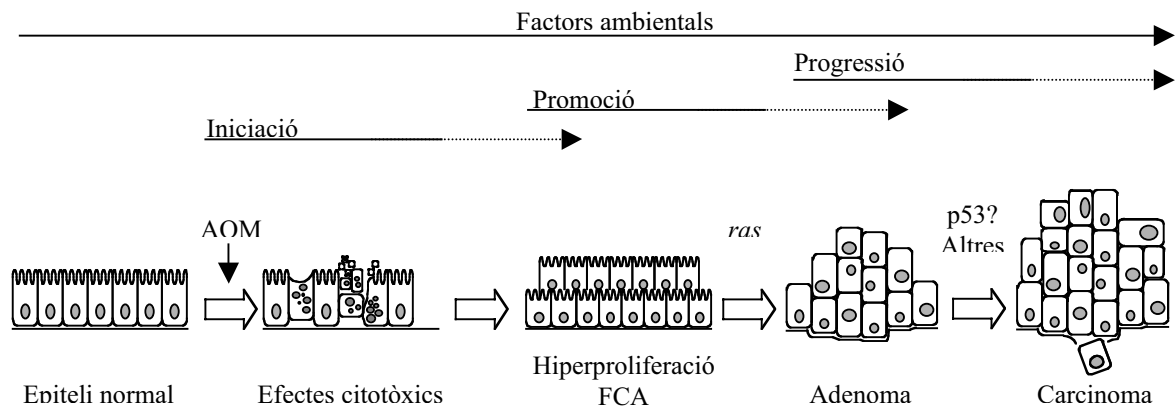
distingir tres fases de desenvolupament neoplàssic: la iniciació, la promoció i la progressió (**figura 1.4**).^{246,266,402} Contràriament, en humans, el desenvolupament neoplàssic no està tan clarament delimitat, sinó, mes aviat respon a l'acumulació de canvis genètics i alteracions en els patrons proliferatius els quals comporten la pèrdua de l'homeostasi cel·lular de forma totalment metacrònica.

L'activació metabòlica dels carcinògens químics comporta una resposta citotòxica entre els colonòcits a les poques hores de la inducció.^{136,266} Addicionalment, en aquest estadi agut apareix una aturada en la proliferació colònica.^{134,266} Conseqüentment, apareix un augment en la taxa apoptosi/proliferació a la mucosa característica de l'etapa inductora en aquest model. El mecanisme pel que succeeixen aquests esdeveniments sembla estar relacionat amb un augment de l'estrès oxidatiu cel·lular paral·lelament a una disfunció de la maquinaria antioxidativa cel·lular.²⁵⁵ Aquesta etapa d'iniciació no té una clara correspondència amb la carcinogènesi colorectal humana, tret del potencial neoplàssic que pot suposar l'exposició ambiental a carcinògens com el tabac.

Entre el 4t i 10è dies de l'administració del carcinogen apareix un descens en la taxa apoptòtica i una recuperació de la proliferació cel·lular a la mucosa colònica.^{134,266} De fet l'augment de la proliferació s'ha relacionat amb la regeneració de la mucosa.^{136,246} Aquesta seria la fase de promoció oncogènica, on el potencial de transformació neoplàssic de les cèl·lules pot venir donat per l'existència d'alteracions genètiques, producte de l'acció mutagènica dels carcinògens, i que han escapat a l'apoptosi. Les mutacions que apareixen en aquesta etapa poden incrementar la malignitat del procés si afecten a gens que controlen el creixement cel·lular. En aquest sentit, s'ha suggerit que la presència de mutacions en el gen *ras* s'associa a una pèrdua del control sobre la proliferació cel·lular.⁴⁷⁸ En aquesta fase promocional, entre la setmana 12 i 18 de la inducció, es poden observar formacions preneoplàssiques a la mucosa colònica (criptes

aberrants i focus de criptes aberrants) conseqüència de l'augment proliferatiu i l'aparició d'alteracions en l'arquitectura de les cèl·lules intestinals.

Figura 1.4.: Representació de les etapes neoplàsiques colòniques en un model experimental induït amb AOM.



La darrera fase correspon a una etapa pràcticament irreversible en l'evolució tumoral de la mucosa colònica. És la progressió tumoral, on l'acumulació de diverses alteracions genètiques comporten la pèrdua, cada cop més evident, de la diferenciació cel·lular.^{95,121} Addicionalment, aquests canvis s'acompanyen d'un augment en la proliferació a la mucosa colònica i un descens en la taxa apoptòtica.^{95,121} L'aparició de tumors pot valorar-se entre la setmana 19 i 36 després d'haver injectat per primer cop als animals amb el carcinogen, segons la cadència emprada de dosificació. En aquesta fase l'expansió clonal de les cèl·lules malignes pot deixar de limitar-se als tumors invaint altres òrgans.⁴²²

1.4. LESIONS PRENEOPLÀSIQUES: FOCUS DE CRIPTES ABERRANTS (FCA).

El reconeixement de la histogènesi del càncer colorectal ha estat possible gràcies als estudis histològics fets tant en humans com en animals. En aquests estudis s'ha observat una evolució tumoral des de lesions precursors a lesions tardanes malignes. Treballs realitzats en humans ja van donar suport a les evidències de que el càncer colònic es desenvolupava a partir dels pòlips adenomatosos.^{265,422}

Pòlips i FCA són considerats lesions benignes precursors del càncer colorectal tant en animals com en humans. Donat que en aquesta Tesi s'estudiarà l'aparició de FCA als animals d'experimentació a continuació es revisarà àmpliament les seves característiques i significat patològic.

Al 1987, Bird RP descriu en preparacions colòniques de ratolins tractats amb AOM i tenyides amb blau de metilè, criptes individuals o agrupades que presenten uns patrons proliferatius i morfològics alterats, són les criptes aberrants (CA) i els FCA respectivament.⁴³ Posteriorment es van descriure aquests tipus d'alteracions a la mucosa colònica de malalts amb càncer colorectal esporàdic i en malalts amb un elevat risc de patir càncer.^{379,418,488} Des de llavors, els FCA s'han considerat lesions putatives preneoplàssiques i han estat utilitzades com biomarcadors del risc de desenvolupar càncer colorectal en estudis experimentals d'intervenció dietètica o d'avaluació de substàncies quimioprotectors.⁴⁸⁸

Les CA són dues o tres vegades més grans que les criptes normals que l'envolten, amb un engruiximent franc del revestiment epitelial i de la zona pericriptal, les obertures críptiques luminals van des d'un aspecte oval a més tancades de formes lineals. Aquestes característiques morfològiques de les CA, junt amb la coloració més intensa que adquireixen a l'observar-les per microscopia òptica, les fan fàcilment distingibles de les criptes normals de l'entorn.^{43,300,301,381,382} Les CA freqüentment s'agrupen formant FCA que solen elevar-se sobre la resta de criptes normals que formen el camp d'observació (**figura 8.2**).³⁵⁶

Estudis morfològics d'aquestes CA en rates exposades a carcinògens han mostrat una gran variabilitat pel que fa a la mida i al nombre de criptes de cada focus (multiplicitat). S'han observat des de CA aïllades fins a FCA de més de 70 criptes. El nombre total de FCA és molt variable depenent de diversos factors: el carcinogen utilitzat, la ruta i la cadència de l'administració, la soca de rates o ratolins utilitzada, el sexe, l'edat i la zona colònica on es fa l'observació.^{43,300} En

aquest sentit, l'ús de l'AOM com a carcinogen provoca principalment l'aparició dels FCA a la regió distal colònica dels animals; a més, existeix una correlació positiva entre la dosi d'AOM administrada i el nombre de CA, la mida dels FCA i l'expansió d'aquests cap a zones més proximals del còlon.^{299,300} Altres estudis de carcinogènesi experimental han observat un augment a la multiplicitat dels FCA en detriment dels FCA amb menys CA quan el temps de valoració s'allunya del dia d'exposició al carcinogen.^{80,301} Relacionat amb la multiplicitat dels FCA, l'augment d'aquesta (>14 CA/FCA) s'ha associat de forma significativa a l'aparició de tumors colònics als animals d'experimentació.⁸⁰ De la mateixa manera, l'augment del grau de displàsia s'ha correlacionat significativament amb l'augment de la multiplicitat als FCA.⁴⁹⁹

Els estudis en humans descriuen característiques similars als estudis realitzats amb animals pel que fa als FCA. En tot cas, destacar la baixa incidència d'aquestes lesions en pacients amb adenomes (<0,1 FCA/cm² de còlon) respecte als malalts amb poliposi familiar (0,5 FCA/cm² de còlon) o amb adenocarcinomes (0,45-2,1 FCA/cm²), sent els pacients de poliposi familiar hereditària els que presenten més CA i més displàsia per focus.^{322,381,488,537} Totes aquestes dades no fan res més que recolzar el paper preneoplàssic dels FCA en humans.

Esbrinar les característiques histiopatològiques dels FCA ha estat un fet fonamental per identificar-les com lesions precursoras tumorals. En aquest sentit, tot i que algunes CA mostren trets hiperplàssics,^{109,299,537} molts FCA presenten displàsia, principalment localitzada a les parts inferiors de les criptes, caracteritzada per un augment de la relació nucli/citoplasma, pèrdua de la polaritat nuclear, alteració en l'uniformitat arquitectònica, descens del nombre de cèl·lules caliciformes i aparició de criptes ramificades.^{80,301,356,381,478,499,537} Malgrat que aquestes alteracions no deixen de ser modestes, els FCA més evolucionats patològicament han estat comparats a microadenomes.^{80,299,499}

Altres estudis han evidenciat característiques fenotípiques diferenciades entre les criptes normals i les CA o els FCA. Així, animals d'experimentació tractats amb substàncies genotòxiques mostren al 99% dels FCA un marcat descens de l'activitat hexosaminidasa.³⁸⁰ De la mateixa manera, els FCA a la carcinogènesi experimental no tan sols han mostrat una depleció en la producció de mucina,⁵¹⁴ sinó que també s'ha descrit un canvi qualitatiu en la composició d'aquesta a mesura que els FCA augmenten el grau de displàsia o la multiplicitat.^{80,499} Una altra alteració destacable és la que afecta a l'expressió de TGF- α i de TGF- β ; concretament, l'anàlisi immunohistoquímic dels FCA revela la pèrdua o reducció en l'expressió d'aquests factors de creixement independentment del grau de displàsia i de multiplicitat.⁴⁹⁹ En humans, els FCA presenten una sobreexpressió de l'antigen carcinoembriònic respecte a les criptes normals, la presència d'aquesta immunoglobulina fetal, present també en pòlips i carcinomes, podria constituir una de les primeres alteracions en el procés tumoral; la unió d'aquesta a altres alteracions epigenètiques (APC, DCC) poden repercutir sobre els patrons arquitectònics i de diferenciació cel·lular a les criptes.^{14,381} Pel que fa a la diferenciació cel·lular, i més concretament a la fase terminal d'aquesta, estudis recents han evidenciat una significativa correlació inversa entre el nombre de cossos apoptòtics per CA i la multiplicitat dels FCA.⁴²

La identificació d'alteracions genètiques constitueixen un requisit indispensable per relacionar els FCA amb el procés neoplàssic. Malgrat no haver-se detectat significativament mutacions associades als FCA a gens com *APC*, *DCC* i *p53*,^{461,537} un important conjunt d'estudis han establert l'existència de mutacions de *K-ras* en aquestes lesions. Concretament, la mutació detectada de *K-ras* consisteix principalment amb la substitució de la segona base del codó 12 per l'adenina o per la timidina.^{448,453,461,478,507,514} A la vegada, aquests estudis mostren una freqüència mutacional de *K-ras* als FCA que oscil·la entre el 7-34% en animals d'experimentació,^{478,514} mentre que en humans, aquesta taxa, arriba fins el 58%.⁵³⁵ A més, aquests estudis han suggerit l'equiparació histopatològica dels FCA

portadors de la mutació *K-ras* amb aquells amb un elevat grau de displàsia i de multiplicitat.⁴⁷⁸ Actualment, el veritable significat biològic de la mutació de *K-ras* als FCA es desconeix, però s'especula amb l'essencialitat d'aquesta alteració pel posterior desenvolupament neoplàssic dels FCA.³⁸²

Existeix una remarcable heterogeneïtat de FCA, possiblement deguda a factors etiològics diferenciats i que implicarien una evolució posterior distinta. En aquest sentit, s'ha descrit el desenvolupament maligne d'algunes d'aquestes lesions, mentre que d'altres poden revertir a estats normals.^{42,222,382,461} A més, el camí seguit per aquestes lesions preneoplàssiques cap a la malignització possiblement comporti alteracions genotípiques i fenotípiques diferents entre els models experimentals i en humans.^{478,514} D'altra banda, no es pot descartar un procés de formació de tumors colònics que suposi no passar per l'estadi de FCA.⁵³⁶

1.5. LESIONS NEOPLÀSIQUES PREMALIGNES: ELS ADENOMES.

Estudis epidemiològics i d'intervenció han caracteritzat perfectament l'evolució de les lesions neoplàssiques des dels estadis premalignes fins arribar al càncer colorectal. Tal com s'ha esmentat anteriorment, això és la seqüència mucosa normal-adenoma-carcinoma, on l'adenoma o pòlip adenomatós constitueix la lesió premaligna que precedeix, en la majoria d'ocasions, l'aparició del càncer.^{287,246,342,422,424}

Els adenomes colorectals constitueixen una família de neoplàsies mucoses amb diversitat d'aparença externa, però que comparteixen característiques fenotípiques i genotípiques. En relació al primer cas destaca l'activitat proliferativa no invasiva de les cèl·lules epitelials,²⁷⁹ la sobreexpressió de p53,²²⁹ i la hipometilació de *c-myc*.¹⁵⁵ Mentre que, pel que fa a les alteracions genètiques destaca la prevalença mutacional de *K-ras* entre les diferents formacions polipoides.¹⁵⁵ Histològicament es poden definir com una massa tumoral protuberant sobre l'epiteli intestinal que

pot ésser sèsil o pediculada i amb una morfologia glandular relativament conservada, classificant-se en: tubulars, túbulo-vellosos i vellosos.⁴¹⁵ Les lesions polipoides més freqüents al còlon són els pòlips hiperplàsics no adenomatosos i els adenomes tubulars. La mida d'aquestes formacions tumorals oscil·la entre els 1-2 mm i els 10 cm.

La probabilitat de transformació carcinomatosa d'un adenoma augmenta en funció de la mida de la lesió, de la proporció del component vellós i de l'edat del pacient. Així, mentre en els adenomes tubulars menors de 5 mm el risc de presentar un àrea displàsica d'alt grau és inferior al 0,1%, en els pòlips vellosos més grans d'1 cm aquest supera el 40%.⁴¹⁵ A més, estudis amb humans relacionen l'acumulació d'alteracions genètiques, fruit de l'expansió clonal cel·lular, amb patrons histològics comuns de malignificació entre els adenomes i els carcinomes.²¹⁸ Tanmateix, l'evidència definitiva que l'adenoma és una lesió precursora dels carcinomes rau en els resultats d'estudis d'intervenció, els quals han demostrat que la polipectomia endoscòpica redueix o, fins i tot, anul·la el risc de presentar un càncer colorectal.

1.6. LESIONS NEOPLÀSIQUES MALIGNES: ELS CARCINOMES.

La història natural d'un procés tumoral colorectal finalitza amb l'aparició dels adenocarcinomes. Pràcticament, el 98% de tots els càncers de còlon són adenocarcinomes. La incidència màxima d'aquests tumors malignes es dona entre individus de 60 a 79 anys,^{2,415,532} tret dels individus portadors d'alguna alteració genètica familiar o malalts d'alguna patologia inflamatòria crònica intestinal on l'edat de màxima incidència es situa entre els 40 i els 50 anys.^{2,246}

En humans, el 73% dels adenocarcinomes es distribueixen entre el cec, meitat pròximal colònica i sigma, sent en el 99% dels casos, carcinomes únics.⁴¹⁵ Malgrat això, l'existència de múltiples adenocarcinomes comporta diferents localitzacions

colorectals. Els tumors de la part pròximal tendeixen a créixer com a masses polipoides i exofítiques, mentre que els de la meitat distal solen ésser lesions anulars que poden afectar a tota la llum intestinal.

L'acumulació de multitud d'alteracions genètiques, més l'aparició de mutacions addicionals fan que els carcinomes colònics adquireixin característiques fenotípiques altament invasives i, per tant, malignes.⁸⁶ Microscòpicament, els tumors colorectals minven el grau de diferenciació a mesura que l'adenocarcinoma evoluciona a estats més agressius, mentre que augmenta la capacitat infiltrant a les diverses capes intestinals i la possibilitat de metastatitzà a altres òrgans.⁴¹⁵ A més, la majoria dels carcinomes colorectals excreten mucina, quan aquesta secreció és intracel·lular apareix la configuració en anell de segell.²

Els carcinomes colònics són asimptomàtics durant anys. La fatiga, debilitat, anèmia ferropènica i la presència de sang a la femta són símptomes suggestius de càncer de còlon que han d'ésser confirmats per mètodes radiogràfics o colonoscòpics. El factor més important en el pronòstic del carcinoma colorectal és l'extensió del tumor en el moment del diagnòstic i la disseminació d'aquest a estructures adjacents. La probabilitat de supervivència als 5 anys de l'extirpació són pràcticament del 100% en el malalts que presenten un carcinoma limitat a la mucosa colònica i del 54% quan infiltra la làmina pròpia, mentre que la probabilitat disminueix fins al 23% quan apareix metàstasi a distància.⁴¹⁵

CAPÍTOL 2. FACTORS DIETÈTICS I EL CÀNCER DE CÒLON.

Els hàbits dietètics juguen un paper multifactorial en el desenvolupament i la incidència de varis tipus de neoplàsies tant en humans com en animals d'experimentació. En aquest sentit, els aliments poden actuar sobre el procés carcinogènic com iniciadors, promotors i anticancerígens o antipromotors. Malgrat això, els estudis actuals no deixen de ser limitats pel que fa a la relació causa-efecte entre la dieta i el càncer. En molt casos, les propies limitacions dels estudis en humans (factors geogràfics diferenciats, altres patologies associades, dificultat de desvincular l'efecte d'un determinat nutrient en vers els altres constituents de la dieta), com dels estudis bàsics (diferències amb l'etiologia cancerígena experimental respecte a la carcinogènesi humana, dificultat d'extrapolació dels resultats als humans) fan que els resultats obtinguts siguin, si més no, relatius.

En tot cas, a continuació s'aporten les evidències més consolidades entre els diferents constituents de la dieta i el risc de patir un procés neoplàsic colorectal.

2.1. INGESTA CALÒRICA.

El balanç energètic net obtingut de la diferència entre l'aport calòric de la dieta i el gast energètic mostra un cert grau de complexitat alhora de relacionar-lo amb el risc carcinogènic. Concretament, l'efecte de l'ingesta o despesa calòrica sobre el càncer pot veure's influenciat per factors com el grau d'activitat física, els hàbits tòxics (tabac, alcohol), l'existència d'altres patologies i pels constituents específics de la dieta.⁵³² En referència a aquest darrer punt, els greixos són el principal component energètic de la dieta (9Kcal/g), això podria significar que qualsevol efecte associat a l'ingesta calòrica sigui en realitat una contribució del greix. No obstant això, en l'informe *Diet and health* emès al 1989 per la *National Academy of Sciences* s'hi ressalten estudis experimentals de restricció calòrica que mostren una

inhibició de càncers de mama i intestinals malgrat l'elevat contingut de greix de les dietes emprades.⁵³²

Estudis epidemiològics, tant de cohorts com de casos i controls, evidencien l'associació entre l'augment de la ingesta calòrica i el risc de patir càncer colorectal.^{6,105,270,373,458,474} No obstant això, a la literatura també apareixen dades a favor del protagonisme de l'activitat física més que de la ingesta calòrica en relació a la carcinogènesi colorectal.^{79,270,458,459} Tanmateix, l'obesitat podria incrementar el risc de desenvolupar una patologia cancerígena colònica, més que rectal, preferentment en homes.^{6,32,79,176,270,458} Les dades obtingudes per les dones són més inconsistentes que les obtingudes pels homes pel que fa a la correlació positiva entre la ingesta calòrica i la neoplàsia colònica, fins i tot hi ha estudis que aporten dades contradictòries en aquest sentit, mostrant a la dona més influenciable que l'home.³²⁹

D'altra banda, els estudis de restricció calòrica crònica en animals d'experimentació revelen un efecte beneficiós sobre la inducció tumoral a la mucosa colorectal,^{254,407,472} sense que aquesta acció dietètica sembli afectar significativament a la disminució de la proliferació cel·lular i l'augment de l'apoptosi als FCA.¹⁰⁹

Així mateix, estudis recents han suggerit un possible augment de la carcinogènesi colònica en rates sotmeses a un desequilibri alimentari (dejú/realimentació).³⁷⁵

En definitiva, tots aquests estudis semblen indicar que un patró alimentari pobre en calories, junt amb un control de l'obesitat i un augment de l'activitat física comportaria un efecte preventiu sobre la carcinogènesi colònica.

2.2. FIBRA.

Al 1971, Burkkitt proposà, per primer cop, la hipòtesi sobre el caràcter protector de la fibra vers al càncer colorectal a l'observar la baixa mortalitat per aquesta patologia en la població indígena africana i a l'associar-lo amb l'elevada ingesta de fruites i vegetals.⁷⁴ De llavors ençà, multitud d'estudis en humans han aportat dades sobre el caràcter beneficiós d'una dieta rica en fibra respecte al risc de desenvolupar alguna patologia neoplàsica colorectal.^{79,159,329,458,473,501,532,529} Fins i tot, alguns meta-anàlisis realitzats sobre estudis de cas-control i estudis prospectius suggereixen un efecte dosi-depenent del caràcter protector de la fibra.^{214,529} Addicionalment, estudis de carcinogènesi experimental també han atorgat un paper protector a la fibra dietètica.^{190,193,203,320,542} No obstant això, els resultats d'aquests estudis no són del tot concloents i en molts casos les associacions entre fibra i càncer de còlon no mostren suficient significació estadística. Així mateix, estudis recents longitudinals amb mostres molt amples de subjectes han aportat resultats negatius.¹⁷¹ Aquestes contradiccions, particularment en els estudis en humans, són vinculats a paràmetres intrínsecs o extrínsecs de difícil control (limitacions analítiques del contingut real de fibra, mètodes de preparació de la dieta, idoneïtat dels qüestionaris d'ingesta de fibra, alteració dels hàbits alimentaris en el transcurs de l'estudi, elecció de la cohort i de biomarcadors,...). En aquest sentit, un dels factors que pot introduir més variabilitat en els estudis és la definició de fibra. Així, darrera la definició de la fibra dietètica com polisacàrids no midó que escapen a la digestió enzimàtica humana, cal diferenciar entre fibres fermentables i parcialment o no fermentables per la microflora intestinal (**taula 2.1**). Conseqüentment, la diversa proporció de fibres contingudes en els aliments podria comportar una diferent actuació fisiològica sobre el procés neoplàsic al budell.^{319,407,532} A més, no és descartable considerar una acció combinada entre la fibra i altres micronutrients que formen part dels aliments amb un contingut elevat de fibra (vegetals, fruites, llegums, cereals i llavors).³²⁰ De la mateixa manera, també és versemblant esperar un efecte interactiu entre la fibra i el greix.³⁶⁹

Actualment s'han descrit tot un seguit de mecanismes plausibles pels que la fibra exerciria les accions antitumorals a nivell colorectal. El primer d'aquests mecanismes es basa en la capacitat de la fibra d'augmentar la massa fecal i per tant elevar el peristaltisme colònic, això podria suposar la dilució i un menor temps d'exposició intraluminal dels possibles carcinògens.^{473,532} L'increment de la massa fecal pot produir-se mitjançant dos camins: per la capacitat hidrofílica de la fibra no fermentable, o bé per l'estimulació del creixement bacterià davant els metabòlits energètics obtinguts de la degradació de la fibra soluble (de fet els bacteris constitueixen entre el 30 i el 40% del pes sec de la femta en humans).¹⁵⁸ En aquest sentit, les diferents fibres podrien introduir canvis ecològics i funcionals en la microflora intestinal.⁴⁰⁷

Taula 2.1: Classificació de la fibra dietètica

Classificació basada amb l'estructura química
Polisacàrids no midó:
Cel luloses.
No cel luloses: hemicel luloses, pectines, gomes, mucilags, fructans, glucofructans.
No polisacàrids: lignines.
Classificació basada amb la solubilitat
Solubles (altament fermentables): pectines, gomes, mucilags i algunes hemicel luloses.
Insolubles (poc fermentables): cel luloses, lignines, la majoria de les hemicel luloses.
Compostos amb un comportament fisiològic/nutricional similar al de la fibra
Midons resistents a la digestió enzimàtica del budell prim
Fructo-oligosacàrids

Un altre mecanisme proposat és la capacitat d'unió de les fibres als potencials carcinògens. Com exemple d'aquest fenomen destacar l'associació entre la fibra i els àcids biliars,³¹⁹ el que previndria la formació d'àcids biliars secundaris per la microflora intestinal bacteriana i per tant es reduiria l'activitat protumoral d'aquests àcids biliars desconjugats.⁴⁰⁷ A més, la fibra redueix el pH fecal, el que suposaria una menor solubilitat de les sals biliars i un descens en l'activitat enzimàtica bacteriana.⁴⁹⁸

D'altra banda, la fermentació intracolònica, principalment de fibra soluble, comporta la formació d'AG de cadena curta, especialment de butirat. El butirat és la principal font energètica dels colònocits estimulants la proliferació a l'epiteli

normal. Però a diferència de l'estat hiperproliferatiu associat al procés carcinogènic, estudis *in vivo* han mostrat que el butirat estimula la proliferació a la base de la cripta i la inhibeix a les parts més superficials de la cripta.⁵¹² Alhora, estudis *in vitro* en línies cel·lulars de carcinomes colònics humans han evidenciat un descens de la proliferació i un increment en la diferenciació i apoptosi d'aquestes cèl·lules per acció del butirat,¹⁹⁴ suggerint l'existència d'un efecte anticarcinogènic real per aquest AG derivat de la fibra dietètica. D'altra banda, s'han aportat dades on s'associa les accions del butirat sobre la proliferació cel·lular amb mecanismes moleculars.⁵¹² No obstant això, són necessaris més estudis en aquest camp per dilucidar tots aquests mecanismes.

Malgrat que la majoria de les investigacions ressalten l'efecte anticarcinogènic de la fibra dietètica en general, treballs actuals apunten accions diferenciades de la fibra fermentable i la no fermentable. En aquest sentit, el segó de blat (fibra fermentable parcialment), a diferència del segó de civada (fibra fermentable), s'associa a una reducció tumoral al colon de rates tractades amb carcinogen.⁵⁴² Així mateix, s'ha detectat que la suplementació de la dieta amb fibra en ratolins que presenten una mutació heterozigòtica a *APC*, ocasiona una alteració molecular dependent de la font de fibra emprada. Concretament, els animals als que se'ls hi va administrar civada o inulina (fermentables) presenten uns nivells més elevats de -catenina citosòlica al budell prim, en comparació amb l'observat després de l'administració de fibra provinent de sègol o de blat (fermentables parcialment).³¹⁸

Tot i que els mecanismes pels que actuen les diferents fibres dietètiques no estan del tot clars, les evidències obtingudes fins ara suggereixen que dietes amb un alt contingut en fibra possiblement minvin el risc de desenvolupar una neoplàsia colònica. En aquest sentit les recomanacions que es fan des del *National Cancer Institute* i *World Health Organization* estan dirigides a augmentar l'ingesta diària de fibra fins nivells de 30-35gr mitjançant productes d'origen vegetal.

2.3. CARBOHIDRATS.

Tot i pertànyer a la mateixa família química de la fibra, els carbohidrats simples (monosacàrids, disacàrids i oligosacàrids) i el midó no resistent són altament digerits a nivell del budell prim. Això fa que hagin de ser considerats independentment de la fibra dietètica en la seva relació fisiològica amb el risc de patir càncer colorectal. En aquest sentit, comparativament amb la fibra, pocs estudis han estat realitzats per avaluar l'impacte de dietes amb un elevat contingut de midó (principal carbohidrat de la dieta) o sucres refinats. A més, la majoria d'estudis no distingeixen entre els diferents carbohidrats de la dieta i el risc neoplàsic colònic. És el cas del midó, els resultats beneficiosos sobre el càncer de còlon en estudis de correlació i en animals d'experimentació són difícils d'interpretar davant la manca de diferenciació entre midons refinats (digerits al budell prim i que aporten alts nivells de glucosa) i midons resistents (amb un comportament similar a la fibra),^{81,92,329} a més de no tenir en compte les diferències de preparació culinària.⁴⁷³ Quelcom més consistents són els estudis respecte als sucres refinats, especialment pel que fa a la sacarosa, doncs una elevada ingesta d'aquest sucre s'associa de forma significativa amb una elevació del risc del càncer colorectal.^{52,258} No obstant això, els resultats han d'interpretar-se amb cautela ja que l'ingesta de sacarosa s'associa amb un descens de l'ingesta de fruites i vegetals, el que es relaciona amb una disminució de factors protectors com la fibra i vitamines. A la vegada, els sucres vinculats a l'ingesta de fruita fresca com la fructosa s'associen a un descens del risc de desenvolupar una neoplàsia colònica,⁵² però aquest efecte pot ser degut a l'aport de factors protectors addicionals més que a una acció de la pròpia fructosa.

No existeixen evidències clares dels mecanismes pels que la sacarosa (i altres sucres refinats i midons altament digeribles) afavoreix el desenvolupament de lesions neoplàssiques colorectals, ara bè, davant l'augment de la glicèmia que comporta, podria relacionar-se amb l'acció d'hormones com la insulina.^{176,270} A més, les dietes amb un elevat contingut de sucres refinats han estat relacionades

amb un descens del trànsit intestinal i amb un augment en l'excreció dels àcids biliars totals i secundaris.²⁵¹

2.4. PROTEÏNES.

Tot i que algunes evidències suggereixen una associació positiva entre les proteïnes i el desenvolupament de la carcinogènesi colorectal, actualment no es poden extreure conclusions prou convincents al respecte. Això és degut, principalment, a que les dades epidemiològiques són limitades i inconsistentes, i a que la colinearitat entre les proteïnes, particularment d'origen animal, i el greix fa difícil identificar de forma aïllada els efectes de les proteïnes sobre la carcinogènesi colorectal.^{458,532} Alguns estudis relacionen una major incidència de patologies cancerígenes colòniques entre individus amb una elevada ingesta proteica d'origen boví o porcí més que la provinent de l'aviram o del peix.^{117,329,529} A més, els patrons dietètics amb un aport proteic principalment d'origen vegetal estan considerats com beneficiosos front al càncer de còlon.^{501,528,529} Els estudis amb animals d'experimentació també aporten dades a favor del caràcter promotor de la carcinogènesi colònica de la carn vermella;³¹⁹ contràriament, un estudi en rates induïdes amb 1,2-dimetilhidrazina mostra menys formació d'adenocarcinomes colònics a les rates alimentades amb dietes en les quals la principal font proteica va ser la carn magre respecte a dietes amb caseïna.³⁶³

L'acció adversa del consum de carn vermella podria venir de la formació d'amines heterocícliques durant el procés de preparació,^{117,529} ja que estan considerades substàncies carcinogèniques.^{176,363} Ara bé, la carn provinent de l'aviram també generà els mateixos procancerígens en el procés de cocció, en canvi està considerada molt menys promotora tumoral colònica.¹⁷⁶ Un elevat consum de carn també provoca una elevació de la concentració de ferro fecal, el que podria augmentar la peroxidació lipídica i la generació de radicals hidroxils al budell.¹⁷⁶ A més, actualment s'ha descrit que la carn vermella, però no la carn blanca, genera de manera dosi dependent compostos nitroderivats pel metabolisme de la flora

bacteriana colònica.¹¹⁷ Conseqüentment, aquests mecanismes podrien estar implicats en les possibles accions deletèries sobre el còlon, i independents del greix, atribuïdes al consum de carn bovina o porcina.

2.5. ALCOHOL.

Les dades més significatives que distingeixen a l'alcohol com un agent pro-carcinogènic s'han obtingut d'estudis en humans on s'associa amb un elevat risc de patir un procés neoplàsic a la boca, laringe, esòfag i fetge.^{414,540} Aquest efecte de promoció tumoral a les vies aerodigestives s'incrementa sinèrgicament amb el tabaquisme.⁵⁴⁰ Tanmateix, l'alcohol ha estat reconegut com un element afavoridor del desenvolupament carcinogènic al còlon en diversos estudis prospectius en humans,^{178,294,414,475} així com en estudis amb animals,^{98,438} malgrat l'existència d'estudis epidemiològics on no es mostren unes evidències tant clares.^{458,540} Addicionalment, altres estudis han evidenciat un comportament significativament més agressiu dels carcinomes colorectals entre malalts consumidors d'alcohol.²⁸⁸

Dos aspectes destaquen en els estudis sobre el consum d'alcohol i la seva relació amb la carcinogènesi colònica: el tipus de beguda alcohòlica i les interaccions que l'alcohol pot tenir amb altres components de la dieta. Malgrat que la majoria d'estudis associen una elevació en el risc de patir un procés tumoral al recte i al còlon per l'increment de l'ingesta d'alcohol total més que al diferent tipus de beguda,^{178,294} altres autors han suggerit un risc augmentat pel consum de cerveses i destil·lats en comparació al consum de vi.^{373,414,430} No obstant això, aquestes diferències poden ser degudes a un patró dietètic relacionat culturalment amb l'ingesta d'un determinat tipus de beguda alcohòlica. En aquest sentit, el consum moderat de vi, com a component de la dieta mediterrània tradicional, s'ha associat amb un efecte protector davant diverses patologies cròniques i entre elles el càncer colorectal.⁴¹⁴

Els mecanismes pels que l'alcohol (etanol) exerceix els possibles efectes deleteris sobre el còlon i recte no són del tot coneguts. Una de les possibles vies d'actuació implicaria la capacitat de l'alcohol en difondre procarcinògens a l'interior de la cèl·lula. Alhora, el metabolisme hepàtic desintoxicador és estimulat per l'etanol (citocrom P-450), això podria generar substàncies intermèdies amb capacitat d'alterar macromolècules com l'ADN.^{270,438} Així, substàncies provinents de la dieta, del tabac i, fins i tot, de les pròpies begudes alcohòliques veurien afavorida la seva acció carcinogènica per l'etanol que pren la consideració de cocarcinogen. També s'han proposat accions promotores tumorals de l'alcohol a través de l'augment de la triglicèridèmia i la secreció de gastrina.^{270,288} D'altra banda, tant el metabolisme endogen com bacterià de l'etanol genera acetaldehid. Aquest metabòlit té efectes citotòxics demostrats en models experimentals i humans, un estudi recent mostra una freqüència mutacional de l'aldehid deshidrogenasa-2, el que comporta un augment d'acetaldehid sèric, significativament més elevada en malalts de càncer colorectal alcohòlics que en alcohòlics sense cap patologia cancerígena.⁵⁴⁰ No es coneixen a l'actualitat els mecanismes concrets genotòxics de l'acetaldehid, però s'han suggerit accions directes o indirectes (deficiències de micronutrients, alteració de substàncies amb capacitat metiladora de l'ADN, metabolisme de procarcinògens) que alterarien la reparació i la metilació de l'ADN.^{98,270,438}

2.6. MICRONUTRIENTS

La generació, tant endògena com exògena, de radicals lliures, també anomenats molècules d'oxigen activat, poden produir alteracions a les biomembranes i a l'ADN. Per aquest motiu, les propietats antioxidants de micronutrients com les vitamines (A, E, C, -carotens), seleni, biofenols i lípids no saponificables són considerades profilàctiques davant els processos neoplàssics.^{140,159,352} La principal font d'aquests micronutrients és d'origen vegetal. Per tant, cal tenir en compte l'esbiaix que es pot cometre en els estudis existents davant la presència d'altres fitosubstàncies amb propietats antitumorals o amb capacitat d'interaccionar amb

aquests micronutrients. En tot cas, els estudis epidemiològics relacionen aquests components dietètics amb un descens de la incidència de les patologies cancerígenes.^{256,397,493,532}

Els estudis de cas i control i de cohorts en humans mostren resultats poc concloents pel que fa a l'associació entre les vitamines i la carcinogènesi colònica.^{53,178,259} Com a exemple destacar un estudi prospectiu realitzat en dones d'Iowa on no es va observar cap efecte preventiu de les vitamines A, C, E de la dieta sobre el risc de desenvolupar un càncer colorectal;⁵³ ara bé, en aquest estudi s'evidencià una acció protectora significativa dels suplementes de vitamina E sobre el risc de patir càncer de còlon. No obstant això, els estudis de suplementació de diferents tipus de micronutrients, sols o en combinació, no han aconseguit demostrar cap efecte significatiu sobre la prevenció de l'aparició de càncer colorectal.^{9,185,250}

D'altra banda, malgrat que nombrosos estudis suggereixen que les deficiències en seleni, degudes principalment a factors geogràfics, estan acompanyades d'un augment en la incidència i mortalitat per càncer,³⁹⁷ pocs estudis han aportat una clara associació específicament amb el càncer colorectal.^{172,328,340}

Els estudis en models animals de carcinogènesi van en la mateixa línia que els estudis en humans. Així doncs, apareixen estudis on l'administració de β -carotè, α -tocoferol, vitamina C, àcid fòlic i seleni mostren efectes significatius sobre la inhibició del desenvolupament neoplàsic al còlon dels animals;^{107,244,248,449} estudis on l'efecte depèn del derivat utilitzat;^{405,543} i d'altres on no s'observa cap efecte.^{107,449}

L'estudi dels mecanismes d'acció antitumorals dels micronutrients no s'ha limitat a la capacitat antioxidant. S'han vinculat, addicionalment, amb la preservació de l'arquitectura cel·lular, l'augment de la funció immune, l'increment

de la taxa apoptòtica, i amb una major grau de diferenciació cel lular i metilació de l'ADN.^{49,107,244,248,543}

Micronutrients no antioxidants com el calci i la vitamina D han mostrat un cert potencial químioprotector sobre la carcinogènesi colorectal arrel de les evidències obtingudes en estudis epidemiològics, cel lulars i en animals d'experimentació.^{4,27,173,210,338,364,423,525} No obstant això, els resultats no són del tot concloents. A més, existeixen estudis en els que no s'observa cap associació.^{231,237} En tot cas, possiblement l'efecte protector del calci sembla vinculat a la capacitat de normalitzar els estats hiperproliferetius associats a les lesions tant preneoplàsiques com neoplàsiques colòniques.^{27,210,338,423} Aquestes accions poden ser especialment significatives en els tumors que presenten mutacions *K-ras*.²⁸² De forma concomitant, la deficiència en vitamina D pot comportar la supressió dels efectes protectors de la suplementació dietètica amb calci.²⁸² Recentment s'ha observat una correlació inversa entre els nivells sèrics del principal metabòlit de la vitamina D i la gravetat del carcinoma colorectal.³³⁶ Aquestes observacions anteriors relacionen la vitamina D amb accions directes a nivell transcripcional. D'altra banda, els primers mecanismes antitumorals descrits pel calci el relacionaven amb accions a nivell intraluminal degudes a la capacitat de neutralitzar els àcids biliars i els AG.³³¹

En tot cas, les evidències sobre les possibles accions beneficioses dels micronutrients vers la carcinogènesi colorectal són del tot insuficients a hores d'ara. En molts casos els estudis es mostren incapaçs de diferenciar entre les aportacions dietètiques i les suplementacions. Així mateix, es desconeix si el fet que aparegui una deficiència plasmàtica o tisular d'aquests elements es causa o efecte de la patologia cancerígena. A més, l'efecte protector de les vitamines i minerals suggerit en alguns estudis no és uniforme en quant a homes o a dones, o en quant a la localització colònica o rectal dels tumors, havent, a més, resultats contradictoris entre els diferents estudis.^{168,329,397} Per aquests motius, molts investigadors han considerat l'estatus vitamínic o mineral d'un individu més com

un biomarcador inespecífic d'un estil de vida relacionat amb un descens de la carcinogènesi que un veritable factor antitumoral.^{9,397,493,525}

2.7. GREIX.

La hipòtesi que una dieta elevada en greix augmenta el risc de desenvolupar càncer de còlon està basada principalment en estudis ecològics on es comparen diferents països o grups poblacionals. D'una banda, la incidència i mortalitat degudes al càncer colorectal varia de forma significativa entre les diferents nacions del món,^{440,526,532} el que es correlaciona de forma positiva amb el consum de greix, principalment greix d'origen animal.^{91,420,526} D'altra banda, estudis en poblacions d'immigrants i en poblacions natives que han adoptat un consum de greix elevat a les seves dietes com a conseqüència de l'entorn sociocultural també han sofert un augment en les taxes de càncer colorectal.^{79,474} Contràriament, grups poblacionals que han mantingut una ingesta reduïda de greix, com els adventistes del setè dia californians, mantenen unes taxes relativament baixes d'aquesta patologia neoplàsica colorectal.³⁶⁸

En contrast amb els estudis descriptius o de correlació anteriors apareixen els estudis cas-control i els longitudinals o prospectius que permeten controlar millor els elements dietètics i no dietètics que poden interferir en les associacions entre la ingesta de greix i la carcinogènesi colorectal. La majoria d'estudis cas-control evidencien una correlació positiva entre la ingesta de greix total i el risc de patir càncer colònic.¹⁷⁶ Malgrat això, un recent meta-anàlisi, que inclou 13 estudis cas-control, indica que l'augment de l'aportació calòrica s'associa amb un increment de la carcinogènesi colònica de manera independent a la ingesta de greix, proteïnes i carbohidrats.²¹³ És a dir, el que aquest estudi suggereix és que una elevació en la ingesta de qualsevol font energètica comporta un augment en el risc de desenvolupar una neoplàsia colònica. A més, apareixen estudis cas-control on, un cop ajustats els resultats obtinguts a la ingesta energètica total, troben una

lleugera o nul·la associació entre la quantitat de greix consumit i l'aparició o recurrència de pòlips intestinals.^{294,329}

En general, els estudis prospectius no observen una clara associació entre l'aportació energètica i la carcinogènesi colorectal.^{176,529} Malgrat això, la determinació del risc relatiu de patir càncer colorectal en funció del greix total, un cop ajustat a l'aportació calòrica, comporta una lleugera correlació positiva.⁵²⁹ Ara bé, les evidències més cridaneres, observades tant en estudis cas-control com de cohorts, fan referència a l'increment de la incidència de càncer colorectal paral·lelament a l'augment del consum de carn vermella i el greix d'origen animal.^{256,529,532}

Davant les diferències i problemes metodològics que acompanyen als estudis en humans,^{78,144} alguns treballs han avaluat la influència de patrons i comportaments dietètics sobre la carcinogènesi colorectal.^{458,532} En aquest sentit, destaquen estudis on l'efecte protumoral dels greixos es relaciona amb la generació de substàncies genotòxiques durant el procés de cocció.^{144,526} Altres estudis comparen la incidència de càncer colònic entre països on, malgrat l'elevada ingesta de greix (40% de la ingesta total calòrica) i presentar una taxa similar de cardiopaties, existeixen diferències significatives en la incidència de càncer colònic, associant la disminució tumoral a la ingesta de grans quantitats de fibra dietètica.⁵²⁶ O bé, estudis on l'efecte promotor del greix dietètic sobre la carcinogènesi colònica tant sols es detecta en tumors que no presenten mutacions *p53*.⁵¹⁶

Les evidències més consolidades pel que fa a l'efecte protumoral d'una ingesta elevada de greix sorgeixen a partir d'estudis amb animals d'experimentació.^{41,261,407,491,520} A l'igual que en els estudis en humans, les grasses d'origen animal, principalment grasses saturades, presenten un potencial neoplàsic elevat. El paper dels greixos totals és especialment rellevant a la fase de promoció més que en la iniciació cancerígena. Els mecanismes proposats davant la capacitat protumoral d'una dieta amb un alt contingut de greix són: l'increment en

l'excreció d'àcids biliars i, consegüentment, l'alteració del metabolisme bacterià; elevació dels nivells d'esterols sèrics (colesterol i estrògens) i la producció augmentada de diacilglicèrid intraluminal.^{199,369,407} Els mecanismes esmentats repercutirien en una addicional capacitat co-carcinogènica, activació de senyals de replicació cel·lular i, per tant, augment del trofisme a l'epiteli colònic. Alternativament, mecanismes com la capacitat lipofílica d'alguns carcinògens fecals o la peroxidació lipídica han estat considerats quimiopromotors tumorals lligats a l'excés de greix dietètic.^{144,526}

En els darrers temps, estudis epidemiològics i experimentals han focalitzat l'atenció sobre les fonts i la composició dels diferents greixos alimentaris.^{176,407,440} Aquests estudis suggereixen una diferent influència sobre la carcinogènesi depenent del tipus d'àcid gras (AG) que integra el greix dietètic. Donat que l'acció de les diferents famílies d'AG en vers a la carcinogènesi colorectal constitueix un dels objectius centrals d'aquesta tesi, en els propers capítols s'aprofundirà en l'estructura química, classificació i funció dels AG. Posteriorment, al capítol 5, es revisarà extensament els coneixements actuals de l'efecte dels diferents tipus d'olis i d'AG dietètics sobre la carcinogènesi colònica.