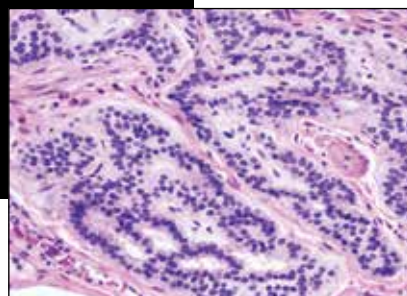


Papel de la dieta rica en fibra en la prevención y tratamiento del cáncer: terapia dirigida al manejo del calcio intracelular

Lucía Flores Peredo^a y Ángel Zarain Herzberg^a



El cáncer es un trastorno con pérdida en el control de la proliferación, diferenciación y muerte de las células que ocurre producto de una serie de mutaciones en los genes que regulan estos procesos. La diferenciación incompleta es una característica de las células tumorales, la cuál ocasiona pérdida de la función del tejido involucrado e inhibición en la transmisión de señales relacionadas con el ciclo de vida de las células, favoreciendo su inmortalidad. Una de las estrategias actuales en el tratamiento del cáncer es la inducción de la diferenciación celular mediante la administración de fármacos. Un ejemplo clásico y exitoso de éste tipo de terapia ocurrió en los años 80 sobre células de leucemia promielocítica aguda inducidas a diferenciación con ácido retinoico. Éste tipo de tumor se caracteriza por la

acumulación de granulocitos inmaduros denominados promielocitos, el tratamiento conlleva a una maduración de éstas células que al final pueden morir por apoptosis.

Siguiendo el ejemplo anterior, se han propuesto otros compuestos capaces de inducir diferenciación celular como opción terapéutica en la lucha del cáncer. Los inhibidores de desacetilasas de histonas (iHDAC) son un ejemplo de ellos. El butirato de sodio es un iHDAC que se encuentra en el lumen del colon donde tiene una función importante en el mantenimiento de la fisiología normal del epitelio intestinal y por ello también se le atribuye un papel en la prevención del desarrollo del cáncer. El butirato es producto de la degradación de las fibras de la dieta por las bacterias del intestino.

METABOLITOS ACTIVOS PRESENTES EN LA FIBRA

En el 2011, la Fundación Mundial para la Investigación del Cáncer y el Instituto Americano para la Investigación del Cáncer elevaron el efecto protector de la fibra en contra del cáncer de colon de “probable” a “convinciente”. Los efectos benéficos

^aDepartamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. UNAM. México, D.F.

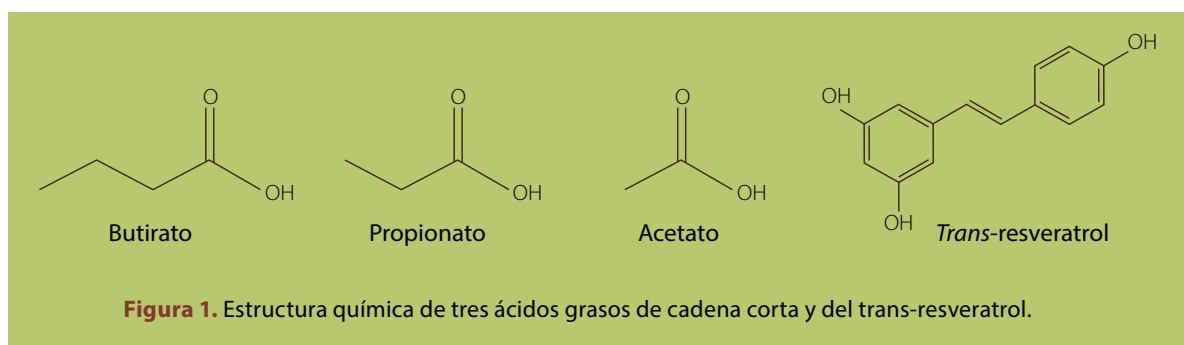
Correspondencia: Dr. Ángel Zarain Herzberg.

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Av. Universidad 3000

México, D.F.

Correo electrónico: zarain@unam.mx.

Tel.: 5623 2258.



del consumo de fibra incluyen, regulación del tránsito intestinal e ingesta de compuestos bioactivos que modulan las funciones celulares del tracto gastrointestinal.

La fibra soluble constituye una fuente de carbohidratos ramificados que el humano es incapaz de degradar, pero que la “flora” bacteriana puede metabolizar para sí mismas y para el hospedero. Como producto de la fermentación de la fibra por las bacterias presentes en el colon, están un grupo de ácidos grasos de cadena corta (SCFA, por sus siglas en inglés de *Short Chain Fatty Acids*), principalmente acetato, propionato y butirato. El butirato es la principal fuente de energía de los colonocitos, el propionato se asimila por el hígado mientras que el acetato entra a circulación periférica donde es metabolizado por los diferentes tejidos. Cada uno de estos metabolitos disminuyen la proliferación, regulan la diferenciación normal y activan la muerte celular programada de los colonocitos como parte del recambio del epitelio intestinal. Los efectos antiproliferativos de los SCFA también se han observado en ensayos *in vitro* con diferentes líneas de células neoplásicas de origen epitelial provenientes de cáncer de colon, gástrico, mama y próstata entre otras; siendo el butirato, el SCFA más potente en inhibir la proliferación de las células tumorales estudiadas (**figura 1**).

La fibra también es rica en otra clase de compuestos que han mostrado actividad en la prevención y tratamiento del cáncer: los polifenoles. Los flavonoides y los ácidos fenólicos son 2 principales clases de compuestos polifenólicos. El resveratrol y la quercetina son 2 flavonoides con propiedades antioxidantes que han mostrado actividad antitumoral

in vitro. En la dieta, el resveratrol se encuentra abundantemente en la cáscara de las uvas, arándanos, en cacahuates y nueces, en tanto que la quercetina en frutas cítricas, trigo negro y cebollas.

El resveratrol (3,5,4'-trihidroxi-trans-estilbeno) es un difenol que ha mostrado efectos quimiopreventivos y quimioterapéuticos en varios modelos tumorales. Este compuesto inhibe la proliferación celular, induce apoptosis y disminuye la progresión de múltiples tipos de cáncer en humanos, incluyendo linfoma, mieloma, tiroideo, estómago, ovárico, cérvico uterino, escamosos de cabeza y cuello, mama, colon, próstata, osteosarcoma y páncreas. El resveratrol es un potente activador de la sirtuina SIRT1, miembro de la familia de desacetilasas de histonas dependientes de NAD (**figura 1**).

Los SCFA y los polifenoles son compuestos que suprimen la formación de criptas aberrantes e inducen la apoptosis de colonocitos humanos pre-neoplásicos, por lo que se postula que tienen un efecto protector en el desarrollo del cáncer de colon. Sin embargo, los polifenoles solo muestran actividad benéfica a concentraciones mayores a las que derivan de la dieta. A diferencia, la concentración necesaria de los SCFA para los ensayos *in vitro* es muy similar a la fisiológica reportada, de ahí que una dieta rica en fibra aporta suficientes SCFA que coadyuvarían en la prevención del cáncer de colon.

La cantidad de SCFA que se produce en el colon depende del sitio de fermentación, la dieta y la composición de la microbiota. Los microorganismos fermentan principalmente carbohidratos, el agotamiento de esta fuente, conlleva el cambio de fermentación sacarolítica en el colon proximal a proteolítica en el colon distal, donde se forman

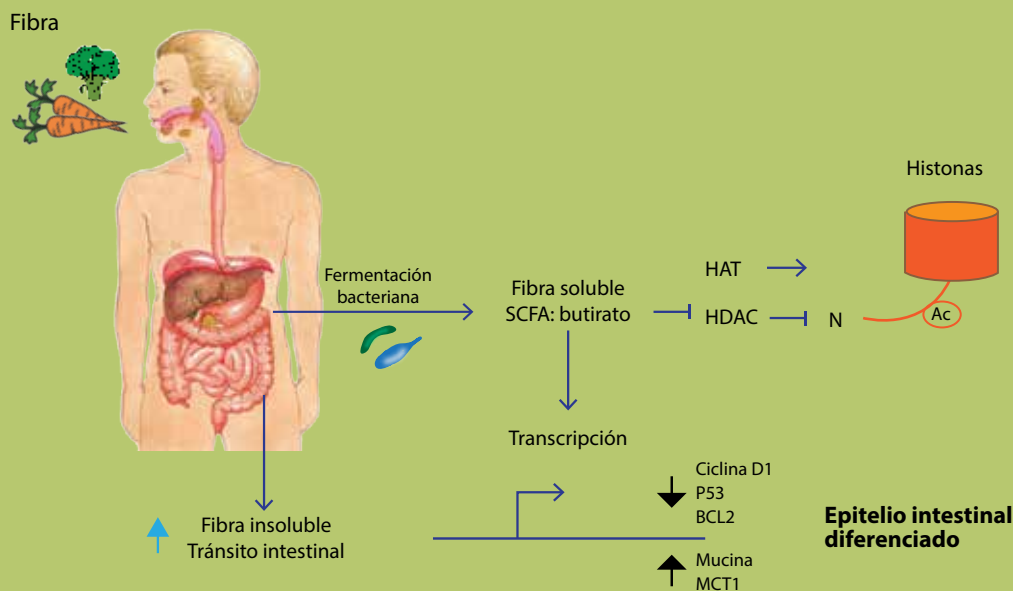


Figura 2. Efecto del butirato en la proliferación celular de los colonocitos normales y cancerosos. Los vegetales ingeridos en la dieta contienen fibra insoluble que le dan volumen al bolo fecal y aceleran su tránsito intestinal, por tanto, disminuyen la exposición de los colonocitos a compuestos carcinogénicos derivados de la dieta. Los vegetales también contienen fibra soluble que es fermentada por las bacterias presentes en la luz del colon produciendo SCFA, incluyendo butirato. El butirato inhibe a las desacetilasas de histonas (iHDAC) que resulta en un aumento de la acetilación de histonas que sostiene la apertura de la cromatina y la transcripción génica. Butirato induce y reprime la expresión de diferentes genes que en conjunto favorecen un programa normal de diferenciación del epitelio intestinal. Este mecanismo de regulación epigenética impide la proliferación celular descontrolada e induce apoptosis con la consecuente exfoliación de los colonocitos de la luz intestinal.

derivados nitrogenados como aminas y amonio, compuestos fenólicos y sulfónicos, de los cuales algunos pueden ser carcinógenos. Estos productos tóxicos junto con la menor disponibilidad de SCFA en el colon distal se hipotetiza que están involucrados en la patogénesis de desordenes gastrointestinales como la colitis ulcerativa e incluso el cáncer de colon.

EVIDENCIA DEL EFECTO DEL BUTIRATO EN LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER DE COLON

El butirato participa en el desarrollo normal del colon donde su oxidación aporta hasta el 70% de energía de los colonocitos presentes en las criptas. Las concentraciones de butirato en las heces fecales se encuentran en el rango de 11 a 25 mM. Cuando se adiciona a cultivos de células tumorales en concentraciones ≥ 1 mM, inhibe su proliferación en forma dosis dependiente.

El butirato se absorbe por difusión pasiva y a través de proteínas transportadoras. El valor de pH en el colon proximal es aproximadamente 5.7 e incrementa en el colon distal hasta 6.7 aproximadamente. El ácido butírico es un ácido débil ($pK_a \approx 4.8$) que al pH del lumen del colon, 90% existe en su forma aniónica (butirato) y requiere una proteína transportadora para su entrada a los colonocitos. La forma sin disociar es soluble en lípidos y puede entrar ya sea por difusión pasiva o por intercambio con el bicarbonato ($SCFA/HCO_3^-$). El butirato es transportado a través de la membrana luminal del colonocito humano, vía el transportador de monocarboxilatos, MCT1 y al transportador de monocarboxilatos acoplado a sodio, SMCT1. Se ha reportado disminución en la abundancia de transportadores del butirato MCT1 y SMCT1 en tejidos humanos con cáncer de colon, además existe correlación positiva entre la actividad del SMCT1

y la sobrevida libre de enfermedad. También hay reportes que muestran la inhibición de la captura de butirato después de infección con *Escherichia coli* enteropatógena la cual se asocia con disminución en la expresión de MCT1 en la línea celular de adenocarcinoma de colon, Caco-2.

En su conjunto, las evidencias apuntan a un efecto benéfico del butirato en la prevención del cáncer de colon, que a concentraciones fisiológicas muestra propiedades antiinflamatorias y es capaz de inducir la apoptosis de múltiples líneas celulares de cáncer de colon. Este metabolito ejerce su efecto a través de la inhibición de las enzimas desacetilasas de histonas (HDAC, por sus siglas en inglés de *Histone deacetylases*) que resulta en la expresión modificada de un conjunto de genes. El butirato muestra un efecto diferencial en la expresión génica encaminándose a sostener un fenotipo diferenciado. De esta forma, disminuye la expresión de genes asociados con proliferación (como ciclina D1 y p53), estrés oxidativo y bloqueo de la apoptosis (BCL-2), mientras que aumenta la expresión de genes relacionados con un epitelio diferenciado como mucina, proteínas de uniones intercelulares y del transportador de butirato (MCT1) (figura 2).

PAPEL DEL ION CALCIO EN LA DIFERENCIACIÓN CELULAR

El ion calcio (Ca^{2+}) es un segundo mensajero que participa en diversos procesos celulares, entre los que están aquellos que regulan el ciclo de vida de las células como proliferación, diferenciación y muerte de las células. Las señales se transmiten mediante un gradiente de concentración entre los diferentes compartimentos celulares, que se sostiene mediante un conjunto de proteínas que transportan el Ca^{2+} . El retículo endoplásmico (RE) es el principal reservorio de calcio en el interior de la célula, por lo que es fundamental en la dinámica del catión. Cuando el Ca^{2+} es liberado al citoplasma se requiere transporte activo para que el catión sea retornado hacia el RE a través de la ATPasa de calcio del retículo sarcoplásmico (SERCA por sus siglas en inglés de *Sarco/Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase*). En humanos existen 3 isoformas de la bomba SERCA, codificada por los genes *ATP2A1*, *ATP2A2* y

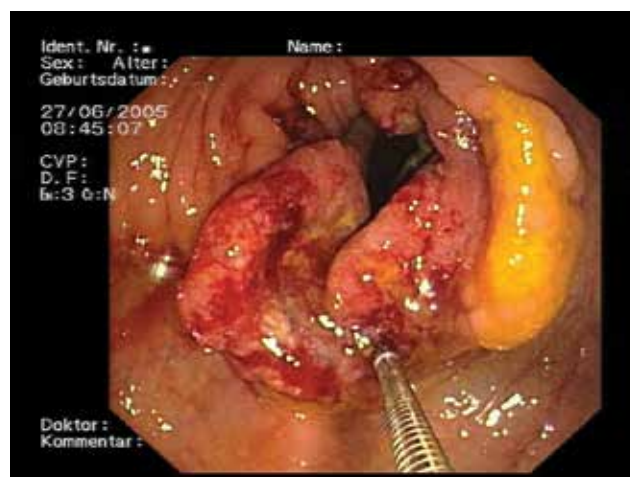
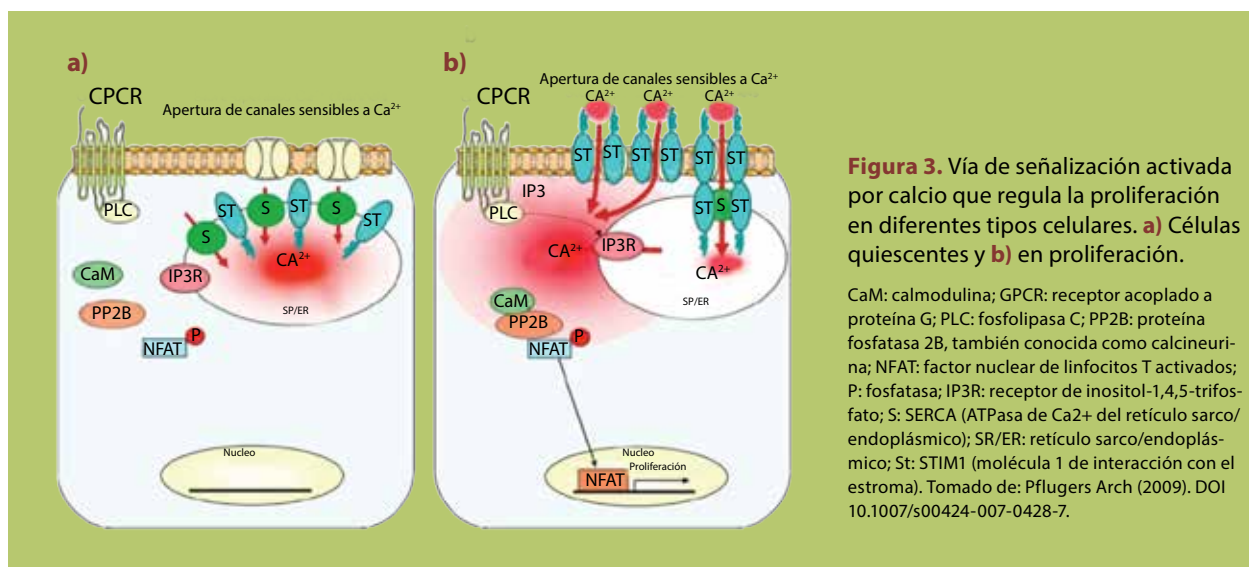


Foto: Archivo

ATP2A3. La expresión de las proteínas SERCA se modula de forma tejido específica y dependiendo del estadio del desarrollo. Mediante el empalme alternativo del preRNA transcrito por cada gen, se generan 11 variantes de la bomba: SERCA1a,b; SERCA2a-c; SERCA3a-f. La expresión de SERCA2b es ubicua mientras que SERCA3 es abundante en células epiteliales. Se ha propuesto una participación importante de las SERCA en la promoción y mantenimiento de distintas neoplasias de origen epitelial como cáncer de colon, estómago, cavidad oral, sistema nervioso central, tiroides, próstata y mama. A la fecha existen múltiples reportes que muestran expresión disminuida del RNA y de la proteína de estas bombas con correspondencia entre la ausencia de su expresión y el mayor grado de avance de los tumores.

La disminución en la expresión de las SERCA en líneas de cáncer humano se asocia con la pérdida de la diferenciación con que cursan las células neoplásicas. La pérdida de la actividad de SERCA induce la proliferación de diferentes tipos celulares tanto normales como neoplásicos a través de la vía Ca^{2+} /calcineurina/NFAT. La pérdida o disminución de la actividad de las bombas SERCA acarrea el vaciado del RE lo que activa la entrada de Ca^{2+} desde el espacio extracelular. La apertura de canales sensibles a Ca^{2+} (SOC, por sus siglas en inglés de *Store-Operated Calcium Channels*) incrementa la $[\text{Ca}^{2+}]$ intracelular, que es detectada por la calmodulina que a su vez activa a la calcineurina, proteína fosfatasa que



desfosforila al factor de transcripción NFAT, que se transloca al núcleo donde promueve la expresión de genes específicos relacionados con la proliferación de diversos tipos celulares normales y neoplásicos, como por ejemplo las ciclinas, c-Fos y c-Jun (**figura 3**).

DIFERENCIACIÓN CELULAR E INDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE SERCA3

La expresión de SERCA3 es muy abundante en epitelios, mucosas y en células del linaje hematopoyético, donde su expresión varía a través de los estadios normales de diferenciación. El análisis mediante inmunohistoquímica de biopsias de colon normal muestra que la expresión de SERCA3 es menor en las células madre que ocupan el fondo de la cripta, la cual aumenta gradualmente conforme las células avanzan su estado de diferenciación a lo largo del eje de la cripta, hasta las que ocupan la superficie de la misma donde la expresión de SERCA3 y su estado de diferenciación son máximas.

La pérdida de diferenciación por la que se caracterizan las células neoplásicas correlaciona con la poca o nula expresión de SERCA3 que se ha encontrado en cáncer de colon, estómago y células leucémicas. Las observaciones anteriores sugieren que la disminución en la expresión de SERCA3 es un evento temprano en el proceso carcinogénico, por lo que se evalúa su utilidad como marcador en el diagnóstico de distintos tipos de cáncer de origen epitelial.

Por otra parte, la disminución en la expresión de SERCA3 que se encontró en muestras de pacientes y líneas celulares de cáncer de colon y estómago se acentúa conforme aumenta el grado histológico de los tumores, que se establece según el estado de diferenciación de los mismos. Por lo tanto, el nivel de expresión de SERCA3 también puede ser útil en la estratificación de los tumores e incidir en el pronóstico del paciente según la abundancia en la expresión de esta proteína.

Experimentos de diferenciación *in vitro* con células tumorales del epitelio intestinal tratadas con butirato, muestran que inducen la expresión de la proteína SERCA3 de manera específica, ya que la proteína SERCA2b no se altera o disminuye parcialmente tras la diferenciación. El aumento en la expresión de la bomba SERCA3 concomitante a la inducción de la diferenciación puede ser clave en el mecanismo de cómo actúa esta terapia. El aumento en la expresión de la bomba incide en la dinámica del Ca^{2+} favoreciendo la transmisión de señales para el establecimiento de un programa de diferenciación que permita restablecer las funciones normales del epitelio.

TRATAMIENTOS CLÍNICOS CON BUTIRATO

La administración de butirato para el tratamiento del cáncer no se ha probado, sin embargo, se ha utilizado exitosamente en padecimientos inflama-

torios del colon o recto. La vía de administración es importante, ya que el consumo de butirato en forma de tabletas presenta el inconveniente de que éste se metaboliza y absorbe rápidamente antes de alcanzar el colon, dónde se busca que ejerza su efecto. Una alternativa es la instilación rectal, por ejemplo la aplicación de enemas de butirato en casos de proctitis aguda inducida tras radioterapia acelera el proceso de curación. También se han probado tabletas de butirato con cubierta entérica para el tratamiento de pacientes con enfermedad de Crohn (trastorno inflamatorio crónico del tracto intestinal), encontrando una cantidad de butirato liberado en el colon similar a la lograda con la aplicación del compuesto en enemas, evitando la molestia de éstas últimas. En casos de colitis ulcerosa, el tratamiento combinado de un antiinflamatorio con butirato en formulación oral con cubierta entérica, muestra mayor eficacia que la monoterapia con el antiinflamatorio. Otra alternativa es el tributirin, un triglicérido que contiene 3 moléculas de butirato esterificadas a una de glicerol, cuya liberación de butirato ocurre sólo después de su hidrólisis por las lipasas pancreáticas y gástricas, con el consecuente aumento en su concentración. El consumo de bacterias probióticas que producen butirato, como *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Clostridium butyricum*, han mostrado su efectividad en modelos animales, reduciendo la formación de criptas aberrantes en el recto y colon, además de prevenir el desarrollo de colitis inducida químicamente, respectivamente. Según los beneficios del butirato aquí expuestos, pero el bajo consumo de fibra en la dieta occidental, a la fecha es posible encontrar alimentos y bebidas con fibras solubles adicionadas de manera industrial.

EL BUTIRATO INCREMENTA LA EXPRESIÓN DE LA BOMBA DE CALCIO SERCA3

Como se menciona anteriormente el Ca^{2+} juega un papel fundamental en la diferenciación normal de las células, por lo que se propone que la expresión alterada de las proteínas que se encargan de su homeostasis favorece el desarrollo de procesos neoplásicos. SERCA3 es una enzima que se encarga de bombear el Ca^{2+} hacia el interior del RE y se ha encontrado disminuida su expresión consistentemente

El Ca^{2+} es fundamental en la diferenciación normal de las células, por lo que se propone que la expresión alterada de las proteínas que se encargan de su homeostasis favorece el desarrollo de procesos neoplásicos. SERCA3 es una enzima que se encarga de bombear el Ca^{2+} hacia el interior del RE y se ha encontrado disminuida su expresión consistentemente en diferentes tipos de cáncer epitelial. Resultados de nuestro laboratorio demuestran que el butirato, además de inducir la diferenciación de células de cáncer gástrico y de colon *in vitro*, promueve el aumento de los niveles de RNAm y proteína de la bomba SERCA3.

en diferentes tipos de cáncer epitelial. Resultados recientes de nuestro laboratorio demuestran que el butirato además de inducir la diferenciación de células de cáncer gástrico y de colon *in vitro*, promueve el aumento de los niveles de RNAm y proteína de la bomba SERCA3. Nuestros resultados, aun inéditos, demuestran que dicho incremento ocurre a nivel transcripcional del gen *ATP2A3*, mediante la transactivación del promotor mínimo a través del reclutamiento específico de factores de transcripción de la familia Sp.

Lo anterior, sugiere que el aumento en la expresión de la bomba de calcio SERCA3 restablece al menos en parte la dinámica de calcio de las células neoplásicas que permite un programa normal de diferenciación hacia un epitelio funcional cuyas células podrán morir por apoptosis según cumplan su ciclo de vida. La terapia de inducción de la diferenciación sólo ha sido utilizada en el tratamiento de la leucemia promielocítica crónica, sin embargo, entender los mecanismos moleculares que conllevan a su éxito resulta fundamental para poder utilizar esta estrategia terapéutica para el cáncer colon y otros tipos de cáncer. ●