

Ingrés d'Acadèmics corresponents

## PERQUÈ?, COM? I QUÈ? DELS EFECTES DELS LÍPIDS DE LA DIETA SOBRE EL CÀNCER DE MAMA

APORTACIONS ORIGINALS DEL "GRUP MULTIDISCIPLINARI PER A L'ESTUDI DEL CÀNCER DE MAMA"

Eduard ESCRICH i ESCRICHE

### ¿PERQUÈ?, INTRODUCCIÓ

El càncer és bàsicament un problema de la proliferació de les cèl·lules. La proliferació cel·lular constitueix un procés fonamental per als éssers vius, però si s'altera, de manera aberrant i excessiva, desencadena malalties com el càncer. En relació a aquesta patologia, es pot afirmar que és la més complexa de totes les malalties. Intervenien multitud de factors: genètics, epigenètics<sup>#1</sup> i ambientals i d'estil de vida i, fins i tot, s'ha arribat a afirmar que de conducta. Aquesta elevada complexitat es tradueix en una major dificultat per a l'obtenció de coneixement sobre l'esmentada malaltia. El càncer de mama és el que presenta les majors taxes d'incidència i de mortalitat en les dones dels països desenvolupats. En el moment actual es descriu que una de cada 8 dones d'aquests països té o tindrà un càncer de mama al llarg de la seva vida. No obstant això, la mortalitat per càncer de mama ha disminuït significativament en els darrers anys degut als avenços notables que s'han produït en el diagnòstic i el tractament de la malaltia.

En els últims temps, els països desenvolupats han evolucionat des d'una societat agrària a industrialitzada havent-se produït una sèrie de canvis que repercuteixen sobre la salut en general i, en particular, sobre el càncer. D'una banda, ha augmentat notablement l'expectativa de vida de la població gràcies, fonamentalment, al control de les infeccions, la reducció de la mortalitat infantil i als progressos de la medicina en general. Catalunya es manté entre els països del món amb una major longevitat, tant en homes (*estimació: 80,3 anys*) com en dones (*estimació: 85,6 anys*), que de mitjana viuen uns deu anys més que la població

mundial en general. En paral·lel, s'han anat produint canvis notables, i poc saludables, en l'alimentació i l'estil de vida de les persones d'aquestes societats que expliquen que un factor com l'alimentació que és de baixa potència, a diferència dels tòxics o els carcinògens, actuï el temps suficient per poder manifestar-se. Aquesta situació és la que explica també que l'esperança de vida amb bona salut sigui molt inferior a la global (*al voltant dels 63 anys en els dos sexes*) i que una part important de la població presenti discapacitats per malalties cròniques, entre les quals destaquen les cardiovasculars, les metabòliques i el càncer. És en aquest context, que resulta important investigar propietats, saludables o perjudicials, dels aliments, i de l'estil de vida en general, que permetin formular opinions científiques en relació amb la salut de la població i la seguretat dels aliments. Aquest és l'objectiu que, des de fa 34 anys, té el Grup Multidisciplinari per a l'Estudi del Càncer de Mama que dirigeix l'autor d'aquest article. En aquest sentit, l'esmentat grup investiga l'efecte dels greixos de la dieta (*oli de llavors -lípid n-6- i oli d'oliva verge extra*) sobre aquesta malaltia. Els greixos són el principal factor de l'alimentació que es relaciona amb el càncer de mama, a més del colo-rectal i el de pròstata. A partir dels resultats obtinguts per l'esmentat grup durant tot aquest temps, en el present es pot afirmar de forma genèrica que l'oli d'oliva verge extra pres en quantitats normals dins d'una dieta adequada i un estil de vida saludable, frena la progressió del càncer de mama i ho fa a través de diversos i complexos mecanismes, mentre que els greixos n-6 si s'ingereixen en excés estimulen l'esmentat càncer amb la intervenció de

mecanismes diferents als de l'oli d'oliva verge extra però de similar complexitat. Els procediments experimentals utilitzats i els principals resultats obtinguts, així com la transcendència dels mateixos, seran descrits en els dos següents apartats.

## COM?: PROCEDIMENTS EXPERIMENTALS

La consistència i la reproductibilitat dels estudis sobre dieta i càncer són diferents segons el tipus d'estudis efectuats. De manera general, els estudis experimentals en models animals proporcionen resultats clars i relativament reproductibles sobre aquesta relació. Tenen el gran avantatge que l'estudi es realitza en les mateixes condicions alimentàries (*dieta completa*) i fisiològiques (*ingestió, digestió, absorció i metabolisme*) que es donen en l'espècie humana. Permeten modificar experimentalment els factors dietètics segregant les variables que es volen estudiar i poden determinar paràmetres típics de la malaltia (*comportament clínic, anatomia patològica, mecanismes moleculars, etc.*). El seu problema resideix en que la distància evolutiva entre l'espècie del model experimental en estudi i la humana limita l'extrapolació directa dels resultats. Els estudis en cultius cel·lulars presenten l'avantatge de poder treballar amb rapidesa i comoditat amb cèl·lules humanes. No obstant això, tenen l'inconvenient de l'absència de les condicions fisiològiques esmentades i el de la pèrdua de l'arquitectura tissular real, la qual cosa representa que les importants influències autocrines i paracrines que es donen entre cèl·lules i estirps cel·lulars veïnes siguin molt diferents a les de les cèl·lules tumorals *in vivo*, modificant-se la conducta fisiopatològica de les cèl·lules en estudi. Un altre inconvenient d'aquests estudis és que en el cas de les línies cel·lulars són "a propòsit d'un cas".

Finalment hi ha els estudis en humans. En primer lloc, els epidemiològics que obtenen resultats que són controvertits. Així, en el cas dels estudis ecològics (*per països i estudis de migracions*) s'ha trobat una associació positiva entre el consum de greix *per càpita* i les taxes de mortalitat per càncer de mama. No obstant això, en els estudis analítics, cas-control i prospectius de cohorts, la relació no

és tan manifesta. La incorporació dels metaanàlisi ha millorat notablement aquest tipus d'abordatge experimental, i en augmentar el nombre d'efectius s'arriba a trobar la relació entre els greixos de la dieta i el càncer de mama, sobretot amb el paràmetre greixos totals de la dieta. El mateix succeeix en l'estudi EPIC (*Estudi prospectiu europeu sobre dieta, càncer i salut*) en el qual estan inclosos més de mig milió de persones. D'altra banda, hi ha els estudis realitzats directament en tumors humans que permeten caracteritzar els paràmetres que es volen estudiar en el tumor, però que, en no poder dissenyar experiments, per òbvies raons ètiques i de practicabilitat, no controlen les variables de l'estudi i desconeixen la història natural de la malaltia. Entre tots els estudis en humans, resulta interessant considerar els prospectius d'intervenció dietètica en què, tot i les limitacions de control del procés, es pot determinar amb certa fiabilitat les repercussions a llarg termini d'aquests factors dietètics sobre la malaltia.

Donada la complexitat de la malaltia i les diferències en la consistència i la reproductibilitat dels estudis sobre dieta i càncer, el Grup Multidisciplinari per a l'Estudi del Càncer de Mama aborda l'estudi "Dieta i càncer", o més concretament "Lípids de la dieta i càncer de mama" des d'un punt de vista integral i amb perspectives a llarg termini. Així és com entén aquest professor investigador i el seu grup que han de ser aquests estudis i és per aquests motius que el projecte del Grup Multidisciplinari per a l'Estudi del Càncer de Mama es suporta experimentalment en tots els procediments anteriors: tumors humans, model experimental *in vivo* i cèl·lules *in vitro* humanes i experimentals.

La influència dels lípids de la dieta en l'estudi del càncer de mama humà es determina a través de 3 qüestionaris (*freqüència de consum d'aliments, adherència a la dieta mediterrània, activitat física*), en el model *in vivo* mitjançant la preparació al laboratori de 3 dietes experimentals que difereixen en el tipus i la quantitat de lípid administrat (*control normolipídica i hiperlipídiques d'oli de llavors -lípids n6- o d'oli d'oliva verge extra*) i en els estudis *in vitro* les cèl·lules es tracten amb àcids grassos aï-

llats o amb els olis sencers o digerits en un “reactor químic” al laboratori en el qual es simula la digestió fisiològica.

Dels models experimentals *in vivo* i *in vitro* s’extreu informació valuosa per abordar l’estudi i la caracterització del càncer en la dona. L’estudi dels tumors humans es realitza a través d’un estudi multicèntric en el qual participen 3 hospitals i 2 universitats. És igualment pels motius exposats anteriorment que, en totes les investigacions amb aquests procediments, l’enfocament experimental pretén ser també integral: clínic, morfològic i el dels mecanismes moleculars implicats. Tot això amb la intenció, dita amb humilitat, que el coneixement sigui útil.

Entre totes les línies de recerca desenvolupades en el projecte es presentaran a continuació únicament dues seleccionades entre les que han proporcionat resultats rellevants. Una d’elles en tumors experimentals i l’altra en el càncer humà.

## QUÈ?: RESULTATS OBTINGUTS I TRASCENDÈNCIA DELS MATEIXOS

### EFFECTE DELS LÍPIDS DE LA DIETA SOBRE CARACTERÍSTIQUES PRIMORDIALS DE LES CÈL·LULES DELS TUMORS EXPERIMENTALS

Proliferació, diferenciació, apoptosi i expressió gènica

#### Proliferació de les cèl·lules tumorals.

En els assaigs biològics realitzats en el model experimental s’ha pogut comprovar, de manera reproducible en les 18 sèries experimentals efectuades, que els de dieta amb lípids n-6 en excés, presents en els olis de llavors, estimulen la carcinogènesi mamària. Els tumors apareixen abans, hi ha més individus afectats, major contingut tumoral i els tumors són generalment de major volum. Per contra, en els grups amb dietes d’oli d’oliva verge extra aquests paràmetres són similars als dels grups control amb dieta normolipídica. Aquests mateixos resultats s’han trobat en algunes ocasions per a l’oli d’oliva amb les línies cel·lulars humanes MCF7 (*equivalent al subtipus molecular “Lumi-*

*nal A” del càncer humà*) i MDA-MB-231 (*equivalent al subtipus molecular “Triple negatiu” del càncer humà*) en ser tractades amb dos tipus diferents d’oli d’oliva verge extra i amb àcid oleic. No obstant això, l’estudi del cicle cel·lular mitjançant citometria de flux ha indicat que aquesta disminució de proliferació no seria conseqüència d’una aturada d’aquest cicle (*estudi en curs*).

A més a més, en investigar, a través de l’estudi de les regressions tumorals, els possibles efectes protectors que l’oli d’oliva havia manifestat en els experiments anteriors *in vivo*, els resultats van mostrar que aquests no serien prou potents com per justificar el seu ús com a agent terapèutic. El seu efecte consistiria més aviat en un alentiment de la progressió tumoral més que en una regressió, parcial o total, del tumor establert. En conseqüència, la importància de l’oli d’oliva en la dieta hauria d’emmarcar-se més aviat dins del camp de la salut pública a través d’hàbits dietètics saludables. Tanmateix, en cèl·lules humanes *in vitro* (MCF7, MDA-MB-231, SKBR3 -*equivalents respectivament als subtipus moleculars “Luminal A”, “Triple negatiu” i “HER2/Neu” del càncer humà-*) s’ha pogut constatar que l’administració d’agents terapèutics (Vincristina -Navelbine-, Paclitaxel -Taxol-, Docetaxel -Taxotere-, Fulvestrant -Faslodex-, Herceptin -Trastuzumab-) en combinació amb determinats àcids grassos, entre ells l’àcid oleic (18:1n9), podia potenciar de forma sinèrgica els efectes antitumorals dels fàrmacs (*altres àcids grassos amb el mateix efecte: àc. g linolènic -18: 3n6-, àc. a linolènic -18: 3n3-, àc. eicosapentanoic -20:5n3-, àc. docosahexanoic -22: 6n3-*). Aquests resultats són molt preliminars i únicament obtinguts en cèl·lules en cultiu, però obren la perspectiva que la ingesta d’oli d’oliva en la dieta de les persones que segueixen tractament contra el càncer de mama pugui millorar la resposta a aquest tractament. No obstant això, farien falta evidències científiques més sòlides per poder realitzar aquesta afirmació.

D’altra banda, morfològicament s’ha demostrat que els individus alimentats amb dietes amb oli d’oliva verge extra presenten glàndules mamàries

amb molta menor densitat que els que ho van ser amb dietes control o n-6, fet que reflecteix molt clarament la menor proliferació cel·lular que es dona quan l'oli d'oliva és el greix de la dieta. En el tumor, l'activitat mitòtica tumoral més elevada s'obté sempre en els grups amb dieta n-6, mentre que aquesta activitat mitòtica és menor i del mateix nivell en els grups control i d'oli d'oliva.

Tots aquests aspectes clínics i morfològics deriven de canvis moleculars que són induïts de manera diferencial per ambdós tipus de lípids. Un d'ells d'especial importància es produeix per l'efecte que l'oli d'oliva té en disminuir l'activitat d'una important via de transducció de senyals de proliferació de les cèl·lules tumorals, la via c-ErbB, Ras i els seus principals efectors: MAPK, PI3K/AKT i Ral, A i B. Aquesta disminució d'activitat es tradueix en el fre de la progressió de les cèl·lules del càncer de mama. La mateixa via de proliferació no es troba modificada pels lípids poliinsaturats n-6.

Altres dades moleculars a favor dels efectes diferencials d'ambdues dietes han estat obtinguts en estudiar la composició lipídica de les cèl·lules tumorals. En els grups d'oli d'oliva, les membranes cel·lulars tenen menor quantitat d'aquells fosfolípids que s'han descrit que estan implicats en proliferació cel·lular (*fosfatidilcolina*, *fosfatidiletanolamina*) i menor contingut en general d'àcid linoleic (*18:2n-6*) i major d'àcid oleic (*18:1n-9*). Aquesta mateixa composició en àcids grassos ha estat també trobada en el citoplasma i en els lípids neutres de les cèl·lules tumorals. Pel contrari, en els grups de lípids n-6 aquests components lipídics són exactament els inversos. Tots aquests resultats estan a favor d'una disminució de la proliferació cel·lular per l'oli d'oliva verge extra i de l'estimulació d'aquesta proliferació pels lípids n-6.

Així mateix, les membranes de les cèl·lules tumorals dels grups de dieta n-6 presenten major contingut en colesterol i esfingomielina, el que suggereix dominis de membrana anomenats «Chol-Rafts» on les estructures afavoreixen la divisió cel·lular mentre que en els d'oli d'oliva verge extra els components d'aquests dominis no són

de proliferació si no de mort cel·lular per apoptosi (*veure més endavant*).

Totes les evidències mostrades són les que han permès afirmar que l'oli d'oliva verge extra frena la progressió del càncer de mama, mentre que l'oli de llavors estimula notablement aquesta progressió quan està en excés.

#### Característiques histopatològiques dels tumors experimentals.

L'estudi anatomopatològic dels tumors va revelar que els de creixement més indolent presentaven menors graus arquitectural i nuclear, activitat mitòtica, reacció estromal, infiltrat inflamatori limfoplasmocitari i absència de necrosi tumoral.

A més, els patrons cribiforme i papil·lar i la diferenciació secretora, així com l'infiltrat mastocitari són més prevalents en aquests tumors. Aquests perfils són compatibles amb una menor agressivitat histològica i són més freqüents en els carcinomes dels grups d'oli d'oliva verge extra. En canvi, el que caracteritza als tumors dels grups de dieta n-6 és un creixement més accelerat que es correspon amb paràmetres anatomopatològics contraris als indicats anteriorment.

En integrar els paràmetres histològics de grau arquitectural, nuclear i de mitosi, s'observa que el grau histològic és més baix en els tumors dels grups de dieta d'oli d'oliva i més elevat en els de dieta n-6. En aquest sentit, per a procedir a aquest estudi anatomopatològic dels tumors experimentals, el grup investigador va haver de crear una nova línia de treball per a caracteritzar-los i per a establir les similituds i diferències amb els tumors humans. A l'actualitat, els resultats obtinguts són de referència per a altres grups de investigació que utilitzen en les seves investigacions la classificació i el grau histopatològic dels tumors descrita pel grup (*Scarff-Bloom-Richardson en humans; Costa-Solanas-Esrich en tumors experimentals, d'acord amb la categorització del Grup*).

En conseqüència, els tumors dels grups d'individus alimentats amb oli d'oliva verge extra són de menor grau histopatològic de malignitat, mentre

que els dels olis de llavors exhibeixen major agressivitat morfològica.

#### Diferenciació cel·lular dels tumors experimentals.

Les cèl·lules tumorals dels grups experimentals de dieta amb lípids n-6 són histopatològicament més indiferenciades que les dels grups control. Per contra, els tumors dels individus alimentats amb oli d'oliva verge extra com a font de greix en la dieta són més diferenciats. A més, en els tumors dels grups de lípids n-6 en a la dieta, el grup ha pogut demostrar que diferents factors moleculars relacionats amb la diferenciació de les cèl·lules estan modificats suggerint una menor diferenciació (#  $\beta$ -actina, \$ PCPH, \$ H19, \$ VDUP1, \$  $\alpha$ -2uglobulina submaxilar, \$ EST Rn3238), situació que és compatible amb la seva major malignitat. L'oli d'oliva verge extra no modifica en cap sentit cap d'aquests marcadors moleculars de diferenciació. Aquests resultats es van obtenir mitjançant anàlisi nutrigenòmic<sup>#2</sup> dels tumors experimentals.

D'altra banda, en els tumors les caseïnes, que són proteïnes característiques de la llet, no es troben modificades per efecte de cap de les dietes indicant que dites proteïnes no serien bons marcadors de la diferenciació cel·lular en les cèl·lules malignes, a diferència del que passa en la glàndula mamària normal.

Per tant, els resultats anteriors indiquen que l'oli de llavors, a diferència del d'oliva verge extra, disminueix la diferenciació de les cèl·lules tumorals, suggerint que el creixement i la disseminació d'aquestes cèl·lules pot ser més important i ràpid que el de les cèl·lules dels tumors dels grups amb dieta normolipídica o amb oli d'oliva verge extra.

#### Inducció de mort de les cèl·lules tumorals.

En estudiar en el model *in vivo* la via de proliferació de Ras van aparèixer resultats inesperats i fins i tot paradoxals (*fonamentalment augment de l'activitat de MAPK associada a una disminució de PI3K/AKT*). Simultàniament, altres 4 grups d'investigadors van trobar el mateix resultat en estudiar l'efecte de diversos quimioteràpics sobre aques-

ta via de proliferació i un d'ells va proposar que les diferents combinacions de l'estat d'activació dels seus components podien portar a la cèl·lula a diferents estats funcionals (*proliferació, supervivència, viabilitat, apoptosi, migració, invasió*). Els resultats de proliferació trobats anteriorment pel grup investigador també suggerien que, entre aquestes possibilitats, la mort per apoptosi<sup>#3</sup> podia ser la conseqüència de l'estat d'activació trobat en estudiar la via de Ras. A la primera aproximació desenvolupada per abordar aquesta hipòtesi ja es va aconseguir demostrar que els tumors mamaris dels individus alimentats amb dieta d'oli d'oliva mostraven elevada immunoreactivitat compatible amb apoptosi (*tècnica TUNEL -TdT mediated nick end labelling-*) i que la proteïna caspasa-3 (*marcador destacable d'apoptosi*) estava notablement augmentada. Per tant, l'oli d'oliva verge extra frena la progressió clínica del càncer de mama inhibint la proliferació de les cèl·lules tumorals i provocant la seva mort per apoptosi.

Una altra de les incògnites trobades en l'estudi de la via de Ras va ser la de saber d'on procedia l'estímul regulador de la disminució de l'activitat de l'oncogen Ras, ja que els 4 receptors ErbB de membrana estudiats no estaven modificats. Els resultats obtinguts en estudiar molecularment els diferents dominis de la membrana plasmàtica (*"Lipid Rafts"<sup>#4</sup> i "Caveoles"<sup>#5</sup> i "membrana soluble"*) de les cèl·lules tumorals va conduir novament a l'apoptosi com a mecanisme a través del qual l'oli d'oliva exerceix part de les seves accions contra el càncer de mama. La successió de canvis produïts per l'oli d'oliva verge extra de la dieta en els "Lipid Rafts" de les membranes de les cèl·lules tumorals seguiria una hipotètica seqüència que portaria a la mort cel·lular per aquest mecanisme: #àc. oleic a \$ àc. grassos saturats a \$«Caveoles» (\$ Cav1) a # ceramida/ esfingomielina a # receptors de mort (CD95/Fas). "Lipid Rafts" i Caveoles" són estructures necessàries per a l'activació de la proteïna Ras i, per tant, també explicarien la disminució de la seva activitat en els grups d'oli d'oliva. L'augment de les plataformes de ceramida a la membrana especialitza als "Lipid Rafts" en "Cer-Rafts" que són

estructures per desencadenar l'apoptosi, a diferència dels "Chol-Rafts" trobats en aquests treballs per als lípids n-6 que estan relacionades amb la proliferació cel·lular (*ja esmentat anteriorment*).

També s'han trobat evidències, en cèl·lules humanes *in vitro* (MCF7 -*o*"Luminal A"-i MDA-MB-231 -*o*"Triple negatiu" -), de que l'oli d'oliva verge extra promou l'apoptosi, tot i que alguns dels resultats obtinguts fins al moment actual són controvertits. En aquest sentit, mitjançant tincions apropiades ("Cell Mask") s'han pogut observar imatges al microscopi confocal de "desfilaments" de la membrana (*Bleb's*) indicatives d'apoptosi, especialment en els tractaments de les cèl·lules amb oli sencer. D'altra banda, l'estudi del potencial de membrana dels mitocondris cel·lulars a través de tècniques de citometria de flux també ha proporcionat evidències de l'existència d'apoptosi, tot i que és en aquest cas on hi ha més resultats contradictoris. La microscòpia confocal ha facilitat imatges en 2D i 3D representatives de l'estat de la cèl·lula (*predomini de mitocondries marcades en vermell si la cèl·lula està viva, verds quan la cèl·lula està morint per apoptosi*). Finalment, a través del microscopi electrònic s'ha aconseguit visualitzar les estructures de la cèl·lula que s'havien manifestat com a rellevants en els estudis moleculars: "Lipid Rafts", "Caveoles", "membrana soluble". Aquestes han estat identificades mitjançant marcatges específics (*Flotina per "Lipid Rafts", Caveolina -Cav1- a "Caveoles" i Na + K+-ATPasa per "membrana soluble"*). A més d'aportar dades per a l'anàlisi de l'apoptosi, tots aquests estudis han mostrat evidències que justifiquen el seguiment de les investigacions d'aquesta línia sotmetent les cèl·lules tractades amb els lípids de la dieta a l'impacte de partícules fonamentals accelerades en un Sincrotró (*Sincrotró Alba*). Donat els elevats costos d'aquest servei, per a la seva utilització ha estat imprescindible trobar prèviament aquest tipus d'evidències per obtenir "hores de llum" gratuïtes en aquest tipus d'instal·lacions.

Un cop demostrat que les dietes d'oli d'oliva verge extra induïen la mort de les cèl·lules tumorals per apoptosi, l'objectiu va ser verificar *in vivo* i *in*

*vitro* quines vies de l'apoptosi podien estar implicades. Els resultats preliminars obtinguts *in vivo* indiquen en primer lloc la reproductibilitat dels resultats de procaspasa-3 i caspasa-3 en una sèrie experimental diferent, el que li dona més solidesa a l'estudi. D'altra banda, que l'apoptosi cel·lular observada en el càncer de mama experimental per efecte de la dieta d'oli d'oliva verge extra podria estar desencadenada principalment per la via intrínseca de l'apoptosi (*augment dels nivells d'expressió de procaspasa-9 i caspasa -9 activa*). Així mateix, en aquests estudis l'esmentat oli també ha demostrat que activa la via apoptòtica caspasa-independent iniciada per AIF (*augment dels nivells d'expressió de la proteïna AIF en la seva forma citosòlica activa i de la proteïna endonucleasa G*) la qual pot estar interconnectada amb la via intrínseca caspasa-dependent. Fins al moment actual, aquests resultats no han pogut ser trobats en les dues línies cel·lulars estudiades *in vitro* (MCF7 -*o*"Luminal A"- i MDA-MB-231 -*o*"Triple negatiu"-).

Totes aquestes evidències permeten concloure que l'oli d'oliva verge extra de la dieta indueix la mort de les cèl·lules tumorals per apoptosi.

#### Estudi funcional del genoma.

La glàndula mamària passa per diverses fases i és especialment vulnerable a la seva transformació neoplàsica i, per tant, susceptible a desenvolupar càncer de mama des de l'inici de la pubertat fins al primer embaràs. En el model experimental de càncer de mama, just després de l'inici de la pubertat (*36 dies*), la glàndula mamària s'està desenvolupant activament, període que s'estén fins als 51 dies. A més, aquest moment (*51d.*), és d'especial rellevància ja que està a la finestra de màxima susceptibilitat de la glàndula a la transformació maligna, i a més es produeix dos dies abans de la inducció amb el carcinogen. Després de la inducció, al voltant dels 100 dies d'edat, la carcinogènesi comença a manifestar-se clínicament en tots els grups experimentals. Per tots aquests motius, les edats dels animals en les quals s'han fet aquests tipus d'anàlisi nutrigenòmics (*36, 51, 100 i 246 -final del assaig- dies*) són d'especial interès per a

l'estudi de la susceptibilitat o resistència d'aquesta glàndula a la transformació i el desenvolupament del càncer.

Aquests anàlisis nutrigenòmics en els quals es caracteritza el transcriptoma (*estudi funcional del genoma complet*) en la glàndula mamària han mostrat efectes diferents de les dietes amb lípids n-6 o amb oli d'oliva verge extra. Així, es van obtenir els gens que s'expressaven de manera diferencial per efecte de les dietes al comparar-los amb les mostres del grup control. Alguns d'aquests gens es modificaven en les glàndules mamàries dels animals alimentats amb ambdós tipus de dietes hiperlipídiques (*gens "comuns"*), però altres només es veien modificats en grups concrets (*gens "específics" del tipus de dieta administrada*). En glàndula mamària, després d'un curt període d'administració de les dietes, els gens diferencialment expressats van ser principalment específics de cada grup experimental, el que va suggerir un efecte agut específic de cada dieta (*gens "específics": als 36 dies d'edat, 25 sobre-expressats i 123 sub-expressats únicament en el grup de dieta n-6, 46 sobre-expressats i 43 sub-expressats únicament en el grup de dieta d'oli d'oliva*). En edats posteriors, ambdues dietes van modular l'expressió d'una gran proporció de gens comuns. Aquests resultats van suggerir que els efectes de l'administració de grans quantitats de lípids són més potents i específics del tipus de lípid després d'un breu període de temps d'exposició (*als 36 dies, just després de l'inici de la pubertat, 12 dies després de l'inici de la intervenció dietètica*), mentre que l'exposició crònica pot induir cert grau d'adaptació, disminuint per tant el nombre de gens diferencialment expressats. A més, l'estudi de la funció dels gens modulats va indicar diferències entre les dietes. Així, la dieta amb lípids n-6 va disminuir l'expressió de gens relacionats amb el sistema immune i l'apoptosi, mentre que la dieta amb oli d'oliva verge extra va modificar fonamentalment gens relacionats amb el metabolisme. Estudis posteriors han suggerit un increment en la proliferació, concomitantment amb una disminució de l'apoptosi, en les glàndules dels animals alimentats amb dietes amb lípids n-6, la qual cosa estaria in-

fluint en la susceptibilitat d'aquesta glàndula a la transformació neoplàsica. Aquest darrer supòsit va ser confirmat posteriorment en una altra línia de recerca en la que es va investigar els efectes dels lípids de la dieta sobre els mecanismes de detoxificació del carcinogen i el dany a l'ADN.

Cal destacar que l'anàlisi transcriptòmic en els tumors experimentals també va revelar un efecte diferencial de les dietes modificant gens amb funcions semblants a les trobades en glàndula mamària. Els processos que es van revelar com a potencialment modificats per les dietes (*metabolisme, proliferació, apoptosi, activitat del sistema immunitari*) van ser analitzats posteriorment amb diferents tècniques. D'una banda, s'han validat els resultats, que van ser obtinguts mitjançant tècniques de microarrays, per altres tècniques d'expressió. D'altra, s'ha ampliat el seu estudi a la detecció dels nivells de proteïnes de gens del metabolisme (*Glut1, Pfkf, Aldoa*), implicats en proliferació (*Stat5, Smad1*) i apoptosi (*Sema3a, Casp3*). A més, s'ha caracteritzat la infiltració de limfòcits citolítics en els tumors i s'ha determinat els nivells de diferents citocines inflamatòries.

El conjunt de resultats suggereixen un augment del balanç proliferació/apoptosi i un microambient pro-inflamatori en els tumors per efecte de la dieta amb lípids n-6. No obstant això les dietes amb oli d'oliva verge extra, fins i tot si estan en excés, tindria un menor efecte sobre la carcinogènesi probablement relacionat amb certes adaptacions metabòliques, amb un augment de l'apoptosi, i potenciat per l'anomenada vigilància immunològica. Actualment l'equip investigador té en marxa diverses línies d'estudi on s'aprofundeix en els possibles efectes d'aquestes dietes en el metabolisme tumoral i en els processos de proliferació/apoptosi ja descrits.

En definitiva, l'estudi funcional del genoma complet (transcriptoma) i les anàlisis d'ontologia gènica, mitjançant els quals es descriu el gen i els atributs del producte gènic, de la glàndula mamària i dels tumors demostren que l'oli de llavors disminueix l'expressió de gens relacionats amb el sistema

immune i l'apoptosi, mentre que el d'oliva verge extra modifica fonamentalment gens relacionats amb el metabolisme.

### INFLUÈNCIA DE L'ESTIL DE VIDA EN LES ALTERACIONS DE L'EPIGENOMA DEL CÀNCER DE MAMA HUMÀ

Nombroses evidències han mostrat que en el procés de transformació neoplàsica les modificacions epigenètiques juguen un important paper, sent claus en el desenvolupament de tot tipus de càncers humans i experimentals, inclòs el de mama. Aquestes modificacions, potencialment hereditàries, són marques químiques en el mateix ADN i en les proteïnes que regulen la seva estructura, conformant un codi que regula l'expressió gènica i l'estabilitat de la cromatina i que, en conjunt, reben el nom de epigenoma. Formen part d'aquests mecanismes reguladors la metilació de l'ADN, la modificació d'histones i l'activitat d'altres proteïnes remodeladores de la cromatina. La disrupció de tots aquests processos està fortament relacionada amb la iniciació, promoció i progressió del càncer. Una de les alteracions epigenètiques més estudiades en relació al càncer en general, i al de mama en particular, són les modificacions en els patrons de metilació de l'ADN. La hipometilació global de regions variables del genoma, com per exemple de transposons LINE1 ("Long Interspersed Nuclear Elements 1") o d'oncogens, acompanyada per hipermetilació de gens específics, tipus gens supressors de tumors, és una característica comuna de les cèl·lules tumorals.

Els mecanismes epigenètics han generat un creixent interès degut a la reversibilitat dels canvis que es produeixen en el genoma, els quals podrien ser diana d'estratègies de prevenció, intervenció i/o tractament. A més, la naturalesa reversible d'aquests canvis fa probable que puguin ser influïts pels diferents factors ambientals, entre ells els nutricionals. Tant és així, que ja han estat descrits diversos components de la dieta (*folat, metionina i diverses vitamines de la família B*) amb efecte sobre l'estat global de metilació i/o la metilació de promotors específics, que acaben relacionant-se

amb el càncer. Estudis epidemiològics en humans han suggerit una associació entre els hàbits dietètics, l'estat general de metilació del genoma i el risc de càncer de còlon i de cèrvix. D'altra banda, compostos com alguns fitoestrògens o alguns polifenols han mostrat un efecte protector de la carcinogènesi modulant mecanismes epigenètics. Quant a l'efecte dels lípids de la dieta en la metilació de l'ADN, en la literatura són escassos els treballs que abordin el tema en relació al càncer, tot i que són més nombroses les evidències que indiquen un efecte dels greixos sobre la metilació de gens relacionats amb el control del pes i el metabolisme. A més, en sang perifèrica de voluntaris sans, s'ha associat la metilació del gen supressor de tumors RAR $\beta$ 2 amb el consum de dietes amb un elevat contingut en greix. Totes aquestes dades suggereixen la necessitat d'investigar l'efecte dels hàbits dietètics sobre l'epigenoma en relació amb la susceptibilitat o el risc de determinades malalties com el càncer.

Atès que els canvis epigenètics poden ser reversibles, i que hi ha factors ambientals modificadors de la metilació de l'ADN, els compostos de la dieta que han demostrat tenir un efecte sobre la carcinogènesi podrien realitzar les seves accions, almenys en part, mitjançant canvis en processos epigenètics. El grup investigador ha demostrat un potencial efecte beneficiós de l'oli d'oliva verge extra sobre la carcinogènesi mamària experimental, i diverses evidències epidemiològiques i experimentals han mostrat un possible efecte protector de la Dieta Mediterrània i de l'oli d'oliva sobre el càncer de mama. A partir de la informació anterior obtinguda dels models experimentals, l'equip investigador ha potenciat una línia en la qual s'analitza l'efecte dels greixos de la dieta sobre els mecanismes epigenètics del càncer de mama. Aquesta línia d'investigació s'està actualment desenvolupant en dues sublínies: 1) l'efecte de les dietes hiperlipídiques sobre mecanismes epigenètics en càncer de mama experimental, i 2) la influència dels hàbits dietètics, i especialment els relacionats amb el consum de greixos, en els patrons epigenètics de l'ADN característics dels diferents graus, biològics i histològics,



de malignitat del càncer de mama humà. L'estudi en el model experimental proporciona informació valuosa per abordar l'objectiu principal d'aquesta línia de recerca, consistent en caracteritzar l'epigenoma dels tumors humans en els quals no és possible el control de les variables experimentals que es volen estudiar.

Les investigacions en el model experimental han demostrat efectes diferents de les dietes riques en oli d'oliva verge extra o en olis rics en greixos n-6 sobre els mecanismes epigenètics en glàndula mamària i en tumors experimentals. La dieta d'oli d'oliva verge extra va augmentar la metilació global de l'ADN de la glàndula mamària, especialment durant la pubertat, la qual cosa és compatible amb una disminució de la vulnerabilitat d'aquesta glàndula a la transformació neoplàstica. A més, aquesta dieta va incrementar la metilació global en els tumors experimentals, el que és concordant amb el menor grau de malignitat morfològica que es va observar en els tumors dels animals alimentats amb la d'oli d'oliva verge extra. D'altra banda, la dieta rica en greixos n-6, però no la d'oli d'oliva verge extra, va augmentar l'activitat de l'enzim DNMT (*ADN-metil-transferasa*), responsable de la metilació de l'ADN, concomitantment amb un augment de la metilació dels promotors dels gens supressors tumorals *Rassf1a* i *Timp3*, estant al seu torn també d'acord amb el major grau de malignitat dels tumors d'animals sotmesos a intervenció dietètica amb elevades quantitats d'oli de llavors. Tanmateix, les dues dietes van influir de manera similar en les modificacions d'histones, especialment en la glàndula mamària.

La línia en humans és un estudi multicèntric en el qual hi participen 3 Hospitals i 2 Universitats. Aquesta línia s'està desenvolupant a partir de mostres i dades obtingudes de voluntàries sanes i de pacients amb càncer de mama en diferents estadis. L'obtenció de dades i mostres de les voluntàries sanes i les pacients de càncer de mama en estadis I es realitza en col·laboració amb el Servei d'Obstetrícia i Ginecologia del Consorci Sanitari de Terrassa i d'Obstetrícia i Ginecologia i de Cirurgia de l'Hospi-

tal Universitari Sagrat Cor de Barcelona. L'estudi de les pacients de càncer de mama localment avançat es porta a terme amb el Servei d'Oncologia Mèdica de l'Institut d'Oncologia Corachan de Barcelona. Les universitats participants són les de Navarra, en la què es processen les dades dels 2 qüestionaris d'alimentació i del d'activitat física en col·laboració amb el Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, i la Autònoma de Barcelona, on es realitza la coordinació de tots els estudis, es fan totes les determinacions moleculars i s'estableixen totes les bases de dades i l'anàlisi dels mateixos. D'ambdues poblacions (*voluntàries control i pacients*) s'han obtingut mostres de sang perifèrica, i de les pacients amb càncer de mama, a més a més, una mostra de teixit mamari i una biòpsia de tumor. Amb totes aquestes mostres s'està realitzant un estudi de metilació de l'ADN (*global -LINE1-, i gen específica analitzant l'estat de metilació de 12 gens: BRCA1, p16, RARβ2, RASf1A, NES1, MASPINA, CDH1, ESR1, PRB, TWIST1, CXCL12, HLA-A*), i determinant marcadors dietètics en sang perifèrica que reflecteixin la ingesta de lípids. Altrament, de totes les participants s'ha valorat els hàbits dietètics mitjançant un qüestionari de freqüència de consum d'aliments, i una avaluació de l'adherència a la dieta mediterrània utilitzant un test de 14 punts. La seva activitat física ha estat també valorada mitjançant un qüestionari de freqüència de pràctica d'activitats.

Els resultats més destacats obtinguts fins al moment en aquest estudi indiquen que la caracterització d'alteracions genètiques (*globals i en gens específics*) en les diferents mostres tenen un perfil característic del tipus de teixit (*sang i teixit mamari*) i del tipus de gen. Endemés, alguns dels gens estudiats van mostrar diferències en la freqüència de metilació entre les mostres de sang de voluntàries sanes respecte a les afectades de càncer de mama. Per aquest motiu, els gens que presenten aquestes diferències serien candidats a biomarcadors de risc de càncer de mama humà, ja que la seva freqüència i/o grau de metilació va ser superior en malaltes que en voluntàries sanes. D'altra banda, la metilació global en sang perifèrica va ser paradoxalment superior a malaltes en relació a les sanes,

podent ser degut, almenys en part, a l'efecte del procés carcinogènic sobre l'alteració de les subpoblacions de leucòcits circulants. Aquest resultat planteja la possibilitat d'utilitzar aquest paràmetre en sang com a marcador de malaltia oculta no diagnosticada. No obstant això, els resultats són encara molt preliminars i s'està intentant trobar valors de referència en la població de dones sanes. Així mateix, la comparació del teixit normal i tumoral va mostrar que les freqüències de metilació són superiors en tumor que en glàndula mamària per a tots els gens estudiats, el que evidenciaria la disrupció de l'epigenoma durant el procés neoplàsic mamari. D'altra banda, l'estudi dels paràmetres clínics de les pacients van indicar una correlació directa entre la metilació d'alguns dels gens estudiats i paràmetres reproductius considerats factors de risc de càncer de mama, com ara l'edat en la primera gestació i l'edat de aparició de la menopausa. Això suggeriria que aquests factors podrien estar modulant el risc enfront d'aquest tipus de neoplàsia, en part, a través de l'alteració dels patrons epigenètics. No obstant això, la metilació dels gens estudiats no sembla reflectir el grau de malignitat tumoral i es considera, a partir dels resultats obtinguts, que pot ser un esdeveniment primerenc de la carcinogènesi mamària.

Quant a la determinació de biomarcadors d'ingesta de lípids, es van detectar alguns àcids grassos en membrana d'eritròcits que podrien ser reflex del consum de greixos saturats (àcid *margàric* -C17:0-), omega-6 (àcid *docosadienoic* -C22:2-), i omega-3 d'origen marí (àcid *eicosapentanoic* -EPA-C20:5-). El perfil d'àcids grassos de les membranes d'eritròcits va variar entre sanes i malaltes, probablement degut tant a la influència dels diferents hàbits dietètics en relació al consum de greixos, com a les alteracions en el metabolisme lipídic que podrien produir-se com a conseqüència del procés neoplàsic. Pel que fa a la caracterització dels hàbits dietètics, les malaltes de càncer de mama van mostrar major ingesta diària de lípids totals, àcids grassos monoinsaturats i poliinsaturats totals, així com del tipus omega-6 i -3 d'origen no marí, oli d'oliva, fibra i vitamina B9. Contràriament al que s'esperava, la

relació lípids n-6/lípids n-3 no ha estat tan elevada com és de suposar en un país desenvolupat com és el nostre. Aquesta relació es considera normal quan per cada part de n-3 hi ha entre 1 a 4 de n-6. En els anomenats països desenvolupats s'estan descrivint relacions n-6:n-3 de 10-20:1. Els resultats obtinguts pel grup investigador són de 5,3:1 en les dones control sanes i de 5,9:1 en les malaltes. Finalment, els resultats van indicar un potencial efecte de la dieta i l'estil de vida sobre la metilació de gens supressors tumorals. En concret, l'elevada ingesta de calories, proteïnes, lípids totals, àcids grassos saturats, donadors de grups metil i alcohol tindria un efecte perjudicial perquè incrementaria la metilació d'alguns dels gens supressors estudiats, mentre que la realització d'activitat física la disminuiria.

Aquests estudis continuen actualment en marxa, incrementant el nombre de gens, mostres i dades analitzades, amb l'objectiu de dilucidar de forma més precisa la influència dels hàbits dietètics, en concret els relacionats amb el consum de greixos i específicament amb el dels olis de llavors i d'oliva verge extra, en els patrons epigenètics de l'ADN i en l'empremta epigenètica (*epigenoma*) del càncer de mama humà. Més enllà del coneixement dels mecanismes moleculars implicats en la carcinogènesi mamària, l'estudi de les alteracions epigenètiques té diverses utilitats clíniques potencials. D'una banda, la caracterització epigenètica podria millorar l'estratificació dels tumors mamaris, millorant així el diagnòstic i la predicció del comportament de la malaltia. A més, els biomarcadors epigenètics, especialment l'ADN metilat o els microRNA (*ambdós tipus de molècules molt estables i relativament fàcils d'analitzar -en curs en els laboratoris del grup-*) podrien ser d'utilitat diagnòstica donada la possibilitat d'aïllar aquestes molècules procedents del tumor a partir de biòpsies líquides. També és factible l'ús de marcadors epigenètics com a predictors de resposta a quimioteràpia, i ja hi ha fàrmacs que utilitzen elements de la maquinària epigenètica com a diana terapèutica.

Així doncs, en humans s'han caracteritzat alteracions de l'epigenoma. Alguns dels factors alterats

serien candidats a marcadors de risc de càncer de mama. Certs factors reproductius (edat 1<sup>a</sup> gestació, menopausa), d'estil de vida (alcohol) i nutricionals (calories, proteïnes, greixos saturats i totals), s'associen directament amb aquestes alteracions o inversament (activitat física)

### “LLUMS I OMBRES”

Després de tots aquests anys d'investigacions, es podria dir que el “Grup Multidisciplinari per a l'Estudi del Càncer de Mama” ha aconseguit aportar evidències científiques que demostren que els greixos n-6 tenen una clara acció estimuladora del càncer de mama, tot i que només quan estan en excés a la dieta. D'altra banda, s'han aportat evidències en favor d'un efecte saludable de l'oli d'oliva verge extra sobre aquest càncer. No obstant això, en aquest darrer no tot són “llums”. Existeixen també algunes “ombres” i alguns dels estudis anteriors realitzats en el model experimental també han determinat que el mal ús, per ingesta excessiva, de l'oli d'oliva verge extra pot tenir efectes perjudicials. Així, diversos paràmetres estudiats s'han vist alterats, encara que molt menys que amb l'oli n-6 de les llavors, a causa molt probablement dels seus efectes protectors, que contrarestarien, almenys en part, els perjudicials. En qualsevol cas, tot i que aquest oli s'administra en quantitats elevades, la malaltia i els tumors són de menor grau clínic i histopatològic, respectivament, de malignitat que els dels grups de dieta rica en olis de llavors, i similars als controls de dieta normolipídica. En el sentit contrari, l'oli de llavors és exclusivament un aliment però si s'ingereix en excés estimula el càncer de mama amb la intervenció de mecanismes diferents als de l'oli d'oliva verge extra però de similar complexitat.

Per les esmentades raons ètiques i de practicabilitat, no és possible valorar en l'espècie humana aquestes situacions de risc per mal ús d'aquests factors dietètics. No obstant això, sí que poden caracteritzar-se morfològica i molecularment els tumors humans i associar perfils de menor risc amb hàbits dietètics saludables. Aquest és l'enfocament efectuat pel grup investigador. Fins al moment actual els resultats obtinguts només han pogut asso-

ciar-se amb factors dietètics de risc i, pel que fa als greixos, amb la quantitat total d'ells i amb els saturats. Tanmateix, encara és aviat per treure conclusions de qualsevol tipus per què el nombre d'efectius és encara baix degut a la complexitat analítica que comporta l'estudi (216 *determinacions en cada malalta [sang/gl. mama./tumor; 12 gens, met.&no met.; 3 tècniques]* o 72 *en cada dona control [sang; 12 gens, met.&no met.; 3 tècniques]*). S'espera que a mesura que vagin incorporant-se nous resultats es pugui anar clarificant aquesta qüestió. A més, tampoc es poden fer assajos complets d'intervenció dietètica en humans per comprovar si hi ha normalització de l'empremta epigenètica, per exemple per l'oli d'oliva. Únicament podrien plantejar-se en mostres de sang. Així que, únicament pot ser abordat en els models experimentals *in vivo* i *in vitro*, tal com s'està fent ja.

D'altra banda, el conjunt d'estudis efectuats suggereixen que en el cas de les dones amb càncer, sobretot en estat avançat, podria ser necessari disminuir la ingesta de tots els greixos, inclosos els descrits com a saludables. En aquest sentit, convé recordar que tots els greixos constitueixen una important font de calories i que les cèl·lules canceroses depenen molt de l'energia per funcionar perquè la seva activitat és molt elevada, similar a les cèl·lules embrionàries en un organisme en desenvolupament. És per aquest motiu que una part de l'efecte estimulador de les dietes amb alt contingut en greixos, incloses les saludables com l'oli d'oliva verge extra, ha de ser atribuït simplement al fet que actuen com a combustible per a les cèl·lules canceroses per l'elevat contingut en calories que aporten.

Tot i així, cal tornar a insistir que hi ha bastants dades que permeten considerar que l'oli d'oliva verge extra no només és un aliment d'un gran valor gastronòmic, sinó que comença a haver-hi proves suficients per indicar que, ben utilitzat, té un valor afegit beneficiós sobre la salut i, en concret, sobre el càncer de mama. Per tots aquests motius, aquest greix també pot ser qualificat com un aliment funcional. No obstant això, en algunes ocasi-

ons es suggereix que l'oli d'oliva pot ser considerat com un medicament. En els estudis realitzats pel grup investigador, que ja han estat mostrats anteriorment, els resultats obtinguts indiquen que els possibles efectes protectors de l'esmentat oli no serien prou potents com per justificar el seu ús com a agent terapèutic. Mai s'ha aconseguit regressar els tumors mamaris per causa d'una dieta amb oli d'oliva verge extra, ni tan sols quan aquesta es administrada crònicament. Els seus efectes beneficiosos consistirien més aviat en un alentiment de la progressió tumoral que en una regressió, total o parcial, del tumor establert; en conseqüència, prevenint l'aparició del càncer i el seu desenvolupament, més que en un fàrmac que es pren quan es pateix la malaltia. Per tant, segons aquestes experiències s'hauria de situar a l'oli d'oliva verge extra en un context de salut pública i, dins d'aquest, en el dels hàbits dietètics dins d'un estil de vida saludable. D'altra banda, l'opció nutracèutica tampoc semblaria convenient per la salut si es tenen en compte els riscos, d'utilitzar components aïllats de l'aliment i en dosis farmacològiques, que han descrit altres autors per als polifenols, els carotens i la vitamina E. A més, en considerar de forma integrada tots els mecanismes descoberts pel grup investigador poden observar-se canvis en les cèl·lules tumorals que suggereixen que podrien ser deguts tant a la part greixosa de l'oli d'oliva, com als components minoritaris, com a ambdues fraccions d'aquest oli. En definitiva, tot sembla anar a favor de l'oli d'oliva complet i del verge extra, atès que és l'únic que té tots els components. Així mateix, si es consideren els resultats i les conclusions obtingudes en l'estudi de la pubertat (*línia de recerca no mostrada*), d'una banda, i la baixa potència relativa que tenen els factors ambientals, de l'altra, es reforça la idea de que el seu valor afegit sobre la salut s'obtidria adequadament si aquest aliment emblemàtic forma part de la dieta de les persones des d'edats primerenques, idealment des d'abans de la pubertat, i durant tota la vida.

En qualsevol cas, i malgrat els significatius avenços produïts en els últims anys en l'estudi dels efectes de la dieta sobre el càncer, es requereixen més investigacions per conèixer i confirmar encara amb més profunditat les seves propietats, descobrir nous mecanismes específics implicats en aquests efectes i definir possibles indicacions diferencials d'ingesta per als casos de salut, risc de malaltia i malaltia establerta; així com per determinar amb més precisió quina seria la participació de l'oli d'oliva verge extra en cadascuna d'aquestes funcions i els seus mecanismes, i la implicació dels seus diferents components en cada un d'ells. En última instància, totes aquestes accions contribuirien a obtenir informació valuosa per a la prevenció secundària i fins i tot primària d'algunes malalties cròniques en general i del càncer en particular.

## REFERÈNCIES

*#1: EPIGENÈTICA: alteracions de la funció dels gens, potencialment hereditàries, que no s'acompanya de cap modificació en la seqüència de l'ADN.*

*#2: NUTRIGENÒMICA: branca de la genòmica nutricional que pretén proporcionar un coneixement molecular (genètic) sobre els components de la dieta que contribueixen a la salut mitjançant l'alteració de l'expressió i/o estructures segons la constitució genètica individual.*

*#3: APOPTOSI: mort cel·lular genèticament programada per desfer-se l'organisme de cèl·lules innecessàries o anormals.*

*#4: LIPID RAFT: bassa lipídica o raft lipídic és un microdomini de la membrana plasmàtica on la fluïdesa és molt menor a la del seu entorn.*

*#5: CAVEOLA: tipus especial de bassa lipídica format per petites invaginacions de la membrana plasmàtica.*