

MUTACIONES EN EL GEN K-RAS Y CONCENTRACIONES SÉRICAS DE DDT, DDE, PCBs Y OTROS COMPUESTOS ORGANOCLORADOS EN EL CÁNCER DE PÁNCREAS EXOCRINO

Miquel Porta Serra[†]

Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), Universitat Autònoma de Barcelona,
Carrer del Dr. Aiguader 80, 08003 – Barcelona. mporta@imim.es

Aunque pueda parecer sorprendente, son todavía muy pocos los estudios de epidemiología molecular que han integrado el análisis de las concentraciones de residuos químicos en el organismo humano y el de las alteraciones genéticas más frecuentes en el cáncer. Presentamos aquí brevemente algunos de los principales resultados de un estudio en esta línea.

Hace más de diez años se describió por primera vez que los tumores de las personas enfermas de un cáncer de páncreas exocrino (CPE) presentaban en el momento del diagnóstico una alta prevalencia de mutaciones en el gen *K-ras*. En la actualidad esta alteración genética adquirida sigue considerándose la más frecuente en dicha enfermedad [1]. La elevada frecuencia con que este oncogén se encuentra mutado también en otros tumores y su importancia en diversos procesos carcinogénicos han llevado al profesor Manuel Perucho a calificarlo coloquialmente como “el rey de los oncogenes”. Sin embargo, en la actualidad seguimos sin apenas conocer qué factores –ambientales o de otra índole– podrían estar relacionados con la inducción, modulación o persistencia de las mutaciones. Sólo recientemente nuestro grupo descubrió que los pacientes con un CPE cuyo tumor tenía la mutación en el gen *K-ras* presentaban concentraciones en su suero de determinados compuestos organoclorados significativamente más elevadas que las personas con un CPE cuyos tumores no tenían dicha mutación [2, 3]. Era la primera vez que una mutación en un oncogén se relacionaba con una sustancia química ambiental en seres humanos que viven en condiciones normales [4].

En otros trabajos ofrecemos una descripción detallada de nuestras metodologías [2, 3, 5-10]. Los casos incidentes de CPE se identificaron prospectivamente en 5 hospitales españoles; durante la estancia hospitalaria se les entrevistó y se obtuvieron muestras biológicas. Un 77,7% de los casos en que se analizó la existencia de mutaciones en el codón 12 del gen *K-ras* presentaron dichas mutaciones. El estudio sobre compuestos organoclorados se restringió inicialmente a 51 casos de CPE, 34 con la mutación y 17 sin la mutación en *K-ras* (emparejados por frecuencia por edad y sexo) [2, 3]. La edad media de los 51 casos fue de 65,9 (desviación típica: 11,9 años): el 55% eran varones; tan sólo un 6% había disfrutado de más de diez años de escolarización [3]. Nótese que en este grupo de 51 casos la frecuencia de la mutación es, por diseño (dado que por cada caso no mutado

[†] Son coautores de este trabajo Francisco X. Real, Joan O. Grimalt, Núria Malats, Manuel Jarrod, Luisa Guarnier, Alfredo Carrato, Juli Rifà, Juan Alguacil, Josep M. Corominas, Antonio Salas, Montserrat Andreu, Mary Santiago-Silva y el resto de los Investigadores del Estudio PANKRAS II (véase la lista completa en la referencia bibliográfica 2).

seleccionamos 2 casos mutados), del 66,7%; es decir, algo inferior al 77,7% del conjunto de nuestra serie.

La figura 1a muestra la distribución de valores para los compuestos análogos del DDT, separando los casos en que cada compuesto se detectó y cuantificó (barra más oscura), los casos en que el compuesto se detectó pero se encontraba en concentraciones inferiores al límite de cuantificación (barra gris) y los casos en que el compuesto se hallaba por debajo del límite de detección (barra blanca) [3]. Las concentraciones de p,p'-DDT fueron detectables en 36 de los 51 casos (71%); en 6 casos (12%) fueron detectables pero no cuantificables. Todos los casos tenían concentraciones de p,p'-DDE detectables, y éstas fueron cuantificables en el 92% de las personas (figura 1a).

Se detectaron diez congéneres de bifenilos policlorados (PCBs). Sin embargo, en 7 de ellos (IUPAC 28, 52, 101, 118, 170, 187 y 194) la mitad o más de los casos de CPE tenían niveles no detectables o no cuantificables (figura 2a); por ello fueron excluidos de nuestros análisis subsiguientes, pues nos parecía que era preferible no trabajar con una proporción tan elevada de cifras imputadas [2, 3]. En cambio, todos los 51 casos de CPE presentaron niveles detectables de los congéneres 153 y 180, y 43 casos (84%) del PCB 138. El hexaclorobenceno y el β -hexaclorociclohexano se detectaron en todos los casos (figura 3a).

Siguiendo criterios utilizados por otros grupos –pero no por todos–, cuando un compuesto no se detectó, le asignamos el valor cero; cuando se detectó, pero en concentraciones inferiores al límite de cuantificación, le imputamos el valor medio entre los límites de detección y de cuantificación [2, 3]. Los valores de las concentraciones séricas para todos los compuestos analizados, obtenidos tras la imputación de valores, se presentan en la tabla 1 y en las figuras 1b, 2b y 3b; en éstas, la barra horizontal de la caja representa la mediana y los límites de las muescas abarcan al 50% de los pacientes. El compuesto presente en concentraciones más elevadas fue el p,p'-DDE, seguido por el β -hexaclorociclohexano y el hexaclorobenceno (tabla 1, figuras 1b y 3b). La procedencia o fuente de estos compuestos es actualmente objeto de análisis específicos por nuestra parte. En este sentido, ciertos componentes de la dieta son candidatos a tener un papel importante, si nos atenemos a los hallazgos que sobre residuos organoclorados en algunos alimentos ha efectuado algún grupo de investigación español [11-17].

La posibilidad de que ciertos compuestos organoclorados tengan un papel en la etiopatogenia del cáncer de páncreas exocrino mediante la modulación de los efectos del gen *K-ras* podría tener implicaciones sustanciales para la investigación sobre el proceso carcinogénico en esta y en otras neoplasias asociadas a alteraciones en los genes *ras* [2]. En el futuro, los estudios deberían intentar definir todavía mejor unos escenarios mecanísticos que integren conocimientos procedentes de la biología, la patología y la epidemiología moleculares, la medicina clínica, la toxicología genética y las ciencias ambientales [1-3, 5, 9, 18-22].

Ciertamente, los compuestos organoclorados son ubicuos en grandes partes de nuestro planeta y tienen una amplia variedad de efectos fisiológicos [23-29]. No obstante, a nuestro juicio, para valorar desde una base sólida las implicaciones que para la salud pública puedan tener hallazgos como los nuestros, primero éstos deben ser replicados –o refutados– por otros estudios. Mientras tanto, en paralelo, es de esperar que se produzcan nuevos avances en nuestra comprensión de la significación social, sanitaria, clínica y biológica de los efectos que los compuestos organoclorados tienen sobre la salud humana y sobre los ecosistemas. Ello permitirá conocer de forma más diáfana la naturaleza de las relaciones

causales –directas e indirectas– que puedan descubrirse entre determinados residuos químicos en los alimentos y en el medio ambiente y ciertas alteraciones genéticas que se producen durante la inducción y la promoción de algunos tipos de cáncer [1, 2, 24-29].

Agradecimientos

Los autores agradecen la valiosa colaboración científica prestada por A. Serrat, V. Barberà, M. Torà, R. Otero, S. Costafreda, L. Ruiz, M. Soler, J. Gomez, D.J. MacFarlane, P. Barbas y L. Español. En la 16ª Reunión Científica de la Sociedad Española de Epidemiología (SEE) (Sevilla, 20 - 23 octubre 1998) se presentaron por primera vez los resultados preliminares de este trabajo (*Revista Española de Salud Pública* 1998; 72 Supl: 97).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Porta M, Malats N, Alguacil J, Soler M, Rifà J. La búsqueda de factores de riesgo para el cáncer de páncreas: práctica, paciencia y paradigmas. *Gastroenterología & Hepatología* 1997; 20: 259-273.
2. Porta M, Malats N, Jariod M, Grimalt JO, Rifà J, Carrato A, Guarner L, Salas A, Santiago-Silva M, Corominas JM, Andreu M, Real FX for the PANKRAS II Study Group. Serum concentrations of organochlorine compounds and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. *The Lancet* 1999; 354: 2125-2129.
3. Porta M, Jariod M, Malats N, Grimalt JO, Carrato A, Guarner L, Salas A, Rifà J, Corominas JM, Alguacil J, Andreu M, Real FX for the PANKRAS II Study Group. Prevalence of K-ras mutations at diagnosis and serum levels of DDT, DDE, PCBs and other organochlorine compounds in exocrine pancreatic cancer. In: Gress T, ed. *Molecular pathogenesis of pancreatic cancer*. Amsterdam: IOSPress, 2000: 35-42.
4. Nuttall N. Pesticide pollution is linked to cancer. *The Times [London]* 1999 diciembre 17 (num. 66700). p. 13.
5. Porta M, Malats N, Guarner L, Carrato A, Rifà J, Salas A, Corominas JM, Andreu M, Real FX for the PANKRAS II Study Group. Association between coffee drinking and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. *Journal of Epidemiology & Community Health* 1999; 53: 702-709.
6. Soler M, Malats N, Porta M, Fernandez E, Guarner L, Maguire A, Piñol JL, Rifà J, Carrato A, for the PANKRAS II Study Group. Medical conditions in patients with pancreatic and biliary diseases: Validity and agreement between data from questionnaires and medical records. *Digestive Diseases & Sciences* 1999; 44: 2469-2477.
7. Alguacil J, Kauppinen T, Porta M, Partanen T, Malats N, Kogevinas M, Benavides FG, Obiols J, Bernal F, Rifà J, Carrato A for the PANKRAS II Study Group. Risk of pancreatic cancer and occupational exposures in Spain. *Annals of Occupational Hygiene* 2000 (en prensa).
8. Gavaldà L, Porta M, Malats N, Piñol JL, Fernández E, Maguire A, et al., en nombre de los Investigadores del Estudio PANKRAS II. Concordancia entre la información facilitada por el paciente y un familiar sobre antecedentes patológicos, consumo de tabaco, de alcohol, de café, y dieta en el cáncer de páncreas exocrino y del sistema biliar extrahepático. *Gaceta Sanitaria* 1995; 9: 334-342.
9. Porta M, Real FX, Malats N, Rifà J, Carrato A, Guarner L, et al. *Estudio multicéntrico prospectivo sobre el papel del oncogén K-ras y del gen p53 en el diagnóstico, el pronóstico y la etiología del cáncer de páncreas exocrino y el cáncer de las vías biliares (PANKRAS II)*. Fondo de Investigación Sanitaria, Proyecto #92/0007. Madrid: Fondo de Investigación Sanitaria, 1991.
10. Porta M, Real FX, Malats N, Carrato A, Rifà J, Guarner L, et al. Role of mutations in K-ras and p53 genes in exocrine pancreatic cancer and cancer of the biliary tract (PANKRAS II). In: Sankaranarayanan R, Wahrendorf J, Démaret E, eds. *Directory of on-going research in cancer epidemiology 1996*. IARC Scientific publications, n°137. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1996: 304.
11. Ariño A, Lázaro R, Conchello P, Bayarri S, Herrera A. The effect of commercial processing on incurred residues of DDE in meat products. *Food Additives and Contaminants* 1995; 12: 559-566.
12. Lázaro R, Herrera A, Conchello MP, Ariño AA, Bayarri S, Yagüe C, Peiró JM. Levels of selected polychlorinated biphenyl congeners in total diet samples from Aragón, Spain. *Journal of Food Protection* 1999; 62: 1054-1058.
13. Herrera A, Ariño A, Conchello P, Lázaro R, Bayarri S, Pérez-Arquillué C, et al. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from Spanish fatty foodstuffs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1996; 56: 173-177.
14. Herrera A, Ariño AA, Conchello MP, Lázaro R, Bayarri S, Pérez C. Organochlorine pesticide residues in Spanish meat products and meat of different species. *Journal of Food Protection* 1994; 57: 441-444.

15. González MJ, Jiménez B, Hernández LM, Gonnord MF. Levels of PCDDs and PCDFs in human milk from populations in Madrid and Paris. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1996; 56: 197-204.
16. Hernández LM, Fernández MA, Jiménez B, González MJ, García JF. Organochlorine pollutants in meats and cow's milk from Madrid (Spain). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1994; 52: 246-253.
17. Hernández LM, Fernández MA, Hoyas E, González MJ, García JF. Organochlorine insecticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast milk in Madrid (Spain). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1993; 50: 308-315.
18. Vandembroucke JP. Clinical investigation in the 20th century: the ascendancy of numerical reasoning. *The Lancet* 1998; 352 (Suppl 2): 12-16.
19. Vandembroucke JP. Medical journals and the shaping of medical knowledge. *The Lancet* 1998; 352: 2001-2006.
20. Porta M, Alvarez-Dardet C. Epidemiology: bridges over (and across) roaring levels [editorial]. *Journal of Epidemiology & Community Health* 1998; 52: 605.
21. Porta M. Epidemiologic plausibility. Re.: "Biologic plausibility in causal inference: Current method and practice". *American Journal of Epidemiology* 1999; 150: 217-218.
22. Porta M, Alvarez-Dardet C. How is causal inference practised by the biological sciences?. *Journal of Epidemiology & Community Health* 2000 (en prensa).
23. Calmet Fontané J. Plaguicides clorats: efectes sobre l'alimentació i alternatives. *Medi Ambient. Tecnologia i cultura* 1992 (num. 2, marzo): 24-31. Núm. monogràfic: L'omnipresència dels organoclorats. Barcelona: Generalitat de Catalunya, Departament de Medi Ambient, 1992.
24. Longnecker MP, Rogan WJ, Lucier G. The human health effects of DDT (dichlorodiphenyl-trichloroethane) and PCBs (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. *Annual Review of Public Health* 1997; 18: 211-244.
25. Smith D. Worldwide trends in DDT levels in human breast milk *International Journal of Epidemiology* 1999; 28: 179-188.
26. United Nation Environment Programme, International Labour Organisation, World Health Organisation. *Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and dibenzofurans*. International Programme on Chemical Safety, IPCS. Geneva: World Health Organization, 1989.
27. McKinney JD, Waller CL. Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural analogues. *Environmental Health Perspectives* 1994; 102: 290-297.
28. Warshawsky D. Polycyclic aromatic hydrocarbons in carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives* 1999; 107: 317-319.
29. Moysich KB, Mendola P, Schisterman EF, et al. An evaluation of proposed frameworks for grouping polychlorinated biphenyl (PCB) congener data into meaningful analytic units. *American Journal of Industrial Medicine* 1999; 35: 223-231.

Figura 1a

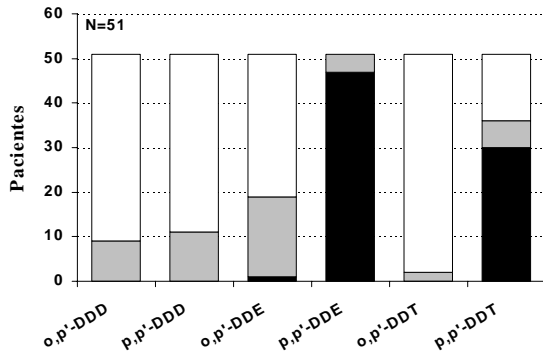


Figura 1b

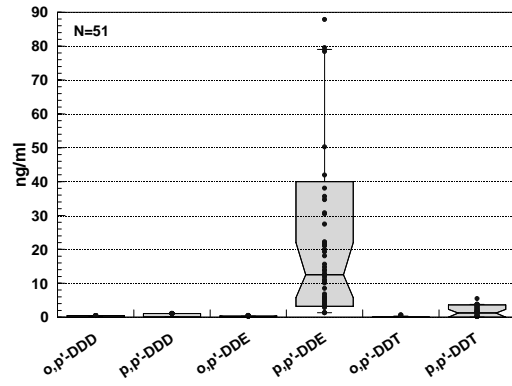


Figura 2a

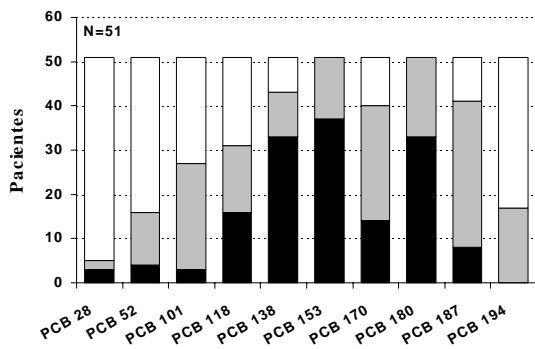


Figura 2b

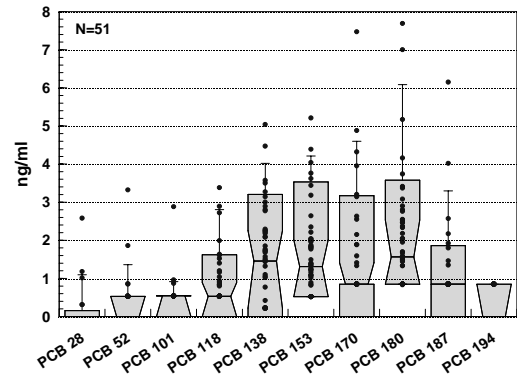


Figura 3a

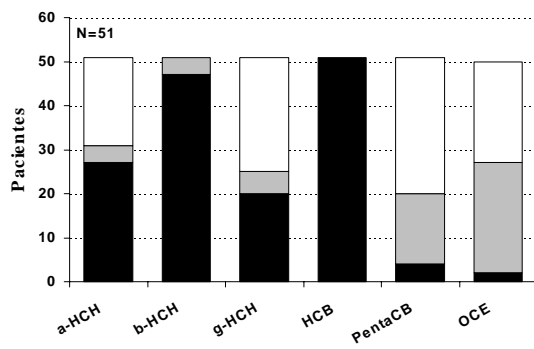


Figura 3b

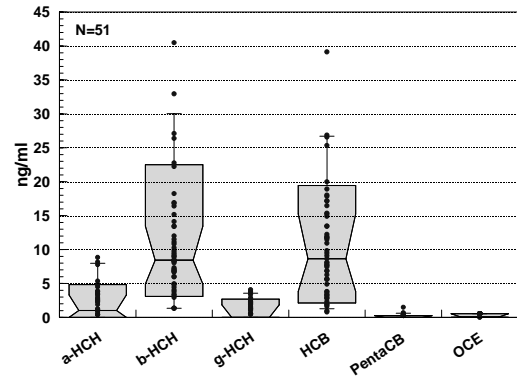


Tabla 1. Estudio PANKRAS II: Concentraciones en suero de los compuestos organoclorados en 51 casos de cáncer de páncreas exocrino

Compuesto	Porcentaje sujetos con niveles detectados	Porcentaje sujetos con n. detectados pero no cuantificados	Valores crudos (ng/mL = ppb)				Valores ajustados por lípidos (µg/g lípido)			
			Media aritmética	Desviación típica	Mediana	Mín.-Máx.	Media aritmética	Desviación típica	Mediana	Mín.-Máx.
<i>p,p'</i> -DDT	70,6	11,8	1,35	1,40	1,20	0,00-5,47	0,21	0,25	0,17	0,00-1,04
<i>p,p'</i> -DDE	100,0	7,8	18,80	19,65	12,49	1,30-87,87	2,73	2,79	1,86	0,14-12,98
<i>p,p'</i> -DDD	21,6	21,6	0,23	0,44	0,00	0,00-1,07	0,04	0,09	0,00	0,00-0,41
<i>o,p'</i> -DDT	3,9	3,9	0,02	0,12	0,00	0,00-0,61	0,01	0,03	0,00	0,00-0,15
<i>o,p'</i> -DDE	37,3	7,8	0,13	0,17	0,00	0,00-0,51	0,02	0,03	0,00	0,00-0,13
<i>o,p'</i> -DDD	17,6	17,6	0,08	0,17	0,00	0,00-0,44	0,01	0,02	0,00	0,00-0,09
PCB 28	9,8	3,9	0,11	0,42	0,00	0,00-2,58	0,02	0,07	0,00	0,00-0,50
PCB 52	31,4	23,5	0,26	0,56	0,00	0,00-3,32	0,04	0,09	0,00	0,00-0,51
PCB 101	52,9	47,1	0,35	0,47	0,54	0,00-2,88	0,05	0,07	0,05	0,00-0,37
PCB 118	60,8	29,4	0,64	0,79	0,53	0,00-3,38	0,09	0,11	0,06	0,00-0,46
PCB 138	84,3	19,6	1,45	1,29	1,45	0,00-5,04	0,21	0,22	0,16	0,00-1,21
PCB 153	100,0	27,5	1,59	1,14	1,31	0,52-5,21	0,24	0,18	0,18	0,05-0,75
PCB 170	78,4	51,0	1,26	1,43	0,85	0,00-7,47	0,20	0,29	0,14	0,00-1,80
PCB 180	100,0	35,3	2,01	1,49	1,56	0,83-7,69	0,30	0,21	0,22	0,10-0,92
PCB 187	80,4	64,7	0,97	1,02	0,85	0,00-6,15	0,14	0,17	0,12	0,00-1,13
PCB 194	33,3	33,3	0,28	0,40	0,00	0,00-0,85	0,05	0,08	0,00	0,00-0,33
“PCBs Totales”	—	—	8,91	4,90	7,97	1,58-25,00	1,33	0,76	1,10	0,21-3,66
Hexaclorobenceno	100,0	0,0	10,51	7,86	8,64	0,79-39,13	1,61	1,39	1,08	0,08-6,46
α-hexaclorociclohexano	60,8	7,8	1,84	2,30	1,01	0,00-8,84	0,29	0,42	0,11	0,00-1,97
β-hexaclorociclohexano	100,0	7,8	10,67	8,14	8,42	1,35-40,48	1,65	1,40	1,18	0,19-6,46
γ-hexaclorociclohexano	49,0	9,8	0,90	1,17	0,00	0,00-4,07	0,14	0,20	0,00	0,00-0,65
Octacloroestireno	54,0	50,0	0,28	0,28	0,31	0,00-0,55	0,04	0,05	0,02	0,00-0,21
Pentaclorobenceno	39,2	31,4	0,14	0,25	0,00	0,00-1,49	0,02	0,04	0,00	0,00-0,26

