

Entrevista al Dr. Alberto Muñoz y la Dra.

Asunción Fernández Barral

Vitamina D y cáncer colorrectal

Si te pido que pienses en una consecuencia para la salud derivada de tomar el sol, estoy casi segura de que me dirás algo relativo a las quemaduras solares o el cancer de piel. Y sí, de acuerdo, coincidimos en los graves riesgos que tiene la exposición de nuestra piel a la radiación ultravioleta del sol, pero quizá lo que no te has planteado es que nuestro organismo precisa del sol para una función muy concreta: la producción de vitamina D. Y es que, por si no lo sabías, casi el 90% de la vitamina D que nuestro cuerpo necesita diariamente podemos producirla nosotros mismos, a partir de una molécula derivada del colesterol, y mediante un complejo entramado de reacciones bioquímicas, algunas de los cuales se dan en la piel y dependen de la radiación solar.

Pero claro, una cosa es tener la capacidad de producir los niveles necesarios de vitamina D y otra muy distinta es llegar a conseguirlos de forma efectiva. De hecho, se sabe que existen muchos factores que influyen en nuestra capacidad para llevar a cabo esta síntesis de una forma más o menos eficiente, entre los que se encuentran la latitud en la que vivimos, la estación del año en la que nos encontramos, la edad, el color de la piel o la hora del día en la que nos exponemos al sol. Si esto es así, no es de extrañar que actualmente se haya detectado que la deficiencia de vitamina D (que antes se pensaba que era algo exclusivo de países nórdicos) es algo común incluso en personas que viven en áreas geográficas más soleadas, como los países de la cuenca mediterránea. Se apunta a que el tipo de vida que llevamos en las ciudades, con poco tiempo al aire libre, sumado a nuestra concienciación en cuanto al uso de cremas protectoras, contribuyen a esta tendencia al déficit de vitamina D.

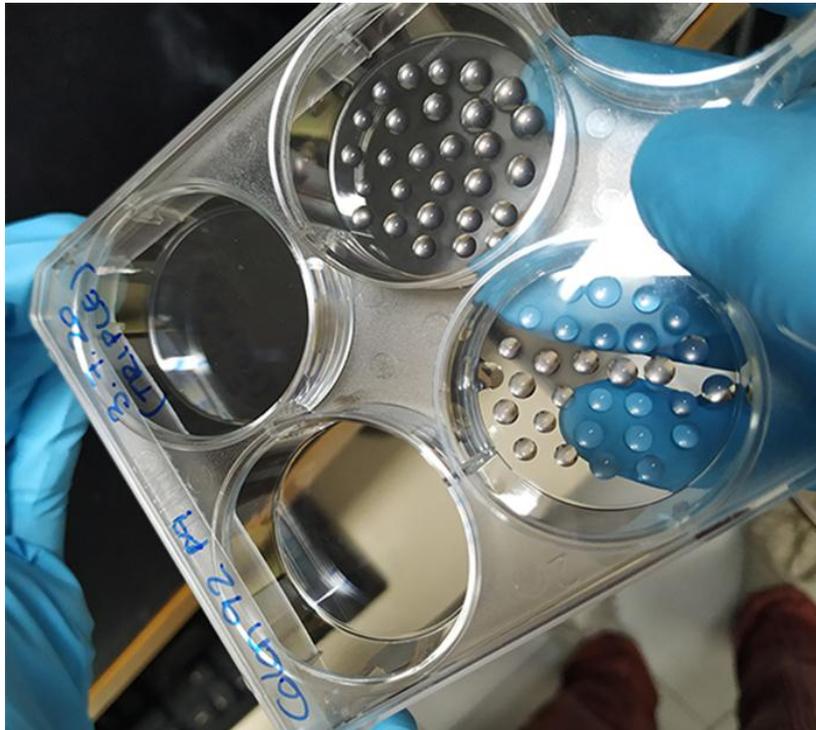


Imagen de una placa de cultivo con las gotas de Matrigel donde se encuentran los organoides

Cada día más estudios científicos revelan la importancia de mantener unos niveles de vitamina D adecuados en nuestro organismo para mantener la salud, y no sólo por su papel en la calcificación de los huesos: la vitamina D es considerada hoy día una hormona, y se sabe que, su forma activa (denominada calcitriol) regula la expresión de muchos genes en diferentes tejidos del organismo, cumpliendo papeles muy diversos. Es realmente interesante comprobar que, entre todos ellos, la vitamina D parece tener una función protectora frente a determinados tipos de cáncer. Ya en la primera mitad del siglo XX surgieron estudios que apuntaban a que existía una relación entre la latitud y la mortalidad por cáncer en América del Norte, de forma que parecía existir una relativa inmunidad a esta enfermedad como efecto directo de la luz del sol, pero no se conocía por qué. Fue ya al final de ese siglo cuando se sugirió por primera vez que los beneficios de la exposición solar en el cáncer (de colon) podrían ser debidos a la vitamina D que se sintetizaba en nuestra piel gracias precisamente a la incidencia de esta radiación. Y esto marcó un giro radical en nuestra idea de la vitamina D, extendiéndose más adelante el estudio de su posible papel protector a muchos otros tipos de cáncer.

Y precisamente sobre cáncer de colon y vitamina D hemos querido hablarte hoy, y para ello nos vamos a centrar en los trabajos del **Dr. Alberto Muñoz** y su grupo de investigación del Instituto de Investigaciones Biomédicas “*Alberto Sols*” de Madrid (CSIC-UAM,CIBERONC), sin duda un grupo de referencia en la material a nivel internacional. Las recientes investigaciones dirigidas por el Dr. Muñoz y el **Dr. Antonio Barbáchano** han puesto de manifiesto el papel fundamental que juega la vitamina D en el mantenimiento de la *homeostasis* (término que hace referencia a un correcto equilibrio fisiológico) del epitelio del colon, y por tanto su importancia para prevenir la aparición de un tumor en este tejido. Sus hallazgos recientes demuestran que el receptor de la vitamina D (VDR, una proteína imprescindible para que la vitamina D pueda ejercer su acción dentro de las células) está presente en las células troncales situadas en las criptas del colon, y que son las responsables de la continua renovación del epitelio. Precisamente, la vitamina D activa (el calcitriol) contribuiría a mantener el estado indiferenciado en estas células troncales, a la vez que frenaría la malignización de las células tumorales gracias a la promoción de la diferenciación, un papel dual que parece ciertamente útil para combatir el cáncer colorrectal. Sobre vitamina D y cáncer colorrectal hemos conversado hoy en My Scientific Journal con el Dr. Alberto Muñoz y con la **Dra. Asunción Fernández Barral**, primera autora del artículo publicado en la prestigiosa revista *The FEBS Journal* que recoge estos interesantes resultados.

My Scientific Journal. *La vitamina D puede parecernos algo muy cotidiano, pero en la mente de casi todos está fundamentalmente asociada a su importancia para la calcificación de nuestros huesos. Sin embargo, leyendo vuestros trabajos se abre un horizonte mucho más amplio para esta vitamina (o para su forma activa, el calcitriol) en cuanto a su papel en el mantenimiento normal del tejido del colon y, en consecuencia, se remarca la importancia que su deficiencia podría tener en enfermedades como el cáncer colorrectal. ¿Creéis que estos hallazgos suponen que estamos ante una prometedora vía de prevenir o tratar este tipo de tumores?*

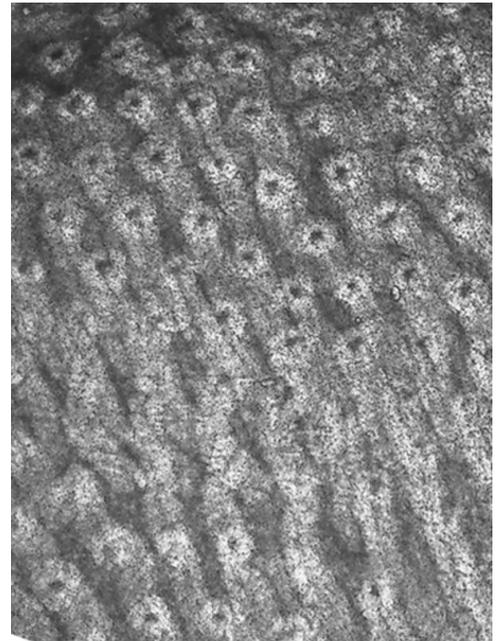
Alberto Muñoz y Asunción Fernández Barral. La vitamina D ha sido tradicionalmente asociada al bienestar de los huesos pues se sabía que su deficiencia causaba raquitismo en los niños y fragilidad ósea (osteomalacia y osteoporosis) en los adultos. Esto se debe a que la vitamina D es esencial para la absorción en el intestino del calcio y fósforo de la dieta necesarios para nuestros huesos. Sin embargo, hoy sabemos que ésta es solo una de sus muchas acciones en el organismo. La vitamina D, y en concreto su derivado más activo el calcitriol o 1,25-

dihidroxitamina D3 que se sintetiza a partir de ella en los riñones y otros muchos sitios del organismo, es un importante regulador del sistema inmune y del funcionamiento de múltiples tejidos y órganos. Esto se explica porque el calcitriol se une a una proteína llamada receptor de la vitamina D o VDR que se encuentra en la mayoría de tipos celulares del organismo y regula la expresión de unos mil genes, alrededor del 4% de todo nuestro material genético. La vitamina D es, por tanto, un regulador clave que controla el funcionamiento de muchos de sus órganos y sistemas, no solo la formación o biología de los huesos. Como corresponde a este papel tan importante, durante las últimas décadas numerosos estudios epidemiológicos han asociado la deficiencia de vitamina D con una amplia variedad de enfermedades, entre ellas varios tipos de cánceres. Según un informe de la Organización Mundial de la Salud, el cáncer de colon o colorrectal es tipo de cáncer más asociado a la deficiencia de vitamina D, concluyendo que es probable que contribuya a su aparición y agresividad. Por este motivo, nuestro laboratorio y otros muchos en todo el mundo estudian los efectos antitumorales de la vitamina D en el cáncer colorrectal. Los resultados disponibles indican que la vitamina D disminuye la proliferación e invasividad de las células cancerosas y tiene también efectos protectores actuando sobre las células que rodean a los tumores (el estroma tumoral). Lo que podemos concluir es que la vitamina D parece ser útil para la prevención del cáncer colorrectal y posiblemente también para una mejor evolución de esta enfermedad, y, por tanto, que conviene evitar su deficiencia.

MSCJ. En vuestros trabajos recientes utilizáis un modelo de estudio de colon y recto *in vitro*, los llamados *organoides*, que puede resultar desconocido para muchos de nuestros lectores, ¿podríais explicarnos de forma sencilla qué son los organoides y qué ventajas tienen ante otros modelos *in vitro*, como los clásicos cultivos celulares?

AM/AFB. Desde hace más de 60 años, el modelo de trabajo más habitual en el laboratorio se ha basado en el cultivo de líneas celulares inmortales establecidas a partir de biopsias de distintos tejidos y órganos. Estas líneas celulares, mantenidas en placas de cultivo, han constituido una herramienta muy útil para estudiar su biología y la acción de los genes, agentes y fármacos, y con ello de muchas enfermedades. Sin embargo, se trata de un sistema bidimensional en el que las células están ancladas a plástico y cubiertas por un medio líquido que intenta asemejarse al suero sanguíneo, pero que no reproduce fielmente las condiciones del organismo vivo, lo que se ve reflejado en la acumulación de mutaciones en los genes y cambios en su expresión.

Este escenario cambió radicalmente hace unos años cuando se puso a punto un nuevo método de cultivo que permitía crecer a las células en tres dimensiones. Esta metodología es la llamada “Tecnología de los organoides”, que a partir de una biopsia de tejido sano o tumoral permite obtener sus células troncales (*stem*, en inglés) para crecerlas dentro de una matriz semirrígida. Estas células troncales y su progenie crecen formando estructuras tridimensionales con morfología más similar a la del tejido de origen y con un comportamiento más fisiológico, de ahí el nombre de *organoides*. Inicialmente se puso a punto con tejido intestinal, pero en la actualidad esta tecnología permite el crecimiento de organoides de diferentes tejidos sanos (hígado, páncreas, pulmón...) y de su versión tumoral (cáncer colorrectal, pancreático, hígado...).



Criptas del epitelio del colon

Este método de trabajo es más complejo, laborioso y caro que el utilizado hasta ahora con las células creciendo en placas. Sin embargo, los organoides se pueden congelar y descongelar, y crecer durante períodos prolongados de tiempo en los que las células mantienen la expresión de los genes de un modo bastante estable y reflejando de una forma más semejante a la situación en los tejidos, probablemente porque establecen unas relaciones entre ellas y con la matriz extracelular más fisiológica.

MSCJ. En relación a los organoides como modelo de estudio, probablemente uno de los puntos más importantes para poder desarrollarlos en el laboratorio haya sido tener una gran capacidad de coordinación, tanto con clínicos como entre los mismos miembros del grupo de investigación. ¿Cómo ha sido vuestra experiencia en torno a esto?

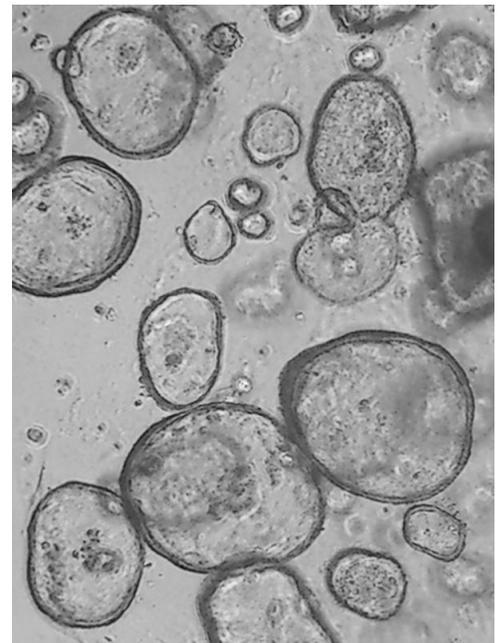
AM/AFB. Efectivamente, el establecimiento de cultivos de organoides a partir de muestras humanas requiere la implicación de cirujanos y patólogos, y en nuestro caso también de endoscopistas y oncólogos. Y, por supuesto, la indispensable generosidad de los pacientes que dan su consentimiento para el uso de sus muestras, así como la colaboración del biobanco del hospital. Todo ello, tras la aprobación del estudio por el correspondiente Comité de Experimentación de

Investigación y Ensayos Clínicos, en nuestro caso del Hospital Universitario La Paz de Madrid. No fue fácil ni rápido conseguir este circuito, que finalmente está funcionando muy positivamente.

MSCJ. Resultan sumamente interesantes los resultados que mostráis en vuestro trabajo “*Vitamin D differentially regulates colon stem cells in patient-derived normal and tumor organoids*”, (publicado en *The FEBS Journal* a principios de este año), que señalan el papel diferencial que ejerce el calcitriol en organoides de colon sano en comparación con organoides derivados de tumores de colon, afectando a la expresión de genes que contribuyen a la renovación del tejido sano y frenando la malignización del tejido tumoral. Ante esto podría surgirnos la duda de cómo puede el calcitriol discriminar entre células troncales sanas del colon y células troncales tumorales, presentando estos efectos tan diferenciados. ¿Nos podríais hablar algo acerca de esto y así aclarar nuestras dudas?

AM/AFB. Las células troncales tumorales (*cancer stem cells* en inglés) se originan como consecuencia de alteraciones genéticas y epigenéticas de las células troncales normales/sanas presentes en los tejidos.

Estas alteraciones son responsables de numerosos cambios cualitativos y cuantitativos en la expresión de sus genes, y con ello de diferencias en el fenotipo y vías de señalización. Por ello, no debe sorprender que exhiban distintas respuestas a agentes como el calcitriol. En nuestro estudio, en el que hemos generado un biobanco de organoides de tejido normal y tumoral de 40 pacientes con cáncer de colon, mostramos que el calcitriol tiene una doble acción: refuerza el estado indiferenciado de las células troncales normales, mientras que, por el contrario, induce la diferenciación de las células troncales tumorales. La primera acción contribuye a la conveniente renovación del epitelio intestinal (aproximadamente un kilogramo cada 5 días) durante toda nuestra vida, limitando así su exposición a los tóxicos que ingerimos en la dieta. La segunda acción probablemente reduce la aparición y progresión de cánceres colorrectales.



Criptas totalmente cerradas y formando organoides tras dos días de cultivo

MSCJ. El cáncer colorrectal, además de afectar al colon, también puede afectar a la región del recto. Precisamente en uno de vuestros trabajos más recientes, *Comparative Study of Organoids from Patient-Derived Normal and Tumor Colon and Rectal Tissue*, publicado en la revista *Cancers*, vuestro grupo se centra en estudiar las diferencias en cuanto a expresión génica de organoides derivados de estas dos regiones del intestino grueso (colon y recto), tanto de tejido normal como de tejido tumoral. ¿Cuáles son las principales conclusiones que destacaríais de este trabajo?

AM/AFB. Aunque tradicionalmente se ha hablado de cáncer colorrectal, hoy no se considera una entidad única, como evidencia el diferente manejo clínico de los pacientes con cáncer de colon y cáncer de recto. En concordancia, varios estudios recientes han revelado importantes diferencias en la expresión génica y las alteraciones presentes en las biopsias de tumores del colon y del recto, el fragmento terminal del intestino. Sin embargo, estos estudios se han llevado a cabo con biopsias completas de los tejidos constituidas por las células tumorales y también por los distintos tipos de células del estroma tumoral (fibroblastos, células del sistema inmune, endoteliales, pericitos, adipocitos...), lo que ha impedido asignar la expresión de genes a un tipo celular concreto. Con el fin de conocer si las células troncales tumorales que originan y mantienen el crecimiento de los cánceres de colon y de recto expresan distintos genes y cuál es su respuesta a la vitamina D, nuestro grupo ha generado organoides de ambos tipos de cánceres y comparado sus perfiles de expresión génica en ausencia y presencia de vitamina D. Los resultados muestran que, si bien el perfil genético global es similar en ambos tipos de organoides de tejido sano (colon y recto), existen grupos de genes implicados en algunas funciones biológicas relevantes cuya expresión difiere entre los tumores de colon y de recto. Además, hemos encontrado un comportamiento similar con respecto a la respuesta a la vitamina D.

MSCJ. Finalmente, desde vuestra perspectiva, ¿qué mensaje lanzaríais para conseguir llamar la atención a la población general acerca de la importancia de la prevención del cáncer colorrectal y la implicación de la vitamina D en ella?

AM/AFB. Somos biólogos que investigamos procesos tumorales y no pretendemos dar consejos sanitarios, algo que corresponde al mundo médico. Nuestro mensaje estrictamente científico es que la vitamina D es muy importante en la biología de muchos tejidos y órganos y uno de los más importantes reguladores del organismo humano. Tiene efectos homeostáticos y protectores frente a alteraciones como las neoplásicas (y otras como autoinmunes, infecciones...), específicamente las que afectan al colon y recto. Parece pues razonable y positivo mantener los niveles de vitamina D en nuestro organismo dentro de los límites normales, evitando la deficiencia y, naturalmente, también el exceso, bajo control médico.



grupo de investigación del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols” de Madrid (CSIC UAM,CIBERONC)