



# NUTRIGENÓMICA\*

JOSÉ MARÍA ORDOVAS<sup>1</sup>, RAFAEL CARMENA<sup>2</sup> Y DOLORES CORELLA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Nutrition and Genomics Laboratory, Jean Mayer- U.S. Department of Agriculture, Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University, Boston, Massachusetts (EEUU).*

<sup>2</sup>*Departamento de Medicina y Endocrinología, Hospital Clínico Universitario, Valencia (España).*

<sup>3</sup>*Unidad de Epidemiología Genética y Molecular. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. Valencia (España).*

## Introducción

La genómica nutricional estudia la interacción de los alimentos y sus componentes con el genoma a nivel molecular, celular y sistémico; el objetivo es utilizar la dieta para prevenir o tratar la enfermedad. En la genó-

mica nutricional se utilizan dos términos: nutrigenómica y nutrigenética. La nutrigenética estudia el efecto de la variación genética en la interacción entre la dieta y la enfermedad. Esto incluye la identificación y caracterización de las variantes génicas asociadas a las diferentes respuestas frente a los nutrientes o

---

José María Ordovás es doctor en Bioquímica por la Universidad de Zaragoza. Sus investigaciones se han centrado en los factores genéticos predisponentes a las enfermedades cardiovasculares y su interacción con los factores ambientales y los hábitos dietéticos. Durante casi 20 años ha participado en el Framingham Heart Study y actualmente está llevando a cabo diferentes estudios transculturales para determinar el riesgo cardiovascular en diferentes poblaciones de todo el mundo. Ha publicado alrededor de 400 artículos en revistas con sistema peer review, numerosas revisiones y cuatro libros sobre dieta y enfermedad coronaria, dieta y genética y fisiopatología de la arteriosclerosis.

Pertenece a diferentes Comités Editoriales y Comités de Evaluación, como el NHLBI Program Projects Parent Committee. Ha colaborado como experto en diferentes organizaciones de ámbito mundial y ha recibido numerosos reconocimientos. Pertenece al consejo asesor de varias compañías de biotecnología y nutrigenómica. Es miembro del Institute of Medicine's Food and Nutrition Board of the National Academies y del comité de expertos en nutrigenómica de la Life Sciences Office, Center for Emerging Issues in Science (CEIS).

Rafael Carmena es Catedrático de Medicina de la Universidad de Valencia y Jefe del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Clínico Universitario de dicha ciudad. Ha trabajado especialmente en el campo de las dislipemias y en los efectos de la dieta sobre los lípidos plasmáticos, la obesidad, diabetes mellitus y síndrome metabólico. Es académico numerario de la Real Academia de Medicina de la Comunidad Valenciana, Fellow del American College of Physicians, Fellow Royal College of Physicians Edinburgh, Patrono de la Fundación Salud 2000. Recibió el Premio Rey Jaime I de Medicina Clínica en 2002.

Dolores Corella es Profesora Titular del Departamento de Medicina Preventiva en la Universidad de Valencia. Su investigación se ha centrado en el estudio de las interacciones gen-ambiente en la etiología de las enfermedades crónicas, fundamentalmente en las interacciones gen-dieta, participando junto con el Dr. Ordovás en los trabajos pioneros en el área cardiovascular.

\*Con el apoyo de la beca HL54776 del NIH/NHLBI, de los contratos 53-K06-5-10 y 58-1950-9-001 del U.S. Department of Agriculture Research Service, y de las becas CTIDIB/2002/197 de la Oficina de Ciencia y Tecnología de la Generalitat Valenciana, España, y G03/140 del Instituto de Salud Carlos III, España.



## NUTRIGENÉTICA Y NUTRIGENÓMICA

**TABLA 1. La Genómica Nutricional definida por varios autores**

---

**Genómica nutricional:** La aplicación de tecnologías genómicas<sup>2</sup> funcionales de alto rendimiento en la investigación nutricional. Estas tecnologías pueden ser integradas con las bases de datos de secuencias genómicas y con la variabilidad genética interindividual, permitiendo que el proceso de expresión génica sea estudiado con muchos miles de genes en paralelo.

---

**Genómica nutricional o nutrigenómica:** La integración de la biología de sistemas en la investigación nutricional<sup>5</sup>.

---

**Nutrigenómica:** La nutrigenómica es el estudio de las relaciones moleculares entre estímulos nutricionales y la respuesta de los genes<sup>4</sup>.

---

**Genómica nutricional:** Puede ayudar a los científicos a interpretar la compleja interacción gen-nutriente y el vínculo entre las anomalías genéticas y la enfermedad, a analizar e integrar los vastos conjuntos de datos que estas técnicas y estudios producen y, después, a identificar nuevos biomarcadores<sup>3</sup>.

---

**Nutrigenómica:** La aplicación de herramientas genómicas de alto rendimiento en la investigación nutricional<sup>20</sup>. Aplicada sabiamente, favorecerá una mejor comprensión de cómo la nutrición influye en las vías metabólicas y en el control homeostático, de cómo esta regulación es obstaculizada en la fase temprana de una enfermedad relacionada con la dieta, y hasta qué punto los genotipos individuales sensibilizantes contribuyen a tal enfermedad.

---

**Genómica nutricional o “Nutrigenómica”:** Se ocupa de la interacción entre los nutrientes y la expresión de los genes utilizando técnicas como la de las microsecuencias de ADN y la PCR<sup>4</sup> en tiempo real. Implica la caracterización de los productos génicos y de la función e interacciones fisiológicas de sus productos; lo último incluye el cómo los nutrientes tienen un impacto sobre la producción y la acción de productos génicos específicos y cómo estas proteínas, a su vez, afectan a la respuesta frente a los nutrientes.

---

responsables de ellas. El objetivo de la nutrigenética es formular recomendaciones concernientes a los riesgos y a los beneficios de dietas concretas o de componentes dietéticos aislados. También se le ha llamado “nutrición personalizada” o “nutrición individualizada”.

La nutrigenómica aborda el efecto de los nutrientes sobre el genoma, proteoma y metaboloma. Dado que se trata de una nueva área de conocimiento, no es sorprendente que el concepto se haya articulado a través de diferentes descripciones<sup>1-5</sup> que resumimos en la tabla 1. La genómica nutricional ha suscitado ya un gran interés y un alto grado de expectación, y algunos investigadores<sup>6</sup> advierten de que el la definición del perfil genómico y su interacción con los factores ambientales,

como la dieta, no están todavía lo suficientemente desarrollados como para ser presentados al gran público. Es cierto que no hay pruebas basadas en tal examen que permitan defender que tiene beneficios para la salud y, por tanto, antes de que este enfoque sea válido y clínicamente útil, hay que llevar a cabo estudios epidemiológicos y evaluaciones clínicas de tratamientos recomendados, basados en el genotipo, bien diseñados.

### **Pasado, presente y futuro de la nutrigenómica**

La principal contribución práctica a la salud pública de la investigación en torno a la



nutrición está en definir las mejores recomendaciones dietéticas, destinadas a prevenir la enfermedad y a promover una salud óptima. A este efecto, y basadas en las mejores pruebas científicas disponibles en el momento, se han elaborado diferentes guías dietéticas que tienen como finalidad mejorar la salud de la población en general y la de personas con un alto riesgo de sufrir ciertas enfermedades (por ejemplo, enfermedad cardiovascular [ECV], cáncer, hipertensión y diabetes).

En cualquier caso, las orientaciones dietéticas pasadas y presentes han dejado de tener en cuenta las enormes diferencias que se dan en la respuesta de cada persona a la ingesta de nutrientes. Esta variabilidad de la respuesta puede afectar enormemente a la eficacia de estas recomendaciones a escala individual. Estamos lejos de tener una comprensión completa de los mecanismos responsables de las diferencias interpersonales en la respuesta dietética. No obstante, durante décadas se ha propuesto que existe un componente genético<sup>7</sup>, aunque los investigadores no han empezado a analizar estas interacciones nutriente-gen a nivel molecular hasta hace muy poco. En cualquier caso, los resultados de los estudios orientados a elucidar las interacciones nutriente-gen para las enfermedades comunes han sido controvertidos y no concluyentes. Aun así, estas enfermedades se potencian por las interacciones entre los genes específicos y los factores ambientales<sup>8</sup>. Estas interacciones son dinámicas, de manera que empiezan en el momento de la concepción y continúan a lo largo de la vida adulta. El con-

cepto de “ambiente” es amplio y complejo, y con frecuencia se le ha asociado al consumo de tabaco y de drogas, a la exposición a tóxicos, al nivel de formación y al estatus socioeconómico. Pero el factor ambiental al que estamos todos expuestos de manera continua es el de la ingesta de alimentos, desde la concepción hasta la muerte. Por ello, los hábitos dietéticos conforman el factor ambiental más importante en la modulación de la expresión génica durante la vida de cada persona.

El destacado papel que tiene la dieta en la etiología de la enfermedad fue reconocido en primera instancia para los casos de enfermedades monogénicas, y más adelante para las afecciones multifactoriales. El progreso en esta área se basa en la identificación de los genes clave implicados en el desarrollo de la enfermedad y de relevancia para la elucidación del impacto de su variación sobre la salud y la enfermedad. Este conocimiento lo ha proporcionado la información generada a partir del Proyecto del Genoma Humano<sup>9, 10</sup>, que está preparando el camino para el descubrimiento de los genes y para una exploración más exhaustiva de las interacciones gen-nutriente o gen-dieta.

El concepto de la interacción gen-dieta describe la modulación del efecto de un componente dietético sobre un fenotipo específico (concentraciones de lípidos en plasma, obesidad, glucemia, etc.) por un polimorfismo genético. En ocasiones, esta noción hace referencia a la modificación dietética del efecto de una variante genética sobre un rasgo fenotípico. En términos de interacciones gen-dieta para las enfermedades comunes multi-



factoriales, el desarrollo más rápido se ha dado en el ámbito del riesgo de ECV, cuyos factores de riesgo se han medido fácilmente (por ejemplo, las concentraciones plasmáticas de colesterol). Algunos ejemplos de interacciones gen-dieta preliminares sobre el metabolismo lipídico fueron revisados y han sido objeto de recientes estudios<sup>11, 12</sup>. Los beneficios potenciales de aprovechar el poder de la genómica para la prevención dietética de las enfermedades son enormes, y éste es el enfoque que se considera de futuro para la investigación nutricional en la era posgenómica<sup>13</sup>. Hoy por hoy, la modificación genética en los humanos ni es técnicamente posible ni está admitida desde el punto de vista ético<sup>14</sup>, así que los genetistas utilizarán su conocimiento basado en la genómica para recomendar cambios del comportamiento personalizados, que deberían suponer una prevención y un tratamiento de la enfermedad más eficaces.

La revolución genómica ha catapultado el desarrollo de diferentes nuevas tecnologías que pueden ser aplicadas a las ciencias nutricionales. Las técnicas genómica, proteómica, metabonómica y bioinformática ya están comenzando a despuntar para facilitar el estudio de las interacciones gen-nutriente a nivel celular, personal y poblacional. En la era posgenómica, las tecnologías tradicionales de secuenciación del ADN y de genotipado serán sustituidas por nuevos enfoques que utilicen secuencias de ADN y otras técnicas de alto rendimiento<sup>15</sup>. La transcriptómica es hoy posible mediante la utilización de microsecuencias que pueden perfilar las pautas de expresión génica de miles de genes, o incluso del

genoma entero en un solo experimento. La proteómica permite actualmente a los genetistas estudiar el cultivo completo de proteínas de una célula o tejido, en cualquier momento dado, y esto les permitirá determinar el papel de las proteínas dentro de las células, e incluso el papel de las moléculas con las que ellas interactúan. Por último, la metabonómica facilitará la investigación de las vías metabólicas, utilizando biomarcadores no invasivos. Todas estas técnicas pueden y deberían combinarse para llegar a comprender la influencia de los nutrientes específicos y de las pautas dietéticas completas sobre el comportamiento metabólico de las células, los órganos y el organismo entero<sup>16</sup>.

Este reto puede ser abordado utilizando la bioinformática y la quimiométrica, que proporcionan las herramientas para el manejo de las complejas estructuras de datos proporcionados por la genómica, la transcriptómica, la proteómica y la metabonómica, y constituyen lo que conocemos como genómica funcional, también llamada biología de sistemas<sup>5</sup>. El desarrollo de la biología de sistemas transformó el concepto de la interacción gen-nutriente, convirtiendo el enfoque que antes se basaba en el reduccionismo tradicional, para estudiar el efecto de un nutriente sobre un evento metabólico concreto, en un enfoque holístico, mediante el que una fracción significativa de todos los genes y metabolitos regulados puede cuantificarse de manera concurrente. Desde el punto de vista holístico, el todo es la interacción dinámica de todas las partes. Según Hoffmann<sup>17</sup>, estos objetivos pueden cumplirse si los científicos tienen: a) conocimiento de



las partes (nutrientes, alimentos y pautas dietéticas); b) información válida: un adecuado diseño experimental, evaluaciones dietéticas y métodos estadísticos; c) herramientas para estudiar y visualizar modelos e interacciones más complejos, y d) una gran potencia informática para integrar la información, y en caso de que se adopte un enfoque interdisciplinar, a través de la transgresión de los límites entre y más allá de las disciplinas y de las instituciones.

Propulsada por estos paradigmas y tecnologías, la ciencia nutricional ha acuñado el nuevo, y todavía indefinido, término de “genómica nutricional” o “nutrigenómica”. Una de las primeras referencias a este término en la literatura científica fue la de DellaPenna<sup>18</sup>, en 1999, quien define la genómica nutricional como el enfoque general al descubrimiento génico que es, a día de hoy, más aplicable a los compuestos de importancia nutricional que son sintetizados o acumulados por las plantas y otros organismos. Esta definición, que describe la investigación en la interfaz de la bioquímica vegetal, la genómica y la nutrición humana, tiene el objetivo concreto de diseccionar y manipular las vías metabólicas en los vegetales, con objeto de mejorar las cualidades nutricionales de los cultivos en pro de la salud humana. Dos años después, Watkins et al.<sup>19</sup> incorporaron el concepto de variación genética individual en la agricultura, sugiriendo que la nutrición personalizada podría definir el valor añadido de la próxima generación de alimentos y cultivos. Hoy en día, el desarrollo de nuevos alimentos es una de las muchas aplicaciones de la genómica nutricional

bajo el paraguas de su objetivo general, que es el de estudiar las influencias de la nutrición sobre todo el genoma. Por ello, la genómica nutricional representa la aplicación de la biología de sistemas a la investigación nutricional<sup>5</sup> y promueve una mayor comprensión de: a) cómo la nutrición influye en las vías metabólicas y en el control homeostático, b) cómo esta regulación se ve alterada en la fase temprana de una enfermedad relacionada con la dieta, y c) hasta qué punto los genotipos individuales sensibilizadores contribuyen a tal enfermedad<sup>20</sup>.

Comenzaremos revisando el estado actual de nuestros conocimientos sobre nutrigenómica a nivel de poblaciones. Como la principal limitación de la genómica nutricional es la falta de estudios epidemiológicos bien diseñados y adecuadamente llevados a cabo, lo que más se pone de relieve es la aplicación de los principios epidemiológicos al estudio de la genómica nutricional, no sólo para interpretar los resultados de los estudios publicados, sino también para proporcionar una guía para el diseño de nuevas investigaciones en esta área.

## Aspectos metodológicos

La genómica nutricional es un concepto que podría revolucionar la prevención y el tratamiento de la enfermedad. Como se ha indicado anteriormente, uno de los objetivos de la genómica nutricional es el de encontrar polimorfismos genéticos que revelen una significativa interacción gen-dieta, que a su vez



nos proporcionen herramientas para establecer unas recomendaciones más personalizadas y exitosas. Los investigadores académicos, el público y la industria muestran mucho interés por este cada vez más popular asunto. Sin embargo, antes de que estas herramientas puedan ser aplicadas a la población, tienen que ser validadas por datos científicos sólidos. Por desgracia, los resultados de la mayoría de los estudios preliminares que abordaban las interacciones gen-nutrientes en las enfermedades multifactoriales raramente han tenido su réplica en estudios de seguimiento, y esto ha empezado a dividir a la comunidad científica entre los que creen que la genómica nutricional puede aportar los beneficios prometidos a nuestro futuro y los que expresan preocupación o incredulidad. Para eliminar, o al menos minimizar, los efectos adversos sobre la confianza tanto de la comunidad científica como del público, que la actual confusión podría ocasionar, se debe comprender cuáles son los puntos fuertes y las limitaciones de los datos publicados. Por ello, sería útil aplicar los principios de la medicina basada en la evidencia y de la epidemiología<sup>6</sup> a la genómica nutricional cuando la causalidad se deduce a partir de los resultados de estudios de asociación.

En las últimas décadas se ha registrado un gran cambio en la investigación nutricional: del enfoque preventivo de las deficiencias nutricionales se ha pasado al de la prevención de las enfermedades crónicas. Este cambio ha otorgado a la epidemiología tradicional el papel crucial de proporcionar pruebas sustanciales en las que apoyar las reco-

mendaciones sanitarias generales, o las recomendaciones específicas para grupos seleccionados; el último es un objetivo de la genómica nutricional. Por razones éticas se requiere un alto grado de evidencia de causalidad para los resultados generados a partir de estudios epidemiológicos antes de su traducción en recomendaciones públicas. El mismo poder probatorio debería exigirse en el campo de la genómica nutricional cuando los resultados se utilizan para establecer recomendaciones nutricionales. A continuación, haremos un repaso de los puntos clave de la causalidad, los criterios causales, y los tipos de estudios epidemiológicos, inferencias estadísticas y errores epidemiológicos.

#### **La causalidad en nutrigenómica: tipos de estudios y errores**

Es importante recordar que las asociaciones estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) no implican causalidad. El concepto de causalidad en la genómica nutricional puede ser contemplado desde diferentes perspectivas. La más pragmática hace referencia a la “carga probatoria” que se necesita para determinar que un componente dietético o una pauta nutricional sean la causa de una enfermedad; por ejemplo, cuántas pruebas deberían recogerse antes de que se justifique una acción clínica. En general, está bien aceptado que cuando se interpretan estudios epidemiológicos ninguno de ellos por separado puede ser considerado como prueba definitiva de causalidad<sup>21</sup>.



Además, en los años sesenta ya se establecieron varios principios de causalidad que pueden ser adaptados para estudios de interacción y asociación presentes y futuros. Estos criterios incluyen el de consistencia y fuerza de la asociación, así como la respuesta posológica y la plausibilidad biológica. La consistencia es una de las medidas más a menudo utilizadas al establecer la inferencia causal, y representa el grado hasta el que la asociación es observada bajo, por y en diferentes circunstancias, investigadores, diseños de estudio y localizaciones. La consistencia es equivalente a la réplica<sup>23</sup>. En términos de fuerza asociativa, Gill<sup>22</sup> expuso que las relaciones causales son más proclives a poner de manifiesto asociaciones fuertes que las relaciones no causales. En cualquier caso, no deberíamos suponer que una asociación fuerte indica por sí misma causalidad, porque la presencia de otros elementos de confusión puede conducir de manera errónea a una asociación fuerte. La relación posología-respuesta entre la exposición y el resultado proporciona pruebas de relación causal.

La plausibilidad o coherencia biológica es el grado en el que una asociación observada en el marco de estudios epidemiológicos viene apoyada (o no) por lo que conocemos sobre el mecanismo de acción y el proceso que subyace a la enfermedad. Otros criterios relevantes de causalidad son la temporalidad y las pruebas experimentales. Se ha considerado que la temporalidad es una *conditio sine qua non* para la causalidad. Para que una exposición sea causal, su presencia debe preceder al desarrollo del resultado. Por lo que res-

pecta a la prueba experimental, debería obtenerse a partir de estudios bien controlados, y especialmente de ensayos aleatorios controlados. Este tipo de estudios puede apoyar la causalidad al demostrar que “alterando la causa se altera el efecto”<sup>22</sup>. Sin embargo, las limitaciones éticas y económicas a menudo restringen la investigación epidemiológica y nos abocan a la práctica de estudios no experimentales.

En los diseños experimentales, las condiciones de estudio, incluido el grado de exposición del sujeto, son directamente controladas por los investigadores. Este control minimiza la posibilidad de confusión, un tipo de error que puede falsear los resultados y que se da con frecuencia en los estudios no experimentales (estudios observacionales). Así, los estudios epidemiológicos se clasifican, en primer lugar, de acuerdo a su grado de experimentación, y en segundo, de acuerdo a otras características (véase sujetos, selección y seguimiento): a) estudios observacionales (ecológicos, transversales, caso-control y estudios de cohorte), y b) estudios experimentales (ensayos clínicos y comunitarios). El último grupo tiene el grado más alto de prueba de causalidad, obtenida a partir de ensayos de tratamiento aleatorios controlados<sup>24</sup>.

En la epidemiología nutricional, el análisis ecológico (la unidad de análisis es el grupo) ha proporcionado resultados iniciales sobre la asociación entre el consumo de grasa y el cáncer; sin embargo, la falacia ecológica es la principal limitación de estos estudios. En los estudios transversales, la exposición y la en-



fermedad se evalúan concurrentemente en los individuos seleccionados entre una población determinada. En los estudios caso-control, la información sobre la dieta se obtiene a partir de pacientes que sufren la enfermedad y se compara con los controles.

Este diseño proporciona información de manera más rápida que los estudios de cohorte, pero es retrospectivo y está sujeto a un alto grado de error. Los estudios de cohorte prospectivos conforman el mejor diseño observacional. En este tipo de estudio, los genetistas identifican a un grupo de individuos y miden su grado de exposición a los factores dietéticos y a otros factores de riesgo notable.

La evaluación de las exposiciones a la dieta puede incluir tanto las prácticas dietéticas pasadas como las presentes. Estos individuos son, entonces, sometidos a un seguimiento que perdura en el tiempo para identificar a los que de entre ellos desarrollan la enfermedad; las exposiciones medidas se utilizan para determinar los elementos predictivos del riesgo de enfermedad<sup>21, 25</sup>. En la genómica nutricional se pueden medir las interacciones gen-nutriente utilizando cualquier tipo de estudio de asociación en el que el genotipo individual de un participante puede ser determinado<sup>26</sup>. Este procedimiento, a través del cual se obtienen los datos genotípicos, es referido como “enfoque genotípico medido”, y ha sido siempre vinculado a la epidemiología molecular. En cualquier caso, la epidemiología genética, a través de estudios de segregación, estudiaba las interacciones gen-dieta por el “enfoque genotípico no medido”. Este enfoque se basa en el análisis estadístico de la

distribución de fenotipos en las personas y sus familias y no en ninguna medida directa de variación del ADN.

A día de hoy, el enfoque genotípico medido es el método estandarizado para detectar las interacciones gen-nutriente. Estos estudios requieren muestras más grandes, con objeto de minimizar los errores aleatorios (tipo I y tipo II), que los estudios de asociación tradicionales. Para una revisión más detallada de los errores aleatorios de confusión y de las limitaciones de estos estudios, véase el reciente trabajo de Fraser<sup>27</sup>. Por último, se ha propuesto el metaanálisis como alternativa potencialmente viable<sup>28</sup> para evaluar la replicación de los estudios y para obviar los problemas que suponen las muestras más pequeñas.

### Valoración dietética

La evaluación dietética desempeña un papel crucial, que se vincula directamente a nuestra capacidad para detectar relaciones entre la exposición dietética y la causación de la enfermedad. Por tanto, una información dietética de gran calidad es la clave para establecer la causalidad en genómica nutricional. La mejor estrategia que se puede adoptar para determinar cuál es la verdadera ingesta dietética se halla en el contexto de los estudios de tratamiento dietético prospectivos, llevados a cabo en condiciones altamente controladas. Sin embargo, estos estudios dietéticos bien controlados se han encontrado con bastantes e importantes limitaciones lo-



gísticas<sup>29</sup>, entre ellas su coste, el pequeño número de participantes y la breve duración de los tratamientos. Por ello, una parte considerable de nuestros conocimientos que relacionan la ingesta dietética con los fenotipos y el riesgo de enfermedad deriva de estudios poblacionales que utilizan, en su mayor parte, cuestionarios dietéticos autoinformados. Los registros dietéticos, los cuestionarios relacionados con la historia dietética, los registros de 24 horas, o los cuestionarios de frecuencia dietética (CFD) son los métodos más habituales para determinar ingestas dietéticas individuales<sup>30</sup>. Cada método tiene sus puntos fuertes y débiles. Por ejemplo, debido a la gran cantidad de variaciones de la ingesta dietética que se dan para cada persona o en el día a día, un registro de 24 horas o un registro dietético no se consideran una estimación válida de la ingesta habitual de un individuo. Hasta la fecha, el CFD es el método de evaluación dietética más a menudo utilizado en los estudios a gran escala, principalmente porque es fácil de administrar y menos costoso que otros métodos de evaluación dietética, y porque proporciona una estimación rápida de la ingesta habitual. En cualquier caso, estudios recientes destacan la baja correlación de este método con otros que utilizan medidas de la ingesta más directas, tales como las que miden biomarcadores relevantes<sup>31</sup>, las que analizan químicamente la verdadera ingesta a través de estudios metabólicos<sup>32</sup>, y las que hacen uso de registros dietéticos<sup>33</sup>. Esta información sugiere que el impacto del error en la medición que presentan algunos instrumentos de evaluación dietética sobre la inter-

pretación de los estudios nutricionales podría ser mucho mayor de lo que previamente se había estimado. Pero la influencia de estos errores depende del diseño epidemiológico específico y de su correspondiente hipótesis. Por esto, es fundamental demostrar la reproducibilidad y la validez de cualquier cuestionario antes de que se aplique a un nuevo estudio. Recientemente, algunos estudios han empezado a poner en práctica el procedimiento de calibración<sup>34</sup>. La calibración regresiva es una nueva técnica que utiliza un subestudio de calibración para proporcionar información sobre los errores y corregir los resultados del estudio principal. Corrige los sesgos de dilución de la atenuación y la regresión en estimaciones de riesgo relativo, dependiendo de la correlación del CFD con diferentes métodos complementarios para medir la verdadera ingesta dietética<sup>27</sup>.

Hay cuestiones importantes relativas a los estudios de epidemiología nutricional relacionados con la genómica nutricional: ¿Qué tipo de información dietética es más relevante? ¿Deberíamos seguir pautas alimenticias nutritivas o dietéticas? Los alimentos son directamente medidos a través de un instrumento dietético. Inversamente, los nutrientes son examinados a partir de cálculos derivados de las bases de datos alimenticias. Por ello, se necesitan bases de datos de composición alimenticia adecuadas, con datos nutritivos válidos, para convertir la información sobre la ingesta dietética en datos sobre la ingesta nutritiva<sup>35</sup>. Los métodos de preparación de los alimentos y la forma de cocinarlos pueden afectar de manera importante al contenido



nutritivo final de los alimentos. Los preparados alimenticios contienen miles de compuestos químicos específicos, algunos conocidos y bien cuantificados, otros pobremente descritos, y otros que están sujetos a la variabilidad geográfica y estacional o están todavía por definir. Por todo ello, al margen del concepto tradicional de nutriente (una sustancia química obtenida a partir de los alimentos y que el organismo necesita para el crecimiento, el mantenimiento, y la reparación tisular), los alimentos contienen también compuestos “no nutritivos” pero sí bioactivos, como las sustancias fitoquímicas naturales (flavonoides, isoflavonas, carotenoides, etc.) aditivos, toxinas y sustancias químicas producidas durante el procesamiento y preparado culinario de los alimentos<sup>36</sup>. Si la dieta se describe únicamente en términos de nutrientes o componentes alimenticios, es posible que se pierda importante información escondida tras componentes alimenticios menos conocidos. Teniendo en cuenta el creciente conocimiento sobre el papel que desempeñan los nutrientes y los componentes bioactivos en la expresión génica y la respuesta celular, la genómica nutricional necesita una nueva definición de nutriente. Young<sup>37</sup> definió el nutriente en la era posgenómica como “un constituyente de la dieta completamente caracterizado (físico, químico o fisiológico), natural o diseñado, que sirve como importante sustrato energético o precursor de la síntesis de macromoléculas o de otros componentes necesarios para la correcta diferenciación, el correcto crecimiento, la renovación, reparación, defensa y/o mantenimiento celular; o una molécula de se-

ñalización necesaria, cofactor o elemento determinante de la estructura/función molecular normal y/o un promotor de la integridad celular y orgánica”.

Sin embargo, describir la dieta en términos de alimentos o grupos de alimentos podría conducirnos a nuevas hipótesis que permitan el descubrimiento de efectos asociados a un compuesto químico en particular. El estudio de las pautas dietéticas se ha llevado a cabo mediante los análisis de compuestos principales, los análisis agrupados, y otras técnicas. Jacobs et al.<sup>38</sup> propusieron la metodología de investigación complementaria, por la que el estudio de los alimentos, de las pautas alimentarias y de los nutrientes individuales de los componentes alimentarios son considerados de manera conjunta. Este enfoque integrador podría ser de utilidad en genómica nutricional y está siendo usado a día de hoy en estudios que todavía no han concluido, entre ellos el Framingham Heart Study, en el que la ingesta dietética se mide en términos de alimentos, nutrientes y pautas dietéticas, para explorar la influencia de la dieta y la posible modulación genética en el síndrome metabólico y en la ECV. Este enfoque integrador de la evaluación dietética puede mejorarse todavía más midiendo algunos indicadores bioquímicos para representar las medidas más objetivas de ingesta dietética para nutrientes concretos<sup>39</sup>. Estos biomarcadores de la ingesta dietética consisten en determinaciones bioquímicas en la sangre, la orina, la grasa u otros tejidos de compuestos que están relacionados con la ingesta de determinados componentes alimenticios<sup>40</sup>. Sin



embargo, todavía no disponemos de biomarcadores de nutrientes importantes.

Las actuales limitaciones podrían resolverse de manera satisfactoria con la incorporación de nuevas técnicas analíticas y bioinformáticas. Uno de los objetivos de la genómica nutricional es identificar los marcadores que proporcionarán una mejor orientación en el estudio de la relación entre la nutrición y la salud. Por este motivo, la aplicación de la biología de sistemas a la genómica nutricional nos ofrecerá interesantes oportunidades para construir el conocimiento necesario. La biología de sistemas facilitará el diálogo transversal entre diferentes disciplinas y tipos de experiencia en orden a crear modelos que integrarán la información sobre la ingesta, los polimorfismos génicos, la expresión génica, los fenotipos, las enfermedades, los biomarcadores de efecto y los biomarcadores de susceptibilidad.

### **Genotipado y medidas de control de calidad**

Los estudios de genómica nutricional deben contar con adecuadas mediciones de la dieta lo mismo que con un buen control de calidad de las determinaciones genéticas. Recientemente, Little et al.<sup>41</sup> propusieron un listado de control para los estudios de comunicación y obtención de datos sobre la prevalencia genotípica y sobre las asociaciones gen-enfermedad, centrándose en la determinación del diseño de estudio, la selección de los participantes en el estudio, y la anotación de las características de estos suje-

tos (área geográfica, género, edad, exposiciones ambientales, momento de inclusión, validez analítica del genotipado, estratificación de la población, y elementos de confusión y estadísticos). Los autores destacan que un reciente informe sobre 40 estudios en los que se utilizaron técnicas de genética molecular puso de manifiesto la necesidad de establecer estándares universales de control de calidad. Con la aplicación de métodos de alto rendimiento, parte de los cuales están en desarrollo, los procedimientos de control de calidad son particularmente importantes en el ámbito del laboratorio. Hacer una mala clasificación del genotipo (por ejemplo, que un conjunto de datos sea reproducible en menos de un 95%) puede sesgar la medida de asociación entre el genotipo y la enfermedad y afectar ampliamente a las interacciones gen-nutriente. Las medidas de control de calidad, entre ellas la validación interna, el método a ciegas, los duplicados, la tasa de error de los exámenes, la inspección de si las frecuencias genotípicas están conformes al equilibrio de Hardy-Weinberg, y la entrada de datos ciegos, deben ser referidas en la sección metodológica. Otro avance es el uso de haplotipos<sup>42</sup>, en lugar de polimorfismos individuales, para el análisis genómico. Se han desarrollado varios algoritmos estadísticos para estimar los haplotipos de los datos genotípicos. A causa de que estos métodos estadísticos se utilizan generalmente con individuos no relacionados, tales datos consisten en genotipos no fásicos que dan como resultado ambigüedad haplotípica y contienen diferentes resultados<sup>43</sup>.



Por todo ello, se necesitará una estandarización adecuada para llevar a cabo comparaciones válidas a través de diferentes estudios que impliquen el análisis haplotípico y la genómica nutricional. Una preocupación similar tiene que ver con el uso de microsecuencias en nutrigenómica. En cualquier caso, ponemos de relieve la necesidad de estandarización, de control de la calidad de los datos, y del análisis de los datos para generar información válida y comparable. Page et al.<sup>44</sup> y Potter<sup>45</sup> revisaron los aspectos cruciales de la experimentación con microsecuencias en nutrigenómica, que debe ser considerada antes y en el transcurso de la investigación, incluyendo el diseño experimental, el tamaño de la muestra, el análisis estadístico, la verificación de datos, el manejo de los datos y la interpretación experimental. La creciente disponibilidad de las técnicas genómicas, transcriptómicas, proteómicas y metabonómicas promoverá su aplicación en la genómica nutricional, pero la complejidad y cantidad de la información generada por estos enfoques, y la necesidad de compartir bases de datos entre múltiples investigadores, requerirá la implementación de medidas de control de la calidad y de validación mucho más complejas que las utilizadas a día de hoy en la investigación nutricional convencional.

### **Las interacciones gen-nutriente en la salud y en la enfermedad**

Tratamos de resumir aquí la evidencia actualmente disponible sobre el papel de las in-

teracciones gen-nutriente en la enfermedad humana. Las pruebas en lo que respecta a enfermedades monogénicas son mucho más convincentes que las relativas a enfermedades multifactoriales. Sin embargo, a pesar del limitado número de estudios y de los defectos de sus diseños experimentales, las pruebas preliminares sobre las interacciones gen-dieta para la ECV y el cáncer son igualmente reveladoras y prometedoras, y ya se ha anticipado que en el curso de esta década conseguiremos el grado más alto de evidencia. Actualmente, esta área de investigación está centrada, en primer lugar, en identificar los genes responsables de estos efectos interactivos y, en segundo lugar, en caracterizar los mecanismos responsables de las interacciones gen-nutriente.

### **Grados de interacción**

Como se ha indicado anteriormente, es importante considerar la naturaleza dinámica de estas interacciones a lo largo de la vida. En primer lugar, el desarrollo del feto y las condiciones "*in utero*" serían esenciales para producir las primeras interacciones gen-nutriente. En segundo lugar, en algunos casos, como en los de defectos metabólicos congénitos, la nutrición en los primeros años de vida es un determinante clave del estado de salud o de enfermedad. En tercer lugar, en el caso de las enfermedades multifactoriales, como la arteriosclerosis y el cáncer, sería necesario un largo período de exposición a las mismas pautas dietéticas para desarrollar este fenotipo de enfermedad<sup>46</sup>.



El ambiente hormonal podría ser también un determinante esencial de la interacción, y esto es especialmente importante para la salud de la mujer, y podría ser la base de unas futuras recomendaciones específicas según la edad y el sexo, basadas en su composición genética.

### **Enfermedades monogénicas frente a enfermedades multifactoriales**

Tradicionalmente, las enfermedades han sido clasificadas como monogénicas, cuando están determinadas por un solo gen, o como multifactoriales, cuando su expresión está determinada por una combinación de varios genes y otros factores no genéticos. En cualquier caso, esta clasificación es una simplificación excesiva, y estamos lejos de tener una comprensión plena de la realidad. Esto lo evidencia la enorme diversidad fenotípica de las así llamadas enfermedades monogénicas clásicas, que reflejan la heterogeneidad de las mutaciones en el locus principal, la acción de algunos modificadores secundarios y terciarios, y la influencia de un gran abanico de factores ambientales. Por ello, la mayoría de los rasgos monogénicos están compartidos con los encontrados en las enfermedades multifactoriales.

La dieta puede ser el factor ambiental modulador de los fenotipos, tanto para las enfermedades monogénicas como para las multifactoriales. La genómica nutricional proporciona las herramientas y la evidencia para modular la expresión fenotípica de estas enfermedades. Desde un punto de vista pragmático, los objetivos de la genómica nutricional podrían ser de cum-

plimiento más fácil en las enfermedades monogénicas que en las poligénicas. Por esto, la comprensión de las interacciones genéticas que determinan el fenotipo de las enfermedades monogénicas tradicionales debería ayudarnos a ganar terreno en el campo de las interacciones más complejas entre varios genes y factores ambientales implicados en la expresión fenotípica de enfermedades multifactoriales.

### **Nutrigenómica y enfermedades monogénicas**

El concepto clásico de las enfermedades monogénicas es, muy probablemente, una simplificación de la realidad biológica. En primer lugar, porque alguna de ellas implica a más de un gen y, en segundo lugar, porque puede haber influencias ambientales que modulen, de forma significativa, la expresión del fenotipo. Sin embargo, desde un punto de vista didáctico, es conveniente mantener este concepto.

La dieta tiene un papel determinante en el fenotipo final de enfermedades como la fenilcetonuria, la galactosemia, la intolerancia a la lactosa, la enfermedad celíaca y la hipercolesterolemia familiar. Por ello, las modificaciones dietéticas se han usado, desde tiempos remotos, para prevenir el desarrollo de estas enfermedades. Conviene aclarar que, si bien el componente genético de estas enfermedades está ampliamente reconocido, en alguna de ellas, ni el gen responsable ni sus mutaciones han sido caracterizados todavía. Pero, indiscutiblemente, la dieta influye de forma muy importante sobre la expresión fenotípica



de todas ellas. Queda fuera de los objetivos de esta monografía la exposición detallada de cada uno de estos procesos, de manera que nos limitaremos a hacer una sucinta relación de las interacciones gen-dieta en la hipercolesterolemia familiar, dada su relevancia para las enfermedades cardiovasculares, a las que dedicamos otro capítulo.

### Hipercolesterolemia familiar

La hipercolesterolemia familiar (HF) es un trastorno autosómico dominante del metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) muy frecuente, y constituye un buen ejemplo de cómo la dieta y otros factores ambientales influyen sobre la expresión de una enfermedad monogénica. Está causada por múltiples mutaciones en el gen que codifica el receptor de las lipoproteínas de baja densidad (LDLR), localizado en el cromosoma 19. Como consecuencia de dichas mutaciones, hay un número anormalmente reducido (heterocigotos, 1 por cada 500 habitantes) o ausencia total (homocigotos, 1 por millón de habitantes) de receptores LDL, con la consiguiente elevación de las concentraciones plasmáticas del colesterol transportado por las LDL (LDL-C)<sup>47</sup>.

La principal manifestación clínica de la HF es la arteriosclerosis prematura y acelerada, que se traduce en una alta incidencia de enfermedades cardiovasculares, especialmente cardiopatía isquémica (CI). El 75% de los varones HF no tratados padecen CI antes de los 60 años de edad (12). La edad media de apa-

rición de CI en los varones HF es de entre 40 y 45 años; en el caso de las mujeres, es una década más tarde.

Aunque la HF es monogénica, la expresión fenotípica varía considerablemente en términos de aparición y gravedad de la enfermedad aterosclerótica. Una explicación para ello es que esta variabilidad puede deberse a la gravedad del defecto específico dentro del gen LDLR que codifica el receptor LDL. Se piensa que la clase de mutación del LDLR puede influir en la expresión fenotípica de la enfermedad. De hecho, los efectos del tipo de mutación sobre las concentraciones plasmáticas de LDL-C han sido ampliamente estudiados<sup>48, 49, 50</sup>. Un resultado interesante ha sido constatar que la presentación y manifestaciones clínicas de la HF difieren significativamente incluso entre los individuos que comparten un mismo tipo de mutación del LDLR<sup>51</sup>. Cabe pensar, por tanto, en la existencia de otros factores que influyen en el curso de la HF y son responsables de las variaciones en la expresión del fenotipo. En apoyo de esta idea, algunos estudios han demostrado que, a partir de los 70 años, el exceso de riesgo cardiovascular de los sujetos con HF disminuye y se acerca al de la población general de la misma edad<sup>52</sup>. Este hecho sugiere que existe una supervivencia seleccionada y que los sujetos HF más susceptibles a los estragos cardiovasculares del impacto genético son los que mueren a edades tempranas. Todo ello sugiere que existen interacciones gen-ambiente (dieta) y gen-gen que protegen frente a la aterosclerosis prematura a los sujetos HF menos susceptibles. Hay numerosos



datos de estudios llevados a cabo en Estados Unidos<sup>53</sup>, Europa<sup>51</sup> y Asia<sup>54, 55</sup> que apoyan esta teoría.

Por razones de espacio, comentaremos solamente los estudios llevados a cabo en población asiática<sup>54, 55</sup>. Los HF heterocigotos en China no suelen tener concentraciones plasmáticas de LDL-C tan elevadas como los de los países occidentales, lo que en principio podría interpretarse como debido a que las mutaciones del LDLR en China son menos graves que las halladas en otros grupos étnicos. No parece, sin embargo, que sea ésta la explicación, ya que muchas de las mutaciones identificadas en China dan lugar a un fenotipo con ausencia total del receptor LDL. Cabe pensar que la falta de expresión clínica en los chinos heterocigotos HF, con un estilo de vida tradicional, no se deba a mutaciones leves en el LDLR sino a factores ambientales como la dieta.

En Canadá, Pimstone et al. analizaron esta hipótesis sobre los heterocigotos HF chinos que vivían en Canadá, que fueron monitorizados para observar las mutaciones que habían sido previamente descritas en pacientes HF que vivían en China<sup>54</sup>. Estos investigadores encontraron concentraciones de colesterol LDL significativamente más altas en los heterocigotos HF con determinadas mutaciones que vivían en Canadá, que en los que vivían en China. Alrededor del 40% de los heterocigotos HF que residían en Canadá presentaban xantomas tendinosos y un 25% tenía una historia de coronariopatía prematura, mientras que ninguno de los que vivía en China presentaba ninguna de las dos cosas.

Por ello, los heterocigotos HF chinos residentes en Canadá mostraban un fenotipo similar al de otros pacientes HF pertenecientes a sociedades occidentales. La diferencia entre los pacientes que vivían en Canadá y los que vivían en China podría obedecer a las diferencias en el consumo de grasa y en la actividad física, lo que de nuevo pone de manifiesto que los factores ambientales como la dieta desempeñan un importante papel en la modulación del fenotipo de los heterocigotos HF.

En resumen, los pacientes con HF tienen un mayor riesgo de ECV; este riesgo podría ser alrededor de 100 veces mayor, ya al comienzo de la vida, que el de los individuos normales. Los factores más importantes que pueden determinar los eventos graves y prematuros son la edad, el sexo, las concentraciones de colesterol LDL y una historia familiar positiva de aterosclerosis prematura. En cualquier caso, el fenotipo clínico es altamente modificable por los factores ambientales, el tipo de mutación del receptor de LDL y la herencia de otros factores genéticos. La variabilidad del fenotipo clínico del HF demuestra que los factores ambientales y genéticos desempeñan papeles igualmente importantes, incluso en las enfermedades monogénicas comunes. Por ello, la HF proporciona un excelente modelo para estudios futuros sobre las complejas interacciones gen-gen y gen-ambiente. Además, hay otros casos en los que la predisposición monogénica a la CHD está influida por el ambiente<sup>56</sup>. Esta suma de evidencias proporciona una fuerte base para proponer que el efecto del ambiente debería ser incluso mayor en sujetos cuyos factores



de riesgo fenotípico y/o predisposición a la enfermedad obedezcan a la combinación de pequeñas contribuciones derivadas de varios factores genéticos y no genéticos, como frecuentemente ocurre en algunas enfermedades crónicas.

### **Interacciones gen-dieta en las enfermedades crónicas multifactoriales relacionadas con la edad**

Las enfermedades multifactoriales como la ECV, el cáncer, la osteoporosis y las enfermedades neurológicas se asocian habitualmente al proceso de envejecimiento. Por ello constituyen el mayor problema sanitario en un mundo en el que la población está haciéndose mayor. Alrededor de un 19% de las personas en los países desarrollados tienen más de 60 años, mientras que 50 años atrás esta cifra era de sólo un 8%, y las predicciones actuales estiman que hacia el año 2050 la población que sobrepase los 60 años de edad será más del doble de la actual<sup>57</sup>.

Se considera que el declive fisiológico es el camino normal hacia la vejez. Sin embargo, la cada vez mayor fragilidad a la que llamamos senescencia podría no ser el destino obligado del ser humano envejecido<sup>58</sup>.

Aunque es una utopía la completa eliminación del declive relacionado con la edad, esperamos realizar importantes esfuerzos para reducir la distancia entre el envejecimiento “normal” y el ideal. Para conseguirlo, se han de tomar medidas a edades tempranas, y deben aportarse sólidas pruebas cien-

tíficas que apoyen estas acciones. Pocas dudas caben sobre que el mejor enfoque para conseguir el objetivo del envejecimiento saludable es la prevención de la enfermedad, que para una vasta proporción de la población podría conseguirse con unos cambios dietéticos y otros relacionados con el comportamiento.

En otros capítulos de esta monografía se abordan específicamente los temas que relacionan la nutrigenómica con el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y el síndrome metabólico. Nos limitaremos, para concluir este capítulo a un breve comentario sobre las conclusiones alcanzadas en la conferencia titulada “Nutritional Genomics and Proteomics in Cancer Prevention”, celebrada en septiembre de 2002, y en la que se propusieron algunas directrices generales para futuras investigaciones en el campo de la genómica nutricional del cáncer. Como recapituló Milner<sup>74</sup>, las principales necesidades de investigación reconocidas por el panel de participantes fueron: a) la identificación y validación de los biomarcadores para el cáncer; b) la investigación de la relación expositivo-temporal entre los nutrientes (componentes alimenticios bioactivos) y la prevención del cáncer; c) el análisis de una posible especificidad tisular como respuesta a los componentes alimenticios; d) la definición de las interacciones entre los componentes alimenticios en tanto que determinantes de la respuesta; e) los mecanismos de acción (objetivos) de los componentes alimenticios. Para obtener más información sobre los resultados de la conferencia puede consultarse [www3.cancer.gov/pre-](http://www3.cancer.gov/pre-)



**TABLA 2. Ejemplos de interacciones gen-dieta en nutrigenómica del cáncer**

**1. Interacción entre variaciones en el gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTFHR) y la ingesta de folatos en el riesgo de cáncer**

La variante C677>T en el gen de la MTFHR se asocia a menor actividad de esta enzima y a mayores concentraciones plasmáticas de homocisteína<sup>75</sup>. Aunque el alelo T se ha asociado por ello a un mayor riesgo cardiovascular, paradójicamente el alelo T se asocia a un menor riesgo de cáncer<sup>76, 77</sup>, posiblemente relacionado con los procesos de metilación del ADN<sup>78</sup>. Además, esta protección sólo se ha visto cuando la ingesta de ácido fólico en los portadores T es normal, de manera que el riesgo aumenta cuando la ingesta de folato es baja. Son varios los estudios epidemiológicos que han replicado estos resultados, sobre todo para el cáncer colorrectal<sup>79, 80</sup>. También se ha descrito de manera constante que el consumo de alcohol incrementaría fuertemente el riesgo de cáncer colorrectal en personas TT con baja ingesta de ácido fólico<sup>77</sup>.

**2. Interacción de la dieta con los genotipos de la N-acetil-transferasa (NAT)**

La NAT es una enzima detoxificadora de metabolitos de carcinógenos de la dieta. Existen dos isoformas, la NAT1 y la NAT2. El polimorfismo NAT2 se asocia a menor capacidad de acetilación y detoxificación<sup>81</sup>. Se han realizado múltiples estudios en distintas localizaciones de cáncer con resultados diversos, si bien existe mayor consistencia en los estudios que relacionan el genotipo NAT2 con un mayor riesgo de cáncer colorrectal sólo si el consumo de carne es elevado<sup>82, 83</sup>.

**3. Interacción de la dieta con los polimorfismos de las glutatión-S-transferasas (GSTs)**

Las GSTs son enzimas citosólicas que intervienen en la detoxificación de carcinógenos. Existen varias clases: alfa (GSTA), pi (GSTP), mu (GSTM) y theta (GSTT), con distintas variantes<sup>84</sup>. En relación con el riesgo de cáncer, los genes más estudiados son GSTM1, GSTT1 y GSTP1, y se ha sugerido que los efectos protectores de un mayor consumo de verduras podrían deberse a una mayor activación de estas enzimas. Existen varios ejemplos de interacciones concretas con alimentos. Así, Lin et al.<sup>85</sup> encontraron una interacción significativa entre la ingesta de crucíferas vegetales y el polimorfismo GSTM1 en el riesgo de cáncer de colon.

[vention/ngpcp2002/index.html](http://vention/ngpcp2002/index.html) y [www3.cancer.gov/prevention/ngpcp2002/index.html](http://www3.cancer.gov/prevention/ngpcp2002/index.html).

Los resultados de estos estudios serán de extrema utilidad para las futuras investigaciones sobre las interacciones gen-nutriente a escala poblacional. Además, durante la última década, algunos estudios han revelado interesantes y prometedoras interacciones gen-nutriente que están sirviendo de orientación a las investigaciones actuales. En la tabla 2 se resumen algunos de los ejemplos más relevantes sobre interacciones gen-dieta en la nutrigenómica del cáncer, ámbito en el que existe un grado de integración de las distintas “ómicas” mayor que en otras discipli-

nas. Además de estos ejemplos, dos excelentes revisiones<sup>11, 74</sup> abordan con detalle los distintos procesos y las diferentes tecnologías que se están aplicando actualmente en la elucidación de los efectos biológicos de los componentes de la dieta sobre la función celular y la expresión génica en la iniciación y progresión tumoral.

## Conclusiones

La genómica nutricional es un área de investigación en rápido desarrollo con un tremendo potencial de aportar resultados que



podrían cambiar la manera en que se establezcan y se lleven a cabo las orientaciones dietéticas y las recomendaciones personales en el futuro. La idea es que la nutrigenética proporcionará la base para unas recomendaciones dietéticas personalizadas basadas en la composición genética de cada individuo y en la información derivada de otros factores ambientales. Esto requerirá, probablemente, asegurarse de manera individual de todos los SNP informativos o, como ya han predicho otros, la completa secuenciación del genoma. Los genetistas utilizarán estos datos para predecir la predisposición genética futura a la enfermedad, y esto guiará la implementación de las medidas preventivas adecuadas. Durante varias décadas ha ido implementándose en muchos países una versión muy simplificada de este concepto.

A través de programas diseñados para detectar defectos metabólicos congénitos, millones de bebés han sido analizados para descartar la presencia de enfermedades monogénicas raras y, sobre la base de esos resultados, muchos de los afectados han sido liberados de las consecuencias a veces letales de su defecto genético. En muchos casos, la solución pasa por algo tan simple como proporcionarles la correcta combinación dietética. Desde un punto de vista genético, todavía queda mucho trabajo por hacer, incluso para los casos de enfermedades relativamente simples, pero existen pruebas excelentes de que la idea funciona.

Desde el punto de vista conceptual, la situación que implica enfermedades multifactoriales es más compleja. Sin embargo, el alcance y la complejidad son muy diferentes; el

objetivo de la nutrigenética es el de detectar la predisposición a todas las enfermedades que tengan un componente genético, y proporcionar las herramientas para su prevención décadas antes de que puedan manifestarse, en lugar de detectar y prevenir las enfermedades monogénicas con una prevalencia muy escasa. Queda todavía por saber si esto es o no factible. Por ahora, este conocimiento se ha desarrollado a partir de múltiples y pequeños estudios de intervención que proporcionan un cuerpo de hallazgos observacionales que, por lo general, muestran poca coherencia. La nutrigenética necesita avanzar junto con la nutrigenómica para traducir los hallazgos observacionales en mecanismos moleculares. Para conseguir estos ambiciosos objetivos, será necesario adoptar estrategias que hagan uso de los hallazgos más sólidos, algunos de los cuales presentamos a continuación.

1. Necesitamos más y mejores fenotipos. Muchos estudios observacionales están basados en una única medida, y la mayoría de los rasgos fenotípicos (por ejemplo concentraciones de lípidos, presión arterial) experimentan una significativa alteración biológica a diario, así como una variación metodológica inherente al instrumento o técnica utilizados para su medición.

La solución es simple pero costosa. Los estudios observacionales y de intervención que tratan de estudiar las interacciones gen-dieta tienen que incluir un muestreo y una medición repetidos para proporcionar una medida precisa de los fenotipos. Necesitamos más biomarcadores informativos; algunos de



ellos pueden derivarse de la investigación en desarrollo en campos como la metabonómica y la lipómica.

2. Además de los fenotipos, hay dos piezas clave obvias de carácter informativo que hay que determinar cuando se examinan las interacciones gen-dieta: la medida precisa de las variantes génicas y de la ingesta dietética. La primera es fácil, aunque históricamente no se haya prestado suficiente atención a los asuntos del control de la calidad en la investigación genética. La evaluación de la ingesta y/o de los hábitos dietéticos es más compleja. Necesitamos bases de datos más completas que reflejen la información actualizada sobre los nutrientes y los preparados alimenticios locales, así como instrumentos que capturen de manera fehaciente los hábitos dietéticos a largo plazo. Éste ha sido el principal talón de Aquiles en la investigación nutricional, especialmente en los estudios observacionales.

3. La mayor parte del esfuerzo está dedicada a identificar las variantes genéticas en el ADN nuclear, pero las mutaciones del ADN mitocondrial pueden también tener un impacto sobre las enfermedades relacionadas con la edad. Otra idea que atrae la atención de muchos investigadores, pero que también añade otra capa de complejidad, es la epigenética, que abarca las sutiles modificaciones del genoma que no alteran su secuencia de ADN. Las modificaciones más conocidas son la metilación del ADN y la remodelación de la cromatina, que son expresiones génicas moduladas a lo largo del genoma y que pueden ser moduladas por los factores dietéticos. Por ello, los estudios sobre la genómica nutricio-

nal no deberían ignorar estos mecanismos potencialmente importantes de regulación de la expresión génica modulada por factores nutricionales.

4. En el pasado, el coste del genotipado suponía una fuerte limitación para la práctica de los estudios genéticos en poblaciones. Con la disponibilidad de técnicas de alto rendimiento y la reducción del coste del genotipado, las limitaciones han desaparecido y hoy es posible fenotipar adecuadamente grandes muestras de población. Para elucidar las interacciones gen-ambiente, y específicamente gen-dieta, necesitamos muestras de población notablemente más grandes que las que se utilizan actualmente en el caso de las enfermedades multifactoriales comunes. Esto requerirá esfuerzos similares a nivel nacional, como los que ya se han llevado a cabo en Islandia y el Reino Unido, y los que están en fase de desarrollo en los Estados Unidos. Una mejor opción sería crear consorcios internacionales contruidos sobre los modelos de los estudios EPIC o del Proyecto del Genoma Humano. Esto no significa que los estudios de menor envergadura no tengan futuro en la genómica nutricional; éstos podrían hacerse a medida para dar respuesta a cuestiones específicas o para generar hipótesis que deban ser examinadas con más detalle en otros estudios.

5. Estos consorcios serán capaces de coordinar los estudios transculturales/étnicos y serán extremadamente útiles a la hora de describir las interacciones gen-ambiente. La hipótesis actual es que el enorme incremento de la morbilidad y de la mortalidad debidas a ECV y a otras enfermedades relacionadas con



la edad, que la población mundial ha estado sufriendo durante los últimos años, se debe en parte a una mayor frecuencia de alelos deletéreos que predisponen a ciertos grupos étnicos a ser especialmente sensibles a la influencia de los factores de riesgo ambientales de ECV, como la dieta y el estilo de vida sedentario. Es por eso que la elucidación de estos marcadores genéticos étnicos específicos será importante para la prevención eficaz de las enfermedades crónicas en los países en los que está produciéndose la adopción de un estilo de vida occidental.

6. Los hallazgos observacionales tendrán que ser sometidos a seguimiento a través de experimentos *in vitro* o *in vivo*, que nos conducirán hasta los mecanismos moleculares responsables de las interacciones observadas. Esto quedará dentro del ámbito de la nutrigenómica e implicará la experimentación *in vitro*, *in vivo* e *in silico*. Todo ello estará envuelto por la idea de la biología de sistemas o de la genómica funcional.

7. Las complejas interacciones fenotípicas y genotípicas requieren un análisis de sus efectos combinados. Las herramientas estadísticas actuales están limitadas en su capacidad para hacer frente a esta complejidad. Por ello, será indispensable desarrollar herramientas estadísticas adecuadas para analizar y comprender los efectos de las variaciones de múltiples genes, en combinación con la información ambiental y fenotípica.

La información tendrá que incorporarse a los modelos predictivos que pueden ser utilizados clínicamente para mejorar la evaluación y la prevención de la enfermedad. Esto

ocurrirá probablemente bajo el paraguas de la bioinformática o de la biología computacional.

En resumen, la genómica nutricional será la fuerza conductora de la investigación nutricional futura, y tiene la capacidad de cambiar la prevención y el tratamiento de la enfermedad mediante la dieta y un enorme impacto sobre la salud pública. Hay que saber, sin embargo, que la complejidad de este conjunto de objetivos de la genómica nutricional es enorme y que su cumplimiento requerirá romper muchos de los moldes de la investigación tradicional y buscar la integración de múltiples disciplinas y la colaboración de los laboratorios entre sí. A pesar de las dificultades descritas, las pruebas preliminares apuntan claramente a que la idea funcionará y a que, utilizando herramientas del comportamiento basadas en la nutrición, seremos capaces de abordar la información contenida en nuestros genomas para conseguir un envejecimiento exitoso.

## Referencias bibliográficas

1. Chavez A, Munoz de Chavez M. 2003. Nutrigenomics in public health nutrition: short-term perspectives. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(Suppl. 1): 97-100.
2. Elliott R, Ong TJ. Nutritional genomics. *Br Med J* 2002; 324: 1438-42.
3. Kritchevsky D. Diet and cancer: what's next? *J Nutr* 2003; 133: 3827S-29S.
4. Trayhurn P. Nutritional genomics - "Nutrigenomics." *Br J Nutr* 2003; 89: 1-2.
5. van Ommen B, Stierum R. Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arena. *Curr Opin Biotechnol* 2002; 13: 517-21.



6. Haga SB, Khoury MJ, Burke W. Genomic profiling to promote a healthy lifestyle: not ready for prime time. *Nat Genet* 2003; 34: 347-50.
7. Holtzman NA. Genetic variation in nutritional requirements and susceptibility to disease: policy implications. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 1510-16.
8. Tired L. Gene-environment interaction: a central concept in multifactorial diseases. *Proc Nutr Soc* 2002; 61: 457-63.
9. Cargill M, Altshuler D, Ireland J, Sklar P, Ardlie K, et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nat Genet* 1999; 22: 231-38.
10. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.
11. Loktionov A. Common gene polymorphisms and nutrition: emerging links with pathogenesis of multifactorial chronic diseases. *J Nutr Biochem* 2003; 14: 426-51.
12. Ordovas JM. Gene-diet interaction and plasma lipid responses to dietary intervention. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 68-73.
13. Mensink RP, Plat J. Post-genomic opportunities for understanding nutrition: the nutritionist's perspective. *Proc Nutr Soc* 2002; 61: 401-4.
14. Guttmacher AE, Collins FS. Welcome to the genomic era. *N Engl J Med* 2003; 349: 996-98.
15. Mooser V, Ordovas JM. Editorial comment: 'Omic' approaches and lipid metabolism: Are these new technologies holding their promises? *Curr Opin Lipidol* 2003; 14: 115-19.
16. Roberts MA, Mutch DM, German JB. Genomics: food and nutrition. *Curr Opin Biotechnol* 2001; 12: 516-22.
17. Hoffmann I. 2003. Transcending reductionism in nutrition research. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 514-16.
18. DellaPenna D. Nutritional genomics: manipulating plant micronutrients to improve human health. *Science* 1999; 285: 375-79.
19. Watkins SM, Hammock BD, Newman JW, German JB. Individual metabolism should guide agriculture toward foods for improved health and nutrition. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 283-86.
20. Muller M, Kersten S. 2003. Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet* 2003; 4: 315-22.
21. Freudenheim JL. Study design and hypothesis testing: issues in the evaluation of evidence from research in nutritional epidemiology. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1315-21.
22. Hill A. The environment and disease: association or causal? *Proc R Soc Med* 1965; 58: 295-300.
23. Weed DL. Interpreting epidemiological evidence: how meta-analysis and causal inference methods are related. *Int J Epidemiol* 2000; 29: 387-90.
24. LeLorier J, Gregoire G, Benhaddad A, Lapierre J, Derderian F. Discrepancies between meta-analyses and subsequent large, randomized, controlled trials. *N Engl J Med* 1997; 337: 536-42.
25. Willett WC. Nutritional epidemiology issues in chronic disease at the turn of the century. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 82-86.
26. Beaty TH, Khoury MJ. Interface of genetics and epidemiology. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 120-25.
27. Fraser GE. A search for truth in dietary epidemiology. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 521S-5S.
28. Bailar JC. The promise and problems of meta-analysis. *N Engl J Med* 1997; 337: 559-61.
29. Most MM, Ershow AG, Clevidence BA. An overview of methodologies, proficiencies, and training resources for controlled feeding studies. *J Am Diet Assoc* 2003; 103: 729-35.
30. Willett W. Nutritional epidemiology: issues and challenges. *Int J Epidemiol* 1987; 16: 312-17.
31. Kipnis V, Subar AF, Midthune D, Freedman LS, Ballard-Barbash R, et al. Structure of dietary measurement error: results of the OPEN biomarker study. *Am J Epidemiol* 2003; 158: 14-21.
32. Schaefer EJ, Augustin JL, Schaefer MM, Rasmussen H, Ordovas JM, et al. Lack of efficacy of a food-frequency questionnaire in assessing dietary macronutrient intakes in subjects consuming diets of known composition. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 746-51.
33. Kipnis V, Midthune D, Freedman L, Bingham S, Day NE, et al. Bias in dietary-report instruments and its implications for nutritional epidemiology. *Public Health Nutr* 2002; 6A: 915-23.
34. Slimani N, Kaaks R, Ferrari P, Casagrande C, Clavel-Chapelon F, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. *Public Health Nutr* 2002; 5: 1125-45.



35. Sempos CT, Liu K, Ernst ND. Food and nutrient exposures: what to consider when evaluating epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1330-38.
36. Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 517S-20S.
37. Young VR. 2001 W.O. Atwater Memorial Lecture and the 2001 ASNS President's Lecture: human nutrient requirements: the challenge of the post-genome era. *J Nutr* 2002; 132: 621-29.
38. Jacobs DR Jr, Steffen LM. Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 508S-13.
39. Bingham SA. Biomarkers in nutritional epidemiology. *Public Health Nutr* 2002; 5: 821-27.
40. Prentice RL, Sugar E, Wang CY, Neuhouser M, Patterson R. Research strategies and the use of nutrient biomarkers in studies of diet and chronic disease. *Public Health Nutr* 2002; 5: 977-84.
41. Little J, Bradley L, Bray MS, Clyne M, Dorman J, et al. Reporting, appraising, and integrating data on genotype prevalence and gene-disease associations. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 300-10.
42. Daly MJ, Rioux JD, Schaffner SF, Hudson TJ, Lander ES. High-resolution haplotype structure in the human genome. *Nat Genet* 2001; 29: 229-32.
43. Stram DO, Leigh Pearce C, Bretsky P, Freedman M, Hirschhorn JN, et al. Modeling and E-M estimation of haplotype-specific relative risks from genotype data for a case-control study of unrelated individuals. *Hum Hered* 2003; 55: 179-90.
44. Page GP, Edwards JW, Barnes S, Weindruch R, Allison DB. A design and statistical perspective on microarray gene expression studies in nutrition: the need for playful creativity and scientific hardmindedness. *Nutrition* 2003; 19: 997-1000.
45. Potter JD. Epidemiology, cancer genetics and microarrays: making correct inferences, using appropriate designs. *Trends Genet* 2003; 19: 690-95.
46. Leong NM, Mignone LI, Newcomb PA, Titus-Ernstoff L, Baron JA, et al. Early life risk factors in cancer: the relation of birth weight to adult obesity. *Int J Cancer* 2003; 103: 789-91.
47. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. En: CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly, D Valle (eds). *The Metabolic Basis of Inherited Disease. 8<sup>th</sup> Edition*. New York: McGraw-Hill, 2001; 2863-2913.
48. Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, et al. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: E41-52.
49. Chaves FJ, Real JT, Garcia-Garcia AB Puig O, Ordovas JM, et al. Large rearrangements of the LDL receptor gene and lipid profile in a FH Spanish population. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 309-17.
50. Durst R, Colombo R, Shpitzen S, Avi LB, Friedlander Y, et al. Recent origin and spread of a common Lithuanian mutation, G197del LDLR, causing familial hypercholesterolemia: positive selection is not always necessary to account for disease incidence among Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1172-88.
51. Sijbrands EJ, Westendorp RG, Defesche JC, de Meier PH, Smelt AH, et al. Mortality over two centuries in large pedigree with familial hypercholesterolaemia: family tree mortality study. *B MJ* 2001; 322: 1019-23.
52. Sijbrands EJ, Westendorp RG, Paola Lombardi M, Havekes LM, et al. Additional risk factors influence excess mortality in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2000; 149: 421-25.
53. Williams RR, Hasstedt SJ, Wilson DE, Ash KO, Yanowitz FF, et al. Evidence that men with familial hypercholesterolemia can avoid early coronary death. An analysis of 77 gene carriers in four Utah pedigrees. *JAMA* 1986; 255: 219-24.
54. Pimstone SN, Sun XM, du Souich C, Frohlich JJ, Hayden MR, et al. Phenotypic variation in heterozygous familial hypercholesterolemia: a comparison of Chinese patients with the same or similar mutations in the LDL receptor gene in China or Canada. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 309-15.
55. Sun XM, Patel DD, Webb JC, Knight BL, Fan LM, et al. Familial hypercholesterolemia in China. Identification of mutations in the LDL-receptor gene that result in a receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 85-94.
56. Hegele RA. 2002. Environmental modulation of atherosclerosis end points in familial hypercholesterolemia. *Atheroscler Suppl* 2002; 2: 5-7.



57. Tinker A. The social implications of an ageing population. *Mech Ageing Dev* 2002; 123: 729-35.
58. Kirkwood TB. Evolution of ageing. *Mech Ageing Dev* 2002; 123: 737-45.
59. Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* 1975; 15: 617-31.
60. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 1191-308.
61. Ghadirian P, Lacroix A, Maisonneuve P, Perret C, Potvin C, et al. Nutritional factors and colon carcinoma: a case control study involving French Canadians in Montreal, Quebec, Canada. *Cancer* 1997; 80: 858-64.
62. Meyer F, White E. Alcohol and nutrients in relation to colon cancer in middle-aged adults. *Am J Epidemiol* 1993; 138: 225-36.
63. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, et al. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med* 1999 ; 340: 169-76.
64. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, et al. Intake of fat, meat, and fibre in relation to risk of colon cancer in men. *Cancer Res* 1994; 54: 2390-97.
65. Riboli E, Norat T. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 559-69.
66. Bertram JS, Bortkiewicz H. Dietary carotenoids inhibit neoplastic transformation and modulate gene expression in mouse and human cells. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1327-36.
67. Stahelin HB, Gey KF, Eichholzer M, Ludin E, Bernasconi F, et al. Plasma antioxidant vitamins and subsequent cancer mortality in the 12-year follow-up of the prospective Basel Study. *Am J Epidemiol* 1991; 133: 766-75.
68. Albanes D, Heinonen OP, Huttunen JK, Taylor PR, Virtamo J, et al. Effects of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on cancer incidence in the Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1427-30.
69. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 1145-49.
70. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 1150-55.
71. Handelman GJ. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition* 2001; 17: 818-22.
72. Vineis P. Diet, genetic susceptibility and carcinogenesis. *Public Health Nutr* 2001; 4: 485-91.
73. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N, Ferrari P, Norat T, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public Health Nutr* 2002; 5(6B): 1113-24.
74. Milner JA, Richard G, Allison, James G, Elliott, et al. Opportunities and challenges for future nutrition research in cancer prevention: a panel discussion. *J Nutr* 2003; 133: 2502S-4S.
75. Kang SS, Wong PWK, Zhou J, Sora J, Lessick M, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease. *Metabolism* 1988; 37: 611-13.
76. Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, Rimm EB, Stampfer MJ, et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1996; 56:4862-64.
77. Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, Artigas C, Hunter DJ, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 1098-102.
78. Giovannucci E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. *J Nutr* 2002; 132: 2350-55.
79. Slattery ML, Potter JD, Samowitz W, Schaffer D, Leppert M. Methylenetetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 513-18.
80. Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chen C, et al. Colorectal adenomas and the C677T MTHFR polymorphism: evidence for gene-environment interaction? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 659-68.
81. Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, Leff MA, Webb SJ, et al. Molecular genetics and epidemiology of



## NUTRIGENÉTICA Y NUTRIGENÓMICA

- the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 29-42.
82. Roberts-Thomson IC, Ryan P, Khoo KK, Hart WJ, McMichael AJ, et al. Diet, acetylator phenotype, and risk of colorectal neoplasia. *Lancet* 1996; 347: 1372-74.
83. Chen J, Stampfer MJ, Hough HL, Garcia-Closas M, Willett WC, et al. A prospective study of N-acetyltransferase genotype, red meat intake, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; 58: 3307-11.
84. Rock CL, Lampe JW, Patterson RE. Nutrition, genetics, and risks of cancer. *Annu Rev Public Health* 2000; 21: 47-64.
85. Lin HJ, Probst-Hensch NM, Louie AD, Kau IH, Witte JS, et al. Glutathione transferase null genotype, broccoli, and lower prevalence of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 647-52.