

**ISSN: 1988-2688**<http://www.ucm.es/BUCM/revistasBUC/portal/modulos.php?name=Revistas2&id=RCCV&col=1>[http://dx.doi.org/10.5209/rev\\_RCCV.2016.v10.n1.51870](http://dx.doi.org/10.5209/rev_RCCV.2016.v10.n1.51870)*Revista Complutense de Ciencias Veterinarias 2016 10(1):16-34*

## **HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPs) (II): MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL**

### **POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs) (II): MEASURES OF PREVENTION AND CONTROL**

**Gustavo Pérez-Morales López, Paloma Morales Gómez y Ana Isabel Haza Duaso \***

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid (España).

\*Correspondencia: [hanais@vet.ucm.es](mailto:hanais@vet.ucm.es)

#### **RESUMEN**

Las medidas de prevención y control que existen frente a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) consisten en realizar un control oficial, en llevar a cabo un código de buenas prácticas para reducir los niveles de HAPs en las industrias y en el desarrollo de una estrategia quimiopreventiva. El Reglamento (UE) 835/2011 establece los contenidos máximos de HAPs en los productos alimenticios. Además los Reglamentos (UE) 333/2007 y 836/2011 establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de estos compuestos. Estudios científicos demuestran que la estrategia quimiopreventiva es eficaz frente a los efectos genotóxicos de estos compuestos. La mayoría de los compuestos quimiopreventivos estudiados con efecto protector frente a los HAPs, se encuentran en frutas y vegetales.

**Palabras Clave:** Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), medidas de prevención y control, compuestos quimiopreventivos.

## ABSTRACT

Measures of prevention and control against polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) focus on an official food control, a code of best practice to reduce PAHs levels by controlling industry and in the development of a chemopreventive strategy. Regulation (EU) 835/2011 establishes maximum levels of PAHs for each food group. In addition, Regulations (EU) 333/2007 and 836/2011 set up the methods of sampling and analysis for its official control. Scientific studies prove that the chemopreventive strategy is effective against these genotoxic compounds effects. Most chemopreventive compounds studied with proven protective effects against PAHs are found in fruit and vegetables.

**Keywords:** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), measures of prevention and control, chemopreventive compounds.

## INTRODUCCIÓN

Una vez demostrado el efecto potencialmente cancerígeno de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs), es necesario tomar medidas de prevención y control en el medio ambiente y sobre todo en los alimentos. Las medidas de prevención y control se basan en determinar los contenidos máximos de HAPs en los alimentos recogidos en el Reglamento (UE) 835/2011. Además los Reglamentos (UE) 333/2007 y 836/2011 establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de estos compuestos. Asimismo, se debe llevar a cabo un código de buenas prácticas para reducir estos niveles en las industrias.

En las últimas décadas, son muchos los estudios científicos que relacionan la alimentación con la aparición de enfermedades tales como los trastornos cardiovasculares o el cáncer (Agarwal *et al.*, 2006). Estos estudios evidencian que una dieta variada y equilibrada como la Mediterránea junto con unos hábitos de vida saludables reduce el riesgo de padecer este tipo de enfermedades. La estrategia quimiopreventiva, consiste en utilizar compuestos quimiopreventivos que se encuentran de forma natural en la dieta. Uno de los grupos de quimiopreventivos más importantes es el de los fitoquímicos. Estos compuestos se definen como bioactivos no nutrientes presentes en las plantas, y por lo tanto en muchas frutas, vegetales y cereales, que poseen considerables propiedades anticancerígenas y

antimutagénicas (Liu, 2004). En la actualidad, se han identificado más de 5.000 fitoquímicos y se estima que podría haber hasta 100 fitoquímicos diferentes en una sola ración de vegetales.

Por ello y dada la importancia de los HAPs para el medio ambiente y la salud, en este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica de los compuestos quimiopreventivos con actividad protectora frente a la actividad genotóxica de los HAPs.

## Medidas de prevención y control

### 2.1 Control oficial

En la Tabla 1 se recoge la legislación comunitaria específica para el control de los HAPs en los alimentos (Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición, AECOSAN, 2015). El Reglamento (CE) n° 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, establece unos contenidos máximos de HAPs para los distintos alimentos. Para tal fin, inicialmente se utilizaba el benzo[a]pireno como único marcador de la presencia de HAPs en los alimentos, pero tras la emisión de un dictamen en 2008 por parte de la Comisión CONTAM de la EFSA se concluyó que el benzo[a]pireno por sí solo no es un marcador adecuado.

Disposiciones comunitarias	Modificaciones
<p><b>Reglamento (CE) 333/2007, de 28 de Marzo de 2007, de la Comisión,</b> por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo[a]pireno en los productos alimenticios.</p>	<p><b>Reglamento (UE) 836/2011 de la Comisión, de 19 de agosto de 2011,</b> por el que se modifica el Reglamento (CE) 333/2007 por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo[a]pireno en los productos alimenticios.</p>

<b>Reglamento (CE) 1881/2006, de 19 de Diciembre de 2006, de la Comisión</b> , por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.	<b>Reglamento (UE) 1125/2015 de la Comisión, de 10 de julio de 2015</b> , que modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de HAPs en katsubushi (bonito seco) y determinados arenques del Báltico ahumados.
	<b>Reglamento (UE) 1327/2014 de la Comisión, de 12 de diciembre de 2014</b> , por el que se modifica el Reglamento (CE) 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de HAPs en la carne y los productos cárnicos ahumados del modo tradicional y en el pescado y los productos de la pesca ahumados del modo tradicional.
	<b>Reglamento (UE) 835/2011 de la Comisión, de 19 de agosto de 2011</b> , que modifica el Reglamento (CE) 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de HAPs en los productos alimenticios.

**Tabla 1.** Disposiciones comunitarias de directa aplicación en materia de HAPs.

Por ello, en el Reglamento (UE) n° 835/2011, que modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de HAPs en los productos alimenticios de la Comisión, se introdujeron nuevos contenidos máximos para los HAPs<sup>4</sup>, pero manteniéndose también el contenido máximo para el benzo[a]pireno con el objetivo de poder comparar los datos anteriores y futuros (Tabla 2). El Reglamento (UE) n° 1327/2014 de la Comisión de 12 de diciembre de 2014, por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de HAPs en la carne y los productos cárnicos, en el pescado y los productos de la pesca, ahumados del modo tradicional, pone de manifiesto que a pesar de aplicarse correctas prácticas de ahumado, en varios Estados miembros no es posible obtener niveles más bajos de HAPs en este tipo de alimentos sin modificar de manera significativa sus características organolépticas, por lo que estos productos tendrían que desaparecer del mercado provocando el cierre de numerosas pequeñas y medianas empresas.

Productos alimenticios	Contenidos máximos (µg/kg)	
	B[a]P	Suma HAPs4
Aceites y grasas (excluida la manteca de cacao y el aceite de coco) destinados al consumo humano directo o a ser usados como ingrediente de productos alimenticios	2,0	10
Granos de cacao y productos derivados	5,0 de grasa	30,0 de grasa
Aceite de coco destinado al consumo humano directo o a ser usado como ingrediente de productos alimenticios	2,0	20,0
Carnes ahumadas y productos cárnicos ahumados	2,0	12,0
Carne de pescado ahumado y productos pesqueros ahumados, excluidos los espadines ahumados y los moluscos bivalvos. El contenido máximo para los crustáceos ahumados se aplica a la carne de los apéndices y el abdomen. En el caso de los cangrejos ahumados y crustáceos similares ahumados (Brachyura y Anomura), se aplica a la carne de los apéndices.	2,0	12,0
Espadines ahumados y espadines ahumados en conserva (sprattus sprattus); moluscos bivalvos (frescos, refrigerados o congelados); carnes y productos cárnicos (a la parrilla y a la barbacoa) y vendidos al consumidor final	5,0	30,0
Moluscos bivalvos (ahumados)	6,0	35,0
Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad	1,0	1,0
Preparados para lactantes y preparados de continuación, incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación	1,0	1,0
Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes	1,0	1,0

**Tabla 2.** Niveles máximos de benzo[a]pireno y de la suma de los cuatro HAPs4.

Así, a partir del 1 de septiembre de 2014 se aplicó una excepción a la reducción del contenido máximo de HAPs para Irlanda, España, Croacia, Chipre, Letonia, Polonia, Portugal, Rumanía, Eslovaquia, Finlandia, Suecia y el Reino Unido, durante tres años. Estos países podrán autorizar la comercialización de carne y productos cárnicos ahumados del modo tradicional y destinados al consumo en su territorio, que tengan como contenidos máximos de HAPs los límites establecidos previamente, es decir, 5,0 µg/kg de benzo[a]pireno y 30,0

$\mu\text{g}/\text{kg}$  de HAPs<sup>4</sup>. Pasados los tres años se reevaluará la posibilidad de reducir los límites máximos de HAPs para estos alimentos (Reglamento (UE) n° 1327/2014).

## 2.2 Métodos para la detección de HAPs en los alimentos

El procedimiento de preparación y análisis de muestras juega un importante papel en la determinación de HAPs en los alimentos. Así, la Directiva 2005/10/CE de la Comisión, por la que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de benzo[a]pireno en los productos alimenticios, establece con detalle los requerimientos necesarios de los métodos de muestreo para los distintos productos alimenticios, los cuales varían en función del tipo y tamaño del lote, con la finalidad de obtener muestras representativas de cada lote. Así, cada lote debe ser examinado y muestreado por separado. De esta manera, los lotes de gran tamaño se subdividen en lotes más pequeños que también deben muestrearse por separado. Se deben tomar muestras elementales en diferentes lugares del lote o sublote y agruparlas para obtener una muestra global, que será la que se utilice para el análisis. En la Tabla 3 se indica el número mínimo de muestras elementales que deben tomarse para cada lote o sublote.

Peso o volumen del lote o sublote (Kg o L)	Nº mínimo de muestras elementales
<50	3
50-500	5
>500	10

**Tabla 3.** Número mínimo de muestras elementales que deben tomarse para cada lote o sublote.

Durante la toma y preparación de las muestras, se deben tomar precauciones para evitar posibles cambios en la composición de la muestra y asegurar la ausencia de contaminación. Los recipientes utilizados para la toma de muestras deben lavarse previamente con acetona para reducir el riesgo de contaminación. Del mismo modo, los aparatos y equipos que entren en contacto con las muestras deben estar compuestos por materiales inertes como aluminio, cristal o acero inoxidable. Se deben evitar materiales como polipropileno o politetrafluoroetileno ya que los HAPs podrían adsorberse a ellos. También se produce una

pérdida de HAPs cuando la muestra está expuesta a la luz o a altas temperaturas durante la recolección y el almacenamiento prolongado. La exposición al humo de tabaco aumenta el nivel de HAP de la muestra (FAO/OMS, 2006).

En cuanto a los métodos de análisis, el Reglamento (CE) nº 882/2004 sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales establece unos requisitos generales para el análisis de estos compuestos. Los laboratorios que participen en el análisis de muestras oficiales deben aplicar procedimientos autorizados a nivel internacional y emplear métodos de análisis que hayan sido validados. Además, existen unos requisitos específicos para el control oficial de los niveles de benzo[a]pireno en los alimentos, establecidos en el Reglamento (CE) nº 333/2007, por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, de cadmio, de mercurio, de estaño inorgánico, de 3-MCPD y de benzo[a]pireno en los productos alimenticios.

El método de extracción utilizado para aislar los HAPs de las muestras de alimentos depende en gran medida de la naturaleza de la matriz alimentaria. En las muestras de alimentos sólidos, como la carne, el pescado y sus derivados, se suele realizar mediante una saponificación seguida de una extracción líquido-líquido o bien mediante una extracción con solventes orgánicos. En menor medida se utilizan técnicas automatizadas como la extracción mediante líquido presurizado y la cromatografía de permeabilización en gel (Fromberg *et al.*, 2007; Reinik *et al.*, 2007). En las muestras de alimentos líquidos, como los aceites vegetales, se utiliza frecuentemente la extracción líquido-líquido. Las principales técnicas analíticas utilizadas para determinar los HAPs presentes en los alimentos son la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) acoplada a un detector de fluorescencia y la cromatografía de gases acoplada a una espectrometría de masas. Estos métodos son suficientemente sensibles para determinar la concentración de HAPs en los alimentos.

### 2.3 Código de buenas prácticas

Los alimentos procesados deben cumplir la legislación y la normativa nacional e internacional, así como los requisitos generales para proteger a los consumidores y adecuarse a los códigos de prácticas del Codex o nacionales, especialmente en materia de ahumado y secado directo de los alimentos. Para reducir la contaminación de los alimentos por HAPs, el productor de alimentos debe conocer las condiciones que generan niveles elevados de estos compuestos. La formación de HAPs durante el ahumado y el secado directo depende de numerosos aspectos, como el combustible (maderas, diesel, gases, desechos líquidos/sólidos), la técnica de ahumado o secado (directo o indirecto), el procedimiento de generación de humo en cuanto a la temperatura utilizada (fricción, fuego sin llama, autocombustión), la posición y distancia del alimento con respecto a la fuente de calor, el contenido de grasa del alimento, la duración y las temperaturas alcanzadas en el procedimiento, la limpieza y el mantenimiento de los utensilios y otros aspectos como la aplicación de un sistema de APPCC que ayudarían a reducir los contenidos de HAPs en los alimentos (Codex, 2009).

### Estrategias quimiopreventivas frente a los HAPs

La quimiopreención del cáncer es una disciplina emergente y en expansión que emplea compuestos químicos naturales, sintéticos o biológicos para revertir, suprimir o prevenir la carcinogénesis (Sporn, 1976). Estos compuestos se denominan quimiopreventivos y muchos de ellos se encuentran de forma natural en los alimentos, como es el caso del grupo de los fitoquímicos, que constituyen sustancias bioactivas carentes de valor nutritivo que se encuentran en muchos cereales, frutas y verduras y con propiedades antimutagénicas y anticancerígenas (Liu, 2004). Los agentes quimiopreventivos pueden clasificarse en función de su mecanismo de acción (Wattenberg, 1985) en:

1. Agentes bloqueadores, capaces de evitar que los compuestos carcinógenos dañen sus dianas celulares (DNA, RNA o proteínas celulares). Este efecto lo consiguen inhibiendo la actividad de las enzimas de Fase I y bloqueando con ello la activación metabólica de los carcinógenos, o bien estimulando la actividad o la expresión de las enzimas de la Fase II, que promueven la excreción de los agentes carcinógenos. Otro mecanismo lo constituye la acción antioxidante de algunos compuestos capaces de reducir el daño producido sobre las células al



atrapar los radicales libres generados por el estrés oxidativo (Adom *et al.*, 2003). En este grupo se clasifican los indoles y los isotiocianatos (ITCs) de las plantas crucíferas, los terpenos de las frutas cítricas, los organosulfurados del ajo y de la cebolla (OSCs), la epigallocatequina-3-galato (EGCG) del té verde, los inhibidores de proteasas de las judías, los carotenos, las cumarinas y las curcuminas.

2. Agentes supresores, que ralentizan las etapas de promoción y progresión tumoral una vez transformadas las células normales en células iniciadas y pre-neoplásicas, impidiendo el desarrollo del tumor. Estas sustancias bloquean el ciclo celular, modulan el proceso apoptótico produciendo un efecto paradójico ya que son capaces de inducir o inhibir la muerte celular por apoptosis, en función de la dosis administrada; e inhiben vías de señalización celular en las células tumorales (Greenwald, 2002; Surh, 2003). Entre estas sustancias se encuentran los retinoides, los inhibidores de la síntesis de las prostaglandinas, los monoterpenos, el selenio y los inhibidores de la biosíntesis de poliaminas.

3. Agentes bloqueadores y supresores. Muchos quimiopreventivos presentan ambos mecanismos de acción, puesto que es muy frecuente que un compuesto quimiopreventivo afecte a más de un proceso celular.

Los agentes quimiopreventivos pueden clasificarse también en base a su estructura química en tres grupos: vitaminas, minerales y fitoquímicos. Estos últimos se dividen a su vez en carotenoides, flavonoides, fenoles ácidos, isotiocianatos (ITCs), organosulfurados (OSCs) e indoles, como se observa en la Tabla 4 (Russo *et al.*, 2005).

A continuación se exponen los resultados de los principales trabajos de investigación en los que se emplean diferentes agentes quimiopreventivos con efecto protector frente a los HAPs (Tabla 5).

<b>Estructura química</b> <b>Clasificación</b>	<b>Agente quimiopreventivo</b>	<b>Fuentes</b>
<b>Vitaminas</b>	Vitamina A	Verduras y hortalizas
	Ácido Fólico	Verduras y hortalizas
	Vitamina C	Frutas y hortalizas
	Vitamina D	Productos lácteos
	Vitamina E	Aceites vegetales
<b>Minerales</b>	Calcio	Productos lácteos y verduras
	Selenio	Frutas, verduras, cereales, carne, pescado
	Hierro	Carnes rojas
	Zinc	Verduras
<b>Carotenoides</b>	Licopeno	Tomates
	Luteína	Verduras y hortalizas de hoja verde oscuro
	$\beta$ -caroteno	Verduras naranjas y amarillas
<b>Flavonoides</b>	Genisteína	Soja y productos derivados
	Quercetina	Frutas y verduras
	Rutina	Frutas y verduras
	Silimarina	Cardo mariano
	Catequina	Uvas
	Antocianinas	Frutas, verduras y té negro
<b>Fenoles ácidos</b>	Resveratrol	Uvas, vino tinto
	Curcumina	Cúrcuma, curry, mostaza
	Ácido cafeico	Frutas, café, soja
	Ácido Ferúlico	Frutas, soja, arroz
	Galato de epigallocatequina	Té verde
	Ácido clorogénico	Frutas, café, soja
<b>ITCs</b>	Alil isotiocianato	Coles de Bruselas
	2-fenetil isotiocianato	Repollo
	Bencil isotiocianato	Berros
	3-Metil sulfenil propil isotiocianato	Brécol
	Sulfurofano	Brécol
<b>OSCs</b>	Sulfuro de Dialilo	Ajo, cebolla
	Alil Mercaptano	Plantas del Género Allium
	Trisulfuro de metil alil	Plantas del Género Allium
	S-Alil Cisteína	Ajo
<b>Indoles</b>	Indol-3-carbinol	Crucíferas
	Brasinina	Crucíferas

**Tabla 4.** Clasificación de los agentes quimiopreventivos según su estructura química y sus principales fuentes en los alimentos.

Agente quimiopreventivo	Agente genotóxico	Efectos quimiopreventivos Mecanismos de acción	Referencias bibliográficas
<b>Ácido trans-retinoico (vitamina A)</b>	B[a]P	Disminución de los peróxidos y del óxido nítrico Aumento de agentes antioxidantes como la SOD <sup>1</sup> , la catalasa, la GPX <sup>2</sup> y la vitamina C	Ramya <i>et al.</i> , 2012
<b>Vitamina A + Vitamina E</b>	DMBA	Inhibición de la ornitina descarboxilasa	Calhoun <i>et al.</i> , 1989
<b>Vitamina E + Curcumina</b>	B[a]P	Mantenimiento del ciclo celular y del crecimiento Disminución de EROs <sup>3</sup> y de aductos en el DNA Disminución de la p53, la PARP-1 <sup>4</sup> y la relación Bax/Bcl-2 Restauración de la supervivencia celular	Zhu <i>et al.</i> , 2014
<b>Selenio</b>	DMBA	Antioxidante, inducción de la apoptosis e inhibición de la proliferación celular	Ip <i>et al.</i> , 1992
<b>D-glucarato de calcio</b>	DMBA	Mantenimiento de la expresión del gen supresor de tumores miR-203	Tiwari <i>et al.</i> , 2014
<b>Licopeno</b>	B[a]P	Protección frente al cáncer de próstata, colon y pulmones	Guttenplan <i>et al.</i> , 2001
<b>Luteína</b>	B[a]P	Aumento de enzimas antioxidantes Reducción de la peroxidación lipídica Reducción de la metahemoglobina Atrapamiento de radicales libres	Vijayapadma <i>et al.</i> , 2014
<b>Adonirubina Adonixantina</b>	DMBA	Inhibición de la peroxidación lipídica Atrapamiento de radicales libres	Maoka <i>et al.</i> , 2013
<b>Catequina Epicatequina Miricetina Quercetina</b>	B[a]P	Atrapamiento de radicales libres Disminución de la SOD <sup>1</sup> , de la catalasa y de la GST <sup>5</sup>	Morales y Haza, 2012
<b>Genisteína</b>	B[a]P	Expresión de la enzima GST <sup>5</sup>	Steiner <i>et al.</i> , 2007
<b>Silimarina</b>	B[a]P	Inhibición de la actividad catalítica de la CYP1B1 <sup>6</sup>	Perumal <i>et al.</i> , 2012
<b>Curcumina + Resveratrol</b>	B[a]P	Prevención de la hemólisis de los eritrocitos Prevención de la oxidación del grupo tiol proteico Disminución de la actividad de la AChE <sup>7</sup>	Kiruthiga <i>et al.</i> , 2014
<b>EGCG</b>	BPDE DMBA	Mantenimiento de la ultraestructura celular Disminución de las alteraciones tisulares Inducción de la apoptosis	Malhotra <i>et al.</i> , 2012
<b>AITC</b>	BPDE DMBA	Prevención del daño al DNA Actividad antitumoral	Baumeister <i>et al.</i> , 2008 Vyas <i>et al.</i> , 2007
<b>PEITC BITC</b>	DMBA	Disminución de la incidencia del cáncer mamario Mantenimiento de los niveles de agentes antioxidantes y de las enzimas de fase 2	Rajakumar <i>et al.</i> , 2015
<b>DAS</b>	B[a]P	Inhibición directa de la bioactivación del B[a]P	Abdull <i>et al.</i> , 2015
<b>Extracto de ajo crudo</b>	B[a]P	Inhibición de la carcinogénesis pulmonar	Kassie <i>et al.</i> , 2003
<b>SAC</b>	B[a]P	Incremento de la actividad de la enzima GST <sup>5</sup>	Hu y Singh, 1997; Singh y Shukla, 1998 Nigam y Shukla, 2007
<b>SAC</b>	DMBA	Protección frente al daño al DNA Reducción de la formación de aductos en el DNA Incremento de la actividad de la enzima GST <sup>5</sup> Incremento de la reparación del DNA	Hageman <i>et al.</i> , 1997
<b>Brasinina</b>	DMBA	Inhibición de la carcinogénesis mediante la regulación de la diferenciación celular, la invasión tumoral y la metástasis	Balasenthil <i>et al.</i> , 2003
<b>I3C</b>	DMBA	Prevención de lesiones preneoplásicas Activación de las enzimas de fase 2	Mehta <i>et al.</i> , 1995
	DBC	Incremento de la supervivencia de la descendencia Reducción de la incidencia de metástasis pulmonar	Shorey <i>et al.</i> , 2013

<sup>1</sup>SOD (enzima superóxido dismutasa), <sup>2</sup>GPX (enzima glutatión peroxidasa), <sup>3</sup>EROs (especies reactivas de oxígeno), <sup>4</sup>PARP-1 (enzima poli-ADP-ribosa polimerasa 1), <sup>5</sup>GST (enzima glutatión S-transferasa), <sup>6</sup>CYP1B1 (enzima citocromo P450 1B1), <sup>7</sup>AChE (enzima acetilcolinesterasa).

**Tabla 5.** Compuestos quimiopreventivos frente a HAPs y referencias bibliográficas de los estudios de investigación.

## Vitaminas

En un ensayo clínico realizado en ratones (Ramya *et al.*, 2012) se administró B[a]P a dosis de 50 mg/kg, provocando estrés oxidativo y cáncer de pulmón. Cuando se suplementó la dieta de los ratones con 0.585mg/kg de ácido trans-retinoico (ATRA), metabolito de la vitamina A, se observó una disminución de estas patologías, lo cual confirmó el efecto quimiopreventivo del ATRA. Anteriormente, Calhoun *et al.* (1989) ya habían demostrado el efecto protector de la vitamina A y del tratamiento combinado de la vitamina A y la vitamina E frente al carcinoma oral inducido en animales por el 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno (DMBA). En ensayos *in vitro* (Zhu *et al.*, 2014) utilizando células epiteliales de pulmón humano (BEAS-2B) observaron que la vitamina E y la curcumina evitaban la inhibición del ciclo celular provocada por el B[a]P, disminuyendo la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs) y de aductos en el DNA. Además, la administración conjunta de estos quimiopreventivos redujo la activación de la p53, la PARP-1 y la relación Bax/Bcl-2.

## Minerales

En estudios realizados en ratas (Ip *et al.*, 1992), comprobaron que el ajo enriquecido con selenio disminuía la incidencia de tumores mamarios inducidos por el DMBA en mayor medida que el ajo sin enriquecer. En otros estudios clínicos en ratones expuestos a DMBA, Tiwari *et al.* (2014) después de la administración del D-glucarato de calcio observaron una prevención del desarrollo de tumores al evitar las alteraciones en la expresión del gen supresor miR-203.

## Carotenoides

Guttenplan *et al.* (2001) realizaron ensayos con ratones a los que suministraron tomates ricos en licopeno para estudiar el efecto protector de este compuesto frente a diferentes tumores inducidos por el B[a]P. Las conclusiones de este estudio fueron que el licopeno es órgano-específico, presentando un mayor efecto protector frente al cáncer de colon y de pulmón que frente al de próstata. Otro quimiopreventivo con efecto protector frente al B[a]P es la luteína, tal como demuestran los estudios de Vijayapadma *et al.* (2014) en eritrocitos humanos expuestos al B[a]P. Maoka *et al.* (2013) demostraron las propiedades antioxidantes, anticancerígenas e inhibidoras del desarrollo tumoral de la adonirubina y la adonixantina, dos

metabolitos intermediarios en el paso del  $\beta$ -caroteno a la astaxantina, frente al cáncer inducido en ratones por el DMBA.

### **Flavonoides**

En ensayos realizados en células humanas de carcinoma hepático (HepG2) se demostró que flavonoides como las catequinas, las epicatequinas, la miricetina y la quercetina presentaban un efecto protector frente al B[a]P (Morales y Haza, 2012). Steiner *et al.* (2007), en un estudio con células mamarias humanas (MCF-10 y MCF-7), observaron que la genisteína favorecía la expresión de la glutatión S-transferasa (GST), mostrando un efecto quimiopreventivo frente al B[a]P (50  $\mu$ M). La silimarina a dosis de 2,4 mg/kg ha demostrado un efecto protector en células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) frente al daño al DNA inducido por el B[a]P (1  $\mu$ M) (Perumal *et al.*, 2012). En ensayos con eritrocitos aislados de sangre humana la silimarina a dosis de 500  $\mu$ M también mostró un efecto protector frente al B[a]P (300  $\mu$ M) (Kiruthiga *et al.*, 2014).

### **Fenoles ácidos**

Para la realización de un estudio clínico en ratones Malhotra *et al.* (2012) dividieron la población en 5 grupos: un control, uno tratado con B[a]P, otro con B[a]P y curcumina, otro con B[a]P y resveratrol y finalmente otro con los tres compuestos. Los ratones tratados con B[a]P desarrollaron alteraciones de la integridad estructural de las células pulmonares, incluyendo deformación del núcleo y envejecimiento mitocondrial prematuro. Tras la administración de los dos quimiopreventivos por separado se observó una mejora de la ultraestructura de las células que se incrementó cuando se administraron conjuntamente.

En cultivos de células de mucosa orofaríngea humana (Baumeister *et al.*, 2008) expuestos a 9  $\mu$ M de benzo[a]pireno-7,8-dihidrodiol epóxido (BPDE) se demostró la actividad anticancerígena del galato de epigallocatequina (EGCG) a dosis de 0,1 y 5  $\mu$ M al disminuir de manera significativa el daño al DNA inducido por el HAP. Además, en estudios con ratones suizos albinos (Vyas *et al.*, 2007) se demostró que el EGCG presentaba también actividad antitumoral frente al DMBA.

## Isotiocianatos

Rajakumar *et al.* (2015) realizaron un estudio en ratas sobre el efecto quimiopreventivo del alil isotiocianato (AITC) frente al cáncer mamario inducido por el DMBA. Una única dosis de 25 mg de este HAP, aplicada en las glándulas mamarias, provocó una pérdida de peso corporal y la aparición de tumores mamarios. Tras la administración de AITC a dosis de 10, 20 y 40 mg/kg se observó una disminución de la incidencia de tumores, concluyendo que el AITC a dosis de 20 mg/kg mostraba un efecto quimiopreventivo significativo frente al cáncer mamario inducido por el DMBA. El fenetil isotiocianato (PEITC) tiene un potencial efecto quimiopreventivo al inhibir de manera directa la bioactivación del B[a]P. Esto se demostró en un experimento en el que se expusieron fracciones microsomales de hígado de rata a concentraciones de B[a]P de 1-5  $\mu\text{M}$  en presencia de PEITC (1-25  $\mu\text{M}$ ) durante 24 horas (Abdull *et al.*, 2015).

Kassie *et al.* (2003) investigaron los efectos quimiopreventivos del bencil isotiocianato (BITC), en concreto la inhibición de la carcinogénesis pulmonar inducida por el B[a]P. De esta manera, las células HepG2 se expusieron a B[a]P (5  $\mu\text{M}$ ) y a un extracto de berros, que poseen una alta concentración de BITC (0,1-1,25  $\mu\text{l/ml}$ ). El extracto de berros redujo significativamente de manera dosis-dependiente los efectos genotóxicos del B[a]P.

## Organosulfurados (OSCs)

Los OSCs presentan una actividad protectora frente a tumores inducidos por compuestos carcinógenos como el B[a]P (Hu y Singh, 1997; Singh y Shukla, 1998) en diferentes órganos y especies animales. Así, la aplicación tópica de sulfuro de dialilo (DAS) en concentraciones de 2,5-10 mg/kg a ratones provocó una protección significativa frente al daño al DNA inducido por el DMBA (5 mg/kg) (Nigam y Shukla, 2007). Hageman *et al.* (1997) expusieron PBMC a un extracto acuoso de ajo crudo, al DAS y al S-alil cisteína (SAC) para evaluar su efecto protector frente al B[a]P. Tanto el extracto acuoso de ajo crudo como el SAC inhibieron significativamente la formación de aductos en el DNA. Balasenthil *et al.* (2003) demostraron que el SAC es capaz de inhibir en hámsteres la carcinogénesis provocada por el DMBA en la cavidad oral. El DMBA se aplicó vía tópica induciendo un carcinoma oral. Sin embargo, en el grupo tratado conjuntamente con SAC (200 mg/kg) y el DMBA se inhibió la formación de tumores.

## Indoles

La brasinina inhibió de manera dosis-dependiente la formación de lesiones preneoplásicas inducidas por el DMBA (2 µg/ml) en cultivos de glándula mamaria de hembras vírgenes de ratón BALB/c (Mehta *et al.*, 1995). Finalmente, Shorey *et al.* (2013) evaluaron los efectos quimiopreventivos del **indol-3-carbinol (I3C)** (100, 500 y 1000 ppm) frente al linfoblastoma de células T causado por el dibenzo[def,p]criseno (DBC). Los resultados mostraron un aumento de la supervivencia de la descendencia y una reducción de la incidencia de metástasis pulmonar.

## BIBLIOGRAFÍA

Abdull, AF; Konsue, N; Ioannides, C. 2015. Inhibitory effect of phenethyl isothiocyanate against benzo[a] pyrene-induced rise in CYP1A1 mRNA and apoprotein levels as its chemopreventive properties. *Asian Pac J Cancer Prev* 16:2679-2683.

Adom, KK; Sorrells, ME; Liu, RH. 2003. Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *J Agric Food Chem* 51:7825-7834.

Agarwal, S; Hordvik, S; Morar, S. 2006. Nutritional claims for functional foods and supplements. *Toxicology* 221:44-49.

Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN). 2015. [http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/legislacion/subdetalle/hidrocarburos\\_aromaticos.html](http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/legislacion/subdetalle/hidrocarburos_aromaticos.html)

Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). 2008. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. *The EFSA Journal* 724:1-114.

Balasenthil, S; Rao, KS; Nagini, S. 2003. Altered cytokeratin expression during chemoprevention of hamster buccal pouch carcinogenesis by S-allylcysteine. *Pol J Pharmacol* 55:793-8.

Baumeister, P; Reiter, M; Zieger, S; Matthias, C; Harréus, U. 2008. DNA-protective potential of polyphenols in human mucosa cell cultures. *HNO* 56:795-8.

Calhoun, KH; Stanley, D; Stiernberg, CM; Ahmed, AE. 1989. Vitamins A and E do protect against oral carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 115:484-8.

Codex Alimentarius. 2009. Código de prácticas para reducir la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en los alimentos producidos por procedimientos de ahumado y secado directo. CXP\_068s.pdf

Comité de Expertos conjunto FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2006. Safety evaluation of certain contaminants in food. *FAO WHO Food Additives Series* 55:82 [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660554\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660554_eng.pdf)

Fromberg, A; Højgård, A; Duedahl-Olesen, L. 2007. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils combining gel permeation chromatography with solid-phase extraction clean-up. *Food Addit. Contam* 24:758-767.

Greenwald, P. 2002. Cancer chemoprevention. *BMJ* 324:714-718.

Guttenplan, JB; Chen, M; Kosinska, W; Thompson, S; Zhao, Z; Cohen, LA. 2001. Effects of a lycopene-rich diet on spontaneous and benzo[a]pyrene-induced mutagenesis in prostate, colon and lungs of the lacZ mouse. *Cancer Lett* 164:1-6.

Hageman, GJ; van Herwijnen, MH; Schilderman, PA; Rhijnsburger, EH; Moonen, EJ; Kleinjans, JC. 1997. Reducing effects of garlic constituents on DNA adduct formation in human lymphocytes in vitro. *Nutr Cancer* 27:177-185.

Hu, X; Singh, SV. 1997. Glutathione S-transferases of female A/J mouse lung and their induction by anticarcinogenic organosulfides from garlic. *Arch Biochem Biophys* 340:279-286.

Ip, C; Lisk, DJ; Stoewsand, GS. 1992. Mammary cancer prevention by regular garlic and selenium-enriched garlic. *Nutr Cancer* 17:279-286.

Kassie, F; Laky, B; Gminski, R; Mersch-Sundermann, V; Scharf, G; Lhoste, E; Kansmüller, S. 2003. Effects of garden and water cress juices and their constituents, benzyl and phenethyl isothiocyanates, towards benzo(a)pyrene-induced DNA damage: a model study with the single cell gel electrophoresis/Hep G2 assay. *Chem Biol Interact*, 142:285-296.

Kiruthiga, PV; Karutha Pandian, S; Pandima Devi, K. 2014. Silymarin prevents the toxicity induced by benzo(a)pyrene in human erythrocytes by preserving its membrane integrity: an in vitro study. *Environ Toxicol* 29:165-75.

Liu, RH. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr* 134:3479-3485.



Malhotra, A; Nair, P; Dhawan, DK. 2012. Premature mitochondrial senescence and related ultrastructural changes during lung carcinogenesis modulation by curcumin and resveratrol. *Ultrastruct Pathol* 36:179-84.

Maoka, T; Yasui, H; Ohmori, A; Tokuda, H; Suzuki, N; Osawa, A *et al.* 2013. Anti-oxidative, anti-tumor-promoting, and anti-carcinogenic activities of adonirubin and adonixanthin. *J Oleo Sci* 62:181-186.

Mehta, RG; Liu, J; Constantinou, A; Thomas, CF; Hawthorne, M; You, M *et al.* 1995. Cancer chemopreventive activity of brassinin, a phytoalexin from cabbage. *Carcinogenesis* 16:399-404.

Morales, P y Haza, AI. Dietary Flavonoids Modulate the Oxidative DNA Damage Induced by N-Nitrosamines, Heterocyclic Amines and Benzo(a)pyrene. En *Handbook on Flavonoids: Dietary Sources, Properties and Health Benefits* 14. Ney York: Nova Biomedical, 2012, 335-360.

Nigam, N; Shukla, Y. 2007. Preventive effects of diallyl sulfide on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced DNA alkylation damage in mouse skin. *Mol Nutr Food Res* 51:1324-1328.

Perumal Vijayaraman, K; Muruganatham, S; Subramanian, M; Shunmugiah, KP; Kasi, PD. 2012. Silymarin attenuates benzo(a)pyrene induced toxicity by mitigating ROS production, DNA damage and calcium mediated apoptosis in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). *Ecotoxicol Environ Saf* 86:79-85.

Rajakumar, T; Pugalendhi, P; Thilagavathi, S. 2015. Dose response chemopreventive potential of allyl isothiocyanate against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *Chem Biol Interact* 231:35-43.

Ramya, D; Siddikuzzaman; Manjamalai, A; Berlin Grace, VM. 2012. Chemoprotective effect of all-trans retinoic acid (ATRA) on oxidative stress and lung metastasis induced by benzo(a)pyrene. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 34:317-25.

Reinik, M; Tamme, T; Roasto, M; Juhkam, K; Tenno, T; Kiis, A. 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in meat products and estimated PAH intake by children and the general population in Estonia. *Food Addit. Contam* 24:429-437.

Russo, M; Tedesco, I; Iacomino, G; Palumbo, R; Galano, G; Russo, GL. 2005. Dietary phytochemicals in chemoprevention of cancer. *Curr Med Chem Immun, Endoc & Metab Agents* 6:61-72.

Shorey, LE; Madeen, EP; Atwell, LL; Ho, E; Löhr, CV; Pereira, CB, *et al.*. 2013. Differential modulation of dibenzo[def,p]chrysene transplacental carcinogenesis: maternal diets rich in indole-3-carbinol versus sulforaphane. *Toxicol Appl Pharmacol* 270:60-69.

Singh, A; Shukla, Y. 1998. Antitumour activity of diallyl sulfide on polycyclic aromatic hydrocarbon-induced mouse skin carcinogenesis. *Cancer Lett* 131:209-214.

Sporn, MB. 1976. The war on cancer. *Lancet* 34:1377-1381.

Steiner, C; Peters, WH; Gallagher, EP; Magee, P; Rowland, I; Pool-Zobel, BL. 2007. Genistein protects human mammary epithelial cells from benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide and 4-hydroxy-2-nonenal genotoxicity by modulating the glutathione/glutathione S-transferase system. *Carcinogenesis* 28:738-48.

Surh, YJ. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer* 3:768-780.

Tiwari, P; Gupta, KP. 2014. Modulation of miR-203 and its regulators as a function of time during the development of 7, 12 dimethylbenz [a] anthracene induced mouse skin tumors in presence or absence of the antitumor agents. *Toxicol Appl Pharmacol* 278:148-58.

Unión Europea. 2004. Reglamento (CE) nº 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 30 de abril de 2004, 165: 1-134.

Unión Europea. 2005. Directiva 2005/10/CE de la Comisión, de 4 de febrero de 2005, por la que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de benzo(a)pireno en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 8 de febrero de 2005, 34: 15-20.

Unión Europea. 2006. Reglamento (CE) nº 1881/2006, de 19 de Diciembre de 2006, de la Comisión, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 20 de diciembre de 2006, 364: 5-24.

Unión Europea. 2007. Reglamento (CE) nº 333/2007 de la Comisión, de 28 de marzo de 2007, por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo(a)pireno en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 29 de marzo de 2007, 88: 29-38.

Unión Europea. 2011. Reglamento (UE) nº 835/2011 de la Comisión, de 19 de agosto de 2011, que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 20 de agosto de 2011, 215: 4-8.

Unión Europea. 2011. Reglamento (UE) 836/2011 de la Comisión, de 19 de agosto de 2011, por el que se modifica el Reglamento (CE) 333/2007 por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo(a)pireno en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 20 de agosto de 2011, 215: 9-16.

Unión Europea. 2014. Reglamento (UE) nº 1327/2014 de la Comisión, de 12 de diciembre de 2014, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en la carne y los productos cárnicos ahumados del modo tradicional y en el pescado y los productos de la pesca ahumados del modo tradicional. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 13 de diciembre de 2014, 358: 13-14.

Unión Europea. 2015. Reglamento (UE) 2015/1125 de la Comisión, de 10 de julio de 2015, que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en katsuobushi (bonito seco) y determinados arenques del Báltico ahumados. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 11 de julio de 2015, 184: 7-10.

Vijayapadma, V; Ramyaa, P; Pavithra, D, Krishnasamy, R. 2014. Protective effect of lutein against benzo(a)pyrene-induced oxidative stress in human erythrocytes. *Toxicol Ind Health* 30:284-93.

Vyas, S; Sharma, M; Sharma, PD; Singh, TV. 2007. Design, semisynthesis, and evaluation of O-acyl derivatives of (-)-epigallocatechin-3-gallate as antitumor agents. *J Agric Food Chem* 55:6319-6324.

Wattenberg, L. 1985. Chemoprevention of cancer. *Cancer Res* 45:1-8.

Zhu, W; Cromie, MM; Cai, Q; Lv, T; Singh, K; Gao, W. 2014. Curcumin and vitamin E protect against adverse effects of benzo[a]pyrene in lung epithelial cells. *PLoS ONE* 9 (3):e92992.doi:10.1371/journal.pone.0092992.