

La aplicación de la biología molecular en la epidemiología. Algunas consideraciones metodológicas

Elizabeth López-Carrillo*

En 1950 se informó que el consumo de tabaco era un factor importante en la inducción del cáncer de pulmón. Esta aseveración había surgido de los primeros estudios epidemiológicos de casos y controles, realizados en Inglaterra y en Estados Unidos.¹

Unos cuantos años más tarde, los investigadores Doll y Hill confirmaron estos resultados, a partir de los datos recopilados en su cohorte de médicos ingleses.⁴⁻⁶ La incredulidad y crítica, se manifestó por parte de varios científicos connotados de aquella época, entre ellos: Fisher, Berkson y Eysenck, quienes intentaron refutar dicho hallazgo con argumentos genéticos, estadísticos y psicológicos respectivamente.⁸⁻⁹

Se inició así una de las polémicas más intensas en la historia de la epidemiología, que contenía en principio la continua búsqueda de la causalidad enmarcada en un debate entre la ciencia experimental y la investigación observacional.

Los resultados casi simultáneos de estudios experimentales realizados con animales de laboratorio, en los que se demostró la inducción de tumores en la piel por el alquitrán^{10,11} y la identificación de compuestos carcinógenos en el humo del tabaco,¹² entre otros, contribuyeron sin duda a esclarecer esta controversia. La conjunción entre la experimentación y la observación habría de inclinar la balanza, hacia aquellos quienes creyeron haber encontrado una asociación causal entre el hábito de fumar y la incidencia de cáncer pulmonar por medio de la investigación epidemiológica.

En 1988, es decir casi 40 años después de las primeras observaciones epidemiológicas sobre el

potencial carcinogénico del tabaco, la aplicación de la técnica de medición de aductos de DNA, permitiría a Phillips y colaboradores,¹³ demostrar a nivel molecular, una relación lineal entre aductos de DNA en tejido pulmonar humano y el hábito tabáquico. Más aún, los resultados de estudios recientes han corroborado que el riesgo de padecer cáncer de pulmón aumenta entre los no-fumadores expuestos a humo del tabaco, pues en este grupo se ha demostrado un incremento de aductos de aminobifenil-hemoglobina.¹⁴

Este es un ejemplo, en el que los resultados de los estudios epidemiológicos clásicos se fortalecieron con el conocimiento generado por la biología molecular, conjunción a partir de la cual se ha acuñado un término prometedo: "epidemiología molecular". Higginson ha definido a la epidemiología molecular como "...la aplicación de técnicas sofisticadas en los estudios epidemiológicos de material biológico...".¹⁵ Y más recientemente, en el área de investigación epidemiológica en cáncer, la epidemiología molecular se ha descrito exitosamente como "...la combinación de métodos avanzados de laboratorio con epidemiología analítica para identificar a nivel bioquímico o molecular el nivel de agentes exógenos específicos y/o factores del huésped que juegan un papel importante en la causalidad del cáncer en humanos...".¹⁶

Por su parte, la epidemiología ha sido tradicionalmente concebida como una disciplina para la descripción de la salud y enfermedad de la población humanas.¹⁷ Algunos autores la han definido por su objeto, como la ciencia que estudia la salud

*Instituto Nacional de Salud Pública.

Correspondencia y solicitud de reprints a: Elizabeth López Carrillo. INSP, Av. Universidad Núm. 655, Sta. Ma. Ahuacatlán, 62508 Querétaro, Méx., Tel. 01-73 11 01 11

de las poblaciones humanas.¹⁸ Se ha descrito también como un arte, una forma de pensar. Lo cierto es, que la epidemiología como investigación observacional ha demostrado tener alcances más allá de la descripción de los fenómenos y la postulación de hipótesis, pues ha contribuido a respuestas en las intrincadas redes de la causalidad de las enfermedades humanas.

¿Qué ofrece entonces la epidemiología molecular? ¿en qué categoría debe ser ubicada?, ¿cuáles son sus perspectivas?

McMichael A¹⁹ ha propuesto que la epidemiología molecular debiera ser una subdisciplina de la epidemiología, ya que de hecho consiste en la aplicación de biomarcadores moleculares en estudios epidemiológicos en diversas áreas: clínica, genética, ambiental etc...

El contar con indicadores de exposición externa a xenobióticos, de daño subclínico a la salud o de susceptibilidad del huésped, impacta de manera favorable dos aspectos metodológicos de los estudios epidemiológicos conocidos como: error de medición y modificación del efecto.

La medición de los niveles de cotinina en la saliva puede ser un procedimiento más sensible y específico, es decir, más válido que las respuestas sobre frecuencia actual de consumo de tabaco obtenidas a partir de un cuestionario. La utilización de instrumentos menos perfectos aumenta el tamaño muestral necesario para detectar una asociación que de hecho exista entre el factor de riesgo y la enfermedad bajo estudio. En otras palabras, el error en la medición atenúa la fuerza de asociación verdadera que exista en la población de estudio. A menor sensibilidad y especificidad mayor será el número de observaciones requeridas para evitar un error Tipo II.²⁰

Lo anterior se cumple, bajo la premisa de que la imperfección en el instrumento de medición utilizado; se distribuye aleatoriamente tanto en los individuos enfermos como en los sanos si se trata de evaluar el daño en salud, o bien entre los individuos expuestos como en los no expuestos a xenobióticos. De esta forma se conoce al error de medición aleatorio como sinónimo de error no diferencial.²⁰

El ahorro en términos de tamaño muestral, por la utilización de biomarcadores de exposición (dosis interna, dosis biológicamente efectiva), se puede extrapolar del siguiente cuadro.²¹ Como se

puede observar, a medida que la correlación entre el indicador de exposición y el valor verdadero es menor el tamaño muestral aumenta, de tal forma que para una correlación de 0.5 se requeriría una muestra de sujetos cuatro veces mayor a la estimada asumiendo una medición perfecta de la exposición. De esta forma, un biomarcador podría tener mejor correlación con el valor verdadero de la exposición de interés, que la medición por medio de un cuestionario, y en estos términos reducir el tamaño muestral de los individuos a estudiar (Cuadro I).

Cuadro I. Ajuste del tamaño muestral por error de medición en la exposición

Correlación* (A)	Factor de Ajuste (1 / p ²)
0.1	100.0
0.2	25.0
0.3	11.1
0.4	6.3
0.5	4.0
0.6	2.8
0.7	2.0
0.8	1.6
0.9	1.2
1.0	1.0

*Correlación entre el valor *verdadero* v la medición imperfecta
Fuente: McKeown-Eyssen GE, Tibshirani R. Am J Epidemiol, 1994.⁽²¹⁾

Por otro lado, es común escuchar la pregunta ¿por qué muchos fumadores no desarrollan cáncer de pulmón? Se ha estimado que para los fumadores, el riesgo acumulado de manifestar de forma clínica el cáncer de pulmón es de 10%, por lo que el 90% de fumadores restantes no desarrolla esta neoplasia. La variabilidad interindividual o susceptibilidad genética, puede modificar entonces el riesgo de padecer cáncer de pulmón. Los niveles en los que el benzo(a) pyreno (compuesto carcinógeno que se encuentra presente en el tabaco) forma enlaces con el DNA, varían de 12 a 100 veces entre fumadores.²² Así mismo se estima que el 40% de la población general carece de la clase μ de la enzima glutatión transferasa lo cual incrementa el riesgo de padecer cáncer de pulmón.²³

La susceptibilidad genética puede ser diferente en cada una de las etapas que se muestran en el siguiente diagrama, desde la exposición hasta que se presenta la enfermedad.²² Los estudios epidemiológicos se limitan a observar los extremos en este figura: exposición y enfermedad, de tal forma que en ocasiones se obtiene por ejemplo, que un factor aumenta la probabilidad de desarrollar determinada enfermedad en un grupo de estudio, mientras que en otro grupo no tiene efecto alguno e incluso éste puede ser protector, es decir, que se identifica la presencia de un modificador del efecto. (Figura 1) a nivel poblacional y no molecular.

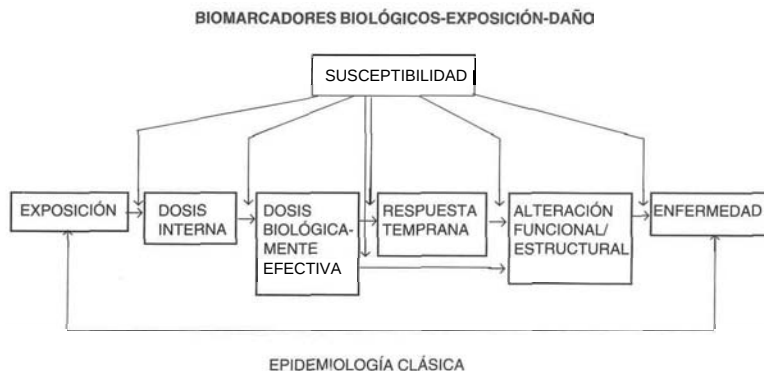
En resumen la utilización de biomarcadores en epidemiología puede mejorar la estimación de las relaciones dosis-respuesta y la identificación de mecanismos etiológicos por los cuales se modifican los efectos a través de los individuos.

En este contexto, el desarrollo y las perspectivas de la epidemiología molecular están en función del conocimiento de la tecnología disponible para contar con biomarcadores válidos. Este es un requerimiento de vital importancia. No obstante, los hallazgos citados al principio de este documento acerca de la correlación entre el número de cigarrillos fumados y la presencia de aductos de DNA en tejido pulmonar, no han demostrado con certeza la correlación entre aductos de DNA en glóbulos rojos y tejido pulmonar de un individuo fumador.²⁴ Es decir, el hecho de que existan aductos

de DNA en el tejido pulmonar de fumadores y que éstos sean proporcionales a la cantidad de cigarrillos fumados no es una evidencia de causalidad entre su presencia y el cáncer de pulmón. Aún más, la ausencia de aductos de DNA en glóbulos rojos de fumadores sugiere la falta de especificidad de este biomarcador.

Así mismo, la utilidad de la epidemiología molecular en función de la capacidad que se tenga para identificar biomarcadores de exposición crónica y de daño, mucho tiempo antes de que éste se presente. En el caso ya mencionado de la medición de cotinina en saliva, es importante recordar que su presencia sólo evalúa la exposición reciente al tabaco, lo cual no es más útil que obtener la historia de tabaquismo 10 ó 15 años atrás, por medio de un cuestionario estructurado.

El éxito de la epidemiología molecular conlleva también la existencia de los recursos humanos capacitados y la infraestructura de laboratorio necesaria para aplicar dicha tecnología. Hay que recordar que los estudios epidemiológicos involucran poblaciones de cientos y en ocasiones miles de sujetos, por lo que la factibilidad de utilizar biomarcadores a nivel poblacional debe ser evaluada en términos logísticos y de su costo relativo en cuanto a las técnicas de recolección convencionales (cuestionarios, expedientes etc...). Las técnicas de medición de la exposición y/o enfermedad que sean no invasivas, de bajo costo, reproducibles



FUENTE: HULKA B. ET AL 1990.²²

bles y aplicables a grandes poblaciones, serán sin duda las elegidas.

El potencial de aplicación de la epidemiología molecular trasciende los estudios epidemiológicos sobre causalidad, ya que los biomarcadores pueden ser utilizados también en programas de vigilancia epidemiológica, para identificar poblaciones de alto riesgo, así como para la evaluación de intervenciones poblacionales.

En el caso de México se observa una tendencia creciente en favor no sólo de la implementación y reconocimiento de los resultados de estudios epidemiológicos, sino también en la incorporación de biomarcadores en ellos. Basta mencionar la investigación que se ha realizado con relación a la presencia del virus del papiloma humano y la incidencia de cáncer del cuello uterino en mujeres mexicanas.²⁵ Así como la investigación original que se desarrolla sobre la exposición al plaguicida organoclorado DDT (Dicloro difenil tricloroetano) en mujeres con cáncer mamario, área en la cual se están tratando de identificar los biomarcadores de susceptibilidad genética y daño subclínico, que ayudan a elucidar los mecanismos de acción potencialmente carcinógena de dicho compuesto.²⁶

No obstante, los esfuerzos mencionados, la epidemiología molecular en un campo incipiente en nuestro país que habrá de consolidarse en la medida en que se identifiquen intereses de investigación comunes entre epidemiólogos y biólogos moleculares, y se elaboren en consecuencia protocolos de investigación de mayor alcance para contribuir al desarrollo del conocimiento científico y la solución de problemas prioritarios de salud pública en México.

Referencias

- Doll R, Hill AB. Smoking and carcinoma of the lung. Preliminary report. *BMJ* 1950;2:739-48.
- Wynder EL, Graham EA. Tobacco smoking as a possible etiologic factor in broncho-epithelial carcinoma. *JAMA* 1950;143:329-36.
- Levin ML, Goldstein H, Gerhardt PR. Cancer and tobacco smoking. A preliminary report. *JAMA* 1950;143: 336-8.
- Doll R, Hill AB. The mortality of doctors in relation to their smoking habits. A preliminary report. *BMJ* 1954;1:1541-5.
- Doll R, Hill AB. Lung cancer and other causes of death in relation of smoking. A second report on the mortality of the British doctors. *BMJ* 1956;2:1071-81.
- Fisher RA. Lung cancer and cigarette? (Letter.) *Nature* 1958;182:108.
- Fisher RA. Cancer and smoking. (Letter.) *Nature* 1958;182:596.
- Berkson J. The statistical study of association between smoking and lung cancer. *Mavo C in Pros* 1955;30 319-47.
- Eysenck HJ, Tarrant M, Woolf M. Smoking and personality. *Br Med J* 1960;1:1456-60.
- Wynder EL, Graham EA, Croninger AB. Experimental Production of carcinoma with cigarette tar. *Cancer Res* 1953;13:855-64.
- Graham EA, Croninger AB, Wynder EL. Experimental Production of carcinoma with cigarette tar. IV Successful experiments with rabbits. *Cancer Res* 1957;17:1058-66.
- Wynder EL, Hoffman D. A study of tobacco hydrocarbons. *Cancer* 1959;12:1079-86.
- Phillips DH, Hower A, Martin CN, y col. Correlation of DNA adduct levels in human lung with cigarette smoking. *Nature* 1988;336:790-792.
- Hammond SK, Coghlin J, Gann PH, y col. Relationship between environmental tobacco smoke exposure and carcinogen-haemoglobin adduct levels in non-smokers.
- Higginson J. The role of the pathologist in environmental medicine and public health. *Am J Pathol* 1977;86:459-484.
- Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology and carcinogen-DNA adduct detection: New approaches to studies of human cancer causation. *J Chronic Dis* 1982;35:581-600.
- Lilienfeld AM, Lilienfeld DE. Fundamentos de epidemiología. Venezuela: Fondo Educativo Interamericano, 1983.
- Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. Epidemiologic research. Nueva York: Van Nostrand Reinhold Company, 1982.
- McMichael AJ. Biomolecular Epidemiology: New pathway or new travelling companion? *Am J Epidemiol* 1994;140:1-11.
- Kelsey JL, Thompson WD, Evans AS. Methods in observational epidemiology. Nueva York: Oxford University Press 1986:285-308.
- McKeown-Eyssen GE, Tibshirani R. Implications of measurement error in exposure for sample size of case-control studies. *Am J Epidemiol* 1994;139:415-421.
- Hulka BS, Wilcosky TC, Griffith JD. Biological markers in epidemiology. Nueva York: Oxford University Press, 1990:1-15.
- Smith MT, Suk AW. Application of molecular biomarkers in epidemiology. *Environ Health Perspect* 1994;102:229-235.
- Garner C. Molecular potential. *Nature* 1992;360:207-208.
- Lazcano E, López L, Alonso de Ruiz P, y col. Determinantes infecciosos, reproductivos y nutricionales de cáncer cervic. en México. En *Resumos Congresso Brasileiro II Congresso Ibero-Americano I Congresso Latino-Americano*. la. Mostra de Tecnologia em Epidemiologia-EPITEC. Salvador Bahia, Brasil, 1995:73.
- López-Carrillo L, Torres-Arreola L, Torres-Sánchez L, y col. Is DDT use a public health problem in Mexico? *Environ Health Perspect* 1996; 104: En Prensa.