

CONFERENCIA

“Actividad antitumoral del propóleo”

DEPARTAMENTO TÉCNICO
DIETÉTICOS INTERSA

- **Maribel Saiz**
Lda. C. Biológicas (Directora Departamento).
- **Caridad Lobo**
Lda. Farmacia (Directora Técnica).
- **Juan Serrano**
Ldo. C. Biológicas.

Introducción:

El Propóleo, etimológicamente es una palabra derivada del griego (Pro- “delante de” y – polis “ciudad”), designa así que esta sustancia se encuentra en la entrada y en el interior de la colmena o polis de las abejas.

El propóleo designa algunas sustancias gomosas y resinosas que segregadas por la corteza y yemas de algunas plantas, son procesadas con secreciones glandulares de las abejas hasta conseguir el producto final conocido como propóleo, y que va a ser utilizado para diferentes necesidades de la colmenas, tales como pegar fuertemente las partes móviles o rompibles que puedan caer, o evitar posibles infecciones en la colmena, constituyendo una especie de barrera en la entrada de la colmena.

Composición química:

Dadas las diferentes fuentes de recolección de el propóleo, su composición química es variable y compleja (*anexo 1*). Se han descrito cerca de 50 compuestos, mayoritariamente compuestos fenólicos (*anexo 3*) (1) como ácidos bezoicos, ácidos cinámicos, ácidos cafeicos o flavonoides entre otros, así como resina y bálsamos (50-60%), ceras (30-40%), ácidos etéreos (7-10%), polen (5%), cumarina, crisina, sustancias minerales y vitaminas.

El propóleo exhibe un amplio espectro de actividades terapéuticas destacando la actividad antibiótica, antiviral y antiinflamatoria (*anexo 2*).

El objeto del presente trabajo es una exhaustiva revisión bibliográfica de un aspecto muy poco estudiado pero no por ello menos interesante como es la acción antitumoral del propóleo y sus derivados.

Estudios con ésteres del ácido cafeico: (*anexo 4*)

Rao et al. (1992) sintetizan tres esterres del ácido cafeico (AC) (2), denominados metil cafeato (MC), feniletil cafeato (PEC), y feniletil dimetil cafeato (PEDMC) y estudian su actividad frente a DMBA (carcinógeno mamario y de colón) (*anexo 5*), encontrando que se inhibía significativamente el crecimiento de células HT-29 de adenocarcinoma de colon (*anexo 6*), así como la síntesis de DNA, RNA y proteínas. Por otra parte, estudian las actividades enzimáticas de ornitina descarboxilasa (ODC), enzima experimentalmente indicadora de la proliferación celular, que cataliza la formación de putrescina; y proteína tirosina kinasa (TPK), enzima que fosforila restos de tirosina de las proteínas, siendo este un mecanismo por el cual los factores de crecimiento indican a las células que inicien el crecimiento, como el caso de ciertas células cancerosas (3); resultando que las actividades de estas dos enzimas eran inhibidas en las mismas células HT-29 a diferentes concentraciones de los tres compuestos estudiados.

Estos mismos autores una vez establecido la potente inhibición en el crecimiento tumoral de colon humano por esterres del ácido cafeico, sugieren que estos compuestos poseen actividad antitumoral frente a carcinogénesis de colon (4). Para ello, inducen

carcinogénesis con azoximetano (AOM) y estudian los efectos que tienen MC, PEC en la dieta sobre ODC, TPK y en el metabolismo del ácido araquidónico en hígado y mucosa de colon en ratas.

Los resultados indican que PEC inhibe significativamente las actividades enzimáticas de ODC y TPK en hígado y colon. Asimismo, suprimen los metabolitos resultantes de la acción lipooxigenasa (*anexo 7*), ácido 8(S)- y 12(S)-hidroxieicosatetraenoico (HETE).

Los animales alimentados con MC exhibían un moderado efecto inhibitorio sobre la actividad ODC y los niveles de HETE, así como un efecto significativo en la actividad TPK en colon.

Por el contrario, MC y PEC en la dieta no mostraban efectos inhibitorios significativos en el metabolismo ciclooxigenasa.

En estudios “in vitro”, AC y MC mostraban efectos inhibitorios en la formación de HETE sólo a concentraciones de 100 μ -M, mientras que PEC, PEMC y PEDMC suprimían la formación de HETE de forma “dosis-dependiente”.

Estos mismos autores (1995), estudian mediante carcinogénesis inducida por AOM, la acción quimiopreventiva examinando el efecto modulador en la dieta de PEMC sobre las actividades de PI-PLC, fosfolipasa A-2, lipooxigenasa (LOX) y ciclooxigenasa en mucosa y tejido tumoral de colon en ratas (5), dando los siguientes resultados:

PEMC en la dieta inhibe significativamente la incidencia de adenocarcinoma de colon, suprime el volumen tumoral de colon en un 45%, inhibe significativamente la actividad de PI-PLC (en mucosa y tumor) en un 50%, inhibe la formación de tumor de colon en un 15-30% en función de la concentración, no teniendo efectos sobre la actividad de fosfolipasa A-2. La producción de HETE fue reducida tanto en mucosa como en tumor (30-60%) en animales alimentados con PEMC comparado con los alimentados con la dieta control. PEMC no tenía efecto en la formación de metabolitos catalizados por ciclooxigenasa en mucosa pero inhibía la formación de éstos en tumor (15-30%).

Podríamos resumir en relación a estos principios activos que:

- 1) Los ésteres del ácido cafeico poseen propiedades quimiopreventivas.
- 2) PEC, PEMC y PEDMC inhiben en carcinogénesis inducida por AOM lesiones preneoplásicas de colon, así como las actividades enzimáticas de ODC, TPK y actividad lipooxigenasa, hechos relevantes en carcinogénesis de colon.
- 3) Falta elucidar el mecanismo de inhibición de PEMC en la tumorigénesis de colon, pero la acción quimiopreventiva puede ser en parte debida a:
 - 1- a la acción moduladora sobre PI-PLC.
 - 2- a la acción sobre el metabolismo del ácido araquidónico mediado por LOX.

Estudios realizados con CAPE:

Sin embargo, la mayoría de las investigaciones se centran en un principio activo aislado cromatográficamente del propóleo denominado Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE), el cual es citotóxico al tumor y a la transformación vírica pero no a las células normales.

Frenkel et al. (1993) inducen carcinogénesis química con 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato, e intentan establecer si CAPE inhibe la promoción del tumor (6) . Para ello, aplican tratamientos tópicos de CAPE en ratones a bajas dosis (0.1-6.5 nmol/tratamiento tópico) que inhiben fuertemente el proceso oxidativo mediado por (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato) que es considerado esencial para la promoción del tumor. Una concentración de 0.5 nmol de CAPE suprime la explosión metabólica oxidativa (*anexo 8*) de los leucocitos polimorfonucleares en un 50%. A altas dosis (1-10 μ -mol), CAPE inhibe la actividad enzimática de ornitina descarboxilasa (ODC).

Esto demuestra que CAPE es un potente agente quimopreventivo, pudiendo ser usado también en enfermedades que cursen con componentes de estrés oxidativo como varios tipos de cáncer.

Su et al. (1991) investigan el efecto tóxico diferencial de CAPE, por el cual éste es citotóxico al tumor y no a las células normales (7), estudiando la transformación de fibroblastos (*anexo 9*) embrionarios (CREF) mediante adenovirus (*anexo 10*) tipo 5 (Ad5); el genoma de este adenovirus proporciona una importante herramienta para estudiar la función de la supresión tumoral (8) . Los resultados que obtienen indican que la sensibilidad adquirida de CREF a CAPE puede ser debida a la transcripción en dichas células transformadas por el adenovirus de una proteína de 289 aminoácidos (sola o conjuntamente con otra proteína de 243 aminoácidos).

Su et al. (1994) completan el anterior estudio (9), encontrando que la acción de CAPE no suprime el crecimiento/toxicidad de las células transformadas como simple expresión génica de Ad5 E1A (gen transformador del adenovirus) sino que la sensibilidad al CAPE esta directamente determinada por el grado de expresión fenotípica. Estos resultados aportan una evidencia adicional que CAPE puede representar un compuesto único que puede fijarse específicamente en células en transformación o transformadas suprimiendo el crecimiento tumoral.

Una vez establecido que CAPE reconoce específicamente más el fenotipo que una determinada proteína en células transformadas, se han realizado estudios sobre su efecto sobre dos líneas celulares: melanoma humano (HO-1) y glioblastoma multiforme humano (GMB-18) (10), estableciéndose que inhibe el crecimiento en ambas líneas, si bien es más eficaz en la línea celular HO-1. En esta última línea celular la supresión del crecimiento estuvo asociada a cambios morfológicos celulares sugiriendo un posible papel de CAPE como un posible agente inductor de la diferenciación.

La identificación del modo de acción por el cual CAPE ejerce una toxicidad selectiva sobre células transformadas por un amplio espectro de oncogenes sería fundamental para posibles aplicaciones del propóleo en terapia antitumoral. Su et al.(1995) estudian mediante transformación de CREF por oncogenes el mecanismo fundamental por el cual se incrementa la sensibilidad de las células transformadas al CAPE (11), resultando

que existe una relación directa entre los efectos citotóxicos de CAPE y la inducción a la fragmentación del DNA y apoptosis (*anexo 11*) (la apoptosis en las células tumorales es fundamental, ya que una interrupción en las rutas apoptóticas es el principal factor en el proceso de tumorigénesis, mientras que la inducción de la apoptosis es importante para la supresión tumoral y por tanto en la terapia oncológica). Esta relación sólo ocurre en células transformadas, independientemente del modo de acción del agente oncogénico mientras que las células no transformadas son resistentes a la toxicidad de CAPE y apoptosis.

Los autores intentan ahora identificar el gen así como cambios en la expresión de las proteínas inducidas por CAPE en células transformadas Wt3A (12). Para ello, se extrae el mRNA de las células Wt3A, después de tratamiento con CAPE y se procede a su identificación mediante electroforesis en geles bidimensionales de alta resolución comparando los cambios aparecidos con los marcadores (proteínas de tamaño conocido) de varias poblaciones celulares con el fin de identificar familias de polipéptidos responsables de la regulación de proteínas celulares durante la inducción de apoptosis por CAPE. Se observan 52 manchas nuevas y 51 que han desaparecido, que se pueden identificar mediante hibridación molecular con su DNA complementario a fin de disponer de una genoteca.

Chia et al. (1995) demuestran que CAPE induce apoptosis y esta toxicidad es influenciada por el estado redox de las células (13). CAPE puede modular el estado redox de las células. La sensibilidad de las células a CAPE puede ser determinada por la pérdida de la regulación del estado redox (*anexo 12*) normal en las células transformadas.

CAPE inhibe 5-lipooxigenasa (14) en el rango de concentración micromolar. Esta inhibición es de tipo no competitivo, dependiente de la dosis y reversible (15). El inhibidor se une al complejo enzima-sustrato pero no a la enzima libre.

CAPE también posee propiedades antioxidantes, bloqueando completamente la producción de especies de oxígeno reactivo en neutrófilos humanos y el sistema xantina-xantina oxidasa (15).

Huang et al. (1996) utilizan tratamientos tópicos de CAPE (1, 10, 100 y 3000 nmol) aplicados en ratón tras carcinogénesis química con DMBA/TPA (16), resultando que CAPE inhibe el número de papilomas formados por ratón (24, 30, 45- 70%, respectivamente), así como decrece el nivel de residuos HmdU en DNA epidermal (40-93%). Cuando se añade CAPE a un cultivo de células HeLa se inhibe la síntesis de DNA (32-95%), la síntesis de RNA (39-75%), y la síntesis proteica (29-47%), así como la formación de H₂O₂ intracelular y bases oxidadas en DNA tratados con TPA.

Con el fin de determinar la base molecular por el cual CAPE posee una actividad inmunomoduladora, se examina el efecto de CAPE y su relación con el factor de transcripción NF-kappa-B (*anexo 13*) (17).

Los resultados indican que la activación del factor nuclear NF-kappa-B por el factor de necrosis tumoral (TNF) está completamente bloqueada por CAPE impidiendo la traslocación de la subunidad p65 del activador molecular NF-kappa-B al núcleo y no tenía efectos significativos en la degradación de I-kappa-B-alpha, pero retardaba la resíntesis de I-kappa-B-alpha. El efecto de CAPE en la inhibición de NF-kappa-B en la unión al DNA es específica.

Que CAPE sea un potente y específico inhibidor del factor de transcripción NF-kappa-B es muy importante, ya que éste activador molecular tiene un papel clave en la regulación del crecimiento y la muerte celular. Las células proliferativas mueren al menos que estén presentes los factores de crecimiento, que proporcionan una protección frente al cáncer. Cuando éste proceso falla, las células de proliferación pierden el control. En este proceso están implicados los protooncogenes *ras* y *akt* (18).

Como resumen de las propiedades del activo constituyente del propóleo (CAPE):

- Propiedad antimitogénica.
- Propiedad anticarcinogénica.
- Propiedad inmunomoduladora
- Potente agente quimiopreventivo

Estudios realizados con extractos de propóleo:

Son varios también los estudios realizados con extractos de propóleo, en el que se comprueba un extracto etanólico de propóleo (EEP) como agente protector frente a radiación gamma (19). Los ratones eran expuestos mediante una fuente ⁶⁰Co a 6 Gy de radiación gamma, y fueron tratados intraperitonealmente con EEP, administrado antes y después de ser irradiados. Así, mientras los ratones no tratados morían en el plazo de 12 semanas, los que habían recibido series de EEP sobrevivían a la radiación, además de que el recuento de leucocitos y la actividad de formación de plaquetas retornaban a los valores normales. Esto sugería que un antioxidante y “scavenger” de radicales libres en el EEP era el responsable de los efectos radioprotectivos.

Volpert et al. (1996) investigan los efectos de diferentes extractos (etanólicos y acuosos) de propóleo sobre las más importantes enzimas de leucocitos: mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y lipooxigenasa (20), encontrando que solo altas concentraciones de extractos de propóleo inhiben la actividad de las citadas enzimas, pero especialmente los derivados acuosos muestran efectos estimulantes en la actividad mieloperoxidasa comercial. Las actividades mieloperoxidasa y NADPH oxidasa de leucocitos fueron claramente inhibidas por extractos de propóleo probablemente indirectamente debido a su excelente propiedad “scavenger”. Probablemente la capacidad antioxidativa de EEP sea parcialmente debida al alto contenido en flavonoides del propóleo (21).

Scheller et al. (1990) demuestran la facultad de “scavenging” de un EEP por electron spin resonance spectroscopy, con 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), tratado con concentraciones crecientes de EEP (22). Se demostró que la intensidad de señal de DPPH era inversamente relacionada con la concentración de EEP y al tiempo de reacción, lo que demuestra la facultad de componentes del EEP en donar átomos de hidrógeno siendo el responsable de la reducción de la señal DPPH-EEP, y reflejando la naturaleza antioxidativa del EEP.

La acción de “scavenging” de EEP (5-9 µg/ml) procedentes de dos tipos de propóleo, en concreto frente al radical alcoxy fue similar al producido por 0.11 µg/ml de alfa-tocoferol, siendo menor la actividad de “scavenging” frente a radical superóxido (23).

Volpert et al. (1993) compara extractos acuosos con extractos etanólicos de propóleo (24) resultando que los extractos acuosos presentan mayores actividades antioxidantes e inhibitorias que los extractos etanólicos (24).

Matsuno (1995) aísla un principio activo de propólis procedente de Brasil (25) y es caracterizado como un nuevo diterpenoide clerodane (PMS-1). Este compuesto a concentración de 10 µg/ml inhibe el crecimiento de carcinoma hepatocelular humano (células HuH 13), revelando por citometría de flujo que arrastra a las células tumorales a la fase S. Este

componente también ejercía citotoxicidad sobre carcinoma de pulmón humano y HeLa, mostrando sin embargo menos efectividad sobre células renales.

Cuando se estudia este mismo componente (26) sobre tumorigénesis de piel y el desarrollo de tumores de piel inducidos químicamente (7,12-dimetilbenzantraceno) y aplicados en ratones, resulta que PMS-1 reduce la incidencia de tumores de piel, así como el crecimiento por la inhibición de la síntesis de DNA.

Scheller et al. (1989) estudian el efecto antitumoral de un extracto etanólico de propóleo (EEP) en carcinoma de Ehrlich en ratones (27). Se compara la supervivencia con bleomicina, resultando que la supervivencia es mayor en ratones tratados con EEP que los tratados con bleomicina, mientras que los tratados con ambos compuestos (EEP + bleomicina) se acortaba la supervivencia con respecto al grupo control, concluyendo que mientras la actividad “in vivo” de bleomicina es reducida en presencia de inhibidores de la citocromo C-reductasa (como algunos de los componentes de EEP), la propiedad antitumoral de EEP en un modelo animal estudiado es significativa y duradera.

Con el fin de investigar los posibles mecanismos de la acción terapéutica del propóleo, se estudia los efectos de los componentes de este: CAPE, ácido cafeico (CA), quercitina y naringenina, así como otros compuestos sintéticos tales como: indometacina (IM) y el ácido nordihidroguairético (NDGA), siendo el CAPE de todos estos compuestos examinados el mayor potente modulador de la cascada del ácido araquidónico (28).

Últimas investigaciones:

Chen et al. (2001) (en la línea de células leucémicas humanas HL-60) sugieren que la muerte celular programada inducida por CAPE está asociada con una disfunción mitocondrial, una reducción del glutatión reducido (GSH), y un “scavenging” selectivo de peróxido de hidrógeno (33).

Na et al. (2000), conocida la característica de muchos tipos de cáncer e cuanto a la deficiencia en la comunicación intercelular de la estructura gap junction (GJIC) (*anexo 14*), obtienen unos resultados compatibles con la hipótesis que el mecanismo antitumoral de CAPE puede estar mediado por su capacidad en restaurar GJIC (34).

Matsuno et al. (1997) identifican el diterpenoide clerodane (PMS-1) referido anteriormente como ácido 3,5-diprenil-4-hidroxi cinámico (Artepillin C) (29) con un peso molecular de 300.40 que además posee una actividad antibacteriana. Este efecto citotóxico puede ser atribuido en parte a la fragmentación del DNA y apoptosis. Este principio exhibía una actividad antitumoral más efectiva que 5-fluorouracil (agente quimioterápico de ciertas afecciones neoplásicas) en ensayos realizados en cultivos histológicos.

Kimoto et al. (1998) observan efectos citotóxicos y una clara inhibición en el crecimiento de células tumorales humanas al aplicar artepillin C (30), ocasionando un daño significativo tanto en tumores sólidos como en células leucémicas, siendo los efectos citotóxicos más sensibles frente a carcinomas y melanomas.

Histologicamente se observa apoptosis, mitosis abortadas y necrosis masivas después de la inyección intratumoral de 500 microgramos de artepillin C. También se observa

adicionalmente a la supresión del crecimiento tumoral, un incremento en la relación CD4/CD8, así como en el número total de células T helper. La combinación de todas estas observaciones indican que artepillin C:

- activa el sistema inmunológico.
- posee una actividad antitumoral directa.

Banskota et al. (1998) aíslan varios principios a partir de un extracto metanólico de propóleo (31), observando que cuatro de los veintitrés compuestos estudiados mostraban una potente citotoxicidad frente a fibrosarcoma humano (HT-1080) y carcinoma de colón en ratas (26-L5).

Choi et al. (1999) estudian dos clases de propóleo: uno procedente de Corea y otro comercial, los cuales inducen apoptosis en la línea celular de hepatoma humano (SNU 449), observando que no existen diferencias entre ambos propóleos, en la inducción de la apoptosis (32).

Conclusiones:

Todos los estudios realizados hasta la actualidad indican que además del amplio espectro de actividades biológicas del propóleo, habría que añadir la propiedad antitumoral. No obstante, sería el momento de corroborar dada la escasez de estudios, los resultados obtenidos con pruebas clínicas que confirmen el uso del propóleo como parte de la terapia antineoplásica.

Bibliografía:

- (1) GONZALEZ E, ORZAEZ MT: Estudio del propóleo: Origen e importancia de los compuestos fenólicos en su composición. *Alimentaria*, 103, 103-107, 1997.
- (2) RAO, CV et al: Effect of caffeic acid esters on carcinogen-induced mutagenicity and human colon adenocarcinoma cell growth. *Chemico-Biological Interactions*, 84(3): 277-290, 1992.
- (3) DARNELL et al: *Biología Celular y Molecular*. Editorial Labor, S.A. (1988).
- (4) RAO, CV. et al: Inhibitory effect of caffeic acid esters on azoxymethane-induced biochemical changes and aberrant crypt foci formation in rat colon. *Cancer Research*, 53(18): 4182-4188. 1993.
- (5) RAO, CV. et al: Chemoprevention of colon carcinogenesis by phenylethyl-3-methylcaffeate. *Cancer Research*, 55(11): 2310-2315. 1995.
- (6) FRENKEL, K. et al: Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. *Cancer Research*, 53(6): 1255-1261. 1993.
- (7) SU, ZZ. et al: Suppression of adenovirus type 5 E1A-mediated transformation and expression of the transformed phenotype by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Molecular Carcinogenesis*, 4(3):231-242. 1991.
- (8) DENG, J. et al: Adenovirus 5 E1A-mediated tumor suppression associated with E1A-mediated apoptosis in vivo. *Oncogene*, 17(17): 2167-75. 1998.
- (9) SU, ZZ. et al: Growth suppression and toxicity induced by CAPE in type 5 adenovirus-transformed rat embryo cells correlates directly with transformation progression. *Cancer Research*, 54(7): 1865-1870. 1994.
- (10) GUARINI, L. et al: Growth inhibition and modulation of antigenic phenotype in human melanoma and glioblastoma multiforme cells by CAPE. *Cellular and Molecular Biology (Oxford)*, 38(5), 513-527. 1992.
- (11) SU, ZZ et al: Apoptosis mediates selective toxicity of CAPE toward oncogene-transformed rat embryo fibroblast cells. *Anticancer Research*, 15(58): 1841-1848. 1995.

- (12) LETKOVITS, I et al: CAPE profoundly modifies protein synthesis profile in type 5 adenovirus-transformed cloned rat embryo fibroblast cells. *International Journal of Oncology*, 11(1), 59-67. 1997.
- (13) CHIAO, C. et al: Apoptosis and altered redox state induced by CAPE in transformed rat fibroblasts cells. *Cancer Research*, 55(16): 3576-2583. 1995.
- (14) SUDINA, GF. et al: CAPE as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS (Letters)*, 329(1-2): 21-24. 1993.
- (15) MIRZOEVA, OK. et al: Lipophilic derivatives of caffeic acid as lipoxygenase inhibitors with antioxidant properties. *Bioorganicheskaya Khimiya*, 21(2): 143-151. 1995.
- (16) HUANG, MT. et al: Inhibitory effects of CAPE on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells. *Carcinogenesis (Oxford)*, 17(4): 761-765. 1996.
- (17) NATARAJAN, k. et al: CAPE is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa-B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(17): 9090-9095. 1996.
- (18) MAKAROV, SS. et al: *Nature*, 401, 82-85. 1999.
- (19) SCHELLER, S. et al: The ability of EEP to protect mice against gamma irradiation. *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, 44(11-12): 1049-1052. 1989.
- (20) VOLPERT, R. et al: Interactions of different extracts of propolis with leukocytes and leukocytes enzymes. *Arzneimittel-Forschung*, 46(1): 47-51. 1996.
- (21) KROL, W. et al: Anti-oxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochemistry International*, 21(4): 593-598. 1990.
- (22) SCHELLER, S. et al: Free radical scavenging by EEP. *International Journal of Radiation Biology*, 57(3): 461-466. 1990.
- (23) Pascual, C. et al: Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *Journal of Ethnopharmacology*, 41(1-2): 9-13. 1994.
- (24) VOLPERT, R. et al: Biochemical activities of propolis extracts: I-II. Standardization and antioxidative properties of ethanolic and aqueous derivatives. *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, 48(11-12): 851-857. 1993.
- (25) MATSUNO, T.: A new clerodane diterpenoid isolated from propolis. *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, 50(1-2):93-97. 1995.
- (26) MITAMURA, T. et al: Effects of a new clerodane diterpenoid isolated from propolis on chemically induced skin tumors in mice. *Anticancer Research*, 16(5^a): 2669-2672. 1996.
- (27) SCHELLER, S. et al: Antitumoral property of EEP in mice-bearing Ehrlich carcinoma, as compared to bleomycin. *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, 44(11-12): 1063-1065. 1989.
- (28) MIRZOEVA, OK. et al: The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 55(6): 441-449. 1996.
- (29) MATSUNO, T. et al: Preferential cytotoxicity to tumor cells of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillin C) isolated from propolis. *Anticancer Research*, 17(5^a): 3565-8. 1997.
- (30) KIMOTO, T. et al: Apoptosis and suppression of tumor growth by artemillin C extracted from Brazilian propolis. *Cancer Detect Prev.*, 22(6): 506-15. 1998.
- (31) BANSKOTA, AH. et al: Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. *J. Nat. Prod.*, 61(7): 896-900. 1998.
- (32) CHOI, YH. et al: Apoptosis induced by propolis in human hepatocellular carcinoma cell line. *Int. J. Mol. Med.*, 4(1): 29-32. 1999.
- (33) CHEN, YJ et al: The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells. *Anticancer drugs*, 12(2): 143-9. 2001.
- (34) NA, HK et al. Restoration of GJCI by CAPE in a ras-transformed rat liver epithelial cell line. *Cancer lett.*, 157(1): 31-8. 2000.

NATURA MEDICATRIX N°56-57 (ENERO-MARZO, 2000).

ANEXO 1

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PROPOLEO

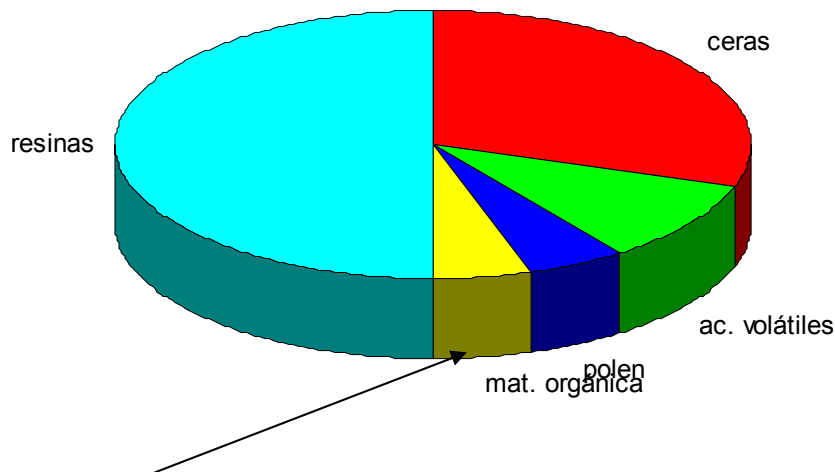
Para poder profundizar en la investigación de las posibles aplicaciones bioquímicas, farmacológicas y clínicas del propóleo, ha sido necesario llegar a establecer y conocer cuál es su composición química.

Durante los últimos años se ha registrado un gran progreso en cuanto a la composición química del propóleo.

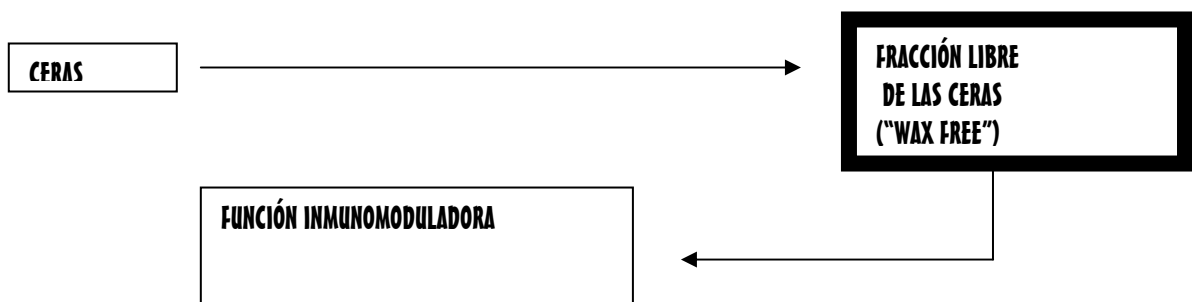
Esta es bastante compleja y depende de la fuente vegetal. Básicamente se compone de:

- Resinas y bálsamos.....50-55%
- Cera..... 25-35%
- Aceites volátiles..... 10%
- Polen..... 5%
- Sustancias orgánicas y minerales..... 5%

COMPOSICIÓN MEDIA DEL PROPOLEO



- Flavonoides (galangina, quercitina, etc.)
- Ácidos aromáticos y sus ésteres (ácido cafeico, cinámico...)
- Aldehídos aromáticos (vainillina, isovainillina)
- Cumarinas
- Vitaminas y minerales.



ANEXO 2

ACTIVIDAD TERAPÉUTICA

Se tiene conocimiento de esta sustancia desde tiempos remotos. Ya en el antiguo Egipto, los sacerdotes lo utilizaban en forma de crema para embalsamar o como parte integrante de ungüentos y bálsamos curativos.

Aristóteles se refiere a esta sustancia como “remedio para las infecciones de la piel, llagas y supuraciones”. En el siglo XI, se emplea para desinfectar las heridas por punta de flecha, incluso en la Edad Media los maestros constructores de violines como Stradivarius lo mezclan junto con lacas y barnices para evitar su deterioro.

Esta sustancia alcanza su máximo apogeo durante la Guerra de los Boers contra los ingleses en África del Sur, en la que las heridas eran tratadas con mezclas que contenían propóleo, con un excelente resultado según los médicos militares, ya que, además de ejercer una acción antiséptica, también era capaz de cicatrizar y regenerar los tejidos dañados, evitando así muchas muertes.

Hace ya 2.500 años, Hipócrates afirmaba que las condiciones de trabajo y de vida ejercen una influencia determinante sobre el estado de salud. Con el transcurso de los siglos ha sido confirmada la influencia benéfica del trabajo en el colmenar sobre la salud y actividad vital de los apicultores.

La apiterapia, o terapia con productos de las abejas (miel, polen, propóleo, jalea real), es ya una vieja tradición avalada por diferentes investigaciones. Estos productos, usados tanto en alimentación como en medicina, están siendo objeto de una renovada atención no solamente por sus efectos beneficiosos, sino también por la tendencia actual del regreso a lo natural.

Entre los productos de la colmena, el propóleo es el que retiene más la atención de los fitoterapeutas.

Sus propiedades antisépticas y cicatrizantes son conocidas desde hace tiempo.

En la medicina popular goza de gran aceptación como tratamiento de callosidades y heridas, además de acelerador de la cicatrización de las quemaduras. En dermatología es útil, empleándose en procesos tales como abscesos, furúnculos, eccemas, verrugas y psoriasis. En odontología se utiliza para el tratamiento de abscesos bucales.

El propóleo es un excelente antiinflamatorio, de ahí que su uso en inhalaciones proporcione magníficos resultados en afecciones de las vías respiratorias superiores y de los pulmones (bronquitis, tuberculosis). Además, se establece que extractos alcohólicos de propóleo al 70% poseen propiedades antigripales. Por otra parte, también se han publicado algunos trabajos que indican los buenos resultados observados en el tratamiento de faringitis y sinusitis utilizando extractos de propóleo.

Cabe mencionar su actividad bacteriostática y bactericida, debidas principalmente a una hidroxiflavona: la galangina. Esto hace que sea utilizado en enfermedades infecciosas.

Es un buen agente antimicrobiano, particularmente contra bacterias gram-positivas. El propóleo es antifúngico y antiinflamatorio, pero no tiene capacidad antipirética. Otras investigaciones destacan este efecto antibiótico frente a cocos gram-positivos, frente a bacilos gram-positivos, algunas especies de mohos –principalmente del género *Aspergillus-* y frente a levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*).

También hay que señalar su poder como anestésico local, atribuible a los aceites etéreos presentes en su composición, ya que, sometidos éstos a destilación en una solución de propóleos, se comprueba la desaparición de esta acción.

El propóleo es la única sustancia de la colmena que se opone a los hongos, siendo los ascomicetos particularmente sensibles.

Mencionar también la alergia que este producto de la colmena puede producir, si bien es una afección rara; se trata del eccema que presentan algunos apicultores, surgiendo en la piel inflamación, manchas rojizas, e incluso llagas, que pueden agravarse, siendo las manos las más afectadas, por estar en contacto con la sustancia.

Vemos, pues, que este producto apícola se muestra como una de las más apreciadas sustancias de la colmena al que la medicina no ha concedido todavía su debido valor, si bien últimamente parece haberse incrementado su utilización, siendo la base de determinados medicamentos empleados para el tratamiento de heridas, quemaduras, como antiséptico y bactericida bucal, principalmente.

ANEXO 3

IMPORTANCIA DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS

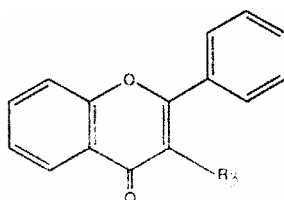
Durante los últimos años, se ha registrado un progreso notable en los conocimientos concernientes a la composición química del propóleo; se han descrito cerca de 50 compuestos, mayoritariamente compuestos fenólicos, cuya naturaleza y cantidad varían según el origen geográfico. Participan en cualidades organolépticas, tales como el aroma y el color y, además presentan actividad biológica, como germicida, antiinflamatoria y bacteriostática. Se dividen en tres familias: ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y flavonoides (flavonas, flavononas y flavonoles), que a continuación pasamos a describir.

Flavonas

Crisina

Flavonoles

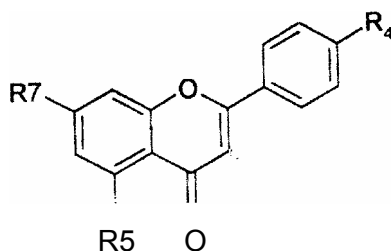
Galangina
Quercitina



Flavona R=H
Flavonol R=OH

Flavanonas

Pinicembrina



Los compuestos fenólicos, en general, y los flavonoides en particular, comprenden un grupo de sustancias muy importantes en el reino vegetal y cuya estructura deriva de un núcleo de flavona, 2 fenil-benzo-pirona. Generalmente se encuentran como heterósidos, y en algunos casos se pueden detectar como agliconas.

Dentro de este grupo destacamos primeramente los flavonoides, por ser los constituyentes principales de las resinas y bálsamos del propóleo. Su nombre deriva del griego “flava”, amarillo, y se trata de un grupo de sustancias vegetales ampliamente distribuidas en el reino vegetal y responsables de una gran parte de la pigmentación de los mismos. Son importantes para el desarrollo normal de las plantas y su defensa frente

a infecciones producidas por distintos microorganismos y además, constituyen el principio activo de bastantes medicamentos.

Una de las funciones que tienen estos compuestos en las plantas es la de actuar como señales químicas o ,marcadores de flores que guían a las abejas hacia el néctar, facilitando indirectamente la polinización. A veces, se comportan como estimulantes del apetito y de la oviposición, ya que señalan con su presencia a los insectos que se trata de plantas convenientes para su alimentación y para que depositen allí sus huevos, pues sus larvas se podrán alimentar de sus hojas cuando lo necesiten.

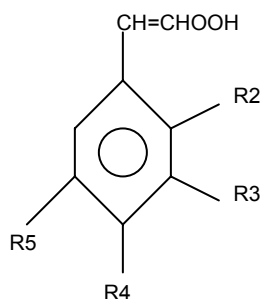
Estos compuestos fenólicos han ocupado un lugar preferente como marcadores empleados con finalidades quimiotaxonómicas; en el campo alimentario; y en el área biológica, conociéndose sus propiedades antiinflamatorias y regeneradoras de los tejidos, antibióticas, antifúngicas, anestésicas, etc.

ANEXO 4

DERIVADOS DEL ACIDO CINAMICO

Además de flavonoides, componentes mayoritarios como terminamos de ver, el propóleo también contiene una serie de ácidos fenólicos libres, si bien en bastante menor proporción, como: caféico, p-cumarico y ferúlico; ésteres del caféico como el cafeato de bencilo y cafeato de dimetil alilo. Con respecto a éstos, apenas existen datos al respecto, pero estos les implican en propiedades importantes del propóleo.

DERIVADOS DEL ÁCIDO CINÁMICO



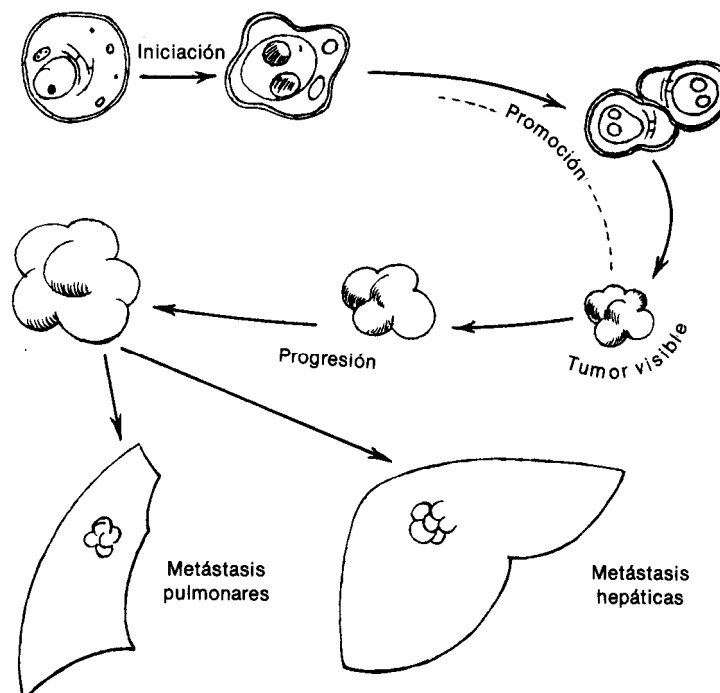
<u>Compuestos</u>	<u>R2</u>	<u>R3</u>	<u>R4</u>	<u>R5</u>
Ácido cinámico	H	H	H	H
Ácido caféico	H	OH	OH	H
Ácido p-cumárico	H	H	OH	H

ANEXO 5

CARCINOGENESIS

Concepto:

Se conoce como historia natural del cáncer el conjunto de acontecimientos que ocurren desde el inicio de la primera alteración celular hasta el final de la evolución clínica del paciente afectado de esta enfermedad.



Carcinogénesis: Características de la transformación celular

El tumor maligno primitivo se produce inicialmente por la modificación en las propiedades de una o varias células que originan una clona celular (inducción carcinogénica). La clona celular o las diferentes clonas celulares crecen y se replican, constituyendo la masa tumoral (promoción del cáncer).

El fenómeno de la inducción del cáncer conlleva una alteración en el material genético de las células somáticas, siendo hereditaria esta transformación para toda la clona derivada de las células inducidas. Desde 1929, las diferentes hipótesis que explican el proceso describen mecanismos diferentes, pero siempre alrededor de la idea de la alteración genética. Se hace hincapié, bien en una alteración primaria del DNA, y por tanto del código genético, bien en una alteración de la molécula de RNA, y por tanto a nivel de transcripción o transporte, o bien, finalmente, en una distorsión de las áreas de control del sistema genético, que modifica las situaciones de represión o “desrepresión” de determinadas unidades estructurales.

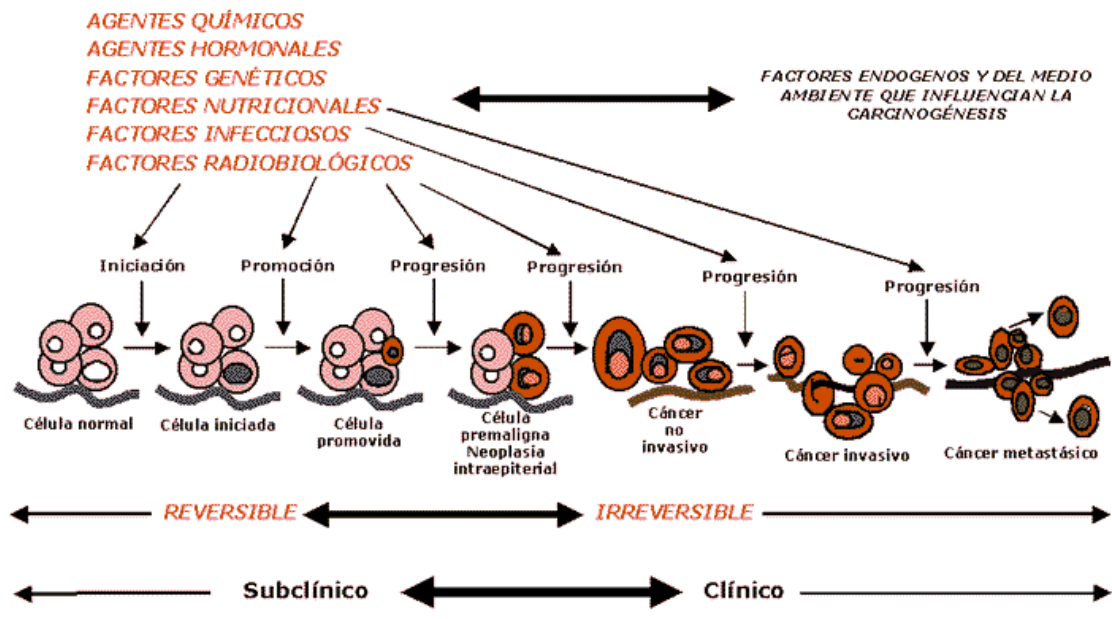
Por consiguiente, más que una teoría acabada, podríamos hablar de algunos criterios sobre el comportamiento de los tumores, repetidas veces comprobados, que deben ser necesariamente contemplados dentro de una teoría de la carcinogénesis. Estos principios podrían resumirse en los siguientes puntos:

- 1) El primer paso en la transformación neoplásica es un fenómeno local que afecta probablemente una sola célula. El tumor que resulta es, pues, de tipo clonal con propiedades nuevas (neoplásicas) transmisibles a las células hijas.
- 2) Cualquier célula del organismo es potencialmente capaz de sufrir una transformación neoplásica que da lugar a una gran variedad de tumores diferentes. A grandes rasgos, cada tumor reproduce su tipo histológico original. Cada tumor actúan individualmente con una morfología y conductas propias, por ejemplo en sus propiedades inmunitarias.
- 3) Los tumores malignos pueden ser inducidos en tejidos normales por múltiples agentes de tipo físico, químicos o biológicos.
- 4) La transformación neoplásica incluye, a lo largo de su historia natural, múltiples cambios a nivel celular de carácter irreversible, entre los que cabe mencionar como ejemplos la pérdida de capacidad hormonodependiente, la pérdida de sensibilidad a agentes citostáticos, la aparición de determinados antígenos, etc.
- 5) A pesar de ser el cáncer una enfermedad común, si tenemos en cuenta el gran número de células del organismo potencialmente expuestas a la acción carcinogénica, podremos percatarnos de la relativa rareza de la transformación neoplásica.
- 6) Por último, y a pesar de no poder construirse una definición global del cáncer, existen unas propiedades clínicas comunes en su comportamiento que lo caracterizan como un proceso de cambio de tipo patológico. Estos son: la relativa autonomía de crecimiento, la capacidad de producir una invasión local de órganos vecinos y la capacidad de producir metástasis a distancia.

En estos modelos se identifican dos estadios distintos: la inducción tumoral y la promoción del crecimiento.

La actuación inicial de los agentes inductores (físicos, químicos y biológicos) conseguiría un estado de neoplasia incipiente en la célula, confiriéndole la capacidad de desarrollar en día un proceso maligno.

Este segundo proceso está desencadenado por los agentes promotores.



Tomemos, por ejemplo, el cáncer epitelial de la oreja del ratón inducido por dimetilbenzantraceno y promocionado por las pincelaciones de aceite de croton. La aplicación única del agente iniciante no produce tumor, pero la aplicación del agente iniciante seguida de la aplicación repetida del agente promotor provoca la aparición de una neoplasia en el 100% de los casos. El aplazamiento de la aplicación del agente promotor se sigue del mismo resultado. No obstante, si se invierten dichos agentes aplicándose primero el promotor, seguido o no del iniciante, no provoca la aparición del tumor, aunque, al parecer, la aplicación muy continuada de agente promotor también podría desarrollarlo en un número limitado de casos. Finalmente, alargando los tiempos de aplicación de la sustancia promotora, el número de tumores obtenido tiende a disminuir.

Esta característica de los agentes promotores y del periodo de promoción indica que pueden ser procesos reversibles y que la promoción puede ser modulada por una variedad de factores ambientales. En muchos casos, las características de los estadios de iniciación y promoción aparecen esencialmente idénticos. La iniciación es un proceso irreversible relacionado con el ataque directo del agente iniciante al DNA de la célula. El agente promotor, por otro lado, exhibe una reversibilidad en su acción, siendo sus efectos capaces de ser modulados por la dieta, hormonas u otros factores ambientales.

Carcinogénesis química

Mientras que los virus probablemente son responsables de un pequeño porcentaje de cáncer en humanos, se cree que los productos químicos son los culpables en la mayoría de los casos. En un principio, los productos químicos fueron asociados con el cáncer a través de estudios experimentales en animales intactos: el experimento clásico consistió en extender repetidamente en el dorso de un ratón una sustancia tal como el benzo(a)pireno produciendo tumores locales y sistémicos en el animal. De esta manera, se ha demostrado que muchas sustancias son carcinógenos químicos.

Los carcinógenos químicos poseen una amplia gama de estructuras sin que obviamente exista una característica química unificadora. Una clase mayoritaria de estos productos químicos, los hidrocarburos aromáticos policíclicos, parecen en cuanto a su estructura, muy poco reactivos. En los primeros estudios se buscó el por qué tales componentes no reactivos e insolubles en agua pudieran ser potentes inductores del cáncer. La situación se clarificó cuando se comprendió que había dos amplias categorías de carcinógenos, los de acción directa y los de acción indirecta, requiriendo estos últimos una posterior activación metabólica para convertirlos en carcinógenos. Los carcinógenos de acción directa, que son muy pocos, son electrófilos reactivos (compuestos que tienen afección por centros cargados negativamente de otros componentes y reaccionan con estos). El proceso de activación metabólica de los carcinógenos de acción indirecta produce unos carcinógenos finales a partir de los precursores a los que se les ha proporcionado centros electrofílicos.

La activación metabólica de los carcinógenos se produce por medio de enzimas que normalmente ya se encuentran en el cuerpo (sistema de detoxificación), proceso catalizado por un grupo de proteínas denominadas citocromo P-450, que en ocasiones los metabolitos resultantes (epóxidos), son grupos electrofílicos muy reactivos, no accesibles a la epóxido hidratasa, que se almacenan en la célula.

Estas formas son cancerígenas porque, una vez en el interior de las células pueden reaccionar inmediatamente con centros cargados negativamente de muchas y diferentes moléculas: proteínas, RNA y DNA, por nombrar las más obvias, aunque la reacción más importante para la carcinogénesis se centra en la que interviene el DNA.

Los carcinógenos finales provocan cambios permanentes en el DNA. Los carcinógenos finales son mutágenos: los cambios que producen en la secuencia de bases del DNA se expresan como cambios permanentes en el fenotipo de la célula tratada. Esta característica se puede ensayar fácilmente en bacterias, en las que en presencia de un sistema activador del hígado, los carcinógenos se muestran a menudo como potentes mutágenos. Dado que muchos compuestos que han sido identificados como carcinógenos en animales de experimentación son mutágenos en bacterias, la mutagénesis se ha convertido en un test para la detección de carcinógenos. El primero y más popular de éstos es el test de Ames.

ANEXO 6

CULTIVO CELULAR Y TRANSFORMACIÓN

Si bien cuestiones acerca del crecimiento celular y la inducción del cáncer son, en último término, temas sobre el comportamiento de las células individuales en un organismo vivo, el estudio en un animal no es práctico debido a la dificultad en identificar las células relevantes, en manipular su comportamiento de forma controlada, y en separar los efectos debidos a las propiedades intrínsecas de las células de los efectos que se producen a causa de las interacciones entre los distintos tipos de células presentes en el organismo.

Cuando se exponen células que están creciendo en cultivo a un carcinógeno, unas sustancias químicas que producen cáncer, pueden controlarse los problemas anteriormente expuestos. El científico puede manipular el entorno de la célula, puede definir muy bien la célula diana, puede examinar los cambios que se producen en la célula después del tratamiento, y por último puede determinar el destino del carcinógeno. Además, en cultivos celulares pueden haber células latentes o en crecimiento; de hecho, éstas tienen parámetros de crecimiento bien definidos. Las células pueden incluso manipularse genéticamente. Por estas razones, los estudios del crecimiento de células normales, así como la inducción del cáncer dependen muy estrechamente del uso de cultivos celulares.

Las células fibroblásticas, epiteliales y no adherentes pueden crecer en cultivos celulares

Son pocos los tipos celulares que crecen fácilmente. Estas no son células de un tipo definido, sino que más bien representan lo que crece cuando se siembra un tejido o un embrión en un cultivo.

El tipo celular que habitualmente predomina en este tipo de cultivos es el denominado fibroblasto porque excreta los distintos tipos de proteínas asociadas con dichas células que forman el tejido conjuntivo en los animales. Los cultivos de fibroblastos tienen la morfología de los fibroblastos tisulares aunque no están tan diferenciados como los fibroblastos verdaderos. Los fibroblastos son un tipo celular derivado embrionariamente del mesodermo y las células que crecen en el cultivo celular tienen la apariencia de células madre mesodérmicas. Con la apropiada estimulación, estas células pueden diferenciarse en muchos tipos celulares: células adiposas, células del tejido conjuntivo, células musculares, etc. En muchos casos los fibroblastos cultivados se utilizan simplemente como células prototipo muy adecuadas para diferentes estudios.

Otro tipo de célula que puede estudiarse en cultivo es la célula epitelial. Como en el caso de los cultivos celulares de fibroblastos, no corresponde necesariamente a una célula tisular normal; más bien, es representativa del tipo de células que derivan de las capas celulares embrionarias ectodérmicas o endodérmicas.

Los cultivos celulares de fibroblastos y de células epiteliales crecen en placas de vidrio o plástico, a las que se adhieren muy fuertemente gracias a la secreción de proteínas adhesivas tales como la laminina, la fibronectina y el colágeno. No crecerá ninguna célula de estos tipos si no se adhiere a un soporte físico.

Los cultivos celulares de células de la sangre, del bazo, o de médula ósea se adhieren con muchas dificultades a la placa de cultivo. En el cuerpo, estas células permanecen en suspensión (en la sangre) o con poca adherencia (en la médula ósea y bazo). Como estas células provienen a menudo de fases inmaduras de líneas de células sanguíneas, son muy utilizadas para el estudio del desarrollo de las leucemias.

Las células que crecen en cultivo pueden transformarse en malignas

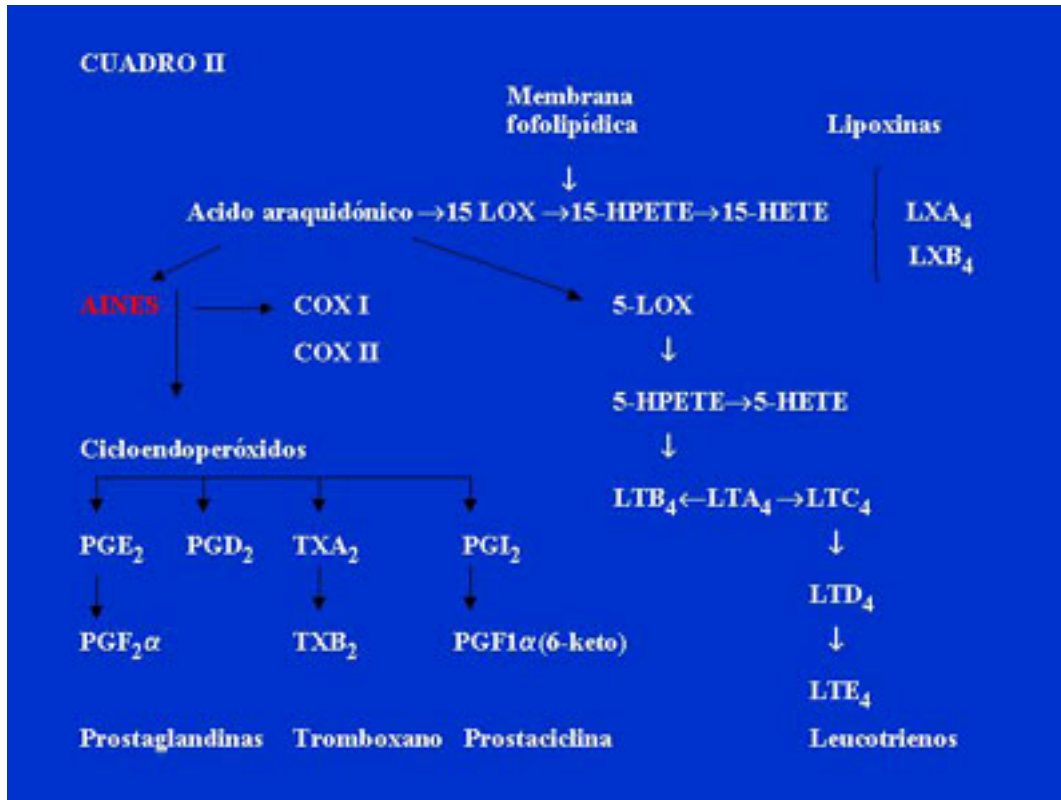
Distintos tratamientos de las células en cultivo (infección vírica, exposición a productos químicos, irradiación) pueden cambiar de modo espectacular sus propiedades de crecimiento en cultivo. Además, estos tratamientos pueden hacer que las células formen tumores después de ser implantadas en animales susceptibles. Estos cambios en las propiedades de crecimiento celular y el posterior desarrollo de la capacidad de formación de tumores se denomina colectivamente transformación maligna o, simplemente **transformación**. Dado que la transformación puede llevarse a cabo en cultivos celulares, está ampliamente estudiada como un análogo de la inducción de cáncer en animales aunque no se ha establecido la correspondencia exacta entre los dos procesos.

Normalmente se reconoce la transformación en células adherentes por un cambio en la morfología de las células y en su forma de crecimiento. Si por ejemplo, un cultivo de células 3T3 en crecimiento se expone al virus SV40, una pequeña proporción de las células se infectarán y adoptarán una morfología redonda. Las células infectadas por el virus serán menos adherentes, tanto entre ellas como a la placa, que las células normales adyacentes y continuarán creciendo cuando las células normales se conviertan en latentes. Un grupo o foco de estas células transformadas sin adherencia puede reconocerse mediante observación al microscopio. Si se recupera un foco de células transformadas y se hace crecer en cultivo celular, el resultado será una línea de células transformadas (por ejemplo, línea de células SV-3T3). Por medio de la comparación de las propiedades de la línea transformada y la línea parental, se pueden apreciar las consecuencias de la transformación.

La transformación de las células adherentes implica una serie de cambios en una gran variedad de propiedades celulares. Éstas incluyen aspectos del control del crecimiento, morfología, interacciones intercelulares, propiedades de membrana, estructura del citoesqueleto, secreciones de proteínas y expresión génica.

ANEXO 7

METABOLISMO ÁCIDO ARAQUIDÓNICO



Los eicosanoides son productos del metabolismo del ácido araquidónico liberado por la membrana fosfolípida en respuesta al daño tisular por la fosfolipasa A2.

El ácido araquidónico y otros ácidos grasos poliinsaturados (linolénico, linoleico, etc.) son sustratos para las oxigenasas envueltas en la síntesis de eicosanoides (ciclooxigenasa, lipooxigenasa, monooxigenasa citocromo P450.)

Cascada del ácido araquidónico

Los metabolitos son llamados eicosanoides, como los siguientes:

- HPTE: ácido hidroxieicosatetraenoico.
- HETE: ácido hidroieicosatetraenoico.

PGD₂: vasodilatación sistémica, vasoconstricción pulmonar y también hiperactividad de la vía aérea. Inducción del sueño.
PGE₂: broncodilatación, vasodilatación, aumento de diuresis, natriuresis, hiperalgesia, hipertermia, citoprotección y acciones antisecretoras gástricas. Promueve el despertar.
PGF₂α: broncoconstricción, vasoconstricción, luteólisis.
PGI₂: vasodilatación, antiagregación plaquetaria, hiperalgesia, estimulación de la liberación de renina.
TXA₂: promueve activación y agregación plaquetaria, broncoconstricción y vasoconstricción.
LTB₄: modulación de la respuesta al dolor. Posible rol en el infarto de miocardio. Quimiotaxis leucocitaria y adhesión a la célula endotelial, promueve el incremento de la permeabilidad vascular dependiente del neutrófilo.

LTC4: Apertura de los canales atriales de potasio, estimula la liberación y secreción del factor liberador de hormona luteinizante. Prolonga la despolarización de las neuronas cerebelosas de Purkinje.
LTD4: broncoconstricción, importante rol en el cuadro asmático, vasoconstricción, incremento de la permeabilidad vascular, aumento de la secreción bronquial, disminución de la contractilidad miocárdica y del flujo sanguíneo coronario.
LTE4: = SRS-A (sustancia de reacción lenta de la anafilaxia)
LXA4: broncoconstricción, activación de la proteinquinasa C.
LXB4: broncoconstricción.

La ciclooxigenasa COX), una de las dos enzimas que actúan sobre el ácido araquidónico, existe en forma de dos isoenzimas: la ciclooxigenasa-1 (COX-1) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2). Estas isoenzimas están codificadas por genes diferentes, presentes en lugares diferentes (la COX-1 está presente sobre todo en el retículo endoplásmico, mientras que la COX-2 se encuentra en la membrana nuclear) y tienen funciones diferentes. La COX-1 se expresa en casi todos los tejidos y es responsable de la síntesis de prostaglandinas en respuesta a estímulos hormonales, para mantener la función renal normal, así como la integridad de la mucosa gástrica y para la hemostasis. La COX-2 se expresa sólo en el cerebro, los riñones, los órganos reproductores y algunos tumores. Sin embargo, la COX-2 es inducible en muchas células como respuesta a algunos mediadores de la inflamación como son la interleukina-1, el TNF, lipolisacáridos y radicales libres.

Se ha observado un aumento de la expresión de la COX-2 en adenomas colorectales así como en otros cánceres.

La COX es inhibida en forma irreversible por la aspirina a través de la acetilación y en algunas células (plaquetas) se debe esperar a que nuevas células se formen. La indometacina y el meclofenamato también causan inhibición irreversible pero sin la modificación covalente de la enzima.

Aunque los HETE son intermediarios en las vías de los LOX, 5-15-12 regulan la síntesis de eicosanoides, flujo electrolítico, liberación histamínica, liberación de un número de hormonas reproductivas, regulación de calcio intracelular y regulación de la actividad de la fosfolipasa.

La LOX 15 es detectada en células madres de la serie roja, en eosinófilos y células epiteliales de la vía aérea pudiendo contribuir a la inflamación de la misma. Modifican la actividad quimiotáctica de los leucocitos.

Las lipoxigenasas (LOX) constituyen una familia de enzimas capaces de oxidar ácidos grasos formando los correspondientes hidroperóxidos lipídicos (HPTEs), los cuales, a su vez, pueden ser transformados en una amplia variedad de metabolitos (HETEs, leucotrienos, etc). Muchos de los metabolitos procedentes del metabolismo de las lipoxigenasas son potentes moléculas de señalización intracelular y están implicados en el control de procesos biológicos como la vasoconstricción, la broncoconstricción, la quimiotaxis o ciertas reacciones de inflamación. Alteraciones en la expresión de LOX así como en los niveles de sus metabolitos se ha asociado a diferentes patologías como la aterosclerosis, las enfermedades inflamatorias intestinales, la psoriasis, el asma, la hipertensión y ciertos tipos de cáncer.

ANEXO 8

EXPLOSIÓN METABÓLICA OXIDATIVA

Cuando un germen patógeno logra traspasar las barreras naturales de defensa se produce una inflamación. En el foco inflamatorio se generan sustancias que estimulan y atraen a las células fagocíticas (granulocitos y monocitos). Entre estas sustancias se incluyen citocinas, como en TNF, el leucotrieno B₄, etc. Estas sustancias estimulan las células fagocíticas, aumentando la expresión de las moléculas de adherencia, lo que favorece su adherencia a endotelios y posterior migración.

Tras el contacto con estos estímulos se reorienta el citoesqueleto de las células fagocíticas que regulará el movimiento celular activo hacia el foco (*quimiotaxis*). Las primeras células en acudir son los polimorfonucleares neutrófilos, que constituyen una primera línea de defensa, seguidos por los monocitos/macrófagos.

Comienza la *fagocitosis inmune*. La adherencia de los gérmenes *opsonizados* a los receptores del fagocito origina cambios en la membrana celular, que se invagina y forma pseudópodos, los cuales, al contactar determinan la formación de una vacuola fagocítica o *fagosoma*. Este proceso de internalización, así como algunas de las sustancias producidas en el foco inflamatorio citadas anteriormente, estimulan el metabolismo celular (aumento del consumo de oxígeno, activación de la vía de pentosas). Los lisosomas funden su membrana con la del fagosoma (*desgranulación*) y liberan en él su contenido: proteasas, proteínas catiónicas, lactoferrina, lisozima, hidrolasas ácidas, formándose el *fagolisosoma*. La célula fagocítica que ha aumentado su actividad metabólica entra en la denominada **explosión metabólica**.

La activación de la NADPH-oxidasa produce una reducción univalente del oxígeno molecular y se forma anión superóxido y NADP. Existen diversos productos derivados del anión superóxido que intervienen en la muerte intracelular, como el peróxido de hidrógeno y los radicales hidroxilos. El peróxido de hidrógeno y el Cl⁻, en presencia de mieloperoxidasa de los gránulos primarios, da origen a la formación de ácido hipoclorítico y cloramina, que son tóxicos para los microorganismos.

Existen, además, mecanismos microbicidas independientes del oxígeno, como la acidificación del fagolisosoma, la actividad de ciertas enzimas lisosomales o la producción de intermediarios reactivos del nitrógeno. Una vez realizada la lisis del germen, el fagolisosoma se dirige a la membrana del fagocito, se abre en ella y expulsa los residuos al exterior (*exocitosis*). Cabe recordar que los macrófagos, para actuar de manera efectiva, tienen que estar activados previamente. Una de las señales de activación la generan linfocinas por las células T.

ANEXO 9

VIRUS COMO CAUSA DE CÁNCER

Los estudios sobre los procesos e traslado del material genético de los virus de una célula a otra han sido muy útiles en el descubrimiento de oncogenes y proto-oncogenes, por ello, la contribución de los virus al estudio de las causas de cáncer se considera remarcable. El análisis de los virus animales tumorales ha proporcionado una de las claves del conocimiento del mecanismo genético del cáncer.

Los virus como agentes de la transformación: oncogenes

Se cree que aproximadamente un 15% de los cánceres humanos en todo el mundo se desarrollan por mecanismos en que participan virus.

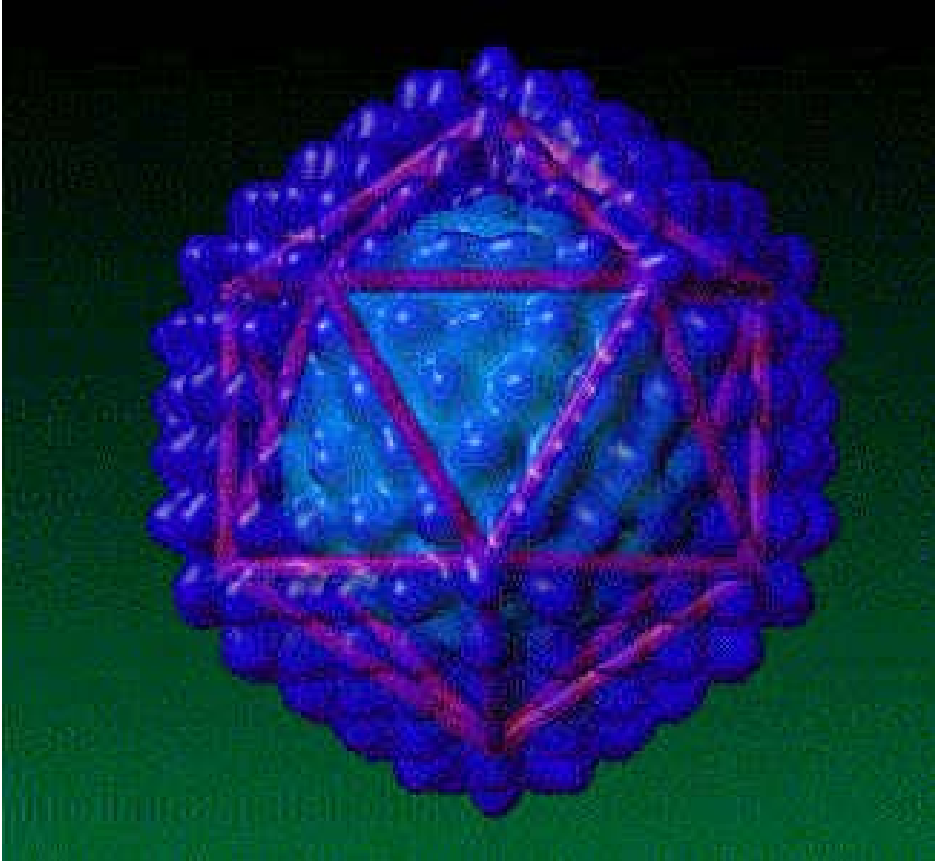
Conocidas la gran cantidad de efectos que se producen en las células transformadas, cabría pensar que los agentes transformantes iniciarían la transformación ejerciendo nuevas y múltiples influencias. Sorprendentemente, sin embargo, los acontecimientos que la desencadenan pueden ser comparativamente simples, a menudo resultado de la transcripción de uno o dos genes. Estos genes pueden formar parte del genoma de un virus, o bien pueden ser genes celulares alterados.

Se conocen tres tipos diferentes de agentes transformantes: los virus, los productos químicos y las radiaciones. Cada tipo de influencia se reconoció como carcinógeno (agente causante de cáncer) en animales antes de ser estudiado como agente que produzca transformación en cultivos celulares.

Los virus animales, algunos tienen RNA como material genético y otros poseen DNA. Un grupo de virus RNA, los retrovirus, y muchos tipos de virus DNA pueden ser agentes transformantes; a estos virus se los denomina virus tumorales. Estos causan la transformación como consecuencia de su capacidad para integrar su información genética en el DNA de las células huésped; además, a menudo desencadenan la producción crónica de una o varias proteínas denominada proteínas transformantes, que son las responsables del mantenimiento del estado transformado de las células infectadas. Las proteínas transformantes se sintetizan bajo la dirección de los genes transformantes en un genoma del virus integrado. Estos productos intracelulares son distintos de los factores de crecimiento transformantes. En el caso de un virus de DNA, los genes de la transformación conocidos forman parte del genoma del virus. En el caso de los retransmisores, los genes de la transformación son genes celulares normales o levemente modificados que son apropiados o hiperactivados en la célula huésped.

ANEXO 10

ADENOVIRUS



Los adenovirus fueron aislados y caracterizados al estudiar el origen de muchas enfermedades del tracto respiratorio superior a mediados del siglo veinte. Los nombres iniciales que con que les bautizaron los investigadores reflejan este tropismo hacia el tracto respiratorio.

El prefijo adeno- proviene del tejido a partir del cual fueron aislados por primera vez, es decir, el tejido glandular adenoide. Los estudios epidemiológicos demostraron que los adenovirus eran causantes de un gran número de síndromes respiratorios febriles agudos. Aunque pronto también quedó claro que los adenovirus eran los causantes del resfriado común y se les responsabiliza del 5-10% de los casos de enfermedad respiratoria infantil, así como de una pequeña fracción de la morbilidad respiratoria en la población general; no son, sin embargo, los causantes de la gripe. Además, los adenovirus también causan conjuntivitis epidérmica y han sido asociados a una variedad adicional de síndromes clínicos, entre los cuales destacan las gastroenteritis infantiles.

En 1962 se descubrió que el tipo 12 inducía la formación de tumores malignos tras su inoculación en hámsters recién nacidos. Esa fue la primera vez que un virus humano mostró capacidad oncogénica. A pesar de su habilidad inductora de tumores *in vitro* y de transformación de cultivos celulares, no se ha probado que los adenovirus causen

cáncer en el ser humano, aunque sí existe un informe que vincula a un RNA relacionado con los adenovirus con tumores neurogénicos. Los intentos por encontrar genoma adenovirico en tumores humanos han fracasado. Esta capacidad tumorigénica ha determinado que los adenovirus sean considerados como importantes modelos para ensayos sobre oncogénesis.

Actualmente ya han sido identificados unos 100 miembros del grupo adenoviral, cuyos huéspedes incluyen mamíferos y aves. Todos contienen un DNA de doble cadena lineal (dsDNA) dentro de una cápside icosaédrica de unos 70 a 100 nm de diámetro y no presentan envuelta.

Sus cualidades han hecho que sean valorados en los laboratorios: facilidad de propagación, inducción de infecciones agudas sincrónicamente en líneas celulares establecidas y genoma fácilmente manipulable. Los estudios de las células infectadas por adenovirus han contribuido al conocimiento sobre la expresión y regulación genética virales, replicación, control del ciclo celular y regulación del crecimiento celular. La contribución más destacable de este grupo de virus fue el descubrimiento del proceso de splicing del mRNA, ya que los estudios del mRNA adenoviral revelaron la existencia de los intrones.

Actualmente los adenovirus están siendo intensamente explorados como vectores para la terapia génica.

Todos los adenovirus humanos que han sido testados son capaces de transformar oncogénicamente células en cultivo. Las células transformadas sufren múltiples cambios morfológicos y tienden a presentar un crecimiento denso. Pueden presentar varios fenotipos distintivos de transformación oncogénica, incluyendo crecimiento en suero reducido, crecimiento independiente de fijación al suelo del recipiente y crecimiento a más elevadas densidades de lo normal. Solamente unos pocos serotipos de adenovirus pueden inducir la formación de tumores en ratas y hamsters. La oncogénesis por adenovirus aparece asociada a infecciones abortivas y nunca ha sido observada en humanos.

El grupo A *adenoviridae* es altamente oncogénico, produciendo tumores en muchos animales en 4 meses.

El grupo B es menos oncogénico, induciéndolos a los 4-18 meses.

Al menos un grupo D es oncogénico, induciendo eficientemente tumores mamarios en 3-5 meses.

Los grupos C y E no presentan actividad tumorigénica conocida.

Transformación

Existen tres evidencias claras que apuntan a que los genes E1A y E1B median el proceso de transformación:

- las células transformadas por los virus siempre contienen y expresan estos genes.
- la transfección de cultivos celulares en estos genes induce su transformación.
- virus mutantes defectivos para estos genes son incapaces de inducir transformación.

Las proteínas codificadas en estos dos genes pueden manipular el control del crecimiento celular, un requisito indispensable para inducir oncogénesis. En células infectadas, las proteínas E1A inducen la transición del estado de quiescencia a la fase S del ciclo celular, mientras que las E1B bloquean el proceso de apoptosis, creando un ambiente óptimo para la replicación viral; en el contexto de una célula de roedor, estos mismos eventos conducen hacia la transformación oncogénica.

Pueden construirse modelos detallados de cómo estas dos proteínas son capaces de desregular el *checkpoint* G0/G1/S mediante sus interacciones con los miembros de la familia pRB, p300 y p53.

Sin embargo, aunque se ha demostrado que E1A dirige el paso a través del punto de control G2/M, el mecanismo mediante el cual esto es posible es desconocido. Mutaciones de E1A que interfieran en su unión a p300 o pRB pueden bloquear su habilidad para inducir mitosis. Quizás p300 y pRB, en su forma normal o como resultado de su interacción con E1A, influyen los puntos de control G0/G1/S y G2/M. Alternativamente, E1A interacciona con proteínas desconocidas que controlan el paso G2/M.

ANEXO 11

La apoptosis -muerte celular programada-

Inducción a la apoptosis por fitopreparados y nutraceúticos. Aplicaciones en Oncología.

Joan Serrano
Biólogo

ABSTRACT

The apoptosis –programmed cell death- has important pathological implications. The process of apoptosis is reduced in some tumour types, and increased in degenerative diseases.

This is a phenomenon wich goes beyond the basical investigation and reaches the clinical investigation.

Any alteration in the apoptosis pattern gives insensibility to the cytotoxic effects of chemotherapy through mechanisms of chemoresistance.

The coumpounds that modify the programmed cell death are future beneficial drugs. There are several medicinal plants and “nutraceutics” wich can be taken as future sources of clinical investigation.

Resumen

La apoptosis –muerte celular programada- tiene unas implicaciones patológicas importantes. El proceso apoptósico es reducido en ciertos tipos tumorales y aumentado en enfermedades degenerativas.

Es un fenómeno que está trascendiendo de la investigación básica a la clínica. La alteración en el patrón de apoptosis confiere insensibilidad a los efectos citotóxicos de la quimioterapia mediante mecanismos de quimiorresistencia.

Los compuestos que puedan modificar la muerte celular programada son futuras drogas beneficiosas. Son varias las plantas medicinales y nutraceúticos que se presentan como futuras fuentes de investigación clínica.

La biología molecular del cáncer es uno de los campos más estudiados dentro de los esfuerzos encaminados en descubrir todos los mecanismos implicados en la progresión tumoral.

Sin embargo, queda mucho camino por recorrer para que estos prometedores estudios en investigación básica tengan una respuesta en la práctica clínica diaria.

En un organismo sano, las células regulan su ciclo vital por el proceso de apoptosis o muerte celular programada (descrito por Kerr, Wyllie y Currie hace 20 años), proceso

controlado genéticamente y que se ejecuta normalmente durante el desarrollo normal del organismo, de modo que se puedan eliminar las células lesionadas o innecesarias. Es un proceso por el cual las células sanas se sacrifican por el bien del organismo. La raíz etimológica viene del griego apoptosis – acto de caer -, donde la caída de las hojas de los árboles en otoño sugiere una pérdida beneficiosa para la normal supervivencia.

En el cáncer, sin embargo, las células afectadas no activan el proceso de apoptosis, porque sus alteraciones genéticas no lo permiten y escapan a los puntos de control que posee nuestro organismo suprimiendo las señales que permiten la muerte de las células mutadas, iniciando así una proliferación descontrolada y agresiva.

El proceso es completamente diferente de la necrosis, ya que en la apoptosis la célula participa en su autodestrucción, fenómeno perfectamente distinguible mediante técnicas de bioquímica y biología molecular.

En contra de lo creído, que el núcleo celular es el más relevante en la inducción de la muerte celular, el proceso apoptótico se localiza en los poros de la membrana mitocondrial, así, la mitocondria es la organela clave donde se centralizan los eventos más importantes de la apoptosis, convirtiéndose de esta manera la mitocondria en el determinante de la vida o muerte celular.

Son tres los mecanismos propuestos como posibles causantes de la muerte celular cuyos efectos posiblemente estén correlacionados:

- a) La apertura de poros mitocondriales, causan una caída de potencial causando el proceso de muerte celular.
- b) La interrupción del transporte de electrones en la fosforilación oxidativa con el consiguiente descenso en la producción de ATP.
- c) La liberación de proteínas que disparan la activación de ciertas enzimas – caspasas-, proteasas que cortan las proteínas en el punto donde se encuentra el ácido aspártico y que tienen un papel central en la apoptosis.

Las caspasas están formadas por una familia compuesta de 14 enzimas que actúan mediante “cascada”, es decir, a partir de una caspasa “iniciadora”, mediante fragmentación, activa a otras que a su vez generan una última caspasa “ejecutora”, responsable de destruir proteínas esenciales para la célula o inactivar proteínas que protejan de la apoptosis, dando como resultado la muerte celular.

Otros cambios morfológicos acontecen durante la apoptosis, donde se pierde la asimetría de los fosfolípidos exponiendo a la fosfatidilserina en el exterior, de modo que es la fosfatidilserina y no otros fosfolípidos aniónicos los que se reconocen específicamente en la fagocitosis de las células apoptóticas como culminación del proceso “in vivo”.

Hay muchos genes implicados en la evolución y desarrollo de un tumor, debido a que se trata de una enfermedad poligénica. Los genes que causan el cáncer –oncogenes- además de estimular la división celular, también suprimen las señales que permiten la muerte de las células mutadas.

En la mayoría de los tumores no hay apoptosis, y de los muchos genes involucrados en la progresión de la enfermedad tumoral, algunos de estos están implicados en la muerte celular programada.

Uno de los genes más importantes por su efecto regulador del fenómeno apoptótico lo constituyen los genes de la familia Bcl-2. Las proteínas codificadas por cada uno de los genes de la citada familia participan en el mantenimiento del equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis. Así, mientras los genes Bcl-2, Bcl-X1, mcl-1 y A1/bfl-1 codifican proteínas antiaapoptóticas, los genes Bcl-xs, bax, bak, bad y bik codifican proteínas proapoptóticas que a través de distintos mecanismos inducen daño y muerte celular.

Un ejemplo, es el taxol, que puede frenar la muerte de la célula interactuando con la apertura del poro mitocondrial. Suprime la acción de la bcl-2 y permite que la apoptosis llegue a su término.

De este modo la expresión de estas proteínas tienen un significado pronóstico en la práctica clínica. La positividad de Bcl-2 se correlaciona con factores pronósticos favorables en carcinoma ductal infiltrante de mama, mientras que la asociación Bcl-2 negativo/Bax intenso constituye un grupo de pacientes con tumores agresivos.

El oncogen tumor supresor p53 codifica una proteína -p53- clave, ya que es la que gobierna todo el proceso neoplásico. Relacionado estrechamente al p53 se encuentra un gen apoptótico -Noxa- como mensajero intermediario del suicidio celular que provoca el gen p53 y que aparece mutado con mucha frecuencia en distintos tipos de tumores.

El oncogen Ras aparece mutado en un tercio de los tumores, llegando en los tumores de páncreas a prácticamente un 100%. Se ha identificado una importante conexión del Ras con el factor nuclear NF-kappa B (proteína que se une al DNA nuclear activando o desactivando genes) para desarrollar nuevas estrategias en estadios tempranos tumorales.

Recientes estudios han descubierto precisamente que la sustancia que aparece en las uvas y sus derivados, el trans-resveratrol, actúa en esta línea, de modo que esta sustancia es un potente inhibidor de la NFkB así como de la expresión de su gen correspondiente, además de controlar otra proteína I-kappa-B que regula la activación de kappa B. En condiciones experimentales utilizando trans-resveratrol podemos promover la apoptosis de las células tumorales deteniendo de esta manera la progresión tumoral.

Se ha retomado el interés científico del fenómeno apoptótico por la implicación patológica que este conlleva, intentando desentrañar todos los mecanismos que regulan la muerte programada de la célula que nos pueda conducir a intervenir terapéuticamente en patología tumoral.

Para ello sería ideal disponer de activadores que regularan el proceso de apoptosis, para así poder actuar sobre determinadas tipos de células que nos interesen, es decir, compuestos que activen de modo muy selectivo la apoptosis en células cancerígenas o pre-cancerígenas con determinadas alteraciones genéticas respetando las células sanas evitando así muchos de los efectos secundarios de los actuales agentes quimioterápicos.

La terapia génica antitumoral es difícil de practicar atendiendo al carácter poligénico de la enfermedad. La multitud de genes implicados en la progresión de la enfermedad tumoral hace prácticamente imposible su control, de modo que se puede plantear la reducción tumoral mediante la acción selectiva de productos apoptóticos hasta el punto que nuestro propio organismo obtenga el control mediante sus propias defensas, sin manifestación de problemas clínicos, es decir, más que cambiar el sentido génico del tumor sería cambiar el comportamiento del sujeto frente al mismo.

Muchas drogas quimioterápicas ejercen su efecto antitumoral induciendo apoptosis, pero dado que es difícil superar en esa línea la quimioterapia al haber tocado techo, el centrarse en la búsqueda de componentes de origen natural capaces de dirigir a la célula tumoral a una muerte celular programada, será una estrategia relevante en la supresión de distintos tumores humanos.

El muérdago (*Viscum album* L) fue introducido en la terapia oncológica por Rudolph Steiner (fundador de la medicina antroposófica) en 1917. Este fitopreparado se utiliza actualmente como terapia adyuvante en cáncer. Su mecanismo bioquímico de detención del crecimiento tumoral es debido a la inducción de la apoptosis.

Un parámetro típico de apoptosis como es la fragmentación del DNA se puede observar utilizando tanto extracto de muérdago como uno de sus principios activos: las lectinas (glucoproteínas con actividad aglutinante). Las lectinas son miembros de un tipo de proteínas inactivadoras que frenan la síntesis proteica al interactuar con la subunidad ribosomial 60s.

Existen distintas proteínas tóxicas específicas tales como: la lectina I, que se fija sobre los residuos galactosa; la lectina II, que se fija sobre N-acetil-D-galactosamina, y la lectina III, de modo que esta última es la más efectiva induciendo a la célula a la apoptosis, seguida de la lectina II y finalizando con la lectina I.

La estructura de la lectina se compone de dos cadenas: La cadena A que posee acción catalítica con actividad rRNA-N-glicosidasa y la cadena B con propiedad de unión a carbohidratos.

Sin embargo no todas las lectinas estudiadas mantienen la misma estructura. Las lectinas citotóxicas (KML-C) aisladas de un muérdago coreano presentan propiedades químicas y biológicas diferentes a las lectinas (EML-1) procedentes de muérdago europeo. Ensayos en distintas células tumorales murinas y humanas, muestran una actividad citotóxica de KML-C más elevada que la EML-1.

Dependiendo de la concentración, el extracto de muérdago tiene dos propiedades: a) a bajas concentraciones es estabilizante del DNA e inmunoestimulante mientras que b) a altas concentraciones tiene una propiedad citostática/citotóxica, debida fundamentalmente esta última propiedad a dos vías: 1) muerte por daño en la membrana plasmática con el consiguiente influjo de Ca^{2+} hacia el interior celular, y 2) apoptosis. La lectinas actúan de manera dosis-dependiente, así a concentraciones que oscilan entre 10 ng/ml y 1 mg/ml inducen la apoptosis, mientras que a dosis inferiores a 10 ng/ml las lectinas inducen expresión génica y secreción de citoquinas proinflamatorias, así como apoptosis en cultivos de células mononucleares de sangre periférica humana.

Una dosis optima de lectinas de aproximadamente 0.5-1 ng/Kg peso sugiere un uso potencial de preparación de muérdago como modulador del sistema inmune natural.

Esta estimulación de los parámetros de inmunidad natural es fundamental para la supervivencia, al estar frecuentemente disminuida en pacientes afectos de cáncer.

Otros principios activos del muérdago tales como las viscotoxinas y los oligosacáridos no parecen ser capaces por sí mismos de inducir la apoptosis. El mecanismo de acción de las tioxinas (viscotoxinas) es debida a muerte accidental seguida de apoptosis.

Si bien, las lectinas se correlacionan fuertemente por su propiedad de inducir apoptosis, la presencia de esas proteínas no garantiza su actividad biológica, indicado la posible sinergia con otros componentes los cuales pueden modular la citotoxicidad de las lectinas.

La capacidad asesina del extracto de muérdago es específica del origen (árbol sobre el que se desarrolla) influyendo de modo muy significativo el proceso de manufacturado, procedencia, tiempo de cosecha, etc. sobre su actividad citotóxica.

La apoptosis selectiva inducida por *Viscum album* L. puede representar una aproximación nueva para la manipulación farmacológica entre el balance del crecimiento celular y apoptosis. Una apropiada combinación de dosis inmunoestimuladora y citotóxica puede abrir perspectivas clínicas en la terapia del muérdago.

Ya en el siglo IV a. de C., el chino Louzi describió el ginseng como un tónico indicado “cuando la vida corría peligro”.

El ginsenósido Rh2 aislado de la raíz del *Panax ginseng* inhibe “in vitro” el crecimiento de varias líneas celulares tumorales, mostrando tener efectos quimiopreventivos y una acción de no proliferación ni diferenciación.

En hepatoma humano, cambios morfológicos y análisis por citometría de flujo evidencian que el ginsenósido Rh2 induce apoptosis estando implicados la activación de caspasa-3, en su forma activa, p17, siendo un proceso independiente de los miembros de la familia Bcl-2.

Del mismo modo, en los tratamientos con el ginsenósido Rh2 en gliomas de ratas, también se observa la inducción de muerte celular programada, confirmada por microscopía electrónica con los cambios morfológicos típicos de apoptosis tales como contracción celular, condensación de cromatina o picnosis. Como ocurría en el caso del hepatoma, esta inducción de la apoptosis también es independiente de los miembros de la familia Bcl-2, y es mediada por la generación de especies reactivas al oxígeno (ROS).

La saponina protopanaxdiol es la responsable de la acción anti-metastásica observada “in vivo” mediante la inducción de la apoptosis, interviniendo en la regulación c-Myc y ciclin D1 de una manera dependiente del tiempo.

El *Panax ginseng* también previene de la irradiación en estudios con folículos pilosos en ratas, a través de la inducción de apoptosis, hecho que nos debe sugerir unas importantes implicaciones patológicas.

En la búsqueda de inhibidores tumorales procedentes de varios tipos de plantas, una especie -el pepino dulce o pera-limón- (*Solanum muricatum*), originaria de la región andina, donde se cultiva hace varios miles de años, su extracto, es capaz de inhibir el crecimiento tumoral tanto “in vitro” como “in vivo” por inducción de la apoptosis.

Se estudia una fracción extraída de su extracto acuoso sobre las siguientes líneas celulares tumorales: próstata, estómago, hígado, mama, ovario, colon y pulmón, así como en células normales: próstata, células endoteliales de la vena umbilical y fibroblastos de pulmón.

Los resultados indican que el extracto posee citotoxicidad selectiva en todas las líneas celulares tumorales estudiadas, mientras que mostraba una muy menor citotoxicidad sobre líneas celulares normales.

Estudios “in vivo” demuestran que inyecciones de extracto directamente sobre el tumor previamente inoculado con células cancerosas gástricas en ratones, reducen drásticamente el volumen tumoral. El modo por el cual el extracto inhibe el crecimiento tumoral es a través de inducción de apoptosis.

Por tanto, el extracto de *Solanum muricatum* puede representar un prometedor preparado, el cual, tiene preferentemente como diana varias células tumorales a través de apoptosis.

La *Uncaria tomentosa* es conocida por poseer entre otras acciones la propiedad antitumoral. Estudios realizados “in vitro” con el extracto acuoso obtenido de la uña de gato sobre líneas celulares tumorales (leucemia y linfoma) humanas se observa una inducción selectiva de la apoptosis.

Algunos principios contenidos en plantas, se estudian por su posible actividad inductora de apoptosis “in vitro” en linfoma humano (U937). De estas drogas, tres galloil-monosacáridos, resultan importantes en la inducción de la apoptosis, donde el número y la posición de sus grupos fenólicos son claves en el mecanismo apoptótico. De estos tres principios, el tetragalloil-glucosa es la que posee una mayor actividad en la muerte celular programada además de inducir también la apoptosis en líneas celulares humanas de colon y estómago, indicando su uso potencial como agente anti-tumoral.

El “pepino chino” (*Trichosanthes kirilowii* var. *Japonica*), se usa en su país de origen para inducir el aborto y también para combatir algunas enfermedades víricas. Un componente aislado de la raíz pilosa -ácido brionólico- posee actividad citotóxica sobre varios tipos celulares tumorales estudiados, mediante un mecanismo de inducción a la apoptosis. Los hepatocitos y otros tipos celulares normales son mucho menos sensibles al ácido brionólico.

La cúrcuma o turmeric designa el rizoma sano, limpio y seco de la *Curcuma longa* L., hierba medicinal utilizada desde tiempo inmemorial en la medicina ayurvédica de la India. Sus raíces son aplicadas a las heridas para estimular el proceso de curación. La curcumina, un principio activo de turmeric ha sido extensamente investigado por su potencial quimiopreventivo del cáncer.

Una estructura similar a la curcumina presenta los diarilheptanoides, uno de los principios activos de *Alpinia oxyphylla* Miquel (Zingiberaceae), una planta de la familia del jengibre utilizada en la medicina herbal oriental. Aplicaciones tópicas de extractos metanólicos de sus frutos deshidratados inhibían la carcinogénesis en piel de ratones (debido principalmente a la presencia de dos principios: Yakuchinona A y B). En otros estudios, el tratamiento de la línea celular leucémica premyelocítica (HL-60) con extracto metanólico reduce significativamente la viabilidad de las células tumorales, inhibiendo también la síntesis de DNA. El exámen microscópico de las células tratadas revelan características morfológicas de apoptosis. Esto sugiere que *Alpinia oxyphylla* posee un potencial quimiopreventivo y actividad antitumortogénica.

Un principio activo (shikonina) aislado de otra planta de la medicina tradicional oriental, *Lithospermum erythrorhizon*, es capaz de inducir apoptosis en la línea celular leucémica (HL-60). Este hecho se pone de manifiesto porque el incremento de células apoptóticas es precedido de la activación de la caspasa-3, mientras que la fragmentación del DNA observada es completamente bloqueada por un inhibidor específico de caspasas, mostrando claramente que el modo de muerte celular es apoptótica.

Coriolus versicolor es otra planta de la medicina china con una conocida actividad antitumoral. Se estudia tres principios activos aislados de esta planta, un péptido-polisacárido (CVP) y dos alcaloides: tetrandrina (TET) y berbamina (VER) sobre la línea celular tumoral HL-60, observando que CVP no afectaba a los cambios morfológicos de las células tumorales, mientras que TET y VER inhiben la proliferación de las células leucémicas por un mecanismo de inducción apoptótica.

Principios hidrosolubles de la planta medicinal china *sho-saiko-to*, inhiben de manera dosis-dependiente la proliferación celular de hepatocarcinoma humano (KIM-1). Dos son los posibles modos de la supresión tumoral: a) induciendo la apoptosis en el periodo más temprano a la exposición y, b) arrastrando a la fase G0/G1 en el periodo más tardío de la exposición. La supresión de la proliferación del carcinoma es significativamente más fuerte, que la causada por cada uno de los principios por separado, debido con toda seguridad a la sinergia o efectos aditivos de dichos principios.

Otros principios activos obtenidos a partir de plantas muestran un mecanismo de citotoxicidad sobre varias líneas celulares tumorales mediante la inducción de apoptosis, como son los casos de uno de los alcaloides (sinococulina) contenidos en *Stephania sutchuenensis*, y de tres triterpenos (remangilonas A-C) aislados de las hojas de *Physena madagascariensis*, estudiados en dos líneas celulares de cáncer de mama humano.

Un amplio conjunto de sustancias fenólicas presentes particularmente en plantas medicinales y dietarios, han sido responsables de poseer sustancias con actividad anticarcinogénica y antimutágena.

Muchos de los nutraceúticos que distintos estudios epidemiológicos indican una reducción en la incidencia del cáncer lo son induciendo la muerte celular programada.

El selenio es un oligoelemento esencial de vital importancia, el cual, lamentablemente, en la actualidad la cantidad de este micronutriente en las dietas está disminuido alarmantemente.

El selenio ha mostrado poseer actividad preventiva del cáncer en modelos animales y humanos. La hipótesis de esta quimioprevención, se cree, en parte, por inhibición de la angiogénesis asociada al tumor. En cultivos celulares, la exposición directa del selenio inhibe atributos claves como la proliferación, supervivencia y degradación de la matriz en células endoteliales implicadas en la angiogénesis del tumor. Así, la inhibición de la angiogénesis asociada al cáncer puede ser un mecanismo nuevo para la actividad anticancerígena del selenio “in vivo”, aunque múltiples mecanismos están probablemente implicados en la mediación de la actividad anti-angiogénica. Otros autores, estudian el mecanismo por el cual la evidencia previa de que el selenio reduce el crecimiento tumoral es mediante la inducción de la apoptosis, sugiriendo que el selenio inhibe el progreso y la promoción del cáncer en estadios avanzados.

En la actualidad varios productos naturales se encuentran en ensayos clínicos en fase I, y, de ellos, el té verde, es posiblemente, el que mayor potencial tenga cara a futuras investigaciones. Estudios en pacientes afectas de cáncer de mama en estadios I y II que consumían una cantidad superior a 5 tazas/día tenían una menor recurrencia y un mayor periodo libre de enfermedad que aquellas que consumían una cantidad inferior a cuatro tazas/día.

Un componente del té verde, la epigallocatequina-3 (componente principal de los polifenoles), posee efectos inhibitorios en diversos acontecimientos asociados con los multiestados de la carcinogénesis y ataca de forma selectiva las células cancerígenas sin dañar las sanas promoviendo la apoptosis.

Así, podemos plantear dos vías en el análisis del tratamiento del cáncer con té verde: prevención del cáncer antes del ataque de este y prevención después del tratamiento.

El S-allilmercaptocisteína es un compuesto organosulfurado obtenido a partir del extracto de ajo. La habilidad de estos organosulfuros de suprimir el crecimiento tumoral (líneas celulares tumorales de pulmón y leucémicas), añadido a la evidencia que varios componentes del ajo tienen propiedades anticarcinogénicas y tumoregénicas, es mediante la inducción de muerte celular programada.

La capsacina, un ingrediente picante de hot chili pepper protege contra la mutagénesis y tumorigénesis previamente inducida, promoviendo apoptosis en varias líneas celulares malignas y normales estudiadas.

También un principio activo aislado del propóleo, un ester fenólico del ácido cafeico (CAPE), el cual es citotóxico sobre el tumor pero no sobre las células normales, debe su acción a la inducción de la apoptosis sobre las células tumorales.

Conclusiones

El carácter poligénico del tumor hace que posiblemente los genes no sean el origen que lo produzca sino que habría que indagar en otras causas anteriores que provoquen su aparición.

En la búsqueda por identificar sustancias quimiopreventivas naturales capaces de inhibir, retardar o revertir las multi-etapas que intervienen en la carcinogénesis, encontramos distintas plantas medicinales y nutraceúticos poseedoras de sustancias con actividad anticancerígena y antimutágena.

A diferencia de otros fármacos citotóxicos, los fitofármacos no solo no deprimen el sistema inmunológico, sino que muchos de ellos lo incrementan.

Por otra parte, resulta importante señalar, que la actividad biológica de las plantas medicinales depende fundamentalmente de la sinergia de sus componentes. De modo, que esto debe ser tenido muy en cuenta a la hora de evaluar la actividad anti-tumoral de los principios aislados.

De igual modo, resaltar la inducción selectiva a la apoptosis que ofrecen las plantas estudiadas, que dirigen su diana sobre las células tumorales, respetando en gran medida las células sanas.

Todo esto nos recuerda el significado de la medicina complementaria en la práctica preventiva del cáncer, y sus grandes posibilidades como terapéutica.

Bibliografía

1. Lopez-Hoyos M et al.: Regulación de la apoptosis en linfocitos B y T por los genes Bcl-2 y Bcl-X. Rev Esp Reumatol 1998, 25: 63-73
2. Font A et al.: Expression of apoptosis-related proteins and response to chemoradiotherapy and prognosis in esophageal cancer. Rev Oncología 2000, 2: 146-153
3. Oda E et al.: Sciencie 2000, 1: 1053-1057
4. Fadok V et al. Nature 2000, 405: 85-89
5. Thatte U et al.: Modulation of programmed cell death by medicinal plants. Cell Mol Biol 2000, 46(1): 199-214
6. Bussing A et al.: Induction of apoptosis in human lymphocytes treated with Viscum album L. is mediated by the mistletoe lectins. Cancer Lett 1996, 19: 59-72
7. Bussing A et al.: Differences in the apoptosis-inducing properties of Viscum album L. extracts. Anticancer Drugs 1997, 1: S9-14
8. Bussing A et al.: Selective killing of CD8+ cells with a "memory" phenotype (CD62Llo) by the N-acetyl-D-galactosamine-specific lectin from Viscum album L. Cell Death Differ 1998, 5(3): 231-40
9. Bussing A et al.: Apoptosis-inducing properties of Viscum album L. extracts from different host trees, correlate with their content of toxic mistletoe lectins. Anticancer Res 1999, 19(1^a): 23-8
10. Bussing A et al.: Accidental cell death and generation of reactive oxygen intermediates in human lymphocytes induced by thionins from Viscum album L. Eur J Biochem 1999, 262(1): 79-87
11. Bussing A et al.: Differential binding of toxic lectins from Viscum album L., ML I and ML III, to human lymphocytes. Anticancer Res 1999, 19(6B): 5095-9
12. Vervecken W et al.: Induction of apoptosis by mistletoe lectin I and its subunits. No evidence for cytotoxic effects caused by isolated A- and B-chains. Int J Biochem Cell Biol 2000, 32(3): 317-26
13. Janssen O et al.: In vitro effects of mistletoe extracts and mistletoe lectins. Cytotoxicity towards tumor cells due to the induction of programmed cell death (apoptosis). Arzneimittelforschung 1993, 43(11): 1221-7

14. Ribereau-Gayon G et al.: Modulation of cytotoxicity and enhancement of cytokine release induced by *Viscum album* L. extracts or mistletoe lectins. *Anticancer Drugs* 1997, 1: S3-8
15. Elsasser-Beile U et al.: Comparison of the effects of various clinically applied mistletoe preparations on peripheral blood leukocytes. *Arzneimittelforschung* 1998, 48(12): 1185-9
16. Yoon TJ et al.: Lectins isolated from Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) induce apoptosis in tumor cells. *Cancer Lett* 1999, 136(1): 33-40
17. Hostanska K et al.: A natural immunity-activating plant lectin, *Viscum album* agglutinin-I, induces apoptosis in human lymphocytes, monocytes, monocytic THP-1 cells and murine thymocytes. *Nat Immun* 1996-97, 15(6): 295-311
18. Hajto T et al.: Immunomodulatory effects of *Viscum album* agglutinin-I on natural immunity. *Anticancer Drugs* 1997, 1:S43-6
19. Hajto T et al.: Mistletoe therapy from the pharmacologic perspective. *Forsch Komplementarmed* 1999, 6(4): 186-94
20. Langer M et al.: Site-specific mutagenesis of mistletoe lectin: the role of RIP activity in apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1999, 264(3): 944-8
21. Park JA et al.: Activation of caspase-3 protease via a Bcl-2-insensitive pathway during the process of ginsenoside Rh2-induced apoptosis. *Cancer Lett* 1997, 121(j): 7381
22. Kim YS et al.: Ginsenoside Rh2 induces apoptosis independently of Bcl-2, Bcl-xL, or Bax in C6Bu-1 cells. *Arch Pharm Res* 1999, 22(5): 448-53
23. Kim HE et al.: Ginsenoside RH-2 induces apoptotic cell death in rat C6 glioma via a reactive oxygen-and caspase- dependent but Bcl-X(L)- independent pathway. *Life Sci* 1999, 65(3): 33-40
24. Oh M et al.: Anti-proliferating effects of ginsenoside Rh2 on MCF-7 human breast cancer cell. *Int J Oncol* 1999, 14(5): 869-75
25. Kim SH et al.: *Panax ginseng* prevents apoptosis in hair follicles and accelerates recovery of hair medullary cells in irradiated mice. *In Vivo* 1998, 12(2): 219-22
26. Wakabayashi C et al.: An intestinal bacterial metabolite of ginseng protopanaxdiol saponins has the ability to induce apoptosis in tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, 246(3): 725-30
27. Ren W et al.: Extract of *Solanum muricatum* (Pepino/CSG) inhibits tumor growth by inducing apoptosis. *Anticancer Res* 1999, 19(1A): 403-8
28. Sheng Y et al.: Induction of apoptosis and inhibition of proliferation in human tumor cells treated with extracts of *Uncaria tomentosa*. *Anticancer Res* 1998, 18 (5A): 3363-8
29. Saeky K et al.: Apoptosis-inducing activity of galloyl monosaccharides in human histiocytic lymphoma U937 cells. *Planta Med* 2000, 66(2): 124-6
30. Kondo T et al.: Cytotoxic activity of bryonolic acid isolated from transformed hairy roots of *Trichosanthes kirilowii* var. *Japonica*. *Biol Pharm Bull* 1995, 18(5): 726-9
31. Lee E et al.: Suppression of mouse skin tumor promotion and induction of apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxyphylla* Miquel (Zingiberaceae). *Carcinogenesis* 1998, 19(8): 1377-81
32. Yoon Y et al.: Shikonin, an ingredient of *Lithospermum erythrorhizon* induced apoptosis in HL60 human promyelocytic leukemia cell line. *Planta Med* 1999, 65(6): 532-5
33. Liu WK et al.: Cytotoxic effects of sinococuline. *Cancer Lett* 1996, 99(2): 217-24
34. Deng Y et al.: Remangilones A-C, new cytotoxic triterpenes from *Physena madagascariensis*. *J Nat prod* 1999, 62(3): 471-6
35. Jiang C et al.: Selenium-induced inhibition of angiogenesis in mammary cancer at chemopreventive levels of intake. *Mol Carcinog* 1999, 26(4): 213-25
36. Fujiki H: Two stages of cancer prevention with green tea. *J Cancer Res Oncol* 1999, 125(11): 589-97
37. Surh Y: Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutat res* 1999, 428(1-2): 305-27

38. Sigounas G et al.: S-allylmercaptocysteine, a stable thioallyl compound, induces apoptosis in erythroleukemia cells lines. *Nutr Cancer* 1997, 28(2): 153-9
39. Serrano J: Actividad anti-tumoral del Propóleo y sus derivados. *Natura Medicatrix* 2000, 56: 40-42 y 57: 40
40. Peris JB et al.: *Fitoterapia Aplicada*. Valencia. MICOF. 1995
41. Pelton R et al.: *Las alternativas en la terapia del cáncer*. Madrid. EDAF. 1995
42. Van Ginkel A: *Monografía Ginseng*. *Fitomédica* 1997, 10:70-81

NATURA MEDICATRIX 2001;19(5):234-240

ANEXO 12

ESTADO REDOX

La oxidación es fuente de vida. La vida podemos considerarla como un equilibrio dinámico e inestable de reacciones fisicoquímicas que se suceden y concatenan en perfecto orden y armonía. Por este dinamismo inseparable de la vida los organismos han de consumir continuamente energía para realizar todos sus procesos vitales. Esta energía la obtienen a través de ingeniosos mecanismos acoplados a reacciones de óxido-reducción entre sistemas redox de diferente potencial, transformando la energía física de la luz solar y la energía química de los alimentos en energía química fisiológica.

A pesar de que las reacciones de óxido-reducción son imprescindibles para la vida, la oxidación también es fuente de enfermedad cuando se pierde el equilibrio entre prooxidación y antioxidación a favor de los prooxidantes (como ocurre al generarse radicales libres). Nos encontramos entonces con el llamado estrés oxidativo.

Los radicales libres (RL) son moléculas, o porciones de ellas, que presentan al menos un electrón desapareado en su orbital más externo. Los RL son extraordinariamente reactivos y muy inestables, reaccionando por regla general muy deprisa en los medios donde se forman con el objetivo de conseguir que los electrones estén apareados, siendo su vida media en ocasiones muy inferior a una milésima de segundo, por lo que la inmensa mayoría de ellos constituyen materia efímera e intangible, imposible de aislar, almacenar y manejar.

Estos RLO se producen espontáneamente, en varias fases, en la mayoría de procesos redox celulares como: la cadena de transporte mitocondrial y las oxidaciones microsomales, el fagosoma de las células fagocíticas en la defensa frente a microorganismos, las autooxidaciones de sustratos y reducción de hidroperóxidos catalizados por metales de transición y las reacciones catalizadas por las oxidasas celulares. En definitiva durante el metabolismo, mientras las células del organismo transforman los alimentos en energía. Hay algunos procesos que se caracterizan por un exceso de producción de estos RLO, entre estos se encuentran la exposición prolongada a radiaciones ionizantes, luz ultravioleta, polución ambiental, humo del tabaco, hiperoxia, ejercicio intenso, isquemia y reperusión, disregulación de las enzimas que catalizan reacciones de óxido-reducción, exposición a xenobióticos o presencia de lípidos peroxidados o toxinas.

Este daño oxidativo sobre las macromoléculas acarrea diversas alteraciones.

Los ácidos nucleicos, tanto el DNA nuclear, que puede causar alteraciones genéticas, mutaciones, enfermedades autoinmunes y cáncer, como el DNA mitocondrial, involucrado en los procesos de envejecimiento pueden ser afectados por modificaciones oxidativas.

La célula posee sistemas enzimáticos antioxidantes capaces de metabolizar los RL generados en los procesos redox celulares. La catalasa (peroxisomas) y la glutatión peroxidasa (GHX) (enzima selenio dependiente de localización mitocondrial y citosólica) que descomponen H₂O₂ y la superóxido dismutasa (SOD) (metaloenzima mitocondrial y citosólica) que descompone O₂, son los más importantes. Las

deficiencias de selenio, cobre, cinc o manganeso pueden condicionar una inadecuada actividad de las enzimas antioxidantes.

Los llamados rastrillos de radicales (radical scavengers) son especies químicas cuya posibilidad antioxidante reside en su capacidad para destruir directamente los RL. Los principales rastrillos de radicales son: a) el glutatión (GHS): en presencia de la glutatión peroxidasa, reduce el H₂O₂ a agua, transformándose en glutatión oxidado. El glutatión se emplea para mitigar los efectos de las radiaciones nucleares causantes de la formación de RLO y facilitar la destrucción de éstos en el organismo. El glutatión es un tiol cuya capacidad neutralizadora de RLO radica en el grupo sulfidrilo de la cisteína. Gracias a la glutatión reductasa se regenera glutatión reducido (GHS) una vez que este se ha oxidado (GSSG); b) la vitamina C o ácido ascórbico: actúa principalmente en la materia acuosa del organismo. Destruye ciertos RL formados en el organismo o de productos que se ingieren o inhalan, así como aquellos causados por radiaciones; c) la vitamina E (alfa tocoferol): interrumpe las cadenas de peroxidación de los lípidos insaturados, siendo esencial su presencia para la protección de las membranas celulares. Otros rastrillos de radicales son: los taninos, los antocianos y las flavonas.

Antes de poder intervenir de forma positiva para el organismo en este equilibrio entre prooxidación y antioxidación, tendremos que saber cuando existe un desequilibrio o sea cuando hay estrés oxidativo. Pero el estado redox a nivel subcelular, de las células, los tejidos y los organismos es una realidad muy compleja que no se puede medir ni definir con un solo parámetro aislado. No hay métodos estandarizados para medir el estatus de estrés oxidativo (OSS) en humanos.

Por esto mismo son muchas las formas que se han utilizado para aproximarse a esta realidad del estado redox a nivel celular. Algunas de las más importantes son la medición de potenciales de pares redox celulares importantes como los tioles, la detección específica e inespecífica de los RLO, los productos de oxidación de las macromoléculas (productos de peroxidación lipídica, de la glucooxidación, de la oxidación de proteínas y DNA), niveles de sustancias antioxidantes tanto enzimáticos como no enzimáticos y proporción entre reducido y oxidado del glutatión, NADPH, coenzima Q10 etc.

Es posible que cuando se disponga de métodos más precisos para la medición del estrés oxidativo, éste se podrá utilizar en la práctica clínica como un factor de riesgo para una gran cantidad de enfermedades en las que este estrés oxidativo está implicado en su proceso patogénico, como son el envejecimiento, aterosclerosis, **neoplasias**, diabetes mellitus, hipertensión arterial, insuficiencia renal, cirrosis, mecanismo de algunos tóxicos entre otros muchos procesos. En estos casos un estilo de vida con actividad física regular y una dieta rica (dieta mediterránea) o suplementada con antioxidantes puede detener o enlentecer los procesos patológicos desencadenados por el estrés oxidativo.

ANEXO 13

FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NF:KAPPA-B

El factor de transcripción nuclear kB (NF-kB) es el encargado de controlar las respuestas del control del estrés. En situaciones normales, el NF-kB regula los genes implicados en los mecanismos de inflamación e inmunes, entre los que se encuentra la iniciación del programa de muerte celular. Ahora bien, si este factor de crecimiento está constantemente activado, puede proteger a las células frente al proceso de apoptosis y aumentar las posibilidades de que las células se conviertan en malignas.

Un grupo de investigadores de la [Universidad de Carolina del Norte](#), en Estados Unidos, ha identificado el mecanismo molecular por el que el nuevo activador molecular, el factor de transcripción NF-kappaB, tiene un papel clave en la regulación del crecimiento y la muerte celular, lo que proporciona datos valiosos sobre el desarrollo de los tumores. "Las vías de señalización que regulan el crecimiento y la muerte celular están asociadas entre sí. Las células proliferativas mueren al menos que estén presentes los factores de crecimiento, que proporcionan una protección frente al cáncer. Cuando ese proceso falla, las células de proliferación pierden el control", ha asegurado Sergei S. Makarov, profesor de Medicina de la citada universidad y coordinador del trabajo, publicado en el último número de [Nature](#). El hallazgo está basado en análisis bioquímicos de células cultivadas. Los investigadores han demostrado que después de la estimulación con factores de crecimiento, el NF-kappaB comienza a activarse a través de una secuencia de señales moleculares en las que están implicados los protooncogenes ras y akt.

La activación del NF-kappaB permite la expresión de la proteína c-myc, un regulador central del crecimiento, muerte y diferenciación celular. "Sabemos que cuando la citada proteína está sobreexpresada produce la muerte celular, pero cuando están presentes los factores de crecimiento, la c-myc no es letal, pero sí proliferativa. Aún no se conocen cómo regulan los factores de crecimiento las funciones de la c-myc. Cuando se bloquea la activación de NF-kappaB, los factores no trabajan en contra del c-myc, que induce la muerte celular". Por otra parte, cuando se activa el NF-kappaB es capaz de prevenir los efectos letales de la sobreexpresión del c-myc, lo que significa que los factores de crecimiento inducen la proliferación e inhiben la muerte celular a través de la activación NF-kappaB.

Para los autores de la investigación, los resultados tienen importantes implicaciones en el entendimiento de la proliferación anormal de las células tumorales. Las mutaciones del ras, akt y myc se encuentran en la mayoría de los tumores humanos. Dichos mecanismos moleculares también se pueden aplicar a la artritis reumatoide.

Estudios previos habían demostrado que la sobreexpresión del c-myc y la activación del NF-kappaB estaba asociada con cambios en el tejido característicos de la enfermedad, como inflamación y sobrecrecimiento de las células sinoviales de las articulaciones. Teniendo en cuenta los resultados, Makarov ha afirmado que los procesos tumorales y artríticos presentan características comunes.

ANEXO 14

GAP JUNCTION (GJIC)

Cuando las células se organizan formando un tejido, crean especializaciones en la membrana para el acoplamiento metabólico, iónico y mecánico de unas células con otras mediante nexos, desmosoma y Zonula ocludens. Los iones y moléculas de bajo peso molecular del citosol pueden pasar de una célula a otra a través de delgados canales. Las regiones de la membrana que contienen estos túneles citoplasmáticos se conocen como nexos (gap junction).

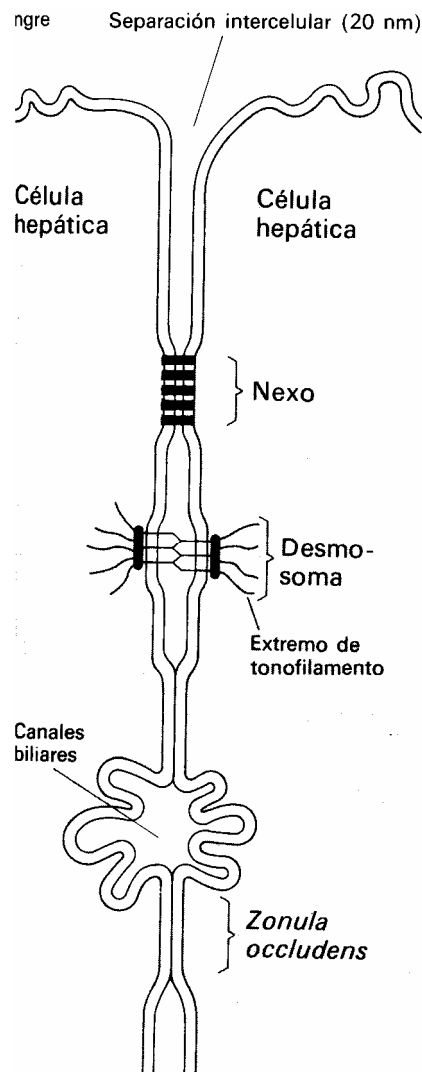
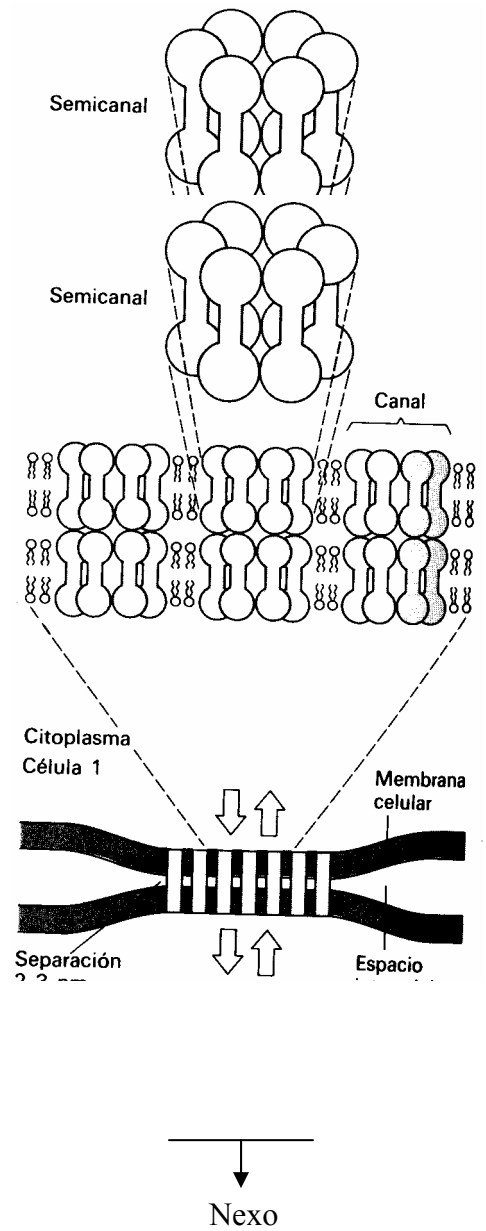


Figura 8.74—Modelo de un nexo. Las flechas simbolizan el intercambio de iones y moléculas de bajo peso molecular a través de los canales intercelulares que se forman por superposición de los **semicanales** existentes en ambas membranas. Cada **semicanal** consta de seis **subunidades** proteicas dispuestas radialmente. (Según **Peracchia**, 1977.)



Citoplasma
Célula 2