



**Centro de Investigaciones Biomédicas**

# **“RESVERATROL COMO COADYUVANTE EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER”**

**Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Médicas, mención en Biología Celular y Molecular**

**PAULA ALEJANDRA SAAVEDRA GARRIDO**

**Director de Tesis  
Dr. JOAN VILLENA**

**Valparaíso, Chile 2016**



Escuela de Medicina  
Programa de Magíster en Ciencias Médicas  
Mención Biología Celular y Molecular

## **“Resveratrol como coadyuvante en el tratamiento del cáncer”**

Paula Alejandra Saavedra Garrido

Este trabajo fue elaborado bajo la supervisión del Director de Tesis Joan Villena García, aprobado por los miembros de la Comisión.

Dr. Joan Villena García  
Director de Tesis

Dr. Iván Montenegro  
Comisión Evaluación Tesis

Dra. María Fernanda Cavieres  
Comisión Evaluación Tesis

Dra. Natalia Quiñones  
Comisión Evaluación Tesis

**Valparaíso, Chile**  
**2016**

## AGRADECIMIENTOS

A lo largo de estos años he recibido el apoyo de muchas personas que de alguna manera han hecho que este trabajo fuera posible. A todas ellas quiero mostrar mi más sincero agradecimiento.

En especial quiero expresar mi gratitud a mi director de tesis, el Doctor Joan Villena García, por haberme brindado la oportunidad de trabajar con él, por haberme ofrecido todo su apoyo, ánimo y sobre todo paciencia, lo que sin duda fue un puntal importante para culminar este trabajo.

Un agradecimiento especial va dirigido a mi familia por su apoyo incondicional, confianza y cariño demostrado en todo momento. A mis hijos por su paciencia y entender que la mamá tenía que estudiar.

Por último, mi más sincero agradecimiento a Raúl, por su ayuda, comprensión y paciencia. Gracias por estar ahí en los buenos y malos momentos, por alentarme día a día y ayudarme a concluir esta etapa tan importante en mi vida profesional.

## ABREVIATURAS

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AIF</b>	Factor inductor de apoptosis
<b>AP-1</b>	Proteína activadora 1
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ARNm</b>	ARN mensajero
<b>CAT</b>	Catalasa
<b>CDK</b>	Quinasa dependiente de ciclinas
<b>COX</b>	Ciclooxigenasa
<b>CREB</b>	“cAMP response element-binding”
<b>FKHR:</b>	Factor de transcripción Forkhead
<b>FUTP</b>	5-fluorouridina trifosfato
<b>FdUMP</b>	5-fluoro-2`-desoxiuridina monofosfato
<b>GSH-Px</b>	Glutación peroxidasa
<b>Gst</b>	Gen Supresor de Tumores
<b>MAPK</b>	Mitogen-activated protein kinasa
<b>MAV</b>	Aminas aromáticas
<b>MDR</b>	Multirresistencia a fármacos
<b>MnSOD</b>	Superóxido dismutasa manganeso
<b>MRP</b>	Proteínas de multirresistencia a fármacos
<b>NF-kB</b>	Factor de Transcripción Nuclear kappa B
<b>PI3K</b>	Fosfatidil-inositol 3-quinasa
<b>Pip3</b>	Fosfatidilinositol 3

<b>Pten</b>	Fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato 3-fosfatasa
<b>Rb</b>	Gen Retinoblastoma
<b>ROS</b>	Especies reactivas del oxígeno
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa
<b>STAT3</b>	Transductor de señal y activador de la transcripción 3
<b>Tert</b>	Enzima “telomerase reverse transcriptase”
<b>Tsp-1</b>	Tromboespondina-1
<b>TNF</b>	Factor de necrosis tumoral
<b>TRAIL</b>	Ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento del endotelio vascular
<b>XO</b>	Xantina Oxidasa

*“Las ciencias tienen las raíces amargas,  
pero dulces los frutos”*

*Aristóteles*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>4</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>METODOLOGÍA</b>	<b>12</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>15</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>17</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>22</b>
<b>5.1 EL CÁNCER</b>	<b>22</b>
5.1.1. HISTORIA DEL CÁNCER	22
5.1.2 CAUSAS DEL CÁNCER	24
5.1.2. CARACTERÍSTICAS DEL CÁNCER	34
5.1.4. TUMOROGÉNESIS	57
5.1.5. HETEROGENEIDAD TUMORAL	58
<b>5.2. ALIMENTACIÓN Y CÁNCER</b>	<b>59</b>
5.2.1. FITOQUÍMICOS	61
5.2.2. CLASIFICACIÓN DE LOS FITOQUÍMICOS	63
5.2.2.1. TERPENOIDES	63
5.2.2.2. COMPUESTOS AZUFRADOS	65
5.2.2.3. COMPUESTOS FENÓLICOS	66
5.2.3. RESVERATROL	70
<b>5.3. FÁRMACOS ANTICANCERÍGENOS</b>	<b>80</b>
5.3.1. CLASIFICACIÓN DE LOS QUIMIOTERÁPICOS	83
5.3.1.1. ANTIMETABOLITOS	83
5.3.1.2. COMPUESTOS DE PLATINO	84
5.3.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LA QUIMIOTERAPIA	87
5.3.3. ACTIVIDAD SINÉRGICA	88
5.3.3.1. RESVERATROL COMO COADYUVANTE DEL 5-FU	89
5.3.3.2. RESVERATROL COMO COADYUVANTE DE FÁRMACOS DE PLATINO	92
CISPLATINO	92
OXALIPLATINO	97
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>100</b>

# Introducción

Sin importar la edad, sexo o condición social, el cáncer mata cada año a más personas que el SIDA, la malaria y la tuberculosis juntas. Según el informe de la 58ª Asamblea Mundial de la Organización Mundial de la Salud, se proyecta que para el año 2020 más de 15 millones de personas serán diagnosticadas de cáncer (Organización mundial de la salud 2005).

Las investigaciones dirigidas a encontrar la cura avanzan en todo el mundo, pero como la enfermedad no es sólo una, si no más de 300, el panorama es todavía más complejo. Las principales líneas investigativas van por el camino de desentrañar por qué, en un momento determinado, nuestras células comienzan a dividirse de manera anormal, provocando una alteración general del funcionamiento celular y por consiguiente de tejidos y órganos. Ya se sabe que la respuesta va por la vía del ADN y las modificaciones que éste sufre. Desde el punto de vista molecular, conocer las vías de señalización, los actores involucrados y las consecuencias de sus alteraciones, parece ser otro camino importante para esclarecer el conocimiento acerca de esta enfermedad.

En este ámbito, la acción de compuestos químicos de origen vegetal, los fitoquímicos, representan un foco importante de investigación y utilización en los tratamientos anticancerígenos por sus probados efectos frente a esta enfermedad, ya sea a través de un rol como coadyuvante quimioprotector o quimiosensibilizador.

Dentro de este grupo, el resveratrol, el principal representante de los estilbenos, es considerado como una promesa para combatir el cáncer (Delmas, Lancon et al. 2006), pues sus propiedades como coadyuvante quimioprotector poseen efectos en los tres niveles de la carcinogénesis: iniciación, progresión y promoción tumoral. Además sus efectos quimioprotectores son de gran utilidad en el tratamiento antineoplásico pues también actúa frente a los indeseables efectos secundarios de los fármacos utilizados. Desde el punto de vista de la quimiosensibilización, es un muy buen coadyuvante pues reduce las resistencias de las células cancerígenas provocadas por los fármacos.

Así pues, la investigación que recoge esta revisión bibliográfica está orientada a argumentar los efectos anticancerígenos del resveratrol como coadyuvante en combinación con fármacos de uso convencional en el tratamiento del cáncer, como son 5-FU, cisplatino y oxaliplatino.

Para llevar a cabo esta revisión de tipo descriptiva se propusieron los siguientes objetivos:

Objetivo 1: Describir el uso de resveratrol como sustancia natural con propiedades anticancerígenas.

Objetivo 2: Describir el uso de 5-FU, cisplatino y oxaliplatino en el tratamiento convencional del cáncer.

Objetivo 3: Describir el uso combinado de resveratrol- 5-FU; resveratrol- cisplatino y resveratrol- oxaliplatino en el tratamiento del cáncer.

Se realizó una búsqueda entre los meses de Marzo a Septiembre del año 2015, utilizando los buscadores PubMed, SciELO y Google Académico con los criterios de búsqueda:

- ✓ Artículos publicados entre 1990 y 2015
- ✓ Que incluyeran los términos: cancer, cancer AND diet, phytochemicals AND cancer, resveratrol AND cancer, 5-Fluorouracil AND resveratrol, oxaliplatin AND resveratrol, cisplatin AND resveratrol.
- ✓ Los idiomas usados fueron inglés y español

De toda la información encontrada, se seleccionaron 338 artículos, de los cuales se extrajo información para construir esta revisión. La bibliografía consistió en revisiones científicas, artículos científicos, capítulos de libros especializados y páginas web de sitios sobre salud y cáncer.

La información se distribuyó en 3 capítulos, de acuerdo a las siguientes preguntas de investigación: ¿Cuáles son las características moleculares del cáncer?, ¿Qué evidencias existen del rol anticancerígeno de los fitoquímicos?, ¿De qué manera actúa el resveratrol en la prevención y combate del cáncer?, ¿Qué tipo de relación existe entre resveratrol y fármacos antitumorales convencionales como 5-FU, oxaliplatino y cisplatino?.



# Objetivos

## OBJETIVOS

---

### **Objetivo General**

Realizar una revisión de la literatura que resuma y describa la utilización del fitoquímico resveratrol como coadyuvante en el tratamiento del cáncer.

**Objetivo Específico 1:** Describir el uso de resveratrol como sustancia natural con propiedades anticancerígenas.

**Objetivo Específico 2:** Describir el uso de 5-FU, cisplatino y oxaliplatino en el tratamiento convencional del cáncer.

**Objetivo Específico 3:** Describir el uso combinado de resveratrol- 5-FU; resveratrol- cisplatino y resveratrol- oxaliplatino en el tratamiento del cáncer.

# **Marco Teórico**

## MARCO TEÓRICO

---

El cáncer es una de las enfermedades con mayor mortalidad en el mundo en un año y en Chile es la segunda causa de defunciones (Minsal 2011). Más de 10 millones de personas son diagnosticadas con cáncer cada año y se estima que para el 2020 habrán más de 16 millones de nuevos casos (Bronikowska, Szliszka et al. 2010). Se produce por una alteración del crecimiento y homeostasis normales de una célula. Esto se traduce en aumento de la proliferación celular, evasión de la apoptosis, sostenida angiogénesis y capacidad de invasión o metastásis (Hanahan and Weinberg 2011).

Entre las causas del cáncer destacan tres fenómenos bien documentados y difíciles de separar: una dieta incorrecta, estímulos perniciosos del ambiente y predisposición genética.

Se estima que por lo menos el 35% del total de cánceres son causados por una dieta inadecuada, la que estaría relacionada principalmente al bajo consumo de agentes antioxidantes y quimiopreventivos que se encuentran en frutas, verduras, extractos de plantas y hierbas. En el caso del cáncer de colon, una dieta inadecuada sería responsable del 80% del total de los casos (Reddy, Odhav et al. 2003).

En cuanto a la influencia del ambiente podemos decir que algunos de los factores existen naturalmente en el ambiente, tales como algunas radiaciones, microorganismos, sustancias químicas naturales producidas por organismos vivos, minerales como el asbesto, radioactividad natural. Otros han sido producidos o incrementados directa o indirectamente por el impacto de las actividades del hombre sobre el ambiente los que incluyen subproductos de la combustión del petróleo, sustancias químicas sintéticas, aditivos o algunos fármacos y modificaciones atmosféricas (Trichopoulos, Li et al. 1996).

Sólo entre un 5 a 10% de los cánceres son heredados, entendiéndose esta aseveración de que no es el cáncer lo que se hereda, sino la predisposición o susceptibilidad genética a desarrollarlo. Por tanto, el hecho de heredar una susceptibilidad genética a desarrollar cáncer no significa que se acabe desarrollando un tumor, sino que el riesgo de desarrollar la enfermedad es significativamente superior al observado en la población general (Sifri, Gangadharappa et al. 2004).

En la actualidad, las ciencias médicas están enfocando parte de sus esfuerzos en encontrar estrategias eficaces para prevenir las enfermedades crónicas no

transmisibles, que se han convertido en las primeras causas de muerte en el mundo (McKenney 2009). En esta búsqueda de alternativas terapéuticas, la medicina preventiva se orienta a la promoción de un estilo de vida saludable, en el que la práctica regular del ejercicio físico, la eliminación del consumo de tabaco, la disminución en el consumo de alcohol y la adopción de una dieta adecuada sean predominantes. Se ha comprobado que estos cambios serían suficientes para prevenir del 40 al 70% de las muertes prematuras, es decir un tercio de todos los casos (Mayor 2010).

Las recomendaciones dietéticas en todo el mundo enfatizan el consumo de frutas y verduras como una estrategia para la prevención de las enfermedades y la conservación de la salud, porque además de su contenido en macro y micronutrientes y fibra, contienen compuestos fitoquímicos que se destacan por sus propiedades antioxidantes, entre otras (González-Gallego 2010). Éstos serían los responsables de que las plantas sean fuente de una gran variedad de componentes farmacéuticos. Es así como el 41% de la nuevos fármacos aprobados por la Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos (FDA) tienen un producto de origen natural y esto aumenta al 60% cuando se consideran componentes anticancerígenos (Cragg, Newman et al. 1997).

Dentro del grupo de compuestos químicos de origen vegetal con efectos beneficiosos para la salud están los polifenoles, los que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, de hecho, son imprescindibles para la fisiología vegetal pues están implicados en la defensa frente a diferentes tipos de estrés como la exposición a luz ultravioleta, agresión de patógenos, parásitos o depredadores, la baja fertilidad del suelo, las temperaturas extremas o la sequía (Bravo 1998).

En cuanto a beneficios para la salud humana, los polifenoles son más conocidos por sus propiedades antioxidantes y sus habilidades para actuar eliminando las especies reactivas del oxígeno (ROS). Esta capacidad es una de las razones por las que los compuestos fenólicos pueden prevenir el crecimiento de las células cancerosas. Los mecanismos que subyacen a sus efectos antitumorales han sido estudiados extensamente e incluyen efectos antioxidantes, proapoptóticos, proautofágicos, antiangiogénicos, inmunoestimulantes (Asensi, Ortega et al. 2011).

Entre los compuestos fenólicos encontramos pigmentos como los antocianinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas, hortalizas y del vino tinto; los flavonoides presentes principalmente en frutas y hortalizas que dan un color crema-amarillento. Algunos polifenoles como las flavononas de los cítricos aportan un sabor amargo, otros en cambio confieren

astringencia a los frutos, como los taninos hidrolizables, etc.

De acuerdo a la naturaleza de sus estructuras químicas se han definidos diferentes tipos de polifenoles: ácidos fenólicos, lignanos, flavonoides y estilbenos. De entre éstos, los flavonoides son los más abundantes en la dieta (Kawai 2011).

El resveratrol es un estilbeno presente abundantemente en la uva roja (Tatsuta 1999), pertenece a un grupo de moléculas de defensa llamadas fitoalexinas que se producen en respuesta a estrés por ejemplo infecciones por patógenos y radiación UV. Su presencia se reportó por primera vez en el vino tinto, y desde entonces se le cree responsable de la "*Paradoja Francesa*" que es el fenómeno descrito en 1992 que se ha observado en ciertas poblaciones en las que a pesar de sus dietas altas en grasas saturadas, hay bajos índices de enfermedad cardiovascular debido al consumo frecuente de vino (Chow, Garland et al. 2010).

El resveratrol se encuentra actualmente reconocido como una molécula bioactiva con potenciales efectos beneficiosos sobre la salud debido a su amplia gama de propiedades farmacológicas y a la falta de efectos nocivos. Este polifenol es bien conocido por su acción antioxidante, antiinflamatoria, analgésica, cardioprotectora, neuroprotectora y antienvjecimiento (Baur and Sinclair 2006).

Debido a que el cáncer es la segunda causa de muerte por enfermedad a nivel mundial y a que la terapia anticancerígena tradicional posee efectos adversos muy severos y logran aumentar la expectativa de vida del paciente muy pocos años, el uso del resveratrol es una alternativa a futuro prometedora, tanto para su prevención como para su tratamiento.

La medicina tradicional china, especialmente a base de hierbas, es un ejemplo de la utilización de combinaciones de fármacos en las antiguas civilizaciones. A medida que avanzan los estudios científicos, que se han demostrado los efectos tóxicos de muchos fármacos usados en las personas y que ha avanzado el conocimiento en las propiedades quimioprotectoras de

los polifenoles, es que las combinaciones de químicos en busca de potenciar sus efectos frente a una enfermedad, aparecen como una nueva alternativa de tratamiento.

Algunos ejemplos de estudios de combinación de fármacos muestran la variedad de resultados que pueden surgir de la combinación de compuestos convencionales y polifenoles:

\* Resveratrol induces chemosensitization to 5-fluorouracil through up-regulation of intercellular junctions, Epithelial-to-mesenchymal transition and apoptosis in colorectal cancer. Buhrmann, et al. 2015

\* Protective effect of resveratrol against cisplatin-induced ototoxicity in HEI-OC1 auditory cells. Se Hee Lee, et al. 2015

\* Combinations of resveratrol, cisplatin and oxaliplatin applied to human ovarian cancer cells. Meher, et al, 2012

\* The neuroprotective effect of resveratrol on cisplatin-induced cognitive dysfunction. Maha, et al.2015

Analizar estos antecedentes y otros más resultaría interesante, en especial aquellos relacionados con combinaciones o sinergias que determinen propiedades coadyuvantes, ya sea por sus acciones quimioprotectoras o quimiosensibilizantes.

# **Revisión Bibliográfica**

## **5.1 El Cáncer**

El cáncer es una de las enfermedades que más muertes causa en el mundo y a pesar del enorme avance en el conocimiento de éste, continúa afectando a más y más personas, sin distinción alguna. Se le atribuyen 8.2 millones de muertes en el año 2012, siendo el 70% de ellas registradas en África, Asia, América Central y Sudamérica y si la tendencia continúa como hasta ahora, los casos anuales aumentarán de 14 millones a 22 millones en las próximas dos décadas (Organización mundial de la salud 2015).

En nuestro país es la segunda causa de muerte con 23.672 defunciones, lo que representa un 25% de las muertes, según registros del año 2012 del Ministerio de Salud de Chile (Minsal 2012).

Aunque globalmente la incidencia de cáncer sigue en aumento, producto del incremento de la población y de su envejecimiento, muchos e importantes han sido los avances realizados en el año 2014 en esta materia. Estos avances están dirigidos en la línea de una oncología cada vez más precisa, gracias a una mejor comprensión de la biología molecular de los tumores (Hoadley 2014).

En países desarrollados, la introducción de estrategias de detección precoz y las mejoras en la terapia contra el cáncer han permitido disminuir, en algunos casos, la incidencia de cáncer y además, mejorar la sobrevivencia de los pacientes afectados. Aunque así como se indicaba anteriormente el número de afectados sigue en aumento por lo cual se hace necesario seguir investigando.

### **5.1.1. Historia del Cáncer**

Los primeros registros sobre el cáncer datan de unos 150.000 años y se deben al estudio hecho por la paleopatología, que brindó evidencias de lesiones compatibles con cáncer en humanos (Halperin 2004), aunque se debe decir que no hay acuerdo en si éstas corresponden a otras etiologías (Micozzi 1991, David and Zimmerman 2010).

En el siglo IV A.C., en los escritos hipocráticos aparecen las primeras descripciones y el origen etimológico de la palabra cáncer. Para un médico griego el cáncer era una úlcera externa de difícil curación.

En el siglo XVIII se ordena la identificación de las lesiones cancerosas y se agrega el tratamiento con plantas medicinales; un ejemplo es el uso de cicuta postulada por Störck.

En 1775 se relaciona la idea de que hay ciertos factores que pueden provocar cáncer, como el cáncer de escroto y el polvo de carbón entre los deshollinadores (Waldron 1983).

En el siglo XVIII, mediante observación clínica, Hill y Pott establecen las primeras sospechas de la relación tabaco y cáncer, refiriéndose, sobre todo, a tumores de piel y de las vías aéreas superiores. La naturaleza carcinógena del humo de los cigarrillos, y de modo concreto del alquitrán y otras partículas, es establecida por Yamagawa e Ichikawa a principios de este siglo.

En 1915 el japonés Katsusaburo Yamagiwa induce tumores en la piel de conejos mediante la aplicación sostenida de un líquido negro llamado Alquitrán de Hulla.

En 1927 el estadounidense Hermann Joseph Muller induce tumores en moscas *Drosophila* con la utilización de rayos X, lo que marca el descubrimiento de los carcinógenos físicos.

En 1953, el descubrimiento de la estructura de la doble hélice del ADN de Francis Crick y James Watson sirve de lanzadera para investigar las bases moleculares del cáncer que continua en nuestros días (Watson and Crick 1953).

En el año 1971 Alfred Knudson basado en observaciones de retinoblastomas familiares y esporádicos publica su "hipótesis del doble impacto", sugiriendo el comportamiento de genes que suprimen los tumores (Knudson 1971) .

Durante el año 1982 se aísla el primer oncogén humano gracias al uso de técnicas de transfección de ADN (Der, Krontiris et al. 1982, Pulciani, Santos et al. 1982, Shih and Weinberg 1982).

### **5.1.2 Causas del Cáncer**

El cáncer es una enfermedad compleja, que es muy variable en su presentación y desarrollo. Lo mismo se puede aplicar a nivel celular y molecular. Es un proceso de múltiples pasos, en el cual las células sufren cambios metabólicos y conductuales profundos, asociados a la acumulación progresiva de alteraciones genéticas y epigenéticas que confieren a las células ventajas proliferativas.

Uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad es la edad. Más del 60% de los cánceres detectados y más del 70% de las muertes por cáncer proceden de personas de más de 65 años (Fulop, Larbi et al. 2011). Por lo tanto el aumento de la esperanza de vida y el envejecimiento de la población constituyen un importante factor que explica el aumento de la incidencia de cáncer a nivel mundial.

El segundo factor de riesgo es el estilo de vida. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2012) "aproximadamente un 30% de las muertes por cáncer son debidas a cinco factores de riesgo conductuales y dietéticos: índice de masa corporal elevado, ingesta reducida de frutas y verduras, falta de actividad física, consumo de tabaco y consumo de alcohol. Sin embargo, en la aparición del cáncer se encuentran implicados también otros actores como factores físicos tales como las radiaciones o biológicos como la predisposición genética o la presencia de enfermedades como la obesidad o ciertos virus que pueden influir en el desarrollo del cáncer (Roberts, Dive et al. 2010, Rubin 2011, Zhang, Beeghly-Fadiel et al. 2011).

Estos cambios surgen a través de la acumulación de modificaciones en el programa genético que controla la proliferación celular, la longevidad de las células, las relaciones con las células vecinas y la capacidad para escapar del sistema inmune. Con todo ello se forma una masa de células desreguladas, que no obedecen las reglas de crecimiento y desarrollo del organismo.

Uno de los componentes más importantes del desarrollo es el crecimiento celular. El hombre puede llegar a tener  $10^{15}$  células aproximadamente, a partir de las sucesivas divisiones que tienen lugar en un simple huevo fertilizado (Baserga 1993). Mientras es joven, la multiplicación celular predomina sobre la muerte celular, lo cual se traduce en un aumento de tamaño. En el adulto, el proceso de división celular y el de muerte celular se encuentran en equilibrio dando lugar a un estado estacionario, donde el número de células permanece relativamente constante. En el organismo adulto, no todas las subpoblaciones celulares se comportan de la misma manera, existen células que abandonan el ciclo celular para diferenciarse y su renovación es escasa o nula, como sucede con las neuronas, otras como las de la piel son constantemente sustituidas pasando de un proceso de mitosis al otro. Un tercer grupo de células se encuentran en un estado de latencia o periodo G<sub>0</sub>, del

cual pueden salir y volver a tomar parte del ciclo celular si fuese necesario, esto le ocurre a las células encargadas de restablecer los linajes hematopoyéticos o es el caso de las células hepáticas. Todos éstos constituyen ejemplos concretos del riguroso control al que se encuentra sometida la proliferación celular. Estos mecanismos de control responden siempre a las necesidades específicas del organismo. Si estos controles no funcionan de manera adecuada, la célula comienza a dividirse aunque no sea necesario. Cuando se transmite la tendencia a proliferar sin control a la descendencia celular, el resultado es un clon que se expande y que puede formar un tumor.

El genoma humano contendría unos 23.000 genes, de los cuales unos 3.000 a 5.000 codifican proteínas relacionadas con el cáncer. A lo largo de la vida el ADN está expuesto a mutágenos que generan errores en la replicación, resultando cambios sutiles y progresivos en la secuencia de ADN de cada célula. A veces, una de estas mutaciones somáticas altera la función de un gen crítico proporcionando una ventaja en el crecimiento de la célula donde se da el cambio, lo que promueve la expansión clonal de dicha célula.

### ***Agentes mutágenos***

En la actualidad se conocen varios agentes mutágenos con efectos carcinogénicos los cuales pueden reaccionar con importantes compuestos como puede ser la molécula del ADN. Se clasifican en:

**Agentes físicos:** las radiaciones UV, ionizantes y rayos X dañan al ADN de diversas maneras. La radiación UV puede generar dímeros de timina. Pueden también formarse sitiosapurínicos o apirimidínicos por eliminación de bases. Puede romperse la cadena de nucleótidos o formarse puentes cruzados entre ellas. En el caso de los rayos X y las radiaciones ionizantes, éstos pueden generar radicales libres intracelulares provocando estrés oxidativo potenciándose el efecto mutagénico (Vita 1993, Rennie J 1996).

**Agentes químicos:** los carcinógenos químicos pueden actuar de dos formas. Pueden, por sí mismos, interaccionar con el ADN (carcinógenos directos) o bien, necesitar una modificación previa catalizada por enzimas

del propio organismo (procarcinógenos).

Por último se conocen sustancias químicas que si bien no actúan directamente sobre el ADN son responsables de alterar la biología de la célula o la interacción con su

entorno. Un gran número de sustancias químicas, como contaminantes ambientales, de las que hasta hace poco no se sabía su acción cancerígena, actúan de esta manera. Ejemplos son: hidrocarburos policíclicos aromáticos (benzopireno, PCB, aminas aromáticas (MAV), nitrosaminas, compuestos inorgánicos (arsénico, asbesto, berilio, cadmio, cromo) (Trichopoulos, Li et al. 1996).

**Agentes Biológicos:** Algunos virus son capaces de producir transformación maligna, por ejemplo los virus de ADN. Algunos de éstos portan secuencias de oncogenes virales que toman el comando en la célula huésped modificando su proliferación y muerte. Otro mecanismo propuesto y aceptado es que las proteínas virales se unan a genes supresores de tumores impidiendo su acción normal. Son ejemplos el virus de ADN, Epstein Barr, el virus B de la hepatitis y dos cepas de papilomavirus humano. En todos los casos estos virus son causantes de enfermedades benignas, pero en algunos casos pueden evolucionar a la formación de tumores. Esto sugiere que la infección viral es sólo uno de los pasos en la transformación maligna.

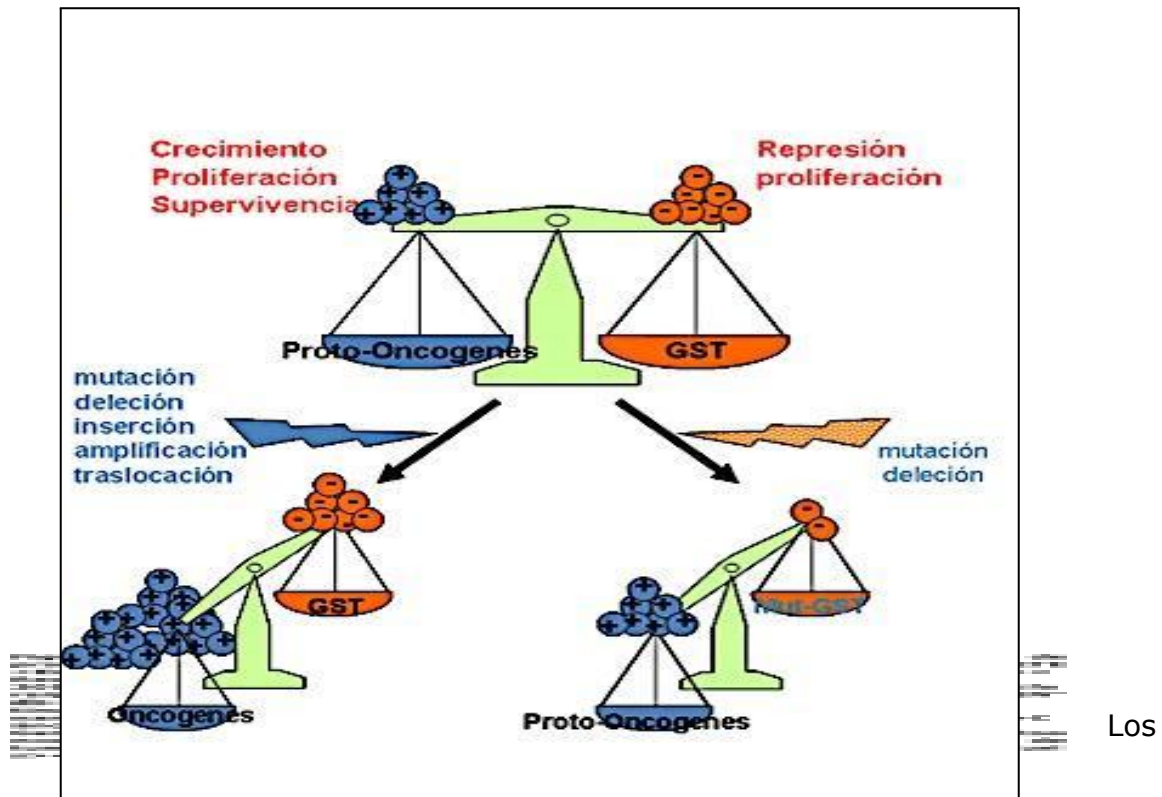
Otro ejemplo lo constituyen los virus de ARN. En enfermedades humanas el mejor conocido de los retrovirus relacionados con la transformación maligna es HTLV-1, virus causante de leucemia humana a células T del adulto (Trichopoulos, Li et al. 1996).

### ***Protooncogenes y Genes Supresores de Tumores***

Los genes involucrados con el cáncer son genes específicos que se relacionan con el control del crecimiento y supervivencia celular. Cuando estos genes acumulan mutaciones sus acciones se ven alteradas. Estas alteraciones genéticas o epigenéticas derivarán en una ganancia o pérdida de función de la proteína codificada e incluso a la no expresión de ésta. Las alteraciones sufridas por las células cancerosas pueden ser debidas a cambios epigenéticos, mutaciones puntuales y translocación, amplificación o delección de genes (Roa, Roa et al. 2000, Wong, Dai et al. 2006, Boerma, Siebert et al. 2009, Ruitter, Visser et al. 2011).

Hay genes cuyas mutaciones son más susceptibles de dar lugar a cáncer debido a que regulan procesos esenciales, como por ejemplo aquellos que se relacionan con la reparación del ADN, la estabilidad genómica, la proliferación celular y su regulación y la muerte celular, pero que tras su expresión anormal son capaces de

inducir transformaciones tumorogénicas (Pappou and Ahuja 2010). Son los llamados protooncogenes y genes supresores de tumores (GST), los cuales son verdaderos controladores de la progresión del ciclo celular; los primeros permitiendo el avance de la célula por cada etapa del ciclo y los segundos regulando la proliferación celular entre otros procesos (Fig.1).



protooncogenes son genes que controlan los procesos de proliferación y diferenciación. La ocurrencia de mutaciones en éstos pueden resultar en variantes alteradas u oncogenes que codifican para proteínas que desencadenan señales positivas de proliferación que mantienen a la célula estimulada para pasar de una mitosis a otra (Baserga 1993).

Los productos proteicos de los protooncogenes tienen diferentes funciones dentro de la célula, ellos pueden ser factores de crecimiento como es el caso del EGF o el PDGF entre otros. También pueden funcionar como receptores de membrana como

es el caso del EGF-R o a nivel intracelulares como receptores de hormonas esteroideas. En ambos casos, la célula interpreta la señal y envía segundos mensajeros que pueden alterar la transcripción, ya sea permitiendo que se expresen nuevos genes o modificando los niveles de expresión de genes ya activados (Rabbits 1994, Rennie J 1996, Lewin 1997).

Los protooncogenes pueden encontrarse en la célula en un número de copias elevado, lo cual resultará en una gran concentración de sus productos proteicos, pero también pueden presentar alteraciones en sus secuencias nucleotídicas, de modo que codifiquen para proteínas alteradas. Ambos casos traen como resultado la pérdida de importantes mecanismos de control celular por lo cual aumenta el proceso de proliferación.

Los miembros de la familia ras son los protooncogenes que más frecuentemente se encuentran alterados en tumores sólidos humanos; la frecuencia varía alrededor del 30% y en algunos casos, como en los adenocarcinomas de páncreas y pulmón supera el 50% (Barbacid, M. 1987, ras genes, Annu rev Biochem). En los humanos existen tres genes ras funcionales: H- ras-, K-ras y N-ras que codifican proteínas homólogas, con un peso molecular de 21Kda (Barbacid 1987).

Bien estudiada es la mutación en el gen K-ras. Éste se ubica en el cromosoma 12 y participa en señalizaciones de las vías PI3K/PTN/AKT y RAF/MEK/ERK (Wee, Jagani et al. 2009, Levidou, Saetta et al. 2012). Las proteínas codificadas por estos genes constituyen una estructura proteica de 21 Kd (p21), la que posee actividad GTP-asa, actuando en la vía de transducción de señales de crecimiento y diferenciación celular (Makrodouli, Oikonomou et al. 2011).

Alrededor del 90% de las mutaciones de este gen se localizan en sitios

específicos del primer exón (codón 12 en aproximadamente 80% y con menor frecuencia en el codón 13 en alrededor de 15-20%) (Neumann, Zeindl-Eberhart et al. 2009). En el segundo exón se localiza el codón 61 con

una frecuencia de mutación menor de 3%. La mutación más frecuente ocurre en el nucleótido del codón 12 y corresponden predominantemente a transiciones (guanina-adenina) con sustitución de ácido aspártico por glicina.

Cuando K-ras está mutado la proteína p21 está permanentemente señalizando, de tal manera que la célula se divide continuamente. Esta mutación es común en muchos cánceres en humanos tales como los de colon con un 40% de casos con

presencia del gen mutado, pulmón con un 30%, páncreas con un 80%, tiroides con un 55% (Jancik, Drabek et al. 2010).

Por la alta prevalencia de la presencia de gen K-ras alterado y la variedad de lugares del cuerpo humano que afecta, es que constituye uno de los principales marcadores para detectar el cáncer.

Otros ejemplos de protooncogenes son los genes Raf, Ciclinas, RAR $\alpha$ , c-Myc (Tabla 1) (Zelent, Guidez et al. 2001, Sanchez, Delattre et al. 2008, Albiñ, Johnsen et al. 2010, Pylyayeva-Gupta, Grabocka et al. 2011).

Además de la influencia positiva de los oncogenes en la aparición y desarrollo tumoral, existe otro grupo de genes que contribuye a la aparición del cáncer: genes supresores de tumores (GST), genes que funcionan inhibiendo el crecimiento de la célula pues participan en el proceso de muerte celular programada o apoptosis.

Las mutaciones que provocan la pérdida de expresión de estos genes suelen producir alteraciones en el comportamiento de la célula. El descubrimiento de estos genes se basó en la detección de pérdidas cromosómicas, fragmentos de los mismos y deleciones de ADN en células neoplásicas sugiriendo la existencia de genes cuyo papel podría inhibir la aparición de tumores y cuya ausencia, por lo tanto, estaría implicada en el proceso de oncogénesis (Arnold 1995).

La mayoría de los cánceres en humanos parece acompañarse de la pérdida o mutación de uno o más GST. Debido a la naturaleza diploide de las células somáticas en mamíferos, es necesario que se inactiven ambos alelos para

perder la acción oncosupresora de los GST, determinando así un mecanismo de carácter recesivo (Arnold 1995). Por otro lado la alteración puede ser heredada en línea germinal.

TIPO DE GEN	GEN	CLASIFICACIÓN	TUMOR ASOCIADO A SU DESREGULACIÓN
ONCOGENES	C-myc	Proteína reguladora nuclear	Leucemias, mama, estómago, pulmón y carcinomas de colon, neuroblastomas y glioblastomas
	N-myc	Proteína reguladora nuclear	Neuroblastomas, retinoblastomas y carcinoma de pulmón
	L-myc	Proteína reguladora nuclear	Carcinomas de pulmón.
	ERB-B	Receptor de factores de crecimiento	Glioblastomas, carcinoma de células escamosas
	ERB-B2	Receptor de factores de crecimiento	Mama, glándulas salivales y carcinoma de ovario
	FGF3 (INT-2)	Factor de crecimiento fibroblástico	Mama y carcinoma de células escamosas
	HST	Factor de crecimiento fibroblástico	Mama y carcinoma de células escamosas
	HGF	Factor de crecimiento	Cáncer de tiroides
	HER-2	Factor de crecimiento	Cáncer de mama
	PRAD-1 (ciclina D1)	Regulador del ciclo celular	Mama y carcinoma de células escamosas
	ABL	Regulador del ciclo celular (tirosin quinasa)	Leucemia crónica de la línea celular mielógena K562.
	MYB	Regulador del ciclo celular (Factor de transcripción).	Carcinoma de colon y leucemias
	ETS1	Reguladores del ciclo celular (Factor de transcripción)	Linfoma
	H-RAS	Proteínas implicadas en procesos de señalización celular mediante la unión a GTP (Guanosin trifosfato).	Carcinoma de vejiga
	K-RAS		Pulmón, ovario y carcinoma de vejiga
	N-RAS		Línea celular de carcinoma de mama
	BRAF	Proteína implicada en señalización celular. (Transducción de la señal de RAS)	Melanomas
	$\beta$ -catenina	Proteína implicada en señalización celular. (Transducción de la señal de WNT)	Cáncer de colon

GENES SUPRESORES TUMORALES			
p53	Factor de transcripción " <i>Guardián del genoma</i> "	Asociado a la mayoría de los cánceres, dentro de los principales destacan: Cáncer nasosinusal, Cáncer de mama Cáncer pulmonar de células pequeñas. Glioblastoma multiforme, Cáncer de vejiga, cáncer colorrectal.	
BCRA1 y BCRA2	Proteínas reguladoras del ciclo celular, detienen la proliferación.	Cáncer de Mama, Cáncer de Ovario	
Rb	Proteína encargada de inhibir la progresión del ciclo celular antes de la entrada en mitosis.	Retinoblastoma Cáncer de mama Cáncer pulmonar de células pequeñas.	
DPC4	Proteína encargada de bloquear los procesos de señalización inhibiendo la división celular	Cáncer pancreático	
miR-148b	ARN no codificante que están involucrados en la regulación post-transcripcional de la expresión génica en los organismos multicelulares.	Cáncer de pulmón de células no pequeñas	
miR 101	ARN no codificante que regula la expresión de genes	Glioblastoma	
WT-1	Factor de transcripción	Tumor de Wilms	
APC	Proteínas reguladoras del ciclo celular, detienen la proliferación	Cáncer Colorrectal y poliposisadenomatosa familiar.	
NF-1 NF-2	Codifican para proteínas encargadas de la inhibición de la proteína estimuladora Ras.	Neurofibroma, feocromocitoma y leucemia mieloide Meningioma, ependimoma y schwannoma	
MTS1	Codifica para la proteína p16, un componente del reloj del ciclo celular.	Cáncer de próstata, cáncer oral	
VHL	Este complejo actúa como un E3-ubiquitina ligasa y dirige la degradación del proteosoma dependiente de proteínas específicas.	Cáncer de células renales	

Esto explica en gran parte el carácter hereditario de algunos cánceres cuya frecuencia es alta en determinada

familias (formas hereditarias) y que se presentan raras veces en la población general (Arnold 1995).

Los estudios moleculares han identificado hasta la fecha más de 17 genes supresores de tumores implicados directamente en el cáncer humano (Tabla 1). Ellos codifican para una serie de proteínas localizadas en distintas regiones dentro de la célula, tanto en el citoplasma como en el núcleo.

Los dos GST más ampliamente descritos son TP53 y Rb.

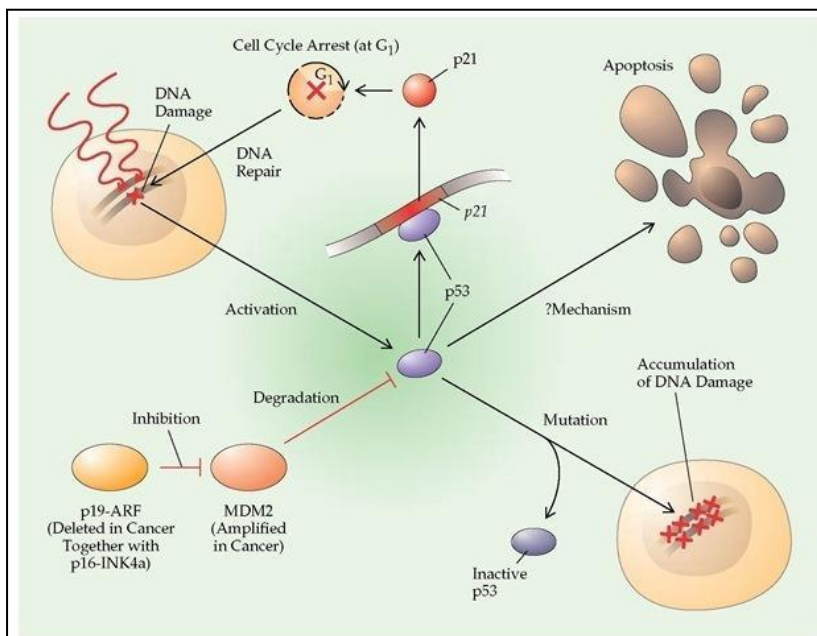
### Gen TP53

El gen TP53, es considerado por muchos autores como el "guardián del genoma". Está implicado en el control celular y ante la presencia de daños en el ADN, bloquea el proceso de división celular hasta que la maquinaria de reparación sea capaz de corregir los daños y la célula pueda replicarse sin errores tras desbloquearse el proceso de división celular. También bloquea la angiogénesis, posible favorecedora del desarrollo y la diseminación tumoral, a través de la secreción de trombospondina-1 (TSP-1) por parte de los fibroblastos; de esta forma, en las células transformadas, la ausencia de p53 favorecería la inducción de la angiogénesis mediante una disminución de la secreción de TSP-1 (Vera Sempere 1997).

La pérdida de la función de p53 permite a una célula con ADN dañado, sobrevivir y acumular mutaciones adicionales cuyo efecto combinado genera la enfermedad (Halazonetis, Gorgoulis et al. 2008). Su alteración no es la única causa, sin embargo tienen un efecto claro sobre la progresión neoplásica.

A partir de este gen se sintetiza una proteína, que lleva el mismo nombre y que se activa cuando las células se disponen a dividirse, para vigilar la secuencia normal de eventos genéticos que permitan la proliferación celular. En el bloqueo del ciclo, interviene la proteína p53 fosforilada como un factor de transcripción, que induce la expresión de algunos genes y reprime las de otro. Durante este proceso interviene la proteína p21, que inhibe la actividad quinasa del complejo Cdk2-ciclina E, necesario para superar la fase G1/S del ciclo celular.

Sí el material genético resulta dañado, o si algún sistema de control se desajusta, la proteína p53 lo detecta e intenta restaurarlo (figura 2) (Croce 2008).



## **Figura 2: Vía de respuesta de p53 al daño del ADN (Publishing 2010)**

El gen TP53 se localiza en el cromosoma 17p13, contiene 11 exones y codifica para un factor de transcripción (p53) compuesto de un dominio de trans-activación NH2 terminal, un dominio central de unión a ADN y un dominio de oligomerización COOH terminal. Además de estos dominios, p53 contiene tres zonas de localización nuclear pues es en el núcleo donde ejerce su función como factor de transcripción. La forma activa de p53 en el núcleo funciona como tetrámero y reconoce y se une a secuencias específicas (secuencias consenso) dentro de las regiones promotoras de los genes diana (Rodríguez, Desterro et al. 2000).

Se ha visto que aproximadamente el 50% de los cánceres llevan mutaciones en el gen TP53 (Werness, Levine et al. 1990). Debido a que en p53 el dominio de unión a ADN se encuentra ligado a su actividad proapoptótica, la integridad genómica de la secuencia que codifica para ese dominio (exones 5-8) es particularmente importante. De todas las mutaciones que sufre TP53, el 95% de ellas ocurre dentro de la región genómica que codifica para el dominio de unión al ADN (Walker, Bond et al. 1999).

### ***Gen Retinoblastoma (RB)***

El Retinoblastoma es una enfermedad humana infantil en la cual se forma un tumor en la retina. Es causada por la pérdida de ambas copias del gen RB en la banda q14.2. del cromosoma 13. El 5% de los casos de afectados con retinoblastoma presentan la pérdida de esta región cromosómica. (Yunis and Ramsay 1978).

El producto del gen supresor de tumores RB, ejerce su efecto durante la primera parte de la fase G1 del ciclo celular. En este periodo o en las células quiescentes, esta proteína es unida al factor de la transcripción E2F. Este complejo tiene 2 funciones, en primer lugar, muchos de los genes cuyos productos son esenciales para la fase S de dicho ciclo dependen de la actividad del factor E2F. Por tanto el RB,

mediante el secuestro de este factor de la transcripción garantiza que la fase S no pueda ser iniciada. En segundo lugar, el complejo E2F-RB reprime la transcripción de otros genes: timidina cinasa, *myc*, *myb*, reductasa de ribonucleótido, reductasa del hidrofolato y ADN polimerasa  $\alpha$ , los cuales están involucrados en la progresión del ciclo celular hacia la fase S (Cobrinik 1992, Grana 1995).

En el punto de restricción de la fase G1 del ciclo celular o cerca del mismo, la pRB es fosforilada por el complejo quinasa/dependiente de ciclinas y esta fosforilación causa la liberación del factor E2F, el cual entonces activa los genes cuyas funciones son requeridas para la fase S. (Johnson, Cress et al. 1994). Si falta la proteína Rb o si una mutación altera su capacidad, el freno molecular del ciclo celular desaparecerá y la célula avanzará despreocupadamente hacia la fase S (Saiz Rodríguez 2001).

Sobre esta base, alteraciones epigenéticas se suman al proceso de diversificación de la población celular tumoral, creando un sinfín de oportunidades para la selección de células adaptables a diversos entornos.

### 5.1.2. Características del cáncer

Según Hanahan y Weinberg, 2011 existen 10 características o "sellos distintivos" (figura 3) que definen al cáncer: mantenimiento de señales proliferativas y supresión de las antiproliferativas, evasión de la muerte celular y el sistema inmune, reprogramación del metabolismo energético

celular e inmortalidad replicativa. Lo que confiere la característica de malignidad a esta proliferación es la capacidad angiogénica, la invasión y la metástasis provocando disfuncionalidades graves en el organismo. La inestabilidad genética genera la diversidad genética que promueve la adquisición de estas características, así como también es potenciada por los procesos inflamatorios (Hanahan and Weinberg 2011).



### **Figura 3: Las características del cáncer (Hanahan and Weinberg 2011).**

A continuación se detallará cada una de estas características o hallmarks de las células cancerígenas.

#### ***Mantención de la señalización de proliferación***

Para la mantención de la homeostasis y arquitectura de un tejido, las células poseen una serie de controles en la producción de señales promotoras de crecimiento, de tal forma que éstas entren y progresen a través del ciclo de crecimiento y división celular. De este modo se asegura la homeostasis en cuanto al número de células, la mantención de la arquitectura y funciones de los tejidos normales (Hanahan and Weinberg 2011). Estas señales

pueden ser factores de crecimiento, componentes de la matriz extracelular o moléculas de interacción/adhesión célula-célula que se unen a receptores transmembrana, los cuales activan vías de señalización que culminan en la expresión de genes implicados en la proliferación (Hanahan and Weinberg 2000). Las células normales dependen de estas señales para proliferar. Sin embargo, las células cancerosas pueden sobreexpresar especies moleculares que dan lugar a la sobreactivación de rutas de señales proliferativas. La sobreexpresión de factores de crecimiento es un evento muy frecuente en células cancerosas actuando de forma auto y paracrina para promover la proliferación celular y su propio crecimiento (Zhang, Beeghly-Fadiel et al. 2011). Además del propio estímulo con señales proliferativas, las células cancerosas desarrollan otras estrategias para obtener autonomía de crecimiento, como la sobreexpresión de receptores hormonales y factores de crecimiento, aumentando la sensibilidad de la célula al estímulo proliferativo (Selvaggi 2004, Schrevel, Gorter et al. 2011).

Las células cancerosas también pueden presentar alteraciones en la expresión de receptores de la matriz extracelular (integrinas), favoreciendo la transmisión de señales de crecimiento (Lukashev and Werb 1998).

Otros mecanismos más complejos que confieren autonomía en señales de crecimiento son las alteraciones de los circuitos intracelulares activados por estas señales. Un ejemplo clásico es la vía de SOS-RAS-RAF-MAPK, donde Ras es una proteína frecuentemente mutada (mayoritariamente Kras) en cánceres de colon y páncreas (Rogosnitzky and Danks 2010) que permite la activación de señales

mitogénicas sin necesidad de que se produzca la activación previa de los receptores celulares (Agbunag and Bar-Sagi 2004). Actualmente se sabe que la función de Ras se requiere en al menos tres puntos diferentes de control del ciclo celular (salida de G<sub>0</sub>, salida de G<sub>1</sub> y entrada a S, y salida del ciclo para la diferenciación). Incluso existen evidencias que indican que también participa en el punto de control G<sub>2</sub>/M. Los modelos actuales suponen que las proteínas Ras transducen sus señales independientemente de la hidrólisis del GTP. Es decir, que dado que el flujo de señales no requiere de la hidrólisis de GTP, las formas oncogénicas de Ras, que no hidrolizan GTP y por ello están permanentemente activas, transducen señales de manera continua. Las formas mutadas de éstas estarían incapacitadas para modular de forma correcta el flujo de señales y por ello no podrían controlar adecuadamente el ciclo celular, lo que desembocaría en un crecimiento descontrolado, propio de los tumores malignos (Barbacid 1987, Michaloglou, Vredeveld et al. 2005).

De igual modo, se han encontrado mutaciones que activan la quinasa citosólica BRAF, un miembro de la familia RAF quinasa que contiene residuos serina/treonina que participan en las vías de señalización que regulan la proliferación, diferenciación y la apoptosis (Rajagopalan, Bardelli et al. 2002, Govender and Chetty 2012). Hasta el momento, todas las mutaciones de BRAF han sido reportadas dentro de los dos dominios de quinasas y sobre 90% corresponden a una transversión de timina a adenina en la posición nucleotídica 1796, que convierte a la valina en glutamato (Cantwell-Dorris, O'Leary et al. 2011, Dienstmann 2011).

Estudios en melanoma cutáneo maligno han determinado que la presencia de una mutación a nivel del gen BRAF lleva a la sobreactivación de la vía MAPK que a su vez lleva a la ausencia de apoptosis e induce el avance de los melanocitos en el ciclo celular (Michaloglou, Vredeveld et al. 2005). La activación de la vía MAPK también tiene lugar como consecuencia de las mutaciones somáticas de otros oncogenes, como N-RAS, sin embargo, las mutaciones de N-RAS, a diferencia de las de BRAF, se han descrito en menor proporción (Jakob 2011, Jakob 2011).

Finalmente, otro mecanismo por el que las células cancerosas consiguen una alta capacidad proliferativa se basa en bloquear los sistemas de retroalimentación negativa que atenúan las señales proliferativas. Un ejemplo es la fosfatasa PTEN, que contrarresta los efectos de PI3K defosforilando su producto PIP<sub>3</sub>.

Mutaciones inactivantes en PTEN, deleciones o cambios epigenéticos que le hacen perder su expresión, provocan un aumento de la señalización por PI3K promoviendo la tumorigénesis, tal y como se demuestra en una amplia variedad de modelos experimentales de cáncer (Jiang and Liu 2009).

### ***Supresión de señales inhibitoras de proliferación***

En el tejido normal hay señales antiproliferativas que regulan la homeostasis tisular manteniendo las células en estado quiescente. Estas señales pueden ser inhibidores del crecimiento, solubles o inmovilizados en la matriz extracelular y/o en la superficie de células vecinas (Hanahan and Weinberg 2000). La proliferación se puede bloquear por dos vías: por una desactivación transitoria que fuerza a las células a entrar en fase G<sub>0</sub>, o por una desactivación permanente que introduce a la célula en estados postmitóticos como la diferenciación celular. La mayoría de los programas regulan

negativamente la acción de los ya mencionados genes supresores tumorales RB y TP53 (Hanahan and Weinberg 2011).

Las células cancerosas son capaces de evadir las señales antiproliferativas. Un claro ejemplo de insensibilización a señales de crecimiento es la desregulación de la vía de la proteína del Retinoblastoma. En estado hipofosforilado, RB bloquea la proliferación al interactuar con los factores de transcripción E2F, inactivándolo e impidiendo la expresión de numerosos genes implicados en la progresión de la fase G<sub>1</sub> a S del ciclo celular (Seville, Shah et al. 2005, Gordon and Du 2011). Por lo tanto, las células cancerosas con defectos en la vía RB sufren una pérdida del control de la progresión en el ciclo celular, permitiendo una proliferación persistente.

Otro caso frecuente de evasión de señales inhibitoras involucra al factor de transcripción TP53. TP53 es el guardián del genoma porque en él converge la maquinaria de reparación del ADN con el control de genes antiproliferativos y también apoptóticos que llevan al suicidio de la célula cuando la reparación del ADN no es factible. Es por ello que es muy frecuente encontrar mutado a TP53 en células cancerosas (Goh, Coffill et al. 2011). Por lo mismo se han diseñado diversas estrategias terapéuticas anticancerosas para reactivar la vía de TP53 (Brown, Lain et al. 2009).

La proliferación celular también se detiene cuando se produce la diferenciación terminal de una célula. Sin embargo, la fisiología de la célula cancerosa es capaz de inhibir la diferenciación terminal, permitiendo así que pueda seguir proliferando. Una estrategia para evitar la diferenciación terminal involucra directamente al factor de transcripción c-Myc que promueve la proliferación celular y ayuda a mantener la pluripotencialidad de las células progenitoras manteniéndolas indiferenciadas (Cartwright, McLean et al. 2005, Takahashi 2007). c-Myc se encuentra sobreexpresado en diversos tipos de cánceres y está asociado con tumores agresivos y poco diferenciados, siendo su sobreexpresión un evento oncogénico

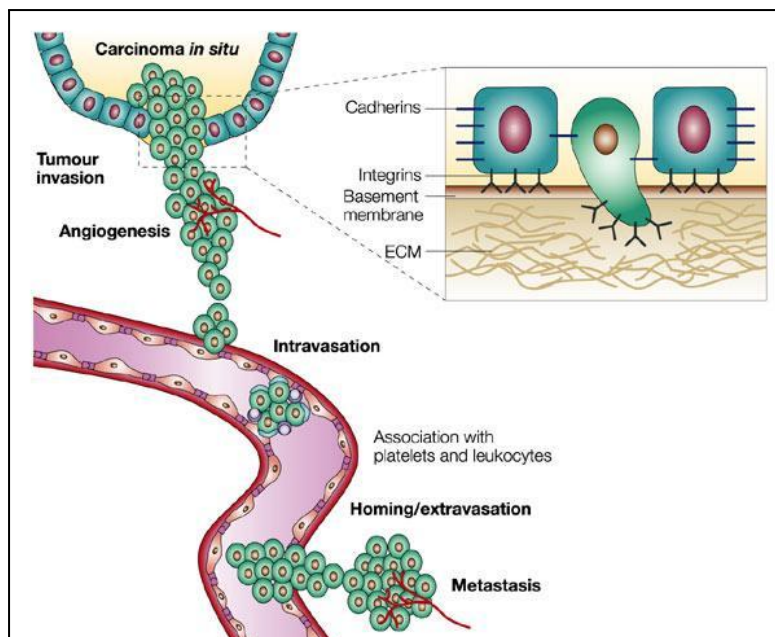
temprano dentro de la evolución progresiva del tumor (Vita 2006).

### ***Invasión y Metástasis***

Para progresar, las metástasis necesitan que las células tumorales tengan la habilidad de reiniciar el crecimiento tumoral una vez han accedido, en pequeño número, a un tejido distinto. No todas las células en un tumor son capaces de dividirse infinitamente, así que tampoco todas las que han

accedido al lugar de metástasis son capaces de reiniciar el tumor. Aún así, por un mecanismo u otro, un subgrupo de células tumorales tiene la capacidad de actuar como células propagadoras del tumor (Clarke and Fuller 2006). Esta capacidad las define como células madre tumorales o células de propagación tumoral, que ayudarán al mantenimiento de los tumores primarios y serán esenciales para el establecimiento de colonias metastásicas.

Para diseminarse, las células tumorales deben ser capaces de romper los lazos con la estructura cohesiva del tejido de origen (figura 4). La adhesión entre células se reduce por la pérdida de proteínas de anclaje que las une, por ejemplo, E-cadherina. La pérdida de esta proteína en tumores puede darse por varios mecanismos, incluyendo mutaciones genéticas o silenciamiento epigenético del gen que la codifica (Perl, Wilgenbus et al. 1998, Thiery 2002).



**Figura 4: Cambios de adhesión durante la metástasis tumoral (Guo and Giancotti 2004).**

La pérdida de acción de E-cadherina también ocurre como parte de la transformación de células cancerosas de un estado epitelial a un estado de mayor movilidad; un cambio conocido como "epitelial- mesenchymal transition" o EMT (Cano, Perez-Moreno et al. 2000). Las células normales se mantienen en su lugar gracias a la acción de la matriz extracelular, una estructura formada por colágeno y otras proteínas que forman fibras a las que las células se unen a través de receptores denominados integrinas. Estos contactos pueden retener a las células en su lugar, pero también pueden estimularlas a formar extensiones para el movimiento migratorio (Lopez-Otin and Matrisian 2007). Varias proteínas involucradas en cambios de forma de las células, como RhoC y NEDD9, están implicadas en la invasión de células cancerígenas que llevan a la metástasis (Clark, Golub et al. 2000).

Las células cancerosas se pueden diseminar desde estadios muy tempranos, cuando el tumor es pequeño y todavía no ha sido diagnosticado. Efectivamente, se han detectado células tumorales en la médula ósea de pacientes a los que se les diagnosticó cáncer de mama con tumores pequeños (Klein, Blankenstein et al. 2002). Esto no quiere decir que las primeras células en salir sean las que progresen hacia una metástasis manifiesta, pero sí indica que la diseminación no es propiedad exclusiva de tumores crecidos o avanzados. Al contrario, bastantes pacientes operados de un tumor pequeño presentan metástasis, lo cual indica que antes de ser extraído dicho tumor ya había sembrado células malignas en órganos vitales.

Los huesos, los pulmones, el hígado y el cerebro son los órganos donde las metástasis ocurren más a menudo. Sin embargo, distintos cánceres tienen preferencias distintas para propagarse a estos órganos (Billingsley, Burt et al. 1999, Leiter, Meier et al. 2004).

La compatibilidad entre las células cancerosas diseminadas (la "semilla") y ciertos órganos distantes (el "terreno"), fue ya adelantada por Stephen Paget en el siglo XIX, quien promulgó la teoría de la "semilla y el terreno". Por ejemplo, el cáncer de mamas puede propagarse a cuatro lugares: huesos, pulmones, hígado y cerebro, siendo los dos primeros los más frecuentemente afectados.

Desde el punto de vista evolutivo, el cáncer no es un proceso nuevo. En tumores esta heterogeneidad le proporciona la inestabilidad genómica propia de las células

cancerosas, aumentando la posibilidad de que algunas células de un tumor adquieran las competencias metastásicas. Las distintas

etapas de metástasis no necesariamente representan la adquisición individual de mutaciones especializadas, pero sí un cúmulo al azar de rasgos que proporcionan la ventaja necesaria para adaptarse al microambiente de un órgano distinto al del que provienen (Nowell 1976).

### ***Evasión de la muerte celular***

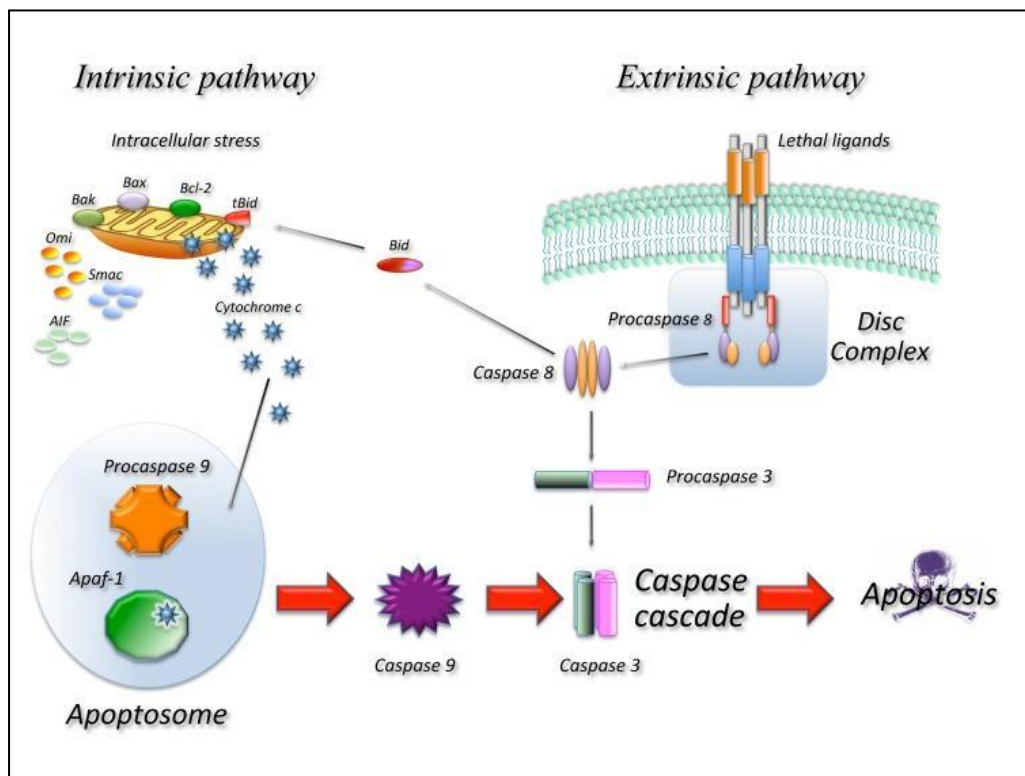
La muerte celular programada es un proceso celular esencial para el desarrollo y el mantenimiento de la homeostasis de los tejidos adultos. Su misión, además de la implicada en el desarrollo embrionario, es eliminar las células dañadas, infectadas o transformadas. Numerosos estudios han establecido que la muerte celular programada por apoptosis sirve como barrera natural contra el desarrollo del cáncer (Adams and Cory 2007), por este motivo, la evasión de la apoptosis es un evento frecuente en células cancerosas.

Las células que sufren apoptosis muestran unos cambios morfológicos característicos como:

- Aumento brusco de la densidad intracelular. El retículo endoplásmico se dilata, formando vesículas y fusionándose con la membrana plasmática, eliminando así su contenido al medio extracelular. Esta rápida, pero selectiva salida de fluidos y de iones intracelulares se encuentra mediada por transportadores iónicos.
- Incremento moderado, pero sostenido de la concentración de calcio libre citoplasmático, diferencia clara frente a procesos de necrosis, donde su aumento es drástico.
- Cambios en la composición de la membrana celular. Translocación de grupos glicanos a la superficie celular que van a actuar como señal de reconocimiento, permitiendo la unión de fagocitos y, de esta manera, evitando la liberación del contenido celular y la posible reacción de inflamación.
- Alteración en la conformación de elementos del citoesqueleto. Como consecuencia aparece una deformación, resultado de la actividad de las proteasas, modificándose el transporte intracelular retrógrado de factores de crecimiento y de proteínas.
- Aumento y activación de la síntesis de determinadas proteínas necesarias en las rutas metabólicas de los procesos de muerte celular.
- Condensación y fragmentación de la cromatina, por acción de endonucleasas endógenas, en fragmentos denominados oligonucleosomas (Van Cruchten and Van Den Broeck 2002).

La apoptosis está señalizada por dos clases de proteasas especializadas: las caspasas iniciadoras y las caspasas efectoras. Las caspasas son cisteína proteasas que se expresan como zimógenos inactivos y se procesan al estado activo por proteólisis. La actividad de las caspasas conduce a la degradación de proteínas específicas, dando lugar a procesos tales como: cortar los contactos con células vecinas, reorganizar el citoesqueleto, activar las endonucleasas para fragmentar el ADN, dismantelar las láminas nucleares, expresar señales de fagocitosis y activar proteínas específicas que preparan a la célula para el cese de las funciones metabólicas (Cascales 2003).

Se han descrito dos vías que desencadenan la apoptosis: la vía extrínseca, a través de receptores de muerte y la intrínseca o mitocondrial (figura 5). Ambas vías no son totalmente independientes y existe una señalización recíproca y cruzada entre intermediarios de ambas rutas (Igney and Krammer 2002).



**Figura 5: Representación esquemática de vías moleculares que conducen a la apoptosis (Favaloro, Allocati et al. 2012)**

Finalmente, ambas vías culminan en la activación de proteasas que se encuentran normalmente latentes (caspasas 8 y 9 respectivamente), las cuales inician la cascada proteolítica llevada a cabo por las caspasas efectoras responsables de la ejecución de la fase de apoptosis (Igney and Krammer 2002).

La vía intrínseca es desencadenada en respuesta a una amplia variedad de estímulos que son generados dentro de la célula, tales como activación de oncogenes o daño del ADN. Es mediada en la mitocondria y en respuesta a estímulos apoptóticos, diversas proteínas son liberadas del espacio intermembranal de la mitocondria hacia el citoplasma.

Algunas de las proteínas mejor caracterizadas son: citocromo c, SMAC/DIABLO, AIF (factor inductor de apoptosis), EndoG (endonucleasa G) y Omi/HTRA2 (proteína A2 requerida para las altas temperaturas).

Quizás la más importante de estas proteínas proapoptóticas sea citocromo c, el cual se une a APAF-1, lo que promueve que esta última se una a ATP/dATP y forme el apoptosoma que induce la activación de caspasa-9 (Danial and Korsmeyer 2004) y la consecuente activación de la cascada de caspasas (Garrido, Galluzzi et al. 2006, Adams and Cory 2007).

Por otro lado, SMAC/DIABLO, una proteína localizada en el espacio intermembranal de la mitocondria, se une y neutraliza al inhibidor de las proteínas apoptóticas (IAP), que actúa normalmente inhibiendo a las caspasas. De este modo IAP es antagonizando y permite así, la activación de las caspasas (Garrido, Galluzzi et al. 2006).

Los mecanismos antes mencionados están regulados por las proteínas de la familia Bcl-2. Esta familia está formada por una red de proteínas caracterizadas por contener hasta 4 dominios distintos de hélice- $\alpha$ . Se encuentran localizadas en la mitocondria, retículo endoplásmico y citosol, donde regulan la apoptosis frente a diferentes situaciones de estrés (Elkholi 2011).

La familia de proteínas se encuentra dividida en 3 clases:

- las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 ( por ejemplo: Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, A1 y Mcl-1)
- los efectores proapoptóticos Bcl-2 (por ejemplo: Bak, Bax)
- las proteínas proapoptóticas BH3-only (por ejemplo: BID, BIM, BAD, BMF, HRK, Noxa, PUMA) (Petros, Olejniczak et al. 2004)

Las proteínas Bcl-2 antiapoptóticas se encargan de mantener la integridad de la membrana mitocondrial externa. Dicha acción la ejercen uniéndose directamente a las proteínas Bcl-2 proapoptóticas e impidiendo su acción. Sin embargo, tras el estímulo apoptótico o por estrés acumulado, las proteínas Bcl-2 antiapoptóticas son funcionalmente inhibidas, liberándose las Bcl-2 proapoptóticas que permeabilizan la membrana mitocondrial externa y permiten la liberación del citocromo c y de SMAC/DIABLO al citosol (Elkholi 2011).

No se conoce exactamente como el citocromo c cruza la membrana mitocondrial, pero una de las mejores hipótesis sugiere que los miembros de la familia Bcl-2 forman canales que facilitan el transporte de estas proteínas; basados en la similitud estructural de Bcl-XL a la subunidad formadora de poros de la toxina diftérica, se ha sugerido que las proteínas Bcl-2 podrían actuar en la membrana mitocondrial externa por inserción, seguido de un cambio conformacional dentro de la membrana mitocondrial externa, donde podrían formar canales o incluso largos agujeros. Los miembros de la familia Bcl-2 necesitan poder insertarse dentro de la bicapa lipídica sintética, oligomerizar y formar canales con una conductancia discreta, aunque se desconoce si tienen el tamaño necesario para el paso de las proteínas. Se cree que los miembros de Bcl-2 interactúan con otras proteínas para formar canales. Una posibilidad es que los miembros proapoptóticos recluten otras proteínas de la membrana mitocondrial externas, formando un gran canal. Un candidato atractivo es el canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC), ya que diversos miembros pueden unirse a éste y regular su actividad como canal (Hengartner 2000, Suen, Norris et al. 2008). También es posible que los miembros de Bcl-2 controlen la homeostasis de la mitocondria. En este modelo, las señales apoptóticas actuarían alterando la fisiología de la mitocondria, por ejemplo, por intercambio iónico o fosforilación oxidativa, de tal modo que el organelo se hinche resultando en la ruptura física de la membrana externa y liberación de las proteínas intermembranales hacia el citosol (Hengartner 2000, Danial and Korsmeyer 2004).

La inactivación de esta vía es generalmente llevada a cabo como un sello del cáncer (Conradt and Xue 2005).

La vía extrínseca se inicia por unión de un ligando con su receptor transmembrana (FAS, TNFR, TRAIL) para activar a las caspasas iniciadoras (caspasa 8 y 10), que a su vez activan por proteólisis a las caspasas efectoras (caspasas 3 y 7) tal y como ocurre en la vía intrínseca (Adams and Cory 2007). Esta vía puede ser regulada por diferentes factores, entre ellos

el inhibidor de las proteínas apoptóticas (IAP), que afecta tanto a caspasas iniciadoras como a efectoras.

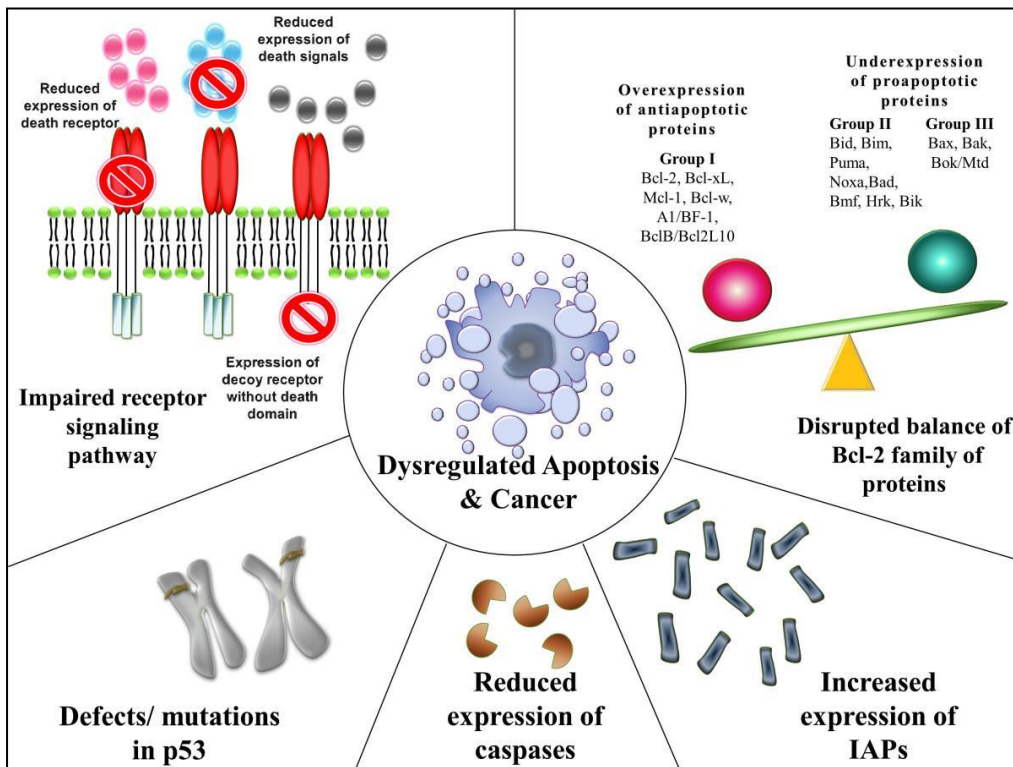
La resistencia a apoptosis en células cancerosas puede ser adquirida mediante diferentes estrategias. Cualquier inactivación de vías proapoptóticas o activación de vías antiapoptóticas, ya sea por mutaciones somáticas o alteración en la expresión, genera fallas en la apoptosis, y por lo tanto, promueve la supervivencia de las células tumorales (figura 6).

Una vía que suele estar activada es la de PI3K/AKT, crucial en numerosos aspectos de crecimiento y supervivencia celular (Hiles, Otsu et al. 1992). La vía de la PI3K es estimulada fisiológicamente como consecuencia de la activación de receptores de membrana tirosina kinasa, los cuales autofosforilan y fosforilan el sustrato receptor de insulina (IRS); éste último, a la vez, fosforila la subunidad p85 de la PI3K. La fosforilación de la subunidad p85 conduce a un cambio conformacional de dicha proteína que conduce a la unión de la subunidad catalítica p110. La PI3K activa, fosforila al fosfatidil inositol 3,4 difosfato (PIP2) convirtiéndolo en el segundo mensajero fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato (PIP3), el cual conduce a la activación de la proteína AKT. La AKT tiene múltiples blancos, responsables de los efectos de la activación de la vía (Hiles, Otsu et al. 1992, Jimenez, Jones et al. 1998). La activación anormal de esta vía conduce a una respuesta proliferativa y antiapoptótica que se relaciona con el desarrollo de múltiples tipos de cáncer.

La señalización por AKT inactiva varios factores proapoptóticos como BAD, procaspase-9 y factores de transcripción FKHR (Forkhead) (Chen 2001, Wang, Wang et al. 2002). Otros factores de transcripción que incrementan la expresión de genes antiapoptóticos son activados por AKT, incluyendo CREB (proteína de unión a elementos de respuesta a AMP-cíclico), mediante fosforilación directa.

Otro efecto de AKT, para favorecer la supervivencia celular, es la inactivación del gen supresor de tumor Tp53; lo cual se da por la habilidad de AKT para fosforilar y activar directamente a MDM2, una proteína que regula negativamente a Tp53. MDM2 se encuentra usualmente en el citoplasma y tiene dominios NSL (señalización de localización nuclear) y de unión a Tp53. Cuando MDM2 es activado por AKT, se transloca al núcleo para unirse a Tp53, impidiendo su actividad como factor de transcripción de genes proapoptóticos; posteriormente, sale otra vez al citoplasma donde media los procesos de ubiquitilación y degradación proteosómica de p53,

disminuyendo sus niveles. Cuando la vía PI3K/AKT se encuentra en un estado de activación permanente, el anterior mecanismo permite que una célula, aún en malas condiciones, resista a la apoptosis, sobreviva y prolifere, contribuyendo a la inestabilidad cromosómica, característica de la carcinogénesis (Brunet, Bonni et al. 1999, Carroll 1999).



**Figura 6: Mecanismos que llevan a la evasión de apoptosis y carcinogénesis (Wong 2011)**

### ***Inmortalidad replicativa***

Las células de mamíferos poseen un programa de autonomía celular que limita su capacidad replicativa de forma independiente a las vías de señalización existentes para este mismo fin. Es así como los organismos con tejidos renovables tuvieron que evolucionar mecanismos que le permitieran prevenir el desarrollo de tumores. Esta limitación ha sido asociada básicamente a dos barreras de la proliferación: senescencia y crisis (Hanahan and Weinberg 2011).

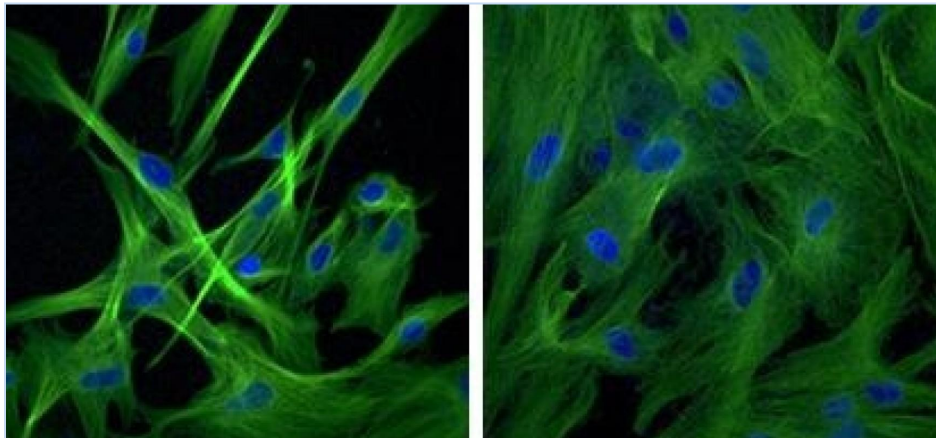
En 1961, L Hayflick y PS Moorhead descubrieron que las células en cultivo se dividían un número finito de veces. Ellos intentaron aislar virus causantes de cáncer por exposición de las células humanas normales a extractos de células con cáncer, pero nunca pudieron pasar del primer paso de sus experimentos, pues sus células dejaban de dividirse después de 50 ó 60 duplicaciones poblacionales, las cuales se

calculan como el número de veces que la población celular duplica su número durante el curso del cultivo; y concluyeron que las células normales en cultivo se dividían en un número finito de veces. Actualmente esto se conoce como límite de Hayflick (Hayflick and Moorhead 1961) y al proceso que frena la división celular, senescencia.

La senescencia replicativa se observa en las células que tienen potencial para el recambio y en los organismos pluricelulares y no en las células postmitóticas como las neuronas maduras o las células musculares (Campisi 2000).

Las células senescentes permanecen vivas por largos periodos de tiempo. Metabolizan ARN y proteínas, responden a señales del medio ambiente y retienen muchas características de las células pre-senescentes, ya que ambas expresan muchos genes en común, algunos de los cuales siguen inducibles por estímulos externos a lo largo de todo su tiempo de vida (Campisi 2000).

Hay tres características que diferencian a las células senescentes de las otras células: son incapaces de proliferar en respuesta a estímulos mitogénicos, ya que se encuentran arrestadas en la fase G0/G1 del ciclo celular, y esta detención es irreversible. En segundo lugar las células senescentes presentan cambios fenotípicos en su aspecto general y alteraciones en sus funciones diferenciadas. Morfológicamente se observan como células grandes y aplanadas (figura 7), con una gran cantidad de vacuolas. Incrementan su biogénesis de lisosomas y reducen su velocidad de síntesis y degradación de proteínas (Campisi 2000). Por último presentan cambios en la regulación y expresión de genes específicos y son resistentes a estímulos que inducen la muerte por apoptosis. El mecanismo por el cual se lleva a cabo esta resistencia o los factores que la promueve aún se desconocen, pero este hecho podría explicar porque las células senescentes, a pesar de estar metabólica y fisiológicamente alteradas, se acumulan in vivo (Wang 1995).



**Figura**

**7: Células normales (izquierda) y células aplanadas senescentes (derecha)  
(Adrados, Larrasa-Alonso et al. 2015)**

Recientemente se ha establecido que el mecanismo que cuenta las divisiones celulares son los telómeros, tal como se había propuesto en los años 70 (Rhyu 1995).

Los telómeros en mamíferos, al igual que en todos los vertebrados, están constituidos por la secuencia 5'-TTAGGG-3', repetida cientos y miles de veces al final de cada cromosoma (Kim Sh, Kaminker et al. 2002). Tanto ellos como sus proteínas especializadas asociadas (TRF1, TRF2, POT1, TIN2, hRAP1) son esenciales para la integridad de los cromosomas (Broccoli, Smogorzewska et al. 1997).

Por mecanismos bioquímicos propios de la replicación del ADN, de 50 a 200 pares de bases del ADN telomérico dejan de ser replicados durante cada fase S. Debido a esto y a que la enzima responsable de la síntesis de "novo" del ADN telomérico no se expresa en la mayoría de las células humanas, los telómeros se acortan en cada ciclo celular, perdiéndose de 50 a 100 pares de bases. La erosión sucesiva de los telómeros en cada división celular finalmente resulta en la pérdida de su capacidad para proteger los extremos de los cromosomas y en pérdida de material genético.

Sólidas evidencias demuestran que las células expresan el fenotipo senescente cuando uno o más de sus telómeros alcanzan una longitud crítica (Bodnar 1998, Campisi 2000). Así, por ejemplo, en células humanas donde la longitud del fragmento telomérico de restricción terminal promedia de 15 a 200.000 pares de bases, la senescencia replicativa se produce cuando dicho fragmento adquiere una longitud promedio de 5 a 7.000 pares de bases (Wright 1996). Tal longitud puede comprometer la integridad del

cromosoma (Campisi 2000). Esta inestabilidad produce fusiones entre las terminaciones de diferentes cromosomas y genera cromosomas dicéntricos inestables que conducen a la inviabilidad celular (Greider and Blackburn 1989).

La enzima encargada de añadir las repeticiones de hexanucleótido en los telómeros es la telomerasa. Ésta es una enzima reverso transcriptasa que sintetiza secuencia telomérica de "novo". Está formada por una subunidad catalítica con actividad reversotranscriptasa, *Tert* (telomerase reverse transcriptase) (Lingner, Hughes et al. 1997, Martin-Rivera, Herrera et al. 1998) y por una molécula de ARN, *Terc* (Telomerase RNA Component) usado por la enzima como molde para la síntesis de nuevas secuencias teloméricas (Greider and Blackburn 1989) así como proteínas asociadas.

La telomerasa se expresa en mayor medida en las células madre y durante las primeras fases de desarrollo embrionario. La actividad telomerasa también está presente en las células madre de adultos, pero su actividad no es suficiente para prevenir el constante acortamiento de los telómeros tras cada división celular (Blasco 2005).

La actividad de la telomerasa está sobreexpresada en la mayoría de los tumores humanos (Shay and Bacchetti 1997). Se ha demostrado que la introducción de *Tert* en células humanas en cultivo, es suficiente para reconstituir la actividad de la telomerasa y para permitir el crecimiento inmortal de estas células (Bodnar 1998). La telomerasa, entonces, mantendría las longitudes teloméricas del ADN suficientes, evitando así, la entrada en senescencia y muerte celular. A sí mismo, cooperaría con oncogenes en el proceso de transformación de células normales en tumorales (Hahn, Counter et al. 1999).

Otros estudios muestran que muchas células cancerosas son capaces de reactivar la telomerasa para mantener la longitud de los telómeros y seguir proliferando (Artandi and DePinho 2010). Sin embargo también hay casos en los que es importante una disminución transitoria de la actividad telomerasa para facilitar la progresión maligna. Se ha observado en lesiones preneoplásicas que los telómeros pueden llegar a ser tanto largos como muy cortos (Raynaud, Hernandez et al. 2010). Por otra parte, aunque de manera menos frecuente, la inmortalización de una célula puede ocurrir por una vía alternativa basada en la recombinación, permitiendo el mantenimiento de los telómeros (Hanahan and Weinberg 2011). La recombinación de los telómeros es la elongación del telómero a partir de la combinación con otro

telómero. Esto se produce debido a que las terminaciones de los cromosomas son muy repetitivas e idénticas en todos los telómeros. Esto permite que la terminación

3' de un cromosoma pueda invadir a un segundo cromosoma y usar su secuencia como plantilla para la elongación del telómero por la ADN polimerasa (Nabetani 2011).

### ***Angiogénesis***

El aporte de nutrientes y de oxígeno a las células es esencial para su buen funcionamiento y su supervivencia. Tanto es así que ya en el día 18 de desarrollo de un embrión humano, los vasos sanguíneos comienzan su desarrollo a partir de células del mesodermo esplacnopléurico. La acción inductora de sustancias secretadas por el endodermo subyacente causa que algunas células se diferencien en angioblastos, de los cuales se desarrollan células endoteliales planas que se unen para formar largos tubos o vasos llamados cordones angioblásticos que luego formarán una red que será la configuración inicial del sistema circulatorio (Larsen 1993).

El término angiogénesis significa literalmente formación de vasos sanguíneos. Durante ésta se distinguen 2 procesos: vasculogénesis, que implica la formación de vasos sanguíneos provenientes de células endoteliales diferenciadas, que proliferan a la par del crecimiento de cuerpo y la angiogénesis, dada por la formación de nuevos vasos sanguíneos que parten de capilares ya existentes y es un mecanismo que puede ocurrir durante toda la vida (Larsen 1993).

La angiogénesis ocurre como un proceso fisiológico en el endometrio, durante el ciclo reproductivo de la mujer fértil; en el ovario, durante el crecimiento de la red capilar folicular y en la formación de la placenta. Es fundamental para la actividad reproductiva y la reparación de tejidos (Larsen 1993, Barillari 1998).

La formación y el crecimiento de los vasos es un fenómeno estrictamente regulado. Cuando se ha completado el crecimiento vascular, la angiogénesis se convierte en un proceso patológico que acompaña a la aparición de enfermedades neoplásicas y no neoplásicas (Larsen 1993).

La angiogénesis tumoral consiste en una serie de complejos pasos consecutivos que llevan en último lugar a la formación de neovasos que suministran sangre y

nutrientes a la masa tumoral. Por tanto, se trata de un proceso esencial tanto para el crecimiento propio del tumor como para el desarrollo de metástasis a distancia. Las células neoplásicas, así como las células inmunes y/o las células de los tejidos sanos son capaces de secretar sustancias con actividad angiogénica. Cuando estos factores de crecimiento se unen a sus receptores específicos presentes en las células endoteliales, se favorece la proliferación, migración e invasión de las células endoteliales, con la consiguiente formación de los capilares sanguíneos.

En general está aceptado que ningún tumor sólido puede crecer por encima de un tamaño de 1-2 mm o más de 10 millones de células sin un aporte vascular adecuado.

En la angiogénesis tumoral se dan dos fases separadas por el llamado "cambio angiogénico". Este proceso se produce cuando aparece un desequilibrio entre los factores pro y antiangiogénicos, a favor de los factores proangiogénicos. La primera es una fase avascular, en la que los tumores alcanzan un diámetro inferior a 1-2 mm. Estos tumores permanecen latentes, ya que se encuentran en un estado de equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis. Algunos de estos pequeños tumores conseguirán pasar a una segunda fase, la fase vascular, en la que el tumor crece de forma exponencial (figura 8) (Bergers and Benjamin 2003).

Son múltiples los procesos que regulan la angiogénesis, sin embargo se considera que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) tiene un papel central en la angiogénesis tumoral (Ferrara, Gerber et al. 2003). Existen al menos cuatro miembros en la familia de VEGF (tabla 2).

SUBTIPOS DE VEGF Y SUS FUNCIONES	
<i>Subtipo de VEGF</i>	<i>Mecanismo de acción</i>
VEGF-A	Angiogénesis tumoral y fisiológica
VEGF-B	Vasculogénesis y activación de enzimas invasivas en células endoteliales
VEGF-C	Linfangiogénesis y angiogénesis tumoral
VEGF-D	Angiogénesis
VEGF-E	Mitosis de células endoteliales y angiogénesis

NOTA: VEGF: Factor de crecimiento de endotelio vascular.

**Tabla 2: Subtipos de VEGF y sus funciones**

El más importante de ellos es el VEGF-A, que consiste en una glicoproteína homodimérica básica de unión a la heparina de 45 KDa. El VEGF-A está formado por dos subunidades idénticas. Ésta actúa como molécula clave en la angiogénesis,

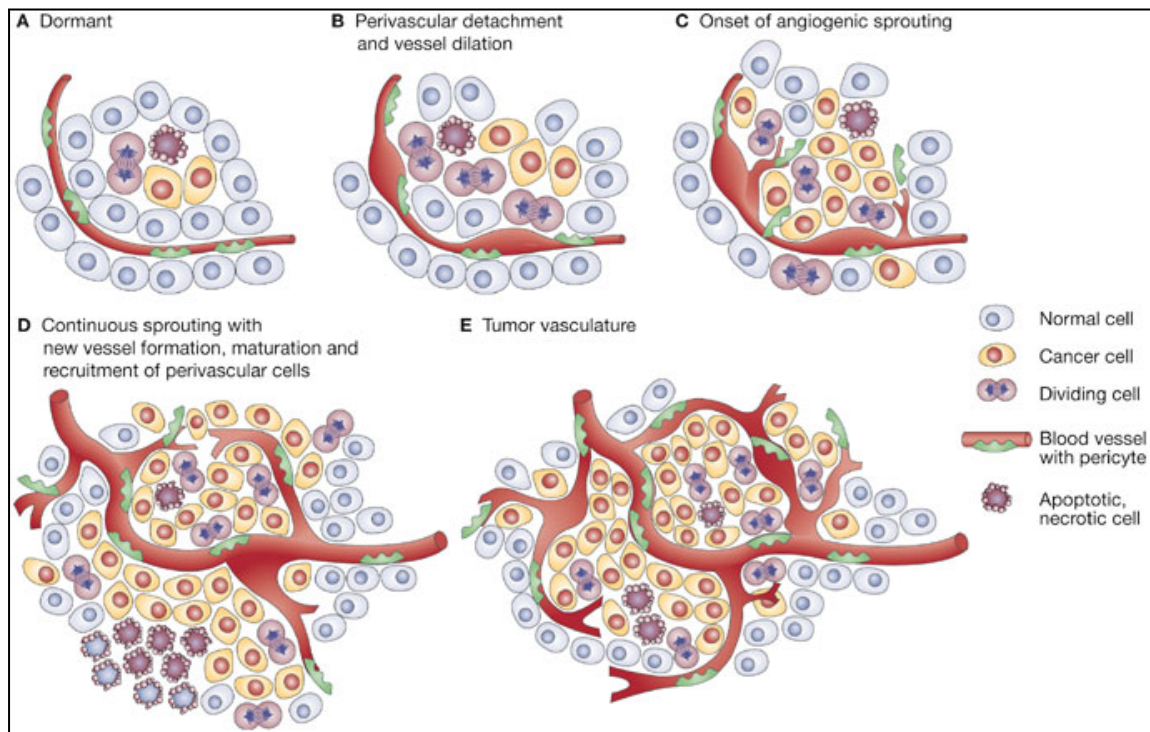
puesto que estimula el crecimiento de las células endoteliales vasculares (Veikkola, Karkkainen et al. 2000)

La expresión del gen VEGF-A humano tiene como resultado la generación de cuatro especies moleculares que tienen 121, 165, 189 y 206 aminoácidos, respectivamente. El VEGF165 es la especie molecular predominante y es producida por una variedad de células normales y transformadas. Esta glicoproteína es capaz de unirse a receptores específicos como VEGFR-1 (estimulando la angiogénesis) y VEGFR-2. Además está relacionada con otras moléculas como VEGF-B, C y D y PIGF (Veikkola, Karkkainen et al. 2000).

El VEGF-B tiene un papel importante en la vasculogénesis, pero podría tener otras funciones como la activación de las enzimas que facilitan la invasión de las células endoteliales. El VEGF-C interviene en la linfaangiogénesis, y más recientemente se le ha relacionado con la angiogénesis tumoral. La función de VEGF-D es menos conocida, pero esta molécula es capaz de inducir la angiogénesis in vitro (Veikkola, Karkkainen et al. 2000).

La expresión de VEGF por los tumores está impulsada por muchos factores característicos, incluyendo la expresión de oncogenes y la hipoxia (Harris 2002).

Varios oncogenes son capaces de estimular la expresión de VEGF, como K-Ras, H-Ras y HER2. El gen supresor de tumor Tp53, disminuye la transcripción génica de VEGF en estados normales y de esta manera tiende a inhibir el crecimiento neoplásico, sin embargo la proteína p53 mutada tiene una capacidad reducida de regular la transcripción de VEGF, lo que da lugar a que las células tumorales respondan menos a los agentes antiangiogénicos (Kerbel and Folkman 2002). Por otra parte, la hipoxia resulta esencial en el proceso de la angiogénesis tumoral, puesto que la expresión del ARNm del VEGF se estimula rápida y reversiblemente por la exposición a una presión parcial de oxígeno baja, tanto en células normales como transformadas (Pugh and Ratcliffe 2003).



**Figura 8: Angiogénesis tumoral (Cherry-Bohannon, Baker et al. 2012)**

### ***Evasión del control del sistema inmune***

En la respuesta del huésped contra los antígenos se ponen en marcha mecanismos innatos y adaptativos de defensa. Desde el punto de vista filogenético, los primeros son más antiguos y están presentes al momento de nacer, operan en forma rápida e inespecífica. Aunque no dejan memoria inmunológica, pueden eliminar o controlar infecciones hasta la intervención de los mecanismos adaptativos que, a pesar de que se tardan más en manifestarse, ofrecen como ventajas la memoria inmunológica, la actividad autorregulada eficaz y una especificidad y diversidad que se expresa por la capacidad de responder a los antígenos que originaron su activación. A su vez, interactúan con éstos a través de una red de receptores específicos que se disponen sobre la superficie de células inmunocompetentes. Sin embargo, aún falta mucho por conocer del papel que desempeña cada uno de estos mecanismos en el cáncer y, al parecer, tanto los innatos como los adaptativos se relacionan estrechamente con la manifestación y evolución ulterior de la enfermedad (Janeway 1994).

Las investigaciones sobre el papel del sistema inmune en el desarrollo del cáncer datan de la segunda mitad del siglo XIX, cuando en 1863 Rudolf Virchow planteó que en los sitios de inflamación la presencia de un infiltrado linforreticular era sugestivo del cáncer (Balkwill and Mantovani 2001).

Este postulado, aunque adelantado a su tiempo, quedó en el olvido hasta la actualidad donde ha resurgido como la "teoría de la inflamación" una de las más completas para explicar la participación del sistema inmune en el desarrollo del cáncer (Zitvogel, Kepp et al. 2012). En 1893, William Coley, un cirujano de New York, utilizó bacterias vivas para tratar el cáncer y posteriormente en 1900, Paul Ehrlich planteó que en el cuerpo existían moléculas que eran capaces de reconocer y destruir tumores. En este último aporte se fundamenta la hipótesis de la "vigilancia inmunológica" postulada por Marcfarlane Burnet y Lewis Thomas a mediados del siglo XX (Blankenstein, Coulie et al. 2012, Chowa 2012).

Las células tumorales son reconocidas por las células inmunes dado que expresan un patrón proteico distinto al expresado por células normales, debido a mutaciones, infecciones por virus oncogénicos o por su desregulación y expresión aberrante. Estas proteínas pueden actuar como ligandos que activan células del sistema inmune innato o como antígenos, activando a las células del sistema inmune adaptativo (Schreiber, Old et al. 2011).

El reconocimiento de las células tumorales no es sencillo, ya que por ser células del mismo individuo, existe cierto grado de inmunotolerancia. Además, debido a la inestabilidad genómica, las células tumorales cambian constantemente su perfil antigénico, lo que también se acompaña con la sobreexpresión de ciertas proteínas, tales como citoquinas y quimioquinas que actúan como inmunomoduladores, regulando su microambiente y favoreciendo el reclutamiento de monocitos, macrófagos y células inflamatorias altamente supresoras, como los linfocitos T reguladores y células supresoras derivadas de la línea mieloide (MDSCs), suprimiendo la actividad del sistema inmune y regulando la neovascularización (Hanahan and Weinberg 2011, Eljaszewicz, Wiese et al. 2013).

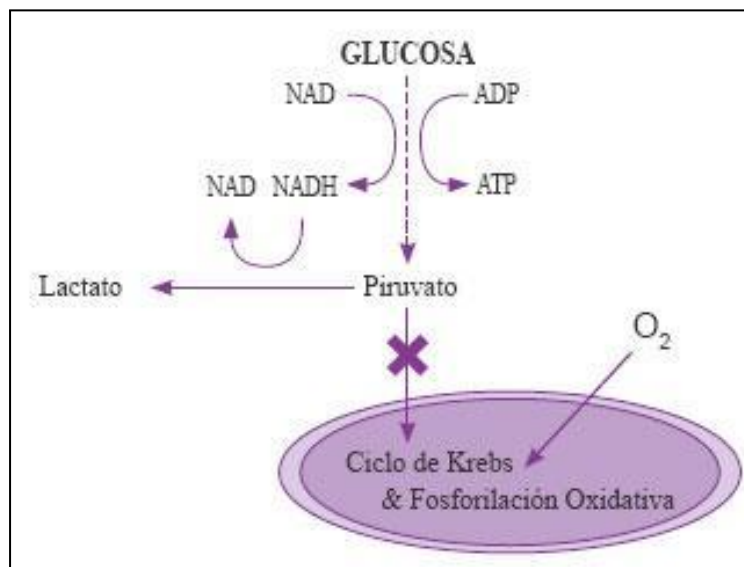
Algunas células tumorales logran escapar de la eliminación y entran a una fase de equilibrio, en la que son mantenidas en una dormancia funcional de duración indefinida por el sistema inmune adaptativo, hasta que producto de la constante presión de selección, o fallas en la inmunidad, emergen clones que no son reconocidos, escapan del control y continúan proliferando,

proceso conocido como inmunoedición (Schreiber, Old et al. 2011).

La presencia de células del sistema inmune adaptativo dentro del tumor en algunos tipos de cáncer es un indicador pronóstico. En tumores de colon y ovario, la presencia de linfocitos T citotóxicos y células NK tiene mejor pronóstico que aquellos sin la presencia de linfocitos citotóxicos (Hanahan and Weinberg 2011).

### **Reprogramación del metabolismo energético**

En condiciones normales aeróbicas, las células procesan glucosa hasta su degradación completa a dióxido de carbono en la mitocondria. En células tumorales, ciertas mutaciones y la presencia de un medio pobre en oxígeno conducen al efecto Warburg, una reprogramación del metabolismo energético hacia la glicólisis a pesar de tener oxígeno disponible (figura 9).



**Figura 9: El Efecto Warburg, principal alteración metabólica observada en las células del cáncer (González, González et al. 2007)**

La sobreexpresión de transportadores de glucosa, principalmente GLUT 1, aumenta su disponibilidad dentro de la célula (Hanahan and Weinberg 2011).

Se cree que los tumores requieren una modificación en su metabolismo para cumplir las demandas bioenergéticas y biosintéticas del rápido crecimiento. Además, se propone que este estatus protegería a la célula de los estados fluctuantes de hipoxia-normoxia que derivan del crecimiento y la reorganización de la nueva vasculatura tumoral (Hanahan and Weinberg 2011, DeBerardinis 2012).

### ***Inestabilidad genómica***

La presencia y acumulación de las mutaciones responsables de la progresión tumoral está favorecida por un estado de inestabilidad genómica en las células tumorales. Esta es una característica común de la gran mayoría de los tumores que acelera la acumulación de cambios genéticos. Comúnmente, la inestabilidad genómica se manifiesta como grandes aberraciones cromosómicas y cambios en la ploidía, aunque también pueden observarse pequeños cambios a nivel nucleotídico, con inserciones, deleciones o sustituciones de nucleótidos. Las aberraciones cromosómicas ocurren temprano durante la transformación maligna, mientras que la inestabilidad genómica promueve la adquisición de capacidades que favorecen la progresión tumoral (Martinez and Blasco 2011).

A pesar de que las mutaciones varían entre distintos tipos de tumores, su cantidad y presencia en el genoma tumoral ha demostrado que la inestabilidad genómica es inherente a los tumores.

### ***Inflamación tumorigénica***

Los tejidos normales del organismo están compuestos por distintos tipos de células. En el caso de los tumores interactúan con las células cancerosas un conjunto de células que colaboran al crecimiento tumoral, dando el soporte funcional y nutricional, estableciendo lo que se ha denominado el microambiente tumoral. Dentro de éstas se encuentran fibroblastos anormales, células endoteliales y del sistema inmune adaptativo (Holzel, Bovier et al. 2013).

Las células del sistema inmune son las principales responsables de la inmunovigilancia tumoral y la eliminación de los clones tumorales. Sin embargo durante este proceso se produce un estado de inflamación crónica mediado principalmente por macrófagos y mastocitos que infiltran el tumor y que producen factores que promueve el crecimiento tumoral en todas sus etapas (Pages 2010).

Por una parte, la inflamación promueve la iniciación tumoral al generar un estrés genotóxico que favorece nuevas mutaciones, participa en la promoción al inducir la proliferación tumoral y a la progresión tumoral al incrementar la producción de nuevos vasos sanguíneos alrededor del tumor y la invasión tisular al favorecer la extravasación celular, lo que facilita el desarrollo de metástasis (Qian and Pollard 2010, Schreiber, Old et al. 2011). Los factores generados por las células inmunes como factores proangiogénicos y de crecimiento, enzimas modificadoras de la matriz extracelular y otras señales son capaces de inducir los procesos necesarios para adquirir las características de las células tumorales (Qian and Pollard 2010, Hanahan and Weinberg 2011).

#### **5.1.4. Tumorigénesis**

La *iniciación* o activación del tumor comienza cuando el ADN de la célula o de una población de células se daña por la exposición a factores carcinogénicos, tanto endógenos como exógenos, la sensibilidad de las células mutadas respecto a su microambiente puede alterarse e iniciarse un crecimiento más rápido que en las célula no alteradas (Vera Sempere 1997).

La *promoción tumoral* se caracteriza por un expansión clonal selectiva de las células iniciantes, como resultado de la expresión alterada de los genes. Los productos de dichas células se asocian a una hiperproliferación, inflamación y remodelación tisular (Vera Sempere 1997).

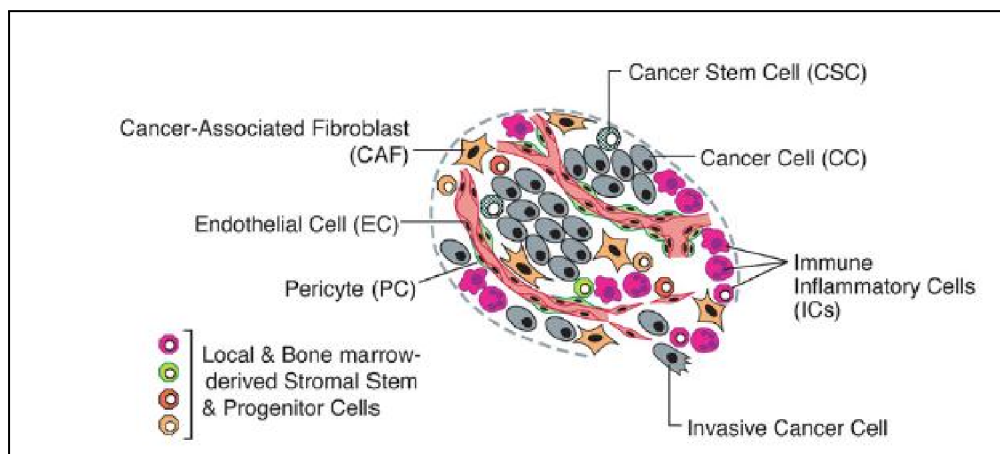
La *progresión tumoral* se producirá cuando coincidan los factores implicados en la iniciación y promoción del mismo. Parece ser que el cáncer se desarrolla de forma gradual, a partir de células ligeramente aberrantes y se caracteriza por una acumulación de alteraciones en los genes encargados de la regulación de la homeostasis celular, como los oncogenes, genes supresores de tumores y los genes reparadores de ADN (Vera Sempere 1997).

#### **5.1.5. Heterogeneidad tumoral**

Aunque los tumores se originen a partir de una única célula transformada, las células presentes en un tumor poseen distintos fenotipos. De hecho, se ha demostrado la existencia de diversos tipos celulares en un mismo tumor, incluyendo desde células cancerosas hasta células normales infiltradas, como células endoteliales o pericitos, que contribuyen al crecimiento del mismo. Se piensa que la

heterogeneidad celular presente en los tumores puede ser atribuida a la inestabilidad genómica y a la selección de las células con capacidad de adaptarse al microambiente y a los procesos tumorales específicos (Heng, Bremer et al. 2006). Debido a estos nuevos conocimientos, los tumores son reconocidos en la actualidad como órganos, cuya complejidad es similar a la de un tejido sano. Como consecuencia, se ha hecho necesario el estudio tanto de las células presentes en un tumor de forma individual como del microambiente tumoral que se forma durante el proceso de tumorigénesis.

La presencia de distintas subpoblaciones en un tumor con distintos fenotipos (figura 10), derivadas de combinaciones de alteraciones genéticas y epigenéticas, determina la predisposición de cada una para contribuir en el crecimiento, la supervivencia, la capacidad metastásica y la dominancia en el microambiente tumoral..



**Figura 10: Distintos tipos celulares presentes en el microambiente de un tumor (Hanahan and Weinberg 2011) .**

Además, la existencia de una subpoblación de células en el tumor con propiedades de célula madre representa una nueva dimensión de complejidad en la heterogeneidad intratumoral y abre un nuevo campo de investigación (Bonnet 1997).

## 5.2. Alimentación y cáncer

Como ya se ha mencionado, la dieta es un factor considerado como precursor del cáncer. Los diferentes estudios han demostrado de manera global que dietas ricas en carnes y grasas han sido calificadas como promotores del cáncer, así como también que algunas vitaminas y micronutrientes son protectores de esta enfermedad.

El primer informe global sobre dieta y cáncer, publicado en septiembre de 1997 por el Fondo Internacional para la investigación del Cáncer, junto con el Instituto Americano para la Investigación del Cáncer, no deja lugar a dudas sobre la íntima relación existente entre cáncer y dieta. *Alimentos, Nutrición y Prevención del Cáncer: Una Perspectiva Global* es un informe de 650 páginas elaborado por un equipo internacional de 15 científicos de nueve países, apoyados por más de 100 críticos, que evaluaron más de 4000 estudios sobre la dieta y el cáncer. Éste estima que un cambio en la dieta puede reducir la incidencia global de cáncer entre un 30 y un 40%, lo que equivale a entre tres y cuatro millones de casos anuales en todo el mundo.

Debido a lo anterior es fundamental reevaluar los conocimientos acerca de los alimentos y sus componentes, ahora desde el punto de vista del cáncer, como también conocer a aquellos que pueden resultar "aliados" en la prevención de este mal.

La nutrición es un proceso complejo que sigue a la alimentación y consiste en la incorporación de los componentes o nutrientes contenidos en los alimentos para mantener la homeostasis del organismo. La malnutrición o desequilibrio nutricional, puede ser por exceso o por defecto de los contenidos calóricos y/o de nutrientes específicos, pero cualquiera de sus variantes resulta negativa para el equilibrio del organismo y dañina para la salud.

Dentro de los nutrientes se encuentran los carbohidratos, lípidos, proteínas, minerales, vitaminas y agua. Además hay componentes vegetales que no se absorben, como la fibra vegetal, pero que juegan un papel importante en el tránsito intestinal (Martinez, Marshall et al. 2008).

Existen numerosos estudios que asocian la nutrición adecuada con la prevención del cáncer y la malnutrición se vincula con los procesos de carcinogénesis. El balance energético positivo, que puede deberse a una ingesta excesiva de calorías, un consumo reducido de las mismas o ambas, favorece la aparición de varios tipos de cáncer, como los de colon, mama, esófago, páncreas, hígado y estómago, entre

otros (Calle and Kaaks 2004, Pollak 2012). Lo anterior puede explicarse debido a varios mecanismos generados como consecuencia del sobrepeso o la obesidad, los cuales promueven la liberación de péptidos, hormonas esteroideas, ácidos grasos libres e inflamación crónica (Pollak 2012).

Los factores directamente relacionados con el desarrollo del cáncer en personas con mal nutrición por exceso son, por ejemplo, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y aumento de la liberación de leptina, TNF- $\alpha$  e Inteleucina 6 (Calle and Kaaks 2004). La insulina promueve la proliferación celular en células preneoplásicas, favorece la síntesis del factor de crecimiento similar a la insulina 1, que también induce a la proliferación celular e inhibe la apoptosis. La hiperinsulinemia incrementa la activación del receptor de insulina en células neoplásicas. TNF- $\alpha$  y la IL-6 promueven la inflamación crónica, la cual está involucrada en la génesis del cáncer (Calle and Kaaks 2004, Pollak 2012).

En el caso de la malnutrición por defecto o balance energético negativo, asociado a la ingesta insuficiente de calorías, gasto incrementado de las mismas, o ambas, se plantea un efecto beneficioso en la prevención del cáncer, dado que se da un efecto inverso a lo dicho anteriormente (Pollak 2012). No obstante, la malnutrición por defecto generalmente va acompañada de déficit de nutrientes básicos como aminoácidos, ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas. Estos déficits no son beneficiosos para el sistema inmune en su acción preventiva contra el cáncer y, por otro lado, disminuyen los mecanismos reguladores de la expresión génica y del metabolismo, repercutiendo negativamente en la reparación del ADN, entre otros aspectos (Lis 2012).

Hay reportes que indican que un número considerable de sustancias componentes de la dieta poseen actividades antimutagénicas y/o anticarcinogénicas significativas. Se encuentran principalmente en frutas, verduras y granos integrales (Barcelo, Gardiner et al. 1996, Smith-Warner 1999) y en las plantas poseen una variedad de funciones. A estos componentes se les llama Fitoquímicos.

### **5.2.1. Fitoquímicos**

Los fitoquímicos son sustancias presentes en vegetales y también producidas por bacterias ácido lácticas, presentes en productos como lácteos obtenidos por fermentación láctica como el yogurt. No son nutrientes, pero intervienen en el metabolismo secundario de los vegetales y cumplen funciones como reguladores de crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y pigmentos. No son considerados esenciales para la nutrición humana, pero pueden ser muy importantes frente a determinadas enfermedades.

Pueden ser clasificados en tres grandes grupos: terpenoides, compuestos fenólicos y compuestos azufrados.

La siguiente tabla muestra estos tres grandes grupos, así como también una subclasificación y ejemplos de fuentes donde encontrarlos.

Componentes	Fuente dietética
<p style="text-align: center;"><b>Terpenoides</b></p> <p>1. Carotenoides (de los más de 700 identificados, solo unos 50 están en la dieta y de estos los siguientes representan el 95% de los carotenoides en sangre):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Carotenos: α-caroteno, β-caroteno (precursores de vitamina A). Licopeno</li> <li>•Xantofilas: β-criptoxantina(provitaminaA).Luteína, zeaxantina</li> </ul> <p>2. Fitoesteroles (&gt;250)</p> <p>Esteroles y estanoles</p>	<p>β-caroteno: hortalizas y frutas de color naranja (por ejemplo, zanahoria, mango, albaricoque, melón, melocotón, fruta de la pasión, ciruela); verduras de hoja verde oscuro (por ejemplo, espinacas); tomate y derivados.</p> <p>Licopeno: tomates, sandía, pimiento rojo, pomelo rosado.</p> <p>β-criptoxantina: naranjas, papaya.</p> <p>Luteína y zeaxantina: verduras de hoja verde (por ejemplo, acelgas, espinacas, lechuga, apio), naranjas, patatas, tomates, pimientos rojos, maíz, aguacate, melón.</p> <p>Aceites vegetales (maíz, girasol, soja, oliva), cereales, legumbres, frutos secos, hortalizas.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Compuestos fenólicos (&gt;8.000)</b></p>	
<p>1. Alcoholes y ácidos fenólicos simples (tirosol, hidroxitirosol, ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos [elágico, gálico, vanilínico, capsaicina, cumárico, cafeico, ferúlico, clorogénico, etc.]).</p> <p><b>2. Polifenoles</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonoides (&gt; 5.000):</li> </ul> <p>Flavonoles (quercetina, kamferol, miricetina, rutina.</p> <p>Flavonoles (flaván-3-oles): Catequinas (catequina, epicatequina)</p> <p>Pro(anto)cianidinas o taninos condensados.</p> <p>Flavanonas (naringenina, hesperitina, naringina, hesperidina)</p> <p>Antocianinas (con azúcar en posición 3) y antocianidinas (antocianinas sin azúcar) (cianidina)</p> <p style="padding-left: 40px;">Flavonas (apigenina, luteolina)</p> <p style="padding-left: 40px;">Isoflavonas (genisteína, daidzeína. [fitoestrógenos]).</p>	<p>Cítricos, aceitunas, aceite de oliva virgen, otras frutas, hortalizas, avena, soja, frutos secos, vino, cerveza, té, etc.</p> <p>Quercetina, kamferol, miricetina y antocianidinas: cebollas, puerros, lechuga, brécol, tomates, uvas, naranjas (pulpa), manzanas, cerezas, moras, frambuesas, arándanos, aceitunas, vino tinto, té, orégano y otras hierbas aromáticas.</p> <p>Catequinas y proantocianidinas: manzanas, peras, cerezas, uvas, albaricoque, melocotón, frutos secos, legumbres, cacao, chocolate negro, vino, sidra, cerveza, té.</p> <p>Hesperitina, naringenina: cítricos, zumo de uva.</p> <p>Apigenina, luteolina: perejil, apio, pimiento, tomillo, aceitunas.</p>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Estilbenos</b> (resveratrol)</li> <li>• <b>Curcuminoides</b> (curcumina)</li> <li>• <b>Lignanos</b> (principal fuente fitoestrógenos en occidente)</li> </ul>	<p>Resveratrol: piel de la uva, vino, zumo de uva, arándanos.</p> <p>Fitoestrógenos: isoflavonas (genisteína, daidzeína) y lignanos: soja y derivados, otras legumbres, cereales integrales, frutos secos, frutos del bosque, brécol, ajo, zanahorias, etc.</p>
<p>Compuestos azufrados</p>	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. De aliáceas (aliína, alicina, ajoeno, dialilsulfuro, etc.).</li> <li>2. Glucosinolatos (&gt; 120) (isotiocinato, sulforafano, Indol-3-carbinol).</li> </ol>	<p>Aliína, dialilsulfuro: cebolla, cebollino, cebolleta, puerro, ajo. Isotiocinato, sulforafano.</p> <p>I3C: repollo, coliflor, brécol, berza, coles de Bruselas, lombarda, ajo, cebollas, nabo, mostaza.</p>

**Tabla 3: Algunos componentes bioactivos de los alimentos de origen vegetal y principales fuentes dietéticas (Granado, Blazquez et al. 2007, Holst and Williamson 2008, Saura-Calixto and Goni 2009).**

Biológicamente, nuestro organismo no requiere de los fitoquímicos para el metabolismo, pero, desde el punto de vista de la salud, serían indispensables a largo plazo, pues intervienen ejerciendo un efecto protector del sistema cardiocirculatorio, reductor de la presión sanguínea, regulador de la glicemia y la colesterolemia, mejorador de la respuesta inmunitaria y reductor del riesgo de cáncer (Dwyer 1996).

En los siguientes párrafos se describirán evidencias de comportamiento terapéutico de los terpenoides y compuestos azufrados, para luego, en la siguiente sección extenderse con los compuestos polifenólicos, por ser éstos componentes del tema central de esta revisión.

## **5.2.2. Clasificación de los Fitoquímicos**

### **5.2.2.1. Terpenoides**

Con el nombre de terpenoides o isoprenoides se conoce a un conjunto de sustancias que conforman uno de los grupos de fitoquímicos más difundido. Estos compuestos tienen un origen biosintético común y, aunque con estructuras químicas muy distintas, todos ellos proceden de la condensación del isopreno (2-metil-1,3-butadieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono. Los terpenoides se encuentran principalmente en los alimentos de color verde, en productos derivados de la soja y en los cereales.

Dentro de la familia de los terpenoides se encuentran dos subgrupos, los carotenoides y fitoesteroles.

#### ***Carotenoides***

Los carotenoides son tetraterpenoides que se encuentran en la naturaleza como pigmentos naturales liposolubles de numerosas frutas y verduras y se caracterizan por poseer una larga cadena poli-isoprénica.

El consumo de una dieta rica en carotenoides se ha correlacionado epidemiológicamente con un menor riesgo de varias enfermedades, lo cual ha dado lugar a un creciente interés en el estudio de su biodisponibilidad (Stahl and Sies 2005, O` Sullivan 2007).

Luteína y zeaxantina son los carotenoides predominantes de la retina que actúan como fotoprotectores previniendo la degeneración retiniana. La distribución única, la localización y los altos niveles de ambos carotenoides en la mácula lútea, así como sus propiedades físico-químicas los hace candidatos adecuados para la fotoprotección (Stahl and Sies 2005).

El  $\beta$ - caroteno se utiliza como protector solar oral para la prevención de quemaduras de sol y resultó ser eficaz, ya sea solo o en combinación con otros carotenoides y vitaminas antioxidantes. Los efectos protectores se logran también con una dieta rica en licopenos (Stahl and Sies 2005).

El licopeno es un carotenoide bien estudiado. Da inicio a la síntesis de otros compuestos, constituyendo la base molecular de este grupo de terpenos. Está presente en abundancia en el tomate (*Lycopersicum spp*) y sus derivados y le otorga el color característico a este fruto. Hay evidencias de sus efectos contra el cáncer, entre ellos el de próstata. En un estudio realizado por Konijeti et al, se comparó el efecto de la ingesta de licopenos en ratones sometidos a una alimentación con pasta de tomate y perlas de licopeno. Como resultado se llegó a la conclusión de que los ratones alimentados con perlas de licopeno puro presentaban menor incidencia de este cáncer y menor daño oxidativo al ADN que el grupo control (Konijeti 2011).

### ***Fitoesteroles***

Pertenecen a la familia de los fitoestrógenos. Son moléculas de origen vegetal con una estructura química similar a los estrógenos.

Algunos de ellos son metabolizados por la microbiota colónica dando lugar a enterolactona y enterodiol, también conocidos como enterolignanos, con mayor actividad biológica que sus precursores (Sok, Cui et al. 2009).

Más allá de estos beneficios, el efecto mejor caracterizado y científicamente demostrado es el efecto hipocolesterolemizante no solo a nivel de colesterol sérico total, sino también respecto del colesterol LDL (Blasco 2001).

Se encuentran naturalmente en cereales, frutas, verduras y aceites vegetales.

## **5.2.2.2. Compuestos azufrados**

### ***Aliáceas***

#### **a. Aliínas**

Son compuestos sulfurados, solubles en agua y con potente actividad antioxidante. Destacan S-alilcisteína (SAC) y S-alilmercaptocisteína (SAMC). SAC y SAMC son los compuestos más abundantes de extractos envejecidos de ajo. La absorción intestinal eficiente de SAC le permite distribuirse rápidamente en el plasma e hígado (Borek 2001).

En cuanto a sus funciones, son capaces de inhibir el daño ocasionado por reacciones oxidativas generadas por la vejez o enfermedades, reducen los niveles de LDL

sanguíneo, tienen un efecto antiinflamatorio, antiaterogénico y antitrombótico, relacionado con su capacidad de inhibir prostanoïdes (Borek 2001).

#### b. Alicinas

La alicina es un compuesto organo sulfurado, citotóxico, liposoluble, altamente inestable y volátil. A diferencia de SAC, la alicina está ausente en extractos envejecidos de ajo y aunque su concentración en ajo macerado fresco es alta, se descompone rápidamente para generar otros derivados organo sulfurado como son el ajoene y diïtinas (Amagase, Petesch et al. 2001). Después de varios estudios se llegó a concluir que la alicina no contribuye a los efectos farmacológicos *in vivo* de los otros componentes organo sulfurados presentes en el ajo.

### **Glucosinolatos**

#### Isotiocianatos

Son compuestos organo sulfurados presentes en el berro, calabaza y brócoli. Cuando estos vegetales son macerados, cortados o masticados, la enzima mirocina se activa e hidroliza conjugados tioglucósidos para generar los isotiocianatos. Algunos isotiocianatos inhiben a las enzimas de fase I del metabolismo como el complejo citocromo oxidasa p450. Este complejo favorece la conversión metabólica de carcinógenos para transformarlos en derivados capaces de unirse covalentemente a macromoléculas para formar aductos de ADN o de proteínas (Hecht 1999).

Otros isotiocianatos incrementan la actividad de las enzimas de la fase II del metabolismo como la glutatión S-transferasa, UDP- glucuronosil transferasa y sulfotransferasas que inactivan y detoxifican a los carcinógenos mediante su conversión a derivados oxigenados que son eliminados rápidamente (Munday and Munday 2002). Además inducen apoptosis en células derivadas de líneas tumorales y exhiben actividad antimicrobiana sobre *Helicobacter pylori* (Haristoy 2005).

### 5.2.2.3. Compuestos Fenólicos

#### **Alcoholes y Ácidos fenólicos simples**

Son compuestos orgánicos que contienen un anillo fenólico y un ácido carboxílico. En la naturaleza es habitual encontrar los ácidos fenólicos hidroxilados y unidos por enlaces éster a componentes estructurales de las plantas, a polifenoles más grandes, como los flavonoides, a moléculas orgánicas pequeñas, como glucosa, o a otros productos naturales, haciendo que sus niveles en forma libre sean muy bajos (Robbins 2003).

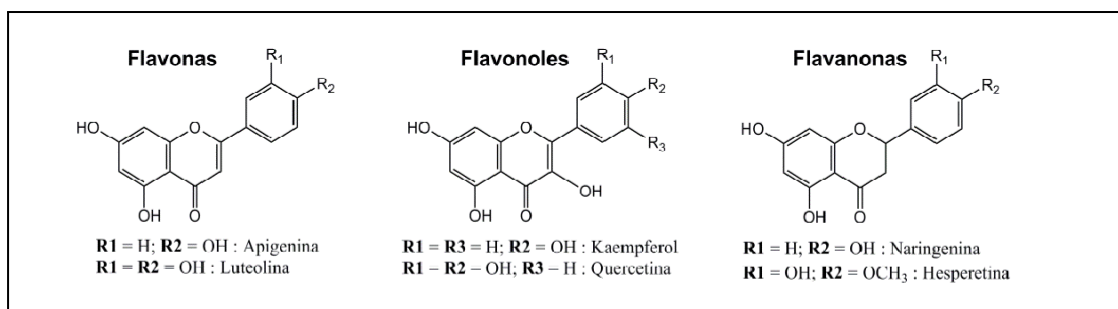
Representantes de este grupo son el ácido gálico, presente en el té; ácido p-cumárico, presente en el aceite de oliva virgen; el ácido felúrico, en los granos de los cereales; el ácido cafeico, que se encuentra en muchas frutas como la manzana, la ciruela, el tomate y la uva; y la curcumina, un pigmento amarillo que se encuentra fundamentalmente en la cúrcuma, una especia que da lugar al curry y que se extrae del rizoma de la planta *Curcuma longa* (Yang, Landau et al. 2001, Manach, Scalbert et al. 2004, Goel and Aggarwal 2010)

#### **Polifenoles**

Las sustancias fenólicas o polifenoles constituyen un grupo muy numeroso dentro de los cuales se han descrito más de 8000 compuestos diferentes. Bajo esta denominación se agrupan grandes polímeros como los taninos (Tome-Carneiro, Gonzalez et al. 2013).

De acuerdo a su estructura básica, los polifenoles pueden ser divididos en varios subgrupos: los flavonoides, con estructura básica C6-C3-C6, incluyen a las antocianinas, los flavonoles y flavonas, las flavanonas, chalconas, dihidrochalconas, isoflavonas y los flavan-3-oles (figura 11). También tienen importancia los estilbenos como el resveratrol, curcuminoides como la cúrcuma y lignanos.

Muchos compuestos fenólicos son en parte responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal, por tanto tienen importancias en la calidad de los mismos. Así, entre éstos hay pigmentos como las antocianinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas (fresas, ciruelas, uvas), hortalizas (berenjenas, rábano) y del vino tinto, o los flavonoles, de tonalidad crema-amarillenta, que están presentes principalmente en las partes externas de frutas y hortalizas (Tomás-Barberán 2000).



## Figura 11: Estructura química Polifenoles

Desde el punto de vista de su actividad biológica, muchos polifenoles tienen propiedades captadoras de radicales libres, lo que les confiere actividad antioxidante, sin embargo sus efectos beneficiosos para la salud no llamaron la atención hasta la década del 90. El principal factor responsable de esta característica es la variedad y complejidad de sus estructuras químicas (D`Archivio, Filesi et al. 2007).

Debido a dichas propiedades antioxidantes, los polifenoles tienen efectos beneficiosos en la prevención y tratamiento de enfermedades relacionadas

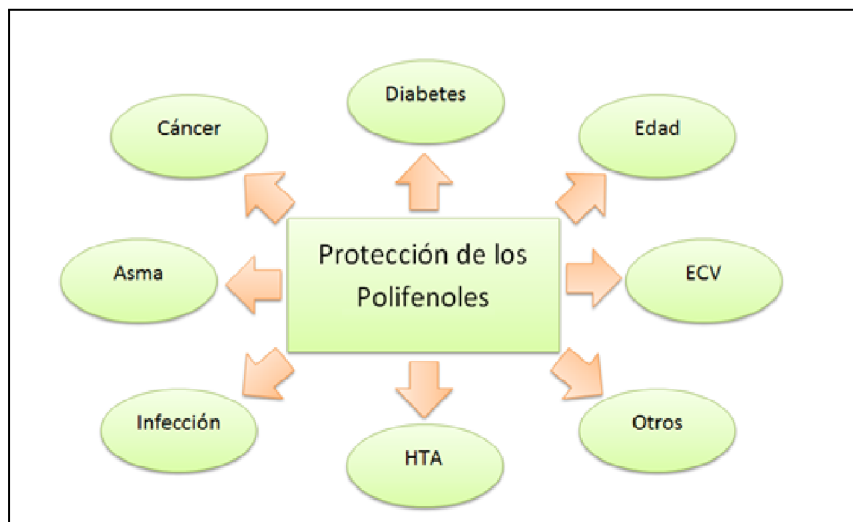
con el daño oxidativo tales como enfermedades crónicas neurodegenerativas y cardiovasculares, el síndrome metabólico, la diabetes, distintas patologías inflamatorias, el envejecimiento y en la prevención y (Scalbert, Manach et al. 2005) tratamiento del cáncer (D`Archivio, Filesi et al. 2007).

Adicionalmente a lo anterior, nuevos estudios sugieren que además de su capacidad antioxidante, los polifenoles actúan a través de una gran variedad de mecanismos de acción independiente de ésta (D`Archivio, Filesi et al. 2007). Entre ellos se encuentran: la inhibición de diversas enzimas como la telomerasa (Naasani, Oh-Hashi et al. 2003), la ciclooxigenasa (Hussain 2005) y la lipooxigenasa (Schewe, Sadik et al. 2001, Sadik, Sies et al. 2003); la modulación de vías de señalización (Hou, Lambert et al. 2004); la interacción con receptores celulares (Chalopin 2010); la alteración de la regulación del ciclo celular (Gokbulut, Apohan et al. 2013) y de la función plaquetaria (Murphy 2013).

Debido a esta variedad de efectos biológicos, los polifenoles han recibido una especial atención en la última década como potenciales agentes terapéuticos (D`Archivio, Filesi et al. 2007). Por otro lado, debido a la amplia variedad de modelos experimentales y concentraciones utilizadas, se han descrito tanto efectos protectores como antioxidantes, como efectos pro-oxidantes con capacidad para dar potencial lugar a procesos de muerte celular, lo cual es de gran interés en patologías como el cáncer (Elbling, Weiss et al. 2005, Lambert, Hong et al. 2005).

Hay evidencias epidemiológicas que demuestran que una dieta con un alto consumo de frutas y verduras ricas en polifenoles parece asociarse a una disminución de la incidencia de los cánceres humanos más frecuentes: pulmón, colon, melanoma y mama. Esto sugiere que pueden ser compuestos efectivos y prometedores en la prevención y tratamiento del cáncer debido a su seguridad, baja toxicidad y aceptación general (Neuhaus 2004).

El interés por el estudio de los polifenoles como compuestos anticancerígenos radica tanto en su potente acción antioxidante, como en la acción que ejercen sobre gran variedad de funciones biológicas relacionadas con la modulación de la oncogénesis y la progresión tumoral (Fresco, Borges et al. 2006). Por ello, en los últimos años, se han desarrollado una serie de estudios *in vitro* e *in vivo* para determinar la capacidad anticarcinogénica y anticancerígena de los polifenoles (Dai 2010).



**Figura 12: Protección de Polifenoles frente a enfermedades crónicas**

### ***Estilbenos***

Los estilbenos se caracterizan químicamente por contener dos anillos fenólicos unidos por un enlace etileno, siendo la configuración *trans* la más común (Riviere, Pawlus et al. 2012).

En las plantas, los estilbenos actúan como fitoalexinas antifúngicas, es decir como compuestos antimicrobianos sintetizados en respuesta a infecciones bacterianas o a la luz ultravioleta (Pandey and Rizvi 2009).

En la dieta humana los estilbenos se encuentran en baja cantidad.

El compuesto fenólico más representativo de este grupo es el resveratrol, fitoquímico sobre el cual se ahondará en las siguientes páginas.

### 5.2.3. Resveratrol

#### **Origen y Características**

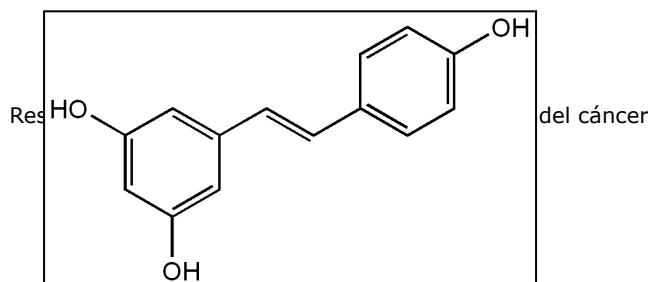
El resveratrol o 3,4',5 trihidroxi- trans- estilbeno, es un polifenol descubierto en 1940 en la raíz del eléboro blanco (*Veratrum grandiflorum* O. Loes) y más tarde en raíces secas de *Polygonum cuspidatum* o centinodia de japon, siendo ésta una de las fuentes más ricas y la más usada en la medicina tradicional china y japonesa en el tratamiento de enfermedades como la dermatitis supurativa, tiña, gonorrea y pie de atleta (Takaoka 1940, Lee, Mbwambo et al. 1998, Vastano, Chen et al. 2000).

Su nombre está formado por la combinación del prefijo del latín *res*, que significa "que proviene de", *veratr*, de la planta "Veratrum" y el sufijo *ol*, que indica que contiene un grupo "alcohol" en su estructura química (Lanz, Tropf et al. 1991).

Está presente en al menos 72 especies de plantas, algunas de ellas consumidas por humanos, tales como maní, mora, uva y sus derivados como el vino tinto, siendo estos dos últimos los alimentos que más contribuyen al aporte de resveratrol a la dieta humana (Celotti 1996).

Con respecto a la localización del resveratrol en uvas, se encuentra principalmente en las pepas y la piel y, por tanto, en el zumo de uva (mosto) y el vino su concentración no es muy alta. La piel de una uva fresca tiene de 50 a 100 ug/g de resveratrol (Hendler 2001).

En 1977 los ingleses Langcake y Pryce describieron su estructura química: las formas cis y trans, siendo el isómero trans el que presenta mayor actividad biológica (figura 13). Es una molécula fotosensible que, por exposición a la luz o a otras radiaciones se transforma irreversiblemente a isómero cis.



### **Figura 13: Estructura química del resveratrol**

En las plantas, resveratrol actúa como una fitoalexina, un metabolito secundario antimicrobiano sintetizado en respuesta al ataque de un patógeno con el fin de cesar su invasión (Osbourn 1999). Entre los efectos desencadenantes de la producción de resveratrol en plantas se puede

mencionar: infecciones fúngicas por *Botrytis cinerea* (Stein 1984), *Plasmopara vitícola* (Dercks 1989), *Phomopsis vitícola* (Hoos 1990), daño de la planta, tratamiento de sales como tricloruro de aluminio (Adrian 1996) y tratamiento con ozono (Schubert, Fischer et al. 1997).

#### ***Propiedades beneficiosas de resveratrol para la salud***

El resveratrol es uno de los polifenoles más estudiados en los últimos años debido al creciente interés por sus múltiples propiedades beneficiosas para la salud debido a su amplia gama de propiedades farmacológicas y a la falta de efectos nocivos (LD50: 23.2  $\mu$ M (Bechmann, Zahn et al. 2009)). Este polifenol es bien conocido por su acción antioxidante, antiinflamatoria, analgésica, cardioprotectora, neuroprotectora y contra el envejecimiento (Baur and Sinclair 2006).

Se ha demostrado que este estilbeno tiene una gran capacidad antioxidante *in vitro* (Espin 2000) y en cultivos celulares, donde actúa como un potente inhibidor de la formación de radicales implicados en enfermedades cardiovasculares, carcinógenas y degenerativas (Jang and Pezzuto 1999, Martinez and Moreno 2000).

Específicamente puede inducir a enzimas celulares como la enzima glutatión peroxidasa, hemoxigenasa o superóxido dismutasa, en células de vasos sanguíneos y el corazón, con la consecuente disminución del estrés oxidativo. Además regula la expresión vascular y cardíaca de TNF- $\alpha$  e inhibe las NADPH oxidasas en los vasos sanguíneos. Importante también es la capacidad del resveratrol para inhibir la producción mitocondrial de especies reactivas de oxígeno en el tejido vascular (Csiszar 2011).

Con respecto a sus propiedades antiinflamatorias, resveratrol ha demostrado acción *in vivo* e *in vitro*, entre los que se incluye la activación de NF- $\kappa$ B, la expresión de genes inflamatorios y la atenuación de la adhesividad de los monocitos en el endotelio, contribuyendo todo ello a su acción cardioprotectora contra el envejecimiento (Csiszar 2011).

También se ha demostrado que el resveratrol mejora la resistencia del organismo frente al estrés, tiene efecto antienvjecimiento y prolonga el tiempo de vida en numerosos organismos, desde levaduras (Howitz, Bitterman et al. 2003) a vertebrados (Valenzano 2006). Investigaciones han demostrado que ratones obesos cuya dieta es suplementada con resveratrol no solo son más longevos, sino que además más activos, presentando en

menor medida los efectos adversos de una dieta hipercalórica (Baur and Sinclair 2006).

Resveratrol también ha evidenciado un carácter cardioprotector, el cual surge a partir de un estudio llevado a cabo en 1992 en el que se comparó la tasa de mortalidad por enfermedad cardiovascular y el nivel de colesterol sérico en distintas poblaciones del mundo (Renaud and de Lorgeril 1992). Este estudio mostró resultados positivos para las poblaciones analizadas, excepto una, en la cual se observó una discrepancia, pues mostraba valores de colesterol altos, pero menos muertes por enfermedades cardiovasculares. A esta discrepancia se le llamo la "paradoja francesa". Indagando en las posibles explicaciones a este hecho se descubrió que había un alto consumo de vino tinto en los individuos de la población "discrepante". Ahora sabemos que el elevado contenido de polifenoles del vino tinto, le confiere carácter cardioprotector (de Gaetano, Cerletti et al. 2001, Wollin and Jones 2001, de Gaetano, De Curtis et al. 2002) y otros muchos señalan al resveratrol como principal agente responsable (Renaud and de Lorgeril 1992, Renaud and Gueguen 1998, Wang 2005, Vidavalur, Otani et al. 2006, Das and Das 2007).

Como quimiopreventivo y debido a su acción a distintos niveles en el organismo (de Gaetano, De Curtis et al. 2002), el resveratrol inhibe la apoptosis celular a dosis muy bajas, previniendo enfermedades como daño miocárdico por isquemia, aterosclerosis y arritmias ventriculares. A dosis altas es capaz de inducir apoptosis (Das and Das 2007).

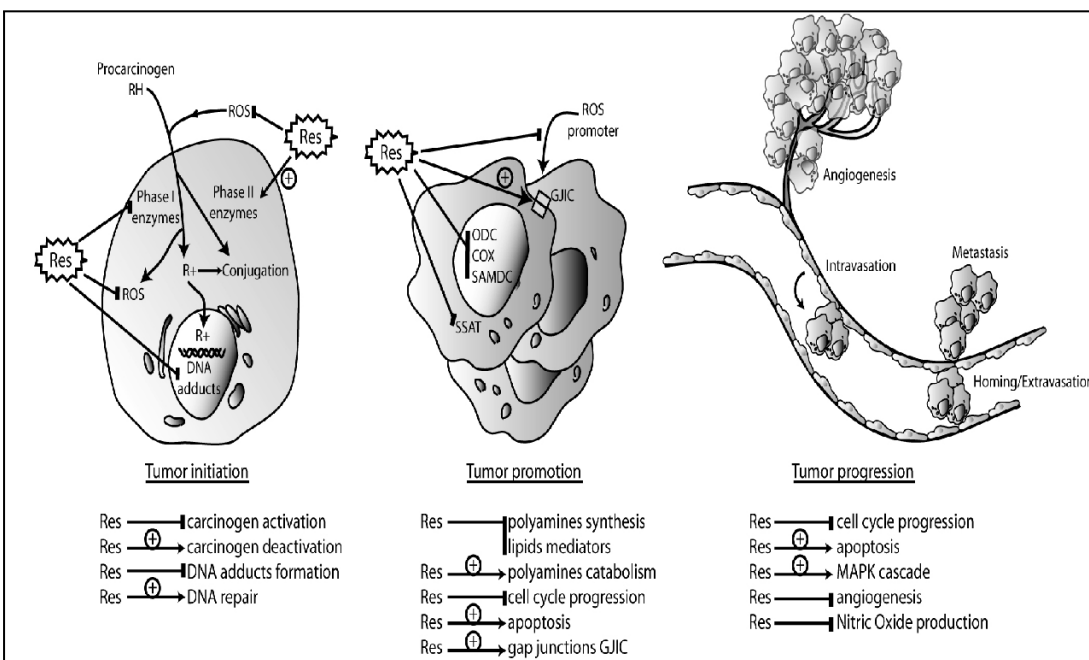
## Rol de resveratrol como coadyuvante en el tratamiento del cáncer

Al igual que otros polifenoles, resveratrol puede ser considerado un coadyuvante en el tratamiento de varias enfermedades como las ya mencionadas y en particular del cáncer. Antes de indicar las propiedades del resveratrol como coadyuvante es necesario definir este concepto. Un coadyuvante, según la RAE, es definido: "que coadyuva o contribuye en la realización de algo o en el logro de alguna cosa".

Se puede decir entonces, que resveratrol es un coadyuvante en el cáncer pues participa como quimioprotector en todos los niveles de la carcinogénesis: iniciación, promoción y progresión del tumor y además es un quimiosensibilizante en células tumorales que han adquirido resistencia.

## Acción coadyuvante quimioprotectora del resveratrol

Catalogar a resveratrol como quimioprotector está referido a que éste realiza acciones que tienen que ver con el arresto o regresión de procesos cancerígenos. Acciones específicas quimioprotectoras de resveratrol incluyen: a) inhibición de las actividades de la ribonucleótido reductasa (Fontecave, Lepoivre et al. 1998), ADN polimerasa (Sun, Cunningham et al. 1998), proteína quinasa C (Stewart 1999) y ciclooxygenasa-2 (Martín 2004); b) inhibición de la proliferación celular (Sauer 2001) y de la carcinogénesis inducida por radicales libres (Jang 1997) e c) inducción de la apoptosis (Martín 2004).



**Figura 14:  
Acción**

## **de resveratrol en distintas fases de la carcinogénesis (Delmas, Solary et al. 2011).**

Como se ha mencionado, resveratrol presenta una amplia y variada acción protectora, por lo que se detallará a continuación, las evidencias que avalan esta propiedad.

### ***Efectos antioxidantes***

ROS y otros radicales libres son capaces de interactuar con el ADN induciendo a mutaciones o modificaciones de las bases nitrogenadas de esta molécula. Este daño oxidativo representa el paso inicial de la carcinogénesis y resulta, en la modulación de la expresión de genes a través de efectos epigenéticos o en mutaciones somáticas permanentes y reordenamientos cromosomales (Dreher and Junod 1996, Valko, Izakovic et al. 2004).

La actividad antioxidante del resveratrol es la responsable de la supresión del inicio del cáncer porque previene la interacción de los radicales libres con el ADN. Por ejemplo, en un estudio realizado con células de leucemia HL-60, resveratrol ha mostrado anticiparse a la formación de radicales libres inducidos por 12-O-tetradecanoilforbol-13 acetato (TPA) (Jang 1997).

Jang et al, en 1999, entregaron evidencia de que el resveratrol inhibe poderosamente la producción de ROS en monocitos y neutrófilos humanos (Jang, Kang et al. 1999). Burkitt y Duncan describieron la gran acción antioxidante de resveratrol en el sistema ascorbato y glutatión. Sus resultados revelan que este estilbeno protege a las células del daño del ADN de los radicales hidroxilos a través de un mecanismo relacionado con la inhibición de la formación de glutatión disulfuro (Burkitt and Duncan 2000).

### ***Inhibición de Enzimas de Fase I***

Los agentes químicos pueden inducir la formación de aductos en el ADN. Resveratrol es capaz de reducir el número de aductos inducidos por agentes químicos como el benzo(a)pireno en las células epiteliales bronquiales humanas (Berge, Ovrebo et al. 2004). Este efecto está relacionado con la disminución de productos metabólicos derivados de benzo(a)pireno y con la inhibición de la expresión de los genes que codifican para los citocromos P450 1A1 y P450 1B1 (Berge, Ovrebo et al. 2004). Parece ser que resveratrol puede prevenir la activación metabólica de

procarcinogénesis por la inhibición competitiva del receptor AhR, Aril hidrocarburo (Ciolino, Daschner et al. 1998).

### ***Apoptosis***

Resveratrol actúa sobre las dos vías mediadoras de este proceso: aumentando la expresión en la membrana celular de receptores de muerte como Fas (Nagata 1997) y facilitando la vía mitocondrial al disminuir la expresión de Bcl-2 y aumento de proteínas como Bax (Green and Reed 1998).

Además regula la expresión de GRP78 en la vía del retículo endoplásmico, una nueva vía descubierta que también regula la apoptosis (Rao, Ellerby et al. 2004). Todo estos procesos conducen a la activación de caspasas que concluyen con la fragmentación del ADN y la muerte celular (Green and Reed 1998).

En el mismo ámbito, hay numerosos reportes de los efectos de este estilbeno sobre p53. Huang et al encontraron que la apoptosis ocurría cuando resveratrol era administrado en células wild type que expresaban p53 y no en las células deficientes en éste (Huang, Ma et al. 1999). Este fue el primer reporte que demostró que resveratrol induce la apoptosis a través de la activación de p53.

Luego, Hsieh et al, en 1999 demostraron cómo resveratrol inhibe la proliferación en células endoteliales de arteria pulmonar, a través de la inhibición del avance de la célula de la fase S a la G2 del ciclo celular por un aumento de la expresión de p53 y aumento del nivel de p21 (Cip1/WAF1) (Hsieh, Juan et al. 1999).

El modo en que resveratrol activaría a p53 e induciría la apoptosis sería a través de la activación de ERK1/2, JNK y P38 MAPK y la inducción de la fosforilación de p53 en el residuo aminoacídico serina-15 (She, Bode et al. 2001).

### ***Ciclo celular***

Numerosos reportes indican que resveratrol suprime la proliferación celular por inhibición de la progresión del ciclo celular en diferentes estados de éste (Estrov, Shishodia et al. 2003).

La maquinaria de progresión del ciclo celular se inicia por inducción de ciclinas D, siguiendo con la inducción de ciclina E. Estos eventos son necesarios para la activación de cdk, cdk4 y cdk6, las cuales son fundamentales para la progresión a través de la fase G1.

El complejo ciclina D/cdk4 es el mediador de la progresión de la fase G1 e inactiva a la proteína del retinoblastoma (Buchkovich, Duffy et al. 1989, Sherr 1993, Awad, Burr et al. 2005).

El complejo ciclina E/cdk2 controla la transición de la célula desde fase G1 a fase S a través de la fosforilación de la proteína pRb.

De acuerdo a lo antes mencionado, resveratrol puede:

- bloquear la transición del ciclo celular de G1/S (Awad, Burr et al. 2005) (Atten, Attar et al. 2001, Adhami, Afaq et al. 2003). Es capaz de actuar en este punto por disminución de la expresión de ciclina D1, D2, E y de cdk2, 4 y 6 en varias líneas celulares tumorales (Adhami, Afaq et al. 2001, Ahmad, Adhami et al. 2001, Takada, Bhardwaj et al. 2004).
- inducir el arresto en G2 de células HT-29 de cáncer de colon, a través de la inhibición de Cdk7 y Cdc2 quinasa (Liang, Tsai et al. 2003).

### ***Acción coadyuvante quimiosensibilizadora de resveratrol***

Desde hace un tiempo se conocen estudios que sugieren que los polifenoles como resveratrol pueden ser utilizados como agentes coadyuvantes o sensibilizantes a la quimioterapia y a la radioterapia.

El tratamiento del cáncer con agentes quimioterapéuticos y radioterapia tiene dos problemas principales: por un lado el desarrollo de resistencia con el tiempo y, por otro, la toxicidad inespecífica que se produce en las células normales.

Resveratrol ejerce su acción sensibilizadora sobre uno o más mecanismos de quimiorresistencia, entre los cuales: modula las vías apoptóticas, disminuye la expresión de transportadores de fármacos y disminuye la acción de proteínas relacionadas con la proliferación celular. Además ha sido demostrado que puede superar la resistencia producto de la inhibición de las vías de NFκB y STAT3 (Gupta 2010).

Se ha demostrado que resveratrol sensibiliza líneas celulares de cáncer humano (neuroblastoma, glioblastoma, carcinoma de mama, carcinoma de próstata, leucemia y carcinoma pancreático) a ciertos agentes quimioterapéuticos como doxorubicina, citarabina, actinomicina D, taxol, y

metotrexato, por una down regulación de la proteína survivina, una proteína relacionada con resistencia a la apoptosis. En consecuencia los investigadores observaron un aumento de la apoptosis en estas líneas celulares tumorales (Fulda and Debatin 2006). En otro estudio y de manera similar, resveratrol potenció la apoptosis inducida por agentes quimioterápicos como cisplatino, gefitinib, y

paclitaxel en células multirresistentes de cáncer de pulmón no microcítico por disminución de la expresión de survivina (Zhao, Bao et al. 2010).

La reducción en la acumulación intracelular de los fármacos es uno de los mecanismos más frecuentes de resistencia a los antineoplásicos. Esto puede producirse por su expulsión a través de la membrana celular (Bradshaw and Arceci 1998), por secuestro en vesículas citoplasmáticas (Nishio, Nakamura et al. 1999), por variaciones en el transporte entre núcleo y citoplasma o por alteración en el metabolismo intracelular del fármaco (Ishikawa and Ali-Osman 1993).

En el caso de la expulsión del fármaco, los transportadores de fármacos más importantes asociados a quimiorresistencia son las proteínas resistentes a múltiples drogas o MDR-proteínas como la glicoproteína P (Pgp) (Endicott and Ling 1989), MRP1 (Multidrug resistance-associated protein) (Deeley and Cole 1997), LRP (lung resistance-related protein) (Izquierdo, van der Zee et al. 1995) y BRCP (breast cancer resistance protein) (Lee 1997).

En algunos tumores, resveratrol ha favorecido la eliminación de la quimiorresistencia por disminución de la actividad de transportadores de membrana como Pgp y MRP. Un estudio realizado en carcinoma humano KB-C2 resistente, muestra que resveratrol induce la acumulación de daunorrubicina por disminución de transportadores Pgp (Nabekura, Kamiyama et al. 2005). Otros estudios, usando fármacos como vincristina, adriamicina y paclitaxel en carcinoma oral KBv200, resveratrol supera la quimiorresistencia de estas células, revirtiendo el fenotipo de éstas también por una disminución de la expresión de Pgp (Quan, Pan et al. 2008).

Kweon et al, 2010 estudiaron el potencial de resveratrol de revertir el fenotipo resistente de células de leucemia mieloide aguda a doxorrubicina. Ellos encontraron que en estas células el gen MRP1 estaba sobreexpresado. Cuando el resveratrol fue administrado la expresión de MRP1 disminuyó, aumentando la captación de doxorrubicina e incrementando sus niveles dentro de las células tumorales (Kweon, Song et al. 2010).

NFκB un factor de transcripción, está relacionado con varios procesos celulares, entre ellos la regulación del crecimiento y la apoptosis celular (Gupta 2010). Estudios tanto *in vitro* como *in vivo* han demostrado que la activación constitutiva

de este factor inhibe la apoptosis inducida por quimioterapia en algunos tipos de tumores (Bharti and Aggarwal 2002). Por otro lado, STAT3, otro factor de transcripción, también ha sido identificado como agente que genera resistencia en algunas células tumorales (Bharti 2004), pues presenta efectos antiapoptóticos y proliferativos en las células tumorales. Resveratrol demostró inhibir la proliferación, inducir la apoptosis y superar la quimiorresistencia en células humanas de mieloma múltiple, al disminuir la activación de los factores de transcripción NFκB y STAT3 (Bhardwaj, Sethi et al. 2007), disminuyendo los efectos de las vías de señalización que estos factores controlan en las células tumorales.

Resveratrol también ha demostrado mejorar el arresto de células tumorales en diferentes etapas del ciclo celular por down regulación de genes involucrados en la proliferación celular. Por ejemplo, en células de melanoma B16 quimiorresistente, resveratrol mejora la citotoxicidad inducida por doxorrubicina, la que se acompaña por una down regulación de ciclina D1 (Gatouillat, Balasse et al. 2010), aumentando el número de células tumorales arrestadas en fase G1-S, evitando así la proliferación.

Otro estudio muestra que resveratrol es capaz de mejorar el potencial antiproliferativo del fármaco paclitaxel usado en células de pulmón (A549, EBC-1, Lu65). En esta investigación se concluyó que resveratrol induce la expresión de p21/waf1 lo que conlleva a una supresión del crecimiento tumoral por inhibición de los complejos ciclina/CDK responsables del avance de las células en el ciclo celular (Kubota, Uemura et al. 2003).

TRAIL-R (receptor del ligando inductor de apoptosis, relacionado con TNF) es un receptor que unido a su ligando TRAIL induce apoptosis mediada por caspasas (Marsters, Pitti et al. 1999) y que se encuentra alterado o truncado en células

tumorales resistentes (Keane, Ettenberg et al. 1999). En un trabajo en el cual se usó células tumorales de próstata PC3 y DU-145, resveratrol sensibilizó a las células al tratamiento con TRAIL. El mecanismo molecular por el cual logra inducir la apoptosis incluye la disminución de la

expresión de proteínas antiapoptóticas como Bcl-2, Bcl-xl y survivina y el aumento de la expresión de las proteínas proapoptóticas Bax, Bak, PUMA, Noxa, Bim, así como de receptores de muerte celular TRAIL-R1/DR4, TRAIL-R2/DR5. Además induce la producción de radicales libres que promoverán la apoptosis (Shankar, Siddiqui et al. 2007).

Por otro lado, en células de carcinoma de colon, la administración conjunta de resveratrol, TNF, anticuerpos anti-CD95 y TRAIL activan la muerte celular por apoptosis evitando la inhibición de ésta por la proteína antiapoptótica Bcl-2 (Delmas, Solary et al. 2011). Sin embargo se ha observado que la combinación de resveratrol con TRAIL puede ser ineficaz en el tratamiento de los tumores que presentan sobreexpresión de Bcl-2 y defectos en la activación de los receptores de muerte (Fulda and Debatin 2005). También se ha observado un aumento de la sensibilización de las células de cáncer de colon a la apoptosis inducida por TRAIL al ser éste administrado con quercitina (Psahoulia, Drosopoulos et al. 2007).

### **5.3. Fármacos anticancerígenos**

El tratamiento básico del cáncer se basa en tres pilares fundamentales: la cirugía, quimioterapia y la radioterapia, que pueden ser administrados solos o en asociación. Además se pueden utilizar otros tratamientos como el trasplante de médula ósea, la inmunoterapia o la terapia génica ([www.cancer.net](http://www.cancer.net)).

La contribución de la investigación farmacológica a la lucha contra el cáncer empieza ya en el siglo XIX, cuando se produjeron dos grandes aportes a la cirugía: la introducción de los anestésicos, en 1846, por William Morton y la introducción de los principios de antisepsia por Joseph Lister, en 1867. Durante el siglo XX y gracias a la inversión en investigación comenzó la incorporación de nuevos medicamentos (quimioterapia y hormonoterapia), los que cambiaron profundamente el abordaje del cáncer y el pronóstico de la enfermedad.

En 1898, Paul Elrich aisló el primer agente alquilante y con él acuñó la palabra quimioterapia para referirse a la acción de este tipo de medicamento sobre el cáncer. Sin embargo, el tratamiento farmacológico realmente eficaz

se inició en 1941 con Huooin, quien trató con éxito el carcinoma de próstata administrando estrógenos. Los primeros citostáticos propiamente dichos utilizados en el tratamiento del cáncer fueron las mostazas nitrogenadas que en 1943 fueron empleadas en el tratamiento de un paciente con linfosarcoma. En 1947, Farber introdujo la aminopterina en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda infantil. Con este fármaco se abrió el campo, realmente fecundo, de los llamados antimetabolitos, los cuales constituyen en el momento actual uno de los grupos de agentes más numerosos y útiles en la terapéutica antitumoral. Otros hitos también importantes fueron la utilización clínica del primer agente antibiótico y de los alcaloides de las plantas (Cuevas Torres and Santos Miranda 1985).

La quimioterapia se usa para tratar muchos tipos de cáncer. En la actualidad se usan más de 100 medicamentos de quimioterapia, ya sea solos o en combinación con otros medicamentos o tratamientos. Estos medicamentos varían ampliamente en su composición química, la manera en que se administran, su utilidad en el tratamiento de formas específicas de cáncer y sus efectos secundarios.

Una clasificación general de los fármacos antineoplásicos se muestra en la tabla 4.

GRUPO TERAPÉUTICO	SUBGRUPO TERAPÉUTICO	FÁRMACOS
<b>Agentes alquilantes</b>	<b>Mostazas nitrogenadas</b>	Ciclofosfamida
		Ifosfamida
		Melfalan
		Clorambucilo
	<b>Alquilantes atípicos</b>	Dacarbazina
<b>Antimetabolitos</b>	<b>Antifólicos</b>	Metotrexato
	<b>Antipirimidínicos</b>	5-fluorouracilo
		Citarabina (Ara -C)
		Capecitabina
		Gemcitabina
<b>Antibióticos</b>	<b>Antraciclinas</b>	Doxorrubicina
		Epirubicina
	<b>Otros antibióticos</b>	Mitomicina C
		Bleomicina
<b>Fármacos que se fijan a la tubulina</b>	<b>Alcaloides de la vinca</b>	Vincristina
		Vinblastina
		Vinorelbina
	<b>Inhibidores de topoisomerasa II</b>	Etoposido
	<b>Taxanos</b>	Paclitaxel
		Docetaxel

**Tabla 4:**

**Clasificación de los quimioterápicos antineoplásicos**

GRUPO TERAPÉUTICO	SUBGRUPO TERAPÉUTICO	FÁRMACOS
Compuestos varios	Derivados del Platino	Cisplatino
		Carboplatino
		Oxaliplatino
	Bifosfonatos	Acido zoledronico
		Ibandronato
	Otros	Imatinib
Talidomina		
Hormonas	Antiestrógenos	Tamoxifeno
		Fulvestrant
	Inhibidores de la aromatasa	Letrozol
		Anastrozol
	Antiandrogenicos	Bilutamida
AnálogoS sintéticoS de la hormona natural LHRH (hormona liberadora de hormona luteinizante)	Goserelina	
Modificadores de la respuesta biológica	Agentes citostáticos	Interferones
	Anticuerpos monoclonales	Rituximab
		Trastuzumab
		Cetuximab
		Bevacizumab
		Tocilizumab

**Tabla 4**

**(continuación): Clasificación de los quimioterápicos antineoplásicos**

En las siguientes líneas se hará referencia a dos grupos de fármacos antineoplásicos, los antimetabolitos y los compuestos de platino, por ser los grupos de los fármacos centrales de esta revisión.

### 5.3.1. Clasificación de los Quimioterápicos

### 5.3.1.1. Antimetabolitos

Se denomina antimetabolito a los análogos funcionales de los metabolitos normales que ejercen acción farmacológica opuesta. El antimetabolito actúa ocupando lugares enzimáticos que no son afectados por el metabolito natural. Un fármaco análogo puede seguir los mismos pasos metabólicos que el metabolito natural, hasta un punto en que altera una función (falso metabolito). En otros casos, el análogo no se metaboliza, pero se une al sitio activo de la enzima compitiendo con la molécula fisiológica. A veces la afinidad del antimetabolito por el sustrato es varias veces superior a las del metabolito (Cuevas Torres and Santos Miranda 1985).

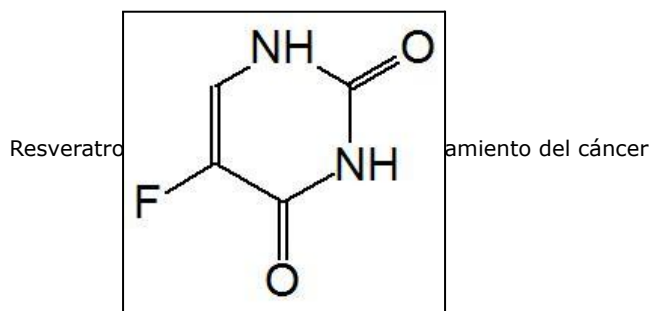
Existen dos modalidades generales de actuación: suplantando en el punto catalítico del sustrato normal, o uniéndose al regulador accesorio del sustrato y produciendo una regulación alostérica al afectar por un mecanismo de retroinhibición fases de la vía sintética del metabolito natural. Según que el metabolito actúe acoplándose al punto catalítico o al regulador de la enzima (sustrato), se producen metabolitos anormales o inhibición de la síntesis de los metabolitos normales, respectivamente (Cuevas Torres and Santos Miranda 1985).

Dentro de los antimetabolitos se destacan fármacos tales como los antifólicos, de los cuales el más utilizado es el metotrexato; análogos de pirimidinas, como el 5-FU; análogos de purinas, como la mercaptopurina y depletores de nutrientes esenciales como la L-asparaginasa.

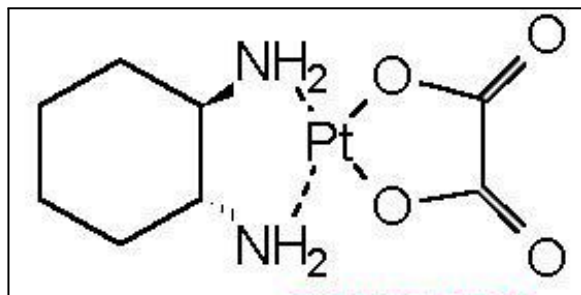
#### **5-Fluorouracilo**

El 5-Fluorouracilo (5-FU) es un análogo del uracilo descubierto por Heidelberger en la década del 50 (figura 15).

Su citotoxicidad se explica a través de dos mecanismos: inhibición potente y competitiva de la enzima timidilato sintetasa por parte del metabolito 5-fluoro-2'-desoxiuridina monofosfato (FdUMP). Esta enzima es responsable de la síntesis de la base nitrogenada timina y su bloqueo provoca un grado de depleción de esta base que frena la replicación del ADN y por lo tanto el ciclo celular en las células cancerígenas (Longley, Harkin et al. 2003).



**Figura 15:**  
**5-FU**



**Estructura química de**

Por otro lado, la incorporación al ARN del metabolito FUTP, afectaría directamente a la transcripción y la incorporación de FdUTP a la molécula de ADN propiamente tal (Longley, Harkin et al. 2003). Ambos fenómenos desestabilizarían de tal forma a la célula tumoral que provocarían su muerte.

### **5.3.1.2. Compuestos de Platino**

Los compuestos de platino son fármacos antineoplásicos que ejercen su acción sobre el ADN de las células tumorales, uniéndose a éste (Gelasco and Lippard 1999). Estos eventos conducen a la célula tumoral a muerte por apoptosis o necrosis (Gonzalez, Fuertes et al. 2001).

#### ***Cisplatino***

Cisplatino es un compuesto inorgánico denominado químicamente cis-diaminodicloroplatino, formado por un complejo en el cual un átomo de platino se rodea por dos iones de cloro y dos grupos NH<sub>3</sub> (figura 16). Tiene la capacidad para reaccionar con las moléculas nucleofílicas que se encuentran en las células (Cuevas Torres and Santos Miranda 1985).

El cisplatino es un citostático de amplio espectro frente a neoplasias experimentales y humanas, destacando su actividad frente a tumores germinales, carcinoma epitelial de ovario, carcinomas escamosos, sobre todo de cabeza y cuello, cáncer microcítico de pulmón, sarcomas y cáncer de vejiga (Sleijfer, Meijer et al. 1985).

### **Figura 16: Estructura química de Cisplatino**

Actúa de manera preferente sobre las bases del ADN, en particular en el nitrógeno 7 de guanina debido a su gran nucleofilia, al igual que lo hacen los agentes alquilantes. Se comporta como un agente bifuncional, produciendo enlaces o puentes cruzados entre las dos hebras del ADN, lo cual implica una profunda modificación en la estructura y función de esta molécula. También forma enlaces cruzados entre las bases nitrogenadas guanina pertenecientes a la misma hebra e incluso, entrecruzamientos entre ADN y proteínas. Como consecuencia se produce una fuerte inhibición en la síntesis de ADN (Gonzalez, Fuertes et al. 2001).

Cisplatino ha demostrado ser ototóxico, nefrotóxico, y neurotóxico acumulativo. La toxicidad causada por cisplatino puede incrementarse por el uso combinado con otros fármacos que son tóxicos para dichos órganos o sistemas.

La nefrotoxicidad se explicaría porque este fármaco se elimina en abundancia por filtración glomerular o por secreción tubular y una vez en las células se une al ADN, lo que obviamente resulta tóxico para una célula en división como las tumorales y también para las células en reposo como las de los túbulos en el riñón (Zhang and Hanigan 2003).

La neuropatía por cisplatino es una polineuropatía simétrica y distal (Trugman, Hogenkamp et al. 1985). Además, con dosis por lo común superiores a 600 mg/m<sup>2</sup>, y sobre todo si concurren factores como edad avanzada o tratamiento con aminoglucósidos, el cisplatino provoca una pérdida auditiva por lesión coclear, con afectación de tonos agudos y a

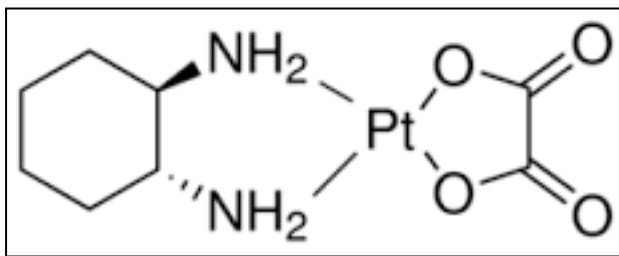
veces de las frecuencias del sonido de una conversación normal (Schaefer, Post et al. 1985). Al parecer, el daño coclear por cisplatino se debe a la inhibición de una enzima transportadora de iones ATP-dependiente (Schweitzer, Dolan et al. 1986).

## **Oxaliplatino**

El oxaliplatino o cis-diamino-dicloro-platino, es un tipo de análogo de platino que presenta una estructura química en la cual un átomo central de platino es rodeado por un grupo oxalato y un 1,2-diaminociclohexano en posición trans (figura 17). Presenta mayor citotoxicidad que cisplatino y carboplatino.

El mecanismo de acción se basa en su biotransformación en un derivado hidratado que tiene capacidad de interaccionar con el nitrógeno 7 de la base guanina en el ADN, formando puentes intracatenarios que interrumpen la síntesis de esta biomolécula y también su transcripción, lo cual determina la muerte celular (Faivre, Chan et al. 2003).

Otro mecanismo de acción propuesto se relaciona con el arresto en la fase S del ciclo celular de las células tumorales. oxaliplatino, en sinergia con 5-FU, inhibe la acción de la enzima timidilato sintetasa, evitando la incorporación de timina en la síntesis del ADN (Fischel, Formento et al. 2002).



**Figura 17: Estructura química de oxaliplatino**

A pesar del éxito en el tratamiento contra el cáncer, oxaliplatino produce efectos tóxicos a lo largo del tratamiento. Hay registros de alteración del sistema hematopoyético, problemas gastrointestinales e inducción de neurotoxicidad en los pacientes. Con respecto a la hematopoyesis, oxaliplatino afectaría las células progenitoras en la médula ósea de los

huesos (Koutras, Makatsoris et al. 2004) y provocaría anemia hemolítica y trombocitopenia (Koutras, Makatsoris et al. 2004, Pieck, Drescher et al. 2008). Los problemas gastrointestinales serían náuseas, vómitos y diarrea (Zafar, Marcello et

al. 2010). Con respecto a la neurotoxicidad, es uno de los efectos más comunes y según el tiempo y dosis de utilización, puede provocar neuropatía aguda o crónica. La primera se caracteriza por parastesia, disestesia o alodinia, afectando las extremidades, los labios y el tracto orofaríngeo.

Es por esta razón que las investigaciones actuales se centran en encontrar sustancias coadyuvantes que disminuyan este efecto en las personas en tratamiento. Dentro de este grupo están muy bien valorados los fitoquímicos por los numerosos efectos beneficiosos para la salud que presentan y las evidencias en cuanto a su efecto sinérgico con fármacos anticancerígenos convencionales, como las mencionadas anteriormente.

### **5.3.2. Mecanismos de Resistencia a la Quimioterapia**

Como se ha mencionado anteriormente, uno de los problemas más comunes en el tratamiento del cáncer es el fenotipo de resistencia a los diferentes fármacos de las células tumorales, lo que conduce a una pérdida de eficacia de los mismos.

La resistencia puede ser debida a varios factores, entre ellos:

\*Resistencia intrínseca de las células tumorales: puede explicarse por factores farmacocinéticos (mala absorción, insuficiente distribución, por ejemplo) o a propiedades de la propia célula tumoral (Plasencia, Taron et al. 2000).

\*Resistencia adquirida: durante el transcurso del tratamiento, las células tumorales escapan de la terapia inicial mediante la adquisición de nuevas características que las hacen resistentes al tratamiento. Esto ocurre por una variedad de mecanismos citocinéticos que incluyen alteraciones en los mecanismos de transporte de el fármaco (por ejemplo del transportador glicoproteína P), ya sea por incorporación y/o expulsión, cambios en los procesos metabólicos intracelulares, alteración en las dianas terapéuticas, alteración en los genes involucrados en la regulación del ciclo celular y en las vías de respuesta del daño inducido al ADN (Plasencia, Taron et al. 2000).

Además de lo ya dicho se debe tener en cuenta la heterogeneidad de las células tumorales dentro del propio tumor. Los tumores están compuestos por subpoblaciones celulares con diferentes características morfológicas y funcionales, observándose divergencia en cuanto al tamaño, cariotipo, capacidad de invasión y la proliferación de las subpoblaciones. Esta heterogeneidad tumoral presenta implicaciones a nivel del tratamiento, permitiendo explicar por qué tumores de la misma histología responden de manera diferente en distintos pacientes e incluso

dentro del mismo paciente. De acuerdo a la teoría de Goldie y Coldman (1979) basada en las resistencias bacterianas, la probabilidad de que un tumor albergue células resistentes en su interior depende del tamaño del tumor y de la frecuencia de mutación. A pesar del éxito del tratamiento inicialmente, la expansión de los clones resistentes origina pérdida de sensibilidad al tratamiento, por lo tanto los fármacos estarían actuando como agentes seleccionadores destruyendo a la población sensible y favoreciendo a la resistente.

### **5.3.3. Actividad Sinérgica**

La actividad en conjunto de dos sustancias químicas se ha denominado sinergia y en muchos casos se ha demostrado un efecto potenciador de los efectos de ambas. En el caso del cáncer, las nuevas investigaciones están orientadas a descubrir las sinergias de fármacos antitumorales convencionales con fitoquímicos con probada acción antitumoral, lo que se considera como una de las promesas de nuevas alternativas para el tratamiento y manejo de diferentes tipos de cáncer, así como también de las ya descritas sinergias.

Como resveratrol es un polifenol que ha demostrado ser un buen coadyuvante en el tratamiento del cáncer, a continuación se expone evidencia acerca de este rol con fármacos antineoplásicos usados ampliamente en varios tipos de cáncer, pero que a su vez generan efectos secundarios importantes a los pacientes, me refiero a cisplatino, oxaliplatino y 5-FU.

#### **5.3.3.1. Resveratrol como coadyuvante del 5-FU**

##### ***Estrés oxidativo en cáncer colorrectal***

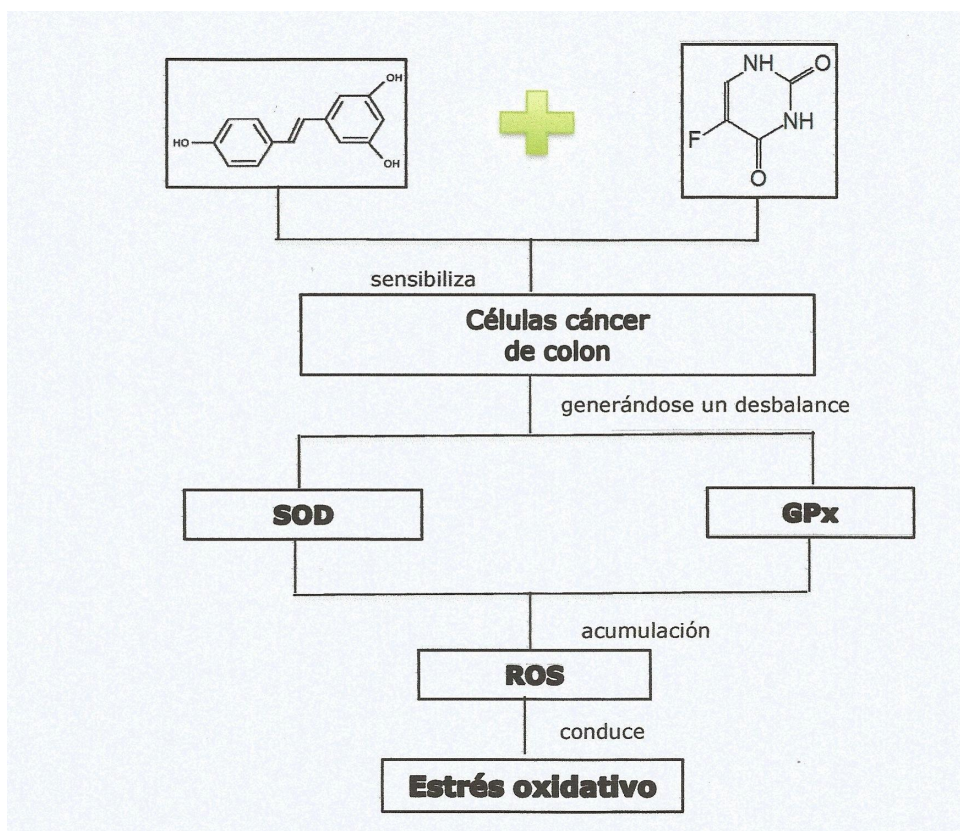
Según la Globocan de 2012, el cáncer colorrectal afecta a regiones industrializadas, ocupando el tercer lugar en incidencia en hombres y el segundo lugar en la mujer, el 60 % de los casos ocurre en países desarrollados .

En el tratamiento del cáncer colorrectal y tras el empleo de múltiples fármacos y combinaciones, el 5-FU se situó en la década de los 70 como el fármaco más activo y hoy en día sigue siendo el citostático de elección en primera línea de tratamiento.

La combinación de ambos químicos, resveratrol y 5-FU, promueve un desequilibrio entre la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) y la enzima glutatión

peroxidasa (GPx). Altos niveles de actividad de SOD y bajos niveles de la GPx probablemente contribuyen a la acumulación de ROS intracelular y estrés oxidativo, observado en las células tumorales investigadas (Park, Ramnath et al. 2007). En el estudio de Santandreu et al, del 2011, se concluyó que resveratrol sensibiliza a las células cancerígenas de colon y en conjunto con 5-FU, mejora la susceptibilidad al daño oxidativo por inhibición de la actividad de enzimas antioxidantes. El estrés oxidativo provocado después de la aplicación de 5-FU se manifestó a través de un incremento en la peroxidación lipídica, proceso que fue altamente potenciado por la combinación del tratamiento con resveratrol (Santandreu, Valle et al. 2011).

El factor de transcripción STAT3 y la proteína quinasa AKT son moléculas que se encuentran sobreexpresadas o activadas en varios tipos de tumores (Van Meter, Broaddus et al. 2006). La inactivación de estos factores estaría asociada al estrés oxidativo citotóxico en las células de cáncer colorrectal. En el trabajo de Santandreu et al del 2011, el análisis de los efectos de 5-FU combinado con resveratrol en estas vías, mostró una completa inactivación de ambos factores de transcripción, situación que es parcial con el uso de 5-FU por sí solo, demostrándose entonces, el rol coadyuvante del resveratrol (Santandreu, Valle et al. 2011).



### ***Arresto celular***

En el trabajo realizado por Wu et al, en 2004, en el cual se utilizaron células de hepatoma H22, se observó que resveratrol induce en las células tumorales el arresto en fase S y mejora los efectos antitumorales cuando es usado en conjunto con 5-FU en hepatoma murino, por lo que podría ser potencialmente beneficioso en quimioterapia.

Además redujo el tamaño del tumor significativamente con cada dosis usada, siendo la dosis más alta la más efectiva (Wu, Sun et al. 2004).

### ***Apoptosis***

En otro estudio realizado con células de cáncer de colon humano HCT116 wild-type (p53+/+) y knockout (p53-/-) para p53; usando también una combinación de resveratrol y 5-FU; se observó la activación de caspasa 6 en la apoptosis. El efecto combinado es dependiente de la dosis: usando altas dosis (200µM) en células HCT116 wild-type, se observa la sinergia entre resveratrol y 5-FU en ambos tipos celulares, mientras que dosis menores (25 o 50 µM) producen un efecto inhibitorio (Chan, Phoo et al. 2008).

El grupo de Kumazaki et al, en el año 2013, investigó el efecto de la combinación de resveratrol y 5-FU en células tumorales de colon humanas y también pudieron determinar que resveratrol induce a la apoptosis y que reduce consistentemente el número de células cancerígenas viables (Kumazaki and al. 2013).

### ***Angiogénesis***

Como ya se ha mencionado, la angiogenesis tumoral es esencial para el crecimiento y la metastasis cancerígena (Wu, Sun et al. 2004) y depende de factores de crecimiento específico (Emmett, Dewing et al. 2011).

La inhibición de factores de crecimiento es una de las estrategias mejor consideradas para la eficiente supresión de la célula tumoral. Un gen clave relacionado con el crecimiento tumoral es COX-2, el cual es necesario para la angiogenesis, la migración y la invasion celular. Éste se encuentra sobreexpresado en varias células tumorales (Xiao, Shi et al. 2011).

VEGF es otro factor proangiogénico, el cual promueve la progresión tumoral, la metástasis y la diseminación del cáncer (Kumar, Chile et al. 2011).

VASP, una proteína relacionada con la angiogénesis, actúa regulando las interacciones célula-célula y célula- matriz por regulación de la red de filamentos de actina y la fosforilación de pAMPK (Blume, Benz et al. 2007).

Resveratrol combinado con 5-FU ha demostrado importantes efectos sobre la inhibición del crecimiento y angiogénesis de células tumorales B16 por la regulación de los niveles de expresión de COX-2, VEGF, VASP y pAMPK, promoviendo aumento de la expression de COX-2, VEGF y VASP y disminuyedo los niveles de pAMPK (Lee, Koo et al. 2015).

### ***Adhesión celular***

Los mecanismos por los cuales resveratrol actuaría en la adhesión molécula y los componentes de la adhesión célula- célula no han sido aún explorados. Más aún, la comunicación mediada por complejos de uniones intercelulares, incluyendo a la adhesión molecular, desmosomas, uniones comunicantes y uniones estrechas, las cuales permiten la adhesión y la comunicación entre

células individuales, suprimiendo la metástasis tumoral y manteniendo la integridad de los tejidos, son todavía desconocidos (Nicolson, Dulski et al. 1988, Ren, Hamada et al. 1990, Schneeberger and Lynch 2004).

Trabajos con células de cáncer colorrectal han determinado que las células tumorales requieren de cambios ultraestructurales para un rápido crecimiento y metastasis. Además las uniones estrechas han demostrado ser altamente dinámicas, multimolecular y multifuncionalmente. (Schneeberger and Lynch 2004).

Los estudios de la sinergia de ambos químicos mostraron una supresión de NF- $\kappa$ B y el gen regulador de los productos finales de NF $\kappa$ B, caspasa 3 y MMP-9, que están relacionados con el crecimiento, proliferación, invasión y apoptosis en células de cáncer colorectal. Además se demostró que la down regulación de la señalización vía NF $\kappa$ B sería a través de la supresión de IKBa quinasa (Shakibaei, Harikumar et al. 2009, Busch, Mobasher et al. 2012).

### **5.3.3.2. Resveratrol como coadyuvante de fármacos de Platino**

La combinación de fármacos platinados con resveratrol ha demostrado un gran efecto sinérgico, ya sea potenciando la muerte celular, compensando los efectos adversos del uso del fármaco y/o disminuyendo la toxicidad de la quimioterapia, pues se necesitan dosis muy bajas para el tratamiento (Sarkar and Li 2006).

## **Cisplatino**

### ***Glicoproteína P***

En estudios con células EAC se observó un mejoramiento de la actividad citotóxica de cisplatino en combinación con resveratrol. Si bien resveratrol no mostró actividad antitumoral por sí mismo, mejoró la actividad de cisplatino, pues actúa inhibiendo al transportador de membrana, la glicoproteína P e incrementando los niveles intracelulares del fármaco en células EAC (Osman, Telity et al. 2015).

Hay otros reportes que responsabilizan al resveratrol de la inhibición de la acción de la glicoproteína P (Al-Abd, Mahmoud et al. 2011, Gupta, Kannappan et al. 2011), contribuyendo así a la mantención de antitumorales como doxorubicina al interior de las células y por consiguiente, favoreciendo su acción anticancerígena (Kweon, Song et al. 2010).

El mecanismo que explica el efecto inhibitor de resveratrol fue propuesto por Kweon et al, en 2010 , el cual se relaciona con la down regulación del gen MRP 1 en células AML (leucemia mieloide aguda) , el cual está sobrepresado en el tipo celular resistente a doxorubicina.

Contrariamente a lo descrito en el párrafo anterior, Yang et al (2012) han demostrado que resveratrol favorece la actividad de la glicoproteína P en líneas celulares de cáncer de colon (Yang, Tsai et al. 2012).

La contradicción anterior se puede explicar desde el punto de vista del desarrollo de la MDR, la que puede ser adquirida después de la exposición al fármaco (Chaudhary 1993). También hay que considerar las diferencias existentes entre las células tratadas por cada investigador (células EAC y células tumorales de colon), y que hay diferencias entre células cancerígenas, incluso dentro de un mismo tumor.

### ***Activación de proteínas proapoptóticas***

Otro efecto de la acción combinada de resveratrol con cisplatino es que la actividad citotóxica de esta fármaco se ve aumentada gracias a la propiedad del resveratrol para inducir la muerte celular a través de la activación de proteínas de la familia de proteínas proapoptóticas (Osman, Al-Harhi et al. 2013). Esto explica lo evidenciado en el trabajo de Osman et al de 2015, en el cual se realizó un tratamiento de resveratrol con cisplatino en células EAC, el que mostró una acumulación importante de células en fase G1 y arresto celular en el check point G1/G0 (Osman, Telity et al. 2015).

### ***Nefrotoxicidad***

Una de las dificultades del tratamiento con cisplatino es la toxicidad de esta fármaco, la que puede provocar disminución de la función renal, específicamente una tasa decreciente de filtración glomerular y aclaramiento de creatinina (Groth, Nielsen et al. 1986).

Según Do Amaral y colegas (2008) la nefrotoxicidad se debe a que cisplatino induce un proceso inflamatorio, por infiltración de células T y macrófagos, además de un desequilibrio oxidativo por generación de ROS. En este ámbito, resveratrol ha demostrado una actividad coadyuvante quimioprotectora, pues previene la infiltración de células inflamatorias como los macrófagos y disminuye la generación de radicales libres. Estos procesos serían los responsables de la acción de resveratrol como quimioprotector frente a la nefrotoxicidad inducida por cisplatino (Do Amaral, Francescato et al. 2008).

Por otro lado, el grupo de Valentovic en el año 2013, propuso que resveratrol usado como pretratamiento al uso de cisplatino en células de la corteza renal de ratas,

previene la disminución de la actividad de las enzimas GSH-Px y MnSOD, que este fármaco produce. Estas enzimas están relacionadas con la regulación del estrés oxidativo celular, manteniendo así la homeostásis en las células renales (Valentovic, Ball et al. 2014).

De manera similar, Cigremis et al (2015) estudiaron la acción protectora de resveratrol frente a la nefrotoxicidad de cisplatino en células de riñones de conejos. La acción quimioprotectora puede explicarse porque este estilbeno aumenta significativamente los niveles de glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa, que cisplatino redujo como efecto secundario de su acción. Este sería el efecto preventivo de resveratrol cuando se combina con cisplatino: aminorar la lesión oxidativa provocada por este fármaco (Cigremis, Akgoz et al. 2015).

### ***Trombosis***

Otro de los efectos no deseados de la administración de cisplatino en el organismo es la alteración de las plaquetas sanguíneas. Como sabemos, las plaquetas no solo juegan un papel central en el proceso de trombogénesis, sino que también en la hemostasia en el cáncer (Goad and Gralnick 1996).

Observaciones clínicas sugieren que los fármacos anticancerígenos contribuyen a complicaciones trombóticas en los pacientes. Durante la quimioterapia, estos fármacos; entre las que se incluye cisplatino; pueden cambiar las funciones biológicas de las plaquetas (Wachowicz and Olas 1995).

En este proceso, cisplatino reduce la actividad de las enzimas antioxidantes tales como las enzimas superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, lo que causa un desequilibrio oxidativo y además contribuye a la peroxidación lipídica plaquetaria (Olas, Wachowicz et al. 2000).

La activación plaquetaria inducida por algunos activadores, incluyendo la trombina, colágeno o ADP, se asocia con un aumento de ROS, que puede ser producido por diferentes vías, entre ellas: ruta del ácido araquidónico, ciclo de glutatión, oxidasas de membrana y el metabolismo de fosfoinosítidos (Blockmans, Deckmyn et al. 1995, Pignatelli, Pulcinelli et al. 1998, Wachowicz, Olas et al. 2002).

Resveratrol modula la vía del ácido araquidónico en varios tipos celulares (células cancerígenas, plaquetas, macrófagos). Reduce la actividad de COX y lipooxigenasa y reduce la producción de ROS (Olas and Wachowicz 2004).

## ***Ototoxicidad***

De las complicaciones del tratamiento con cisplatino, y una de las menos estudiadas, es el efecto sobre el funcionamiento auditivo-vestibular o el efecto ototóxico (Takeno, Harrison et al. 1994, Rybak and Kelly 2003, Rybak 2007).

La ototoxicidad está referida a la pérdida permanente y progresiva de la audición por la acción de cisplatino, fármaco que causaría la muerte de las células ciliares del órgano de Corti (Takeno, Harrison et al. 1994; (Wake, Takeno et al. 1994). Además cisplatino induce ototoxicidad por generación de ROS y depleción de las enzimas antioxidantes (Lee, Nakagawa et al. 2004).

En el estudio de Lee et al de 2015, resveratrol redujo significativamente la formación de ROS inducida por cisplatino e inhibió la ototoxicidad en las células HEI-OC1 (Lee, Kim et al. 2015);(Im, Chang et al. 2010), mejorando de este modo otro de los efectos secundarios de este fármaco.

## ***Afecciones neurológicas***

Como ya se ha dicho, cisplatino posee efectos adversos en los pacientes, que les provocan principalmente afecciones neurológicas (James, Burden et al. 2008). Una región del cerebro, el hipocampo, es especialmente sensible a la acción de este fármaco, provocando en las neuronas inhibición de la proliferación, de la diferenciación y de la neurogénesis (Dietrich, Han et al. 2006).

El hipocampo está relacionado con funciones de adquisición, consolidación y recuperación de la memoria (Eichenbaum, H 2001). Esta zona del cerebro además fabrica una proteína llamada BDNF que juega un importante rol en

el aprendizaje y la memoria (Eichenbaum, H 2001) y también en la neurogénesis, la plasticidad sináptica y la sobrevivencia de las células (Hu, Y and Russek, SJ 2008).

Los hallazgos de Maha y Mohamed (2015), mostraron que la exposición a cisplatino induciría a alteraciones en la actividad exploratoria y motora de ratas, mientras que con resveratrol los cambios en el sistema nervioso central fueron moderados. Cuando se administró cisplatino y resveratrol en concomitancia las ratas recuperaron significativamente la capacidad de reconocimiento (Maha and Mohamed).

## ***Hepatotoxicidad***

Muy altas dosis de cisplatino pueden causar hepatotoxicidad (Liu, Liu et al. 1998). Está establecido que la peroxidación lipídica puede ser la responsable de este fenómeno, a pesar de la activación de enzimas antioxidantes (Christova, Gorneva et al. 2003). Se ha sugerido que las enzimas antioxidantes representan la respuesta protectora frente a la toxicidad de cisplatino en tumores de hígado en animales (Liu, Liu et al. 1998).

Cisplatino conduce a una mayor actividad de la enzima xantina oxidasa (XO), posiblemente a través de la reacción de conversión de la xantina deshidrogenasa a XO (McManaman and Bain 2002). El aumento de la actividad de la enzima XO es un factor de riesgo importante para la concentración de oxidantes en el tejido hepático, ya que ésta produce radicales superóxido (Linder, Rapola et al. 1999). Sí a lo anterior se le suma la disminución de la actividad de enzimas antioxidantes como glutatión peroxidasa (GSH-Px) y catalasa (CAT), se crea un estrés oxidante considerable que conduce a peroxidación celular y daño de los tejidos. Al combinar resveratrol con cisplatino, Avci et al (2008), determinaron que los niveles de malondialdehído, producido en la peroxidación lipídica, se reducen, mientras que aumentan los de GSH-Px y CAT, lo cual es atribuible al resveratrol (Avci, Cetin et al. 2008).

## ***Transición epitelio- mesénquima***

La transición epitelio-mesénquima (EMT) es un proceso fisiológico que ocurre durante el desarrollo embrionario y ocasionalmente en los adultos,

por ejemplo durante la reparación de una herida (Thiery 2002). EMT es un fenómeno durante el cual las células pasarán de un fenotipo epitelial a uno con más movilidad e invasividad, el fenotipo mesenquimal. Esta última característica le da la habilidad para invadir tejidos.

En el estudio de Baribeau et al, de 2014, se sugieren dos mecanismos que podrían ser los responsables de la inhibición de EMT por resveratrol. La combinación de

resveratrol y cisplatino reduciría la vía Erk en las células de cáncer de ovario A2780 y A2780CP, inhibiendo así la expresión de Snail, un factor de transcripción que reprime la expresión de marcadores epiteliales como caderina E y claudina 1 e incrementa la expresión de marcadores mesenquimales ZEB1 y MMP-9, evitando así que las células puedan migrar a otros tejidos. Además resveratrol induce significativamente la senescencia en ambas líneas celulares, evitando la propagación de células tumorales.

## **Oxaliplatino**

Otro fármaco de platino extensamente usada es el oxaliplatino, de la que también existe evidencia de sinergia con resveratrol, pero en mucha menor proporción. Los siguientes son evidencias de sus acciones combinadas.

### ***Glicoproteína P y quimiorresistencia***

En estudios con células de cáncer de ovario, Nessa et al en 2011, comprobaron que la administración de resveratrol 2 horas antes de la aplicación de oxaliplatino, producía mayor muerte celular que a la inversa. (Nessa, Beale et al. 2011).

La combinación de resveratrol y oxaliplatino favorece la disminución de la quimiorresistencia, que en el caso de este fármaco se observa en una reducción de su concentración dentro de la célula producto de la acción de la glicoproteína P. resveratrol, a través de la inhibición de la función de la glicoproteína P, aumenta la acumulación de oxaliplatino y por lo tanto, también su acción antineoplásica (Nessa, Beale et al. 2012).

### ***NF-κB y quimiorresistencia***

La combinación de cisplatino y oxaliplatino con resveratrol también parece estar relacionada con NF-κB. Éste es un factor de transcripción que participa entre otros eventos en la formación, progresión y apoptosis de tumores (Hayden and Ghosh 2004). El NF-κB se encuentra en el citoplasma en forma inactiva unido a proteínas inhibitoras (IKK), las cuales después de un estímulo adecuado son fosforiladas, ubiquitinizadas y degradadas por el proteosoma, permitiendo así la liberación de NF-κB que se transloca al núcleo donde regula la transcripción de genes diana (Beinke and Ley 2004), tales como los proangiogénicos y antiapoptóticos (Keifer,

Guttridge et al. 2001). Al ser una vía ligada a la inflamación, los factores que influyen sobre ésta también lo hacen en la vida de las diferentes células. Como resultado, la inflamación crónica y la sobrestimulación de NF- $\kappa$ B logran causar desarrollo y crecimiento celular incontrolado.

Considerando que la resistencia a los fármacos de platino se asocia con la sobreactivación de NF- $\kappa$ B , se ha demostrado que resveratrol puede mejorar la activación a bajas dosis (10-1  $\mu$ M) (Nessa, Beale et al. 2012), pues este estilbeno actuaría inhibiendo al NF- $\kappa$ B (Solomon, Ali et al. 2008). De acuerdo a estos antecedentes, Nessa et al (2012) demostraron que con una incubación previa de las células de cáncer de ovario; usando resveratrol, se reduciría la expresión de NF- $\kappa$ B y por lo tanto disminuir la resistencia a los fármacos de platino (Nessa, Beale et al. 2012).

# Conclusiones

## 6. CONCLUSIONES

---

El cáncer es un problema de salud pública y a la fecha no existe un tratamiento adecuado para esta enfermedad. Sin embargo, los productos naturales aislados de plantas terrestres han ayudado a combatirlo.

Las investigaciones científicas parecen demostrar que el consumo de frutas y hortalizas se ha asociado con una menor incidencia de muchas formas de cáncer. Estos alimentos contienen sustancias fitoquímicas, como los polifenoles que pueden modular la expresión génica e inhibir la carcinogénesis mediante muchos mecanismos.

Resveratrol es un polifenol de la familia de los estilbenos que ha demostrado numerosas propiedades favorables para la salud y también para el tratamiento del cáncer, actuando en cualquiera de sus tres fases: inicio, progresión y promoción tumoral. Puede prevenir la activación metabólica, la producción de ROS, la formación de aductos en el ADN y estimular la inactivación metabólica en las células cancerígenas; actuando como quimioprotector y como quimiopreventivo.

Múltiples estudios científicos avalan las propiedades beneficiosas del resveratrol cuando se combina con fármacos de uso convencional en el tratamiento del cáncer, por lo que es considerado como un buen candidato para su utilización con fármacos como 5-FU, cisplatino y oxaliplatino.

# Referencias

## 7. Referencias

---

- Adams, J. M. and S. Cory (2007). "The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy." Oncogene **26**(9): 1324-1337.
- Adhami, V. M., F. Afaq and N. Ahmad (2001). "Involvement of the retinoblastoma (pRb)-E2F/DP pathway during antiproliferative effects of resveratrol in human epidermoid carcinoma (A431) cells." Biochem Biophys Res Commun **288**(3): 579-585.
- Adhami, V. M., F. Afaq and N. Ahmad (2003). "Suppression of ultraviolet B exposure-mediated activation of NF-kappaB in normal human keratinocytes by resveratrol." Neoplasia **5**(1): 74-82.
- Adrados, I., J. Larrasa-Alonso, A. Galarreta, I. Lopez-Antona, C. Menendez, M. Abad, J. Gil, G. Moreno-Bueno and I. Palmero (2015). "The homeoprotein SIX1 controls cellular senescence through the regulation of p16INK4A and differentiation-related genes." Oncogene.
- Adrian (1996). "Induction of phitoalexin (resveratrol) synthesis in grapevine leaves treated with aluminium chloride (AlCl<sub>3</sub>)." J. Agric food **1996**(44): 1979-1981.
- Agbunag, C. and D. Bar-Sagi (2004). "Oncogenic K-ras drives cell cycle progression and phenotypic conversion of primary pancreatic duct epithelial cells." Cancer Res **64**(16): 5659-5663.
- Ahmad, N., V. M. Adhami, F. Afaq, D. K. Feyes and H. Mukhtar (2001). "Resveratrol causes WAF-1/p21-mediated G(1)-phase arrest of cell cycle and induction of apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cells." Clin Cancer Res **7**(5): 1466-1473.
- Al-Abd, A. M., A. M. Mahmoud, G. A. El-Sherbiny, M. A. El-Moselhy, S. M. Nofal, H. A. El-Latif, W. I. El-Eraky and H. A. El-Shemy (2011). "Resveratrol enhances the cytotoxic profile of docetaxel and doxorubicin in solid tumour cell lines in vitro." Cell Prolif **44**(6): 591-601.
- Albihn, A., J. I. Johnsen and M. A. Henriksson (2010). "MYC in oncogenesis and as a target for cancer therapies." Adv Cancer Res **107**: 163-224.
- Amagase, H., B. L. Petesch, H. Matsuura, S. Kasuga and Y. Itakura (2001). "Intake of garlic and its bioactive components." J Nutr **131**(3s): 955S-962S.
- Arnold, J. L., T. (1995). "Tumor Suppressor Genes." Science and Medicine.
- Artandi, S. E. and R. A. DePinho (2010). "Telomeres and telomerase in cancer." Carcinogenesis **31**(1): 9-18.
- Asensi, M., A. Ortega, S. Mena, F. Feddi and J. M. Estrela (2011). "Natural polyphenols in cancer therapy." Crit Rev Clin Lab Sci **48**(5-6): 197-216.
- Atten, M. J., B. M. Attar, T. Milson and O. Holian (2001). "Resveratrol-induced inactivation of human gastric adenocarcinoma cells through a protein kinase C-mediated mechanism." Biochem Pharmacol **62**(10): 1423-1432.
- Avci, A., R. Cetin and E. Erguder (2008). "Cisplatin causes oxidation in rat liver tissues: possible protective effects of antioxidant food supplementation." Turk J Med Sci **38**(2): 117-120.

- Awad, A. B., A. T. Burr and C. S. Fink (2005). "Effect of resveratrol and beta-sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **72**(3): 219-226.
- Balkwill, F. and A. Mantovani (2001). "Inflammation and cancer: back to Virchow?" Lancet **357**(9255): 539-545.
- Barbacid, M. (1987). "ras genes." Annu Rev Biochem **56**: 779-827.
- Barcelo, S., J. M. Gardiner, A. Gescher and J. K. Chipman (1996). "CYP2E1-mediated mechanism of anti-genotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane." Carcinogenesis **17**(2): 277-282.
- Barillari (1998). "The basic residues of placenta growth factor type 2 retrieve sequestered angiogenic factors into a soluble form: implications for tumor angiogenesis." Am Pathol **152**: 407-424.
- Baserga, R. (1993). "Principles of molecular cell cancer biology of cancer: the cell cycle." De Vita
- Baserga, R. (1993). "Principles of molecular cell cancer biology of cancer: the cell cycle." De Vita.
- Baur, J. A. and D. A. Sinclair (2006). "Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence." Nat Rev Drug Discov **5**(6): 493-506.
- Bechmann, L. P., D. Zahn, R. K. Gieseler, C. D. Fingas, G. Marquitan, C. Jochum, G. Gerken, S. L. Friedman and A. Canbay (2009). "Resveratrol amplifies profibrogenic effects of free fatty acids on human hepatic stellate cells." Hepatol Res **39**(6): 601-608.
- Beinke, S. and S. C. Ley (2004). "Functions of NF-kappaB1 and NF-kappaB2 in immune cell biology." Biochem J **382**(Pt 2): 393-409.
- Berge, G., S. Ovrebo, I. V. Botnen, A. Høver, D. H. Phillips, A. Haugen and S. Møllerup (2004). "Resveratrol inhibits benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human bronchial epithelial cells." Br J Cancer **91**(2): 333-338.
- Bergers, G. and L. E. Benjamin (2003). "Tumorigenesis and the angiogenic switch." Nat Rev Cancer **3**(6): 401-410.
- Bhardwaj, A., G. Sethi, S. Vadhan-Raj, C. Bueso-Ramos, Y. Takada, U. Gaur, A. S. Nair, S. Shishodia and B. B. Aggarwal (2007). "Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB-regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells." Blood **109**(6): 2293-2302.
- Bharti, A. C. (2004). "Nuclear factor-kappaB and STAT3 are constitutively active in CD138+ cells derived from multiple myeloma patients, and suppression of these transcription factors leads to apoptosis." Blood **103**: 3175-3184.
- Bharti, A. C. and B. B. Aggarwal (2002). "Chemopreventive agents induce suppression of nuclear factor-kappaB leading to chemosensitization." Ann N Y Acad Sci **973**: 392-395.
- Billingsley, K. G., M. E. Burt, E. Jara, R. J. Ginsberg, J. M. Woodruff, D. H. Leung and M. F. Brennan (1999). "Pulmonary metastases from soft tissue sarcoma: analysis of patterns of diseases and postmetastasis survival." Ann Surg **229**(5): 602-610; discussion 610-602.
- Blankenstein, T., P. G. Coulie, E. Gilboa and E. M. Jaffee (2012). "The determinants of tumour immunogenicity." Nat Rev Cancer **12**(4): 307-313.

- Blasco, A. (2001). "La prevención de la hipercolesterolemia." Jano **60**: 47-55.
- Blasco, M. A. (2005). "Telomeres and human disease: aging, cancer and beyond." Nat Rev genet **6**: 611-622.
- Blockmans, D., H. Deckmyn and J. Vermynen (1995). "Platelet activation." Blood Rev **9**(3): 143-156.
- Blume, C., P. M. Benz, U. Walter, J. Ha, B. E. Kemp and T. Renne (2007). "AMP-activated protein kinase impairs endothelial actin cytoskeleton assembly by phosphorylating vasodilator-stimulated phosphoprotein." J Biol Chem **282**(7): 4601-4612.
- Bodnar, A. G. (1998). "Extension of life span by introduction of telomerase into normal human cells." Science **279**.
- Boerma, E. G., R. Siebert, P. M. Kluin and M. Baudis (2009). "Translocations involving 8q24 in Burkitt lymphoma and other malignant lymphomas: a historical review of cytogenetics in the light of today's knowledge." Leukemia **23**(2): 225-234.
- Bonnet, D. a. D., J.E. (1997). "Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell." Nat. Med. **3**: 730-737.
- Borek, C. (2001). "Antioxidant health effects of aged garlic extract." J Nutr **131**(3s): 1010S-1015S.
- Bradshaw, D. and R. J. Arceci (1998). "Clinical Relevance of Transmembrane Drug Efflux as a Mechanism of Multidrug Resistance." J Clin Oncol **16**(11): 3674-3690.
- Bravo, L. (1998). "Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance." Nutr Rev **56**(11): 317-333.
- Broccoli, D., A. Smogorzewska, L. Chong and T. de Lange (1997). "Human telomeres contain two distinct Myb-related proteins, TRF1 and TRF2." Nat Genet **17**(2): 231-235.
- Bronikowska, J., E. Szliszka, Z. P. Czuba, D. Zwolinski, D. Szmydki and W. Krol (2010). "The combination of TRAIL and isoflavones enhances apoptosis in cancer cells." Molecules **15**(3): 2000-2015.
- Brown, C. J., S. Lain, C. S. Verma, A. R. Fersht and D. P. Lane (2009). "Awakening guardian angels: drugging the p53 pathway." Nat Rev Cancer **9**(12): 862-873.
- Brunet, A., A. Bonni, M. J. Zigmond, M. Z. Lin, P. Juo, L. S. Hu, M. J. Anderson, K. C. Arden, J. Blenis and M. E. Greenberg (1999). "Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor." Cell **96**(6): 857-868.
- Buchkovich, K., L. A. Duffy and E. Harlow (1989). "The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle." Cell **58**(6): 1097-1105.
- Burkitt, M. J. and J. Duncan (2000). "Effects of trans-resveratrol on copper-dependent hydroxyl-radical formation and DNA damage: evidence for hydroxyl-radical scavenging and a novel, glutathione-sparing mechanism of action." Arch Biochem Biophys **381**(2): 253-263.
- Busch, F., A. Mobasher, P. Shayan, C. Lueders, R. Stahlmann and M. Shakibaei (2012). "Resveratrol modulates interleukin-1beta-induced phosphatidylinositol 3-kinase and nuclear factor kappaB signaling pathways in human tenocytes." J Biol Chem **287**(45): 38050-38063.

- Calle, E. E. and R. Kaaks (2004). "Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms." Nat Rev Cancer **4**(8): 579-591.
- Campisi, J. (2000). "Cancer, aging and cellular senescence." In Vivo **14**(1): 183-188.
- Cano, A., M. A. Perez-Moreno, I. Rodrigo, A. Locascio, M. J. Blanco, M. G. del Barrio, F. Portillo and M. A. Nieto (2000). "The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression." Nat Cell Biol **2**(2): 76-83.
- Cantwell-Dorris, E. R., J. J. O'Leary and O. M. Sheils (2011). "BRAFV600E: implications for carcinogenesis and molecular therapy." Mol Cancer Ther **10**(3): 385-394.
- Carroll, P. E. (1999). "Centrosome hyperamplification in human cancer: chromosome instability induced by p53 mutation and/or Mdm2 overexpression." Oncogene **18**: 1935-1944.
- Cartwright, P., C. McLean, A. Sheppard, D. Rivett, K. Jones and S. Dalton (2005). "LIF/STAT3 controls ES cell self-renewal and pluripotency by a Myc-dependent mechanism." Development **132**(5): 885-896.
- Cascales, M. (2003). "Bases moleculares de la apoptosis." Anal. Real Acad. Nal. Farm.
- Celotti, E. (1996). "Resveratrol content of some wines obtained from dried valpolicella grapes: recioto and amarone." J.Chromatogr. **730**: 47-52.
- Chalopin, M., Tesse, A., Martinez, M. C., Rognan, D., Arnal, J. F., and Andriantsitohaina, R. (2010). "Estrogen receptor alpha as a key target of red wine polyphenols action on the endothelium." PloS one **5**.
- Chan, J. Y., M. S. Phoo, M. V. Clement, S. Pervaiz and S. C. Lee (2008). "Resveratrol displays converse dose-related effects on 5-fluorouracil-evoked colon cancer cell apoptosis: the roles of caspase-6 and p53." Cancer Biol Ther **7**(8): 1305-1312.
- Chaudhary, P. M. (1993). "Induction of multidrug resistance in human cells by transient exposure to different chemotherapeutic drugs." J Natl Cancer Inst **85**(8): 632-639.
- Chen, X. (2001). "Constitutively active Akt is an important regulator of TRAIL sensitivity in prostate cancer." Oncogene **20**: 6073-6083.
- Cherry-Bohannon, J., K. Baker and H. Francis (2012). "VEGF and cholangiocarcinoma: Feeding the tumor  
." Transl Gastrointest Cancer.
- Chow, H. H., L. L. Garland, C. H. Hsu, D. R. Vining, W. M. Chew, J. A. Miller, M. Perloff, J. A. Crowell and D. S. Alberts (2010). "Resveratrol modulates drug- and carcinogen-metabolizing enzymes in a healthy volunteer study." Cancer Prev Res (Phila) **3**(9): 1168-1175.
- Chowa, M. T. (2012). "Inflammation and immune surveillance in cancer." Semin Cancer Biol. **22**: 23-32.
- Christova, T. Y., G. A. Gorneva, S. I. Taxiroy, D. B. Duridanova and M. S. Setchenska (2003). "Effect of cisplatin and cobalt chloride on antioxidant enzymes in the livers of Lewis lung carcinoma-bearing mice: protective role of heme oxygenase." Toxicol Lett **138**(3): 235-242.

Cigremis, Y., M. Akgoz, H. Ozen, M. Karaman, A. Kart, M. Gecer and G. Atalan (2015). "Resveratrol ameliorates cisplatin-induced oxidative injury in New Zealand rabbits." Can J Physiol Pharmacol **93**(8): 727-735.

Ciolino, H. P., P. J. Daschner and G. C. Yeh (1998). "Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor." Cancer Res **58**(24): 5707-5712.

Clark, E. A., T. R. Golub, E. S. Lander and R. O. Hynes (2000). "Genomic analysis of metastasis reveals an essential role for RhoC." Nature **406**(6795): 532-535.

Clarke, M. F. and M. Fuller (2006). "Stem cells and cancer: two faces of eve." Cell **124**(6): 1111-1115.

Cobrinik, D. (1992). "The retinoblastoma protein and the regulation of cell cycling." TIBS.

Conradt, B. and D. Xue (2005). "Programmed cell death." WormBook: 1-13.

Cragg, G. M., D. J. Newman and K. M. Snader (1997). "Natural products in drug discovery and development." J Nat Prod **60**(1): 52-60.

Croce, C. M. (2008). "Oncogenes y cancer " Encl J Med

Csiszar, A. (2011). "Anti-inflammatory effects of resveratrol: possible role in prevention of age-related cardiovascular disease." Ann N Y Acad Sci **1215**: 117-122.

Cuevas Torres, J. J. and J. J. Santos Miranda (1985). "Principios básicos de quimioterapia en Oncología básica." Oncología básica: 61-109.

D'Archivio, M., C. Filesi, R. Di Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini and R. Masella (2007). "Polyphenols, dietary sources and bioavailability." Annali dell' Istituto superiore di sanita **43**: 348-361.

Dai, J., and Mumper, R.J. (2010). "Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties." Molecules **15**: 7313-7352.

Daniel, N. N. and S. J. Korsmeyer (2004). "Cell death: critical control points." Cell **116**(2): 205-219.

Das, S. and D. K. Das (2007). "Resveratrol: a therapeutic promise for cardiovascular diseases." Recent Pat Cardiovasc Drug Discov **2**(2): 133-138.

David, A. R. and M. R. Zimmerman (2010). "Cancer: an old disease, a new disease or something in between?" Nat Rev Cancer **10**(10): 728-733.

de Gaetano, G., C. Cerletti and F. C. T. P. p. European project (2001). "Wine and cardiovascular disease." Nutr Metab Cardiovasc Dis **11**(4 Suppl): 47-50.

de Gaetano, G., A. De Curtis, A. di Castelnuovo, M. B. Donati, L. Iacoviello and S. Rotondo (2002). "Antithrombotic effect of polyphenols in experimental models: a mechanism of reduced vascular risk by moderate wine consumption." Ann N Y Acad Sci **957**: 174-188.

DeBerardinis (2012). "Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us?" Cell **148**: 1132-1144.

Deeley, R. G. and S. P. Cole (1997). "Function, evolution and structure of multidrug resistance protein (MRP)." Semin Cancer Biol **8**(3): 193-204.

Delmas, D., A. Lancon, C. Didier, B. Jannin and N. JLatruffe (2006). "Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer." Curr Cancer Drug Targets **7**(4): 432-442.

Delmas, D., E. Solary and N. Latruffe (2011). "Resveratrol, a phytochemical inducer of multiple cell death pathways: apoptosis, autophagy and mitotic catastrophe." Curr Med Chem **18**(8): 1100-1121.

Der, C. J., T. G. Krontiris and G. M. Cooper (1982). "Transforming genes of human bladder and lung carcinoma cell lines are homologous to the ras genes of Harvey and Kirsten sarcoma viruses." Proc Natl Acad Sci U S A **79**(11): 3637-3640.

Dercks, W. (1989). "The significance of stilbene phytoalexins in the plasmopara viticola-grapevine interaction." Physiol. Plant Pathol **34**: 189-202.

Dienstmann, R. (2011). "BRAF as a target for cancer therapy." Anticancer Agents Med Chem.

Dietrich, J., R. Han, Y. Yang, M. Mayer-Proschel and M. Noble (2006). "CNS progenitor cells and oligodendrocytes are targets of chemotherapeutic agents in vitro and in vivo." J Biol **5**(7): 22.

Do Amaral, C. L., H. D. Francescato, T. M. Coimbra, R. S. Costa, J. D. Darin, L. M. Antunes and L. Bianchi Mde (2008). "Resveratrol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats." Archives of toxicology **82**: 363-370.

Dreher, D. and A. F. Junod (1996). "Role of oxygen free radicals in cancer development." Eur J Cancer **32A**(1): 30-38.

Dwyer, J. (1996). "Dietary Phytochemicals in Cancer Prevention and treatment." Adv. Experim. Med. Biol. **401**: 192-193.

Elbling, L., R. M. Weiss, O. Teufelhofer, M. Uhl, S. Knasmueller, R. Schulte-Hermann, W. Berger and M. Micksche (2005). "Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities." FASEB J **19**(7): 807-809.

Eljaszewicz, A., M. Wiese, A. Helmin-Basa, M. Jankowski, L. Gackowska, I. Kubiszewska, W. Kaszewski, J. Michalkiewicz and W. Zegarski (2013). "Collaborating with the enemy: function of macrophages in the development of neoplastic disease." Mediators Inflamm **2013**: 831387.

Elkholi, R. (2011). "The role of BH3-Only proteins in tumor cell development, signalling, and treatment." Genes & Cancer **2**.

Emmett, M. S., D. Dewing and R. O. Pritchard-Jones (2011). "Angiogenesis and melanoma - from basic science to clinical trials." Am J Cancer Res **1**(7): 852-868.

Endicott, J. A. and V. Ling (1989). "The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance." Annu Rev Biochem **58**: 137-171.

Espin, J. C. (2000). "Study of the resveratrol catalized by polyphenol oxidase. Effect of polyphenol oxidase, lacasse and peroxidase on the antiradical capacity of resveratrol." J .Biochem **24**(225-250).

Estrov, Z., S. Shishodia, S. Faderl, D. Harris, Q. Van, H. M. Kantarjian, M. Talpaz and B. B. Aggarwal (2003). "Resveratrol blocks interleukin-1beta-induced activation of the nuclear transcription factor NF-kappaB, inhibits proliferation, causes S-phase arrest, and induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells." Blood **102**(3): 987-995.

Faivre, S., D. Chan, R. Salinas, B. Woynarowska and J. M. Woynarowski (2003). "DNA strand breaks and apoptosis induced by oxaliplatin in cancer cells." Biochem Pharmacol **66**(2): 225-237.

- Favaloro, B., N. Allocati, V. Graziano, C. Di Ilio and V. De Laurenzi (2012). "Role of apoptosis in disease." Aging (Albany NY) **4**(5): 330-349.
- Ferrara, N., H. P. Gerber and J. LeCouter (2003). "The biology of VEGF and its receptors." Nat Med **9**(6): 669-676.
- Fischel, J. L., P. Formento, J. Ciccolini, P. Rostagno, M. C. Etienne, J. Catalin and G. Milano (2002). "Impact of the oxaliplatin-5 fluorouracil-folinic acid combination on respective intracellular determinants of drug activity." Br J Cancer **86**(7): 1162-1168.
- Fontecave, M., M. Lepoivre, E. Elleingand, C. Gerez and O. Guittet (1998). "Resveratrol, a remarkable inhibitor of ribonucleotide reductase." FEBS Lett **421**(3): 277-279.
- Fresco, P., F. Borges, C. Diniz and M. P. Marques (2006). "New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols." Med Res Rev **26**(6): 747-766.
- Fulda, S. and K. M. Debatin (2005). "Resveratrol-mediated sensitisation to TRAIL-induced apoptosis depends on death receptor and mitochondrial signalling." Eur J Cancer **41**(5): 786-798.
- Fulda, S. and K. M. Debatin (2006). "Resveratrol modulation of signal transduction in apoptosis and cell survival: a mini-review." Cancer Detect Prev **30**(3): 217-223.
- Fulop, T., A. Larbi, R. Kotb, F. de Angelis and G. Pawelec (2011). "Aging, immunity, and cancer." Discov Med **11**(61): 537-550.
- Garrido, C., L. Galluzzi, M. Brunet, P. E. Puig, C. Didelot and G. Kroemer (2006). "Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria." Cell Death Differ **13**(9): 1423-1433.
- Gatouillat, G., E. Balasse, D. Joseph-Pietras, H. Morjani and C. Madoulet (2010). "Resveratrol induces cell-cycle disruption and apoptosis in chemoresistant B16 melanoma." J Cell Biochem **110**(4): 893-902.
- Gelasco, A. and S. J. Lippard (1999). "Anticancer activity of cisplatin and related compounds." Top Biol Inorg Chem **1**: 1-43.
- Genética, C. (2014). Protooncogenes y genes supresores de tumores.
- Goad, K. E. and H. R. Gralnick (1996). "Coagulation disorders in cancer." Hematol Oncol Clin North Am **10**(2): 457-484.
- Goel, A. and B. B. Aggarwal (2010). "Curcumin, the golden spice from Indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs." Nutrition and cancer **62**(919-930).
- Goh, A. M., C. R. Coffill and D. P. Lane (2011). "The role of mutant p53 in human cancer." J Pathol **223**(2): 116-126.
- Gokbulut, A. A., E. Apohan and Y. Baran (2013). "Resveratrol and quercetin-induced apoptosis of human 232B4 chronic lymphocytic leukemia cells by activation of caspase-3 and cell cycle arrest." Hematology **18**(3): 144-150.
- González, G., C. González, D. Espinosa and C. Rojas (2007). "Sobre expresión de genes de las enzimas de la vía glicolítica en células cancerígenas " Acta Médica Peruana.

- Gonzalez, V. M., M. A. Fuertes, C. Alonso and J. M. Perez (2001). "Is cisplatin-induced cell death always produced by apoptosis? ." Mol Pharmacol **59**: 657-663.
- González-Gallego, J. (2010). "Fruit polyphenols, immunity and inflammation." Br J Nutr **104**: 15-27.
- Gordon, G. M. and W. Du (2011). "Conserved RB functions in development and tumor suppression." Protein Cell **2**(11): 864-878.
- Govender, D. and R. Chetty (2012). "Gene of the month: BRAF." J Clin Pathol **65**(11): 986-988.
- Grana, X. (1995). "Cell cycle control in mammalian cells: role of cyclins, cyclin dependent kinases (CDK's), growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors (CKI's)." Oncogene.
- Granado, F., S. Blazquez and B. Olmedilla (2007). "Changes in carotenoid intake from fruit and vegetables in the Spanish population over the period 1964-2004." Public Health Nutr **10**(10): 1018-1023.
- Green, D. R. and J. C. Reed (1998). "Mitochondria and apoptosis." Science **281**(5381): 1309-1312.
- Greider, C. W. and E. H. Blackburn (1989). "A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis." Nature **337**(6205): 331-337.
- Groth, S., H. Nielsen, J. B. Sorensen, A. B. Christensen, A. G. Pedersen and M. Rorth (1986). "Acute and long-term nephrotoxicity of cis-platinum in man." Cancer Chemother Pharmacol **17**(2): 191-196.
- Guo, W. and F. G. Giancotti (2004). "Integrin signalling during tumour progression." Nat Rev Mol Cell Biol **5**(10): 816-826.
- Gupta, S. C. (2010). "Inhibiting NF-kappaB activation by small molecules as a therapeutic strategy." Biochim. Biophys. Acta.
- Gupta, S. C., R. Kannappan, S. Reuter, J. H. Kim and B. B. Aggarwal (2011). "Chemosensitization of tumors by resveratrol." Ann N Y Acad Sci **1215**: 150-160.
- Hahn, W. C., C. M. Counter, A. S. Lundberg, R. L. Beijersbergen, M. W. Brooks and R. A. Weinberg (1999). "Creation of human tumour cells with defined genetic elements." Nature **400**(6743): 464-468.
- Halazonetis, T. D., V. G. Gorgoulis and J. Bartek (2008). "An oncogene-induced DNA damage model for cancer development." Science **319**(5868): 1352-1355.
- Halperin, E. C. (2004). "Paleo-oncology: the role of ancient remains in the study of cancer." Perspect Biol Med **47**(1): 1-14.
- Hanahan, D. and R. A. Weinberg (2000). "The hallmarks of cancer." Cell **100**(1): 57-70.
- Hanahan, D. and R. A. Weinberg (2011). "Hallmarks of cancer: the next generation." Cell **144**(5): 646-674.
- Harris, A. L. (2002). "Hypoxia-a key regulatory factor in tumor growth." Nat Rev Cancer **2**: 38-47.
- Hayden, M. S. and S. Ghosh (2004). "Signaling to NF-kappaB." Genes Dev **18**(18): 2195-2224.
- Hayflick, L. and P. S. Moorhead (1961). "The serial cultivation of human diploid cell strains." Exp Cell Res **25**: 585-621.

- Hecht, S. S. (1999). "Chemoprevention of cancer by isothiocyanates, modifiers of carcinogen metabolism." J Nutr **129**(3): 768S-774S.
- Hendler, S. S. (2001). "Alpha-lipoic acid." PDR for Nutritional Supplements.
- Heng, H. H., S. W. Bremer, J. Stevens, K. J. Ye, F. Miller, G. Liu and C. J. Ye (2006). "Cancer progression by non-clonal chromosome aberrations." J Cell Biochem **98**(6): 1424-1435.
- Hengartner, M. O. (2000). "The biochemistry of apoptosis." Nature **407**(6805): 770-776.
- Hiles, I. D., M. Otsu, S. Volinia, M. J. Fry, I. Gout, R. Dhand, G. Panayotou, F. Ruiz-Larrea, A. Thompson, N. F. Totty and et al. (1992). "Phosphatidylinositol 3-kinase: structure and expression of the 110 kd catalytic subunit." Cell **70**(3): 419-429.
- Hoadley, K. A. (2014). "Multiplatform analysis of 12 cancer types reveals molecular classification within and across tissues of origin." Cell.
- Holst, B. and G. Williamson (2008). "Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants." Curr Opin Biotechnol **19**(2): 73-82.
- Holzel, M., A. Bovier and T. Tuting (2013). "Plasticity of tumour and immune cells: a source of heterogeneity and a cause for therapy resistance?" Nat Rev Cancer **13**(5): 365-376.
- Hoos, G. (1990). "Influence of resveratrol on germination of conidia and mycelial growth of *Botrytis cinerea* and *Phomopsis viticola*." J. Phytopathol. **129**: 102-110.
- Hou, Z., J. D. Lambert, K. V. Chin and C. S. Yang (2004). "Effects of tea polyphenols on signal transduction pathways related to cancer chemoprevention." Mutat Res **555**(1-2): 3-19.
- Howitz, K. T., K. J. Bitterman, H. Y. Cohen, D. W. Lamming, S. Lavu, J. G. Wood, R. E. Zipkin, P. Chung, A. Kisielewski, L. L. Zhang, B. Scherer and D. A. Sinclair (2003). "Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan." Nature **425**(6954): 191-196.
- Hsieh, T. C., G. Juan, Z. Darzynkiewicz and J. M. Wu (1999). "Resveratrol increases nitric oxide synthase, induces accumulation of p53 and p21(WAF1/CIP1), and suppresses cultured bovine pulmonary artery endothelial cell proliferation by perturbing progression through S and G2." Cancer Res **59**(11): 2596-2601.
- Huang, C., W. Y. Ma, A. Goranson and Z. Dong (1999). "Resveratrol suppresses cell transformation and induces apoptosis through a p53-dependent pathway." Carcinogenesis **20**(2): 237-242.
- Hussain, T., Gupta, S., Adhami, V. M., and Mukhtar, H. (2005). "Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate selectively inhibits COX-2 without affecting COX-1 expression in human prostate carcinoma cells." International Journal of cancer **113**: 660-669.
- Igney, F. H. and P. H. Krammer (2002). "Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis." Nat Rev Cancer **2**(4): 277-288.
- Im, G. J., J. W. Chang, J. Choi, S. W. Chae, E. J. Ko and H. H. Jung (2010). "Protective effect of Korean red ginseng extract on cisplatin ototoxicity in HEI-OC1 auditory cells." Phytother Res **24**(4): 614-621.
- Ishikawa, T. and F. Ali-Osman (1993). "Glutathione-Associated Cis-Diammine-Dichloroplatinum (II) Metabolism And ATP-Dependent Efflux From Leukemia Cells." J Biol Chem **268**: 20116-20125.

Izquierdo, M. A., A. G. van der Zee, J. B. Vermorken, P. van der Valk, J. A. Belien, G. Giaccone, G. L. Scheffer, M. J. Flens, H. M. Pinedo, P. Kenemans and et al. (1995). "Drug resistance-associated marker Lrp for prediction of response to chemotherapy and prognoses in advanced ovarian carcinoma." J Natl Cancer Inst **87**(16): 1230-1237.

Jakob, J. A. (2011). "Clinical characteristics and outcomes associated with BRAF and NRAS mutations in metastatic melanoma." ASCO Annual Meeting.

Jakob, J. A. (2011). "NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma." Cancer.

James, S. E., H. Burden and Burgers (2008). "Anti-cancer drug induced neurotoxicity and identification of Rho pathway signaling

modulators as potential neuroprotectants." Neurotoxicology **29**(4): 605-612.

Jancik, S., J. Drabek, D. Radzioch and M. Hajduch (2010). "Clinical relevance of KRAS in human cancers." J Biomed Biotechnol **2010**: 150960.

Janeway, C. A. J. (1994). "The immune system in health and disease." Immunobiology.

Jang, D. S., B. S. Kang, S. Y. Ryu, I. M. Chang, K. R. Min and Y. Kim (1999). "Inhibitory effects of resveratrol analogs on unopsonized zymosan-induced oxygen radical production." Biochem Pharmacol **57**(6): 705-712.

Jang, M. (1997). "Cancer chemo preventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes." Science **275**: 218-220.

Jang, M. and J. M. Pezzuto (1999). "Cancer chemopreventive activity of resveratrol." Drugs Exp Clin Res **25**(2-3): 65-77.

Jiang, B. H. and L. Z. Liu (2009). "PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis." Adv Cancer Res **102**: 19-65.

Jimenez, C., D. R. Jones, P. Rodriguez-Viciano, A. Gonzalez-Garcia, E. Leonardo, S. Wennstrom, C. von Kobbe, J. L. Toran, R. B. L, V. Calvo, S. G. Copin, J. P. Albar, M. L. Gaspar, E. Diez, M. A. Marcos, J. Downward, A. C. Martinez, I. Merida and A. C. Carrera (1998). "Identification and characterization of a new oncogene derived from the regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase." EMBO J **17**(3): 743-753.

Johnson, D. G., W. D. Cress, L. Jakoi and J. R. Nevins (1994). "Oncogenic capacity of the E2F1 gene." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(26): 12823-12827.

Kawai, Y. (2011). "Immunochemical detection of food-derived polyphenols in the aorta: macrophages as a major target underlying the anti-atherosclerotic activity of polyphenols." Biosci Biotechnol Biochem **75**: 609-617.

Keane, M. M., S. A. Ettenberg, M. M. Nau, E. K. Russell and S. Lipkowitz (1999). "Chemotherapy augments TRAIL-induced apoptosis in breast cell lines." Cancer Res **59**(3): 734-741.

Keifer, J. A., D. C. Guttridge, B. P. Ashburner and A. S. Baldwin Jr (2001). "Inhibition of NF-kappa B activity by thalidomide through suppression of IkappaB kinase activity." J Biol Chem **276**: 22382-22387.

Kerbel, R. and J. Folkman (2002). "Clinical translation of angiogenesis inhibitors." Nat Rev Cancer **2**(10): 727-739.

Kim Sh, S. H., P. Kaminker and J. Campisi (2002). "Telomeres, aging and cancer: in search of a happy ending." Oncogene **21**(4): 503-511.

Klein, C. A., T. J. Blankenstein, O. Schmidt-Kittler, M. Petronio, B. Polzer, N. H. Stoecklein and G. Riethmuller (2002). "Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer." Lancet **360**(9334): 683-689.

Knudson, A. G., Jr. (1971). "Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma." Proc Natl Acad Sci U S A **68**(4): 820-823.

Konijeti, R. (2011). "Chemoprevention of prostate cancer with lycopene in the tramp model." Prostate **70**: 1547-1554.

Koutras, A. K., T. Makatsoris, F. Paliogianni, G. Kopsida, A. Onyenadum, C. A. Gogos, A. Mouzaki and H. P. Kalofonos (2004). "Oxaliplatin-induced acute-onset thrombocytopenia, hemorrhage and hemolysis." Oncology **67**(2): 179-182.

Kubota, T., Y. Uemura, M. Kobayashi and H. Taguchi (2003). "Combined effects of resveratrol and paclitaxel on lung cancer cells." Anticancer Res **23**(5A): 4039-4046.

Kumar, B., S. A. Chile, K. B. Ray, G. E. Reddy, M. K. Addepalli, A. S. Kumar, V. Ramana and V. Rajagopal (2011). "VEGF-C differentially regulates VEGF-A expression in ocular and cancer cells; promotes angiogenesis via RhoA mediated pathway." Angiogenesis **14**(3): 371-380.

Kumazaki, M. and e. al. (2013). "Anti-cancer effects of naturally occurring compounds through modulation of signal transduction and miRNA expression in human colon cancer cells." J. Nutr Biochem **24**(11): 1849-1858.

Kweon, S. H., J. H. Song and T. S. Kim (2010). "Resveratrol-mediated reversal of doxorubicin resistance in acute myeloid leukemia cells via downregulation of MRP1 expression." Biochem Biophys Res Commun **395**(1): 104-110.

Lambert, J. D., J. Hong, G. Y. Yang, J. Liao and C. S. Yang (2005). "Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations." Am J Clin Nutr **81**(1 Suppl): 284S-291S.

Lanz, T., S. Tropf, F. J. Marnett, J. Schroder and G. Schroder (1991). "The role of cysteines in polyketide synthases. Site-directed mutagenesis of resveratrol and chalcone synthases, two key enzymes in different plant-specific pathways." J Biol Chem **266**(15): 9971-9976.

Larsen, W. J. (1993). "Human embryology England." Cruchil Levingstone: 167-204.

Lee, J. E., T. Nakagawa, T. S. Kim, T. Endo, A. Shiga, F. Iguchi, S. H. Lee and J. Ito (2004). "Role of reactive radicals in degeneration of the auditory system of mice following cisplatin treatment." Acta Otolaryngol **124**(10): 1131-1135.

Lee, J. S. (1997). "Reduced drug accumulation and multidrug resistance in human breast cancer cells without associated P-glycoprotein or MRP overexpression." J. Cell. Biochem. **65**: 513-526.

Lee, S. H., H. S. Kim, Y. S. An, J. Chang, J. Choi and G. J. Im (2015). "Protective effect of resveratrol against cisplatin-induced ototoxicity in HEI-OC1 auditory cells." Int J Pediatr Otorhinolaryngol **79**(1): 58-62.

- Lee, S. H., B. S. Koo, S. Y. Park and Y. M. Kim (2015). "Anti-angiogenic effects of resveratrol in combination with 5-fluorouracil on B16 murine melanoma cells." Mol Med Rep **12**(2): 2777-2783.
- Lee, S. K., Z. H. Mbwambo, H. Chung, L. Luyengi, E. J. Gamez, R. G. Mehta, A. D. Kinghorn and J. M. Pezzuto (1998). "Evaluation of the antioxidant potential of natural products." Comb Chem High Throughput Screen **1**(1): 35-46.
- Leiter, U., F. Meier, B. Schittek and C. Garbe (2004). "The natural course of cutaneous melanoma." J Surg Oncol **86**(4): 172-178.
- Levidou, G., A. A. Saetta, F. Gigelou, M. Karlou, P. Papanastasiou, A. Stamatelli, N. Kavantzias, N. V. Michalopoulos, G. Agrogiannis, E. Patsouris and P. Korkolopoulou (2012). "ERK/pERK expression and B-raf mutations in colon adenocarcinomas: correlation with clinicopathological characteristics." World J Surg Oncol **10**: 47.
- Lewin, B. (1997). "Oncogenes and cancer." Gene VI, Oxford University.
- Liang, Y. C., S. H. Tsai, L. Chen, S. Y. Lin-Shiau and J. K. Lin (2003). "Resveratrol-induced G2 arrest through the inhibition of CDK7 and p34CDC2 kinases in colon carcinoma HT29 cells." Biochem Pharmacol **65**(7): 1053-1060.
- Linder, N., J. Rapola and K. O. Raivio (1999). "Cellular expression of xanthine oxidoreductase protein in normal human tissues." Lab Invest **79**(8): 967-974.
- Lingner, J., T. R. Hughes, A. Shevchenko, M. Mann, V. Lundblad and T. R. Cech (1997). "Reverse transcriptase motifs in the catalytic subunit of telomerase." Science **276**(5312): 561-567.
- Lis, C. G. (2012). "Role of nutritional status in predicting quality of life outcomes in cancer a systematic review of the epidemiological literatura." Nutr J: 11-27.
- Liu, J., Y. Liu, S. S. Habeebu and C. D. Klaassen (1998). "Metallothionein (MT)-null mice are sensitive to cisplatin-induced hepatotoxicity." Toxicol Appl Pharmacol **149**(1): 24-31.
- Longley, D. B., D. P. Harkin and P. G. Johnston (2003). "5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies." Nat Rev Cancer **3**(5): 330-338.
- Lopez-Otin, C. and L. M. Matrisian (2007). "Emerging roles of proteases in tumour suppression." Nat Rev Cancer **7**(10): 800-808.
- Lukashev, M. E. and Z. Werb (1998). "ECM signalling: orchestrating cell behaviour and misbehaviour." Trends Cell Biol **8**(11): 437-441.
- Maha, M. and A. Mohamed "THE NEUROPROTECTIVE EFFECT OF RESVERATROL ON CISPLATIN-INDUCED COGNITIVE DYSFUNCTION  
." ijbonline.com.
- Makrodouli, E., E. Oikonomou, M. Koc, L. Andera, T. Sasazuki, S. Shirasawa and A. Pintzas (2011). "BRAF and RAS oncogenes regulate Rho GTPase pathways to mediate migration and invasion properties in human colon cancer cells: a comparative study." Mol Cancer **10**: 118.
- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy and L. Jimenez (2004). "Polyphenols: food sources and bioavailability." Am J Clin Nutr **79**(5): 727-747.

Marsters, S. A., R. A. Pitti, J. P. Sheridan and A. Ashkenazi (1999). "Control of apoptosis signaling by Apo2 ligand." Recent Prog Horm Res **54**: 225-234.

Martín, A. R. (2004). "Resveratrol, a polyphenol found in grapes, suppresses oxidative damage and stimulates apoptosis during early colonic inflammation in rats." Biochemical Pharmacology **67**(1399-1410).

Martin-Rivera, L., E. Herrera, J. P. Albar and M. A. Blasco (1998). "Expression of mouse telomerase catalytic subunit in embryos and adult tissues." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(18): 10471-10476.

Martinez, J. and J. J. Moreno (2000). "Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production." Biochem Pharmacol **59**(7): 865-870.

Martinez, M. E., J. R. Marshall and E. Giovannucci (2008). "Diet and cancer prevention: the roles of observation and experimentation." Nat Rev Cancer **8**(9): 694-703.

Martinez, P. and M. A. Blasco (2011). "Telomeric and extra-telomeric roles for telomerase and the telomere-binding proteins." Nat Rev Cancer **11**(3): 161-176.

Mayor, R. (2010). "Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante."  
." Rev Inst med Trop **5**: 23-29.

McKenney, J. (2009). "Making informed choices: assesing efficacy and cost-benefit of therapeutic options for the management of mixed dyslipidemia." J manag care Pharm **15**: 8-13.

McManaman, J. L. and D. L. Bain (2002). "Structural and conformational analysis of the oxidase to dehydrogenase conversion of xanthine oxidoreductase." J Biol Chem **277**(24): 21261-21268.

Michaloglou, C., L. C. Vredeveld, M. S. Soengas, C. Denoyelle, T. Kuilman, C. M. van der Horst, D. M. Majoor, J. W. Shay, W. J. Mooi and D. S. Peeper (2005). "BRAFE600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi." Nature **436**(7051): 720-724.

Micozzi, M. S. (1991). "Disease in antiquity. The case of cancer." Arch Pathol Lab Med **115**(8): 838-844.

Minsal (2011). "Situación actual de la Salud del Hombre en Chile." Subsecretaría de Salud Pública: 25-32.

Minsal. (2012). from <http://www.minsal.cl>.

Munday, R. and C. M. Munday (2002). "Selective induction of phase II enzymes in the urinary bladder of rats by allyl isothiocyanate, a compound derived from Brassica vegetables." Nutr Cancer **44**(1): 52-59.

Murphy, M. E. (2013). "The HSP70 family and cancer." Carcinogenesis **34**(6): 1181-1188.

Naasani, I., F. Oh-Hashi, T. Oh.Hara, W. Y. Feng, J. Johnston, K. Chan and T. Tsuruo (2003). "Blocking telomerase by dietary polyphenols is a major mechanism for limiting the growth of human cancer cells in vitro and in vivo." Cancer Res **63**: 824-830.

Nabekura, T., S. Kamiyama and S. Kitagawa (2005). "Effects of dietary chemopreventive phytochemicals on P-glycoprotein function." Biochem Biophys Res Commun **327**(3): 866-870.

- Nabetani, A. (2011). "Alternative lengthening of telomeres pathway: recombination-mediated telomere maintenance mechanism in human cells." J. Biochem **149**.
- Nagata, S. (1997). "Apoptosis by death factor." Cell **88**(3): 355-365.
- Nessa, M. U., P. Beale, C. Chan, J. Q. Yu and F. Huq (2011). "Synergism from combinations of cisplatin and oxaliplatin with quercetin and thymoquinone in human ovarian tumour models." Anticancer Res **31**(11): 3789-3797.
- Nessa, M. U., P. Beale, C. Chan, J. Q. Yu and F. Huq (2012). "Combinations of resveratrol, cisplatin and oxaliplatin applied to human ovarian cancer cells." Anticancer Res **32**(1): 53-59.
- Neuhouser, M. L. (2004). "Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies." Nutr Cancer **50**(1): 1-7.
- Neumann, J., E. Zeindl-Eberhart, T. Kirchner and A. Jung (2009). "Frequency and type of KRAS mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer." Pathol Res Pract **205**(12): 858-862.
- Nicolson, G. L., K. M. Dulski and J. E. Trosko (1988). "Loss of intercellular junctional communication correlates with metastatic potential in mammary adenocarcinoma cells." Proc Natl Acad Sci U S A **85**(2): 473-476.
- Nishio, K., T. Nakamura, Y. Koh, T. Suzuki, H. Fukumoto and N. Saijo (1999). "Drug resistance in lung cancer." Curr Opin Oncol **11**(2): 109-115.
- Nowell, P. C. (1976). "The clonal evolution of tumor cell populations." Science **194**(4260): 23-28.
- O`Sullivan, L. (2007). "Comparison of the uptake and secretion of carotene and xanthophyll carotenoids by Caco-2 intestinal cells." Br J Nutr **98**(1): 38-44.
- Olas, B. and B. Wachowicz (2004). "Resveratrol reduces oxidative stress induced by platinum compounds in blood platelets." Gen Physiol Biophys **23**(3): 315-326.
- Olas, B., B. Wachowicz and A. Buczynski (2000). "Vitamin C suppresses the cisplatin toxicity on blood platelets." Anticancer Drugs **11**(6): 487-493.
- Organización mundial de la salud, O. M. S. (2005). "Informe de la Secretaria OMS, 58ª Asamblea Mundial de la Salud."
- Organización mundial de la salud, O. M. S. (2015). "Organización mundial de la salud." from <http://www.oms.com>.
- Osbourn, A. E. (1999). "Antimicrobial phytoprotectants and fungal pathogens: a commentary." Fungal Genet Biol **26**(3): 163-168.
- Osman, A. M., S. E. Al-Harthy, O. M. AlArabi, M. F. Elshal, W. S. Ramadan, M. N. Alaama, H. M. Al-Kreathy, Z. A. Damanhoury and O. H. Osman (2013). "Chemosensitizing and cardioprotective effects of resveratrol in doxorubicin- treated animals." Cancer Cell Int **13**: 52.
- Osman, A. M., S. A. Telity, Z. A. Damanhoury, S. E. Al-Harthy, H. M. Al-Kreathy, W. S. Ramadan, M. F. Elshal, L. M. Khan and F. Kamel (2015). "Chemosensitizing and nephroprotective effect of resveratrol in cisplatin -treated animals." Cancer Cell Int **15**: 6.

Pages, F. (2010). "Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored." Oncogene **29**: 1093-1102.

Pandey, K. B. and S. I. Rizvi (2009). "Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease." Oxidative medicine and cellular longevity **2**: 270-278.

Pappou, E. P. and N. Ahuja (2010). "The role of oncogenes in gastrointestinal cancer." Gastrointest Cancer Res(Suppl 1): S2-S15.

Park, E. M., N. Ramnath, G. Y. Yang, J. Y. Ahn, Y. Park, T. Y. Lee, H. S. Shin, J. Yu, C. Ip and Y. M. Park (2007). "High superoxide dismutase and low glutathione peroxidase activities in red blood cells predict susceptibility of lung cancer patients to radiation pneumonitis." Free Radic Biol Med **42**(2): 280-287.

Perl, A. K., P. Wilgenbus, U. Dahl, H. Semb and G. Christofori (1998). "A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma." Nature **392**(6672): 190-193.

Petros, A. M., E. T. Olejniczak and S. W. Fesik (2004). "Structural biology of the Bcl-2 family of proteins." Biochim Biophys Acta **1644**(2-3): 83-94.

Pieck, A. C., A. Drescher, K. G. Wiesmann, J. Messerschmidt, G. Weber, D. Strumberg, R. A. Hilger, M. E. Scheulen and U. Jaehde (2008). "Oxaliplatin-DNA adduct formation in white blood cells of cancer patients." Br J Cancer **98**(12): 1959-1965.

Pignatelli, P., F. M. Pulcinelli, L. Lenti, P. P. Gazzaniga and F. Violi (1998). "Hydrogen peroxide is involved in collagen-induced platelet activation." Blood **91**(2): 484-490.

Plasencia, C., M. Taron, A. Abad and A. Barnadas (2000). Genes de quimiorresistencia

.

Pollak, M. (2012). "The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update." Nat Rev Cancer **12**(3): 159-169.

Psahoulia, F. H., K. G. Drosopoulos, L. Doubravska, L. Andera and A. Pintzas (2007). "Quercetin enhances TRAIL-mediated apoptosis in colon cancer cells by inducing the accumulation of death receptors in lipid rafts." Mol Cancer Ther **6**(9): 2591-2599.

Publishing, T.-C. (2010). "Molecular Genetics of cancer " **2**.

Pugh, C. W. and P. J. Ratcliffe (2003). "Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system." Nat Med **9**(6): 677-684.

Pulciani, S., E. Santos, A. V. Lauver, L. K. Long, K. C. Robbins and M. Barbacid (1982). "Oncogenes in human tumor cell lines: molecular cloning of a transforming gene from human bladder carcinoma cells." Proc Natl Acad Sci U S A **79**(9): 2845-2849.

Pylayeva-Gupta, Y., E. Grabocka and D. Bar-Sagi (2011). "RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web." Nat Rev Cancer **11**(11): 761-774.

Qian, B. Z. and J. W. Pollard (2010). "Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis." Cell **141**(1): 39-51.

Quan, F., C. Pan, Q. Ma, S. Zhang and L. Yan (2008). "Reversal effect of resveratrol on multidrug resistance in KBv200 cell line." Biomed Pharmacother **62**(9): 622-629.

- Rabbits, T. H. (1994). "Chromosomal translocations in human cancer." Nature.
- Rajagopalan, H., A. Bardelli, C. Lengauer, K. W. Kinzler, B. Vogelstein and V. E. Velculescu (2002). "Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status." Nature **418**(6901): 934.
- Rao, R. V., H. M. Ellerby and D. E. Bredesen (2004). "Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program." Cell Death Differ **11**(4): 372-380.
- Raynaud, C. M., J. Hernandez, F. P. Llorca, P. Nuciforo, M. C. Mathieu, F. Commo, S. Delalogue, L. Sabatier, F. Andre and J. C. Soria (2010). "DNA damage repair and telomere length in normal breast, preneoplastic lesions, and invasive cancer." Am J Clin Oncol **33**(4): 341-345.
- Reddy, L., B. Odhav and K. D. Bhoola (2003). "Natural products for cancer prevention: a global perspective." Pharmacol Ther **99**(1): 1-13.
- Ren, J., J. Hamada, N. Takeichi, S. Fujikawa and H. Kobayashi (1990). "Itrastructural differences in junctional intercellular communication between highly and weakly metastatic clones derived from rat mammary carcinoma,." Cancer Res **50**: 358-362.
- Renaud, S. and M. de Lorgeril (1992). "Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease." Lancet **339**(8808): 1523-1526.
- Renaud, S. and R. Gueguen (1998). "The French paradox and wine drinking." Novartis Found Symp **216**: 208-217; discussion 217-222, 152-208.
- Rennie J, R. R. (1996). "What you need to know about cancer " Sci Am
- Rhyu, M. S. (1995). "Telomeres, telomerase, and immortality." J Natl Cancer Inst **87**(12): 884-894.
- Riviere, C., A. D. Pawlus and J. M. Merillon (2012). "Natural stilbenoids: distribution in the plant kingdom and chemotaxonomic interest in Vitaceae." Nat Prod Rep **29**(11): 1317-1333.
- Roa, J. C., I. Roa, A. Melo, J. C. Araya, M. A. Villaseca, M. Flores and B. Schneider (2000). "[p53 gene mutation in cancer of the colon and rectum]." Rev Med Chil **128**(9): 996-1004.
- Roberts, D. L., C. Dive and A. G. Renehan (2010). "Biological mechanisms linking obesity and cancer risk: new perspectives." Annu Rev Med **61**: 301-316.
- Rodriguez, M. S., J. M. Desterro, S. Lain, D. P. Lane and R. T. Hay (2000). "Multiple C-terminal lysine residues target p53 for ubiquitin-proteasome-mediated degradation." Mol Cell Biol **20**(22): 8458-8467.
- Rogosnitzky, M. and R. Danks (2010). "Validation of blood testing for K-ras mutations in colorectal and pancreatic cancer." Anticancer Res **30**(7): 2943-2947.
- Rubin, H. (2011). "The early history of tumor virology: Rous, RIF, and RAV." Proc Natl Acad Sci U S A **108**(35): 14389-14396.
- Ruiter, R., L. E. Visser, C. M. Van Duijn and B. H. Stricker (2011). "The ACE insertion/deletion polymorphism and risk of cancer, a review and meta-analysis of the literature." Curr Cancer Drug Targets **11**(4): 421-430.
- Rybak, L. P. (2007). "Mechanisms of cisplatin ototoxicity and progress in otoprotection." Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg **15**(5): 364-369.

Rybak, L. P. and T. Kelly (2003). "Ototoxicity: bioprotective mechanisms." Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg **11**(5): 328-333.

Sadik, C. D., H. Sies and T. Schewe (2003). "Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action." Biochem Pharmacol **65**(5): 773-781.

Saiz Rodríguez, A. (2001). "Bases moleculares del cáncer oral." Med Oral

Sanchez, G., O. Delattre, D. Auboeuf and M. Dutertre (2008). "Coupled alteration of transcription and splicing by a single oncogene: boosting the effect on cyclin D1 activity." Cell Cycle **7**(15): 2299-2305.

Santandreu, F. M., A. Valle, J. Oliver and P. Roca (2011). "Resveratrol potentiates the cytotoxic oxidative stress induced by chemotherapy in human colon cancer cells." Cell Physiol Biochem **28**(2): 219-228.

Sarkar, F. H. and Y. Li (2006). "Using chemopreventive agents to enhance the efficacy of cancer therapy." Cancer Res **66**(7): 3347-3350.

Sauer, H. (2001). "Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation." Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology **11**: 173-186.

Saura-Calixto, F. and I. Goni (2009). "Definition of the Mediterranean diet based on bioactive compounds." Crit Rev Food Sci Nutr **49**(2): 145-152.

Scalbert, A., C. Manach, C. Morand, C. Remesy and L. Jimenez (2005). "Dietary polyphenols and the prevention of diseases." Crit Rev Food Sci Nutr **45**(4): 287-306.

Schaefer, S. D., J. D. Post, L. G. Close and C. G. Wright (1985). "Ototoxicity of low- and moderate-dose cisplatin." Cancer **56**(8): 1934-1939.

Schewe, T., C. Sadik, L. O. Klotz, T. Yoshimoto, H. Kuhn and H. Sies (2001). "Polyphenols of cocoa: inhibition of mammalian 15-lipoxygenase." Biol Chem **382**(12): 1687-1696.

Schneeberger, E. E. and R. D. Lynch (2004). "The tight junction: a multifunctional complex." Am J Physiol Cell Physiol **286**(6): C1213-1228.

Schreiber, R. D., L. J. Old and M. J. Smyth (2011). "Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion." Science **331**(6024): 1565-1570.

Schrevel, M., A. Gorter, S. M. Kolkman-Uljee, J. B. Trimbos, G. J. Fleuren and E. S. Jordanova (2011). "Molecular mechanisms of epidermal growth factor receptor overexpression in patients with cervical cancer." Mod Pathol **24**(5): 720-728.

Schubert, R., R. Fischer, R. Hain, P. H. Schreier, G. Bahnweg, D. Ernst and H. Sandermann, Jr. (1997). "An ozone-responsive region of the grapevine resveratrol synthase promoter differs from the basal pathogen-responsive sequence." Plant Mol Biol **34**(3): 417-426.

Schweitzer, V. G., D. F. Dolan, G. E. Abrams, T. Davidson and R. Snyder (1986). "Amelioration of cisplatin-induced ototoxicity by fosfomycin." Laryngoscope **96**(9 Pt 1): 948-958.

Selvaggi, G. (2004). "Epidermal growth factor receptor overexpression correlatos with a poor prognosis in completely resected non-small-cell lung cancer." Ann. Oncol.

Seville, L. L., N. Shah, A. D. Westwell and W. C. Chan (2005). "Modulation of pRB/E2F functions in the regulation of cell cycle and in cancer." Curr Cancer Drug Targets **5**(3): 159-170.

Shakibaei, M., B. B. Harikumar and B. B. Aggarwal (2009). "Resveratrol addiction: to die or not to die." Mol Nutr Food Res **53**: 115-128.

Shankar, S., I. Siddiqui and R. K. Srivastava (2007). "Molecular mechanisms of resveratrol (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbene) and its interaction with TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in androgen-insensitive prostate cancer cells." Mol Cell Biochem **304**(1-2): 273-285.

Shay, J. W. and S. Bacchetti (1997). "A survey of telomerase activity in human cancer." Eur J Cancer **33**(5): 787-791.

She, Q. B., A. M. Bode, W. Y. Ma, N. Y. Chen and Z. Dong (2001). "Resveratrol-induced activation of p53 and apoptosis is mediated by extracellular-signal-regulated protein kinases and p38 kinase." Cancer Res **61**(4): 1604-1610.

Sherr, C. J. (1993). "Mammalian G1 cyclins." Cell **73**(6): 1059-1065.

Shih, C. and R. A. Weinberg (1982). "Isolation of a transforming sequence from a human bladder carcinoma cell line." Cell **29**(1): 161-169.

Sifri, R., S. Gangadharappa and L. S. Acheson (2004). "Identifying and testing for hereditary susceptibility to common cancers." CA Cancer J Clin **54**(6): 309-326.

Sleijfer, D. T., S. Meijer and N. H. Mulder (1985). "Cisplatin: a review of clinical applications and renal toxicity." Pharm Weekbl Sci **7**(6): 237-244.

Smith-Warner, S. A. (1999). "Fruit and vegetable intake and cancer." Nutritional Oncology: 153-193.

Sok, D. E., H. S. Cui and M. R. Kim (2009). "Isolation and bioactivities of furfuran type lignan compounds from edible plants." Recent Pat Food Nutr Agric **1**(1): 87-95.

Solomon, L. A., S. Ali, S. Banerjee, A. R. Munkarah, R. T. Morris and F. H. Sarkar (2008). "Sensitization of ovarian cancer cells to cisplatin by genistein: the role of NF-kappaB." J Ovarian Res **1**(1): 9.

Stahl, W. and H. Sies (2005). "Bioactivity and protective effects of natural carotenoids." Biochim Biophys Acta **1740**(2): 101-107.

Stein, U. (1984). "Induktions und nachweismethoden fur stilbene bei Vitaceen." Vitis **23**: 179-194.

Stewart, G. S. (1999). "The DNA double-strand break repair gene hMRE11 is mutated in individuals with an ataxia-telangiectasia-like disorder." Cell **99**: 577-587.

Suen, D. F., K. L. Norris and R. J. Youle (2008). "Mitochondrial dynamics and apoptosis." Genes Dev **22**(12): 1577-1590.

Sun, Z., F. X. Cunningham, Jr. and E. Gantt (1998). "Differential expression of two isopentenyl pyrophosphate isomerases and enhanced carotenoid accumulation in a unicellular chlorophyte." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(19): 11482-11488.

Takada, Y., A. Bhardwaj, P. Potdar and B. B. Aggarwal (2004). "Nonsteroidal anti-inflammatory agents differ in their ability to suppress NF-kappaB activation, inhibition of expression of cyclooxygenase-2 and cyclin D1, and abrogation of tumor cell proliferation." Oncogene **23**(57): 9247-9258.

Takahashi, K. (2007). "Induction of pluripotent ítem cells from adult human fibroblasts by defined factors." Cell.

Takaoka, M. J. (1940). "The phenolic substances of white hellebore (Veratrum grandiflorum Loes. Fil." Faculty Sci. Hokkaido Imperial University **3**: 1-16.

Takeno, S., R. V. Harrison, D. Ibrahim, M. Wake and R. J. Mount (1994). "Cochlear function after selective inner hair cell degeneration induced by carboplatin." Hear Res **75**(1-2): 93-102.

Tatsuta, M. (1999). "Attenuation by genistein of sodium-chloride-enhanced gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats." Int J Cancer **80**: 396-399.

Thiery, J. P. (2002). "Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression." Nat Rev Cancer **2**(6): 442-454.

Tomás-Barberán, F. A. (2000). "Antioxidant pheno- lic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing." Atta-ur.Rahman ed. Studies in Natural products Chemistry **23**(739-795).

Tome-Carneiro, J., M. Gonzalez, M. Larrosa, M. J. Yanez-Gascon, F. J. Garcia-Almagro, J. A. Ruiz-Ros, F. A. Tomas-Barberan, M. T. Garcia-Conesa and J. C. Espin (2013). "Resveratrol in primary and secondary prevention of cardiovascular disease: a dietary and clinical perspective." Ann N Y Acad Sci **1290**: 37-51.

Trichopoulos, D., F. P. Li and D. J. Hunter (1996). What causes cancer? Sci American. **275**: 50-57.

Trugman, J., H. P. Hogenkamp, R. Roelofs and W. J. Hrushesky (1985). "Cisplatin neurotoxicity: failure to demonstrate vitamin B12 inactivation." Cancer Treat Rep **69**(4): 453-455.

Valentovic, M. A., J. G. Ball, J. M. Brown, M. V. Terneus, E. McQuade, S. Van Meter, H. M. Hedrick, A. A. Roy and T. Williams (2014). "Resveratrol attenuates cisplatin renal cortical cytotoxicity by modifying oxidative stress." Toxicol In Vitro **28**(2): 248-257.

Valenzano, D. R. (2006). "Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a shortlived vertebrate." Curr. Biol. **16**: 296-300.

Valko, M., M. Izakovic, M. Mazur, C. J. Rhodes and J. Telser (2004). "Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence." Mol Cell Biochem **266**(1-2): 37-56.

Van Cruchten, S. and W. Van Den Broeck (2002). "Morphological and biochemical aspects of apoptosis, oncosis and necrosis." Anat Histol Embryol **31**(4): 214-223.

Van Meter, T. E., W. C. Broaddus, D. Cash and H. Fillmore (2006). "Cotreatment with a novel phosphoinositide analogue inhibitor and carmustine enhances chemotherapeutic efficacy by attenuating AKT activity in gliomas." Cancer **107**(10): 2446-2454.

Vastano, B. C., Y. Chen, N. Zhu, C. T. Ho, Z. Zhou and R. T. Rosen (2000). "Isolation and identification of stilbenes in two varieties of Polygonum cuspidatum." J Agric Food Chem **48**(2): 253-256.

Veikkola, T., M. Karkkainen, L. Claesson-Welsh and K. Alitalo (2000). "Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors." Cancer Res **60**(2): 203-212.

Vera Sempere, F. J. (1997). "Sobreexpresión del gen supresor p53 en el cáncer oral." Medicina oral.

- Vidavalur, R., H. Otani, P. K. Singal and N. Maulik (2006). "Significance of wine and resveratrol in cardiovascular disease: French paradox revisited." Exp Clin Cardiol **11**(3): 217-225.
- Vita, D. (1993). "Molecular biology of cancer." Principles and practice of Oncology.
- Vita, M. (2006). "The Myc oncoprotein as a therapeutic target for human cancer." Semin. Cancer Biol.
- Wachowicz, B. and B. Olas (1995). "Changes of platelet cytoskeleton induced by cisplatin in the relation to platelet activation." Biomed Lett **52**: 181-190.
- Wachowicz, B., B. Olas, H. M. Zbikowska and A. Buczynski (2002). "Generation of reactive oxygen species in blood platelets." Platelets **13**(3): 175-182.
- Wake, M., S. Takeno, D. Ibrahim and R. Harrison (1994). "Selective inner hair cell ototoxicity induced by carboplatin." Laryngoscope **104**(4): 488-493.
- Waldron, H. A. (1983). "A brief history of scrotal cancer." Br J Ind Med **40**(4): 390-401.
- Walker, D. R., J. P. Bond, R. E. Tarone, C. C. Harris, W. Makalowski, M. S. Boguski and M. S. Greenblatt (1999). "Evolutionary conservation and somatic mutation hotspot maps of p53: correlation with p53 protein structural and functional features." Oncogene **18**(1): 211-218.
- Wang, E. (1995). "Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress Bcl-2 is involved." Cancer Res **55**.
- Wang, Q., X. Wang, A. Hernandez, M. R. Hellmich, Z. Gatalica and B. M. Evers (2002). "Regulation of TRAIL expression by the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/GSK-3 pathway in human colon cancer cells." J Biol Chem **277**(39): 36602-36610.
- Wang, Z. (2005). "Dealcoholized red wine containing known amounts of resveratrol suppresses atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits without affecting plasma lipid levels." Int. J. Mol. Med **16**: 533-540.
- Watson, J. D. and F. H. Crick (1953). "Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid." Nature **171**(4356): 737-738.
- Wee, S., Z. Jagani, K. X. Xiang, A. Loo, M. Dorsch, Y. M. Yao, W. R. Sellers, C. Lengauer and F. Stegmeier (2009). "PI3K pathway activation mediates resistance to MEK inhibitors in KRAS mutant cancers." Cancer Res **69**(10): 4286-4293.
- Werness, B. A., A. J. Levine and P. M. Howley (1990). "Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53." Science **248**(4951): 76-79.
- Wollin, S. D. and P. J. Jones (2001). "Alcohol, red wine and cardiovascular disease." J Nutr **131**(5): 1401-1404.
- Wong, L. J., P. Dai, J. F. Lu, M. A. Lou, R. Clarke and V. Nazarov (2006). "AIB1 gene amplification and the instability of polyQ encoding sequence in breast cancer cell lines." BMC Cancer **6**: 111.
- Wong, R. S. (2011). "Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment." J Exp Clin Cancer Res **30**: 87.
- Wright, W. E. (1996). "Mechanism of escaping senescence in human diploid cells." Modern Cell Biology Series-Cellular aging and cell death.

Wu, S. L., Z. J. Sun, L. Yu, K. W. Meng, X. L. Qin and C. E. Pan (2004). "Effect of resveratrol and in combination with 5-FU on murine liver cancer." World J Gastroenterol **10**(20): 3048-3052.

Xiao, X., D. Shi and L. Liu (2011). "Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling." PLoS One **6**: e22934.

Yang, C. S., J. M. Landau, M. T. Huang and H. L. Newmark (2001). "Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds." Annu Rev Nutr **21**: 381-406.

Yang, S. Y., S. Y. Tsai, Y. C. Hou and P. D. L. Chao (2012). "Inductive modulation on p-gp and cytochrome 3a by resveratrol, a constituent of grapes." Food Chem **133**(3): 683-688.

Yunis, J. J. and N. Ramsay (1978). "Retinoblastoma and subband deletion of chromosome 13." Am J Dis Child **132**(2): 161-163.

Zafar, S. Y., J. E. Marcello, J. L. Wheeler, K. L. Rowe, M. A. Morse, J. E. Herndon, 2nd and A. P. Abernethy (2010). "Treatment-related toxicity and supportive care in metastatic colorectal cancer." J Support Oncol **8**(1): 15-20.

Zelent, A., F. Guidez, A. Melnick, S. Waxman and J. D. Licht (2001). "Translocations of the RARalpha gene in acute promyelocytic leukemia." Oncogene **20**(49): 7186-7203.

Zhang, B., A. Beeghly-Fadiel, J. Long and W. Zheng (2011). "Genetic variants associated with breast-cancer risk: comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence." Lancet Oncol **12**(5): 477-488.

Zhang, L. and M. H. Hanigan (2003). "Role of cysteine S-conjugate beta-lyase in the metabolism of cisplatin." J Pharmacol Exp Ther **306**(3): 988-994.

Zhao, W., P. Bao, H. Qi and H. You (2010). "Resveratrol down-regulates survivin and induces apoptosis in human multidrug-resistant SPC-A-1/CDDP cells." Oncol Rep **23**(1): 279-286.

Zitvogel, L., O. Kepp, L. Galluzzi and G. Kroemer (2012). "Inflammasomes in carcinogenesis and anticancer immune responses." Nat Immunol **13**(4): 343-351.