Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

Hibiscus sabdariffa: avances en el estudio del cáncer

Autor: NOELIA GUZMÁN VÉGUEZ

Fecha: JUNIO 2019

Tutor: KARLA VERÓNICA SLOWING BARILLAS

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

ÍNDICE

1. RESUMEN 1

2. INTRODUCCIÓN 1

2.1 ¿QUÉ ENTENDEMOS POR CANCÉR? 1

2.2 FLOR DE HIBISCO 2

2.2.1. Composición química 3
2.2.2. Propiedades farmacológicas 4
2.2.3. Toxicidad 8

3. OBJETIVOS 8

4. MÉTODOS Y MATERIALES 8

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 9

5.1. Influencia de *Hibiscus sabdariffa* en el cáncer de mama 14
5.2. Influencia de *Hibiscus sabdariffa* en la leucemia 14
5.3. Influencia de *Hibiscus sabdariffa* en el cáncer de estómago 15
5.4. Influencia de *Hibiscus sabdariffa* en el cáncer de colorrectal 16
5.5. Influencia de *Hibiscus sabdariffa* en el cáncer de próstata 17
5.6. Influencia de *Hibiscus sabdariffa* en el melanoma 17

6. CONCLUSIONES 18

7. BIBLIOGRAFÍA 19

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

1. RESUMEN

A lo largo de la última década, muchos estudios han evidenciado el papel de las plantas medicinales en la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas asociadas a una elevada tasa de mortalidad, como es el caso del cáncer. Esto se debe, a que muchas de las terapias convencionales empleadas han desarrollado resistencias.

Las continuas investigaciones realizadas, indican la necesidad de ahondar en nuevas opciones terapéuticas como es el caso del empleo de *H. sabdariffa* en la prevención del cáncer. Se trata de una planta originaria de Asia popularmente utilizada en la antigüedad en medicina tradicional como remedio frente a la hipertensión, pirexia o inflamaciones de la piel gracias a su contenido en antocianinas y polifenoles.

Sin embargo, no se hace uso de ella para tratar esta enfermedad, lo que pone de manifiesto que, a pesar de mostrar resultados alentadores en los tipos de cáncer más agresivos asociados a metástasis, sólo se dispone de estudios *in vivo* e *in vitro* que afirman disponer de esta propiedad, requiriéndose la realización de un mayor número de ensayos clínicos controlados con placebo en seres humanos para poder asegurar la eficacia de esta planta.

PALABRAS CLAVE: *Hibiscus sabdariffa*; antocianinas; polifenoles; cáncer; prevención

2. INTRODUCCIÓN

2.1. ¿QUÉ ENTENDEMOS POR CÁNCER?

El cáncer se caracteriza por la proliferación continua e incontrolada de distintos tipos de células normales transformándose en cancerígenas, en un proceso que se conoce como carcinogénesis y que conlleva la aparición de tumores.[1] Es considerado la segunda causa de muerte a nivel mundial, siendo responsable de 8,8 millones de defunciones según datos proporcionados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), de ahí que el objetivo que persigue sea la curación o prolongación de la vida del paciente mejorando su calidad de vida y aliviando los síntomas.[2]

Para aumentar la supervivencia es necesario reducir los factores de riesgo asociados a esta afección y aplicar terapias preventivas que presenten una base científica. Entre ellos destacan algunos como una mala alimentación (sobre todo, un bajo consumo de frutas y verduras), la inactividad física, la exposición a radiaciones ultravioleta e ionizantes, infecciones por virus (especialmente el virus de la hepatitis B, C, papilomavirus y VIH), bacterias y parásitos, envejecimiento y consumo de tabaco y alcohol, siendo este último el responsable de aproximadamente el 22% de las muertes asociadas al cáncer.[2]

El diagnóstico precoz es clave para disminuir la mortalidad asociada a la enfermedad. Una cuestión fundamental en la patología del cáncer es la distinción entre dos conceptos: tumor benigno y tumor maligno.[1] Se conoce como tumor benigno a la proliferación de células anormales que permanece localizado en un lugar concreto del cuerpo y no se disemina a tejidos colindantes. Sin embargo, un tumor maligno o cáncer es aquel capaz de invadir otros tejidos adyacentes y diseminarse por el organismo a través de los sistemas circulatorio y linfático, desarrollándose metástasis que es la principal causa de muerte por cáncer.[2]

Existen más de 200 tipos de cáncer, aunque la mayor mortalidad se atribuye al cáncer de pulmón, hepático, colorrectal, gástrico y mamario.[2] Se estima, según datos disponibles dentro del proyecto GLOBOCAN, que se ha producido una elevación en la aparición del número de cánceres pasando a presentarse 18,1 millones en 2018. Sin embargo, según cifras

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

proporcionadas por REDECAN para el año 2015, se pudo observar un descenso en la incidencia del cáncer gástrico en España, relacionado con un menor número de infecciones producidas por *Helicobacter pylori*, combinado con modificaciones dietéticas y una disminución del consumo de tabaco y alcohol.[3]

2.2. FLOR DE HIBISCO

Corresponde a la especie botánica *Hibiscus sabdariffa* L. de la familia de las Malváceas. Es originaria de Asia (desde India hasta Malasia). Se cultiva en regiones tropicales y subtropicales donde su cultivo se ve favorecido por las condiciones climáticas.

Es comúnmente conocida como flor de Jamaica en Centro América, México y España, Roselle en países de habla inglesa, Congo en Francia, Zobo en Nigeria y Karkadé, una bebida fría obtenida a partir de los cálices hervidos con azúcar, en Arabia Saudí y Sudán; y "té cacody", extraído únicamente a base de cálices carnosos, en Egipto.[4]

Figura 1. *Hibiscus sabdariffa y sus semillas* [7]

Se trata de una planta anual, perenne o arbusto que puede llegar a alcanzar los 2-2,5 m de altura. Las flores son hermafroditas y polinizadas por insectos, de entre 8 y 12,5 cm de ancho, de color blanco a amarillo pálido con un punto rojo en la base del pétalo, y a medida que va avanzando el día, adquieren una coloración rosada. El cáliz es carnoso al igual que el calículo que mide 1-2 cm de ancho y es de color rojo brillante; está constituido por 5 grandes sépalos que a su vez están rodeados de un epicáliz. Por su parte, el calículo está constituido de 8 a 12 foliolos pequeños adheridos en la base del cáliz.[5, 6, 7] (**Figura 1**)

La droga incluida en la Real Farmacopea Española (RFE) es *Hibisci sabdariffae flos*: "cáliz y calículo desecados, enteros o fragmentados, de *Hibiscus sabdariffa* L., recolectados durante el periodo de fructificación". Debe contener como mínimo 13,5 por ciento de ácidos, expresados como ácido cítrico (droga desecada). [5] La droga pulverizada adquiere un color de rojo a rojo-violáceo. Al examinarlo se pueden observar abundantes drusas de oxalato de calcio, estomas, cavidades llenas de mucílago, vasos espiralados y reticulados, fragmentos de pelos tectores, lisos y flexuosos aunque ocasionalmente se pueden encontrar pelos glandulosos, fragmentos de parénquima de color rojo con lumen ancho y granos de polen redondeados con exina espinosa.[5]

La flor de Hibisco requiere una manipulación especial antes y después de la recolección y su cultivo se ve favorecido cuando se producen precipitaciones mensuales de 130 a 260 mm durante los 3-4 primeros meses de crecimiento, comprendidos entre abril y noviembre. Sin embargo, se ha visto que la presencia de lluvia y elevada humedad durante la cosecha y secado pueden llegar a degradar la calidad y reducir el rendimiento de los cálices.

H. sabdariffa es cultivada tradicionalmente por sus aplicaciones económicas, medicinales y en alimentación. Tiene un sabor ácido lo que disminuye la probabilidad de crecimiento de microorganismos patógenos, ya que, estos no prosperan en medios ácidos.

Habitualmente es cultivada para la obtención de fibra como sustituto del yute en la elaboración de telas y cordones; también tiene importancia desde el punto de vista económico, ya que, es utilizada como planta ornamental, sobre todo en la región de China, para la obtención de petróleo.[4]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

En medicina popular se utiliza en la prevención de numerosas enfermedades, gracias a la presencia de compuestos antioxidantes en su composición que les confieren propiedades antisépticas, diuréticas, purgantes, sedantes, tónicas, astringentes, demulcentes y emolientes. Las hojas son empleadas para aliviar el dolor producido por las llagas, grietas de pies, y en combinación con el jengibre para aminorar la hipertensión. Por su parte, la infusión de los cálices es utilizada en trastornos de la función de la bilis, úlceras y alivio de la tos, además de exhibir otros beneficios cuando se combina con la flor (tratamiento en la alteración de las funciones digestivas y renales), y la sal común (tratamiento de diarrea y disentería en animales y humanos). Además, es bien sabido que en Guatemala se utiliza para mitigar el estado de embriaguez.[7]

En cuanto a sus usos culinarios, las hojas se comen crudas en ensalada o cocidas en sopa, con carne o pescado. Los cálices secos se utilizan en la elaboración de mermeladas, jaleas, helados, gelatinas, bombones, salsas, vinos y, como colorantes de bebidas y alimentos debido a su alto contenido en flavonoides expresado en antocianinas.[7]

2.2.1. Composición química

Los principales constituyentes presentes en la composición de *Hibiscus sabdariffa* responsables de la actividad farmacológica son los polisacáridos, ácidos orgánicos, flavonoides y antocianinas. Aunque también se ha demostrado la presencia de alcaloides (benzoato de β-sitosterol), esteroides (colesterol, campesterol, estigmasterol, β-sitosterol, α-espinasterol y ergosterol), ácido ascórbico y vitaminas B1 y B2.[4,7,8]

A continuación, se muestra la **Tabla 1** en la que se concreta cada uno de los compuestos:

Compuesto bioactivo	Definición	Función	Constituyentes principales
Ácidos orgánicos	Moléculas orgánicas con un grupo hidroxilo adicional	Permite su participación en la eliminación de radicales libres	Ácido málico y cítrico (representando aproximadamente el 13% de base en peso seco), ácido hidroxicítrico, ácido hibisco, ácido tartárico y el ácido oxálico y ascórbico
Antocianinas	Grupo derivado de flavonoides y pigmentos naturales presentes en las flores secas	Capacidad antioxidante	Hibiscina, delfinidina-3-sambubiósido y cianidina-3-sambubiósido (crisantenina)
Flavonoides y compuestos fenólicos tipo ácido	Grupo amplio de compuestos derivados de la cromona benzo-gamma-pirona localizados especialmente en los órganos aéreos, hojas y flores	Propiedad antioxidante debido a su elevado poder nutritivo	Sabdaritrina, gosipetina, quercetina, luteolina, ácido clorogénico, ácido protocatecuico (PCA), ácido cafeico, ácido elágico, eugenol

Tabla 1. *Compuestos bioactivos de H. sabdariffa* [4,8,9]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

En la siguiente tabla se detalla la composición química de cada una de las partes de la planta de *H. sabdariffa.*

Parte de la planta	Composición química
Hojas	Proteínas, grasa, hidratos de carbono, fibra, ceniza, minerales (Ca, P, Fe), vitaminas (tiamina, riboflavina y niacina), β-caroteno y ácido ascórbico.
Flores	Principalmente antocianinas como delfinidina y polisacáridos solubles neutros como arabinanos y arabinogalactanos
Cálices	Proteínas, grasas, hidratos de carbono, fibra, alcaloides, antocianinas (cianina-3-rutinósido, delfinidina), flavonoides (hibiscetina, PCA, quercetina), fitosteroles (β-sitosterol), ácido esteárico, cera, ácidos orgánicos (principalmente ácido cítrico y málico; ácido ascórbico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido tartárico), minerales (Fe, P, Mg, Ca, Al, Na, P), vitamina C y β-caroteno

Tabla 2. *Constituyentes de H. sabdariffa* [4,6,7]

2.2.2. Propiedades farmacológicas

Los constituyentes que exhibe *H. sabdariffa* permiten establecer una relación con las distintas propiedades terapéuticas que se le atribuyen y que se exponen a continuación.

1. Efectos sobre el músculo liso

Diversos estudios *in vivo* llevados a cabo en animales de experimentación han revelado que, tras la administración del extracto acuoso de *H. sabdariffa*, obtenido a partir de los cálices, se puede observar una contracción rítmica del útero de rata, así como, la estimulación del mismo en reposo. Sin embargo, estos efectos tónicos que se producen sobre el útero, pueden disminuir parcialmente mediante la dosificación de hidrocortisona e indometacina, ambos medicamentos, antiinflamatorios.[9] Sin embargo, el extracto etanólico de las flores ha demostrado un efecto antiespasmódico *in vitro* induciendo a relajación en el útero e intestino.[8]

En la actualidad, no se conocen con claridad los mecanismos responsables de esta acción, aunque se cree que *H. sabdariffa* produce una estimulación directa de los músculos lisos (de ahí, su acción hipotensora) generando así un efecto relajante que puede ser a través de:

1) La vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/AKt) mediante la estimulación de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) y como consecuencia, la activación de los canales de potasio del músculo liso. Los datos sugieren que es debido a la acción de los polifenoles.[8]
2) Los canales de calcio, cuyo efecto se atribuye a constituyentes como quercetina y eugenol.[9]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

2. Acción antihipertensiva

La hipertensión se define como una condición crónica que conlleva una elevación de la presión sanguínea, un problema vigente tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo.[4]

Tradicionalmente en África occidental y México se han utilizado decocciones de *H. sabdariffa* como remedio antihipertensivo. Asimismo, estudios *in vitro* e *in vivo* han manifestado que disminuye tanto la presión sistólica como la presión diastólica, la frecuencia cardiaca y además, cuentan con una actividad vasodilatadora y antiplaquetaria aunque no exhibe actividad trombolítica *in vivo*. Es por ello que, se considera útil y seguro como método preventivo para evitar la progresión en hipertensión de leve a moderada, cuyo potencial se atribuye a flavonoides.[8,9]

Sin embargo, el hecho de emplear *H. sabdariffa* con este propósito, ha dado lugar a la aparición de efectos no deseados relacionados con la actividad gonadal.[8] Es por eso que, se plantea la necesidad de realizar más ensayos clínicos que proporcionen la suficiente evidencia científica para su uso como agente antihipertensivo, así como, su posible toxicidad. No obstante, hay estudios que han revelado una reducción significativa de la presión arterial en comparación con el tratamiento utilizando fármacos como lisinopril y captopril, ambos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). La fracción de antocianinas (delfinidina-3-sambubiósido y cianidina-3-sambubiósido) compiten con el sitio activo de manera dependiente de dosis, lo que hace que la angiotensina II por conversión de la angiotensina I no actúe como vasoconstrictor.[4,8] De igual manera, tiene un efecto vasodilatador sobre el endotelio por:

- *Vía dependiente,* mediante la activación de óxido nítrico/guanosina monofosfato cíclico (cGMP)
- *Vía independiente,* mediante la inhibición del ión calcio en las células lisas musculares

3. Acción antipirética y antiinflamatoria

El término fiebre implica una respuesta orgánica que conlleva un aumento de la formación de citoquinas inflamatorias tales como interleucinas, interferones y el Factor de Necrosis Tumoral (TNF-α).[8] Distintos análisis efectuados *in vivo*, realizados en ratas, han demostrado que los extractos de *H. sabdariffa* presentan una potente acción antipirética, de ahí que haya sido utilizado en medicina popular a pesar de que sólo se disponga de estudios limitados sobre dicha aplicación.[6,8]

Respecto a la acción antiinflamatoria, la inflamación se define como una respuesta fisiológica emprendida por acción de factores externos que causan perjuicios en el organismo.[4] Así, en lo relativo a *H. sabdariffa* en ensayos clínicos realizados en humanos, se ha demostrado que la administración de un extracto de los frutos secos, disminuye la concentración de proteína plasmática quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1), la cual, se ha postulado como biomarcador de la evaluación de enfermedades inflamatorias.[6,8] Esto contribuye a que Roselle tenga una posible aplicación como suplemento funcional seguro para aminorar enfermedades inflamatorias crónicas en humanos.[4]

Sin embargo, en ambos casos, su posible mecanismo de acción no es muy conocido, siendo necesaria la realización de trabajos adicionales para la aprobación de estas propiedades, pudiendo atribuirse su acción a flavonoides, polisacáridos y ácidos orgánicos como representantes de los compuestos bioactivos.[9]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

4. Acciones antibacterianas, antifúngicas y antiparasitarias

Se han llevado a cabo muchos estudios dónde se ve reflejada la capacidad antimicrobiana que poseen los diferentes extractos de *H. sabdariffa* en la prevención de la contaminación de los alimentos causada por bacterias.[4,8] Esta acción se ha achacado a su contenido en flavonoides, más concretamente a las proantocianidinas, que poseen la capacidad de formar un complejo con las paredes celulares de las bacterias, actuando sobre las fimbrias, induciendo la inhibición de la adhesión al uroepitelio con la consecuente formación del biofilm a escala *in vitro* lo que ha posibilitado su uso en medicina tradicional para el tratamiento y prevención de infecciones del tracto urinario. De ahí que, su posible mecanismo de acción, implique la inhibición de la proteína de la cadena de transporte de electrones y un aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática, permitiendo la pérdida del ión a partir de células bacterianas.[4]
A pesar de ello, los autores recomiendan llevar a cabo más investigaciones con el fin de obtener resultados alcanzables a nivel *in vivo*.[4]

5. Actividad hepatoprotectora y antioxidante

Los extractos de *H. sabdariffa* han evidenciado un efecto protector frente a hepatitis inducida por diversas toxinas, tales como terc-hidroperóxido de butilo (t-BHP)[6], cuyo objeto, según estudios efectuados *in vivo*, es disminuir la incidencia de lesiones hepáticas ejerciendo una función de defensa contra el estrés oxidativo en hepatocitos primarios.[10] Por el contrario, un uso prolongado del extracto metanólico de *H. sabdariffa* podría conllevar la aparición de una lesión hepática.[6]

Dicha investigación ha revelado que las antocianinas y el PCA son los principales componentes responsables de este efecto, lo que se puede explicar a través de los mecanismos desempeñados por los mismos, relacionados con la reducción del estrés oxidativo y la muerte celular.[8] Estos, hacen referencia a la propiedad de eliminar radicales libres influyendo en los niveles de los productos de peroxidación de lípidos y enzimas séricas indicativas de daño hepático como alanina y aspartato aminotransferasa lo que posibilita que esté vinculado con la actividad antioxidante.[6,10]

Para determinar dicha acción, existe un método conocido como DPPH basado en la capacidad presente en los compuestos para donar un protón y formar estructuras resonantes estables. Gracias a ello, se ha demostrado que las antocianinas y PCA presentes en *H. sabdariffa* gozan de esta aptitud y son útiles en la mejora y prevención de distintas enfermedades como aterosclerosis, diabetes o envejecimiento.[10]

6. Actividad diurética, efecto uricosúrico e hiperuricemia

Se considera hiperuricemia cuando los niveles de ácido úrico en suero exceden valores de 7 mg/dL, provocando una alteración de la excreción renal del mismo y actúando como un factor propicio para el desarrollo de gota, que puede llegar a manifestarse en el 10% de los pacientes que padecen hiperuricemia.[11]

El ácido úrico es producido a partir del metabolismo de las purinas, a través de una reacción de oxidación catalizada por la enzima xantina oxidasa, cuya inhibición permite su aplicación para el tratamiento de la hiperuricemia.[11] De ahí que el alopurinol, al inhibir la síntesis de ácido úrico, haya sido ampliamente utilizado para proteger de posibles lesiones renales al prevenir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS).[11] Sin embargo, posee numerosos efectos adversos que limitan la terapia como la toxicidad renal, siendo necesaria la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. [11] Entre ellas, se ha considerado que, según

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

experimentos *in vivo* realizados en ratas, las plantas medicinales como *H. sabdariffa* podrían ser eficaces en la disminución de concentraciones urinarias, ácido úrico, citrato, creatinina (marcador renal excretado por orina), tartrato, Ca, Na, P, K (en comparación con alopurinol) de manera significativa; sin embargo, no se ven afectadas las concentraciones de oxalato, lo que pone de manifiesto la necesidad de realizar investigaciones a dosis más altas y a largo plazo para constatar la prevención en la formación de cálculos renales.[4,8,9]

Asímismo, se ha evidenciado que los extractos acuosos de *H. sabdariffa* inhiben la síntesis de ácido úrico bien por un aumento de la actividad de uricasa (enzima que cataliza la reacción de oxidación de ácido úrico a alantoína), o bien, por el bloqueo de la xantina oxidasa atribuído especialmente al contenido en flavonoides presentes en su composición.[11]

7. Acción antidiabética y antiobesidad

Diabetes mellitus representa un trastorno metabólico y endocrino asociado a defectos en la regulación, secreción y/o acción de la insulina, que actúa como factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis.[8]

Actualmente, la estrategia terapéutica empleada para el control de la hiperglucemia reside en la inhibición de α-amilasa pancreática y α–glucosidasa intestinal, que posibilita un retraso en la digestión de hidratos de carbono para su conversión en azúcares más sencillos. Dicha habilidad ha sido puesta de manifiesto *in vitro* por extractos de *H. sabdariffa,* lo que sugiere que, esta función, podría estar vinculada a los compuestos polifenólicos y más concretamente al PCA. De igual forma, podría estar vinculado con el comportamiento como agente antiobesidad, debido a que estudios *in vivo* e *in vitro* muestran que *H. sabdariffa* ocasiona un bloqueo de la actividad α- amilasa y de la absorción de almidón, colaborando con la pérdida de peso corporal.[8]

8. Acción antihiperlipidémica y aterosclerosis

La hiperlipidemia y la aterosclerosis son considerados síndromes relacionados con los niveles de lípidos, de ahí que haya sido estudiada la posibilidad de empleo de *H. sabdariffa* como agente preventivo y eficaz en estos trastornos.

Estudios realizados en conejos confirman que *H. sabdariffa* es capaz de reducir los niveles de colesterol en sangre y, a pesar de no esclarecer el mecanismo responsable, se ha enunciado una hipótesis sin evidencia experimental, consistente en la posibilidad de que el extracto esté constituido por compuestos aptos para la activación de secreciones hormonales, conllevando la conversión en otros compuestos a través de la activación de la vía metabólica del colesterol.[9] Esto implica una disminución de los niveles de triglicéridos, colesterol total, LDLc, VLDLc y aumento de HDLc así como una disminución de la formación de células espumosas y células de músculo liso, gracias al efecto de las antocianinas y PCA como entidades formadoras de Roselle en esta actividad.[8,9,10]

9. Actividad anticancerígena

Gracias a la acción que ejerce *H. sabdariffa* contra la evasión de la apoptosis mediada por vía intrínseca y extrínseca, invasión celular, insensibilidad a las señales anticrecimiento y metástasis, se ha postulado como un potencial agente quimiopreventivo.[8,10] Dicho efecto se puede elucidar gracias a la eficacia del extracto etanólico en la reducción de la mutagenicidad

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

inducida por aminas heterocíclicas, entre otras, alcanzando unas cifras de entorno al 60-90%, lo que se relaciona con el contenido total de antocianinas incluidas en los cálices.[9,10,12]

Sin embargo, es imprescindible la realización de más estudios *in vivo* que apoyen esta actividad ya que las investigaciones disponibles hasta el momento no evidencian el efecto anticancerígeno del extracto de antocianinas obtenidas a partir de Roselle.[4]

2.2.3. Toxicidad

H. sabdariffa ha sido utilizada tradicionalmente en alimentación y medicina popular como afrodisíaco en África occidental; y, aunque se disponen de datos toxicológicos limitados, la dosis letal 50 (DL50) del extracto de cáliz en ratas se manifiesta en valores superiores a 5000 mg/Kg, lo que alude un grado muy bajo de toxicidad.[8,9] No obstante, el hecho de aplicar dosis de 300 mg/Kg conlleva el aumento de los niveles de creatinina en sangre, que pueden estar asociados a distrofia muscular, pérdida de la función renal y raramente, ocasionan la muerte.[8]

Un estudio llevado a cabo a trabajadores en Nigeria, revela efectos nocivos en los testículos con una disminución en el recuento de espermatozoides y trastorno en la entidad del epitelio testicular tras la administración subcrónica de diferentes dosis del extracto acuoso del cáliz. Los autores postulan que estos efectos podrían tener relación con la interrupción de la espermatogénesis debido a la acción estrogénica exhibida por el extracto.[9]

3. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente trabajo es profundizar en la búsqueda de los estudios realizados hasta el momento, orientados hacia la aplicación de *H. sabdariffa* en el tratamiento del cáncer.

Con el fin de cumplir el objetivo principal expuesto, se hace necesario definir los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar e identificar los compuestos bioactivos de Hibisco responsables de la acción anticancerosa.
2. Comprobar la contribución de *H. sabdariffa* como apoyo a los tratamientos tradicionales utilizados para paliar los síntomas asociados al cáncer, y ayudar en la mejora de la calidad de vida
3. Identificar y elucidar los principales mecanismos moleculares de inducción de muerte celular
4. Estudiar y demostrar si los resultados obtenidos hasta el momento son suficientes para su aplicación en los seres humanos

4. MÉTODOS Y MATERIALES

Para la realización del presente trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica del material publicado utilizando distintas bases de datos y buscadores de internet: PubMed, Science Direct y NCBI. Además, se han consultado páginas de organismos como la OMS y el libro de la RFE así como artículos científicos que aparecen reflejados en la bibliografía.

No se han encontrado monografías en bases de datos de ESCOP ni German Commission E.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la actualidad, las estadísticas revelan que el mayor índice de mortalidad observado en los países desarrollados reside en el cáncer, pudiendo atribuirse al desarrollo de resistencia a los fármacos convencionales utilizados habitualmente en el tratamiento de la enfermedad. Dicha dificultad puede ser debida a la evolución desde la sensibilidad exhibida por las células cancerosas ante la inducción de la apoptosis hasta la aparición de resistencia.[13]

Debido a lo expuesto anteriormente, se hace necesario investigar y descubrir posibles alternativas terapéuticas, dentro de las cuales se incluyen las plantas medicinales, con un enfoque prometedor. Entre ellas, se encuentra *H. sabdariffa*, objeto de estudio en este trabajo, a la que le han sido otorgados múltiples efectos beneficiosos, asociados en su mayoría, al contenido en compuestos polifenólicos entre los que destacan las antocianinas que forman parte de la dieta básica. De hecho, según evidencias epidemiológicas, el consumo de frutas y verduras podrían reducir notablemente el riesgo de aparición de distintos cánceres humanos pues se encargan de producir efectos inhibitorios sobre el crecimiento de células cancerosas.[14] A pesar de no ser muy conocido el mecanismo molecular encargado de este trabajo, el consumo estimado de antocianinas en los seres humanos debe ser superior a 180 mg/día (debido a su baja biodisponibilidad) para garantizar la eficacia *in vivo* necesaria en la inducción de cambios de expresión genética y señalización de la transducción. Sin embargo, los estudios existentes no revelan el papel de las antocianinas en la inhibición del cáncer, ni documentan si estas actúan solas o mediante la interacción sinérgica con otros compuestos fenólicos.[15]

Pero, para acercarnos más en el conocimiento y aclaración, hay que tomar en consideración que la mayoría de los fármacos empleados en quimioterapia y radioterapia se definen como agentes inductores de la apoptosis, un proceso que conlleva la eliminación de células tumorales mediante la activación de las caspasas (enzimas citosólicas de elevado peso molecular), de ahí que las células apoptóticas muestren como características principales la condensación de la cromatina, fragmentación del ADN y activación de caspasas.[16,17]

Vías celulares que inducen a la apoptosis

La apoptosis puede llevarse a cabo por 2 vías en las que participan tanto caspasas efectoras (caspasa 3, 6 y 7) como caspasas iniciadoras (caspasa 8 y 9):

1. <u>Vía extrínseca</u>: mediada por los miembros de la familia de los receptores de la muerte, entre los que destaca Fas (CD95).[17] Hace referencia al término de muerte celular apoptótica inducida por señales de estrés celular que son detectadas y difundidas por receptores específicos transmembrana y puede iniciarse por unión a un ligando entre los que destacan el ligando FAS/CD95 (FASL/CD95L) y TNF-α.[18]

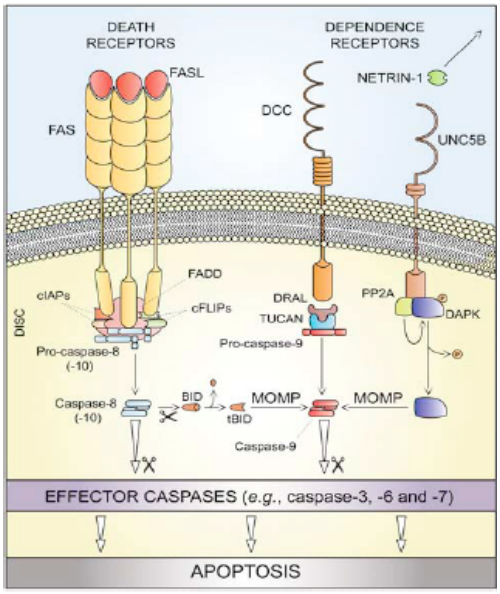

Figura 2. *Mecanismo de acción de apoptosis extrínseca* [18]

El procedimiento de señalización empleado como prototipo para la apoptosis extrínseca está protagonizado por el ligando FASL de tal forma que en ausencia del mismo, las subunidades FAS dan lugar a trímeros como resultado de su ensamblaje en la membrana plasmática. Esta unión supone además, una estabilización de los mismos e induce a un cambio conformacional en el receptor, permitiendo

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

el ensamblaje del complejo multiproteico en la parte citosólica a través del dominio de muerte (DD) del receptor. Asimismo, entre las proteínas reclutadas en el DD de FAS se encuentran la proteína FAS asociada a DD (FADD) y la procaspasa 8 que constituyen un complejo supramolecular (DISC) que induce a la muerte, regulando así la activación de la capasa 8 ó 10.[18] (**Figura 2**)

2. <u>Vía intrínseca o vía mitocondrial</u>: controlada por los miembros de la familia Bcl-2 (proteínas antiapoptóticas como Bcl y proteínas proapoptóticas como Bax y Bid).[17] Esta vía se estimula mediante la desaparición de señales de supervivencia ante condiciones de estrés intracelulares destacando los daños en el ADN, estrés oxidativo o sobrecarga de Ca2+ en el citosol, entre otros. En el momento en el que las señales proapoptóticas predominan sobre las antiapopóticas, se produce la permeabilización de la membrana externa de la mitocondria (MOMP) como consecuencia de la formación de poros producidos por las proteínas proapoptóticas de la familia Bax y Bak. Es en este momento cuando se experimenta la disipación del potencial transmembrana, la detención de la síntesis de ATP mitocondrial, inhibición de la cadena respiratoria con la consiguiente formación de ROS y la apertura del complejo de poros de transición (PTPc) permitiendo así la liberación de proteínas como citocromo c (CYTC), factor inductor de apoptosis (AIF), endonucleasa G (ENDOG), DIABLO y proteína con el requisito de alta temperatura A2 (HtrA2) desde el espacio mitondrial al citosol.[18] (**Figura 3**)

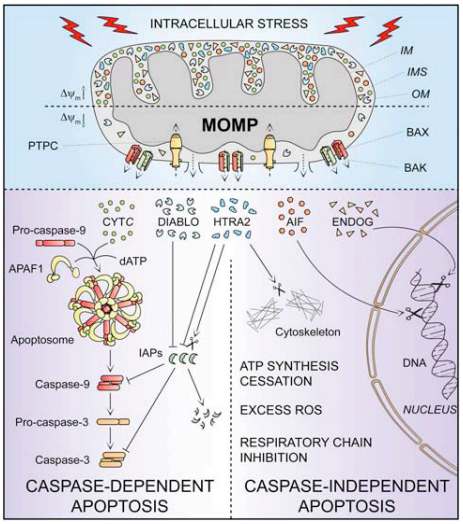

Figura 3. *Mecanismo de acción de apoptosis intrínseca* [18]

El citocromo c actúa junto al cofactor de proteínas activadoras de apoptosis (APAF-1) y dATP en la formación del apoptosoma, lo que conlleva la activación de la caspasa 9, escisión de la procaspasa 3 y la consecuente activación de la caspasa 3 que induce a la apoptosis mediante la cascasa proteolítica dependiente de caspasas.[18]

En la siguiente tabla vienen recogidos la mayoría de estudios *in vitro* e *in vivo* realizados hasta la fecha, en los que se han empleado los principios activos aislados obtenidos a partir de Roselle o diferentes extractos para el tratamiento de los tipos de cáncer donde se han obtenido más resultados.

Tipo de cáncer	Tipo de estudio	Parte utilizada	Resultados	Compuesto bio-activo respons.	Ref. bibl
Cáncer de mama	Estudio *in vitro*: línea celular MCF-7 de cáncer de mama	Extracto de flores secas	-Inhibición de la proliferación *in vitro* de células MCF-7 -Después de 24h de incubación con dosis 1-3 mg/ml, los resultados revelan que no induce a la apoptosis celular -Aumento de los niveles de LC3-II y AMPK-p con Has	Delfinidina	13
	Estudio *in vitro*: línea celular MCF-7 de cáncer de mama	Extracto acuoso de los cálices	-Los resultados del estudio en electroforesis en gel muestran la inducción de la apoptosis por formación de la escalera de ADN a una dosis de 0,5 mg después de 72h de incubación -Disminución significativa en el número de células MCF-7 a dosis de 0,4 mg/ml después de 48/72h de incubación	Flavonoides, polifenoles y antocianinas	14
Leucemia	Estudio *in vivo:* ratones macho Sprague-Dawley	Extracto metanólico de flores secas	-Disminución del 33,3% en la incidencia de leucemia con bazo e hígado normales -Inhibición significativa enzimas ALT y AST y ácido úrico en suero	Antocianinas (delfinidina y cianidina)	15
	Estudio *in vitro*: línea celular HL-60	Cálices secos	-Inducción de apoptosis en células HL-60 a través de la vía mitocondrial (CI_{50}=75 µM en 24h) -Se evidencia un aumento de la tasa de supervivencia celular gracias a la acción de los inhibidores de las caspasas 3,8 y 9	Delfinidina-3-sambubiósido	16
	Estudio *in vitro*: células HL-60	Extracto metanólico de flores secas	-Se muestra un efecto apoptótico de las células en tiempo y dosis dependiente por la activación de Bid y liberación del citocromo -Activación de la quinasa MAPK p38 mediante un aumento de la expresión de FasL y caspasa 8.	Antocianinas (sobre todo delfinidina)	17
	Estudio *in vitro*: células HL-60	PCA aislado a partir de *Hibiscus sabdariffa*	-Efecto antiproliferativo sobre células HL-60 por inducción de apoptosis asociada a la degradación de retinoblastoma (RB): tras 6 h de tratamiento hay un aumento del nivel de RB hipofosforilada y disminución de RB hiperfosforilada -Disminución del nivel de Bcl-2 y aumento de Bax	PCA	19
	Estudio *in vitro*: células HL-60	Extracto metanólico de flores secas	-Detención de fase G2/M por asociación de anticuerpo 14-3-3 y complejo Cdc25C -Aumento de niveles de ciclina B1, Cdc2 y p-Cdc2 y activación de quinasas ChK1 y ChK2	Antocianinas	20

Trabajo Fin de Grado. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Trabajo Fin de Grado. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Tipo de cáncer	Tipo de estudio	Parte utilizada	Resultados	Compuesto bio-activo respons.	Ref. bibl
Cáncer de estómago	Estudio *in vitro*: células AGS obtenidas de adenocarcinoma del estómago de una mujer caucásica de 25 años	PCA aislado a partir de *Hibiscus sabdariffa*	-Inhibición dosis y tiempo dependiente del crecimiento de células AGS (CI_{50}=7,3 mM tras 24 h de tratamiento) -*H. sabdariffa* induce apoptosis por ambas vías observándose una disminución del 80% de los niveles de Bcl-2 y un aumento de la expresión de Bax y FasL, activación de MAPK con elevación de p38 fosforilada y aumento de fosforilación de JNK2	PCA	21
	Estudio *in vitro*: línea celular AGS obtenidas de adenocarcinoma del estómago de una mujer caucásica de 25 años	Extracto acuoso de flores secas (HSE)	Mismos resultados, pero se observa una reducción del 50% la expresión de Bcl-2 y la CI_{50}=2,5 mg/ml tras 24 h de tratamiento	Polifenoles	22
	Estudio *in vitro*: línea celular AGS	Extracto polifenólico (HPE)	-El extracto polifenólico de *H. sabdariffa* induce a apoptosis a través de la activación de la señalización p38/Jun/FasL y la estabilización de p53 -Observada la inhibición de la viabilidad celular en el 50% de las células AGS	Polifenoles	23
Cáncer colorrectal	Estudio *in vitro* (células DLD-1) e *in vivo* (ratones)	Extracto polifenólico (HPE)	-Demostrada la inhibición dosis dependiente de la migración y proliferación celular, así como el bloqueo de la fosforilación de Akt y disminución de la actividad proteolítica de MMP-9 y MMP-2 -Disminución de la expresión de RhoA y aumento de RhoB -Estudio *in vivo* realizado en el tejido hepático de ratones exhibe una disminución del nivel de CD44, c-MET y Fak fosforilados en tumores metastásicos	Polifenoles	24
	Estudio *in vivo*: ratas macho Fisher F344 con 3 semanas de edad	Consumo de rosel en forma de alimento y bebida	-Tras 45 semanas de tratamiento, se observa una disminución de 51-63% en número y 52-78% en tamaño de tumores producidos por azoximetano -Disminución de los niveles de enzimas CYP2E1 (fase I), aumento GST (fase II) y elevación de actividad de SOD y CAT (enzimas antioxidantes hepáticas)	Flavonoides y compuestos fenólicos	25

Tipo de cáncer	Tipo de estudio	Parte utilizada	Resultados	Compuesto bio-activo respons.	Ref. bibl
	Estudio *in vivo*: ratas macho Fisher F344	Cálices secos	-Reducción de la incidencia de criptas aberrantes en 32-70% en ratas alimentadas con sorrel	Antocianinas	26
Cáncer de próstata	Estudio *in vitro* (células LNCaP) e *in vivo* (ratones)	Extracto de hojas secas (HLE)	-Efecto inhibitorio sobre células LNCaP dosis y tiempo dependiente tras 24 h con HLE (CI_{50}=2,5 mg/ml) -Tras 24h de tratamiento con HLE, disminución de la expresión proteínas Bcl-2 y Mcl-1 en un 80 y 60% respectivamente; y aumento de expresión de FasL -Inhibición de la incidencia de tumores empleando 2% de HLE en modelo de xenoinjerto en ratones	Principalmente ácido elágico (EA) y catequina	27
	Estudio *in vitro* (células LNCaP) e *in vivo* (ratones)	Extracto de hojas secas (HLE)	-Disminución de la migración celular y número de células tumorales en un 60% tras 24h con 0,5 mg/ml de HLE -Reducción del 50% del volumen del tumor en ratones alimentados con 1% de HLE tras 42 días -Western Blot y PCR muestran una reducción actividad MMP-9, AKT y PI3K fosforilada dependiente de dosis	Polifenoles	28
Melanoma	Estudio *in vitro*: células melanoma humano A375 y células de melanoma murino B16F10	Extracto polifenólico de hojas (HLP)	-HLP y ECG inducen a la apoptosis y autofagia en células A375 con efecto dependiente de dosis (CI_{50} HLP=250 µg/ml tras 24h) -Inhibición de la expresión de Bcl-2 y aumento de niveles de t-Bid, Bax, caspasas (3,8 y 9) y fracción Fas/FasL con HLP y ECG -Reducción niveles fosforilados de Akt y mTOR en autofagia	Galato de epicatequina (ECG)	29
	Estudio *in vitro* (celulas B16F10) e *in vivo* (ratones C57BL/6)	Extracto del cáliz rico en antocianinas (HAs)	-Inhibición de crecimiento y migración celular de manera dosis dependiente tras el tratamiento con HAs durante 24h (CI_{50}=5,23 mg/ml) -En el ensayo de zimografía de gelatina, se observa una disminución significativa de la actividad de MMP-2 y MMP-9 -En el análisis de Western-Blot, reducción de niveles PI3K (69%) y Akt (46%) fosforilados; y NFkB en un 25% respecto al control -Reducción de metástasis en ratones tratados con 2% de HAs	Antocianinas (delfinidina-3-sambubiósido)	30

Trabajo Fin de Grado. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

5.1. Influencia de *H. sabdariffa* en el cáncer de mama

Se estima que entre el 40 y 70% de los tumores de cáncer de mama, son positivos para el receptor de estrógeno, lo que hace preciso que para su tratamiento o prevención se potencie el bloqueo de dichos receptores. De hecho, se ha podido comprobar que en aquellas poblaciones donde el consumo de soja como agente estrogénico es elevado, la incidencia de aparición se ve reducida.[14]

En un estudio *in vitro*, se han elaborado informes en los que se constata que *H. sabdariffa* podría presentar acciones estrogénicas, lo que se explica por la presencia de 2 fitosteroles en su composición como son el ergosterol, que ejerce un efecto apoptótico contra la línea celular MCF-7, y, el beta-sitosterol, que reduce el espectro de tumores en dichas células y disminuye los niveles de estrógenos en suero.[14] Sin embargo, no son bien conocidos los mecanismos moleculares por los cuales se induce a la apoptosis, siendo necesaria elucidación en otros modelos de carcinoma.[14]

En otro estudio, el objeto de análisis se centra en los mecanismos moleculares que subyacen de los posibles efectos que puede ejecer *H. sabadariffa* en la autofagia y necrosis; en concreto, la inducción de muerte celular mediante la estimulación de la autofagia a través de la vía de señalización AMPK. La autofagia se define como una muerte celular no apoptótica programada, caracterizada por la formación de vesículas ácidas conocidas como AVOs, la presencia de la forma citosólica de la cadena ligera 3 (LC3-II) y la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), un biosensor celular que conlleva la depleción de ATP promoviendo la autofagia por la inhibición de la señalización de mTOR (proteína que colabora en el control de las funciones celulares). La presencia de estos dos últimos se explica por su acción como indicadores de la autofagia y según se muestra en la **Figura 4**, ambos niveles han experimentado un aumento después de someterse las células al tratamiento con las antocianinas de esta planta.[13]

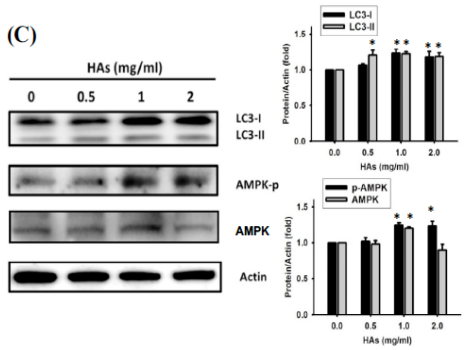

Figura 4. *Inmunoblot donde se comparan los niveles de LC3-I, LC3-II, AMPK y AMPK fosforilada (AMPK-p) en células MCF-7 tratadas con distintas concentraciones de antocianinas presentes en H. sabdariffa* [13]

Los resultados obtenidos muestran que la autofagia podría ser una estrategia quimioterapéutica innovadora en el tratamiento del cáncer. No obstante, se considera importante realizar más investigaciones para determinar cuales son los mecanismos moleculares reales por los que actúan las antocianinas para ejercer una acción anticancerígena ya que se ha considerado que son capaces de inducir a la apoptosis, metástasis y reducción de crecimiento celular mediante la inhibición de distintas líneas celulares del cáncer humano.[13]

5.2. Influencia de *H. sabdariffa* en la leucemia

En la actualidad, una de las enfermedades más letales, cuya afección implica un aumento anormal de células en la sangre, concretamente glóbulos blancos inmaduros, es la leucemia.[15] Tiene su inicio a nivel de la médula ósea y, en función de su progresión, se puede clasificar en diferentes tipos cuyo tratamiento es cada vez más complejo pues el uso de quimioterapia, terapia de radiación, con interferón, trasplante de células madre y cirugía ha llevado a que los científicos se planteen la posibilidad de aislar agentes anticancerosos a partir de recursos naturales de plantas.[15,20]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Muchos son los estudios que revelan la implicación de la apoptosis como mecanismo de muerte celular en células HL-60, al cual se le suma la producción de ROS que puede actuar sobre 2 modelos. Por un lado, interviene sobre las mitocondrias e induce a la liberación del citocromo c, el cual se une a APAF-1 transformándose en un apoptosoma en el citosol; y por otro lado, también regula de forma positiva la expresión del sistema Fas/FasL, conduciendo a la activación de la caspasa 8 y con ello, a la cascada de caspasas.[16]
Si bien es cierto que la incidencia de leucemia en ratas puede aumentar por la acción de N-nitrosometilurea (NMU), un potente carcinógeno y mutágeno para diversos tejidos, la limitación de estudios experimentales a largo plazo no ha permitido la evaluación de su uso como agente quimiopreventivo. No obstante, se han observado cambios en la apariencia de hígados y bazos (**Figura 5**), así como una mejora en la anemia, leucocitosis y trombocitopenia y una reducción de la incidencia de leucemia en un 33% tras tratamiento con 0,2% de extracto de antocianinas según se muestra en la **Tabla 3**.[15]

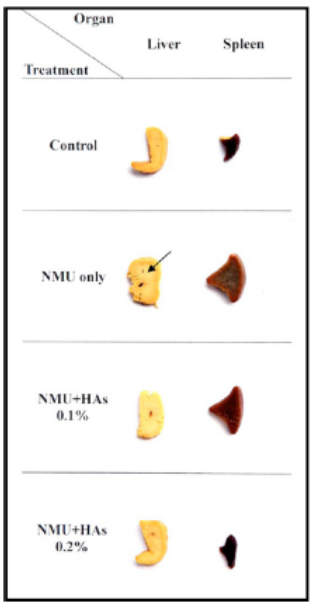

Figura 5. *Evolución de la apariencia de hígados y bazos por acción de las antocianinas* [15]

treatment[a]	leukemia tumor incidence[b] (%)	ratio of death
control	0/12 (0%)	0/12 (0%)
NMU only	11/12 (91.7%)	6/12 (50%)
NMU + HAs 0.1%	7/12 (58.3%)	3/12 (25%)
NMU + HAs 0.2%	4/12 (33.3%)	1/12 (8.3%)

Tabla 3. *Efecto inhibitorio de Hibisco en los tumores inducidos por NMU en ratas* [15]

Otros mecanismos de muerte celular como la activación de p38 MAPK, también han sido estudiados en las células HL-60, ya que permite la fosforilación de la proteína diana p-Jun translocando la proteína truncada tBid a la mitocondria y activando la vía de caspasas, todo ello promovido por el aumento de expresión de FasL y disminución de los niveles de Bcl-2.[17] Sin embargo, también se ha visto que PCA es capaz de impedir la entrada de las células en la fase S, encargada de la síntesis del ADN, al aumentar la expresión de su forma hipofosforilada la cual podría servir de sustrato a las caspasas según investigaciones recientes.[19] Y no solo eso, sino que el tratamiento con las antocianinas extraídas de *H. sabdariffa* es capaz de incrementar los niveles del anticuerpo 14-3-3 de forma dosis y tiempo dependiente, aumentando la unión con fosfatasas fosforiladas (Cdc25C), produciendo la detención de la fase del ciclo celular G2/M, ya que, bloquea la entrada a la mitosis e induce a la apoptosis según estudios realizados *in vivo* e *in vitro*.[20]
A pesar de todos los resultados esperanzadores mostrados en dichos estudios, se requiere de la realización de ensayos clínicos que permitan su aplicación en seres humanos.

5.3. Influencia de *H. sabdariffa* en el cáncer de estómago

El cáncer de estómago, expresado en un 90% en adenocarcinomas, es una de las principales causas de muerte relacionada con trastornos digestivos, cuya incidencia aumenta con el consumo de alimentos ahumados, salados y en individuos con historia familiar de cáncer gástrico. Suele iniciarse lentamente, seguido de periodos de latencia más largos en comparación con otros tipos de cáncer, de ahí que haya sido necesario revelar el papel que ejerce *H. sabdariffa*

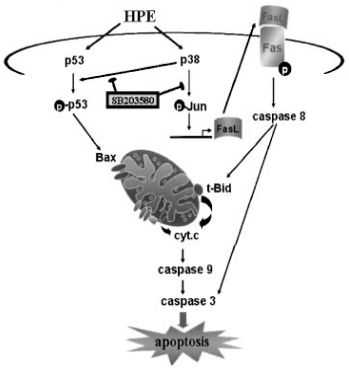

Figura 6. *Modelo de inducción de apoptosis por HPE* [23]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

sobre AGS, una línea celular prototipo que permite caracterizar células tumorales humanas *in vitro*.[21,22]

Los resultados obtenidos en los estudios revelan que *H. sabdariffa* y, en concreto PCA y polifenoles, son capaces de inducir a la apoptosis *in vitro* de las células AGS a través del aumento de la expresión de FasL (vía extrínseca) o Bax con la consecuente traslocación del citocromo c al citosol (vía intrínseca).[21,22,23] Así mismo, se elucida la relación entre los niveles de Bax y p53 (proteína supresora de tumores) cuando las células AGS son tratadas con HPE lo que conlleva el aumento de p53 que, en respuesta a señales de estrés celular, se fosforila mediante la acción de proteína p38/MAPK dando lugar a un aumento de Bax y liberación del citocromo c.[23] (**Figura 6**)

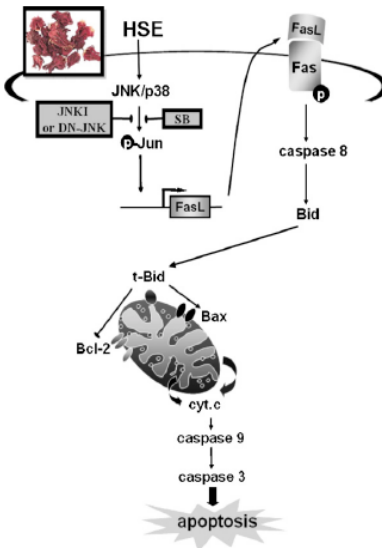

Figura 7. *Modelo de inducción de apoptosis por HSE* [22]

Además, en ambos, se produce la fosforilación de c-Jun a través de la señalización de p38 y cuya persistencia, conlleva la activación de FasL que actúa sobre el receptor Fas y activa la caspasa 8. Esta caspasa escinde tBid, el cual se trasloca a la mitocondria suponiendo la liberación del citocromo c al citosol y como consecuencia, la activación de la cadena de caspasas que conducen a la apoptosis.[22,23] (**Figura 7**)

No obstante, aunque se han propuesto mecanismos de acción posibles, son necesarios más estudios en modelos animales y ensayos clínicos sobre estrategias quimiopreventivas contra el cáncer *in vivo*.

5.4. Influencia de *H. sabdariffa* en el cáncer colorrectal

Las cifras revelan que el cáncer colorrectal es de elevada incidencia en países desarrollados y, aunque se hace indispensable su detección en la etapa inicial temprana, la modificación de factores ambientales y la dieta puede mejorar su pronóstico.[24,25]

A partir de los resultados obtenidos en los estudios, se puede evidenciar que HPE contribuye a la supresión de la metástasis tumoral en células DLD-1 a través de la regulación por disminución de la cascada de señalización FAK (cinasa de adición focal importante en la reconstrucción del citoesqueleto) y baja expresión de CD44/c-MET.[24] (**Figura 8**)

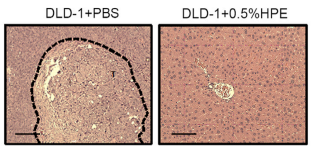

Figura 8. *Tinción inmunohistoquímica: HPE inhibe metástasis hepática in vivo* [24]

CD44 es una proteína transmembrana que participa en el crecimiento tumoral y metástasis, cuyo papel central puede atribuirse a la interacción con los receptores de tirosina quinasa (c-MET). De ahí que también se notifique la inhibición de la actividad proteolítica de MMP-2 y MMP-9 (dos metaloproteinasas de la matriz relacionadas con los procesos metastásicos) y de la fosforilación de Akt producida por el incremento de la expresión de RhoB, induciendo a la muerte celular.[24] No obstante, también se ha mostrado en modelos animales, concretamente en ratas, una reducción significativa del desarrollo de tumores en el colon inducidos por azoximetano, un potente carcinógeno, impidiendo su conversión a metilazoximetanol gracias a la disminución de la enzima hepática CYP2E1 que, junto con el aumento de los niveles de glutation-S-transferasa (GST), superóxido dismutasa

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

(SOD) y catalasa (CAT) impiden la formación de radicales libres y alteran la iniciación de la carcinogénesis.[25,26]

A pesar de contar con modelos factibles, su comprensión es limitada y se requiere de la realización de ensayos en otros modelos animales necesarios para confirmar el potencial quimiopreventivo de *H. sabdariffa*.[25]

5.5. Influencia de *H. sabdariffa* en el cáncer de próstata

Los datos reportados hasta el momento revelan que, siendo el cáncer de próstata el segundo tipo de neoplasia más común en los hombres a nivel mundial, se hace inminente la obligación de desarrollo de nuevas alternativas, orientadas principalmente al avance de las plantas medicinales por su potencial uso quimiopreventivo.[27,28]

En vista de los resultados obtenidos, se plantean 2 posibles mecanismos esclarecedores del efecto inhibitorio sobre la migración e invasión metastásica de HLE en células LNCaP, línea celular de cáncer de próstata humano sensible a andrógenos, evidenciándose su multifuncionalidad.[27,28] A concentraciones bajas (0,1-0,5 mg/ml), HLE exhibe un efecto inhibitorio mediante la regulación a la baja de la vía de señalización de PI3K/Akt e inactivación del factor de transcripción NFkB que regula la expresión de MMP-9, metaloproteinasa perteneciente a la familia de endopeptidasas dependientes de Zn humanas consideradas dianas prometedoras para agentes quimioterápicos, disminuyendo sus niveles.[28] Por su parte, a dosis altas (2,5 mg/ml), los resultados implican la inducción de la apoptosis por vía intrínseca y extrínseca ejercida principalmente por EA, con efecto anticancerígeno, y catequina que altera la expresión de genes implicados en la proliferación de células tumorales, llegándose a obtener hasta casi un 40% de células apoptóticas según se muestra en la **Figura 9**.[27,28]

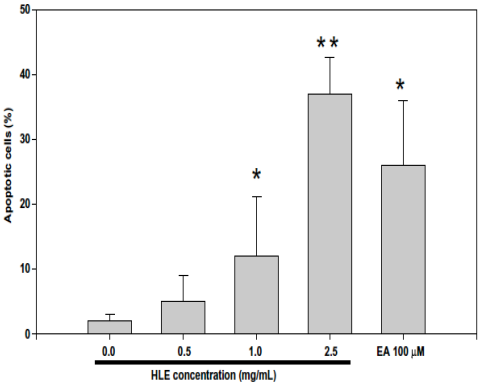

Figura 9. *Inhibición de apoptosis por HLE y EA* [27]

No obstante, datos obtenidos a partir de un estudio antitumoral usando como modelo a ratones desnudos, afirman que, tras la inoculación subcutánea de HLE, se experimenta la supresión de manera significativa la progresión del tumor de próstata *in vivo*.[27,28] Sin embargo, se dispone de muy poca información acerca de la dosis exacta de HLE necesaria para los humanos, lo que hace necesario la realización de más ensayos clínicos.[28]

5.6. Influencia de *H. sabdariffa* en el melanoma

La incidencia de melanoma ha ido multiplicándose a lo largo de los últimos 20 años y, aunque es bien conocido por ser la forma más mortal de cáncer de piel en el mundo, la intervención quirúrgica y los tratamientos tradicionales presentan una eficacia limitada.[29] En la actualidad, son empleadas las terapias inmunomoduladoras, que inducen mejoría, pero son pocos los que se benefician de ello; de ahí que, las últimas investigaciones se hayan centrado en terapias a base de plantas.[29,30]

Los resultados de uno de los estudios consultados, revelan que HLP combina dos vías de muerte para aminorar la elevada tasa de mortalidad, entre las que se encuentra la apoptosis por vía intrínseca y extrínseca (principalmente llevado a cabo por ECG) y la autofagia, un proceso catalítico caracterizado por la formación de vesículas ácidas (AVOs) en el citoplasma, de tal forma que, los estímulos inducidos por los genes relacionados con la autofagia y LC3-II permiten la formación de los autofagosomas que, junto con lisosomas, dan

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

lugar autolisosomas que inducen a la degradación del propio sistema lisosomal de células. Pero, para que esto pueda producirse es necesario que intervenga la vía de señalización Akt/m-TOR para que así, las células A375 tratadas con HLP experimenten la muerte celular a través de la autofagia inducida por una regulación negativa.[29]

Otro estudio realizado en 2018, pone de manifiesto que el mecanismo antimetastásico de HAs está relacionado con la inhibición de la migración celular, un paso considerado esencial en las células tumorales para la formación de los vasos sanguíneos en un proceso denominado angiogénesis. De hecho, se ha observado un efecto antiangiogénesis *in vitro* e *in vivo* con una reducción significativa del 26,8% después del tratamiento con dosis de 3 mg/ml de HAs mediante la inhibición de la activación del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF/VEGF-R), una citoquina que estimula la creación de vasos sanguíneos y está sobreexpresada en tumores malignos. Pero, para que esto tenga lugar, son 3 las vías que han de regularlo (vías de señalización Rho GTPasa, Ras y PI3K/Akt) a la baja suponiendo la inactivación del factor de transcripción NFkB como principal marcador del desarrollo del cáncer y, éste en consecuencia, induzca a la reducción de la expresión de MMPs y VEFG.[30]

6. CONCLUSIONES

Respondiendo a los objetivos planteados al inicio del trabajo, se extraen las siguientes conclusiones:

1. La mayoría de los estudios consultados hacen referencia a las antocianinas como principales compuestos bioactivos responsables de la muerte celular en todas las líneas celulares empleadas como modelos en el cáncer. Esto se debe, fundamentalmente, a su propiedad antioxidante también exhibida por otros compuestos como los polifenoles.
2. Los tratamientos tradicionales están causando resistencias y disminuyendo su eficacia, por lo que se necesita indagar en otros ámbitos. Es por ello, que un elevado número de estudios obtenidos hasta el momento en modelos *in vitro* e *in vivo* proporcionan resultados alentadores sobre el tratamiento con *H. sabdariffa* como soporte a las terapias convencionales ya que, en muchos casos, consigue disminuir el tamaño y progresión de células cancerosas. De hecho, en la antigüedad, sobre todo en regiones africanas, se ha empleado como método preventivo aunque en ningún caso como sustituto a las quimioterapias, radioterapias o cirugías.
3. Es bien conocido que la inducción a la apoptosis es uno de los mecanismos moleculares más socorridos a nivel celular tanto por vía intrínseca como por vía extrínseca. Sin embargo, también se ha demostrado que la autofagia o el aumento de ROS para la activación de caspasas, pueden ser mecanismos importantes a tener en cuenta en la muerte celular por lo que se requiere de un mayor número de indagaciones para su evidencia.
4. A pesar de que los resultados obtenidos hasta el momento exhiban efectos beneficiosos en el cáncer, la realización de más estudios *in vivo* y ensayos clínicos resultan clave para su puesta en marcha en seres humanos. Así, lo evidencian los datos de la baja toxicidad de esta planta, aunque en muchos casos, el desconocimiento de la dosis a aplicar supone un inconveniente.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Cooper GM. Cell: A Molecular Approach. 2nd edition. The Development and Causes of Cancer. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/

2. OMS: Organización Mundial de la Salud. Cáncer. [Internet]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer

3. SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica. Las cifras del cáncer en España (2019) [Internet]. Disponible en: https://seom.org/publicaciones/el-cancer-en-espanyacom

4. Riaz G, Chopra R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2018; 102: 575-586.

5. Flor de Hibisco. Real Farmacopea Española. 3ª edición; 2005. p.1803-1804

6. N Mahadevan, Shivali and Pradeep Kamboj. *Hibiscus sabdariffa* Linn.-An overview.Natural Product Radiance. 2009; 8(1): 77-83.

7. Adam Mariod A, Elwathig Saeed Mirghani M, Hassan Hussein I. Hibiscus *sabdariffa* L. Roselle. Chapter 11. Unconventional Oilseeds and Oil Sources. Academic Press; 2017. p-59-65. Disponible en: https://books.google.es/books?id=P43fDQAAQBAJ&pg=PA59&lpg=PA59&dq=http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809435-8.00011-1

8. Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. Food Chemistry. 2014;165: 424-443.

9. H. Ali B, Al Wabel N and Blunden G. Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspect of *Hibiscus sabdariffa* L.: A Review. Phytother. Res. 2005; 19 (5): 369-375.

10. Lin HH, Chen JH, Wang CJ. Chemopreventive Properties and Molecular Mechanisms of the Bioactive Compounds in *Hibiscus sabdariffa* Linne. Current Medicinal Chemistry. 2011;18(8):1245-1254

11. Kuo CY, Kao ES, Chan KC, Lee HJ, Huang TF, Wangb CJ. *Hibiscus sabdariffa* L. extracts reduce serum uric acid levels in oxonate-induced rats. Journal of Funtional Foods. 2012; 4(1): 375-381.

12. Formagio ASN, Ramos DD, Vieira MC, Ramalho SR, Silva MM, Zárate NAH, et al. Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. Braz. J. Biol. 2015; 75(1): 69-75

13. Wu CH, Huang CC, Hung CH, Yao FY, Wang CJ, Chang YC. Delphinidin-rich extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. trigger mitochondria-derived autophagy and necrosis through reactive oxygen species in human breast cancer cells. Journal of Functional Foods. 2016; 25:279-290.

14. Khaghani S, Razi F, Mohammadian Yajloo M, Paknejad M, Shariftabrizi A, Pasalar P. Selective Cytotoxicity and Apoptogenic Activity of *Hibiscus sabdariffa* Aqueous Extract Against MCF-7 Human Breast Cancer Cell Line. Journal of Cancer Therapy. 2011; 2:394-400

15. Tsai TC, Huang HP, Chang YC, Wang CJ. An Anthocyanin-Rich Extract from *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus Inhibits N-Nitrosomethylurea-Induced Leukemia in Rats. Journal Agricultural and Food Chemistry. 2014; 62(7):1572-1580

16. Hou DX, Tong X, Terahara N, Luo D, Fujii M. Delphinidin 3-sambubioside, a *Hibiscus* anthocyanin, induces apoptosis in human leukemia cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1 August 2005; 440(1): 101-109.

17. Chang YC, Huang HP, Hsu JD, Yang SF, Wang CJ. Hibiscus anthocyanins rich extract-induced apoptotic cell death in human promyelocytic leukemia cells. Toxicology and Applied Pharmacology. 2005; 205(3):201-212

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

18. Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, Alremri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny MV et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. Cell Death and Differentiation. 19 January 2012; 19(1):107-120

19. Tseng TH,Kao TW,Chu CY,Chou FP, Lin WL, Wang CJ. Induction of Apoptosis by Hibiscus Protocatechuic acid in Human Leukemia Cells via Reduction of Retinoblastoma (RB) Phosphorylation and Bcl-2 Expression. Biochemical Pharmacology. 2000; 60(3):307-315

20. Tsai TC, Huang HP, Chang KT, Wang CJ, Chang YC. Anthocyanins from Roselle Extract Arrest Cell Cycle G2/M Phase Transition via ATM/Chk Pathway in p53-deficient Leukemia HL-60 Cells. Environmental Toxicology. 2017; 32(4):1290-1304

21. Lin HH, Chen JH, Huang CC, Wang CJ. Apoptotic effect of 3,4-dihydroxybenzoic acid on human gastric carcinoma cells involving JNK/p38 MAPK signaling activation. International Journal of Cancer. 2007; 120(11): 2306-2316

22. Lin HH,Chen JH,Kuo WH,Wang CJ. Chemopreventive properties of *Hibiscus sabdariffa* L. on human gastric carcinoma cells through apoptosis induction and JNK/p38 MAPK signaling activation. Chemico-Biological Interactions. 5 January 2007; 165(1):59-75

23. Lin HH, Huang HP, Huang CC, Chen JH, Wang CJ. Hibiscus Polyphenol-Rich Extract Induces Apoptosis in Human Gastric Carcinoma Cells via p53 Phosphorylation and p38 MAPK/FasL Cascade Pathway. Molecular Carcinogenesis. 2005; 43(2):86-99

24. Huang CC, Hung CH, Chen CC, Kao SH, Wang CJ. *Hibiscus sabdariffa* polyphenol-enriched extract inhibits colon carcinoma metastasis associating with FAK and CD44/c-MET signaling. Journal of Functional Foods. 2018; 48:542-550

25. Sunkara R, Shackelford L, Walker L, Verghese M. Inhibition of Chemically-Induced Colon Cancer by Dietary Treatment of *Hibiscus sabdariffa* L. Dried Calyx in Rats. Food and Nutrition Sciences. 2015; 6(12):1174-1183

26. Sunkara R, Verghese M, Shackelford L, Walter LT, Cebert E. Preventive Potential of Sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) Calyx on the Formation of Azoxymethane Induced Aberrant Crypt Foci in Colon of Rats. International Journal of Cancer Research. 2009; 5(4):167-175

27. Lin HH, Chan KC, Sheu JY, Hsuan SW, Wang CJ, Chen JH. *Hibiscus sabdariffa* leaf induces apoptosis of human prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Food Chemistry. 15 May 2012; 132(2): 880-891

28. Chiu CT, Chen JH, Chou FP, Lin HH. *Hibiscus sabdariffa* Leaf Extract Inhibits Human Prostate Cancer Cell Invasion via Down-Regulation of Akt/NF-kB/MMP-9 Pathway. Nutrients. 24 June 2015; 7(7):5065-5087

29. Chiu CT, Hsuan SW, Lin HH, Hsu CC, Chou FP, Chen JH. *Hibiscus sabdariffa* Leaf Polyphenolic Extract Induces Human Melanoma Cell Death, Apoptosis, and Autophagy. Journal of Food Science. 2015; 80(3):649-658

30. Su CC, Wang CJ, Huang KH, Lee YJ, Chan WM, Chang YC. Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyx attenuate in vitro and in vivo melanoma cancer metastasis. Journal of Funtional Foods. 2018; 48:614-631