



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**ALLIUM SATIVUM COMO FUENTE POTENCIAL
DE MOLÉCULAS ANTICANCERÍGENAS**

Autor: Víctor Rivas López

Tutora: Estefanía Hernández Benito

Convocatoria: Febrero 2016

ÍNDICE

• Resumen	1
• Abstract	1
• Introducción y antecedentes	2
○ Estudio fitoquímico de la especie	2
○ Compuestos bioactivos presentes en <i>Allium sativum</i>	3
• Objetivos	6
• Metodología	6
• Resultados	6
○ Mecanismos de acción antitumoral	9
▪ Inhibición de la mutagénesis	9
▪ Modulación de la actividad enzimática	9
▪ Inhibición de la formación de aductos de ADN	11
▪ Neutralización de radicales libres	11
▪ Efectos sobre la proliferación celular, la apoptosis y el crecimiento tumoral	12
▪ Inhibición sobre la progresión del ciclo celular	13
▪ Protección frente a la formación de nitrosaminas	14
▪ Cambios epigenéticos	15
○ Ensayos clínicos y estudios in-vitro más recientes o más concluyentes, sobre las propiedades anticancerígenas del <i>Allium sativum</i>	16
• Discusión y conclusiones	21
• Anexo I: Bibliografía	
• Anexo II: Nomenclatura utilizada	

RESUMEN

Las plantas medicinales se utilizan como remedios terapéuticos frente a diversas patologías desde hace miles de años. En la actualidad se utilizan no solo como fuente para la extracción de principios activos, sino como potenciales sustancias para transformar por hemisíntesis y obtener así análogos de fármacos más efectivos.

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica, sobre la utilidad de la especie *Allium sativum* o ajo, como fuente potencial de compuestos anticancerígenos, basándome en la información obtenida mediante la búsqueda de los artículos científicos más actuales.

Los resultados obtenidos evidencian que el ajo posee una gran cantidad de moléculas con una actividad demostrada en el tratamiento y prevención de tumores. Los mecanismos de acción en los que participan estas moléculas interfieren en múltiples rutas bioquímicas dentro del metabolismo de las células tumorales, conduciendo en su mayor parte a una inhibición de la progresión del crecimiento de los tumores y a la muerte de las células neoplásicas.

Además, los compuestos organosulfurados derivados del ajo presentan actividad anticancerígena frente a diferentes y variados tipos de cáncer, lo cual hace que constituyan una importante alternativa, menos agresiva y con menos efectos adversos que los tratamientos radio y quimioterápicos.

ABSTRACT

Medicinal plants are used as therapeutic remedies against several diseases for thousands of years. Currently they are used not only as a source for extraction of drugs, but as potential substances to transform by hemisynthesis and obtain analogs and more effective drugs.

The aim of this paper is to review the literature about the usefulness of the species *Allium sativum* or garlic as a potential source of anti-cancer compounds, based on information obtained by seeking the latest scientific articles.

Results show that garlic has a large number of molecules with demonstrated activity in treating and preventing tumors. The mechanisms of action in which these molecules are involved interfere in many biochemical pathways within the metabolism of tumor cells, leading mostly to inhibition of progression of tumor growth and death of neoplastic cells.

In addition, organosulfur compounds derived from garlic have anti-cancer activity against different and varied types of cancer, so they constitute an important alternative, less aggressive and with fewer adverse effects than radio and chemotherapy treatments.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El género *Allium* pertenece a la familia Amaryllidaceae (amarilidáceas), que comprende 73 géneros y aproximadamente 1600 especies. La especie *Allium sativum* es muy cultivada en toda la zona del Mediterráneo, ya que se utiliza comúnmente como ingrediente en la comida. Esta especie es conocida vulgarmente con el nombre de “ajo”.

El *Allium sativum* se ha utilizado durante miles de años (su uso se remonta a hace más de 4000 años) como alimento y ha sido venerado por sus propiedades medicinales. Aparece ya descrito desde la antigüedad en documentos aparecidos en Egipto, Grecia, China y la India, que si bien describen sus propiedades, le otorgan numerosos beneficios medicinales.

Este miembro de la familia de las liliáceas es una importante especia consumida hoy en día a nivel mundial y sigue siendo estudiado por sus beneficios a nivel terapéutico.

La especie *Allium sativum* se ha utilizado históricamente por casi todas las civilizaciones en el mundo para el tratamiento de dolores de oído, la lepra, la sordera, diarrea severa, estreñimiento e infecciones parasitarias, y para bajar la fiebre, combatir las infecciones y aliviar dolores de estómago.

Se le atribuyen además propiedades como diaforético, expectorante, antiespasmódico, antiséptico, antiviral, antihelmíntico e hipotensor; se utiliza comúnmente para tratar la bronquitis crónica, infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior e influenza (Newall *et al.*, 1996). Tiene propiedades bactericidas (Cavallito y Bailey, 1944), antibióticas (Stoll y Seebeck, 1951), y fungicidas (Atkins y Moore, 1997).

Sin embargo, el efecto del ajo como potente anticarcinogénico salió a la luz a finales de la década de 1950 después de que Weisberger y Pensky demostraran en 1958 que los tiosulfatos extraídos de la especie poseían propiedades anti-tumorales. Al darse cuenta de este potencial y con la llegada de las técnicas analíticas modernas, se ha producido un aumento en la investigación de ajo por muchos grupos de investigación de todo el mundo.

Estudio fitoquímico de la especie: un diente de ajo medio pesa entre 3 y 6 g y contiene un promedio de 1 g de hidratos de carbono (el 90% del cual está en una forma amilácea llamada sinistrina), 0,2 g de proteínas, 0,05 g de fibra, 0,01 g de grasas y vitaminas A, B1, B2, B3 y C. Cuando la vitamina B1 (tiamina) se combina con la alicina, se llama alitiamina y esta se absorbe fácilmente en el intestino. El ajo contiene alrededor de 10 tipos diferentes de azúcares naturales, que constituyen alrededor de un cuarto del total de sus sustancias; estos azúcares incluyen fructosa, glucosa, inulina y arabinosa.

La especie *Allium sativum* contiene aproximadamente 33 compuestos orgánicos derivados del azufre, entre los cuales cabe destacar la aliína, alicina, ajoeno, alilpropil disulfuro, trisulfuro de dialilo, S-alilcisteína, S-alilmercaptocisteína que se tratarán en profundidad más adelante. Además se han descrito varias enzimas, como alinasa, peroxidasa, mirosinasa y otras y 17 aminoácidos, como arginina y otros.

Además de estos compuestos, el *Allium sativum* es rico en oligoelementos como zinc, magnesio, cobre, selenio y yodo, tocoferoles y polifenoles.

Compuestos bioactivos presentes en *Allium sativum*

Las propiedades biológicas y medicinales beneficiosas del *Allium sativum* se han atribuido a los ya mencionados compuestos orgánicos derivados del azufre (Augusti y Mathew, 1974). En la figura 1 aparecen reflejados los más representativos, así como la porción o extracto de la droga se encuentran.

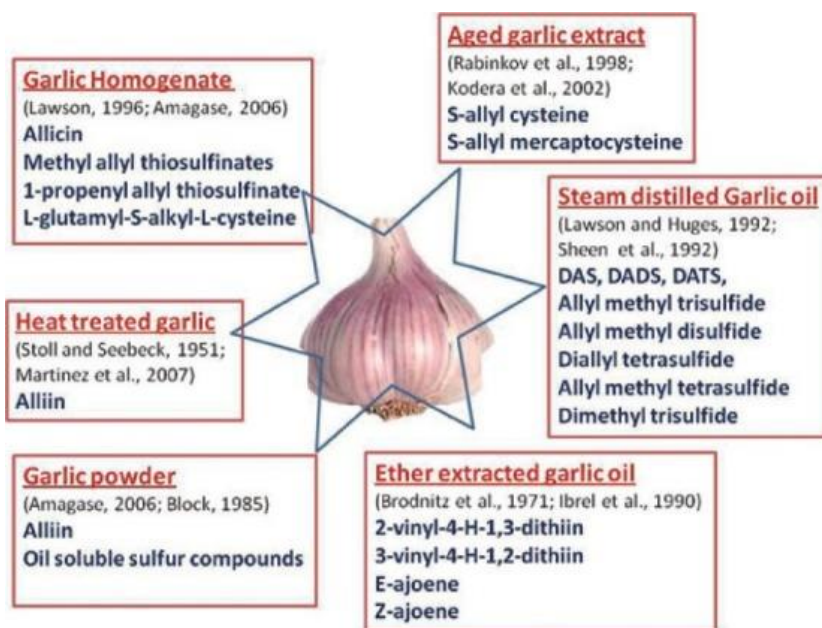


Figura 1. Compuestos orgánicos derivados del azufre y porción o extracto de la droga donde se encuentran. (Raghu R. et al., 2012).

Se han aislado e identificado diferentes compuestos, que se pueden estructurar en dos grupos principales de compuestos que muestran efectos anticancerígenos activos. Un grupo es el formado por los compuestos liposolubles de azufre de alilo, tales como el disulfuro de dialilo (DADS) y el dialil trisulfuro (DATS).

El otro grupo está constituido por los compuestos derivados de γ -glutamyl S-alilcisteína solubles en agua tales como S-alilcisteína (SAC) y S-alilmercaptocisteína (SAMC) (Thomson y Ali, 2003).

Cuando el diente de ajo es dañado por aplastamiento o corte, se activa una enzima llamada alinasa (Stoll y Seebeck, 1951), que transforma rápidamente la aliína en alicina (Block, 1985). Esta alicina es el componente principal del preparado homogeneizado de ajo en fresco (Lanzotti, 2006). El mecanismo de conversión de la aliína en alicina se detalla en la figura 2.

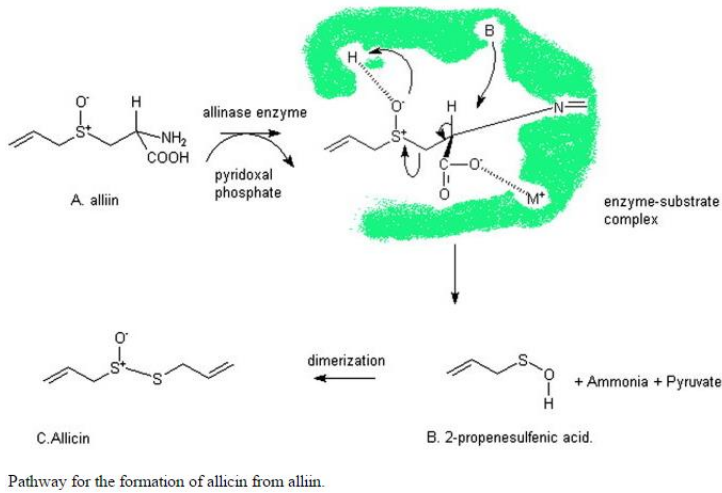


Figura 2. Mecanismo de conversión de la aliína en alicina. (Omar et al., 2010)

Sin embargo, la alicina es un compuesto inestable, por lo que se convierte fácilmente en polisulfuros liposolubles, tales como los anteriormente mencionados sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo (DAS, DATS y DADS respectivamente, por sus siglas en inglés) y tetrasulfuro de dialilo.

Por otra parte, el ajoeno (4,5,9-tritradodeca-1,6,11-trieno-9-óxido) se genera a través de la S-tiolación de la alicina y la adición del ácido 2-propensulfénico. Otro proceso de extracción de ajo da lugar a 2-vinil-4-H-1,3-ditiina y 3-vinil-4-H-1,2-ditiina (Block et al., 1984).

Los productos como el ajo con tratamiento térmico y el ajo en polvo contienen aliína como el compuesto azufrado mayoritario y son carentes de alicina, ya que la enzima alinasa se inactiva por calentamiento.

En la figura 3 aparecen los diferentes compuestos activos que se obtienen a partir de la molécula de aliína.

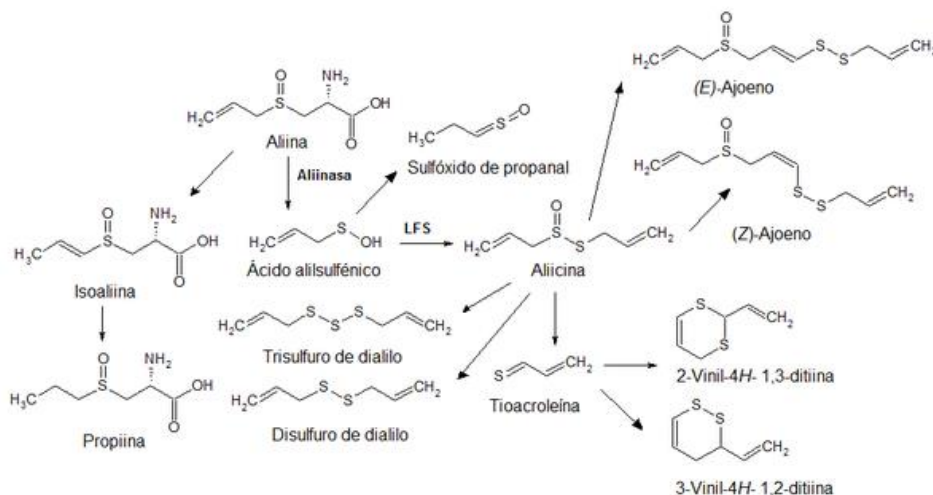


Figura 3. Esquema de los compuestos activos que se obtienen a partir de la molécula de aliína

<https://es.wikipedia.org/wiki/Alina>

La proporción de sulfuros de alilo en el aceite de ajo consta de aproximadamente 4,7-8% de DAS, 21,9-40% de DADS, y 39-41,5% de DATS, aunque estas cantidades dependen de las condiciones de extracción.

Dentro de los diferentes extractos llevados a cabo en la especie, el denominado "extracto de ajo envejecido" (AGE, por sus siglas en inglés) es uno de los más importantes. Debido a la extracción prolongada con etanol al 15-20% a temperatura ambiente, los compuestos responsables del sabor característico y picante del ajo, así como los componentes tóxicos, se transforman de forma natural en compuestos de azufre estables y seguros.

El AGE contiene la mayor parte de todos los compuestos derivados del azufre solubles en agua (S-alil-cisteína y S-alilmercaptocisteína), y pequeñas cantidades de sulfuros de alilo liposolubles. Estos compuestos de azufre solubles en agua, formados durante el envejecimiento del extracto de *Allium sativum*, presentan un elevado potencial antioxidante (Corzo-Martínez *et al.*, 2007).

Se ha descrito la presencia de aceites esenciales en el género, que son extraídos por destilación en corriente de vapor de agua. Estos son además sustancias disponibles en el mercado, habitualmente comercializado en forma de cápsulas a una concentración del 1% y normalmente mezclado con otros aceites vegetales.

El aceite esencial más importante extraído de la especie lleva en su composición DADS, DATS, alil metil trisulfuro, alil metil disulfuro, tetrasulfuro dialilo, alil metil tetrasulfuro, trisulfuro de dimetilo y sulfuro de dialilo Sin embargo, no se ha descrito la presencia de la fracción de compuestos derivados de azufre soluble en agua ni tampoco de aliina y alicina (Iciek *et al.*, 2009). Es importante llevar a cabo un buen método de extracción y cuidar las condiciones de cultivo para obtener una composición óptima de aceites esenciales.

OBJETIVOS

El objetivo fundamental de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica de la especie *Allium sativum*. Para ello, se han revisado los artículos científicos más recientes, donde se describen los principios activos con acción terapéutica que contiene, sus mecanismos de acción y, más concretamente, los principios activos con actividad antitumoral que posee la especie, así como algunos ejemplos de su aplicación en determinados tipos de cáncer.

METODOLOGÍA

Para llevar a cabo la revisión bibliográfica, se han consultado numerosos artículos científicos, utilizando como motor de búsqueda PubMed, introduciendo las palabras clave como “garlic”, “cancer” o “tumor”.

Seleccionando los artículos más interesantes y con más datos clínicos, médicos y fitoterápicos sobre este tema, se ha extraído la información más relevante, para después ordenarla y redactarla de forma clara.

La primera parte del trabajo, trata de describir la composición de la especie, resaltando aquellas moléculas que tienen alguna propiedad antitumoral. A continuación, se describen los posibles mecanismos de acción que son atribuidos a las moléculas descritas. Finalmente, se hace referencia a algunos estudios concretos en los que se habla específicamente de la acción de una determinada molécula sobre un tipo de cáncer en especial.

RESULTADOS

Aunque pueden existir diferencias sutiles entre los preparados de *Allium sativum*, no es la fuente, sino la cantidad la que parece ser el factor clave que influye en el grado de protección antitumoral que aporta (Liu *et al.* 1992). Las variaciones que surgen entre los distintos preparados, probablemente se relacionan con el contenido y la eficacia de compuestos de azufre específicos.

Es importante dilucidar cuáles de los compuestos de azufre, son realmente activos y tienen propiedades contra el cáncer.

Parece ser, tal y como fue descrito por Sakamoto *et al.* en 1997, Sundaram y Milner en 1995 y Tsai *et al.* en 1996, que el número de átomos de azufre en la molécula es un factor importante, que puede estar influyendo directamente en el grado de protección. Tal es así, que según estos autores, queda demostrado que el grado de protección antitumoral es mayor con trisulfuro de dialilo y va disminuyendo con disulfuro de dialilo y sulfuro de dialilo, respectivamente.

Esta idea queda patente en el estudio “in vitro” realizado por Taiichiro Seki *et al* en 2008 en el que examinaron principalmente la actividad anticancerígena de los sulfuros de alquilo, extraídos de *Allium sativum* mediante una purificación por HPLC, utilizando células humanas de cáncer de colon HCT-15 y DLD-1. El crecimiento de las células fue suprimido significativamente por trisulfuro de dialilo, pero ni el monosulfuro de dialilo ni el disulfuro de dialilo mostraron tal efecto.

Para examinar el efecto del trisulfuro de dialilo, y su intervención en la progresión del ciclo celular, se efectuó un análisis mediante citometría de flujo. En condiciones normales de cultivo, es decir, en ausencia de los compuestos azufrados, la distribución del ciclo celular de la mayoría de las células HCT-15 fue la siguiente: 51% en la fase G1, 35% en la fase S, y 14% en la fase G2/M a las 0 h.

La incubación de las células HCT-15 con una solución 20 μM de trisulfuro de dialilo causó cambios drásticos la población celular, especialmente en las fases G1 y S.

La población de células en las fases G2/M fase aumentó notablemente de forma tiempo-dependiente al ser tratadas con trisulfuro de dialilo: aproximadamente el 70% de las células se detuvieron en la fase G2 /M.

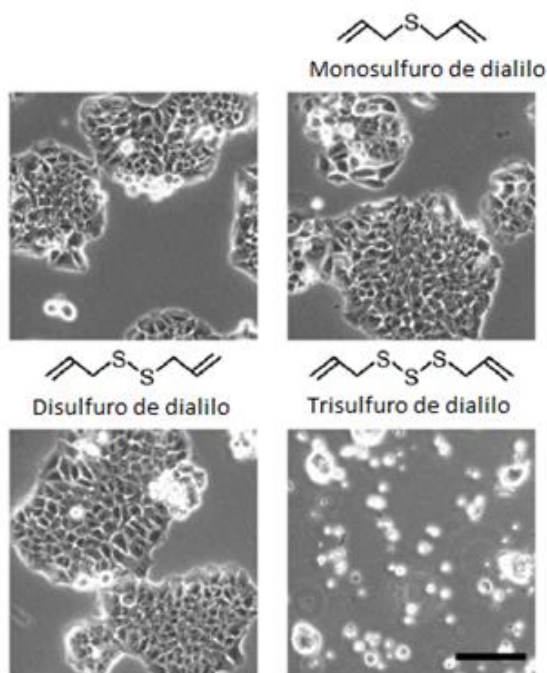


Figura 4. Cambios sufridos en la morfología de las células tumorales HCT-15, tratadas con una solución 20 μM de, respectivamente, monosulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo y trisulfuro de dialilo, respectivamente.

(Seki *et al.*, 2008)

Las células con contenido en ADN sub-G1, un indicador de la apoptosis (ADN $< 2n$), aparecieron a las 12-16 h después de la adición del trisulfuro de dialilo y aumentaron a partir de entonces.

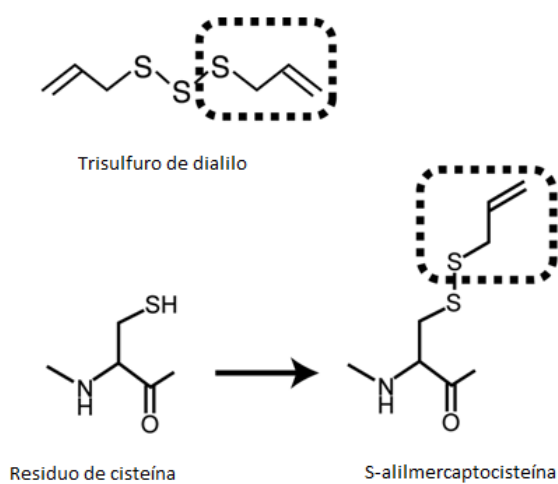
La actividad de la caspasa-3, una caspasa efectora, que participa en el proceso de apoptosis celular, también aumentó de forma espectacular en el momento en el que las células fueron detenidas en la fase G2 / M. Estos datos indicaron que el trisulfuro de dialilo es capaz de detener el ciclo celular en la fase G2 / M e inducir la apoptosis.

En este mismo estudio, otro fenómeno observado en estas células, parece estar relacionado con su actuación sobre los microtúbulos.

Los microtúbulos, son proteínas presentes en las células eucariotas como componentes del citoesqueleto y desempeñan papeles fundamentales en una gran variedad de procesos celulares que incluyen la división celular o la motilidad.

Los microtúbulos, son polímeros dinámicos compuestos de heterodímeros de $\alpha\beta$ -tubulina y forman los husos mitóticos, cuya función es introducir las moléculas de ADN replicado en las células hijas.

La microscopia con inmunofluorescencia utilizando un anticuerpo anti- β -tubulina mostró que el trisulfuro de dialilo, interrumpe la formación de la red de microtúbulos. Además de la inhibición de la formación del huso mitótico y la consiguiente detención del ciclo celular en la fase mitótica. Se ha observado, que esta detención mitótica causada por agentes que interfieren en la formación de los microtúbulos, precede a la muerte celular apoptótica.



Mediante una espectrometría de masas, se demostró que el trisulfuro de dialilo era capaz de oxidar los grupos sulfhidrilo de la tubulina en Cys12 β y Cys354 β para formar grupos disulfuro, tal y como se muestra en la figura 5.

Figura 5. Oxidación del grupo sulfhidrilo de la tubulina, llevada a cabo por el DATS, formando en consecuencia, un puente disulfuro

Este estudio puso de manifiesto que esta modificación oxidativa de Cys12 β y Cys354 β por el dialil trisulfuro causaba la disfunción de la tubulina e interrumpía así la formación de la red de microtúbulos celular.

A su vez, se formaba S-alilmercaptocisteína en la molécula de tubulina, la cual producía la detención del ciclo celular en la fase G2/M.

Del mismo modo, la presencia del grupo alilo generalmente mejoraba la acción protectora de la molécula frente a la proporcionada por el resto propilo (Hu *et al.* 1997, Sundaram y Milner 1995).

Mecanismos de acción antitumoral

Se han descrito, varios mecanismos que explican los efectos preventivos, de los compuestos extraídos de *Allium sativum* frente el cáncer y de los compuestos orgánicos derivados del azufre en otras especies de este género.

Estos incluyen la inhibición de la mutagénesis, la modulación de la actividad enzimática, la inhibición de la formación de aductos de ADN, la captación de radicales libres, y los efectos sobre la proliferación celular y el crecimiento tumoral.

Inhibición de la mutagénesis

Los extractos acuosos y metanólicos de *Allium sativum* fueron capaces de inhibir la actividad mutagénica de la aflatoxina B1 en *Salmonella typhimurium* (Soni *et al.*, 1997). El extracto acuoso de la misma especie, disminuyó también la mutagenicidad provocada por 4-nitroquinolina-1-óxido en *Escherichia coli* (Zhang *et al.*, 1989) y la mutagenicidad de la radiación γ , peróxido de hidrógeno, cumeno, hidroperóxidos de t-butilo en *S. typhimurium* (Knas Muller *et al.*, 1989).

Modulación de la actividad enzimática

Se ha demostrado que los compuestos orgánicos de azufre modulan la actividad de las enzimas glutatión S-transferasas (GST), una familia de enzimas importantes en la detoxificación de carcinógenos, y de los citocromos P450 (CYP), una familia de enzimas que activan muchos carcinógenos químicos en animales de experimentación. En 1986, Sporn *et al.* demostraron por primera vez que el alil metil trisulfuro (AMTS, por sus siglas en inglés) aumentaba la actividad de la GST en el estómago, en la mucosa del intestino delgado, en el hígado y en el pulmón de los ratones.

Los derivados con un propilo en lugar de un grupo alilo resultaron menos activos o inactivos. Estos resultados fueron en parte confirmados por Sumiyoshi y Wargovich en 1990, quienes encontraron un mayor efecto de los derivados de tioalilo frente a los derivados de tiopropilo en la inducción de GST hepática y colónica en ratones.

En contraste, el DAS no aumentó la actividad de la GST en el hígado de ratón (Wargovich, 1987) o en un cultivo de hepatocitos de rata (Hayes *et al.*, 1987). La actividad de la GST mamaria y hepática se incrementó por la adición de polvo de ajo a la dieta de las ratas. Sin embargo, la máxima actividad de GST no coincidía con la inhibición máxima de la carcinogénesis, lo que indica que una mayor actividad de la GST no aporta la plena protección proporcionada por el polvo de ajo contra la carcinogénesis.

Por lo tanto, los efectos sobre las enzimas que activan carcinógenos químicos no son suficientes para explicar la actividad preventiva frente al cáncer. Por ejemplo, una dosis oral de DAS suprimía la carcinogénesis esofágica inducida por N-nitroso metilbencilamina en ratas y reducía significativamente la conversión microsomal de esta nitrosamina en el hígado, pero no en el esófago (Wargovich *et al.*, 1988).

La inclusión de DADS en la dieta de las ratas aumentó no sólo la actividad de GST, sino también la de otras enzimas detoxificantes, como por ejemplo la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida [NAD(P)H] , una oxidorreductasa quinona-dependiente que está implicada en la detoxificación de los metabolitos de quinina del benzo[a]pireno. También es el caso de la uridina difosfato (UDP) - glucuronosiltransferasa en tejidos de rata (Munday y Munday, 1999).

El DAS también actuó como un inhibidor competitivo de la N-dimetilnitrosamina desmetilasa (Brady *et al.*, 1988). También disminuyó la actividad de CYP2E1 de una forma tiempo y dosis-dependiente e indujo la actividad de CYP2B1 en microsomas hepáticos (Brady *et al.*, 1991).

Reicks y Crankshaw (1996) hallaron que el DAS, DADS y AMS disminuían la actividad de la p-nitrofenol hidroxilasa y la concentración de CYP2E1 en hígado de rata. Cuando la dieta de las ratas se complementó con DAS y DADS, el DADS aumentó la actividad de varias monooxigenasas y transferasas en el intestino y el hígado; también se incrementaron los niveles de epóxido hidrolasa y CYP2B1/ 2. DADS también disminuía los niveles de CYP2E1 en el hígado.

Los efectos del DAS fueron similares a los de DADS en el hígado, pero solamente la actividad de la epóxido hidrolasa y los niveles de CYP2B1 / 2 se incrementaron en el intestino.

En otro estudio, de Sheen *et al* de 1999, sobre el efecto del aceite extraído del *Allium sativum*, del DAS y del DADS en las actividades de varias enzimas metabólicas en el hígado de ratas alimentadas con dietas ricas en grasa, la actividad GST se incrementó en todos los tratamientos. El aceite de *Allium sativum* indujo la expresión de la forma placentaria de GST y CYP2B1 y la disminución de la expresión de CYP2E1. El DAS y el DADS también modulaban estas enzimas, pero el DAS aumentó principalmente la expresión de CYP2B1, mientras que el DADS aumentaba principalmente la actividad de la GST. En el mismo estudio, se observaron efectos similares sobre la expresión de CYP2E1.

Inhibición de la formación de aductos de ADN

Se cree que la formación de aductos de ADN, es un paso inicial en la carcinogénesis provocada por productos químicos. En la glándula mamaria de rata, el ajo en polvo disminuyó la incidencia de la formación “*in vivo*” de aductos entre el DNA y el 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA) y las cantidades de aductos totales e individuales correlacionados positivamente con la incidencia de tumores mamarios.

El ajo en polvo, el extracto acuoso de ajo, un polvo de ajo desodorizado, un polvo de ajo con un alto contenido de azufre y la S-alilcisteína (SAC) también fueron eficaces contra la formación de aductos DMBA-ADN en células mamarias (Amagase y Milner, 1993).

La formación de aductos de ADN, inducidos por la incubación de células tumorales de vejiga humana con 2-aminofluoreno, fue inhibida por el DAS y el DADS (Chung, 1999).

Por otra parte, un extracto acuoso de ajo crudo y SAC, pero no DAS, inhibió significativamente la formación de aductos de ADN con benzo[a]pireno en linfocitos de sangre periférica humana “*in vitro*” (Hageman *et al.*, 1997).

Neutralización de radicales libres

Los radicales libres, se asocian a varias enfermedades relacionadas con la edad, como el cáncer (Ames *et al.*, 1993). El glutatión reducido (GSH), además de ser un cofactor para GST, también sirve como reductor para la glutatión peroxidasa (GPX), una enzima implicada en la protección natural frente a los radicales libres, junto con la superóxido dismutasa y la catalasa. En el estudio llevado a cabo por Perchellet *et al.* de 1986, se observó que el aceite de *Allium sativum* estimulaba la actividad de GPX y aumentaba el ratio glutatión reducido/glutatión oxidado, que se encontraba disminuido debido al efecto producido por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato en las células epidérmicas. La actividad de la GPX también se incrementó en los tejidos animales tratados con DAS, DADS y aceite de ajo (Sheen *et al.*, 1999). DAS y DADS también aumentaron la actividad de la glutatión reductasa, mientras que el aceite de ajo aumentó además la actividad de la superóxido dismutasa (Sheen *et al.*, 1999).

La S-alilmercaptocisteína (SAMC) y la S-alilcisteína (SAC) aumentaron la síntesis de glutatión reducido (GSH) en las células humanas de cáncer de próstata (Pinto *et al.*, 1997). El extracto de ajo envejecido, la SAC y la SAMC mostraron ser activos en la captación de radicales (Imai *et al.*, 1994).

El DAS, el DADS y el AMS mostraron acciones selectivas en diferentes marcadores en las pruebas para ver su capacidad para reaccionar con radicales libres, derivados del tetracloruro de carbono (Fanelli *et al.*, 1998). El DADS también inhibió la peroxidación lipídica inducida por tetracloruro de carbono.

Efectos sobre la proliferación celular, la apoptosis y el crecimiento tumoral

Los compuestos orgánicos derivados del azufre, provocan la inhibición de la proliferación de células tumorales, y esto se ha descrito en varios estudios donde se tratan diferentes tipos de células tumorales. Es el caso del estudio llevado a cabo por Sundaram y Milner en 1993, que estudiaron el efecto sobre células tumorales mamarias caninas. Fue descrito también en líneas celulares tumorales de colon humano, de pulmón y de la piel (Sundaram y Milner, 1996; Sakamoto *et al.*, 1997), células humanas de neuroblastoma (Welch *et al.*, 1992), células de melanoma humanas y murinas (Takeyama *et al.*, 1993), y células de carcinoma prostático humano (Pinto *et al.*, 1997).

Las poliaminas, principalmente la espermina, juegan un papel importante en la división celular y la diferenciación. Se ha demostrado que la SAMC, pero no la SAC, altera las concentraciones de poliaminas en células de carcinoma de próstata humano, aumentando la concentración de espermidina y disminuyendo la de putrescina y espermina (Pinto *et al.*, 1997).

La ornitina descarboxilasa, una enzima implicada en la síntesis de poliaminas, también se reduce por el DAS (Perchellet *et al.*, 1986; Baer y Wargovich, 1989).

La apoptosis (también conocida como muerte celular programada), es un proceso estrictamente controlado y evolutivamente conservado consistente en el suicidio celular, crítico para el desarrollo embrionario normal y el mantenimiento de la homeostasis del tejido. La desregulación de la muerte celular programada desemboca en numerosos procesos patológicos, incluyendo el cáncer. Por lo tanto, la apoptosis es un importante objetivo en la terapia y prevención del cáncer (Kaufmann y Gores, 2000; Ghobrial *et al.*, 2005).

El efecto antiproliferativo de compuestos orgánicos derivados del azufre, parece estar relacionado estrechamente con la inducción de la apoptosis. La exposición a DADS y DATS, provocó que las células sufrieran apoptosis, la cual puede determinarse por cambios morfológicos celulares y/o la fragmentación del ADN (Sundaram y Milner, 1996; Sakamoto *et al.*, 1997).

Se encontró una correlación positiva entre la fragmentación del ADN inducida por el DADS y un aumento de la concentración de calcio intracelular libre, el cual puede activar endonucleasas dependientes de calcio que conducen a la apoptosis.

Un estudio muy relevante, realizado en el año 2000 por Hong *et al.* demostró que el DAS, el DADS y el extracto de ajo aumentaban el número de células de cáncer de pulmón de células no pequeñas en estado apoptótico. Este aumento era consecuencia tanto de la inducción de la proteína p53 (proteína supresora de tumores) por el DADS como del aumento de la expresión de Bax (proteína pro-apoptótica) y la disminución de la expresión de Bcl-2 (proteína anti-apoptótica), mediados por el DAS y el extracto de ajo.

Inhibición de la progresión del ciclo celular

El ciclo celular también se vio afectado por el DADS, que disminuyó el porcentaje de células tumorales de colon humano en las fases G1 y S y, simultáneamente, aumentó el porcentaje de aquellas células en la fase G2/M (Knowles y Milner, 1998). Estos efectos dependían de la dosis del DADS y la duración de la incubación.

La capacidad del DADS para inhibir la proliferación celular se relacionó con la inducción de la detención de la fase G2/M y con la inhibición de la actividad de la quinasa p34cdc2, que modula la progresión de las células desde la fase G2 a la fase M del ciclo celular. La supresión de la actividad de la quinasa p34cdc2 por el DADS no se produjo mediante una inhibición directa de la proteína, sino a partir de la modulación de los factores que intervenían en la formación y la conversión de la enzima a su forma activa (Knowles y Milner, 2000).

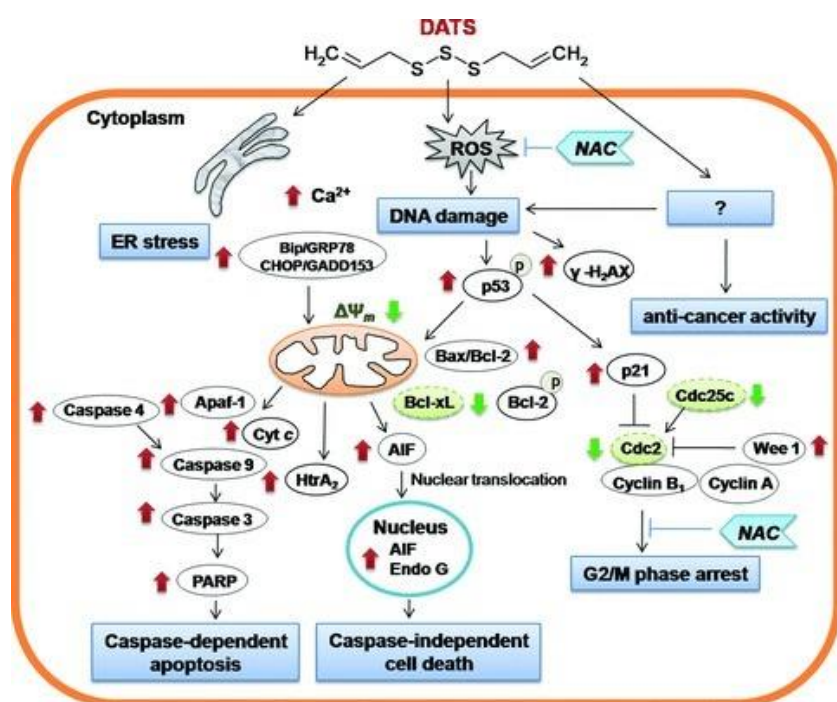
La regulación de la progresión del ciclo celular en células de cáncer humano, estaba relacionada con la modulación, por parte de los sulfuros de alilo, sobre determinados puntos de control del ciclo, tales como la quinasa dependiente de ciclina 1 (Cdk1) y la fosfatasa del ciclo de división celular 25 C (Cdc25C).

Xiao *et al.* demostraron que la detención del ciclo en la fase G2/M, inducida por DADS en células de cáncer de próstata humano, mediante la hiperfosforilación mediada por ROS (especies reactivas de oxígeno) de Cdc25 C se asociaba con un aumento de la fosforilación en el resto Tyr15 de la quinasa Cdk1 y con la inhibición de la actividad de esta enzima.

Se sabe que la fosfatasa Cdc25C y la quinasa Wee 1 desempeñan papeles críticos en el mantenimiento de la detención de la fase G2 a través de la modulación de la fosforilación de Cdk1.

La disminución en la actividad de la fosfatasa Cdc25C, junto con el aumento de la actividad de la quinasa Wee 1 contribuyen a que la Cdk1 (representada en la figura como su homólogo Cdc2) se encuentre hiperfosforilada, que es el estado inactivo de esta enzima. Esto provoca que el ciclo celular se detenga.

Figura 6. Rutas bioquímicas en las que interfiere el DADS. (Wang *et al.*, 2012)



En otro estudio, realizado por Wang *et al* en 2012, se describe cómo una solución de DATS 25 μ M disminuyó la expresión de Cdc25C y Cdc2, aumentó los niveles de Wee 1 y la expresión de ciclina B1 de una manera tiempo-dependiente, lo que dio lugar a una acumulación en la población sub-G1 en A375 y células BCC, dos tipos de células de cáncer de piel o melanoma. El daño en el ADN y la generación de ROS se atribuyó a la detención del ciclo celular en la fase G2/M mediada por DATS.

DATS causó una detención en la fase G2/M temporal, que fue seguida de un aumento en el porcentaje de cantidad de ADN poliploide y contenido de ADN sub-G1, observado en el análisis del ciclo celular a diferentes tiempos (0, 3, 6, 12 y 24 h). Estos resultados están en línea con los informes que aseveran que en las células sin reparación completa del ADN puede producirse una detención de la mitosis, que da lugar a errores en la segregación cromosómica y a la formación de células poliploides aberrantes, lo que posteriormente conduce a la muerte celular.

Protección frente a la formación de nitrosaminas

Mucha información apunta a la capacidad del *Allium sativum* para suprimir la formación de NOC (compuestos N-nitrosos). Se sospecha que los NOC pueden ser compuestos carcinogénicos, así como ser factores ambientales críticos, que influyen en el riesgo de cáncer en los seres humanos (Brown 1999; Ferguson 1999). La exposición a estos potenciales carcinógenos puede ocurrir, ya sea a través de la ingestión o inhalación de nitrosaminas preformadas o por la ingestión de sus precursores (Lijinsky, 1999).

Una reducción en la formación de nitrosaminas puede ocurrir como resultado de una mayor formación de nitrosotioles tras la ingestión de ajo. Williams, en 1983, demostró que varios compuestos derivados del azufre presentes en *Allium sativum* fomentaron la formación de nitrosotioles, minimizando así la cantidad de nitritos disponibles para la síntesis de NOC.

Los estudios realizados por Dion *et al.* en 1997 evidenciaron que varias especies del género *Allium* contenían compuestos que eran eficaces en el bloqueo de la formación de nitrosaminas.

Sus estudios también revelaron que no todos los compuestos organosulfurados alílicos eran efectivos en retardar la formación de NOC. La S-alilcisteína (SAC) y su análogo no alílico S-propilcisteína retrasaban la formación de NOC, pero tanto el disulfuro de dialilo (DADS), como el disulfuro de dipropilo y el sulfuro de dialilo resultaron ineficaces.

Estos datos pusieron de manifiesto el papel crítico que el residuo de cisteína tenía en retardar la formación de NOC (Dion *et al.*, 1997).

Cabe señalar, que parte de la protección frente a la exposición a las nitrosaminas cancerígenas puede ser secundaria, a una reducción en el número de ciertos microorganismos dentro del tracto gastrointestinal.

Varios microorganismos pueden mejorar la síntesis de nitrosaminas. Dion *et al.* (1997) aportaron pruebas de que varios compuestos de sulfuro de alilo liposolubles son agentes antimicrobianos eficaces.

Los beneficios contra el cáncer atribuidos al *Allium sativum* parece que se relacionan, con su capacidad para suprimir la bioactivación de ciertos carcinógenos. Varias publicaciones apuntan a la efectividad de esta especie en el bloqueo de la alquilación del ADN, una etapa primaria en la carcinogénesis mediada por las nitrosaminas (Haber-Mignard *et al.* 1996, Hong *et al.*, 1992, Lin *et al.* 1994).

Compound	Site	Host
1,2-Dimethylhydrazine	Colon	Rat
3-Methylcholanthrene	Cervix	Mouse
4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone	Nasal	Rat
7,12-Dimethylbenz[<i>a</i>]anthracene	Mammary	Rat
7,12-Dimethylbenz[<i>a</i>]anthracene	Skin	Mouse
7,12-Dimethylbenz[<i>a</i>]anthracene	Forestomach	Hamster
7,12-Dimethylbenz[<i>a</i>]anthracene	Buccal pouch	Hamster
Aflatoxin B1	Liver	Toad
Aflatoxin B1	Liver	Rat
Azoxymethane	Colon	Rat
Benzo[<i>a</i>]pyrene	Forestomach	Mouse
Benzo[<i>a</i>]pyrene	Lung	Mouse
Benzo[<i>a</i>]pyrene	Skin	Mouse
Benzo[<i>a</i>]pyrene	Bone marrow	Mouse
Methylnitronitrosoguanidine	Gastric	Rat
N-Methyl-N-nitrosourea	Mammary	Rat
N-Nitrosodiethylamine	Colon	Rat
N-Nitrosodiethylamine	Nasal	Rat
N-Nitrosodimethylamine	Liver	Rat
N-Nitrosodimethylamine	Nasal	Rat
N-Nitrosodimethylamine	Skin	Mouse
N-Nitrosomethylbenzylamine	Esophagus	Rat
Vinyl carbamate	Skin	Mouse

Tabla 1. Agentes carcinogénicos, que son influenciados por los compuestos azufrados alílicos presentes en *Allium sativum*. (Milner, 2001).

Cambios epigenéticos

Probablemente, la detención de la progresión del cáncer después del tratamiento con compuestos alílicos derivados del azufre, también está relacionada con varios cambios epigenéticos.

Los patrones de metilación del ADN y la acetilación/desacetilación de histonas, son dos mecanismos ampliamente estudiados sobre regulación epigenética de genes.

La metilación del ADN y la acetilación de histonas, pueden ser modificados por un aumento de la ingesta de ajo y/o compuestos alílicos de azufre relacionados.

Ludeke *et al.* en 1992, hallaron que el DAS inhibía la formación de O6-metil desoxiguanosina en el esófago (26%), mucosa nasal (51%), la tráquea (68%) y pulmón (78%), la cual surgió después del tratamiento con N-nitrosometilbencilamina. La O6-metil desoxiguanosina es una base púrica modificada por la adición de un grupo metilo, lo cual conduce a errores en la replicación del ADN, con la consiguiente generación de mutaciones que, en muchas ocasiones, terminan dando lugar a células tumorales.

Del mismo modo, los estudios realizados por Lin *et al.* en 1994 y Schaffer *et al.* en 1996 hallaron que el DADS, la SAC y el ajo desodorizado son eficaces para retardar la metilación del ADN causada por NMU (N-nitroso-N-metilurea).

Lea *et al.*, en 1999, informaron de que, al menos, parte de la capacidad del DADS para inducir la diferenciación en células DS19, de eritroleucemia de ratón, podría relacionarse con su capacidad para aumentar la acetilación de histonas.

El disulfuro de dialilo causó un marcado incremento en la acetilación de las histonas H4 y H3, en las células leucémicas humanas DS19 y K562.

Se obtuvieron resultados similares con células de cáncer de mama humano y con células de hepatoma de rata. El mercaptano de alilo resultó ser, un inhibidor más potente de la histona desacetilasa que el disulfuro de dialilo.

Ensayos clínicos y estudios in-vitro más recientes y/o más concluyentes, sobre las propiedades anticancerígenas del *Allium sativum*

Estudio de Charron *et al* de 2015: “Una sola comida compuesta por ajo crudo y triturado influencia la expresión de genes en sangre humana relacionados con la inmunidad y el cáncer”.

En este estudio, se llevó a cabo un ensayo aleatorio de alimentación cruzada, en el que 17 voluntarios consumieron una dieta que contenía ajo (100 g de pan blanco, 15 g de mantequilla, y 5 g ajo crudo, machacado) o una dieta control libre de ajo (100 g de pan blanco y 15 g de mantequilla), después de 10 días consumiendo una dieta controlada libre de ajo. La sangre se recogió antes del consumo de la ingesta de la comida y 3 horas después para el análisis de la expresión génica en sangre.

Se utilizó la técnica Illumina BeadArray para la detección de genes de interés, seguida de una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) de los genes seleccionados a las 0, 3, 6, y 24 h, para cuantificar la cantidad de ARNm. Para aumentar los hallazgos del estudio, un cultivo de células Mono Mac 6 fue tratado con un extracto de *Allium sativum* purificado.

Debido la ingesta de la dieta con ajo, se produjo un incremento en la expresión de los siguientes 7 genes: receptor de aril hidrocarburos (AHR), receptor nuclear translocador de aril hidrocarburos (ARNT), factor 1a inducible por hipoxia (HIF1A), proto-oncogén c-Jun (JUN), factor nuclear de células T activadas (NFAT), motivo 1 de activación basada en tirosina de la activación de la proteína con inmunorreceptor (NF1), la oncostatina M (OSM), y el homólogo del oncogén viral de la reticuloendoteliosis aviar V-rel (REL). Las tasas de aumento en las transcripciones de ARNm variaron de 1,6 (HIF1A) a 3,0 (NF1).

Los niveles de mRNA de 5 de los 7 genes cuya expresión se incrementó en el ensayo humano también se vieron incrementados en el cultivo celular a las 3 y 6 h: AHR, HIF1A, JUN, OSM, y REL. Las tasas de aumento en las transcripciones de ARNm en el cultivo celular variaron de 1,7 (HIF1A) a 12.1 (JUN).

Los genes incrementados tras el consumo de la dieta con ajo tenían una variedad de funciones, incluyendo papeles en el metabolismo de xenobióticos, inflamación, desarrollo de células T y células B, apoptosis e inhibición de la oncogénesis.

La proteína OSM se midió por ELISA y fue significativamente mayor que en el control a las 3, 6, y 24 h. La proteína OSM es una citoquina, que inhibe varias líneas de células tumorales en cultivo.

Estudio de J. Yan *et al* de 2013: “Apoptosis de la línea celular de cáncer gástrico humana SGC 7901 inducida por un compuesto derivado del *Allium sativum*, la S-alilmercaptocisteína (SAMC)”.

Las células SGC 7901 fueron tratadas con SAMC en diferentes concentraciones y luego fueron cultivadas durante 48 h. Se realizó una tinción AO / EB para visualizar la distribución de la cromatina y para evaluar la integridad de la membrana. La ruta celular de JNK y P38 fue analizada mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

El ensayo con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio o MTT se utilizó para evaluar la viabilidad y la proliferación celular.

Las células control se mostraban estrechamente dispuestas, con tamaño uniforme así como una buena vitalidad y refractividad.

Las células tratadas con SAMC presentaban atrofia y vacuolas, encogimiento y disminución del número de células. Además, se produjo una reducción en las uniones entre las células apoptóticas y las células normales adyacentes, e incluso se observó la fragmentación y lisis de las mismas.

El ARN celular total se aisló después de 0, 12, 24, 48 y 72 h de incubación con SAMC y se realizaron RT-PCR y PCR en tiempo real en las moléculas participantes en la ruta metabólica de JNK (quinasa Jun N-terminal) y P38, incluyendo Ras (sarcoma de rata), ERK1 (quinasa 1 regulada por señal extracelular), JNK, P38, C-jun, Elk-1 y P53, así como otros miembros de esta ruta metabólica de apoptosis, incluyendo Bcl2, fas, Bax y procaspasa 3.

El ensayo de PCR indicó que después de la incubación con SAMC, los genes específicos de la ruta apoptótica de JNK y P38, incluyendo Ras, ERK 1, JNK, P38, Elk-1 fas, Bax, procaspasa 3 y P53 se detectaron, y el nivel de la expresión génica de estos mostró un aumento tiempo-dependiente; sin embargo, la expresión de los genes de Bcl 2 y c-Jun mostró una disminución.

Así pues este estudio indicó que la SAMC podía inhibir la proliferación celular e inducir la apoptosis de células SGC 7901 a través de la ruta de JNK y P38, y que este efecto es independiente de la detención del ciclo celular en la fase G2/M inducida simultáneamente por la SAMC.

Estudio de Lan *et al* de 2013: “Efectos del aceite de ajo en células de cáncer pancreático”.

Se realizó el ensayo MTT para estudiar los efectos del aceite de ajo en tres líneas celulares de cáncer de páncreas humano: AsPC-1, Mia PaCa-2 y PANC-1. La viabilidad de las células fue examinada por la tinción de anexina V-FITC y PI (AV-PI) y después se analizó por citometría de flujo.

Se observaron cambios morfológicos de las células de cáncer de páncreas, bajo microscopía electrónica de transmisión (TEM) después del tratamiento con aceite de ajo en concentraciones inhibitorias bajas (2,5 mM y 10 mM) durante 24 horas.

Las células control mostraban una típica forma poligonal. Después de ser expuestas a diferentes concentraciones de aceite de ajo durante 24 h, las células comenzaron a experimentar un proceso de cambios morfológicos: la mayoría de las células se volvieron redondeadas, más pequeñas y algunas incluso se agregaron en esferoides multicelulares. El número de células de la línea AsPC-1 se redujo significativamente después de ser expuestas al aceite de ajo durante 24 h de forma dosis-dependiente.

La proliferación de las 3 líneas celulares, AsPC-1, PANC-1 y Mia PaCa-2, fue claramente inhibida en las primeras 24 horas con el ensayo de MTT.

El efecto del aceite de ajo en la proliferación celular de la línea AsPC-1 se evaluó mediante citometría de flujo a las 24 horas, a través de la medición de la distribución de las células en las diferentes fases del ciclo celular. Se mostró que el % de células en la fase G1 disminuyó de 72,66% a 72,57%, mientras que el % de células en la fase G2/M aumentó de 0,45% a 10,15%. Por lo tanto, el ciclo celular fue detenido de manera drástica en la fase G2/M en comparación con los grupos control.

En la línea celular AsPC-1, a las 48 horas, se mostró un efecto inhibitorio del desarrollo tumoral más significativo, debido probablemente a la alta tasa de proliferación y a la malignidad. Sin embargo, en las células Mia PaCa-2 y PANC-1, a las 48 horas sólo presentaron un efecto inhibitorio manifiesto a concentraciones más elevadas de aceite de ajo.

Estudio de Di *et al* de 2015: “El disulfuro de dialilo (DADS) intensifica la muerte celular apoptótica, inducida por haces de iones de carbono, en el cáncer de cérvix a través de la regulación del ratio Tap73/DNp73”.

La radioterapia, sigue siendo uno de los pilares del tratamiento en el cáncer de cuello uterino avanzado, y todavía hay margen para mejorar la radiosensibilidad, en aras de poder reducir la dosis de radiación.

Los efectos de la radioterapia, evocados por haces de carbono se caracterizan por la inhibición de la viabilidad celular, la detención del ciclo celular, un aumento significativo de las células apoptóticas, la regulación de factores de transcripción, tales como p73, así como alteraciones de mediadores fundamentales de la vía de apoptosis.

Este estudio demostró que el pre-tratamiento con una solución 10 mM de DADS en células tumorales HeLa expuestas a la radiación resultó en una disminución de la viabilidad celular y, lo que es más importante, un aumento de la radiosensibilidad, promoviendo la apoptosis inducida por la radiación.

Por otra parte, la combinación del DADS y la radiación exacerbó la activación de las vías de apoptosis, a través de una regulación a la alza del ratio de Tap73/DNp73; Tap73 es una proteína pro-apoptótica, mientras que DNp73 es una proteína antiapoptótica.

Además, esta misma combinación aumentó la expresión de ciertas proteínas, como FASLG y APAF1. FASLG es una proteína de membrana de tipo II incluida en la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF) de receptores de muerte; se acopla y trimeriza el receptor de muerte Fas en la superficie celular, para iniciar la vía de la apoptosis extrínseca

Por su parte, APAF1 juega un papel central en el mecanismo de muerte celular llamado apoptosoma e inicia la cascada de caspasas, que es responsable de esta fase de ejecución de la apoptosis.

Estos resultados sugirieron, por tanto, que el DADS es un candidato potencial como agente sensibilizante a la radioterapia en el cáncer de cuello uterino.

Estudio de H.T. Hassan de 2003: “El ajoeno como nuevo agente anti-leucemia para la terapia de la AML (leucemia mieloide aguda)”.

El ajoeno (4,5,9-tritriadodeca-1,6,11-trieno-9-óxido) es un compuesto derivado del ajo, producido a partir de la alicina pura y que tiene la ventaja de tener una mayor estabilidad química, con respecto a esta.

En las células de leucemia humana, el ajoeno ha demostrado presentar actividad terapéutica, ya sea frenando la proliferación celular como induciendo la apoptosis, tanto en células de leucemia mieloide CD34-positivas como en células CD34-negativas. La estructura del ajoeno se muestra en la figura 7.

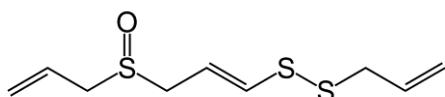
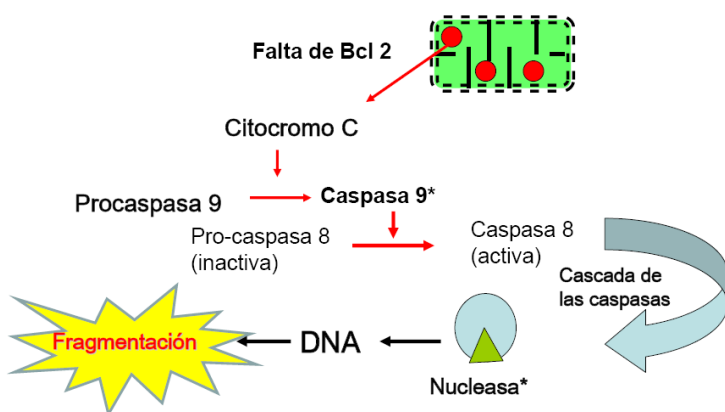


Figura 7. Molécula de ajoeno. <https://en.wikipedia.org/wiki/Ajoeno>.

El ajoeno demostró inhibir la proliferación e inducir la apoptosis de varias células CD34 negativas de leucemia humana, incluyendo las líneas celulares HL-60, U937 o Heland OCIM-1.

Además, se identificaron mecanismos adicionales en la modulación de la apoptosis por el ajoeno en las células HL-60, incluyendo la activación del factor nuclear kappa B y la activación de la proteasa caspasa-8, mediante una ruta de insensibilización frente a Bcl-2. Bcl-2 es un protooncogen, que actúa inhibiendo la apoptosis de las células tumorales.

Además, el ajoeno aumentó de forma significativa el efecto apoptótico de citarabina y fludarabina, dos fármacos quimioterapéuticos, en células de leucemia mieloide humana CD34-positivas resistentes, a través de la elevación de la actividad de estos fármacos sobre la inhibición de Bcl-2 y sobre la activación de la caspasa-3.



La actividad inductora de apoptosis del ajoeno se producía a través de la cascada de caspasas, dependiente de la mitocondria, mediante una reducción significativa de la expresión de Bcl-2, protooncogen anti-apoptótico, que resulta en una liberación de citocromo c y la activación de la cascada de caspasas, que concluye con la activación de la caspasa-3 y la fragmentación del ADN.

Figura 8. Esquema de la activación de la cascada de caspasas mediada por Bcl-2. <https://es.wikipedia.org/wiki/Bcl-2>

En otro estudio sobre el ajoeno de Wang *et al* (2005) se investigó el efecto biológico del ajoeno en el adenocarcinoma de pulmón y el mecanismo subyacente. Se utilizaron líneas celulares de adenocarcinoma de pulmón A549, NCI-H1373, y NCI-H1395, junto con las células no cancerosas bronquiales BEAS-2B. Mediante el ensayo de MTT se demostró que una solución 25 μ M de ajoeno reducía la viabilidad de las líneas celulares de adenocarcinoma de pulmón, pero no la de las células no cancerosas BEAS-2B.

El tratamiento de células de adenocarcinoma de pulmón con ajoeno potenciaba la apoptosis y la generación de ROS en una manera tiempo y dosis-dependiente. La inducción de la apoptosis mediada por ROS contribuía parcialmente a la propiedad antioncogénica del ajoeno. Un bloqueo en esta generación de ROS mediante, por ejemplo, N-acetilcisteína suprimía parcialmente la apoptosis inducida por el ajoeno.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El ajo es una planta utilizada desde hace miles de años tanto por sus propiedades nutritivas como por sus múltiples propiedades terapéuticas. Si bien sus cualidades como agente anticancerígeno fueron descubiertas hace poco más de medio siglo, en los últimos años ha despertado un mayor interés.

En el presente trabajo, se constata la importancia de algunos constituyentes del género *Allium*, esto es, por la cantidad de estudios y ensayos clínicos que se están manejando a este respecto, en los cuales, se somete a la especie, a diferentes extracciones, o bien, se ensaya directamente con alguno de los organocompuestos sulfurados presentes en ella. Estos estudios y ensayos avalan esa eficacia a la hora de combatir una enfermedad, el cáncer, que cada día afecta a un mayor número de personas.

En los tiempos actuales, la fitoterapia vive un momento de auge, contando cada día con una mayor importancia y prestigio dentro de la comunidad científica y una aceptación máxima por parte del público general, llegando incluso a ponerse a la altura de las terapias farmacológicas en algunos países.

Resulta aún temprano para poder afirmar que el ajo puede por sí mismo controlar e incluso curar un proceso tumoral. Pero sí que empieza a ponerse de manifiesto que puede ser un fuerte apoyo, junto a los tratamientos de quimio y radioterapia, a la hora de tratar un cáncer, permitiendo a los profesionales sanitarios poder utilizar dosis más bajas de quimio y radioterapia, y, en consecuencia, disminuir los numerosos efectos secundarios asociados generalmente a dichas terapias.

Además, el *Allium sativum* ha demostrado tener una gran versatilidad, ya que presenta numerosos compuestos bioactivos presentes cuando es sometido a distintos procedimientos (crudo, mediante la obtención de su aceite, por corriente de vapor, por maceración y posterior extracción en distintos solventes...).

Puedo concluir, como resultado de esta búsqueda, que la principal ventaja que se desprende de este trabajo es que el *Allium sativum* presenta en su composición importantes compuestos capaces de combatir el cáncer a diferentes niveles, interfiriendo y modulando los mecanismos de acción y rutas de señalización dentro del metabolismo de las células cancerosas. Esto supone un gran avance, ya que utilizando un mismo compuesto, somos capaces de atacar simultáneamente varios puntos clave para el desarrollo y la viabilidad de las células tumorales.

ANEXO I: BIBLIOGRAFÍA

- Charron CS, Dawson HD, Albaugh GP, Solverson PM, Vinyard BT, Solano-Aguilar GI et al. A single meal containing raw, crushed garlic influences expression of immunity- and cancer-related genes in whole blood of humans. *J Nutr.* 2015; 145: 2448–55.
- Di C, Sun C, Li H, Si J, Zhang H, Han L et al. Diallyl disulfide enhances carbon ion beams–induced apoptotic cell death in cervical cancer cells through regulating Tap73 /DNp73. *Cell Cycle.* 2015; 14(23): 3725-3733.
- Hassan HT. Ajoene (natural garlic compound): a new anti-leukaemia agent for AML therapy. *Leukemia Research.* 2004; 28: 667–671.
- Lan XY, Sun HY, Liu JJ, Lin Y, Zhu ZY, Han X et al. Effects of garlic oil in pancreatic cancer cells. *Asian Pac J Cancer Pre.* 2013; 14 (10): 5905-5910.
- Milner JA. A Historical Perspective on Garlic and Cancer. *J. Nutr.* 2001; 131: 1027S–1031S.
- Omar SH, Al-Wabel NA. Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharm J.* 2010; 18(1): 51–58.
- Raghu R, Lu KH, Sheen LY. Recent research progress on garlic (大蒜 dà suàn) as a potential anticarcinogenic agent against major digestive cancers. *J Tradit Complement Med.* 2012; 2(3): 192–201.
- Seki T, Hosono T, Hosono-Fukao T, Inada K, Tanaka R, Ogihara J et al. Anticancer effects of diallyl trisulfide derived from garlic. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008; 17 (S1): 249-252.
- Wang HC, Pao J, Lin SY, Sheen LY. Molecular mechanisms of garlic-derived allyl sulfides in the inhibition of skin cancer progression. *Ann N Y Acad Sci.* 2012; 1271(1): 44–52.

- Wang Y, Sun Z, Chen S, Jiao Y, Bai C. ROS-mediated activation of JNK/p38 contributes partially to the pro-apoptotic effect of ajoene on cells of lung adenocarcinoma. *Tumor Biol.* 2015.
- Yan JY, Tian FM, Hu WN, Zhang JH, Cai HF, Li N. Apoptosis of human gastric cancer cells line SGC 7901 induced by garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine (SAMC). *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17: 745-751.
- Zhang Y, Li HY, Zhang ZH, Bian HL, Lin G. Garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine inhibits cell growth and induces apoptosis via the JNK and p38 pathways in human colorectal carcinoma cells. *Oncol Lett.* 2014; 8(6): 2591–2596.

ANEXO II: NOMENCLATURA UTILIZADA

ADN → Ácido desoxirribonucleico

AGE → Extracto de ajo envejecido

AMS → Alil metil sulfuro

AMTS → Alil metil trisulfuro

ARNm → Ácido ribonucleico mensajero

DADS → Sulfuro de dialilo

DAS → Sulfuro de dialilo

DATS → Sulfuro de trialilo

DMBA → 7,12-dimetilbenz[a]antraceno

GSH → Glutation reducido

GPX → Glutation peroxidasa

GST → Glutation-S-transferasa

MTT → Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

NMU → N-nitroso-N-metilurea

NOC → Compuestos N-nitrosos

qRT-PCR → Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real

ROS → Especies reactivas de oxígeno

SAC → S-alilcisteína

SAMC → S-alilmercaptocisteína