



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Los selacimorfos como posible fuente de fármacos antitumorales

Christina Daniela Picazo Ortega

Grau de Biologia

Any acadèmic 2017-18

DNI de l'alumne: 45184365Z

Treball tutelat per Bernhard Oliver Vögler
Departament de Biologia

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

tiburón, cáncer, angiogénesis, antitumoral, fármaco, quimioterapéutico.

Índice

1. ABREVIATURAS.....	página 2
2. RESUMEN.....	página 3
3. INTRODUCCIÓN.....	páginas 4-10
4. HIPÓTESIS.....	página 11
5. OBJETIVOS.....	página 11
6. METODOLOGÍA.....	páginas 12-13
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	páginas 14-24
8. CONCLUSIÓN.....	página 25
9. BIBLIOGRAFÍA.....	páginas 26-29

Abreviaturas

- AE-941: “neovastato” (del inglés *Neovastate*)
- bFGF: “Factor de Crecimiento básico de Fibroblastos” (del inglés *Basic Fibroblast Growth Factor*).
- CAM: “Ensayo en Membrana Corioalóntica ” (del inglés *Chorioallontic Membrane Assay*).
- FGF: “Factor de Crecimiento de Fibroblastos” (del inglés *Fibroblast Growth Factor*).
- ICR: “Instituto de Investigación de Cáncer” (del inglés *Institute of Cancer Research*).
- NCBI: “Centro Nacional para la Información Biotecnológica” (del inglés *National Center for Biotechnology Information*).
- NLM: “Biblioteca Nacional de Medicina” (del inglés *National Library of Medicine*).
- TAF: “Factor Antiangiogénico de Tumores” (del inglés *Tumor Angiogenesis Cancer*).
- VEGF: “Factor de crecimiento del endotelio” (del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor*).
- WHO : “Organización Mundial de la Salud” (del inglés *World Health Organization*).

Resumen

Históricamente los productos naturales han sido recursos importantes para la medicina tradicional y fueron obtenidos de diversos organismos como pueden ser las bacterias, plantas o animales. Su eficacia farmacológica se debe a la presencia de compuestos con una bioactividad relevante que en se encuentran mezclados con otras sustancias en el producto natural. La medicina moderna se basa en descubrir cuáles son estos compuestos bioactivos, aislarlos y utilizarlos como principio activo único en los fármacos actuales.

En las últimas décadas la búsqueda de nuevos compuestos naturales se ha extendido a la biosfera acuática encontrando compuestos antitumorales como el trabectedin (Yondelis®) de la especie *Ecteinascidia turbinata*. En este contexto, los selachimorfos son un superorden del reino animal que también han sido considerados como una posible fuente de compuestos bioactivos debido a que son poco susceptibles al padecimiento de ciertas enfermedades, en parte debido al sistema inmune que presentan pero también por determinadas sustancias que son características de su fisiología. Estas sustancias se encuentran en distintas partes de la anatomía del tiburón, pero abundan en el cartílago y pueden poseer propiedades muy diversas como la antimicrobiana, antiviral o antitumoral.

Tres de las sustancias estudiadas hasta el momento exhibieron una actividad antitumoral importante: el neovastato, el U-995 y la escualamina. Estos resultados fueron obtenidos en experimentos con animales, y en particular la escualamina, presente en el cartílago de los tiburones, mostró tanto un efecto antiangiogénico como antimetastásico. Posteriormente, la escualamina y el neovastato entraron en estudios clínicos con humanos para desarrollarlos como fármacos antitumorales.

Introducción

Fármacos de origen natural

Hace miles de años que los productos naturales han sido utilizados por los humanos como recursos beneficiosos y han sido una parte integral de la medicina tradicional. Estos productos pueden ser extractos, exudantes o compuestos aislados (actualmente), y provienen de organismos microbianos, plantas o animales, así como de algunas de sus partes, como las hojas en el caso de plantas, y de órganos en caso de los animales.

El proceso llevado a cabo para el descubrimiento de nuevos fármacos, se desarrolla de manera compleja y a medida que han pasado los años las técnicas de descubrimiento han ido mejorando cada vez más. De este modo cuando se tiene una enfermedad cuyo tratamiento es desconocida lo primero que se hace es definir una diana molecular sobre la cual el futuro medicamento deberá actuar, como pueden ser receptores, enzimas, canales iónicos, moléculas portadoras, entre otros.

Una vez definida la diana molecular en cuestión se debe encontrar un compuesto químico eficaz que interfiera con ésta y mediante la tecnología se procede a hacer la selección de aquellos compuestos capaces de interferir con ella.

El proceso se lleva a cabo mediante robotización y sistemas automatizados, en dónde se prueban miles de compuestos químicos de forma indiscriminada para así definir cuáles son los que más eficazmente regulan la diana previamente seleccionada. Este proceso continuo de miles de experimentos en un relativamente corto periodo de tiempo se conoce como cribado de alto rendimiento (inglés: "*high-throughput screening*"). A continuación de este cribado se procede a realizar distintos ensayos con aquellos compuestos seleccionados por interactuar mejor con la diana y así se ve con mayor posibilidad el compuesto más potente de todos los probados para convertirse en un nuevo fármaco. Finalmente se procede con los distintos fases clínicas del desarrollo del fármaco.

Sin embargo, un número elevado de ingredientes activos que se usan en la medicina moderna han sido derivados de recursos naturales con un potente efecto farmacológico dando de lado a otros sintetizados artificialmente. Muchos de los productos naturales utilizados en medicina son compuestos que se encuentran provienen principalmente de plantas.

De todas las especies de plantas que hasta ahora se han descubierto, únicamente han sido estudiadas entre un 5-10% (Palmer et al., 2004). A pesar del bajo porcentaje se pueden destacar algunos ejemplos de fármacos naturales muy eficaces :

- 1) Morfina: La morfina se encuentran concretamente en el opio, un producto natural que se extrae de las cápsulas de la planta adormidera (*Papaver somniferum*) realizando incisiones superficiales en las cabezas de la planta, una vez los pétalos de las flores han caído. De esas incisiones se secreta látex de color blanco, que al secarse se torna una resina marrón y pegajosa. Finalmente, el opio se obtiene bruto del raspado de esta resina. Esta planta medicinal ya se cultivaba hace 6400 años por los sumerios y es probablemente la planta medicinal más antigua cuyo principio activo, la morfina, se sigue utilizando hasta hoy en día. La morfina es un metabolitos secundario de la planta sintetizado a partir del metabolismo de aminoácidos y pertenece al grupo químico de los alcaloides. Como sustancia puro se aisló por primera vez en 1804 por Friedrich Sertürner (Sertürner, 1805) y es uno de los fármacos más potentes de origen natural que se conocen. En la medicina se utiliza como analgésico para controlar multitud de dolores entre los que se encuentran el dolor provocado por golpes, post-quirúrgicos, dolor de huesos, e incluso para los dolores que provocan los cánceres.
- 2) Digoxina: La digoxina pertenece a grupo químico de los glucósidos cardíacos, un grupo de principios activos que se puede encontrar en los extractos de las plantas de la familia *Digitalis* (Hollman, 1996). Durante muchas décadas los glucosidos cardíacos fueron las únicas sustancia para tratar la insuficiencia cardíaca que es la incapacidad del corazón para bombear sangre, pero por el estrecho margen de la dosificación terapéutica la digoxina actualmente solo se aplica para tratar trastornos cardíacos como puede ser la fibrilación auricular, es decir por latidos auriculares arrítmicos.
- 3) Ácido salicílico: El ácido salicílico (ácido 2-hidroxibenzoico) está presente en la corteza del sauce (*Salix alba*) cuyos efectos para aliviar la fiebre y el dolor se conocen desde el año 1763 pero actualmente su usos más frecuentes son dermatológicos, es decir, tratar acné, psoriasis, verrugas y prevenir la aparición de espinillas entre otras (Davies & Marks,1976). Más importante es que el ácido salicílico dio lugar a la síntesis de un derivado químico, el ácido acetilsalicílico, que hoy en día se comercializa bajo la marca Aspirina® que fue declarado como fármaco esencial por la WHO en el año 1977.

- 4) Atropina: Se extrae de una familia de plantas de la familia Solanaceae y concretamente de la *Atropa belladonna*. La atropina se utiliza en fármacos anticolinérgicos que reducen los efectos que produce la acetilcolina en el sistema nervioso central y el sistema nervioso periférico.

“Las plantas terrestres han sido la fuente primordial de productos naturales para la medicina tradicional y, como consecuencia, también en gran medida de los principios activos que se utilizan todavía en los fármacos modernos. Sin embargo, esta fuente natural no es la única que puede contener compuestos bioactivos con efectos farmacológicos importantes. Por este motivo, la constante búsqueda de nuevos compuestos farmacológicos se ha enfocado recientemente en los organismos marinos, lo que ha dado lugar a la comercialización de un novedoso fármaco con propiedades antitumorales (Yondelis®). Se trata de un compuesto conocido en 1969 por tener una actividad antitumoral (Worthen, 1972). Se extrae concretamente del organismo *Ecteinascidia turbinata* (Allavena et al., 2005) y es utilizado en pacientes con avanzado estado de cáncer (Beumer et al., 2005).

El hecho de que se ha podido aislar una sustancia de un organismo marino que actualmente se utiliza en el tratamiento de pacientes con determinados tipos de cáncer sugiere que en la biosfera marina se puedan encontrar más compuestos bioactivos con efectos explotables a nivel farmacológico. En este contexto, destaca una característica fisiológica que se ha atribuido durante las últimas décadas a los selacimorfos (tiburones), un superorden de la clase de los condriictios (peces cartilagosos), que es la ausencia de ciertas patologías, en particular aquellas relacionadas con procesos tumorales (Moore et al., 1993). Esta observación convierte los selacimorfos en un objeto de estudio interesante para desarrollar compuestos farmacológicos contra esta enfermedad.

Procesos tumorales

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por un proceso descontrolado de la división de las células que forman un organismo. La rápida división de las células produce tumores, los cuales pueden ser:

- Benignos: tienen un crecimiento lento, no se propagan a otros tejidos y rara vez recidivan después de haber sido extirpados.

- Malignos (cáncer): aquellos que tienen un crecimiento rápido y se propagan a tejidos; además en muchas ocasiones después de ser extirpados vuelven a recidivar.

El hecho de padecerlo no se debe a una única causa, sino que es el resultado de la interacción de muchos factores tanto ambientales (90-95%) como genéticos (5-10%) (Houlston et al., 2008) y puede ser causa de muerte en caso de no recibirse tratamiento. El término técnico del proceso de formación de un cáncer es la carcinogénesis y es causado por mutaciones en el material genético de las células sanas, alterándose así el balance entre la proliferación y muerte celular, independientemente de los factores ambientales o genéticos. Como resultado se produce una división celular descontrolada. (Croce, 2008). El proceso de carcinogénesis comienza de forma localizada y a medida que la enfermedad avanza se extiende a otros tejidos circundantes, lo que se conoce como proceso de metástasis.

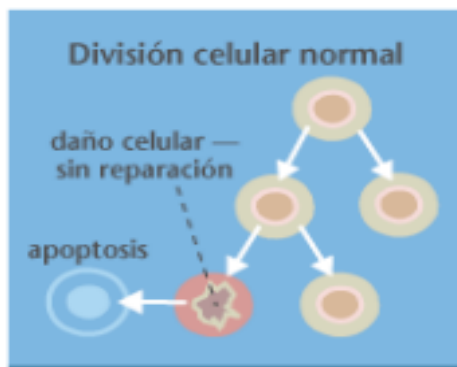


FIGURA 1. Proceso de división celular en células con ausencia de daño celular. (Fuente Instituto Nacional de Salud Americano, 2004).



FIGURA 2. Proceso de división celular en células con presencia de daño celular. (Fuente Instituto Nacional de Salud Americano, 2004).

El proceso de formación de un cáncer que comienza desde las primeras mutaciones de las células hasta que se produce la enfermedad, se conoce con el término de historia natural. Este término describe las etapas de evolución del cáncer en cuestión. En adultos la duración de la historia natural depende del tipo de cáncer y va desde los meses hasta las décadas. En cambio en los niños el proceso se acelera durando como máximo unos meses.

Esto se debe a que las células de los niños son más inmaduras y su división es más rápida que en las células de los adultos.

Las fases del cáncer se dividen en cuatro (Meza, 2008):

1. - Primero se producen los cambios que dan distintas características de malignidad a las células, es decir, la multiplicación descontrolada y la capacidad de invasión. Es la etapa de más larga duración y se denomina inducción. Esta fase no causa sintomatología.
2. - La segunda fase se denomina fase "in situ". Se caracteriza por la producción de lesiones cancerosas localizadas en el tejido donde se ha originado y de ámbito microscópico. En esta fase tampoco se producen sintomatología ni molestias en el afectado.
3. - Posteriormente la lesión de la segunda fase comienza a extenderse fuera de la localización de origen y se invaden tejidos u órganos adyacentes, lo que se conoce como invasión local. Aquí ya comienzan a aflorar síntomas, los cuales serán de mayor o menor daño dependiendo del tipo de cáncer, de la localización y del crecimiento.
4. - Por último, el cáncer se extiende fuera del lugar del origen, apareciendo síntomas tumorales a distancia lo que se conoce como invasión a distancia. La sintomatología es compleja y además de depender de la localización depende de la extensión del cáncer.

La angiogénesis es un proceso fisiológico que consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros vasos preexistentes. Este proceso se lleva a cabo normalmente en el desarrollo embrionario, crecimiento del organismo y cicatrización de heridas, además de en el crecimiento maligno del cáncer. De igual manera que las células normales y sanas, las células tumorales requieren de oxígeno para sobrevivir, por lo que la cantidad de vascularización al tumor por parte del huésped será importante para determinar el tamaño que este tendrá (Damataa & Cabralb, 2012). A veces, muchos de los tumores tienen una velocidad de crecimiento que supera a la de vascularización, lo que se conoce como zonas de necrosis isquémica. La vascularización de los tumores depende de factores angiogénicos. Los factores más importantes son el factor de crecimiento del endotelio (VEGF) y el factor de crecimiento básico de los fibroblastos (bFGF) (Martínez-Ezquerro & Herrera, 2016).

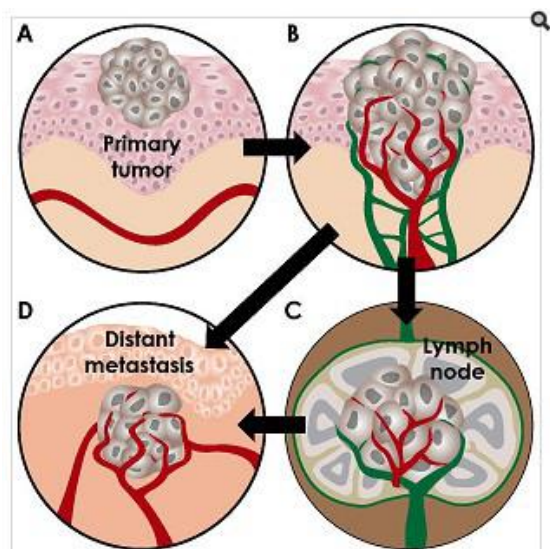


FIGURA 3. Representación del proceso angiogénico resumido en la figura A-B para el consecuente proceso de metástasis (Fuente: Bielenberg & Zetter, 2015).

El crecimiento del tumor depende del equilibrio entre los factores angiogénicos y los antiangiogénicos. Actualmente el papel de los antiangiogénicos es una fuente de estudio bastante trascendental.

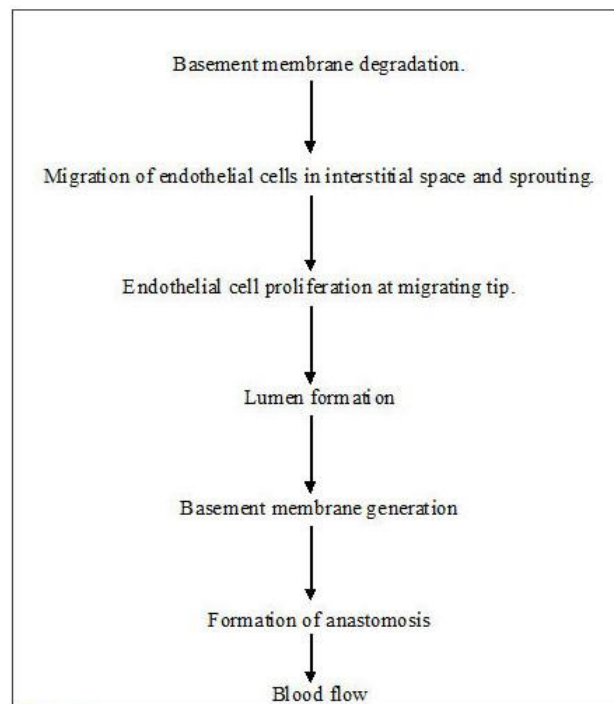
Angiogenina	Factor de crecimiento transformante: alfa y beta (TGF α , TGF β)
Angiopoyetina 1	Factor de necrosis alfa (TNF α)
Proliferina	Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF)
Factor Crecimiento BB derivado de plaquetas (PDGF-BB)	Folistatina
Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)	Hormona del crecimiento (somatotropina, GH)
Factor de crecimiento fibroblástico (FGF): ácido y básico.	Interleucinas 1 y 8 (IL-1, IL-8)
Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)	Midkina
Factor de crecimiento placentario	Leptina
Factor de crecimiento de cél. endoteliales derivado de plaquetas (PD-EGF)	Pleiotropina (PTN)

TABLA 1. Tabla con los factores de crecimiento angiogénico más conocidos. (Fuente: Gagnon et al., 2000.)

En definitiva, el proceso angiogénico sigue estos siguientes pasos para que se produzca el

tumor:

1. - Las células tumorales liberan factores de crecimiento tales como VEGF y FGF, con tal de atraer a las células endoteliales a la masa tumoral.
2. - Las células endoteliales junto con otras células secretan enzimas para degradar las proteínas en la membrana basal de las venas (nunca en arterias).
3. - Las células endoteliales, concretamente las denominadas “células en punta”, comienzan a migrar hacia la fuente estimulante, generalmente en ángulos rectos al vaso existente.
4. - Se continúa la migración de las células y las células que se encuentran detrás de las células en punta”, denominadas “células del tallo”, proliferan y se alinean en un orientación denominada “orientación en archivo”.
5. - Posteriormente las células alineadas se transforman entonces creando un lumen o tubo en el centro del vaso recién formado.
6. - Finalmente la sangre es perfundida en el lumen del nuevo brote. Los capilares se retuercen y se interconectan para crear un plexo dentro del tumor.



Table/Fig-11

FIGURA 4. Esquema del proceso angiogénico. (Fuente: Yadav et al., 2015)

Así pues, se demostró “in vitro” que la angiogénesis no sólo está implicada en proporcionar oxígeno y nutrientes sino que es el requisito esencial para que se lleve a cabo el crecimiento de tumores y el proceso de metástasis. Es un complejo proceso que viene determinado por la coordinación de reguladores biológicos que activan el mecanismo angiogénico. Los avances en estos estudios “in vitro” condujeron a comprender el desarrollo de agentes antiangiogénicos y antimetastásicos (Yadav et al., 2015).

Hipótesis

Los selacimorfos son animales que presentan cierto grado de inmunidad hacia diversas enfermedades entre las que se encuentran los tumores. Esto puede deberse a la presencia de alguna sustancia fisiológica capaz de combatir la aparición de cánceres.

Objetivos

El objetivo principal es evaluar mediante una revisión bibliográfica si los selacimorfos poseen de compuestos bioactivos ya conocidos que podrían ser responsables de la ausencia de enfermedades cancerosas. El objetivo secundario es estimar el potencial de los compuestos bioactivos encontrados como posibles fármacos antitumorales.

Metodología

Las bases de datos científicas son recopilaciones de publicaciones de ámbito científico-técnico como por ejemplo revistas, libros, tesis doctorales, entre otros. Su principal objetivo se centra en reunir toda la producción bibliográfica existente sobre un área de conocimiento determinada.

El tema de este trabajo fin de grado engloba dos disciplinas científicas principales, la zoología y la medicina, de las cuales predomina la parte médica en el contexto de la búsqueda bibliográfica. Por este motivo, la revisión bibliográfica del presente trabajo se llevó a cabo mediante la utilización de la base de datos PubMed, que es una base de datos desarrollada por la *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) en la *National Library of Medicine* (NLM).

Las palabras clave seleccionadas para realizar la posterior búsqueda fueron:

selacimorpha como palabra clave principal, combinado con una de las palabras secundarias

- 1) *drugs*
- 2) *antitumoral*
- 3) *cancer*
- 4) *angiogenesis*
- 5) *chemotherapeutic*.

A medida que la búsqueda se llevó a cabo se observó que a través de la combinación de la palabra clave “*selacimorpha*” con el resto de ellas, no se obtuvieron resultados en absoluto. De modo que se buscaron publicaciones usando sólo la palabra clave “*selacimorpha*” sin combinación con otra. Como resultado se obtuvieron tres publicaciones y se obvió la posibilidad de algún error en la base de datos. Cabe decir que a pesar de obtener tres resultados, éstos no presentaban relación alguna con el tema del trabajo.

Por consiguiente se cambió la palabra clave “*selacimorpha*” por “*sharks*”; se obtuvieron 5556 resultados. El hecho de haber obtenido tanta diferencia de resultados con el uso de una u otra palabra clave se debe principalmente a que la base de datos PubMed presenta terminologías de ámbito más médico y no tanto biológico, de modo que el lenguaje taxonómico empleado con la palabra clave “*selacimorpha*” no fue útil para las búsquedas de publicaciones en esta base de datos médicos. Así, una vez iniciada la búsqueda con la palabra clave “*sharks*” en combinación con las demás palabras clave se encontraron

publicaciones útiles y relacionadas con el tema tratado en este trabajo ya que se observaban como trataban temas de farmacología, enfermedades e incluso cáncer.

Combinación	Totales	Útiles
Sharks + angiogenesis	34	21
Sharks + cancer	139	24
Sharks + antitumoral	0	0
Sharks + drugs	151	11
Sharks + chemotherapeutic	1	1
Totales con solapamiento	325	57
Totales sin solapamiento	304	35

TABLA 2. Publicaciones relacionadas con el tema (buscadas mediante la palabra clave “sharks”).

En la Tabla 1. aparecen representados los resultados totales de la combinación de cada palabra clave en donde la columna de “Totales” son todos los resultados obtenidos por la búsqueda. A continuación, se realizó una primera valoración de estos resultados a través del título de los artículos para evaluar su relación real con el tema del trabajo y así incluirlos dentro del grupo de “Útiles” y excluir aquellos que resultaron ser falsos positivos. Consecuentemente, se procedió a dos valoraciones más de los artículos potencialmente útiles por su título, con la misma finalidad anterior, caracterizadas por la inclusión de artículos en el grupo “Útiles” a partir del “abstract” y en finalmente la lectura de los artículos.

Por un lado, la fila de “Totales con solapamiento” representa los artículos totales de la combinación de las palabras clave en donde la columna de “Totales” se ven representados todos los artículos útiles y no útiles, mientras que en la columna de “Útiles” sólo se representa el total de artículos que mediante la combinación de las palabras claves resultan útiles para la elaboración del trabajo.

Por otro lado, cabe destacar que a lo largo de la búsqueda resultaban mismos artículos que aparecían en distintas combinaciones de palabras clave, así el grupo de “Totales con solapamiento” representa el total de artículos resultantes sin tener en cuenta su repetición en las distintas combinaciones de palabras clave, a diferencia del grupo de “Totales sin solapamiento” en donde sí se tienen en cuenta los artículos repetidos, de modo que sólo representa los artículos que no se repiten.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales tienen que defenderse de microorganismos que se encuentran en el medio ambiente, por tal de poder sobrevivir, mediante diversos mecanismos de defensa contra estos huéspedes perjudiciales para su salud. De este modo, las barreras físicas de defensa y especialmente las bioquímicas, han sido un tema de estudio estas últimas décadas. Un incremento en estos estudios de inmunidad dio lugar al descubrimiento de muchas moléculas de bajo peso molecular en distintas especies de animales, las cuales se creían que jugaban un potente papel en la defensa inmune. Estos compuestos presentan estructuras moleculares muy distintas y pueden pertenecer a categorías químicas tan diferentes como: péptidos, lípidos, e incluso alcaloides (Daly et al., 1987).

Los selacimorfos, en especial los tiburones, son considerados animales con una fisiología muy resistente tanto a impactos mecánicos externos como también a ataques microbiológicos internos. El estudio de la fisiología de los tiburones durante las últimas décadas ha revelado que son capaces de inhibir el ciclo y la reproducción de prácticamente todas las enfermedades causadas por diferentes microorganismos, incluidos los virus, lo que los convierte en un superorden de animales que muestran una resistencia inmunológica particularmente elevada. Los científicos que llevaron a cabo estos estudios se centraron especialmente en la búsqueda de sustancias antibióticas en el tracto intestinal y se observó una presencia de éstas en los tiburones, en especial en el extracto estomacal.

Como consecuencia, se produjo una sobrepesca masiva de estos animales para el posterior uso de sus partes como el estómago, aletas y el cartílago, tanto para el consumo, como para el aislamiento de sustancias para una posterior fabricación de fármacos y antibióticos pensados para ejercer un fuerte papel en procesos de la inmunidad innata (Moore et al., 1993). Sin embargo en la medicina tradicional china los productos de tiburón han sido muy comercializados principalmente como suplementos dietéticos con beneficios para salud tanto animal como humano. La creencia era la de que, sobretodo el cartílago, energizaba los órganos internos del organismo y nutría la sangre (Mondo et al., 2014).

A raíz de algunos estudios de los años setenta, se llevaron a cabo investigaciones por un lado del suero sanguíneo de tiburón, en donde se demostró que éste poseía efectos inhibitorios en el carcinoma de pulmón de Lewis (Snodgrass et al., 1976); y por otro lado se vio que el cartílago de tiburón era capaz de inhibir la neovascularización de los tumores (Lee & Langer, 1983). Como consecuencia, en la población no científica se fomentó la idea de

que el consumo de cartílago de tiburón era un remedio para la prevención de cualquier enfermedad y que incluso podría curar el cáncer.

En este sentido, otros estudios posteriores confirmaron que los selacimorfos poseían factores con un potente efecto antiangiogénico y antitumoral, a los que fueron denominados U-995 y neovastato (AE-941) (Cho & Kim, 2002). Estos compuestos son extractos del cartílago de los tiburones y eran conocidos inicialmente por ser sustancias capaces de poder inhibir el factor antiangiogénico de tumores (TAF) (Brem & Folkman, 1975) lo que provocaba a su vez la inhibición del proceso de la neovascularización de tumores.

- 1) Neovastato (AE-941): es una sustancia hidrosoluble procedente del cartílago de tiburón, con gran concentración de moléculas bioactivas con propiedades antiangiogénicas (Dupont et al., 2002). Además de su actividad angiogénica se demostró también una propiedad antimetastásica mediante experimentos in vivo con ratones en los que se implantaron células cancerosas. A partir de una administración oral crónica de AE-941 se observaron resultados significativos en la reducción del volumen del tumor (Faladeau et al., 2001). Por medio de otros experimentos se vio como la actividad metastásica se reducía en modelos de carcinoma de pulmón de Lewis, debido a la degradación de la matriz celular (Weber et al., 2002).
- 2) U-995: es un péptido descubierto en el tiburón azul (*Prionace glauca*) en el año 1988 por el investigador Sheu y colaboradores (Sheu et al., 1988). Consta de una estructura peptídica entre 10 y 14 kDa (Dosay-Akbulut, 2006) y su actividad inhibitoria a efectos angiogénicos se observó en experimentos realizados con ratones ICR con sarcoma 180. Estos ratones ICR ("Institute of Cancer Research"), originalmente HA(ICR) derivan de ratones "Swis-Webster". La administración de U-995 por vía intraperitoneal corroboró su efectividad antiangiogénica además de una actividad antimetastásica (Sheu et al., 1988). El experimento se realizó mediante ensayos CAM. Los modelo de ensayos CAM son utilizados como método piloto en los estudios de evaluación de la angiogénesis, determinando la neovascularización por medio de la valoración de la distribución y densidad de los vasos sanguíneos por medio de ordenadores y fotografías.

Desde perspectivas terapéuticas, ambas sustancias fueron calificadas como no tóxicas y, por lo tanto, seguras para la salud ya que no se detectaron casos de caquexia, es decir que no se producían alteraciones clínicamente relevantes en el organismo de una persona

tratada con el U-995 y el neovastato como por ejemplo desnutrición, debilitamiento físico, entre otras.

Sin embargo, el consumo de estos fármacos elaborados a partir de las partes del tiburón como por ejemplo, las aletas y el propio consumo de éstas, resultó tener una efectividad muy reducida en comparación con la administración crónica de cantidades elevadas del compuesto puro U-995 y neovastato, por lo que no se consideraron como una cura contra el cáncer sino un paliativo para reducir el ciclo y la reproducción de éste. Luego, el motivo de la insuficiente eficacia se achacó a que las sustancias que hacían que los tiburones no padecieran enfermedades y virus fueran otras o también porque la concentración de factores antiangiogénicos y antitumorales no era la suficiente (Cho & Kim, 2002).

Por este motivo, las investigaciones se centraron en la búsqueda de otros compuestos bioactivos aún desconocidos, lo que promovió el descubrimiento de una sustancia derivada del cartílago de tiburón. Aunque este compuesto está sobre todo presente en el cartílago también aparece en otros tejidos en menor cantidad, como por ejemplo, el tejido hepático. Su descubrimiento se debe a estudios que se centraron, además, en las moléculas con actividad antitumoral de bajo peso molecular. La purificación del compuesto y la determinación de sus características mediante ensayos CAM, demostraron que ésta molécula presentaba actividad antimicrobiana de amplio espectro contra diversos tipos de organismos, como son los hongos, protozoos y bacterias. Además, de estas propiedades exhibía también una actividad antiangiogénica (Moore et al., 1993).

Esta molécula fue descubierta ya anteriormente en el tiburón mielga, *Squalus acanthias*, en el año 1993 por el científico Zasloff y colaboradores que la denominaron escualamina. La elección del nombre se basó en el hecho de que se trata de un aminosterol y que este compuesto está principalmente presente en el estómago e hígado de los escualos de ahí el nombre de escualamina. Ésta se encuentra sólo en el orden *Squaliformes* ya que en los demás órdenes que comprenden los selacimorfos no se han encontrado. El orden de los *Squaliformes* se caracteriza por presentar peces cartilagosos con ausencia de aleta anal y membrana nictitante. Además estas especies poseen dos aletas dorsales, (venenosas en algunas de ellos).

La función fisiológica de la escualamina está relacionada con su metabolización porque sus metabolitos previenen tanto el crecimiento de bacterias que causan enfermedades infecciosas, como el crecimiento y desarrollo de tumores (Yun et al., 2007). La actividad antimicrobiana es de amplio espectro y se dirige contra los microorganismos del medio

ambiente, tanto bacterias gram positivas como gram positivas (Moore et al., 1993). Pero no todo reside en una actividad antibiótica sino que también presenta una capacidad antifúngica induciendo la lisis osmótica celular (Zasloff et al., 2002) y antiviral, proporcionando resistencia a los tejidos de los huéspedes y atacando a la susceptibilidad de los virus con la región central (genoma) tanto de ADN o ARN. El posible uso de la escualamina como fármaco y antibiótico, debido al aumento de resistencia que proporciona a los tejidos del huésped, inició una investigación sobre su potencial en este sentido.

En este contexto se obtuvo información que ayudó en el diseño químico de antibióticos innovadores de amplio espectro (Zasloff et al., 2011), aunque la escualamina misma nunca entró en un desarrollo farmacológico.

La escualamina presenta la estructura química siguiente: “sulfato de 3 beta-N-1-(N-[3-(4-aminobutil)]-1,3-diaminopropano)-7alpha, 24zeta-dihidroxi-5-alfa-coles-tano”.

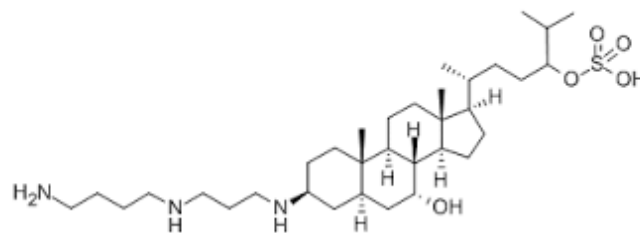


Figura 5. Estructura química escualamina. (Fuente: Zasloff, 2014).

Otros científicos proclamaron que la escualamina inhibe la angiogénesis y el crecimiento de tumores además de bloquear la proliferación y migración de las células endoteliales presentes durante el proceso angiogénico, al mismo tiempo que previene la neovascularización que permiten el transporte de nutrientes y oxígeno a los tumores (Sills et al., 1998). Pero no fue hasta los años noventa cuando se confirmó el papel antitumoral de la escualamina.

A través de ensayos clínicos se observó que la administración de escualamina producía una inhibición de células tumorales de pulmón H460 de origen humano (Schiller & Bittner, 1999). Este experimento se llevó a cabo con ratones desnudos de la cepa BALB/c, los cuales son distribuidos a nivel mundial para la experimentación animal y se caracterizan principalmente por tener el sistema inmune deprimido, permitiendo así estudiar líneas celulares humanas de origen tumoral por la falta de una respuesta inmunológica al inyectar células de otra especie (xenograft).

Por lo tanto, representan un modelo animal excelente para estudios de cáncer y también de inmunología ya son capaces de producir plasmocitomas en inyección de aceite mineral, proceso decisivo para la producción de anticuerpos monoclonales.

La administración de escualamina combinada con análogos de platino como cisplatino o carboplatino, provocó un aumento en la eficacia farmacológica dando lugar a una reducción del tumor que fue 8 veces mayor a la del tratamiento control (sólo con escualamina), además de retrasar el crecimiento del tumor en 1.5 veces más en comparación con el tratamiento sólo con cisplatino o carboplatino. De igual modo fue capaz de reducir la formación de nuevos vasos sanguíneos por 25% que en el tratamiento control (administración de escualamina sin combinación). Estos resultados indican que la escualamina en las quimioterapias presentaba una eficacia principalmente en la reducción de los tumores, y ésta era incrementada con la combinación de análogos de platino (Williams et al., 2001).

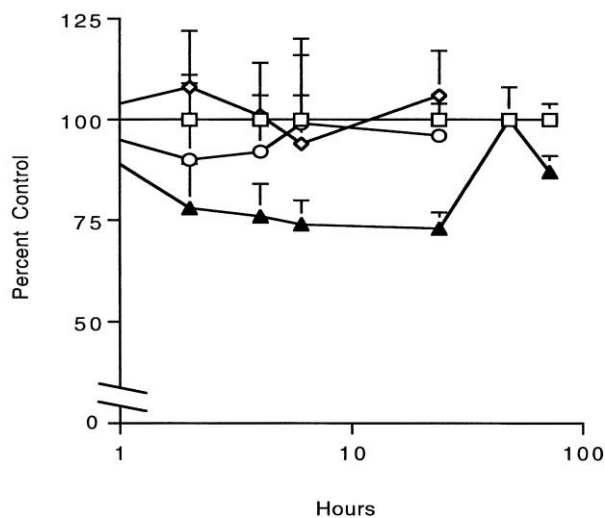


FIGURA 6. Resultados expresados en porcentaje de la cantidad de vasos producidos en el tumor con cuatro tratamientos distintos:

Como se observa en la figura 6, se obtiene una mayor eficacia de reducción de formación de vasos en el tumor mediante el tratamiento de escualamina combinada con cisplatino, y por tanto se produce mayor un retraso del crecimiento del tumor .

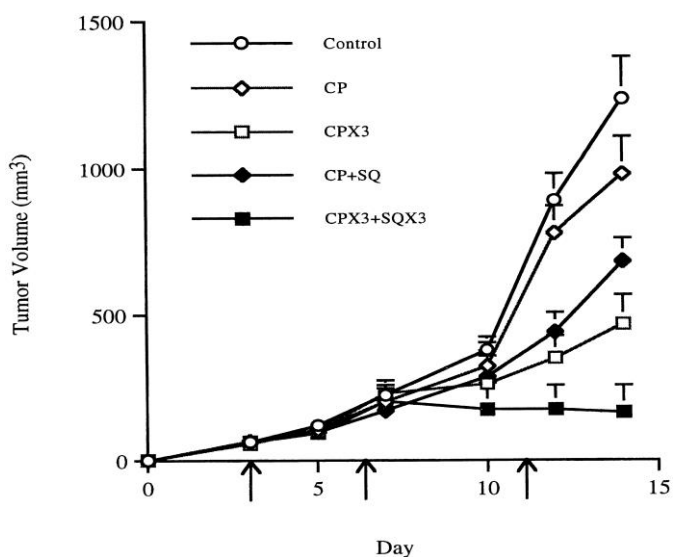


FIGURA 7. Efectos antitumorales a múltiples dosis de cisplatino + escualamina en tumores H460.

En la figura 7 se muestran 5 dosis diferentes de cisplatino y escualamina: control sin ningún tratamiento (control), cisplatino (CP), cisplatino con escualamina (CP+SQ), tres dosis de cisplatino en los días 3,7 y 12 (CPX3), con tres dosis de escualamina y cisplatino en los días 3,7, 7 12 (CPX3+SQX3).

Como resultado se ve en la figura 7 que el tratamiento más eficaz que reduce el mayor volumen del tumor es con el tratamiento de triple dosis de escualamina y cisplatino (CPX3+SQX3).

Los resultados de los diferentes ensayos dieron un efecto sinérgico, lo que es poco frecuente en modelos de este tipo, ya que lo más común es que se produzca un efecto acumulativo, que se define por ser el resultado de la suma de los efectos individuales de la combinación. En definitiva, el efecto sinérgico de la combinación de la escualamina con agentes quimioterapéuticos sobre la inhibición del crecimiento de tumores resultó ser superior a la suma de los efectos individuales de los compuestos por separado. Los principales agentes quimioterapéuticos empleados son la ciclofosfamida y el cisplatino. Los ensayos clínicos fueron reproducidos en varios ensayos con distintos tipos de tumores como por ejemplo el de ovario o el de pulmón (Teicher et al., 1998) con el mismo resultado de sinergia.

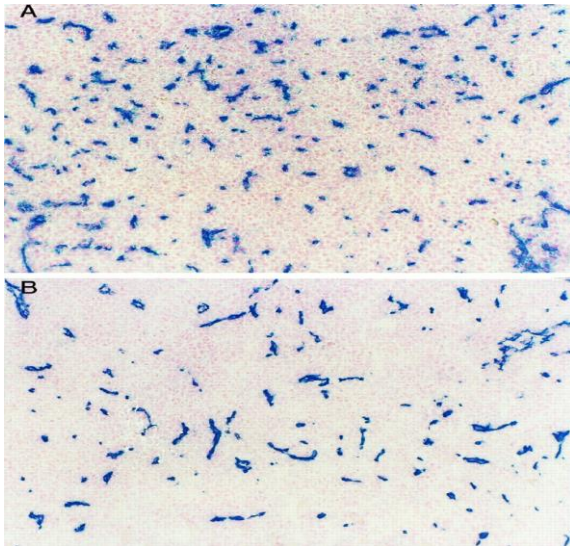


FIGURA 8. Fotomicrografía de una tinción de vasos.

En la figura 8 se observa en el caso de la fotografía superior A el número de vasos que se forman en el tumor si sólo se trata con una solución salina. Mientras que en la foto inferior B se observa que el número de vasos formados en el tumor es menor debido al tratamiento de escualamina en combinación con cisplatino.

La primera persona que publicó que los tiburones eran los únicos animales que no padecían cáncer fue, I. William Lane en 1992 en el libro titulado “Sharks Don’t Get Cancer”. La consecuente amplia divulgación no científica de los efectos beneficiosos de los extractos crudos del cartílago de tiburón ha fomentado las expectativas de la población de que este compuesto podría ser una cura para el cáncer. Esta creencia de que el consumo de este “fármaco natural” podría ser una opción terapéutica para aquellos pacientes que padecen cáncer y no responden a las medicinas y tratamientos antitumorales clásicos promovió la comercialización de los extractos crudos de cartílago de tiburón como remedio nutricional para esta y otras enfermedades. La alta demanda del mercado ha contribuido en los últimos años a una sobrepesca masiva de esta especie y causó impactos negativos importantes en el medio ambiente. Debido a una interpretación exagerada de los resultados científicos y la susceptibilidad de la población por ésta, algunos científicos reevaluaron críticamente los argumentos presentados para determinar una posible falta de justificación del uso del cartílago como cura contra el cáncer.

En este contexto, últimamente se han puesto en duda las afirmaciones de la ausencia de cáncer en los tiburones debido a la aparición de ejemplares de tiburón con tumores registrados por el “Registry of Tumors in Lower Animals” cuyo objetivo es el estudio de la

carcinogénesis en el ambiente acuático. En este registro constan 14 casos de tiburones con presencia de tumores malignos o benignos. Los tumores encontrados estaban distribuidos al menos en 21 especies de 9 familias, de 7 órdenes, incluidos 24 tiburones, 16 rayas y 2 quimeras. Muchos de los animales recogidos para el estudio procedían de zonas tanto lejanas como cercanas a la costa del Atlántico y el Pacífico, y algunos pocos procedían del océano y de acuarios. Los tumores que se les encontraron surgían en diversos tejidos: nervioso, digestivo, tegumentario, excretor, reproductivo, esquelético y hematopoyético; así como del sistema endocrino. De los resultados obtenidos se consideró que 15 de los tumores eran malignos basándose en la invasión que éstos producían en otros tejidos.

A partir de estas observaciones empezó una controversia sobre la pregunta si las sustancias con efectos antitumorales (antiangiogénicas y antimetastásicas) presentes en los extractos del cartílago de los tiburones realmente poseían la capacidad suficiente para alcanzar la erradicación de las células cancerosas en el uso clínico con pacientes.

Estudios realizados en la clase de los condriictios (peces cartilaginosos) especialmente los tiburones y sus parientes más cercanos (Ostrander et al., 2004) como son rayas, mantas y quimeras demostraron que esta afirmación era errónea y lo demostraron mediante el análisis de estos animales.

Aunque el ratio de los cánceres en tiburones no ha sido determinado y algunos neoplasmas se originan en el tejido cartilaginoso la controversia por el principal motivo por el cual se han encontrado tiburones con presencia de determinados tumores sigue en pie.

Nombre científico	Localización	Diagnóstico
<i>Squalus blainvillei</i>	Cueva del pato (Nueva Zelanda)	Neofibroma
<i>Squalus acanthias</i>	Cueva Frenchman (ME)	Papiloma en plaxo corioideo
<i>Squalus acanthias</i>	Océano Atlántico norte	Condroma vertebral
<i>Squalus acanthias</i>	Océano Atlántico norte	Carcinoma renal
<i>Squalus acanthias</i>	Océano Atlántico norte	Polipo fibroepitelial
<i>Squalus acanthias</i>	Costa pacífica (Canadá)	Carcinoma en tiroides
<i>Squalus mitsukurii</i>	Costa pacífica	Condroma en vértebra lumbar

TABLA 3. Especies de tiburones del orden *Squaliformes* y de la familia *Squalidae*.

Nombre científico	Localización	Diagnóstico
<i>Carcharhinus limbatus</i>	Las Vegas	Fibrosarcoma cutáneo
<i>Prionace glauca</i>	Mar negro	Carcinoma hepatocelular
<i>Prionace glauca</i>	Off Montauk Point (Long Island)	Colangiocarcinoma y mesotelioma
<i>Carcharhinus leucas</i>	Sarasota (Florida)	Fibroma cutáneo
<i>Carcharhinus plumbeus</i>	Golfo de México	Linfoma y adenocarcinoma metastásico
<i>Galeocerdo cuvier</i>	Océano Pacífico	Fibroma cutáneo

TABLA 4. Especies de tiburones del orden de los *Carcharhiniformes*, comúnmente como gran tiburones; y de la familia *Carcharhinidae*.

Una posible explicación es que los tiburones documentados que presentaban tumores eran principalmente pelágicos, es decir que pasaban su vida en mar abierto. En este hábitat ha aumentado a niveles elevados de carcinógenos diluidos en el agua debido al aumento de la contaminación en las últimas décadas.

En concordancia, el hecho de no haber tanta contaminación en los mares provocó la detección de la presencia de tumores durante los primeros estudios realizados fue nula, dando lugar a la hipótesis de que los tiburones no padecían cáncer en el pasado. Pero esta complicación se debió a diversas causas como el escaso número de tumores documentados por los científicos, así como la presencia de grandes depredadores, los cuales se alimentaban de los tiburones de pequeño tamaño antes de que pudieran ser estudiados por los científicos, y también la poca susceptibilidad de los tiburones para padecer cáncer.

Este último hecho es el que desde los inicios de las investigaciones de cáncer en tiburones parece ahora el más consolidado. El hecho de esta baja susceptibilidad se debe a varios factores relacionados con el metabolismo de los carcinógenos y a una fuerte capacidad de reparación del ADN.

La primera justificación del uso de los extractos del cartílago de tiburón se debe primordialmente al hallazgo de sustancias que presentaban capacidad de inhibir la formación de vasos sanguíneos y la invasión de tumores a otras zonas del organismo in vitro, pero a pesar de estos estudios, esto no significa que automáticamente puedan curar un tumor en un organismo. Aunque estudios anteriores demostraron que componentes aislados son capaces de ralentizar la proliferación del cáncer, su eficacia podría ser insuficiente porque en el tejido natural la concentración del compuesto bioactivo es más baja y la dosis suministrada para el consumo del tejido no llega a producir un efecto terapéutico.

El estudio del producto natural como fármaco en sí y no como fuente de fármacos puede producir fluctuaciones en la eficacia porque se carece del control de la cantidad de compuestos bioactivos en la mezcla constituyente del producto natural. El hecho de que puedan producirse fluctuaciones se debe principalmente a las condiciones en las que se haya encontrado el tiburón como por ejemplo, su alimentación o la temperatura ambiental.

Algunos estudios clínicos han mencionado el efecto de la escualamina en el ámbito oncológico como puede en el cáncer de ovario. La escualamina fue utilizada como lactato de escualamina como remedio para parar o retrasar el crecimiento de cáncer ovárico mediante la parada del flujo sanguíneo hacia el tumor. Se encuentran bastantes fármacos en quimioterapia para tratar el cáncer, y una de las alternativas de este estudio fue combinar el lactato de escualamina con carboplatino, con el fin de aumentar la efectividad del tratamiento y conseguir matar más número de células cancerígenas.

Otros estudios clínicos en los que se ha usado el lactato de escualamina es en cánceres relacionados con terapias hormonales. El exceso crónico de andrógenos en varones conlleva a la aparición de cáncer de próstata. De este modo, la combinación de un tratamiento con fármacos como el bicalutamida o leuprolida (terapia hormonal) para parar la formación de andrógenos por parte de las glándulas adrenales, además del lactato de escualamina para bloquear el flujo de sangre hacia el tumor provocó una disminución del tumor así como de la cantidad de tejido afectado para la posterior cirugía para la extirpación del tumor.

Así, el neovastato también se ha utilizado para ensayos clínicos entre los que se encuentra el cáncer de riñón con metástasis y el cáncer de pulmón.

En el estudio del neovastato como tratamiento para el cáncer de riñón se realizó principalmente para determinar su eficacia en pacientes que presentan metástasis en el cáncer de riñón.

	Tratamiento con placebo	Tratamiento con neovastato
Muestra (n)	8 pacientes	14 pacientes
Supervivencia media	7.1 meses	16.3 meses
Dosis (ml/día)	60 ml/día	240 ml/día

TABLA 5. Comparación de los resultados del ensayo clínico con presencia y ausencia de neovastato en el tratamiento de cáncer de riñón.

Acorde con la Tabla 3. se concluyó que el tratamiento con neovastato en pacientes que presentaban cáncer de riñón resultaba beneficioso aumentando su supervivencia, y que ésta a su vez era mayor cuanto más altas fueran las dosis. La toxicidad no fue reportada en estos pacientes con dosis entre 60-240 ml/día.

El segundo ensayo clínico consistía en la administración de quimioterapia, radiación y la presencia o ausencia de neovastato, para tratar células cancerígenas del pulmón que no pudieron ser extirpadas con cirugía. Los fármacos utilizados en quimioterapia presentan diversas vías de dividir las células cancerígenas, de modo que éstas pueden dejar de crecer o pueden morir. Así pues mediante la combinación más de un fármaco el resultado puede resultar más eficaz. Los rayos X mediante la radiación dañarían a las células cancerígenas y el neovastato ayudaría a ralentizar el crecimiento de las células del pulmón.

	Tratamiento con placebo	Tratamiento con neovastato
Muestra (n)	191 pacientes	188 pacientes
Media supervivencia	15.6 meses	14.4 meses
Intervalo confianza	De 13.8 a 18.1 meses	De 12.6 a 17.9 meses

TABLA 6. Comparación de los resultados del tratamiento del cáncer de pulmón con quimioterapia y radiación con presencia o ausencia de neovastato.

En este caso con la Tabla 3. se observa que los resultados no fueron estadísticamente significativos ya que no se apreció diferencia en la supervivencia general añadiendo neovastato al tratamiento inicial (placebo) de quimioterapia con radiación.

Conclusiones

Aparte del trabectedin (Yondelis®) que fue el primer compuesto antitumoral que se aisló de una especie marina (tunicados), los selacimorfos son los segundos organismos de la biosfera marina que presentan compuestos bioactivos de este tipo que han llegado hasta ensayos clínicos para el tratamiento de cáncer.

En total se han encontrado tres compuestos, los cuales podrían ser también los responsables de la escasa susceptibilidad de los tiburones de desarrollar tumores: el neovastato, el U-995 y la escualamina.

La escualamina presenta el mayor potencial antitumoral de los tres compuestos bioactivos encontrados teniendo efecto antitumoral en tratamientos de cáncer ovárico, además de cáncer prostáticos en varones con altos niveles de andrógenos. Por otro lado el neovastato se utilizó en estudios clínicos de cánceres de pulmón, mama y metástasis en el riñón.

Estos resultados muestran que la biosfera acuática puede servir como una fuente valiosa de nuevos compuestos bioactivos para el tratamiento del cáncer y probablemente también de otras enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

Alhanout, K., Malesinki, S., Vidal, N., Peyrot, V., Rolain, J. M., & Brunel, J. M. (2010). New insights into the antibacterial mechanism of action of squalamine. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(8), 1688-1693.

Alhanout, K., M Rolain, J., & M Brunel, J. (2010). Squalamine as an example of a new potent antimicrobial agents class: a critical review. *Current medicinal chemistry*, 17(32), 3909-3917.

Alonso-Prieto, E., Esteban, E. M., Trujillo-Matienzo, C., Lara-Fernández, G. E., Roussó-Viota, T., & Cordero-Eiriz, A. (2003). Alteraciones específicas de la atención en estadios tempranos de la enfermedad de Parkinson. *Revista de neurología*, 36(11), 1015-1018.

Barichella, M., Pezzoli, G., Mauri, A., & Savardi, C. (2009). Neural lipids in Parkinson's disease. In *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology* (pp. 583-592). Springer US.

Bayes, M. X. J. R., Rabasseda, X., & Prous, J. R. (2007). Gateways to clinical trials. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 29(10), 697-735.

Brunel, J. M., Salmi, C., Loncle, C., Vidal, N., & Letourneux, Y. (2005). Squalamine: a polyvalent drug of the future?. *Current cancer drug targets*, 5(4), 267-272.

Chen, W. H., Shao, X. B., Moellering, R., Wennersten, C., & Regen, S. L. (2006). A bioconjugate approach toward squalamine mimics: insight into the mechanism of biological action. *Bioconjugate chemistry*, 17(6), 1582-1591.

Chernova, M. N., Vandorpe, D. H., Clark, J. S., Williams, J. I., Zasloff, M. A., Jiang, L., & Alper, S. L. (2005). Apparent receptor-mediated activation of Ca²⁺-dependent conductive Cl⁻ transport by shark-derived polyaminosterols. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289(6), R1644-R1658.

Cho, J., & Kim, Y. (2002). Sharks: a potential source of antiangiogenic factors and tumor treatments. *Marine biotechnology*, 4(6), 521-525.

Choucair, B., Dherbomez, M., Roussakis, C., & El Kihel, L. (2004). Synthesis of spermidinylcholesterol and spermidinylcholesterol, squalamine analogues. *Tetrahedron*, 60(50), 11477-11486.

Cushnie, T. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377-386.

Daly, J. W., Myers, C. W., & Whittaker, N. (1987). Further classification of skin alkaloids from neotropical poison frogs (Dendrobatidae), with a general survey of toxic/noxious substances in the amphibia. *Toxicon*, 25(10), 1023-1095.

Damataa, X. C., & Cabralb, P. Angiogénesis Tumoral: estrategias diagnósticas y terapéuticas., (2012).

Dosay-Akbulut, M. (2006). The determination of the specific characteristics on the immunosurveillance against to cancer formation in elasmobranches. *Int. J. Cancer Res*, 2, 119-23.

Dreves, J., Droll, A., Mross, K., & Unger, C. (1999). Angiogenesis inhibition: drugs in clinical trials. *Oncology Research and Treatment*, 22(4), 282-290.

Dupont, É., Falardeau, P., Mousa, S. A., Dimitriadou, V., Pepin, M. C., Wang, T., & Alaoui-Jamali, M. A. (2002). Antiangiogenic and antimetastatic properties of Neovastat (AE-941), an orally active extract derived from cartilage tissue. *Clinical and Experimental Metastasis*, 19(2), 145-153.

Eriksen, JL; Dawson TM, Dickson DW, Petrucelli L (2003). «Caught in the act: α -Synuclein is the culprit in Parkinson's disease.». *Neuron* 40: 453-456.

Faladeau, P., Champagne, P., Poyet, P., Hariton, C., & Dupont, É. (2001, December). Neovastat, a naturally occurring multifunctional antiangiogenic drug, in phase III clinical trials. In *Seminars in oncology* (Vol. 28, No. 6, pp. 620-625). WB Saunders.

Hao, D., Hammond, L. A., Eckhardt, S. G., Patnaik, A., Takimoto, C. H., Schwartz, G. H., ... & Williams, J. I. (2003). A Phase I and pharmacokinetic study of squalamine, an aminosterol angiogenesis inhibitor. *Clinical cancer research*, 9(7), 2465-2471.

Houlston, R. S., Webb, E., Broderick, P., Pittman, A. M., Di Bernardo, M. C., Lubbe, S., ... & Carvajal-Carmona, L. (2008). Meta-analysis of genome-wide association data identifies four new susceptibility loci for colorectal cancer. *Nature genetics*, 40(12), 1426-1435.

Hraiech, S., Brégeon, F., Brunel, J. M., Rolain, J. M., Lepidi, H., Andrieu, V., ... & Roch, A. (2012). Antibacterial efficacy of inhaled squalamine in a rat model of chronic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 67(10), 2452-2458.

Kumar, S., Bhatia, M., & Behari, M. (2002). Sleep disorders in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 17(4), 775-781.

KRÜGER, R; VIEIRA-SAECKER AM, KUHN W, et al (1999). «Increased susceptibility to sporadic Parkinson's disease by a certain combined α - synuclein/apolipoprotein.

Lavigne, J. P., Brunel, J. M., Chevalier, J., & Pagès, J. M. (2010). Squalamine, an original chemosensitizer to combat antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(4), 799-801.

Lee, A., & Langer, R. (1983). Shark cartilage contains inhibitors of tumor angiogenesis. *Science*, 221(4616), 1185-1187.

Li, D., Williams, J. I., & Pietras, R. J. (2002). Squalamine and cisplatin block angiogenesis and growth of human ovarian cancer cells with or without HER-2 gene overexpression. *Oncogene*, 21(18), 2805.

Martínez-Ezquerro, J. D., & Herrera, L. A. (2016). Angiogénesis.: VEGF/VEGFRs como Blancos Terapéuticos en el Tratamiento Contra el Cáncer. *Recuperado en*, 1.

Mayeux, R., Marder, K., Cote, L. J., Denaro, J., Hemenegildo, N., Mejia, H., ... & Hauser, A. (1995). The frequency of idiopathic Parkinson's disease by age, ethnic group, and sex in northern Manhattan, 1988–1993. *American journal of epidemiology*, 142(8), 820-827.

Merly, L., & Smith, S. L. (2014). Shark-derived immunomodulators. *Immunobiology of the Shark*, 287.

Mezey E, Dehejia A, Harta G, Papp MI, Polymeropoulos MH, Brownstein MJ. Alpha synuclein in neurodegenerative disorders: Murderer or accomplice? *Nat Med.* julio de 1998;4(7):755-7.

Mondo, K., Glover, W. B., Murch, S. J., Liu, G., Cai, Y., Davis, D. A., & Mash, D. C. (2014). Environmental neurotoxins β -N-methylamino-l-alanine (BMAA) and mercury in shark cartilage dietary supplements. *Food and chemical toxicology*, 70, 26-32.

Moore, K S; S Wehrli; H Roder; M Rogers; J N Forrest; D McCrimmon; M Zasloff (1993-02-15)."Squalamine: an aminosterol antibiotic from the shark".*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 90 (4): 1354-. PMC45871.

Ohkuma, T., Otagiri, K., Tanaka, S., and Ikekawa, T. (1983). Intensification of host's immunity by squalene in sarcoma 180 bearing ICR mice. *J Pharm Dyn* 6:148–151.

Peng, S., Doudet, D. J., Dhawan, V., & Ma, Y. (2013). Dopamine. *PET clinics*, 8(4), 469-485.

Perni M, Galvagnion C, Maltsev A, Meisl G, Müller MBD, Challa PK, et al. A natural product inhibits the initiation of α -synuclein aggregation and suppresses its toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 de enero de 2017.

Perni, M., Galvagnion, C., Maltsev, A., Meisl, G., Müller, M. B., Challa, P. K., Kirkegaard JB, Flagmeier P, Cohen SI, Cascella R, Chen SW, Limboker R, Sormanni P, Heller GT, Aprile FA, Cremades N, Cecchi C, Chiti F, Nollen EA, Knowles TP, Vendruscolo M, Bax A, Zasloff M, Dobson CM. & Chen, S. W. (2017). A natural product inhibits the initiation of α -synuclein aggregation and suppresses its toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(6), E1009-E1017.

Pietras, R. J., & Weinberg, O. K. (2005). Antiangiogenic steroids in human cancer therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 49-57.

Pineda, A., & Burré, J. (2017). Modulating membrane binding of α -synuclein as a therapeutic strategy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(6), 1223-1225

Rao, M. N., Shinnar, A. E., Noecker, L. A., Chao, T. L., Feibush, B., Snyder, B., ... & Kinney, W. A. (2000). Aminosterols from the dogfish shark *Squalus acanthias*. *Journal of natural products*, 63(5), 631-635.

Ritchie, C. M., & Thomas, P. J. (2012). Alpha-synuclein truncation and disease. *Health*, 4(11), 1167.

Sahai, E., & Marshall, C. J. (2002). RHO-GTPases and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2(2), 133-143.

Salmi, C., Loncle, C., Vidal, N., Letourneux, Y., Fantini, J., Maresca, M., ... & Brunel, J. M. (2008). Squalamine: an appropriate strategy against the emergence of multidrug resistant gram-negative bacteria?. *PLoS One*, 3(7), e2765.

Schiller, J. H., & Bittner, G. (1999). Potentiation of Platinum Antitumor Effects in Human Lung Tumor Xenografts by the Angiogenesis Inhibitor Squalamine. *Clinical cancer research*, 5(12), 4287-4294.

Shi, Y. T. W. (2010). Structure, Bioactivity and Synthesis of Cortistatin, a New Kind of Steroidal Angiogenesis Inhibitors. *Chin. J. Org. Chem*, 30(04), 515-527.

- Shinnar, A. E., Allen, E., Peck, A., Tal, L., Goldstein, R., & Roberts, L. (2007). Squalamine Family of Aminosterol Antibiotics from Various Shark Species. *The FASEB Journal*, 21(6), A1000-A1000.
- Sheu, J.R, Fu, C.C., Tsai, M.L., and Chung, W.J. (1998). Effect of U-995, a potent shark cartilage-derived angiogenesis inhibitor, on anti-angiogenesis and anti-tumor activities. *Anticancer Res* 18:4435–4442.
- Sills, A. K., Williams, J. I., Tyler, B. M., Epstein, D. S., Sipos, E. P., Davis, J. D., ... & Kinney, W. A. (1998). Squalamine inhibits angiogenesis and solid tumor growth in vivo and perturbs embryonic vasculature. *Cancer research*, 58(13), 2784-2792.
- Singh, R., Sharma, M., Joshi, P., & Rawat, D. S. (2008). Clinical status of anti-cancer agents derived from marine sources. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 8(6), 603-617.
- SINGLETON, AB.; FARRAR M, JOHNSON J, et al (2003). «Alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease». *Science* (302): 841.
- Snodgrass, M. J., Burke, J. D., & Meetz, G. D. (1976). Inhibitory effect of shark serum on the Lewis lung carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 56(5), 981-984.
- Sridhar, S. S., & Shepherd, F. A. (2003). Targeting angiogenesis: a review of angiogenesis inhibitors in the treatment of lung cancer. *Lung cancer*, 42(2), 81-91.
- Teicher, B. A., Williams, J. I., Takeuchi, H., Ara, G., Herbst, R. S., & Buxton, D. (1998). Potential of the aminosterol, squalamine in combination therapy in the rat 13,762 mammary carcinoma and the murine Lewis lung carcinoma. *Anticancer research*, 18(4A), 2567-2573.
- Vega, F. M., & Ridley, A. J. (2008). Rho GTPases in cancer cell biology. *FEBS letters*, 582(14), 2093-2101.
- Walsh, C. J., Luer, C. A., Bodine, A. B., Smith, C. A., Cox, H. L., Noyes, D. R., & Gasparetto, M. (2006). Elasmobranch immune cells as a source of novel tumor cell inhibitors: Implications for public health. *Integrative and comparative biology*, 46(6), 1072-1081.
- Weber, M. H., Lee, J., & Orr, F. W. (2002). The effect of Neovastat (AE-941) on an experimental metastatic bone tumor model. *International journal of oncology*, 20(2), 299-303.
- Williams, J. I., Weitman, S., Gonzalez, C. M., Jundt, C. H., Marty, J., Stringer, S. D., ... & Von Hoff, D. D. (2001). Squalamine treatment of human tumors in nu/nu mice enhances platinum-based chemotherapies. *Clinical cancer research*, 7(3), 724-733.
- Yadav, L., Puri, N., Rastogi, V., Satpute, P., & Sharma, V. (2015). Tumour angiogenesis and angiogenic inhibitors: A review. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 9(6), XE01.
- Yun, Sang-Seon; Weiming Li (2007-12-01). "Identification of squalamine in the plasma membrane of white blood cells in the sea lamprey, *Petromyzon marinus*". *J. Lipid Res.* 48(12): 2579–2586. PMID 17726196. doi: 10.1194/jlr.M700294-JLR200. Retrieved 2009-03-31.
- Zasloff M (2002). "Antimicrobial peptides of multicellular organisms". *Nature*. 415(6870): 389–95. PMID11807545. Doi: 10.1038/41589a
- Zasloff M, Adams AP, Beckerman B, Campbell A, Han Z, Luijten E, et al. Squalamine as a broad-spectrum systemic antiviral agent with therapeutic potential. *Proc Natl Acad Sci*. 20 de septiembre de 2011;108(38):15978-83. (Teicher et al., 1998).