

Actividad Anticancerígena del Ácido Gálico en Modelos Biológicos *in vitro*

Mayela Govea Salas^{1,4}, Alejandro Zugasti Cruz², Sonia Yesenia Silva Belmares³, Blanca Valdivia Urdiales⁴, Raúl Rodríguez Herrera⁴, Cristóbal Noé Aguilar González⁴, Jesús Morlett Chávez^{1*}

¹ Laboratorio de Análisis Clínicos y Diagnóstico Molecular, ² Laboratorio de Inmunología y Toxicología, ³ Laboratorio de Química Biológica de Productos naturales, ⁴ Depto. de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza, 25280. Saltillo, Coahuila, México. *Autor para correspondencia: morlett17@gmail.com

RESUMEN

El ácido gálico (AG) es un compuesto fenólico que se encuentra en diversas fuentes naturales como plantas, frutas y verduras. A éste, se le atribuyen diversos efectos biológicos como actividad antiinflamatoria, antibiótica, protección cardiovascular, anticancerígena y antioxidante. En diferentes cultivos de células cancerosas, se ha observado que el AG activa la producción de especies reactivas de oxígeno, reduciendo la concentración del glutatión intracelular, causando estrés oxidativo. Dicho efecto produce un desequilibrio celular, dañando las macromoléculas como ADN, proteínas y lípidos. Por tal motivo, el AG podría utilizarse para reducir la viabilidad de células cancerosas, promoviendo procesos apoptóticos e induciendo citotoxicidad en diversos tipos de cáncer como gliomas, cáncer de próstata, testículos, pulmón, entre otros. Es por esto que en la presente revisión se pretende investigar sobre los mecanismos moleculares, activados por el AG, implicados en el deterioro de las células cancerosas. Así mismo, se pretende resaltar la importancia de los compuestos naturales como agentes quimiopreventivos en diversos tipos de cáncer.

Palabras clave: ácido gálico, anticancerígeno, estrés oxidativo, apoptosis, proliferación celular.

INTRODUCCIÓN

Polifenoles

Los polifenoles son sustancias químicas que contienen más de un grupo hidroxilo por molécula, así como uno o varios anillos aromáticos en su estructura. Se encuentran como metabolitos secundarios en diversos alimentos de origen natural como vegetales, hortalizas y frutas, por lo que ingresan al organismo por medio de la dieta (Hernández-Ángel y Prieto-González, 1999). Los polifenoles se subdividen en taninos condensados (flavonoides, proantocianidinas) y taninos hidrolizables (elagitaninos y galotaninos), siendo el AG un galotanino monomérico que se encuentra unido a moléculas de glucosa (Bravo, L. 1998). Asimismo, se sabe que estos compuestos inhiben la oxidación de sustratos, moléculas simples y complejas. Es por esto, que se les atribuyen

diversas propiedades biológicas, ya que han mostrado algunos beneficios en la salud.

Ácido gálico

El ácido gálico (AG), también conocido como ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico (figura 1), es un ácido fenólico presente en diversas fuentes naturales como a) plantas: *Larrea tridentata* (gobernadora) y *Turnera diffusa* (damiana); b) frutas: uva, granada, nueces, plátano, fresa, limón, arándano, cáscara de manzana y mango; c) verduras: acelgas y espinacas y d) bebidas: café, vino tinto y té verde (Taitzoglou y col., 2001). Éste ácido se obtiene directamente del alimento o por hidrólisis del ácido tánico mediante una reacción con la enzima tanasa, que cataliza la hidrólisis de los enlaces tipo éster presentes en los galotaninos (Aguilar y col., 2007). Asimismo, se le atribuyen varios efectos biológicos, que van desde la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibiótica, hasta la protección cardiovascular y anticancerígena.

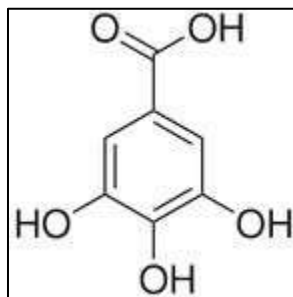


Figura 1. Estructura química del ácido gálico.
<http://cmackay.wordpress.com/page/7/>

Aplicaciones y actividades biológicas del ácido gálico

El AG tiene aplicaciones en diversas áreas, principalmente en la farmacéutica, ya que es un precursor en la manufactura de antibióticos de amplio espectro como trimetoprima. Además, en el área de alimentos, se ha utilizado como antioxidante de grasas y aceites, así como aditivo en algunas bebidas y alimentos, evitando la oxidación de los mismos (Hocman, 1988).

También, el AG es capaz de regular diversos procesos biológicos, como protección cardiovascular, evitando la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) que transportan colesterol en la sangre, previniendo así, enfermedades como aterosclerosis. Por su parte, Cowan (1999), mencionó que el AG presenta actividad antibacteriana, promoviendo la inhibición enzimática de algunos microorganismos, la interacción sobre las adhesinas (proteínas de la pared celular), y la capacidad que tienen de unirse a polisacáridos, interviniendo así, en el desarrollo microbiano. Además, el AG también destaca por su actividad antioxidante y anticancerígena, debido a que es un compuesto donador de electrones, que neutraliza radicales libres, siendo estos los causantes de algunos padecimientos como envejecimiento, cardiopatías y en algunos casos cáncer (Sharma y col., 1997; Kim, 2007).

Actividad antioxidante

En particular, el AG es un potente antioxidante, que tiene un papel importante en la absorción y neutralización de radicales libres (Osawa y Walsh, 1993). Dicho compuesto actúa como captador de electrones y en la quelación de

metales. Esto se debe a las propiedades reductoras, que van a depender de la posición y número de grupos hidroxilos presentes en la molécula del AG (Melo y col., 2008). La importancia de dicha actividad, sobresale debido a que los radicales libres contribuyen a procesos como envejecimiento, ya que toman electrones de las células del tejido colágeno de la piel, perdiendo así propiedades como elasticidad y firmeza. Asimismo, evita la oxidación de los fosfolípidos de las membranas celulares, ayudando también en otras enfermedades degenerativas como diabetes, Alzheimer y algunas cardiopatías. En un estudio realizado por Ferk y col. (2011) mostraron, en ratas, que el AG disminuyó la oxidación de las células de hígado, colon y pulmones, provocado por la exposición a radiaciones en experimentos. De igual manera, dichos autores analizaron por electroforesis el ADN de linfocitos de pacientes humanos después de ingerir durante 3 días 12,8 mg/día de AG en agua potable, mostrando una reducción significativa de la migración del ADN atribuible a la oxidación de pirimidinas y purinas, lo que en conjunto disminuye el daño celular. Estos resultados sugieren que la absorción de compuestos fenólicos a través de la dieta, contribuye sustancialmente al equilibrio del organismo.

Actividad pro-oxidante

Se ha descubierto que el AG también, provoca una disminución del GSH y una cascada de reacciones de oxidación que podría afectar a las macromoléculas como el ADN, proteínas y algunos lípidos de la membrana, logrando así daño celular, (Figura 2) (Decker, 1997; Babich y col., 2011).

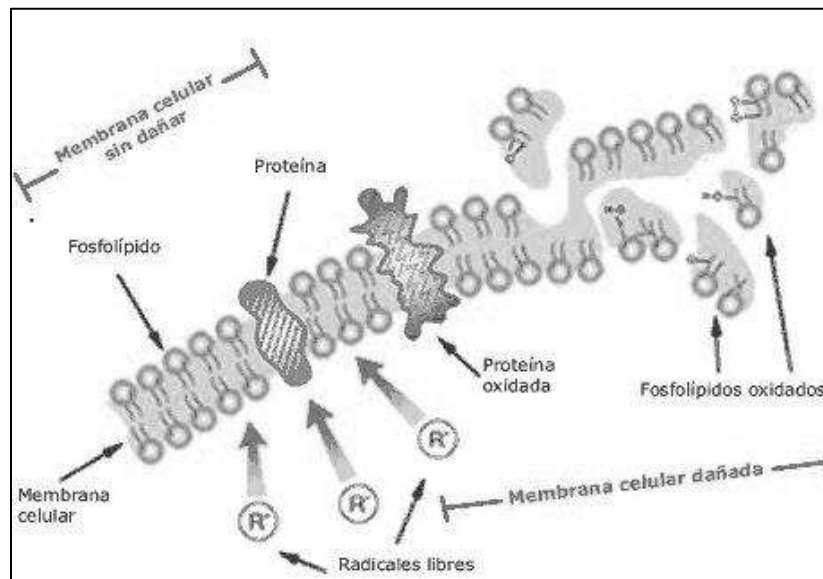


Figura 2. Mecanismo de daño a la membrana celular producido por radicales libres (<http://biofisica-tema1y2.blogspot.com/2011/05/reacciones-de-oxido-reduccion.html>)

Dicho daño es provocado por la actividad oxidante, que da como resultado el estrés oxidativo, causando un desequilibrio redox en la célula por efecto de los radicales libres producidos. El estrés oxidativo ocurre cuando la producción de ROS (O_2^- , H_2O_2 y OH^\cdot) excede los mecanismos de defensa antioxidante natural del cuerpo, causando daños a las células (Kayanoki y col., 1996). Además, los ROS causan disminución significativa de los niveles de antioxidantes no enzimáticos, como la vitamina C, E y glutatión, así como de los antioxidantes enzimáticos como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, los cuales son determinantes de los mecanismos de defensa de la célula (Verma y Nair, 2001). De igual manera, Inoue y col. (2000) señalaron que en las células promielocíticas de leucemia, diferentes concentraciones de AG provocaron la formación de ROS, particularmente de H_2O_2 intracelular, induciendo una señal temprana de apoptosis.

Sin embargo, cabe mencionar que los ROS también se forman como subproductos de la respiración mitocondrial o por ciertas oxidasas (NADPH). Por tal motivo, éstas especies están implicadas en diversos procesos celulares, incluyendo citotóxicos, donde juegan el papel de segundos mensajeros en la activación de varias vías de señalización como mitogénesis, expresión génica y la inducción de apoptosis por daño celular, lo que le confiere actividad anticancerígena (Simon y col., 2000).

Actividad anticancerígena

Estudios previos, realizados en diferentes líneas celulares, han demostrado que el AG promueve la citotoxicidad, antiangiogénesis y los procesos apoptóticos, así como también disminuye la inflamación de tejidos y la invasión de células malignas en diversos tipos de cáncer, incluidos de mama, vejiga, próstata, hígado, leucemia y gliomas (Albini, 2007). Al respecto, Ji y col. (2009) reportaron que el AG, a diferentes concentraciones, disminuyó significativamente la viabilidad, proliferación e invasión de células cancerosas de pulmón induciendo apoptosis. Dicho proceso se llevó a cabo a través de la activación de las proteínas Bcl-2, que son reguladoras de la apoptosis (Larsen, 1994). De igual manera, intervienen otras proteínas como las caspasas 3, 8 y 9 que actúan como vías de señalización, y las proteínas p53 de supresión tumoral, que actúan como un inhibidor de la transformación del ciclo celular (Kastan y col., 1991).

Cai y col. (2010) mostraron que se redujo significativamente la viabilidad en las células U87 y U251n de gliomas humanos *in vitro* después de 24 h de tratamiento con diferentes dosis de AG. En cambio, en células epiteliales normales de cerebro de ratón, el AG mostró una reducción de la toxicidad, con las mismas concentraciones, sugiriendo que tiene una citotoxicidad selectiva en las células de los gliomas. En la tabla 1, se muestran ejemplos de efectos citotóxicos del AG en diferentes líneas celulares.

Tabla 1. Líneas celulares cancerosas que presentaron cambios biológicos después de la incubación con diferentes concentraciones de ácido gálico.

Línea celular	Número de células	Concentraciones de AG probadas µg/mL	Efectos biológicos	Referencias
<u>U87</u> y <u>U251n</u> de gliomas humanos	1 x 10 ³	0, 20, 30 y 40	Reduce la viabilidad, proliferación, angiogénesis e invasión tumoral.	Cai y col., 2010.
<u>A549</u> de adenocarcinoma de pulmón humano	5 x 10 ⁵	0, 50, 100, 200 y 400	Induce apoptosis por aumento de ROS y favorece la activación de la caspasa-3.	Maurya y col., 2010.
<u>22Rv1</u> y <u>DU145</u> de carcinoma de próstata de ratón y células sanas de próstata de ratón <u>PWR-1E</u>	5 x 10 ³	0, 20, 40, 60, 80 y 100	Induce apoptosis, inhibe el crecimiento y proliferación de tumores, antiangiogénesis. Células sanas no hubo cambios significativos.	Kaur y col., 2010.
HeLa de cáncer de cérvix humano y HUVEC, endoteliales de cordón umbilical humano	2 x 10 ⁵	0, 10, 50 y 100	Inhibición de crecimiento, apoptosis y/o necrosis, aumento de producción de ROS y el agotamiento de GSH. No mostró cambios significativos en HUVEC	You y col., 2010.
B16F10 de melanoma murino	2 x 10 ⁵	20 - 100	Induce producción de radicales libres y apoptosis, reduce glutatión y ATP, inhibe adhesión de células tumorales.	Locatelli y col., 2009.

Terapias naturales anticancerígenas

El cáncer se caracteriza por una proliferación descontrolada de células anormales, que puede invadir tejidos adyacentes y propagarse a diversos órganos, causando daños sistemáticos y por consiguiente la muerte. Por lo que se considera una de las enfermedades con mayor índice de mortalidad a nivel mundial en los últimos años. Dicha patología es causada por daños celulares provocados por efectos de diversos factores ambientales, químicos, físicos y genéticos (Albini, 2007).

Nair y col., (2007) mencionan que la relación de la incidencia de cáncer es significativamente menor en las personas cuya alimentación se compone principalmente de frutas y verduras con alto contenido de antioxidantes, en comparación con las personas cuyo consumo alimenticio es principalmente de productos de origen animal. Esto ha llevado a los investigadores a buscar compuestos naturales como alternativas de tratamientos contra el cáncer, además de las terapias clínicas existentes.

Como se mencionó anteriormente, diversos estudios de laboratorio con modelos celulares *in vitro*, han mostrado

los efectos anticancerígenos de algunos fitoquímicos naturales como los polifenoles, en particular el AG, que han sido identificados como agentes quimiopreventivos. Dichos compuestos intervienen en el desarrollo o iniciación de procesos cancerígenos, interrumpiendo los ciclos celulares mediante la inducción de apoptosis y evitando la propagación mediante procesos antiangiogénicos (Béliveau y Gingras, 2007). En la tabla 1 se describen algunas actividades biológicas del AG y su fuente de obtención.

CONCLUSIONES

Los compuestos fenólicos, particularmente el AG, tienen diversas actividades biológicas como antibacteriana, antioxidante, anticancerígena y antiangiogénica, atribuidas a la absorción y neutralización de radicales libres, principalmente, brindando protección contra diversos padecimientos cardiovasculares y cancerígenos, entre otros. Dicho compuesto, muestra también actividad oxidante a ciertas concentraciones, causando citotoxicidad en células cancerosas por un aumento de la producción de

ROS, provocando estrés oxidativo, e induciendo procesos apoptóticos y antiangiogénicos. Además se ha observado que el AG no ejerce daño en células sanas, solo en algunas células cancerosas. Sin embargo, es necesario

continuar la investigación de las propiedades de dicho compuesto en ensayos biológicos *in vivo* e *in vitro*, para que pueda ser considerado como una alternativa de tratamiento para el cáncer u otras patologías clínicas.

Tabla 2. Actividad biológica del ácido gálico

Fuente de AG	Concentración polifenólica	Actividad benéfica	Referencias
Ajo, té verde y té negro	-----	Impide el desarrollo de células infectadas por el virus del papiloma humano.	Stoner y Gupta, 2001.
Extracto de semilla de uva (ESU)	0, 20, 40, 60, 80 Y 100 mg / mL de ESU	Anticancerígena y apoptótica en células epidérmicas pre-neoplásicas y de leucemia.	Anshu y col., 2005; Gao y col., 2010.
Té verde	Equivalente a 6 tazas	Inhibe proliferación, desarrollo y metástasis de cáncer de próstata.	Gupta, 2001.
Uvas, vino tinto y bayas	0, 7.5 y 15 mg/kg	Protege al corazón de estrés oxidativo y oxidación de LDL.	Hansi y Stanely, 2009.

REFERENCIAS

- Aguilar, C.N., Rodríguez-Herrera, R., Gutiérrez-Sánchez, G., Augur, C., Favela-Torres, E., Prado-Barragán, L.A., Ramírez-Coronel, A., Contreras-Esquivel, J.C.** 2007. Microbial tannases: advances and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 76, number 1, 47-59.
- Albini, A.** 2007. Molecular pathways for cancer angioprevention. *Clin. Cancer Res.* 13,4320-4325.
- Anshu, M.R., Manjeshwar, S.B., Craig, A.E., Santosh, K.K.** 2005. Grape Seed Proanthocyanidins Induce Apoptosis through p53, Bax, and Caspase 3 Pathways. *Neoplasia* Vol. 7, No. 1, January 2005, pp. 24 – 36.
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D., Fuhrman, B.** 2000. Pomegranate juice consumption reduce oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in human and inatherosclerotic apolioprotein E-deficient mice. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1062-1076.
- Babich, H., Schuck, A.G., Weisburg, J.H., Zuckerbraun, H.L.** 2011. Research strategies in the study of the Pro-oxidant nature of polyphenol nutraceuticals. *Journal of toxicology*, Vol. 2011, Article ID 467305, 12 pages.
- Béliveau, R., Gingras, D.** 2007. Role of nutrition in preventing cancer. *Canadian Family Physician*, vol. 53, no. 11, pp. 1905–1911.
- Bravo, L.** 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56: 317-333.
- Cai, Y., Chopp, M., Katakowski, M., Jiang, F., Jiang, H., Lu, Y., Shing-Shun, T.T., Wu, K.** 2010. Gallic acid

- suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells. *Eur J Pharmacol.* 641(2-3): 102–107.
- Chi, A., Norden, A.D., Wen, P.Y.** 2007. Inhibition of angiogenesis and invasion in malignant gliomas. *Expert Rev Anticancer Ther* 7:1537–1560.
- Cowan, M.** 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiological Reviews.* 12(4): 564 – 582.
- Decker, E.A.** 1997. Phenolics: prooxidants or antioxidants?. *Nutrition Reviews* vol.55, no.11, pp.396–398.
- Ferk, F., Chakraborty, A., Jäger, W., Kundi, M., Bichler, J., Misík, M., Wagner, K.H., Grasl-Kraupp, B., Sagmeister, S., Haidinger, G., Hoelzl, C., Nersersyan, A., Dusínská, M., Simić, T., Knasmüller, S.** 2011. Potent protection of gallic acid against DNA oxidation: Results of human and animal experiments. Elsevier, MUT-11107,0027-5107 doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.07.010.
- Gao, N., Budhraj, A., Cheng, S., Yao, H., Zhang, Z., Shi, X.** 2010. Induction of Apoptosis in Human Leukemia Cells by Grape Seed Extract Occurs via Activation of JNK. *Clin Cancer Res.* 2009 January 1; 15(1): 140–149.
- Gupta, S., Hastak, K., Ahmad, N., Lewin, J.S., Mukhtar, H.** 2001. Inhibition of prostate carcinogenesis in TRAMP mice by oral infusion of green tea polyphenols. *PNAS* August 28, 2001 vol. 98 no. 18 -10351.
- Hansi, D.P., Stanely, P.M.P.** 2009. Cardioprotective effect of gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions* 179 (2009) 118–124.
- Hernández-Ángel, M., Prieto-González, E.A.** 1999. Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. *Rev. Cubana de Inv.*
- Hocman, G.** 1988. Chemoprevention of cáncer: phenolic antioxidants (BHT, BHA). *Int. J Biochem.* Vol. 20, No. 7, pp.639-651.
- Inoue, M., Sakaguchi, N., Isuzugagua, K., Tani, H., Ogihara, Y.** 2000. Role of reactive oxygen species in gallic acid-induced apoptosis. *Biol Pharm Bull;* 23:1153-1157.
- Ji, B.C., Hsu, W.H., Yang, J.S.** 2009. Gallic acid induces apoptosis via caspase-3 and mitochondrion-dependent pathways in vitro and suppresses lung xenograft tumor growth *in vivo*. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 7596–7604.
- Kastan, M.B., Onyekwere, O., Sidransky, D., Vogelstein, B., Craig, R.W.** 1991. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res* 51, 6304 – 6311.
- Kaur, M., Velmurugan, B., Rajamanickam, S., Agarwal, R., Agarwal, C.** 2010. Gallic Acid, an active constituent of grape seed extract, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-tumorigenic effects against prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. *Pharm Res.* 2009 September; 26(9): 2133–2140.
- Kayanoki, Y., Fujii, J., Islam, K.N., Suzuki, K., Kawata, S., Matsuura, Y.** 1996. The protective role of glutathione peroxidase in apoptosis induced by reactive oxygen species. *J Biochem* 119: 817-822.
- Kim, Y.J.** 2007. Antimelanogenic and antioxidant properties of gallic acid. *Biol Pharm Bull;*30: 1052–1055.
- Larsen, C.J.** 1994. The BCL-2 gene prototype of a gene family that controls programmed cell death (apoptosis). *Ann Genet* 37,121-134.
- Locatelli, C., Leal, P.C., Yunes, R.A., Nunes, R.J., Creczynski-Pasa, T.B.** 2009. Gallic acid ester derivatives induce apoptosis and cell adhesion inhibition in melanoma cells: The relationship between free radical generation, glutathione depletion and cell death. *Chemico-Biological Interactions* 181 (2009) 175–184.
- Maurya, D.K., Nandakumar, N. Asir Devasagayam, T.P.** 2010. Anticancer property of gallic acid in A549, a human lung adenocarcinoma cell line, and possible mechanisms. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition.* Vol. 48, no. 1, 87.
- Melo, E.A., Sucupira, M.M.I., Galvão de Lima, V.L.A., Nascimento, R.J.** 2008. Capacidade antioxidante de frutas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*

- Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 44, n. 2, abr./jun., 2008.
- Nair, S., Li, W., Kong, A.N.T.** 2007. Natural dietary anticancer chemopreventive compounds: redox mediated differential signaling mechanisms in cytoprotection of normal cells versus in cytotoxicity in tumor cells. *Acta Pharmacologica Sinica* Vol. 28 no. 4, pp. 459-472.
- Osawa, R., Walsh, T.P.** 1993. Visual reading method for detection of bacterial tannase. *Appl Environ Microbiol.* (59) 1251-1252.
- Pelicano, H., Carney, D., Huang, P.** 2004. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resistance Updates*, vol. 7, no. 2, pp. 97-110.
- Sharma, S., Wyatt, G.P., Steele, V.E.** 1997. A carcinogen-DNA binding assay as a biomarker screen for identifying potential chemo-preventive agents. *Methods in Cell Science*, 19, 4548.
- Simon, H.U., Haj-Yehia, A., Levi-Schaffer, F.** 2000. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction, *Apoptosis*, vol. 5, no. 5, pp. 415-418.
- Stoner, G.D., Gupta, A.** 2001. Etiology and chemoprevention of esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*, 22, 1737-1746.
- Taitzoglou, I.A., Tsantarliotou, M., Zervos, I., Kouretas, D., Kokolis, N.A.** 2001. Inhibition of human and ovine acrosomal enzymes by tannic acid *in vitro*. *Reproduction* 121, 131-137.
- Verma, R.J., Nair, A.** 2001. Ameliorative effect of vitamin E on aflatoxin-induced lipid peroxidation in the testis of mice. *Asian J Androl* 3: 217-221.
- You, B.R., Moon, H.J., Han, Y.H., Park, W.H.** 2010. Gallic acid inhibits the growth of HeLa cervical cancer cells via apoptosis and/or necrosis. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010) 1334-1340.