

TEMAS DE ACTUALIZACIÓN

Centro de Salud y Descanso. Ministerio del Interior

CARTÍLAGO DE TIBURÓN: ACCIONES BIOLÓGICAS, EMPLEO Y PERSPECTIVAS

Dr. Mario Estévez Báez, Dr. Roberto Ortega Morales, Dr. Luis de Jongh Díaz y Dra. Rosa Campos Peña

RESUMEN

El polvo desecado del cartílago de tiburón constituye un producto natural, al que se le atribuyen diferentes acciones biológicas y ha sido muy utilizado. En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica. El cartílago de tiburón evidentemente posee particulares características estructurales que le diferencian del cartílago de los vertebrados superiores y el hombre. Han sido sometidas a estudio y comprobadas las acciones analgésica e inhibidora de la angiogénesis. En los últimos 3 años ha sido demostrado que los glucosaminoglucanos del cartílago de tiburón muestran una actividad moduladora del crecimiento y desarrollo de neuronas en cultivo de tejidos. Otras acciones biológicas investigadas fueron: acción antiinflamatoria, antimutagénica, activadora de la respuesta inmunológica y antilipemiente. Se reconoce a Cuba entre los primeros en su uso en la terapia complementaria del cáncer avanzado refractario. No obstante, resulta necesario que su empleo con finalidades terapéuticas se fundamente con ensayos clínicos, que no han resultado concluyentes hasta el momento.

DeCS: CARTILAGO; POLVOS/uso terapéutico; TIBURONES; MEDICINA TRADICIONAL; MEDICINA ALTERNATIVA; NEOPLASMAS/terapia; SUPLEMENTOS DIETÉTICOS; NEOVASCULARIZACIÓN PATOLÓGICA.

La medicina tradicional y natural (MTN) ha logrado un reconocimiento cada vez mayor en el nivel internacional y se sitúa, con personalidad propia, en la lucha contra múltiples enfermedades, tanto en forma combinada con los procedimientos de la terapia convencional, como por sí sola. Su empleo popular resulta muy extendido y baste señalar que ha sido reportado que en el año 1997, 42 % de los norteamericanos

usaron estas terapias médicas, llamadas también alternativas.¹

El polvo desecado del cartílago de tiburón (CT) constituye un producto natural, al cual, además de suplemento nutricional, se le atribuyen un conjunto de propiedades benéficas en la profilaxis y el tratamiento de distintas enfermedades y especialmente en la terapia del cáncer²⁻⁴ (Menéndez López J, Fernández-Britto J. Cartílago de tiburón

como opción terapéutica en el cáncer avanzado refractario a los procedimientos oncoespecíficos convencionales. Resultados preliminares en 114 pacientes [Comunicación Científica] ISMM "Dr. Luis Díaz Soto", Ciudad de La Habana, Cuba, 1993). Es producido en diferentes países, incluida Cuba (TECNOTEX), y se le reconoce haber sido uno de los primeros países en utilizarlo en el tratamiento de pacientes con cáncer avanzado refractario.^{2,3,5-7}

COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DEL CARTÍLAGO DE TIBURÓN

El CT, al igual que otros cartílagos de los animales y el hombre, está constituido por células especializadas (condrocitos, condroblastos y condroclastos), una matriz extracelular y una fase inorgánica. La matriz extracelular la constituyen componentes fibrilares y no fibrilares.

El componente fibrilar es el colágeno, proteína caracterizada por su composición en aminoácidos y la organización estructural de las series polipeptídicas, que se disponen en 3 cadenas con una estructura helicoidal, y envuelven a una zona central que conforma un cilindro largo y rígido. Las cadenas helicoidales muestran un residuo de glicina en cada tercera posición de las series de aminoácidos componentes.^{8,9} En los vertebrados superiores, el cartílago está constituido en su mayor parte de colágeno tipo II (90 %) y tipo I (10 %). En el CT se ha demostrado que el procedente de la columna vertebral está compuesto por colágeno tipo II en 66 % y 33 % por colágeno tipo I, lo que constituye una notable diferencia¹⁰. *J.W. Alencar*¹¹ y otros han reportado el aislamiento e identificación de la composición lipídica de un componente detectado en una muestra comercial de CT, lo que no se observa en el cartílago de los

vertebrados superiores y del hombre. Recientemente se ha demostrado el polimorfismo del colágeno en el cartílago de los invertebrados.¹²

El componente no fibrilar de la matriz extracelular del cartílago está constituido por los hidratos de carbono complejos. Estos complejos están formados por glucosaminoglucanos, que son la porción hidrato de carbono del complejo y por proteoglucanos, que son las moléculas en las cuales la porción de hidrato de carbono está unida en forma covalente con polipéptidos. También existen glucoproteínas formando parte de la matriz.

Los glucosaminoglucanos se componen de unidades repetitivas de disacáridos constituidos por un aminoazúcar y un ácido urónico o galactosa. Se conocen diversos glucosaminoglucanos, entre los que se encuentran el condroitín-4-sulfato (condroitín sulfato A), el condroitín-6-sulfato (condroitín sulfato C), el dermatán sulfato, el queratán sulfato, la heparina, el heparán sulfato y el ácido hialurónico. En la tabla se muestra la composición y el peso molecular aproximado de estos.

Los proteoglucanos del cartílago existen como grandes moléculas compuestas por una proteína central (*core*), a la que se unen covalentemente cadenas de glucosaminoglucanos, mediante residuos de xilosa y serina de la cadena polipeptídica. Las proteínas centrales van ligadas a glucoproteínas de enlace, mediante fuerzas electrostáticas que la unen a una molécula lineal de ácido hialurónico, y así se constituyen en los llamados agregados de proteoglucano, que poseen pesos moleculares de varios millones.⁸

En el CT la unión de la estructura colágeno-proteoglucano es mucho más fuerte que las del cartílago de la escápula de bovino, requiere para su disrupción un tiempo considerablemente mayor. La disolución mediante guanidina 4M y posextracción con safranina requiere de 41 d para el CT y

TABLA. Composición de algunos glucosaminoglicanos

Glucosaminoglicano	Disacáridos	Peso molecular
Condroitín-4-sulfato (condroitín sulfato A)	Glucurónico, N-acetilgalactosamina	5 000-50 000
Condroitín-6-sulfato (condroitín sulfato C)	Glucurónico, N-acetilgalactosamina	5 000-50 000
Dermatán sulfato	Idurónico, N-acetilgalactosamina (glucurónico)	15 000-40 000
Ácido hialurónico	Glucurónico, N-acetilglucosamina	60 000-10 000 000
Queratán sulfato (de cartilago)	Galactosa, N-acetilglucosamina	8 000-12 000
Queratán sulfato (de córnea)	Galactosa, N-acetilglucosamina	4 000-19 000
Heparán sulfato	Idurónico, N-acetilglucosamina (glucurónico)	5 000-12 000

solo 24 h para el cartilago de la escápula de bovino. Ambos cartílagos han mostrado características similares respecto a la actividad de lisozimas, actividad inhibidora contra la colagenasa tipo I y contra proteasas como la tripsina y la quimiotripsina.¹³

Varias investigaciones se han dirigido al estudio de la estructura molecular del CT y entre ellas se destacarán algunas. *P de Waard* y otros¹⁴ obtuvieron 13 hexasacáridos alditoles de la región de unión proteína-carbohidrato. *K. Sugahara* y *T. Kojima*¹⁵ describieron el empleo de las enzimas condro-4-sulfatasa y condro-6-sulfatasa del *Proteus vulgaris*, con el objetivo de estudiar la composición del condroitín sulfato y del dermatán sulfato. *K. Sugahara* y otros¹⁶ reportaron el aislamiento de 9 hexasacáridos sulfatados del condroitín sulfato D, de un polvo de CT comercial. *S. Nadakara* y *K. Sugahara*¹⁷ encontraron que los hexasacáridos extraídos del condroitín sulfato D antes señalado, comparten un *core* sacárido común y que presentan además 3,4 ó 5 grupos sulfato en diferentes combinaciones.

En resumen, importantes investigaciones se dirigen al objetivo de identificar y aislar componentes del CT que puedan ser vinculados a las acciones biológicas de este producto natural y lograr su síntesis en condiciones de laboratorio industrial.

A continuación se exponen diferentes acciones biológicas atribuidas al CT y recogidas en la literatura especializada.

ACCIÓN ANTIANGIOGÉNICA

Corresponde a *Judah Folkman* y su grupo de trabajo¹⁸⁻²⁰ el descubrimiento de un factor angiogénico en los tumores sólidos, el cual estimula la multiplicación de células capilares endoteliales y lleva a la formación de nuevos vasos sanguíneos que facilitan la vascularización de la masa tumoral, aceleran su desarrollo y crecimiento. A partir de esos estudios *Folkman* planteó la hipótesis de que la antiangiogénesis podía constituir un abordaje terapéutico potencial en la lucha contra el cáncer. Diferentes autores plantearon a mediados de la década de los años 70 la existencia en el cartilago de bovino de una sustancia que inhiba la vascularización de los tumores sólidos.^{13,20,21} *A. Lee* y *R. Langer*¹³ plantearon y estudiaron la posibilidad del uso del CT tomando en cuenta que en el bovino el tejido cartilaginoso constituye 0,06 % del peso corporal, en tanto que en el tiburón este tejido constituye 6 % del peso corporal total. La

comparación mediante bioensayos *in vitro* de extractos de CT y de escápula de bovino mostró que el factor inhibidor de la angiogénesis (FIA) se encontraba en una concentración 100 000 veces mayor en el CT.¹³ Investigadores japoneses²² obtuvieron un extracto del CT de una especie de escualos de las aguas del Mar del Japón, con el uso de guanidina y ulterior fraccionamiento por ultrafiltración sobre las base de pesos moleculares (PM). En las fracciones con PM 103 y 104 demostraron fuerte actividad del FIA, se observó que la acción del extracto se conservaba después de su tratamiento con calor.

Otros autores²³ han confirmado la actividad antiangiogénica (AA) de extractos de cartílago de la escápula de bovino mediante ensayos biológicos *in vitro* e *in vivo*. La AA del CT ha sido investigada en un modelo *in vitro* de incorporación de timidina marcada a células endoteliales humanas, con adicción o no del factor alfa de necrosis tumoral.²⁴ En este trabajo se demostró que la AA del CT se encontraba en una fracción con PM, menor que 10 kDa y también se observó que era termoestable.

Un extracto de CT ha sido recientemente obtenido, se le designó la denominación convencional de AE-941.²⁵ Se demostró su AA en el modelo de la membrana corioalantoidea de embriones de pollo, así como la inhibición de la colagenasa en experimentos *in vitro*. Los investigadores canadienses de este trabajo han postulado su empleo en la terapéutica de la psoriasis, que constituye un ejemplo de enfermedad inflamatoria e inmune, asociada con cambios vasculares.

Un potente inhibidor de la angiogénesis ha sido purificado del cartílago del tiburón azul y se le ha denominado U-995.²⁶ Está compuesto por 2 péptidos simples con una masa molecular de 10 y 14 kDa respectiva-

mente. En ratones se comprobó que suprimía el crecimiento de células del sarcoma-180 y de metástasis del melanoma del ratón B16-F10 *in vivo*.

J. Menéndez López³ ha señalado que en el primer ensayo clínico cubano con el empleo de CT, se observó en estudios histológicos de biopsias y necropsias de pacientes incluidos en la muestra, un tipo especial de respuesta de los tejidos atribuidas al CT, y que consistía en un crecimiento del tejido de fibrosis, el cual parecía estrangular y borrar los islotes de células tumorales. A esta modulación de la cicatrización de la zona ocupada por los tumores sólidos y sus metástasis propuso denominarla "cicatrización oncológica".

La búsqueda de poderosos agentes angiointerceptores, que puedan ser empleados en la terapéutica del cáncer ha continuado con muchos otros productos.²⁷ Resultan en particular destacados la angiostatina, descubierta en la orina de ratones inoculados con tumoraciones cancerosas y la endostatina, purificada de una línea de células de tumor endotelial. Ambos productos han sido descubiertos y estudiados por el grupo de trabajo encabezado por J. Folkman,²⁹ y en especial esta última, ha mostrado en bioensayos *in vitro* e *in vivo* una elevada AA. Una desventaja de algunos angiointerceptores surgidos en los últimos 5 años está en su toxicidad (talidomida, factor de necrosis tumoral, Marimastat, etc.).²⁷

ACCIÓN REGULADORA DEL CRECIMIENTO NEURAL

En el desarrollo del sistema nervioso las moléculas de la matriz extracelular (MME) desempeñan un papel regulatorio importante en procesos como: migración celular, diferenciación celular, crecimiento neurítico y establecimiento de conexio-

nes sinápticas. Han sido descritos receptores para interacciones de la superficie celular con las MME: integrinas, proteínas heterodinámicas de transmembrana y algunos proteoglicanos. Sin embargo, como afirman *A.M. Clemens* y otros,²⁸ se conoce más de la estructura y las funciones de las bien caracterizadas glucoproteínas laminina, fibronectina y tenascin-C, que de las funciones de los proteoglicanos durante el desarrollo y la regeneración neural.

F. Lafont y otros²⁹ publicaron un estudio del efecto de proteoglicanos y glucosaminoglicanos en el crecimiento y la morfología de neuronas en cultivo de tejidos, a los cuales se adicionaban proteoglicanos de células gliales o de células del tumor de Engelbreth-Holm-Swarm, heparán sulfato de riñón del bovino, condroitín sulfato de CT o dermatán sulfato de mucosa bovina. Observaron que el dermatán sulfato incrementó selectivamente el crecimiento de las dendritas, mientras que los demás indujeron la aparición de una mayoría de células con un axón largo.

I. Fernand-Espinosa y otros³⁰ compararon el crecimiento neurítico de cultivos de neurona del hipocampo y tálamo de rata en presencia de condroitín sulfato C del CT, o dermatán sulfato aislado de mucosa bovina. Solo el condroitín sulfato C modificaba específicamente el patrón de desarrollo de las neuronas talámicas promoviendo el crecimiento de los axones. Sugirieron que esta acción podría estar ligada al mecanismo de control de la dirección de crecimiento axonal.

El *core* proteico de un proteoglicano glial no caracterizado totalmente y conocido como DSD-1-PG, se ha demostrado que promueve el crecimiento axonal. En este proteoglicano se ha identificado molecularmente un epítipo DSD-1, mediante el empleo de un anticuerpo monoclonal, el 473HD. *A.M. Clements*²⁸ y otros demos-

traron que el epítipo está presente en los sulfatos de condroitina C y D del CT, mientras que no se encuentra en los sulfatos de condroitina A y B de la tráquea bovina, ni en el sulfato de condroitina E del cartílago de calamar. Estos autores apuntan que la presencia de este epítipo debe tener papel en la acción fisiológica de ambos glucosaminoglicanos del CT.

ACCIÓN ANALGÉSICA Y ANTIINFLAMATORIA (AAA)

Investigadores brasileños han estudiado la AAA del CT de tiburones capturados en las aguas del norte y nordeste de ese país.³¹ Obtienen del CT un extracto, del cual investigan una fracción soluble (FS) que representa 6 % del peso original sometido al proceso y cuyo contenido proteico estiman en $17 \pm 1,54$ %.³¹ Emplearon 3 modelos experimentales *in vivo* en ratas para evaluar el producto, que se administraba por vía oral a los animales. Los estudios incluyeron grupos controles y uso de placebo por similar vía de administración de la FS. El efecto antiinflamatorio fue débil, en tanto que el analgésico fue potente. El efecto analgésico no se observó si se trataba con calor la FS, por lo que infirieron que podía estar relacionado con una molécula proteica de la FS. En un grupo experimental inyectaron intraperitonealmente naloxone (antagonista del sistema opioide) en dosis de 2 mg/kg y no produjo bloqueo del efecto de la FS, lo que interpretaron como evidencia de que la acción analgésica no actúa en la fase neurogénica del dolor, sino en la fase de liberación local de mediadores como histamina, serotonina, prostaglandinas y bradiquinina. En investigaciones ulteriores,³² el emplear similares modelos experimentales, confirmaron el efecto antinociceptivo, dependiente de la

dosis de la FS en agua del CT. El efecto analgésico no fue modificado por la talidomida (inhibidor de la síntesis de factor alfa de necrosis tumoral), ni por el naloxone. Sin embargo, el efecto fue bloqueado por la L-arginina (sustrato de la síntesis de óxido nítrico), lo que consideran una evidencia de acción en el sistema del óxido nítrico por la FS del CT.

En los ensayos clínicos cubanos del CT para el tratamiento de pacientes con cáncer avanzado refractario,³³ fue observado el alivio del dolor en pacientes con cáncer de próstata y mama con metástasis (34,4 y 37,5 % de los casos, respectivamente).

ACCIÓN ANTIMUTAGÉNICA Y ACTIVADORA DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA

Ha sido estudiado el papel del CT en la protección de células sometidas a lesión por acción del peróxido de hidrógeno en condiciones habituales y con baja concentración de hierro.^{33,34} En estos trabajos se muestra que el CT desempeña un papel de "barrendero" de las especies reactivas del oxígeno y posee una propiedad protectora contra lesiones del ácido desoxirribonucleico DNA en ambas condiciones experimentales, por eso sugieren que el CT posee actividad antimutagénica.

Es bien conocido que en los pacientes de cáncer avanzado se puede observar una afectación de la respuesta inmunológica del organismo.³⁵ En el primer grupo de pacientes de cáncer tratados con CT, por el grupo del profesor *Menéndez*³ se pudo establecer una relación entre la acción del producto y la respuesta del sistema inmunológico de los pacientes, se normalizaron sus valores en una cantidad significativa de los casos y en especial las pruebas de roseta activa y espontánea y los niveles de inmunocomplejos circulantes.

ACCIÓN ANTILIPEMIANTE

Autores japoneses³⁶ han estudiado el efecto de la administración de condroitín-6-sulfato, obtenido del CT sobre la aterogénesis del conejo. En este trabajo la vía de administración fue la intraperitoneal. Se incluyeron un grupo control (I) con alimentación habitual, un grupo con ingestión de colesterol en la dieta en concentración de 1 % (II) y otro grupo (III) con similar dieta al anterior, al que se inyectaba intraperitonealmente el glucosaminoglucano. A los otros 2 grupos de conejos se les inyectaba igualmente, pero con solución salina. El estudio se prolongó por 10 semanas. A partir de la quinta semana se redujo significativamente el colesterol total en el grupo III respecto al II y en la décima semana la fracción de baja densidad también resultó significativamente más baja. Las lesiones ateroscleróticas en el grupo III fueron macroscópicamente menores en la superficie aórtica respecto al grupo II. El colesterol esterificado y las concentraciones de calcio de la íntima y la media en el grupo III fueron significativamente menores. Los autores sugieren que el condroitín-6-sulfato del CT suprime la deposición del colesterol en la aorta de los conejos alimentados con 1 % de colesterol, por causa probablemente de la reducción de las lipoproteínas plasmáticas de baja densidad y de forma parcial, debido a cambios en el metabolismo arterial.

USO DEL CARTÍLAGO DE TIBURÓN EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

El empleo del CT en forma de polvo desecado o de sus diferentes derivados en el tratamiento del cáncer, constituye un proceder muy extendido. En los EE.UU. se estima³⁷ que 50 000 enfermos lo han utilizado,

ya sea como único tratamiento, o asociado con la terapia oncológica convencional. Estimados de otras fuentes³⁸ señalan que en el mundo de 25 000 a 100 000 personas lo consumen cada año. Entre los factores que consideran los autores de este trabajo que contribuyen a lo extendido de su empleo está en primer lugar el carácter terrible de esta enfermedad. Solo en los EE.UU. fallecen anualmente de cáncer unos 600 000 pacientes y surgen cada año más de un millón de nuevos casos. La terapia oncológica convencional es efectiva en 40 % de los casos, mientras el resto fallece antes de los 5 años. Entre los pacientes con cáncer avanzado (etapas III, IV), menos de 20 % sobreviven más de 5 años.³⁹ En segundo lugar está el hecho de que el producto se encuentra registrado y aprobado como suplemento nutricional en muchos países. Por último, se pudiera apuntar que existe toda una industria internacional dedicada a su producción y *marketing*, y hacen que el volumen del mercado del CT en el año 1996 ya alcanzara los 50 000 000 de dólares norteamericanos.⁴⁰

En manifiesta desproporción con las estadísticas antes señaladas de generalización del empleo del CT, se encuentra la escasez de publicaciones científicas que avalen a este producto con objetivos terapéuticos. El año 1993 parece constituir el momento a partir del cual se produce el “descubrimiento” del beneficio en el empleo del CT para el tratamiento del cáncer. Un año antes se había publicado un libro de *W.I. Lane* y *L. Conac*,⁴⁰ donde se argumentaba la conveniencia de su empleo en la terapia oncológica. Sin embargo, no fue sino a partir de la difusión televisiva en los EE. UU., de una información preliminar acerca de un ensayo clínico desarrollado en Cuba con un CT producido industrialmente por la industria de *W.I. Lane*, que comenzó su popularidad como terapia alternativa. Resultados

fragmentarios del ensayo clínico cubano fueron divulgados,^{2,4,6} se calificaron por autores de otros países como anecdóticos y fragmentarios.^{6,7,38} En una comunicación científica nacional³ *J. Menéndez* y *J. Fernández-Britto* plantearon con referencia a la experiencia cubana, que esta en aquel momento (1993) no resultaba suficiente para su generalización, aunque se pusieron en evidencia un conjunto de bondades del CT: inocuidad prácticamente absoluta; observación de reducción del volumen de áreas tumorales (sobre todo en próstata); evidencias de efecto inmunomodulador, especialmente en la fracción celular del proceso de inmunidad y mejoría de parámetros que miden la calidad de la vida en un número importante de pacientes.

En los 5 años transcurridos no se ha llegado a una conclusión definitiva, científicamente avalada, acerca de la acción del CT o sus derivados en el tratamiento del cáncer. En el pasado año se publicó un resultado negativo⁶ en un ensayo clínico fase I/II en una muestra pequeña de pacientes con cáncer de diferentes localizaciones (pulmón, mama, colon y recto, y otras) en etapas III-IV. La interrogante científica y la opinión pública han contribuido probablemente a la decisión por el Congreso de los EE.UU. en el otoño del pasado año, de aprobar un presupuesto de 50 000 000 de dólares para las investigaciones científicas sobre Medicina Alternativa y convertir en Instituto (semejante a los 18 existentes) la Oficina de Medicina Alternativa, que era un apéndice de la Oficina del Director del Instituto Nacional de Salud de ese país.¹ Este Instituto, junto al Instituto Nacional del Cáncer, han asignado 2 500 000 de dólares en el año 1999 a un ensayo clínico del CT en una muestra de hasta 800 pacientes de cáncer de pulmón. Se empleará una sustancia derivada del CT, el Neovostat, desarrollado

en Canadá, y el ensayo se considera desde ya como uno de los mayores jamás realizados en ese país para validar una terapia alternativa.

Como conclusiones se puede señalar que el CT constituye un producto natural, que rebasa el contexto de su empleo como suplemento nutricional, con múltiples ac-

ciones biológicas demostradas, y que posee grandes perspectivas para la terapia de distintas enfermedades. Resulta imprescindible el abordaje del estudio de las acciones terapéuticas del CT mediante ensayos clínicos debidamente proyectados y aprobados según lo establecido para estas investigaciones.

SUMMARY

The shark cartilage powder is a widely used natural product to which a number of biological actions have been attributed. This paper set forth a literature review. Obviously, the shark cartilage has particular structural features that make it different from other Vertebrata's cartilages and the man's cartilage. Analgesic and inhibitory actions of angiogenesis have been studied and tested. Over the last 3 years, it has been demonstrated that shark cartilage glycoaminoglycans show modulating action on the growth and development of neurons in tissue culture. Other researched biological actions are: anti-inflammatory, anti-mutagenic, immune response-activating and anti-lipemia actions. It is acknowledged that Cuba was one of the first countries to use shark cartilage in the supplementary therapy for advanced refractory cancer. However, it is required that its use for therapeutic purposes be based on clinical assays because such assays have not been conclusive so far.

Subject headings: CARTILAGE; POWDERS/therapeutic use; SHARKS; MEDICINE, TRADITIONAL; ALTERNATIVE, MEDICINE; NEOPLASMS/therapy; DIETARY SUPPLEMENTS; NEOVASCULARIZATION, PATHOLOGIC.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gouzin J Beefed-Up NIH Center Probes Unconventional Therapies. *Sci Magazine* 1998;282 (5397):2175-6.
2. Lane W, Contreras E Jr. High rate of bioactivity (reduction of gross tumor size) observed in advanced cancer patients treated with shark cartilage material. *J Neuropathol Med* 1992;3:45-7.
3. Menéndez López J. Cancer e angiinibidores. *Saude para Todos*. 1994;4:32-5.
4. Dupont E, Savard PE, Jourdain C, Juneau C, Tjhibodeau A, Ross N, et al. Antiangiogenic properties of a novel shark cartilage extract: potential role in the treatment of psoriasis. *J Cutan Med Surg* 1998;2(3):146-52.
5. Millner M. Follow-up of cancer patients using shark cartilage. *Alternat Complement ther* 1996;2:99-109.
6. Miller DR, Anderson GT, Stark JJ, Granick JJ, Richardson D. Phase I/II trial of the safety and efficacy of shark cartilage in the treatment of advanced cancer. *J Clin Oncol* 1998;16(11):3649-55.
7. Krane SM. Tejido conectivo. En: smith LH, Thier SO. *Fisiopatología. Principios biológicos de la enfermedad*. La Habana: Editorial Científico-Técnica 1986;T 1:601-35.
8. Lesson CR, Lesson TS. Tejido conectivo especializado: cartílago y hueso. En: *Histología*. La Habana: 1987:108-52.
9. Rama S, Chandrakasan G. Distribution of different molecular species of collagen in the vertebral cartilage of shark (*Carcharias acutus*). *Connect tissue Res* 1984;12(2):111-8.
10. Alencar JW, Pessoa JC, Craveiro AA, Machado MI, Matos FJ. Chemical composition of shark cartilage. *Rev bras farm* 1995;76:7-8.
11. Sivakumar P, Chandrakasan G. Occurrence of a novel collagen with three distinct chains in the cranial cartilage of the Squid *Sepia Officinalis*; comparison with shark cartilage collagen. *Biochem Biophys Acta* 1998;1381(2):161-9.
12. Lee A, Langer R. Shark cartilage contains inhibitors of tumor angiogenesis. *Science* 1983;221(4616):1185-7.

13. Waard P de, Vliegthart JFG, Harada T, Sugahara K. Structural studies on sulfate oligosaccharides derived from the carbohydrate-protein linkage region of chondroitin 6 sulfate proteoglycans of shark cartilage. 2. Seven compounds containing 2 or sulfate residues. *J Biol Chem.* 1992;267(9):6036-43.
14. Sugahara K, Kojima T. Specificity studies of bacterial sulfatases by means of structurally defined sulfated oligosaccharides isolated from shark cartilage chondroitin sulfate D. *Eur J Biochem* 1996;239(3):865-70.
15. Sugahara K, Nakanaka S, Takeda K, Kojima T. Structural analysis of unsaturated hexasaccharides des isolated from shark cartilage chondroitin sulfate D that are substitutes for the exolytic action of chondroitin ABC lyase. *Eur J Biochem* 1996;239(3):871-80.
16. Nakanaka S, Sugahara K. The unusual tetrasaccharide séquence GlcA beta 1-3 Gal Nac (4-sulfate) beta 1-4GlcA (2-sulfate) beta 1-3 GalNAc (6-sulfate) found in the hexasaccharides prepared by testicular hyaluronidase digestion of shark cartilage chondroitin sulfate D *Glycobiology* 1997;7(2):253-63.
17. Folkman J, Merler E, Abernathy C. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J Exp Med* 1971;133:275-88.
18. Folkman J. Tumor angiogenesis: a possible control point in tumor growth. *Ann Intern Med* 1975;82:96-100.
19. Brem H, Folkman J. Inhibition of tumor angiogenesis mediated by cartilage. *J Exp Med* 1975;143:427-39.
20. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987;235:442-7.
21. Moses MA, Sudhalter J, Langer R. Identification of an inhibitor of neovascularization from cartilage. *Science* 1990;24:1408-10.
22. Oikawa T, Ashino-fuse H, Shimamura M, Koide U, Iwaguchi T. A novel angiogenic inhibitor derived from Japanese shark cartilage (1) Extraction and estimation of inhibitory activities toward tumor and embryonic angiogenesis. *Cancer Left* 1990;51(3):181-6.
23. McGuire TR, Kazakoff PN, Hoie EB, Feinhold Ma. Antiproliferative activity of shark cartilage with and without tumor necrosis factor-alpha in human umbilical vein endothelium. *Pharmacotherapy* 1996;16(2):237-44.
24. Dupont E, Savard PE, Jourdain C, Juneau C, Thibodeau A, Ross N, *et al.* Antiangiogenic properties of a novel shark cartilage extract: potential role in the treatment of psoriasis. *J Cutan Med Surg* 1998;2(3):146-52.
25. Sheu JR, Fu CC, Tsai ML, Chung WJ. Effect of U-995 a potent shark cartilage-derived angiogenesis and anti-tumor activities. *Anticancer Res* 18(6A):4435-41.
26. Olson K. Angiogenesis research enjoys growth spurt in the 1990s. *News* 1996;88(12):786-9.
27. O'Reilly M, Holmgren L, Vhen C, Folkman J. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nature Med* 1996;2(6):689-92.
28. Clement AM, Nakanaka S, Masayama K, Mande C, Sugahara K, Fiassner A. The DSD-1 carbohydrate epitope depends on sulfation, correlates with chondroitin sulfate D motifs and is sufficient to promote neurite outgrowth. *J Biol Chem* 1998;273(43):2844-53.
29. Lafont F, Rouget M, Trilee A, Prochiantz A, Rousset A. In vitro control of neuronal polarity by glycosaminoglycans. *Development* 1992;114(1):17-29.
30. Fernand-Espinosa I, Nieto-Sampedro M, Bovolenta P. Differential effects of glycosaminoglycans on neurite outgrowth from hippocampal and thalamic neurones. *J Cell Sci* 1994;107(Pt6):1437-48.
31. Fontenele JB, Viana GSB, Xavier-Filho J, de Alencar JW. Anti-inflammatory and analgesic activity of a water-soluble fraction from shark cartilage. *Braz J Med Biol Res* 1996;29:643-6.
32. Fontenele JB, Araujo GB, Alencar JW, Viana GS. The analgesic and anti-inflammatory effects of shark cartilage are due to a peptide molecule and are nitric oxide (NO) system dependent. *Biol Pharm Bull* 1997;20(11):1151-4.
33. Gomes EM, Souto PR, Felzenwalb I. Shark cartilage containing preparation protects cell-against hydrogen peroxide induced damage and mutagenesis. *Mutat Res* 1996;367(4):204-8.
34. Felzenwalb I, Pelielo de Mattos JC, Bernardo-Filho M, Calderia-de-araujo A. shark cartilage-containing preparation: protection against reactive oxygen species. *Food Chem Toxicol* 1998;36(12):1079-84.
35. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. Aspectos clínicos de las neoplasias. En: *Patología estructural y funcional.* La Habana: 1988:251-69.
36. Matsushima T, Nakashima Y, Sugano M, Tasaki H, Kuroiwa A, Koide O. Suppression of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits by chondroitin-6-sulfate. *Artery* 1987;14(6):316-37.
37. Jacobs JJ. Unproven alternative methods of cancer treatment. En: De vitta VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer: Principles and practice of oncology.* Philadelphia: Lipincott, Raven, 1997;2993-3001.
38. Blalock J. Shark cartilage: something fishy. Online. Internet. Dic. 1996. Available at <http://WWW.clarknet/pub/jcblal/shark5.html>.

39. The Healing Network. Cancer. Explore your options. Online. Internet. 1998. available at <http://www.anaturalchoice.com/index.shtml>.
40. Lane WL, Comac L, sharks don't get cancer: How shark cartilage could save your life. New York: Avery, 1992.

Recibido: 22 de octubre de 1999. Aprobado: 5 de noviembre de 1999.

Dr. *Mario Estévez Báez*. Calle 46 A No. 109, entre Primera A y Tercera, Miramar, Municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.