

# ASPECTOS ESENCIALES Y BENEFICIOS PARA LA SALUD DEL XANTOHUMOL, UN PRODUCTO NATURAL DERIVADO DEL LÚPULO Y LA CERVEZA \* (PARTE II)

PAULO J. MAGALHÃESA,\* , DANIEL O. CARVALHOA, JOSÉ M. CRUZB, LUÍS F. GUIDOA Y AQUILES A. BARROS<sup>A</sup>

<sup>A</sup> REQUIMTE – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO, RUA DO CAMPO ALEGRE, 687, 4169-007 PORTO, PORTUGAL

<sup>B</sup> IBESA – INSTITUTO DE BEBIDAS E SAÚDE, APARTADO 1044, 4466-955 S. MAMEDE DE INFESTA, PORTUGAL PAULOXENON@GMAIL.COM

## 7. XANTOHUMOL Y SALUD

### 7.1. Actividad antioxidante y enfermedades asociadas al estilo de vida (por ej., obesidad y aterosclerosis):

La aterosclerosis, la base patológica de las arterias coronarias (CAD) y del ataque isquémico, es una causa de muerte relativamente frecuente en los países occidentales. Ahora se sabe que la aterosclerosis es un proceso inflamatorio-fibro-proliferativo patogénico crónico de las arterias de medio y gran tamaño que tiene como resultado la formación progresiva de placas fibrosas que, a su vez, obstaculizan el flujo de la sangre en los vasos. Estas lesiones pueden, o bien, provocar una trombosis oclusiva en la arteria afectada o producir una estenosis gradual pero persistente del lumen arterial. En el primer caso, se produce un infarto en el órgano regado por el vaso afectado, por ejemplo, un ataque al corazón cuando la afectada es una arteria coronaria o un infarto trombotico cuando la que se bloquea de forma repentina es una arteria cerebral. En el segundo caso, la estenosis del vaso conduce a un deterioro progresivo y gradual de la parte del órgano afectada [142,143].

Se cree que las especies de oxígeno y nitrógeno reactivo desempeñan un papel clave en el desarrollo del cáncer y de las enfermedades neurodegenerativas, como la aterosclerosis [27,84]. La captura de estas especies reactivas (por ejemplo, los radicales hidroxílicos, peroxílicos y de anión superóxido) representa uno de los posibles mecanismos por el cual los flavonoides ejercen actividades antioxidantes [27]. Gerhäuser *et al* investigaron la captura de estas especies reactivas por parte del XN y del IXN. [3]. Esta investigación mostró que el XN era 8,9 y 2,9 veces más potente que el compuesto de referencia trolox a una concentración de 1 mM para la captura de los radicales hidroxílicos y peroxílicos en el ensayo ORAC (capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno) [3]. XN también era un potente eliminador de radicales de anión superóxido, generados por la xantina oxidasa, sin inhibir de forma directa la actividad de la xantina oxidasa [3].

Las especies reactivas pueden causar una modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL),

asociada a menudo con el inicio de la aterosclerosis [84,85,143]. La peroxidación lipídica causada por radicales libres se ha señalado como la responsable de la patogénesis de la aterosclerosis y otras enfermedades como el cáncer, los desórdenes neurológicos y el daño tóxico a las células [68,143]. Las evidencias sugieren que la peroxidación de las LDL es un factor relevante en la formación de un ateroma, un fenómeno conocido como la "teoría oxidativa de la aterogénesis", apoyando así el papel fisiopatológico de los radicales libres vasculares. La participación de las especies reactivas del oxígeno en el proceso de la aterogénesis tiene lugar a través del radical superóxido, que no sólo oxida la fracción LDL del colesterol, sino que además reacciona rápidamente con la peroxinitrita productora de óxido nítrico, un radical extremadamente agresivo, también capaz de oxidar directamente las LDL [109]. Por lo tanto, al reducir la biodisponibilidad del óxido nítrico, el endotelio pierde los efectos anti-aterogénicos protectores del óxido nítrico por la pérdida de su acción vasodilatadora y por la pérdida de la capacidad para inhibir la actividad y la agregación de plaquetas, así como la proliferación de las células musculares lisas – factores relevantes en la aparición, el desarrollo y el empeoramiento de la aterosclerosis.

Se examinaron las prenilchalconas y las prenilflavononas de los lúpulos y la cerveza por su capacidad para inhibir la oxidación de las LDL *in vitro* [85]. En concentraciones de 5 y 25 µM, todas las prenilchalconas probadas inhibieron la oxidación de las LDL.

El XN mostró una elevada actividad antioxidante en la inhibición de la oxidación de las LDL, más elevada que la del α-tocoferol y de la isoflavona genisteína, pero más baja que la del flavonol quercetina. Estos descubrimientos sugieren que las prenilchalconas detectadas en los lúpulos y la cerveza son capaces de proteger las LDL humanas de la oxidación [85]. Un estudio similar de Stevens *et al*. [84] mostró que las chalconas preniladas (por ej., el XN) y, en menor medida, sus análogos no prenilados y de las flavononas (por ej., el IXN) inhiben la oxidación de las LDL por mediación del peroxinitrito a concentraciones micromolares bajas.

Recientemente, Rodríguez *et al.* [68] estudiaron la influencia de los flavonoides prenilados y no prenilados sobre la peroxidación de lípidos microsomiales hepáticos. De manera específica, las chalconas preniladas de los lúpulos y las cervezas se compararon con flavonoides no prenilados (chalconaringenina, naringenina, genisteína y quercetina) por su capacidad para inhibir la peroxidación lipídica en microsomas hepáticos de ratas. Las chalconas con grupos prenil- (ej. el XN) o geranil, a 5 y 25  $\mu\text{M}$ , eran inhibidores más efectivos de la peroxidación lipídica microsomial que la chalconaringenina, la naringenina o la genisteína inducida por  $\text{Fe}^{2+}$ /ascorbato. Las chalconas preniladas eran inhibidores efectivos de la peroxidación lipídica microsomial inducida por  $\text{Fe}^{3+}$ -ADP/NADPH y por el tert-butil-hidroperóxido (TBH), pero en menor medida que el sistema  $\text{Fe}^{2+}$ /ascorbato. Sobre la base de la inhibición de la peroxidación lipídica en microsomas hepáticos de ratas inducida por  $\text{Fe}^{2+}$ /ascorbato,  $\text{Fe}^{3+}$ -ADP/NADPH o TBH, se puede concluir que, a 25  $\mu\text{M}$ , las prenilchalconas como el xantohumol pueden tener actividades antioxidantes importantes [68]. Estos resultados proporcionan información adicional acerca de que la prenilación representa una modificación estructural crucial del xantohumol que influirá sobre el potencial quimiopreventivo.

La enzima diacilglicerol-acil-transferasa (DGAT) cataliza la transferencia de un residuo de acil-CoA a diacilglicerol (DG) para formar un triglicérido o un triacilglicerol (TG) [121,122]. Una acumulación excesiva de TG en ciertos órganos y tejidos del organismo provoca condiciones de alto riesgo de hígado graso, obesidad y hipertrigliceridemia, que conducen a aterosclerosis, diabetes, desórdenes metabólicos y depresión funcional de ciertos órganos [118,119,121,122,144]. La DGAT está implicada, en exclusiva, en la formación de TG y, por tanto, se espera que sea un objetivo eficaz de la inhibición para el tratamiento y la prevención de estas enfermedades. En un estudio realizado por Tabata *et al.* [118], un extracto metanólico de las plantas de lúpulo mostraron una actividad inhibitoria de la DGAT en hígados de ratas.

A partir del fraccionamiento guiado de la actividad inhibitoria de la DGAT, se aislaron dos chalconas (XN y XN B). Estos compuestos mostraron una inhibición preferente de la formación de TG en células Raji intactas, lo que indica que inhiben la actividad de la DGAT preferentemente en células vivas [118]. Como el XN inhibe la DGAT, y en consecuencia reduce la acumulación de TG, este compuesto puede reducir el riesgo de aterosclerosis [145].

Aunque el estudio llevado a cabo por Tabata *et al.* [118] fue crucial en la identificación de las chalconas como inhibidores potenciales de la DGAT, estos experimentos no proporcionaron información adicional acerca de cómo el XN y la inhibición de la DGAT podrían regular la secreción de la apolipoproteína hepática B (apoB). Debido a que la disponibilidad de TG es un factor clave en la regulación de la secreción de apoB, Casaschi *et al.* [120] examinaron los efectos del XN sobre la síntesis y la secreción de apoB y TG usando una línea celular de hepatoma humano HepG2 como el sistema modelo. El presente estudio indicó que el XN inhibió la secreción de apoB de una forma dependiente de la dosis en condiciones tanto basales como ricas en lípidos. El XN reforzó la degradación de la apoB debido a la falta de lipídica de la partícula lipoproteica causada por una transferencia insuficiente de TG recién sintetizado desde la mem-

brana microsomial al fondo luminal activo a través de la actividad de la DGAT y la MTP (proteína de transferencia de triglicérido microsomial). En conclusión, los datos sugieren que el XN es un inhibidor potente de la secreción de apoB. Este estudio contribuyó a una mejor comprensión del papel de esta chalcona en el tratamiento de la hipertrigliceridemia [120].

Vinson *et al.* [69] estudiaron el efecto de dos tipos de cerveza sobre un modelo animal de aterosclerosis. En este trabajo, se administró cerveza oscura y cerveza lager en dos concentraciones diferentes a hámsteres alimentados con colesterol, un modelo animal de aterosclerosis. A la dosis elevada (1/2 cerveza diluida), ambas cervezas inhibieron de forma significativa la aterosclerosis en comparación con una dosis de control de 2% de alcohol. A esta dosis, la lager reducía de manera significativa el colesterol y los triglicéridos y ambas cervezas actuaban como antioxidantes *in vivo* por medio de la reducción de la oxidabilidad de las LDL. A la concentración más baja (1/10 cerveza diluida), sólo la lager redujo significativamente la aterosclerosis en comparación con la dosis de control (0,4% alcohol). Los autores de este estudio sugirieron que los polifenoles presentes en las cervezas parecen ser los principales agentes responsables de los beneficios de la cerveza en este modelo.

La obesidad es un desorden complejo con múltiples causas, incluyendo factores tanto genéticos como ambientales. Por esa razón, la prevención y el tratamiento de la obesidad son esenciales para limitar la incidencia creciente de la morbilidad y la mortalidad [122,146]. Los agentes terapéuticos potenciales, en especial de productos naturales, con capacidad para inhibir la adipogénesis o incrementar la muerte celular por apoptosis podrían ser herramientas importantes para prevenir la obesidad [122,146]. Recientemente, Yang *et al.* [144] estudiaron el efecto del XN y del IXN sobre la apoptosis y la adipogénesis de las células 3T3-L1. En este estudio, los adipocitos se trataron con varias concentraciones de XN e IXN. En los adipocitos maduros, el XN y el IXN redujeron la viabilidad, incrementaron la apoptosis e incrementaron la generación de ERO. No obstante, el XN fue más eficaz que el IXN. Por otra parte, tanto el XN como el IXN redujeron la adipogénesis durante el período de diferenciación, siendo el XN el más potente. Asimismo, Yang *et al.* [147] estudiaron los efectos del XN y del honokiol (HK), un lignano aislado de la *Magnolia officinalis*, sólo y en combinación, sobre la apoptosis en los adipocitos 3T3-L1. Las combinaciones de XN y HK redujeron significativamente la viabilidad, indujeron la apoptosis en una forma dependiente de la dosis y de una manera más significativa que las respuestas aditivas al XN y al HK por separado. Sobre la base de estos estudios, los autores sugirieron que los flavonoides prenilados de los lúpulos y la cerveza inhibirían la adipogénesis e inducirían la apoptosis en los adipocitos, haciendo que fueran potencialmente útiles como agentes anti-obesidad [144,147].

**7.2. Actividad anti-infecciosa (antibacteriano, antivírico, antifúngico, antimalaria):** Tal y como hemos señalado previamente, el XN tiene la capacidad para actuar como un potente agente anti-infeccioso y además inhibe la replicación de determinados microorganismos como bacterias, virus, hongos y los protozoos de la malaria. Esta sección resume brevemente algunos de los informes más recientes e importantes acerca de estas actividades anti-infecciosas.

**7.2.1. Actividad antimalaria:** La malaria es una de las enfermedades infecciosas más comunes y representa un grave problema de salud pública. La enfermedad está causada por protozoos parásitos del género *Plasmodium*. Sólo cuatro especies del parásito *Plasmodium* pueden infectar a los humanos. No obstante, las formas más graves de la enfermedad están causados por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* [117]. *P. falciparum* es responsable del mayor número de muertes, con más de 280 millones de personas infectadas en todo el mundo y más de un millón de muertes cada año [5,117].

Cuando las fases sanguíneas del parásito de la malaria *P. falciparum* entran en los eritrocitos humanos, se alimentan de la degradación enzimática (por aspartil y cistein proteasas) de la hemoglobina [5,139]. La hemoglobina se ingiere a partir de la célula anfitrión y se digiere en el interior de la vacuola alimenticia del parásito. El producto derivado de esta digestión es la hemina tóxica, que se detoxifica por medio de la formación de un polímero insoluble (pigmento de la malaria) [139]. Se ha descrito un mecanismo alternativo de detoxificación de la hemina [140]. La hemina no polimerizada sale de la vacuola alimenticia hacia el citosol del parásito, donde se degrada por la glutatona (GSH) [140].

El medicamento antimalaria empleado con más frecuencia es la cloroquina [5,139]. Lamentablemente, la emergencia de cepas resistentes a los medicamentos ha reducido su eficacia y existe una necesidad urgente de identificación de inhibidores potentes, novedosos y económicos [5,117]. Las chalconas (por ej. el XN) se encuentran entre las clases estructurales cuya actividad antiplasmodial/ antimalaria se ha identificado recientemente como [5] de gran interés en la comunidad científica.

Herath *et al.* [141] estudiaron la actividad antimalaria de los metabolitos del XN frente a las cepas D6 (sensible a la cloroquina) y W2 (resistente a la cloroquina) del parásito de la malaria *P. falciparum*. La actividad de la lactato dehidrogenasa plasmodial (LDH) se determinó como un indicador del número de parásitos que quedan en los hematíes infectados, tras la incubación con muestras. El XN, así como un producto de transformación microbiana, fueron activos frente a ambas cepas, con valores IC<sub>50</sub> de 3,3 µg/mL y 4,1 µg/mL frente a la cepa D6 y de 1,0 µg/mL y 1,8 µg/mL frente a la cepa W2, respectivamente [141].

Recientemente, Frölich *et al.* [139] pusieron a prueba la actividad antiplasmodial in vitro del XN, así como de siete derivados naturales o semi-sintéticos de los lúpulos frente a la cepa sensible a la cloroquina poW y el clon multiresistente Dd2 usando un ensayo de incorporación de [3H]hipoxantina. Además, se estudió la influencia de los compuestos sobre la degradación de la hemina dependiente de la GSH para determinar su contribución al efecto antimalaria de las chalconas. En este estudio, el XN fue la chalcona más activa con valores IC<sub>50</sub> de 8,2 ± 0,3 µM (poW) y 24,0 ± 0,8 µM (Dd2). A modo de comparación, se probó la cloroquina como elemento de control positivo y los valores IC<sub>50</sub> obtenidos fueron 0,015 ± 0,002 µM (poW) y 0,14 ± 0,01 µM (Dd2).

Este estudio también comprobó la relación entre la estructura de las chalconas y la actividad antiplasmodial. De hecho, la presencia del doble enlace en la cadena del lado prenil es irrelevante para la bioactividad,

puesto que el XN y su 2'',3''- dihidro-derivado (12,9 ± 602 0,6 µM para poW y 17,4 ± 0,6 µM para Dd2) presentaba potenciales inhibidores casi idénticos [139].

En comparación con el XN, el desmetilxantohumol (DMX), que sólo difiere por la falta de residuo de metil en la posición C6', es de cuatro a cinco veces menos activo. Los autores sugieren que esto se puede deber a su elevada hidrofiliidad, impidiendo la entrada del compuesto en el sitio de acción en el interior del parásito [139]. Además, la metilación semi-sintética del XN eliminó por completo el potencial inhibidor [139]. Estos resultados demostraron, por primera vez, la capacidad de los derivados de las chalconas para interferir con el proceso de degradación de la hemina del patógeno de la malaria *P. falciparum*. Este efecto podría contribuir a su actividad antiplasmodial. No obstante, como un compuesto mostró la inhibición del *P. falciparum* sin ser capaz de interaccionar con la degradación de la hemina mediada por la GSH, los autores sugirieron que otros métodos de acción deben contribuir a la actividad anti-parasitaria observada en las chalconas de los lúpulos [139].

**7.2.2. Actividad antifúngica:** Las investigaciones sobre la actividad antifúngica de los componentes del lúpulo son limitadas. Mizobuchi y Sato [138] estudiaron varios componentes del lúpulo, incluyendo el XN, frente a cinco hongos patogénicos humanos (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* y *Mucor rouxianus*). En este estudio, el XN y la 6-prenilnaringenina (6-PN) fueron los más potentes. Con una concentración inhibidora mínima (CIM) de 3,13 µg/mL, ambos componentes inhibieron el crecimiento de los hongos *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* de forma más eficaz que el elemento de control positivo griseofulvina (CIM: 6,25 µg/mL). Asimismo, con el XN se observó una ligera inhibición del *Mucor rouxianus* (CIM: 50 µg/mL) [138].

**7.2.3. Actividad antibacteriana:** A medida que más tipos de bacterias desarrollan una resistencia a un gran número de antibióticos, surge la necesidad urgente de nuevos antimicrobianos a los que estas bacterias resistentes sean sensibles [128]. En efecto, la actividad antibacteriana de las resinas y chalconas de los lúpulos se está documentando de manera creciente [5,117]. Muchos grupos de investigación o bien aislaron o bien identificaron la estructura de las chalconas que poseen actividad antibacteriana o las chalconas naturales sintetizadas o modificadas.

La placa dental y la caries están causadas, principalmente, por la bacteria *Streptococcus mutans*. Se están llevando a cabo esfuerzos para reducir la ocurrencia de la placa dental y la caries con un agente antimicrobiano no vinculado a efectos secundarios no deseados y/o al desarrollo de una resistencia a los antibióticos. Se ha reconocido que algunos componentes de la planta del lúpulo (*Humulus lupulus L.*) poseen actividad antimicrobiana bacteriostática [130]. De hecho, las resinas del lúpulo ayudan a preservar la cerveza debido a sus propiedades antimicrobianas. Bhattacharya *et al.* [130] compararon las actividades antimicrobianas de varios componentes del lúpulo (β-ácido, XN, iso-α-ácido y tetra iso-α-ácido) frente a cuatro cepas de *S. mutans* y una cepa de *S. salivarius* y otra de *S. sanguis* con la de ciertos aceites esenciales empleados en elixires bucales

comerciales (timol, aceite de canela, aceite de clavo, nerol, citral, eucaliptol y metanol). En este estudio, se emplearon el ensayo de difusión en disco y el ensayo de la turbidez de fluidos, dos ensayos complementarios, para evaluar las actividades antimicrobianas de los compuestos frente a varias cepas. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) (es decir, la concentración más baja de la sustancia de prueba que no muestra crecimiento bacteriano) respecto a cada compuesto de prueba utilizando un ensayo de turbidez. Todos los componentes del lúpulo probados mostraron actividad antimicrobiana frente a *S. mutans*, *S. salivarius* y *S. sanguis*. A una dosis de 50 µg por disco, el XN (140 nmol) produjo zonas de inhibición similares al timol frente a las tres cepas (333 nmol). Por otra parte, no hubo incremento de la actividad antimicrobiana por el ácido ascórbico, por encima del incremento debido a la reducción del pH [130]. No obstante, antes de que estos componentes del lúpulo se puedan utilizar en aplicaciones orales (ejemplo, elixires bucales), deberá enmascararse su sabor amargo o no serán aceptables para los consumidores.

Muy recientemente, Natarajan *et al.* [128] investigaron la acción combinada de los compuestos antibacterianos derivados del lúpulo, la lupulona (β-ácido), la humulona (α-ácido) y el XN, con varios antibióticos. Se ha demostrado la acción combinada positiva de la lupulona y del XN con los antibióticos sulfato de polimixina B, tobramicina y ciprofloxacina a la hora de inhibir bacterias gram positivas y algunas bacterias gram negativas en experimentos *in vitro*. Se emplearon el ensayo de la difusión en disco y el ensayo de la CIM para determinar la acción combinada. A pesar de la diferencia en el mecanismo del efecto antibacteriano de los tres antibióticos, los autores especularon que los cambios en la permeabilidad provocados por los compuestos del lúpulo superarán la resistencia de la membrana bacteriana a la permeación del antibiótico. En este estudio, también se intentó una aplicación práctica de las combinaciones sinérgicas en la forma de un modelo de crema antibiótica: Neosporin (Pfizer Inc), que contiene lupulona, neomicina y sulfato de polimixina B. Esta crema también mostró una acción combinada [128].

Aunque se le atribuyen a los prenilflavonoides una serie de efectos sobre la salud, sólo hay unos pocos informes disponibles acerca de la biodisponibilidad de estos compuestos y el potencial de transformación de la comunidad microbiana intestinal. Investigaciones *in vivo* recientes sobre la biodisponibilidad del XN en ratas demostraron que el XN se absorbe de forma defectuosa tras una administración oral [131] y sólo una pequeña fracción de este compuesto se metaboliza en el tracto gastrointestinal [132]. Possemiers *et al.* [133] obtuvieron resultados similares. En este estudio, cuatro muestras fecales humanas se incubaron con 25 mg/L de XN, IXN y 8-PN durante un período de 8 días. El XN demostró ser relativamente estable con una recuperación superior al 65%. El resto constaba de pequeñas cantidades de metabolitos diferentes, incluyendo una parte de IXN [133].

En consecuencia, la ingesta de una cantidad elevada de XN tiene como resultado concentraciones significativas de XN intacto en el intestino, lo que, a su vez, puede influir sobre el crecimiento de las bacterias intestinales por su actividad antibacteriana. Por consiguiente, Hanske *et al.* [129] investigaron si el XN podría influir sobre la composición de la microbiota intestinal. Con este objetivo, se administraron 100 mg de XN/kg de peso corporal a ratas duran-

te 4 semanas. Se analizó la diversidad de la comunidad microbiana fecal usando la técnica PCR-DGGE. Se comprobó que, aunque el XN estaba presente en el intestino grueso, no se observaba impacto alguno sobre la composición de la microbiota fecal de las ratas por parte del XN. Se concluyó pues que es muy probable que la ingesta oral de preparados herbales con XN no tenga impacto significativo sobre la composición microbiana del intestino. Sobre la base de este descubrimiento, los autores han sugerido que las propiedades antibacterianas señaladas del XN parecen ser selectivamente útiles frente a patógenos oportunistas [129].

**7.2.4. Actividad antivírica:** Las enfermedades víricas, incluidas las enfermedades respiratorias víricas, las infecciones víricas por herpes y, en particular, las infecciones retrovirales (ejemplo, el VIH-1) se están convirtiendo, de manera creciente, en un problema de salud a escala mundial. Se ha documentado de manera extensiva que la eficacia de la mayoría de los agentes antivirales está limitada por la toxicidad intrínseca de los compuestos y la aparición de virus resistentes a los medicamentos tras un uso continuado [134,137]. Como consecuencia de ello, el descubrimiento de nuevos agentes antivirales ha incrementado su importancia.

La inmunodeficiencia adquirida (SIDA), causada por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), ha supuesto un grave problema sanitario desde el año 1980. Debido a su diversidad estructural, se ha investigado a los flavonoides por su actividad anti-VIH. En un estudio reciente llevado a cabo por Wang *et al.* [134], se puso a prueba el potencial del XN para inhibir varias fases esenciales para la replicación del VIH-1. Se comprobó que el XN inhibía tanto los efectos citopáticos inducidos por el VIH-1 (ECP), como la producción del antígeno viral p24 y la transcriptasa inversa en los linfocitos C8166 a una concentración no citotóxica. Los valores EC50 fueron 0,82, 1,28 y 0,50 µg/mL, respectivamente. El XN también inhibió la replicación del VIH-1 en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) infectadas con VIH-1, con un valor EC50 de 20,74 µg/mL. La actividad de la transcriptasa inversa del VIH-1 recombinante y la entrada del VIH-1 en las células no se inhibieron por el XN [134]. Los resultados obtenidos de este estudio sugirieron que el XN es eficaz frente al VIH-1 y podría servir como un compuesto principal interesante. Puede representar un agente quimioterapéutico novedoso frente a la infección por VIH-1. No obstante, cuando Buckwold *et al.* [137] examinaron un extracto de lúpulo enriquecido con XN (8,4% de XN), no se detectó actividad anti-VIH-1 alguna, sino que se observó una actividad de débil a moderada frente a la diarrea vírica bobina (DVB), los virus de herpes de tipo 1 (VHS-1) y de tipo 2 (VHS-2) y el rinovirus (Rhino). El XN por sí sólo parecía ser el único responsable de la actividad antivírica del extracto de lúpulo enriquecido con XN, puesto que los índices terapéuticos (IT) del XN frente a DVB, VHS-1 y VHS-2 fueron similares a los del extracto enriquecido con XN. El XN también mostró una actividad antivírica frente al citomegalovirus (CMV), sugiriendo que tiene una actividad antivírica generalizada frente a virus causantes de herpes. En resumen, esta chalcona podría servir como un compuesto principal interesante frente a varias infecciones por virus.

**7.3. Actividad antiproliferativa / anticarcinogénica:** La cerveza es una bebida esencialmente segura desde un punto de vista sanitario debido al fácil control de las materias primas empleadas y al intenso tratamiento tér-

Sustrato/línea celular	Actividad biológica	Principios activos principales	Rango de valores IC <sub>50</sub> (µM)	Referencias		
MCF-7 (células de cáncer de mama humano), HT-29 (células de cáncer de colon humano), A2780 (células de cáncer de ovarios humano)	Actividad antiproliferativa	XN, DX, IXN	0.5-15.0	[114]		
PC-3, DU145 (células de cáncer de próstata humano)		XN, DMX, IXN, 6-PN, 8-PN	12.0 - 54.0	[100,104]		
Cyp1A1, Cyp1B1, Cyp1A2, Cyp3A4, Cyp2E1	Inhibición de la actividad metabólica de los procarcinogénicos	XN, IXN, 8-PN	0.05-10.0	[112]		
Cyp1A2		XN, IXN, 8-PN	2.0-10.0	[111]		
Cyp1A1		XN, IXN, 6-PN, 8-PN	0.02-0.3	[3,110]		
Células de hepatoma en ratones hepa 1c1c7	Inducción de la actividad de la quinona reductasa (QR)	XN, 6-PN, 8-PN	1.0-10.1	[113]		
Células Hepa 1c1c7 de hepatoma murino		XN, IXN	7.0-35.0	[110]		
Microsomas de vesícula seminal ovina	Inhibición de las enzimas de la ciclooxigenasa:	COX1	XN, 6-PN, 8-PN	1.0-50.0	[3,108]	
			COX2	XN	16.0-27.0	[110]
					41.5	[110]
Células de cáncer de colon humano	Inducción de la apoptosis en las células tumorales	XN	5.0-15.0	[91]		
MCF-7, T47-D (células de cáncer de mama humano)		XN	<10.0	[94]		
BPH-1 (células de hiperplasia de próstata humana benigna), PC-3 (células de cáncer de próstata)		XN	10.0-20.0	[93]		
Células B de leucemia linfocítica crónica		XN	18.0-31.0	[107]		
Vasos placentales humanos	Inhibición de angiogénesis	XN, IXN	< 10	[127]		
Células macrófagas en ratones	Inhibición de la óxido nítrico sintasa (iNos)	XN, IXN	12.0-22.0	[110]		
		XN	1.0-5.0	[109]		
Células JAR coriocarcinoma-derivadas	Inhibición de la actividad aromatasa (estrógeno sintasa)	XN, IXN, 8-PN	0,065 – 140	[105]		
Sk-Br-3 (células de cáncer de mama humano)			0,08 – 25,4	[103]		
ADN Plasmídico superenrollado pBR322	Inhibición de la actividad Topoisomerasa del DNA	XN, IXN, 8-PN		[102]		

**Legenda:** XN, xantohumol; DX, dehidrocicloxantohumol; IXN, isoxantohumol; DMX, desmetilxantohumol; 6-PN, 6-prenilnaringenina; 8-PN, 8-prenilnaringenina

**Tabla 4.** Actividades biológicas in vitro de los prenilflavonoides como agentes quimiopreventivos potenciales contra el cáncer.

mico al que se someten durante el proceso de fabricación. En los últimos años, han salido a la luz varios estudios acerca de la presencia y la ocurrencia de sustancias tóxicas y alergénicas en esta bebida. La cerveza, siendo una bebida elaborada a partir de cereales, puede sufrir cierto grado de contaminación por ocratoxinas, que son teratogénicas, inmunotóxicas, genotóxicas, mutagénicas y carcinogénicas, y también por nitrosaminas, nitratos, nitritos, pesticidas, herbicidas y metales pesados, todas ellas sustancias consideradas carcinogénicas [75]. No obstante, los niveles de todas estas sustancias en la cerveza son muy bajos ( $< \mu\text{g}/\text{Kg}$ ) y no es muy probable que representen un riesgo para bebedores de cerveza moderados [75]. Por otra parte, se están estudiando los otros compuestos (como XN, fibra o vitaminas), presentes en la cerveza en concentraciones más elevadas que dichos contaminantes, por sus propiedades quimioprotectoras y anticarcinogénicas.

En los últimos 10 años, varios estudios *in vitro* y *in vivo* han evaluado la actividad potencial de los componentes del lúpulo, en especial del XN, como agentes quimiopreventivos. No obstante, los estudios *in vivo* siguen siendo muy limitados. El XN posee un amplio espectro de mecanismos quimiopreventivos en una amplia variedad de líneas celulares de cáncer, como el cáncer de mama, colon, ovarios y próstata [3,4,103,107,114]. El XN ha mostrado un espectro excepcionalmente amplio de mecanismos inhibidores en las fases de inicio (moléculas reactivas, daño al ADN), fomento (mutación, estructura celular modificada) y progresión (crecimiento celular incontrolado, tumores, metástasis) de la carcinogénesis [3]; los estudios sobre el mecanismo de acción de esta molécula se están incrementando en número [93].

En la fase inicial de la carcinogénesis, el XN modula de forma potente la actividad de las enzimas del citocromo P450s implicadas en la activación metabólica de los procarcinogénicos [3,110-112]. Además, el XN induce la NAD(P)H, la actividad de la quinona reductasa, que regula la detoxificación [3,108,110,113]. Como mecanismo potencial contra la proliferación tumoral, el XN posee propiedades antiinflamatorias por medio de la inhibición de la actividad de la ciclooxigenasa-1 y la ciclooxigenasa-2, así como de la producción de óxido nítrico [3,109]. Los mecanismos antiproliferativos del XN que previenen la carcinogénesis en la fase de progresión incluyen la inhibición de la síntesis de ADN y la inducción de la interrupción del ciclo celular en la fase S, la apoptosis y la diferenciación celular terminal [3,114]. También se ha señalado al XN como un potente inhibidor de la angiogénesis, esencial para un correcto crecimiento y propagación de los tumores [123,127]. Algunos de los datos más recientes e importantes respecto a los beneficios para la salud o las actividades biológicas *in vitro* de los prenilflavonoides de los lúpulos se presentan brevemente en la Tabla 4.

La primera evidencia *in vivo* de un efecto inhibidor del cáncer fue proporcionada por investigadores sobre el cáncer de Heidelberg [4] que trataron a ratones con cáncer de mama con XN durante dos semanas. En comparación con los animales de control, el crecimiento tumoral se redujo en un 83%. Se estableció que una posible causa de su eficacia era la inhibición de la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) [4]. Un estudio reciente realizado *in vivo* estableció que el XN administrado en agua potable a una concentración de  $2 \mu\text{M}$  inducía una inhibición significativa de la angiogénesis en ratones

implantados con una esponja Matrigel. A una concentración más alta ( $200 \mu\text{M}$ ), el XN mostró una marcada inhibición de la angiogénesis sin efectos adversos sobre los parámetros de salud de los animales [123]. En esta misma investigación, la administración oral de XN ( $20 \mu\text{M}$ ) inhibió de forma significativa la tasa de crecimiento de tumores KS-IMM (línea celular de sarcoma de Kaposi) en ratones desnudos macho a partir del día 20 de tratamiento. Esta "angio-prevención" por parte del XN constituye un nuevo y prometedor enfoque en la investigación del cáncer, también confirmado mediante pruebas en animales realizadas en el Instituto de Ciencias Clínicas y Biológicas de la Universidad de Varese en Italia [126].

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ramírez SC, Castro MMB, Carretero AS, Blanco CC, Gutiérrez AF. (2003) Análisis de los componentes de la cerveza por métodos electroforéticos capilares. *Trends in Analytical Chemistry*, **22**, 440-455.
- [2] Kratky R, Buiatti S. (2008) La cerveza en la mejora de la salud y la prevención de enfermedades. En *The chemical nature of flavor in beer*, Capítulo 7, Preedy VR (Ed). Elsevier Science & Technology, Londres, GB, 73-84.
- [3] Gerhäuser C, Alt A, Heiss E, Gamal-Eldeen A, Klimo K, Knauft J, Neumann I, Scherf HR, Frank N, Bartsch H, Becker H. (2002) Actividad quimiopreventiva del xantohumol, un producto natural derivado del lúpulo. *Molecular Cancer Therapeutics*, **1**, 959-969.
- [4] Gerhäuser C. (2005) Componentes de la cerveza como agentes quimiopreventivos potenciales. *European Journal of Cancer*, **41**, 1941-1954.
- [5] Gerhäuser C. (2005) Potencial anti-infeccioso de amplio espectro del xantohumol del lúpulo (*Humulus lupulus* L.) en comparación con las actividades de otros componentes del lúpulo y los metabolitos de xantohumol. *Molecular Nutrition & Food Research*, **49**, 827-831.
- [6] Wunderlich S, Zürcher A, Back W. (2005) Enriquecimiento de xantohumol en el proceso de fabricación de la cerveza. *Molecular Nutrition & Food Research*, **49**, 874-881.
- [7] De Keukeleire D. (2000) Fundamentos de la química de la cerveza y del lúpulo. *Química Nova*, **23**, 108-112.
- [8] Goldammer T. (2008) *The Brewers' Handbook: the Complete Book to Brewing Beer*. Apex Publishers, Virginia, EE.UU., 1-496.
- [9] European Brewery Convention (EBC). (2000) *Tecnología del malteado – Manual de Buenas Prácticas*. En *The overall process; Raw materials; The processes*. Fachverlag Hans Carl, Nuremberg, Alemania, 7-48.
- [10] Guido LF, Rajendram R, Barros AA. (2008) La cerveza en la mejora de la salud y en la prevención de enfermedades. En *Pitching yeast and beer flavor*, Capítulo 3, Preedy VR (Ed). Elsevier Science & Technology, Londres, GB, 22-32.
- [11] Hough JS, Briggs DE, Stevens R, Young TW. (1982) *Malting and Brewing Science – Volumen 2 – Mosto lupulado y cerveza*. Chapman and Hall, Nueva York, EE.UU., 1-387.
- [12] Departamento de Agricultura de EE. UU., Servicio de Investigación Agrícola (2003) *Base de datos Nacional de Nutrientes de Referencia Estándar, Versión 16*. Página web del Laboratorio de Datos sobre Nutrientes: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.
- [13] Duarte I, Barros A, Belton PS, Righelato R, Spraul M, Humpfer E, Gil AM. (2002) Espectroscopia de reso-

- nancia magnética nuclear de alta resolución y análisis multivariable para la caracterización de la cerveza. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 2475-2481.
- [14] Gross MG Lebrón MR, Marcos A. (2000) Revisión bibliográfica sobre los efectos del consumo moderado de cerveza sobre la salud. Estudio 6. Centro de información "Cerveza y Salud".
- [15] Rodrigues J, Almeida P. (2008) La cerveza en la mejora de la salud y la prevención de enfermedades. En E-2 nonenal and  $\beta$ -damascenone in beer, Capítulo 38, Preedy VR (Ed). Elsevier Science & Technology, Londres, GB, 395-402.
- [16] Yu J, Vasanthum T, Temelli F. (2001) Análisis de ácidos fenólicos en la cebada por cromatografía de líquidos de alta resolución. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 4352-4358.
- [17] Montanari L, Perretti G, Natella F, Guidi A, Fantozzi P. (1999) Ácidos orgánicos y fenólicos en la cerveza. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, **32**, 535-539.
- [18] Gerhäuser C, Becker H. (2008) La cerveza en la mejora de la salud y la prevención de enfermedades. En Phenolic compounds in beer, Capítulo 12, Preedy VR (Ed). Elsevier Science & Technology, Londres, GB, 124-144.
- [19] Madigan D, McMurrugh I, Smyth MR. (1994) Determinación de las proantocianidinas y las catequinas en la cerveza y la cebada por cromatografía de líquidos de alta resolución con detección electroquímica de doble electrodo. *Analyst*, **119**, 863-868.
- [20] Stevens JF, Taylor AW, Chawson JE, Deinzer ML. (1999) Destino del xantohumol y prenilflavonoides relacionados desde los lúpulos hasta la cerveza. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 2421-2428.
- [21] Stevens JF, Taylor AW, Deinzer ML. (1999) Análisis cuantitativo del xantohumol y prenilflavonoides relacionados en los lúpulos y la cerveza por cromatografía de líquidos – espectrometría de masas tandem. *Journal of Chromatography A*, **832**, 97-107.
- [22] Ceh B, Kac M, Kosir IJ, Abram V. (2007) Relaciones entre el contenido en xantohumol y polifenol en las hojas de lúpulo y los conos de lúpulo respecto al suministro de agua y al cultivo. *International Journal of Molecular Sciences*, **8**, 989-1000.
- [23] Magalhães PJ, Dostalek P, Cruz JM, Guido LF, Barros AA. (2008) El impacto de un producto lupulado enriquecido con xantohumol sobre el comportamiento del xantohumol e isoxantohumol en las cervezas claras y oscuras: un enfoque de escala piloto. *Journal of the Institute of Brewing*, **114**, 246-256.
- [24] Magalhães PJ, Guido LF, Cruz JM, Barros AA. (2007) Análisis de xantohumol e isoxantohumol en diferentes productos lupulados por cromatografía de líquidos-detección por red de diodos-espectrometría de masas tandem con ionización por electrospray. *Journal of Chromatography A*, **1150**, 295-301.
- [25] Biendl M, Pinzl C. (2008) Los lúpulos y la salud. En Effects – Efficacy of individual hop components, Capítulo 4, Museo alemán del lúpulo, Wolnzach, Alemania, 49-76.
- [26] Callemien D, Jerkovic V, Rozenberg R, Collin S. (2005) El lúpulo como una fuente interesante de resveratrol para los fabricantes de cerveza: Optimización de la extracción y estudio cuantitativo por cromatografía de líquidos/ espectrometría de masas tandem con ionización química a presión atmosférica. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 424-429.
- [27] Stevens JF, Page JE. (2004) Xantohumol y prenilflavonoides relacionados en los lúpulos y la cerveza: a tu buena salud. *Phytochemistry*, **65**, 1317-1330.
- [28] De Keukeleire J, Janssens I, Heyerick A, Ghekiere G, Cambie J, Roldán-Ruiz I, Van Bockstaele E, De Keukeleire D. (2007) Relevancia de la agricultura ecológica y efecto de las condiciones climatológicas sobre la formación de  $\alpha$ -ácidos,  $\beta$ -ácidos, desmetilxantohumol y xantohumol en el lúpulo (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 61-66.
- [29] Hee JJ, Sam SK, Sook KH, Jae SC. (2005) Barredores in vitro de radicales libres y ONOO en *Sophora flavescens*. *Archives of Pharmacal Research*, **28**, 534-540.
- [30] Biendl M, Methner FJ, Stettner G, Walker CJ. (2004) Pruebas de fabricación de cerveza con un producto lupulado enriquecido con xantohumol. *Brauwelt International*, **22**, 182-184.
- [31] Biendl M, Mitter W, Peters U. (2002) Uso de un producto lupulado rico en xantohumol en la producción de cerveza. *Brauwelt International*, **20**, 39-42.
- [32] Back W, Zürcher A, Wunderlich S. (2004) Enriquecimiento con xantohumol en el proceso cervecero. N° de publicación de patente DE 102 56 166 A1.
- [33] Stettner G, Methner FJ, Biendl M. (2003) Uso de un nuevo producto lupulado rico en xantohumol en la fábrica de cerveza – destino del xantohumol durante el proceso cervecero e influencia de compuestos lupulados no específicos sobre el amargor de la cerveza. Proceedings of the European Brewing Convention Congress, Dublín, Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag: Nuremberg, 1383-1389.
- [34] Winkelmann L, Schütze M. (2004) Productos ricos en xantohumol de última generación. *Brauwelt International*, **5**, 300-301.
- [35] Biendl M. (2007) Extractos lupulados comerciales ricos en xantohumol. Proceedings of the Scientific Commission of International Hop Grower's Convention, Alemania, 12.
- [36] Forster A, Gahr A, Ketterer M, Beck B, Massinger S. (2002) El xantohumol en la cerveza – posibilidades y limitaciones del enriquecimiento. *Monatsschrift Fur Brauwissenschaft*, **55**, 184-194.
- [37] Kondo K. (2004) Cerveza y salud: efectos preventivos de los componentes de la cerveza sobre las enfermedades asociadas al estilo de vida. *Biofactors*, **22**, 303-310.
- [38] Kristiansen L, Gronbaek M, Becker U, Tolstrup JS. (2008) Riesgo de pancreatitis asociado al consumo de alcohol: un estudio cohorte basado en la población. *American Journal of Epidemiology*, **168**, 932-937.
- [39] Mantena SK, King AL, Andringa KK, Eccleston HB, Bailey SM. (2008) Disfunción mitocondrial y estrés oxidativo en la patogénesis de enfermedades del hígado graso inducidas por el alcohol y la obesidad. *Free Radical Biology and Medicine*, **44**, 1259-1272.
- [40] Ponicki WR, Gruenewald PJ. (2006) El impacto del exceso de alcohol sobre la mortalidad por cirrosis hepática. *Journal of Studies on Alcohol*, **67**, 934-938.
- [41] Bongaerts BW, Van den Brandt PA, Goldbohm RA, De Goeij AF, Weijenber MP. (2008) Consumo de alcohol, tipo de bebida alcohólica y riesgo de cáncer colorectal en ubicaciones secundarias específicas. *International*

- Journal of Cancer*, **123**, 2411-2417.
- [42] Pelucchi C, Gallus S, Garavello W, Bosetti C, La Vecchia C. (2008) Consumo de alcohol y tabaco y riesgo de cáncer en el tracto aerodigestivo superior y el hígado. *European journal of cancer prevention: the official journal of the European Cancer Prevention Organization (ECP)*, **17**, 340-344.
- [43] Deandrea S, Talamini R, Foschi R, Montella M, Dal Maso L, Falcini F, La Vecchia C, Franceschi S, Negri E. (2008) Alcohol y riesgo de cáncer de mama definido por el estado de los receptores de estrógeno y progesterona: Un estudio de caso y control. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, **17**, 2025-2028.
- [44] Strother WN, Lumeng L, McBride WJ. (2008) Efectos agudos del etanol sobre la utilización local de la glucosa cerebral en regiones seleccionadas del sistema nervioso central de ratas adolescentes con preferencia (P) y no preferencia (NP) por el alcohol. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, **32**, 1875-1883.
- [45] Alderazi Y, Brett F. (2007) El alcohol y el sistema nervioso. *Current Diagnostic Pathology*, **13**, 203-209.
- [46] Li XM, Deng Y. (2005) Abuso del alcohol en los daños al sistema nervioso central. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, **9**, 181-183.
- [47] Huntgeburth M, ten Freyhaus H, Rosenkranz S. (2005) El consumo de alcohol y la hipertensión. *Current Hypertension Reports*, **7**, 180-185.
- [48] Miller PM, Anton RF, Egan BM, Basile J, Nguyen SA. (2005) El consumo excesivo de alcohol y la hipertensión: implicaciones clínicas de la investigación actual. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn)*, **7**, 346-351.
- [49] Lang CH, Frost RA, Summer AD, Vary TC. (2005) Mecanismos moleculares responsables de la miopatía inducida por el alcohol en los músculos esqueléticos y el corazón. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **37**, 2180-2195.
- [50] Wannamethee SG, Camargo CA, Manson JE, Willett WC, Rimm EB. (2003) Patrones de consumo de alcohol y riesgo de contraer diabetes mellitus de tipo dos entre mujeres jóvenes. *Archives of Internal Medicine*, **163**, 1329-1336.
- [51] Sakuta H, Suzuki T, Ito T, Yasuda H. (2007) Consumo de etanol en la cerveza y homocisteína en plasma entre pacientes con diabetes de tipo 2. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **78**, 202-207.
- [52] Beulens JW, de Zoete EC, Kok FJ, Schaafsma G, Hendricks HF. (2008) Efecto de un consumo moderado de alcohol sobre la sensibilidad a las adipocinas y la insulina en hombres delgados y con sobrepeso: un estudio sobre una intervención de la dieta. *European Journal of Clinical Nutrition*, **62**, 1098-1105.
- [53] De Luis DA, Fernández N, Aller R, De Luis J, Arranz M, Izaola O. (2003) Relación entre los niveles totales de homocisteína y el consumo de cerveza en pacientes con diabetes mellitus de tipo 2. *Annals of Nutrition and Metabolism*, **47**, 119-123.
- [54] Jugdaohsingh R, O'Connell MA, Srianyakorn S, Powell JJ. (2006) Consumo moderado de alcohol e incremento de la densidad mineral ósea: mecanismos potenciales con y sin etanol. *Proceedings of the Nutrition Society*, **65**, 291-310.
- [55] Tobe H, Muraki Y, Kitamura K, Komiyama O, Sato Y, Sugioka T, Maruyama HB, Matsuda E, Nagai M. (1997) Inhibidores de la resorción ósea en el extracto lupulado. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry*, **61**, 158-169.
- [56] Wright CA, Bruhn CM, Heymann H, Bamforth CW. (2008) Percepciones de los consumidores de cerveza y vino acerca del valor nutricional de las bebidas alcohólicas y no alcohólicas. *Journal of Food Science*, **73**, H8-H11.
- [57] Schröder H, Masabeu A, Marti MJ, Cols M, Lisbona JM, Romagosa C, Carión T, Vilert E, Marrugat J. (2007) El infarto de miocardio y el consumo de alcohol: un estudio de caso y control basado en la población. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, **17**, 609-615.
- [58] Brenner H, Rothenbacher D, Bode G, März W, Hoffmeister A, Koenig W. (2001) Reducción del riesgo de una enfermedad coronaria en una población predominantemente consumidora de cerveza. *Epidemiology*, **12**, 390-395.
- [59] Mennen LI, Courcy GP, Guillard JC, Ducros V, Zarebska M, Bertrais S, Favier A, Hercberg S, Galan P. (2003) Relación entre las concentraciones de homocisteína y el consumo de diferentes tipos de bebidas alcohólicas: el estudio sobre la suplementación con vitaminas y minerales antioxidantes. *American Journal of Clinical Nutrition*, **78**, 334-338.
- [60] Mukamal KJ, Chung H, Jenny NS, Kuller LH, Longstreth Jr WT, Mittleman MA, Burke GL, Cushman M, Psaty BM, Siscovick DS. (2006) Consumo de alcohol y riesgo de enfermedades coronarias en adultos de edad avanzada: el estudio sobre la salud cardiovascular. *Journal of the American Geriatrics Society*, **54**, 30-37.
- [61] Gorinstein S, Caspi A, Zemser M, Libman I, Goshev I, Trakhtenberg S. (2003) La estabilidad del fibrinógeno circulante en plasma y el consumo moderado de cerveza. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **14**, 710-716.
- [62] Aoshima H, Kar Hossain J, Koda H, Kiso Y. (2008) La cerveza en la salud y la prevención de enfermedades. En *Beer and GABA receptors*, Capítulo 18, Preedy VR (Ed). Elsevier Science & Technology, Londres, GB, 193-201.
- [63] Ruitenbergh A, van Swieten JC, Witteman JC, Mehta KM, van Duijn CM, Hofman A, Breteler MM. (2002) Consumo de alcohol y riesgo de demencia: el estudio Róterdam. *Lancet*, **359**, 281-286.
- [64] Peters R, Peters J, Warner J, Beckett N, Bulpitt C. (2008) Alcohol, demencia y declive cognitivo en ancianos: una revisión sistemática. *Age and Ageing*, **37**, 505-512.
- [65] González-Muñoz MJ, Peña A, Meseguer I. (2008) Papel de la cerveza como posible factor protector de la enfermedad de Alzheimer. *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 49-56.
- [66] Peña A, Meseguer I, González-Muñoz MJ. (2007) Influencia del consumo moderado de cerveza sobre la toxicocinética del aluminio: un estudio exhaustivo. *Nutrición Hospitalaria*, **22**, 371-376.
- [67] Hernán MA, Chen H, Schwarzschild MA, Ascherio A. (2003) El consumo de alcohol y la incidencia de la enfermedad de Parkinson. *Annals of Neurology*, **54**, 170-175.
- [68] Rodríguez RJ, Miranda CL, Stevens JF, Deinzer ML, Buhler DR. (2001) Influencia de los flavonoides prenilados y no prenilados sobre la peroxidación de lípidos microsomiales hepáticos y la lesión oxidativa en hepatocitos de ratas. *Food and Chemical Toxicology*, **39**, 437-445.
- [69] Vinson JA, Mandarano M, Hirst M, Trevithick JR, Bose P. (2003) Cantidad y calidad de antioxidantes fenólicos en los alimentos: las cervezas y los efectos



- de dos tipos de cerveza sobre un modelo animal de aterosclerosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 5528-5533.
- [70] Gorinstein S, Caspi A, Powelzik E, Delgado-Licon E, Libman I, Trakhtenberg S, Weisz M, Martin-Belloso O. (2001) Las proteínas de la cerveza afectan a los niveles de lípidos en las ratas. *Nutrition Research*, **21**, 1159-1169.
- [71] Sierksma A, van der Gaag MS, Klufft C, Hendriks HF. (2002) El consumo moderado de alcohol reduce los niveles de la proteína C reactiva y el fibrinógeno en plasma; un estudio aleatorizado sobre intervención con dieta controlada. *European Journal of Clinical Nutrition*, **56**, 1130-1136.
- [72] Fiotti N, Tubaro F, Altamura N, Grassi G, Moretti M, Dapas B, Farra R, Mizzau M, Guarnieri G, Buiatti S, Giansante C. (2008) El alcohol reduce MMP-2 en humanos y células musculares planas aisladas. *Alcohol*, **42**, 389-395.
- [73] Tousoulis D, Ntarladimas I, Antoniadou C, Vasiliadou C, Tentolouris C, Papageorgiou N, Latsios G, Stefanadis C. (2008) Efectos agudos de diferentes bebidas alcohólicas sobre el sistema fibrinolítico de la trombosis, los marcadores inflamatorios y el endotelio vascular. *Clinical Nutrition*, **27**, 594-600.
- [74] Imhof A, Blagieva R, Marx N, Koenig W. (2008) La ingesta de alcohol modula la migración de monocitos en sujetos saludables: un estudio de intervención aleatorizado del agua, el vino tinto y la cerveza con o sin alcohol. *Diabetes and Vascular Disease Research*, **5**, 48-53.
- [75] Bamforth CW. (2002) Aspectos nutricionales de la cerveza – un repaso. *Nutrition Research*, **22**, 227-237.
- [76] Jain MG, Hislop GT, Howe GR, Burch JD, Ghadirian P. (1998) El alcohol y el consumo de otras bebidas y el riesgo de cáncer de próstata en hombres canadienses. *International Journal of Cancer*, **78**, 707-711.
- [77] Parker AS, Cerhan JR, Lynch CF, Ershow AG, Cantor KP. (2002) Género, consumo de alcohol y carcinoma celular renal. *American Journal of Epidemiology*, **155**, 455-462.
- [78] Tsugane S, Fahe MT, Sasaki S, Baba S. (1999) Consumo de alcohol y mortalidad por cualquier causa y por cáncer en hombres japoneses de mediana edad: seguimiento de siete años del estudio de cohorte I del JPHC (Centro de Salud Pública de Japón). *American Journal of Epidemiology*, **150**, 1201-1207.
- [79] Nozawa H, Yoshida A, Tajima O, Katayama M, Sonobe H, Wakabayashi K, Kondo K. (2004) La ingesta de cerveza inhibe la carcinogénesis colónica inducida por azoximetano en 344 ratas Fisher macho. *International Journal of Cancer*, **108**, 404-411.
- [80] Nozawa H, Tazumi K, Sato K, Yoshida A, Takata J, Arimoto-Kobayashi S, Kondo K. (2004) Efectos inhibidores de la cerveza sobre la mutagénesis inducida por aminoácidos heterocíclicos y los focos de criptas aberrantes inducidos por PhIP en colon de ratas. *Mutation Research*, **559**, 177-187.
- [81] Arimoto-Kobayashi S, Ishida R, Nakai Y, Idei C, Takata J, Takahashi E, Okamoto K, Negishi T, Konuma T. (2006) Efectos inhibidores de la cerveza sobre la mutación en la prueba de Ames y la formación de aductos de ADN en órganos de ratón inducidos por 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridina (PhIP). *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **29**, 67-70.
- [82] Hidestrand M, Shankar K, Ronis MJ, Badger TM. (2005) Efectos sobre la cerveza light y oscura sobre la expresión P-450 del citocromo hepático en ratas macho que recibieron bebidas alcohólicas como parte de una nutrición enteral total. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, **29**, 888-895.
- [83] Innes G. (1998) Análisis coste/ eficacia de la cerveza frente al vino tinto para la prevención de la enfermedad arterial coronaria sintomática. *Canadian Medical Association Journal*, **159**, 1463-1466.
- [84] Stevens JF, Miranda CL, Frei B, Buhler DR. (2003) Inhibición de la oxidación de LDL mediada por la peroxinitrita de los flavonoides prenilados: la funcionalidad del keto  $\alpha,\beta$ -insaturado de 2'-hidroxichalconas como un farmacóforo antioxidante novedoso. *Chemical Research in Toxicology*, **16**, 1277-1286.
- [85] Miranda CL, Stevens JF, Ivanov V, McCall M, Frei B, Deinzer ML, Buhler DR. (2000) Acciones antioxidantes y prooxidantes de las chalconas y flavanonas preniladas y no-preniladas in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 3876-3884.
- [86] Vogel S, Heilmann J. (2008) Síntesis, citotoxicidad y actividad antioxidativa de chalconas preniladas menores del *Humulus lupulus*. *Journal of Natural Products*, **71**, 1237-1241.
- [87] Vogel S, Ohmayer S, Brunner G, Heilmann J. (2008) Chalconas preniladas naturales y no naturales: síntesis, citotoxicidad y actividad antioxidativa. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **16**, 4286-4293.
- [88] Vincent AM, Edwards JL, Sadidi M, Feldman EL. (2008) La respuesta antioxidante como objetivo del medicamento en la neuropatía diabética. *Current Drug Targets*, **9**, 94-109.
- [89] Guerreiro S, Monteiro R, Martins MJ, Calhau C, Azevedo I, Soares R. (2007) Modulación distintiva de la isoenzima fosfatasa alcalina por el 17 $\beta$ -estradiol y xantohumol en las células MCF-7 del cáncer de mama. *Clinical Biochemistry*, **40**, 268-273.
- [90] Monteiro R, Calhau C, Silva AO, Pinheiro-Silva S, Guerreiro S, Gärtner F, Azevedo I, Soares R. (2008) El xantohumol inhibe la producción de factor inflamatorio y la angiogénesis en injertos heterólogos de cáncer de mama. *Journal of Cellular Biochemistry*, **104**, 1699-1707.
- [91] Pan L, Becker H, Gerhäuser C. (2005) El xantohumol induce la apoptosis en células de cáncer de colon humano 40-16 cultivadas por la activación de la vía de receptores de muerte-mitocondrial. *Molecular Nutrition & Food Research*, **49**, 837-843.
- [92] Goto K, Asai T, Hara S, Namatame I, Tomoda H, Ike-moto M, Oku N. (2005) Actividad antitumoral mejorada del xantohumol, un inhibidor de la diacilglicerol aciltransferasa, en hipoxia. *Cancer Letters*, **219**, 215-222.
- [93] Colgate EC, Miranda CL, Stevens JF, Bray TM, Ho E. (2007) Xantohumol, un prenilflavonoide derivado de los lúpulos induce la apoptosis e inhibe la activación de NF-kappaB en células epiteliales de la próstata. *Cancer Letters*, **246**, 201-209.
- [94] Vanhoecke B, Derycke L, van Marck V, Depypere H, De Keukeleire D, Bracke M. (2005) Efecto antiinvasivo del xantohumol, una chalcona prenilada presente en los lúpulos (*Humulus lupulus* L.) y la cerveza. *International Journal of Cancer*, **117**, 889-895.
- [95] Monteghirfo S, Tosetti F, Ambrosini C, Stigliani S, Pozzi S, Frassoni F, Fassina G, Soverini S, Albini A, Ferrari N. (2008) Los efectos anti-leucemia del xan-

- tohumol en células Bcr/Abl-transformadas implican la modulación del factor kappaB nuclear y de p53. *Molecular Cancer Therapeutics*, **7**, 2692-2702.
- [96] Koo JH, Kim HT, Yoon HY, Kwon KB, Choi II, Jung SH, Kim HU, Park BH, Park JW. (2008) Efecto del xantohumol sobre la melanogénesis en células de melanoma B16. *Experimental and Molecular Medicine*, **40**, 313-319.
- [97] Zanolli P, Zavatti M. (2008) Perfil farmacognóstico y farmacológico de Humulus lupulus L. *Journal of Ethnopharmacology*, **116**, 383-396.
- [98] Kac J, Plazar J, Mlinaric A, Zegura B, Lah TT, Filipic M. (2008) Antimutagenicidad de los lúpulos (*Humulus lupulus* L.): fraccionamiento y aislamiento del xantohumol dirigidos por bioensayo. *Phytomedicine*, **15**, 216-220.
- [99] Plazar J, Filipic M, Groothuis GM. (2008) Efecto anti-genotóxico del xantohumol en porciones de hígado de rata. *Toxicology in Vitro*, **22**, 318-327.
- [100] Delmulle L, Vanden Berghe T, De Keukeleire D, Vandenabeele P. (2008) El tratamiento de células de cáncer de próstata PC-3 y DU145 por prenilflavonoides del lúpulo (*Humulus lupulus* L.) induce una forma de muerte celular independiente de la caspasa. *Phytotherapy research*, **22**, 197-203.
- [101] Bracke ME, Vanhoecke BW, Derycke L, Bolca S, Possemiers S, Heyerick A, Stevens CV, De Keukeleire D, Depypere HT, Verstraete W, Williams CA, McKenna ST, Tomar S, Sharma D, Prasad AK, DePass AL, Parmar VS. (2008) Polifenólicos vegetales como agentes cancerígenos anti-invasivos. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **8**, 171-185.
- [102] Lee SH, Kim HJ, Lee JS, Lee IS, Kang BY. (2007) Inhibición de la actividad topoisomerasa I e impulso de la expresión de los portadores de medicamentos por el xantohumol de los lúpulos. *Archives of Pharmacal Research*, **30**, 1435-1439.
- [103] Monteiro R, Faria A, Azevedo I, Calhau C. (2007) Modulación de la supervivencia de las células de cáncer de mama por flavonoides de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) inhibidores de la aromatasasa. *Journal of Steroid & Molecular Biology*, **105**, 124-130.
- [104] Delmulle L, Bellahcène A, Dhooge W, Comhaire F, Roelens F, Huvaere K, Heyerick A, Castronovo V, De Keukeleire D. (2006) Propiedades anti-proliferativas de los flavonoides prenilados de los lúpulos (*Humulus lupulus* L.) en líneas celulares de cáncer de próstata humano. *Phytomedicine*, **13**, 732-734.
- [105] Monteiro R, Becker H, Azevedo I, Calhau C. (2006) Efecto de los flavonoides del lúpulo (*Humulus lupulus* L.) sobre la actividad aromatasasa (estrógeno sintasa). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 2938-2943.
- [106] Radovic B, Schmutzler C, Kohrle J. (2005) El xantohumol estimula la captación de yodo en células FRTL-5 tiroideas de rata. *Molecular Nutrition and Food Research*, **49**, 832-836.
- [107] Lust S, Vanhoecke B, Janssens A, Philippe J, Bracke M, Offner F. (2005) El xantohumol mata células B de leucemia linfocítica crónica por un mecanismo apoptótico. *Molecular Nutrition and Food Research*, **49**, 844-850.
- [108] Dietz BM, Kang YH, Liu G, Egger AL, Yao P, Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR, Mesecar AD, van Breemen RB, Bolton JL. (2005) El xantohumol aislado del *Humulus lupulus* inhibe el daño al ADN inducido por la menadiona a través de la inducción de la quinona reductasa. *Chemical Research in Toxicology*, **18**, 1296-1305.
- [109] Zhao F, Nozawa H, Daikonnva A, Kondo K, Kitanka S. (2003) Inhibidores de la producción de óxido nítrico en los lúpulos (*Humulus lupulus* L.). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **26**, 61-65.
- [110] Gerhäuser C, Alt AP, Klimo K, Knauff J, Frank N, Becker H. (2002) Aislamiento y actividades quimio-preventivas del cáncer potenciales de compuestos fenólicos de la cerveza. *Phytochemistry Reviews*, **1**, 369-377.
- [111] Miranda CL, Yang YH, Henderson MC, Stevens JF, Santana-Rios G, Deinzer ML, Buhler DR. (2000) Los prenilflavonoides de los lúpulos inhiben la activación metabólica del aminoácido heterocíclico carcinogénico 2-amino-3-metilimidazo[4,5-F]quinolina, mediada por el CYP1A2 humano expresado por cDNA. *Drug Metabolism and Disposition*, **28**, 1297-1302.
- [112] Henderson MC, Miranda CL, Stevens JF, Deinzer ML, Buhler DR. (2000) Inhibición in vitro de las enzimas P450 humanas por flavonoides prenilados de los lúpulos, *Humulus lupulus*. *Xenobiotica*, **30**, 235-251.
- [113] Miranda CL, Aponso GL, Stevens JF, Deinzer ML, Buhler DR. (2000) Chalconas y flavononas preniladas como inductoras de la quinona reductasa en células Hepa 1c1c7 de ratón. *Cancer Letters*, **149**, 21-29.
- [114] Miranda CL, Stevens JF, Helmrich A, Henderson MC, Rodriguez RJ, Yang YH, Deinzer ML, Barnes DW, Buhler DR. (1999) Efectos antiproliferativos y citotóxicos de los flavonoides prenilados de los lúpulos (*Humulus lupulus*) en líneas celulares del cáncer humano. *Food and Chemical Toxicology*, **37**, 271-285.
- [115] Plazar J, Zegura B, Lah TT, Filipic M. (2007) Efectos protectores del xantohumol frente a la genotoxicidad de benzo(a)pireno (BaP), 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]quinolina (IQ) y tert-butil hidroperóxido (t-BOOH) en células de hepatoma humano HepG2. *Mutation Research*, **632**, 1-8.
- [116] Cho YC, Kim HJ, Kim YJ, Lee KY, Choi HJ, Lee IS, Kang BY. (2008) Vía diferencial antiinflamatoria por el xantohumol en macrófagos activados por IFN- y LPS. *International Immunopharmacology*, **8**, 567-573.
- [117] Nowakowska Z. (2007) Una revisión de chalconas antiinfecciosas y antiinflamatorias. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **42**, 125-137.
- [118] Tabata N, Ito M, Tomoda H, Omura S. (1997) Xantohumoles, inhibidores de la diacilglicerol aciltransferasa, del *Humulus lupulus*. *Phytochemistry*, **46**, 683-687.
- [119] Tomoda H, Omura S. (2007) Terapéutica potencial para la obesidad y la aterosclerosis: Inhibidores del metabolismo lipídico neutral de los microorganismos. *Pharmacology & Therapeutics*, **115**, 375-389.
- [120] Casaschi A, Maiyoh GK, Rubio BK, Li RW, Adeli K, Theriault AG. (2004) La chalcona xantohumol inhibe la secreción de triglicéridos y apolipoproteínas B en células HepG2. *Journal of Nutrition*, **134**, 1340-1346.
- [121] Hubbard BK, Enyedy I, Gilmore TA, Serrano-Wu MH. (2007) Antisentido y modulación de moléculas pequeñas de la diacilglicerol aciltransferasa. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, **17**, 1331-1339.
- [122] Matsuda D, Tomoda H. (2007) Inhibidores de la DGAT para la obesidad. *Current Opinion in Investigational Drugs*, **8**, 836-841.

- [123] Albin A, Dell'Eva R, Vene R, Ferrari N, Buhler DR, Noonan DM, Fassina G. (2006) Mecanismos de la actividad antiangiogénica por el flavonoide del lúpulo, el xantohumol: NF-kappaB y Akt como objetivos. *The Faseb Journal*, **20**, 527-529.
- [124] Mojzis J, Varinska L, Mojzisoova G, Kostova I, Mirovsay L. (2008) Efectos antiangiogénicos de los flavonoides y las chalconas. *Pharmacological Research*, **57**, 259-265.
- [125] Dell'Eva R, Ambrosini C, Vannini N, Piaggio G, Albin A, Ferrari N. (2007) El inhibidor de AKT/NF-kB xantohumol actúa sobre el crecimiento celular y la angiogénesis en las malignidades hematológicas. *Cancer*, **110**, 2007-2011.
- [126] Noonan DM, Benelli R, Albin A. (2007) Angiogénesis y prevención del cáncer: una visión. *Recent results in cancer research*, **174**, 219-224.
- [127] Bertl E, Klimo K, Heiss E, Klenke F, Peschke P, Becker H, Eicher T, Herhaus C, Kapadia G, Bartsch H, Gerhäuser C. (2004) Identificación de inhibidores novedosos de la angiogénesis usando un ensayo antiangiogénico humano in vitro. *International Journal of Cancer Prevention*, **1**, 47-61.
- [128] Natarajan P, Katta S, Andrei I, Babu Rao Ambati V, Leonida M, Haas GJ. (2008) Acción antibacteriana combinada positiva entre componentes del lúpulo (*Humulus lupulus*) y antibióticos seleccionados. *Phytomedicine*, **15**, 194-201.
- [129] Hanske L, Hussong R, Frank N, Gerhäuser C, Blaut M, Braune A. (2005) El xantohumol no afecta a la composición de la microbiota intestinal de las ratas. *Molecular Nutrition and Food Research*, **49**, 868-873.
- [130] Bhattacharya S, Virani S, Zavro M, Haas GJ. (2003) Inhibición del *Streptococcus mutans* y otros streptococos orales por componentes del lúpulo (*Humulus lupulus* L.). *Economic Botany*, **57**, 118-125.
- [131] Avula B, Ganzera M, Warnick JE, Feltenstein MW, Sufka KJ, Khan IA. (2004) Determinación por cromatografía líquida de alta resolución del xantohumol en muestras de plasma, orina y heces de ratas. *Journal of Chromatographic Science*, **42**, 378-382.
- [132] Nookandeh A, Frank N, Steiner F, Ellinger R, Schneider B, Gerhäuser C, Becker H. (2004) Metabolitos de xanthohumol en heces de ratas. *Phytochemistry*, **65**, 561-570.
- [133] Possemiers S, Heyerick A, Robbens V, De Keukeleire D, Verstraete W. (2005) Activación de los proestrógenos de los lúpulos (*Humulus lupulus* L.) por la microbiota intestinal; conversión de isoxantohumol en 8-prenilnaringenina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 6281-6288.
- [134] Wang Q, Ding ZH, Liu JK, Zheng YT. (2004) Xantohumol, un agente anti-VIH purificado novedoso del lúpulo *Humulus lupulus*. *Antiviral Research*, **64**, 189-194.
- [135] Chattopadhyay D, Khan MT. (2008) Etnomedicinas y fitóforos etnomedicinales frente a los virus del herpes. *Biotechnology Annual Review*, **14**, 297-348.
- [136] Singh S, Malik BK, Sharma DK. (2007) Actuar sobre el VIH-1 a través del modelado molecular y los estudios de docking CXCR4: vías para un desarrollo terapéutico. *Chemical Biology and Drug Design*, **69**, 191-203.
- [137] Buckwold VE, Wilson RJ, Nalca A, Beer BB, Voss TG, Turpin JA, Buckheit RW, Wei J, Wenzel-Mathers M, Walton EM, Smith RJ, Pallansch M, Ward P, Wells J, Chuvala L, Sloane S, Paulman R, Russell J, Hartman T, Ptak R. (2004) Actividad antiviral de los componentes del lúpulo frente a una serie de virus ADN y ARN. *Antiviral Research*, **61**, 57-62.
- [138] Mizobuchi S, Sato Y. (1984) Una nueva flavanona con actividad antifúngica aislada de los lúpulos. *Agricultural and Biological Chemistry*, **48**, 2771-2775.
- [139] Frölich S, Schubert C, Bienzle U, Jenett-Siems K. (2005) Actividad antiplasmodial in vitro de derivados de las chalconas preniladas de lúpulos (*Humulus lupulus*) y su interacción con la hemina. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **55**, 883-887.
- [140] Ginsburg H, Famin O, Zhang J, Krugliak M. (1998) Inhibición de la degradación dependiente de la glutatona del grupo hemo por cloroquina y amodiaquina como una base posible para su modo de acción antimalaria. *Biochemical Pharmacology*, **56**, 1305-1313.
- [141] Herath W, Ferreira D, Khan SI, Khan IA. (2003) Identificación y actividad biológica de los metabolitos microbianos del xantohumol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **51**, 1237-1240.
- [142] Ngeh J, Anand V, Gupta S. (2002) Chlamydia pneumoniae y aterosclerosis – lo que sabemos y lo que no. *Clinical Microbiology and Infection*, **8**, 2-13.
- [143] Virgili F, Scaccini C, Packer L, Rimbach G. (2001) Antioxidantes en alimentos. En Cardiovascular disease and nutritional phenolics. Pokorny N, Yanishlieva N, Gordon M (Ed). Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, GB, 87-99.
- [144] Yang JY, Della-Fera MA, Rayalam S, Baile CA. (2007) Efecto del xantohumol y del isoxantohumol sobre la apoptosis y la adipogénesis de las células 3T3-L1. *Apoptosis*, **12**, 1953-1963.
- [145] Pang Y, Nikolic D, Zhu D, Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR, van Breemen RB. (2007) Enlace del xantohumol de las chalconas del lúpulo (*Humulus lupulus* L.) a las proteínas citosólicas en células epiteliales intestinales Caco-2. *Molecular Nutrition & Food Research*, **51**, 872-879.
- [146] Shi Y, Burn P. (2004) Enzimas metabólicas lipídicas: objetivos de medicamentos emergentes para el tratamiento de la obesidad. *Nature Reviews Drug Discovery*, **3**, 695-710.
- [147] Yang JY, Della-Fera MA, Rayalam S, Baile CA. (2008) Efectos mejorados del xantohumol más el honokiol sobre la apoptosis en los adipocitos 3T3-L1. *Obesity*, **16**, 1232-1238.

*Quando la vida te  
presente razones para  
llorar, demuéstrale que  
tienes mil y una  
razones para reír.*

Anónimo