



ARTÍCULO DE REVISIÓN

## Blancos mitóticos de drogas naturales y nuevas estrategias para la terapia anti-cáncer

*Mitotic targets of natural drugs and new strategies for the anti-cancer therapy*

Janet Piloto Ferrer<sup>1</sup> y Angel Sanchez-Lamar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos, La Habana, Cuba

<sup>2</sup> Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba

\* Autor para correspondencia:  
[janet.piloto@cidem.sld.cu](mailto:janet.piloto@cidem.sld.cu)

### RESUMEN

Las drogas de origen natural que interfieren con la progresión normal de la mitosis pertenecen actualmente a los compuestos quimioterapéuticos más exitosos usados para el tratamiento anti-cáncer. Estas drogas clásicas afectan la dinámica de los microtúbulos y ocasionan la muerte celular. Sin embargo, estos compuestos presentan limitaciones debido a los efectos adversos, su falta de selectividad y al desarrollo de resistencias. Por consiguiente, hay un interés particular en erradicar estas limitaciones y las investigaciones actuales han concentrado esfuerzos en explorar nuevos blancos mitóticos que pudieran ofrecer opciones terapéuticas adicionales para los pacientes de cáncer. En este trabajo, resumimos los componentes moleculares mitóticos como blanco de estas drogas y las nuevas estrategias para la terapia anti-cáncer: quinesinas (KSP/Eg5, CENP-E) y quinasas mitóticas (Aurora y PIK), además de la abrogación de puntos de control del ciclo celular durante la mitosis y la transición de G2/M que inducen muerte tumoral. Confiamos en que la "próxima generación" de drogas antimitóticas sea tan exitosa como las clásicas, minimizando las limitaciones de estas últimas.

**Palabras clave:** Drogas antimitóticas, huso mitótico, KSP/Eg5, CENP-E, Aurora quinasas, PIK quinasas y SAC

### ABSTRACT

*Natural drugs that interfere with the normal progression of mitosis belong to the most successful chemotherapeutic compounds currently used for anti-cancer treatment. These drugs affect the dynamics of the microtubules and cause the cellular death. Nevertheless, these drugs present limitations due to the adverse effects, the lack of selectivity and the development of resistances. Consequently, there is a particular interest to eliminate these limitations*

Recibido: 2015-03-10

Aceptado: 2015-05-13

*and the current researches have concentrated efforts in exploring novel mitotic targets that could offer therapeutic additional options for the patients of cancer. In this work, we summarize the molecular components of mitotic targets and the new strategies for anti-cancer therapy: kinesins (KSP/Eg5, CENP - E) and mitotic kinases (Auroras and PIK) besides cell cycle checkpoint abrogation during mitosis and at the G2/M transition inducing mitosis-associated tumor cell death. It is expected that this "next generation" of anti-mitotic drugs will be as successful as the classical anti-microtubule drugs, avoiding some of the limitations of these last.*

**Keywords:** Anti-mitotic drugs, mitotic spindle, KSP/Eg5, CENP-E, Kinases Aurora, PIK y SAC

## INTRODUCCIÓN

Muchas drogas anti-cáncer provenientes de productos naturales que son usadas hoy en la clínica incluyen agentes que afectan el ciclo celular inhibiendo el estado de hiperproliferación de las células tumorales y como consecuencia la inducción de apoptosis que es el resultado esperado de la quimioterapia (Lee y Schmitt, 2003). Sobre la base de su modo de acción estas drogas se subdividen en grupos diferentes: (i) drogas que interfieren con la síntesis de ADN, (ii) drogas que inducen daño al ADN y (iii) drogas que inhiben la función del huso mitótico. Estas últimas han demostrado que son excepcionalmente exitosas en la clínica y se representan por drogas que afectan los microtúbulos llamadas clásicamente drogas antimitóticas (Schmidt y Bastians, 2007). Dichas drogas que incluyen a los taxanos y alcaloides de la vinca inhiben las funciones de los microtúbulos del aparato mitótico, ocasionan una parada del ciclo celular y como consecuencia la inducción de muerte de las células cancerígenas. Sin embargo, las limitaciones de su empleo radican en efectos clínicos colaterales como: la toxicidad, mutagenicidad, afecciones neurológicas y hematológicas. Adicionalmente, puede producirse, en casos de tratamientos prolongados, un efecto de resistencia ocasionada. (Jordan y Wilson, 2004; Schmidt y Bastians, 2007; Dumontet y Jordan, 2010; Domenech y Malumbres, 2013; Mukhtar *et al.*, 2014). Por consiguiente, nuevos blancos de drogas que inhiban la progresión de la mitosis son incesantemente buscados.

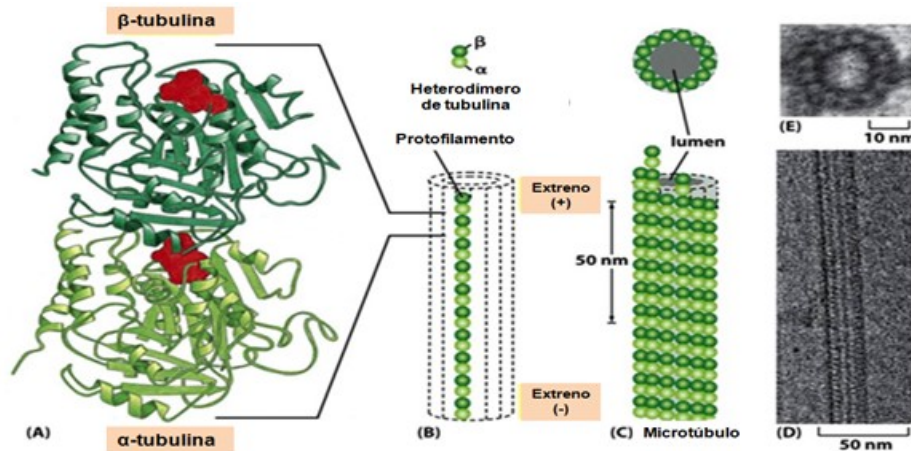
La investigación sostenida sobre los mecanismos de acción de los agentes antimitóticos, el desarrollo y descubrimiento de nuevas drogas, y la exploración de nuevas estrategias de tratamiento que reduzcan los efectos colaterales y disminuyan la resistencia podrían proveer blancos adicionales y proporcionar opciones terapéuticas más eficaces para los pacientes de cáncer. Con esta revisión se pretende resumir los principales componentes moleculares mitóticos como blanco de las drogas de origen natural en la quimioterapia del cáncer, sus posibles mecanismos de resistencia y

los principales efectos adversos. Además proveer información sobre nuevas estrategias que constituyan opciones terapéuticas más eficientes, como desafío de las investigaciones actuales.

### Huso mitótico: blanco de agentes anti-cáncer Microtúbulos

Los microtúbulos (MTs), junto con actinas y filamentos intermedios, son los componentes más importantes del citoesqueleto de las células eucariotas. Ellos son críticos para un número de procesos celulares, los más importantes, la división celular y mitosis (Field *et al.*, 2013). En interfase y células diferenciadas, los MTs, forman fibras que sirven como huellas para el transporte intracelular de organelos y vesículas. Cuando las células entran en la mitosis, esta red interfásica se desensambla y se reorganiza en un huso mitótico, el cual se requiere para la congregación metafásica de los cromosomas y la segregación subsecuente de las cromátidas hermanas (Schmidt y Bastians, 2007).

Los MTs se forman por asociaciones de heterodímeros de  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina. Estos heterodímeros se congregan cabeza-cola en un protofilamento lineal que y al unirse 13 de ellos forman un microtúbulo cilíndrico con diámetros de 12 nm y 25 nm en el interior y exterior, respectivamente. La estructura final es organizada de una manera polar, donde la subunidad  $\alpha$ -tubulina está expuesta en el extremo (-), mientras que la subunidad  $\beta$ -tubulina en el extremo (+) (Jordan y Wilson, 2004; Alberts, 2010). El extremo (-) de los MTs se fija al centro organizador de microtúbulos (MTOC del inglés, microtubule organizing center), mientras que el extremo (+) se encuentra hacia la parte distal (Fig 1). Los MTs existen en un estado dinámico, creciendo y acortándose por la asociación reversible y disociación de los heterodímeros  $\alpha$ - $\beta$ -tubulina en ambos extremos (Jordan y Wilson, 2004). El extremo (-) es menos dinámico y el extremo (+) es más dinámico el cual crece y se acorta más rápidamente (Zhou y Giannakakou, 2005).



**Figura 1.** Estructura del microtúbulo. (A) El heterodímero  $\alpha\beta$ -Tubulina se une en un protofilamento (B) para 13 de ellos formar los MTs. (C) Conformación polar de los MTs con un extremo (-) de crecimiento lento y otro (+) más dinámico. (D) Microscopía electrónica de transmisión de un microtúbulo en células eucariotas. (E) Microscopía electrónica de transmisión de un microtúbulo, corte transversal donde se observan los 13 protofilamentos y el lumen (adaptado del artículo de Alberts, 2010).

*Figure 1. Structure of microtubule. (A) The  $\alpha\beta$ -tubulin heterodimer together in a protofilament (B) 13 protofilaments, form the MTs. (C) Polar conformation of MTs with one end (-) of slow growth and another end (+) more dynamic. (D) Electronic microscopy of transmission of a microtubule in eukaryotic cells. (E) Electronic microscopy of transmission of a microtubule where protofilaments and lumen are observed (adapted from Alberts, 2010).*

### Dinámica de los microtúbulos

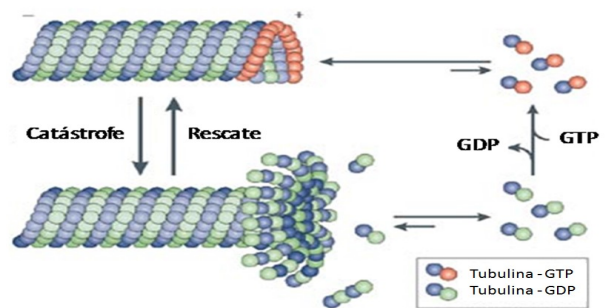
Las uniones de GTP y los eventos de hidrólisis permiten a los microtúbulos exhibir dos conductas dinámicas: la inestabilidad dinámica y el intercambio rotatorio de subunidades (En inglés: *treadmilling*) (Jordan y Wilson, 2004).

La inestabilidad dinámica se caracteriza por las transiciones del microtúbulo entre los períodos de crecimiento lento, reducción rápida, y atenuación (una pausa donde el crecimiento y el acortamiento no se perciben) (Jordan y Wilson, 2004; Schmidt y Bastians, 2007; Cheeseman y Desai, 2008; Risinger *et al.*, 2009; Field *et al.*, 2013). Las transformaciones del estado de crecimiento al de acortamiento se denomina “catástrofe” y la transición del estado de acortamiento al de crecimiento es llamado “rescate” (Fig. 2) (Jordan y Wilson, 2004).

La polimerización empieza con la incorporación de nuevos dímeros de tubulina. La hidrólisis de GTP cambia la conformación de los protofilamentos a GDP-tubulina. El cierre del extremo de los MTs genera un microtúbulo en estadio intermedio que puede mantenerse en pausa, antes de someterse a un mayor crecimiento (rescate) o pasar a la fase de acortamiento (catástrofe). Una disminución de los microtúbulos se

caracteriza por una estructura de protofilamentos en forma de fuente. El ciclo de rescate-catástrofe se completa mediante el intercambio de los productos de desensamblaje GDP con GTP.

El *treadmilling* consiste en el crecimiento neto del microtúbulo en uno de los extremos y la correspondiente pérdida en el extremo opuesto (Waterman-Storer y Salmon, 1997; Jordan y Wilson, 2004). Por consiguiente, involucra el flujo intrínseco de subunida-



**Figura 2.** Inestabilidad dinámica de los microtúbulos (Adaptada a partir del artículo publicado por Cheeseman y Desai, 2008).

*Figure 2. Dynamic instability of microtubules (adapted of the published article of Cheeseman and Desai, 2008).*

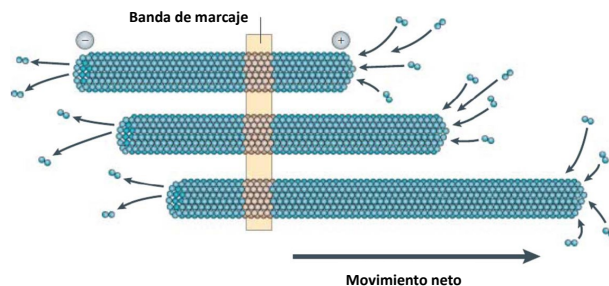
des de tubulina del extremo (+) al extremo (-) del microtúbulo y es creado por una diferencia en las concentraciones críticas de los extremos del microtúbulo (Fig. 3). Este proceso es particularmente importante en la mitosis (Chen *et al.*, 2003; Lloyd y Chan, 2004; Mukhtar *et al.*, 2014).

Inestabilidad dinámica y *treadmilling* son conductas compatibles; una población específica de MTs puede exhibir un comportamiento o una mezcla de ambos. Sin embargo, el mecanismo de control que determina la conducta a seguir en una población de MTs está poco dilucidado.

La dinámica de los MTs es importante para una mitosis exitosa, particularmente para asegurar el rápido ensamblaje y desensamblaje de los MTs en un adecuado funcionamiento del huso mitótico durante la alineación y separación de los cromosomas (Jordan y Wilson, 2004; Schmidt y Bastians, 2007; Salmela y Kallio, 2013; Mukhtar *et al.*, 2014).

### Progresión de la mitosis

Cuando las células entran en mitosis, los MTs se vuelven de 20 a 100 veces más dinámicos con una mejora



**Figura 3.** Flujo de subunidades (*Treadmilling*). Los microtúbulos sufren desplazamiento neto a través de la pérdida lenta y constante de las subunidades del extremo negativo y la adición de otras en el extremo positivo. La barra de marcaje muestra que los microtúbulos permanecen en la misma posición, mostrando que el movimiento hacia el extremo positivo es debido al flujo de subunidades de tubulina a través del polímero (adaptada a partir del artículo de Lloyd y Chan, 2004).

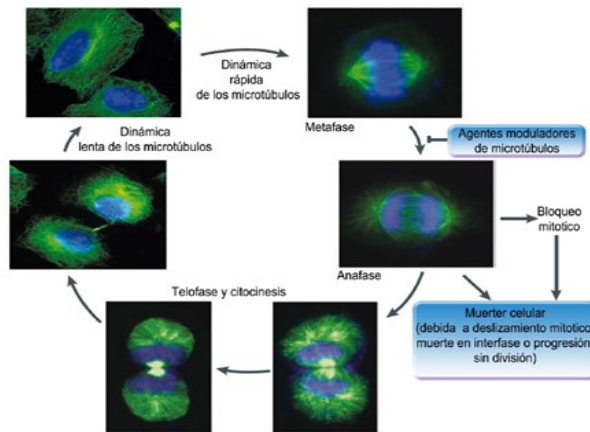
*Figure 3. Flow subunits (Treadmilling). Microtubules suffer clear displacement through the slow and constant loss of the subunits of the negative end and the addition of others in the positive end. The bar of marking shows that microtubules remain in the same position, showing that the movement towards the positive end is due to the flow of subunits of tubulina across the polymer (adapted from Lloyd y Chan, 2004).*

de siete veces más reforzada la nucleación de los MTs en el centrosoma y una vida media de polimerización de la tubulina de 10–30 s (Hayden *et al.*, 1990; Piehl *et al.*, 2004). Este refuerzo de la dinámica es requerida en las fases tempranas de la mitosis (profase y prometáfase) después del desensamblaje de la membrana nuclear, donde los cinetocoros de los cromosomas son capturados por elongaciones y acortamientos al azar de los MTs que emanan de los dos polos del huso. Una vez que los dos cinetocoros de un par de cromátidas hermanas se unen a los MTs de los polos opuestos, los cromosomas se congregan al centro de las células (Cleveland *et al.*, 2003). Debido a la aleatoriedad inherente a este proceso, es crucial que la segregación de los cromosomas ocurra sólo cuando todos los cromosomas se hayan congregados en la placa metafásica, y de esta forma la cohesión entre las cromátidas hermanas es disuelta y éstas migran hacia los polos contrarios (anafase). Así, se asegura la igual distribución del material genético en el núcleo de las dos células hijas (Fig. 4) (Kavallaris *et al.*, 2001; Nasmyth, 2002; Cleveland *et al.*, 2003; Bharadwaj y Yu, 2004; Maiato *et al.*, 2004).

La distribución equitativa de los cromosomas entre las células hijas es esencial para la viabilidad de las células y el buen funcionamiento del organismo. La pérdida de la fidelidad de la segregación cromosómica es un factor que contribuye a abortos espontáneos, malformaciones congénitas y al cáncer (Salmela y Kallio, 2013). Para mantener el número de cromosomas apropiado, una célula debe prevenir la división celular hasta garantizar su exactitud. Para este propósito, existe un mecanismo de vigilancia llamado Punto de control del ensamblaje del huso mitótico (SAC del inglés spindle assembly checkpoint) que percibe la falta de atadura y/o tensión de los cinetocoros y en respuesta inhibe la segregación cromosómica (Musacchio y Salmon, 2007).

### Punto de control del ensamblaje del huso mitótico Componentes moleculares

Actuar sobre la progresión de la mitosis ha sido una eficiente estrategia para la terapia anticáncer. Varias drogas quimioterapéuticas como los taxanos, alcaloides de la vinca y los epotilonos inhiben la función del huso mitótico por unirse directamente a los MTs. Estos han sido ampliamente utilizados en la clínica para el tratamiento de diferentes malignidades por muchos años (Jordan y Wilson, 2004).

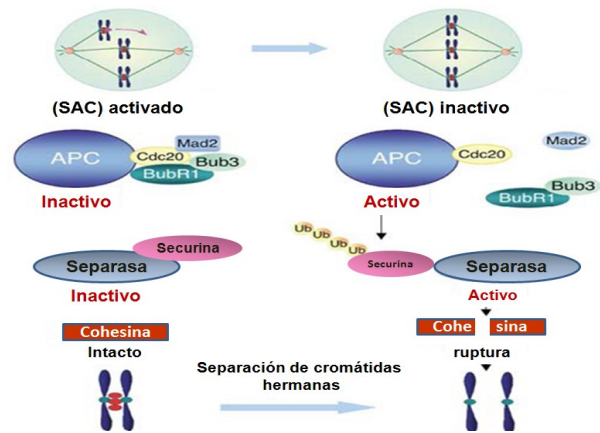


**Figura 4.** Cambios en la distribución de los microtúbulos durante el ciclo celular. Las estructuras de los microtúbulos (en verde) están sometidas a cambios morfológicos para mediar funciones específicas a lo largo del ciclo celular. La dinámica de los microtúbulos puede variar durante el ciclo celular, siendo menos dinámica en las células en interfase y más durante la mitosis (adaptada de Kavallaris *et al.*, 2001).

*Figure 4. Microtubules changes of throughout the cell cycle. Microtubule structures (green) are subjected to morphological changes to mediate specific functions in the cell cycle. The microtubule dynamics may vary during the cell cycle, being less dynamic in interphase cells and more during mitosis (adapted from Kavallaris *et al.*, 2001).*

Un severo control de la mitosis garantiza una exacta segregación de las cromátidas hermanas en la división celular. Las células eucariotas poseen sofisticados mecanismos para supervisar la progresión de la mitosis, para prevenir la mala segregación cromosómica que trae como resultado aneuploidías, poliploidías o células hijas binucleadas. Esta vía de transducción de señales es conocida como punto de control del ensamblaje del huso (SAC), y comprende las proteínas de SAC (Mad1, Mad2, Mad3- proteínas de arresto mitótico deficiente, Bub1, Bub3, BubR1-quinasas del punto de control mitótico y Mps1-proteínas asociadas a MTs) e inhibe la entrada en anafase hasta que los cinetocoros son unidos adecuadamente a los MTs del huso y los cromosomas correctamente alineados en la placa metafásica. Cuando esto no ocurre, SAC es activado por el reclutamiento de Mad2, Bub3 y BubR1 ocasionando la inhibición del complejo promotor de la anafase (APC/C del inglés anaphase-promoting-complex), una ubiquitin ligasa E3 que marca la degradación proteosomal (Yu, 2002). Los sustratos de APC/C son Securina

y Ciclina B, los cuales son requeridos para la anafase y la salida de mitosis, respectivamente. La degradación de Securina es requerida en la transición de metafase-anafase para liberar la forma activa de Separasa, una proteasa que fragmenta una subunidad del complejo Cohesina que mantiene unidas a las cromátidas hermanas (Peters, 2006; Pines, 2006). Así, un SAC activo (Fig. 5) previene el paso a anafase por la inhibición de la proteólisis y el mantenimiento de la cohesión entre las cromátidas. De esta manera, SAC asegura la adecuada segregación cromosómica durante la mitosis y el mantenimiento de la euploidia (Yu, 2002; Bharadwaj y Yu, 2004; Musacchio y Salmon, 2007; Kaestner *et al.*, 2011).



**Figure 5.** Mecanismo molecular de la segregación cromosómica en la transición de metafase a anafase. Degradación de Securina que activa a Separasa. Separasa rompe la subunidad Scc1 de Cohesina permitiendo la segregación cromosómica. En respuesta a las cromátidas hermanas no unidas adecuadamente al huso mitótico promueven al complejo de proteínas promotoras de SAC, que inhiben la actividad de APC/C, permitiendo la estabilización de la Securina, preservando la cohesión de las cromátidas hermanas retrasando la entrada en anafase (adaptada a partir del artículo publicado por Bharadwaj y Yu, 2004).

*Figure 5. Molecular mechanism of chromosome segregation at the metaphase-anaphase transition. Degradation of Securin activates Separase. Separase then cleaves the Scc1 subunit of Cohesion, allowing chromosome segregation. In response to sister-chromatid not properly attached to the mitotic spindle, the spindle checkpoint promotes SAC protein complexes that inhibit the activity of APC/C, leading to the stabilization of Securin, preservation of sister-chromatid cohesion, and a delay in the onset of anaphase (adapted of the published article for Bharadwaj y Yu, 2004).*

Cuando la acción de agentes antitumorales provoca anomalías en la unión cinetocoro-MTs o alineación errónea, SAC provoca una parada extensa de la mitosis y aumenta la susceptibilidad de las células a sufrir muerte celular. Alternativamente, las células pueden escapar a un arresto mitótico por una lenta degradación de Ciclina B conocido como desprendimiento mitótico que puede ocasionar muerte celular, tetraploidías o arrestos en interfases, estas dos últimas son no viables en el próximo ciclo celular si los puntos de controles son efectivos (Fig. 6) (Dobles *et al.*, 2000; Michel *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2002; Hanks *et al.*, 2004; Kaestner *et al.*, 2011; Machado *et al.*, 2012).

#### **Drogas anti-cáncer de origen natural que actúan sobre los microtúbulos**

Las drogas que actúan sobre los MTs pueden ser clasificadas en dos grupos principales: los agentes estabilizantes (AEMs) y los desestabilizantes (ADM)s de MTs. Sin embargo, esta clasificación está basada en el sitio de unión más que por en sus mecanismos de acción (Schmidt y Bastians, 2007).

#### **Agentes estabilizantes de microtúbulos (AEMs)**

##### **Paclitaxel y drogas relacionadas**

Los taxanos (paclitaxel, docetaxel), una nueva clase de agentes antimicrotubulares, son los más importantes quimioterapéuticos contra el cáncer en las últimas décadas. Paclitaxel fue descubierto como parte de un programa de screening de extractos de plantas con actividad anticáncer realizado por el Instituto Nacional del Cáncer de los EEUU (INC) (Bethesda, MD) (Rowinsky *et al.*, 1992). Paclitaxel fue extraído de la corteza del árbol *Taxus brevifolia* en 1966, y su estructura fue reportada en 1971 (Wani *et al.*, 1971). Sin embargo, sus propiedades antimicrotubulares fueron descubiertas en 1979 (Schiff *et al.*, 1979).

Docetaxel es un análogo semisintético derivado de un precursor aislado del árbol europeo *Taxus baccata*. Ambos compuestos se unen al dominio de los taxanos en la cavidad de la subunidad  $\beta$ -tubulina y exhiben una actividad estabilizadora de los MTs a concentraciones relativamente altas. Sin embargo, a bajas concentraciones, las cuales son más relevantes para el uso en la clínica, suprimen eficientemente la inestabilidad dinámica de los MTs ocasionando fallas en la alineación de los cromosomas, causando arresto mitótico y por consiguiente muerte celular o apoptosis (Tabla 1) (Schmidt y Bastians, 2007).

#### **Epotilones**

Los epotilones originalmente aislados de la mixobacteria *Sorangium cellulosum*, se unen al sitio de los taxanos en el MT y muestran actividad estabilizadora de microtúbulos (Larkin y Kaye, 2006). Compuestos de esta familia química incluyen a patupilone, ixabepilone, BMS-310705, ZK-EPO y KOS-862 y están actualmente en ensayos clínicos fase II y III (Tabla 1).

#### **Agentes desestabilizantes de microtúbulos (ADM)s.**

##### **Vinca alcaloide y drogas relacionadas**

Alcaloides de la vinca aislados de las hojas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don fueron descubiertos en los años 1950 por los científicos canadienses Robert Noble y Charles Beer (Johnson *et al.*, 1960). Desde los inicios tuvieron importancia por sus propiedades anti-mitóticas y potencialidades quimioterapéuticas. La Vinblastina y la vincristina son los principales miembros de los alcaloides de la vinca. Subsecuentemente, algunos análogos semisintéticos como vinorelbina, vindesina y vinflunina han sido introducidos en la clínica para el tratamiento de leucemias, linfomas y tumores sólidos (Tabla 1) (Schmidt y Bastians, 2007).

La Vinblastina se une cerca del sitio de unión del GTP en la subunidad  $\beta$  de la tubulina en una región llamada dominio de unión de la vinca (Bai *et al.*, 2000; Mukhtar *et al.*, 2014). Otras drogas quimioterapéuticas también se unen a este dominio. La unión de la Vinblastina es rápida y reversible (Jordan, 2002) induciendo cambios conformacionales en la tubulina (Lobert *et al.*, 1998).

Estudios *in vitro* revelan que la vinblastina se une con alta afinidad a la tubulina en los extremos finales de los MTs, sin embargo, con baja afinidad a la tubulina que se encuentra a lo largo del MTs (Jordan, 2002; Mukhtar *et al.*, 2014). Estos estudios mostraron que la unión de una o dos moléculas de vinblastina por el extremo (+) de los MTs es suficiente para reducir tanto el *treadmilling* (flujo de subunidades) como la inestabilidad dinámica, aproximadamente al 50%, sin ser significativa la despolimerización de los MTs. Esta supresión de la dinámica de los MTs previene el ensamblaje del huso mitótico y reduce la tensión de los cinetocoros en los cromosomas. El progreso mitótico se retarda y los cromosomas no se ubican en la placa ecuatorial de la mitosis. El APC/C bloquea la transición de metafase a anafase y las células mueren por apoptosis (Mukhtar *et al.*, 2014).

Este grupo incluye gran número de compuestos que se encuentran bajo desarrollo clínico para la terapia del cáncer: maytansine, rhizoxin, spongistatins y podofilotoxin.

### Colchicina

Fue aislada por primera vez en 1820 del árbol *Colchicum autumnale* por los químicos franceses P.S. Pelletier y J. B. Caventou, y fue descrita para el tratamiento del reumatismo (Emmerson, 1996). Actualmente, se usa para el tratamiento de la gota y no tiene un uso en el tratamiento del cáncer debido a su potente toxicidad (Tabla 1) (Mukhtar *et al.*, 2014). Como los alcaloides de la Vinca, la colchicina despolimeriza los MTs a altas concentraciones, inhibe la polimerización de los MTs al unirse a los extremos del MTs más que a la tubulina soluble. Sin embargo, la colchicina libre por sí misma no se une directamente a los extremos de los MTs, sino que se une primeramente con la tubulina soluble, induce pequeños cambios conformacionales en la tubulina y forma un complejo reversible tubulina–colchicina, el cual se co-polimeriza en el extremo del microtúbulo (Mukhtar *et al.*, 2014).

El sitio de unión de la colchicina está bien caracterizado, se denomina dominio de la colchicina y se encuentra en la interfase entre los dímeros  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina (Downing, 2000; Schmidt y Bastians, 2007).

### Combretastatinas

Combretastatinas son una clase de fenoles naturales (cis-stilbenes) aisladas del árbol sudafricano *Combretum caffrum* (Combretaceae). Las combretastatinas exhiben propiedades citotóxicas e inhiben la polimerización de la tubulina en líneas tumorales (Pettit *et al.*, 1989). El miembro más potente de este grupo es A-4 combretastatina con valor de  $IC_{50}$  de 7 nmol/L (Siemann *et al.*, 2009). La combinación de este compuesto con un fosfato llamado A4 Fosfato Combretastatina, también conocido, como Zybrestat, fosbretabulin (Rusan *et al.*, 2001), progresó en ensayos clínicos para el tratamiento de tumores sólidos (Tabla 1) (Siemann *et al.*, 2009). Las ventajas de esta clase de compuestos sobre otros agentes antimetabólicos es que también son inhibidores de la angiogénesis (Griggs *et al.*, 2001; Siemann *et al.*, 2009).

**Tabla 1.** Agentes antimetabólicos naturales: fuentes, sitio de unión, efectos adversos y usos clínicos

Table 1. Natural antimetabolic agents: source, binding site, side effects, and clinical use

Dominio de unión	Droga	Origen	Sitio de unión con la tubulina	Efectos adversos	Usos clínicos
Dominio del Paclitaxel	Paclitaxel	Planta: <i>Taxus brevifolia</i>	$\beta$ -tubulina	Neutropenia	Cánceres de cabeza y cuello, pulmones, mama, ovario
	Epotilones	Bacteria: <i>Sorangium cellulosum</i>	$\beta$ -tubulina	Mielosupresión	Cánceres de ovario, próstata, pulmones, mama
	Vimblastina	Planta: <i>Catharanthus roseus</i>	$\beta$ -tubulina	Neutropenia	Hopdkin, cánceres de mama, testicular, cabeza y cuello
Vincristina	$\beta$ -tubulina		Neuropatía periférica, Hiperatremia, Constipación y pérdida del cabello	Leucemias y Linfomas	
Dominio de Colchicina	Colchicina	Planta: <i>Colchicum autumnale</i>	$\beta$ -tubulina	Potente toxicidad en células normales	Enfermedades no neoplásicas como la gota y Enfermedad familiar Mediterránea
	Combretastatinas	Planta: <i>Combretum caffrum</i>	$\beta$ -tubulina	Mielosupresión	Ensayo clínico fase III CA-4P en combinación con carboplatino para cáncer de tiroides

### Mecanismo de muerte celular inducido por agentes antimitóticos

Aunque la muerte celular después de la perturbación de la mitosis ha sido extensivamente estudiada, los detalles del mecanismo no han sido bien esclarecidos. (Schmidt y Bastians, 2007; Gascoigne y Taylor, 2008; Portugal *et al.*, 2010; Salmela y Kallio, 2013).

Es bien reconocido que el tratamiento de las células cancerígenas con drogas antimitóticas ocasiona predominantemente una acumulación mitótica asociada con muerte celular (Jordan, 2002; Jordan y Wilson, 2004; Jordan y Kamath, 2007; Schmidt y Bastians, 2007; Risinger *et al.*, 2009; Kaestner *et al.*, 2011; Domenech y Malumbres, 2013; Salmela y Kallio, 2013; Shin *et al.*, 2013; Mukhtar *et al.*, 2014). A relevantes concentraciones clínicas, los taxanos, alcaloides de la Vinca y epotilones suprimen la dinámica del huso mitótico e inhiben la captura de los cinetocoros y la alineación cromosómica.

La presencia de cromosomas parcialmente alineados que pierden la unión con los MTs o la tensión de los cinetocoros, activan crónicamente los puntos de control del huso (SAC), permitiendo un arresto mitótico en las fases tempranas de la mitosis. De hecho, este arresto mitótico es dependiente de SAC, pero no es permanente. En cambio, en un tratamiento prolongado, las células salen de la mitosis en presencia de cromosomas mal alineados, dando lugar al desprendimiento mitótico originando células multinucleadas con 4N de contenido de ADN (Fig. 6).

Aún no está claro como las células escapan del arresto mitótico en presencia de SAC activado. Se piensa que una lenta pero continua degradación de Ciclina B en presencia de SAC activado contribuye a la salida de mitosis, aunque otros mecanismos también son posibles (Brito y Rieder, 2006; Schmidt y Bastians, 2007). Una vez que las células tetraploides salieron a una mitosis aberrante, ocurre una activación de p53 y una subsecuente inducción del gen *p21* indicando que fallas en la mitosis asociadas con tetraploidías pueden desencadenar una respuesta del punto de control en G1 dependiente de p53, la cual puede actuar como un segundo mecanismo de seguridad que previene futuras poliploidías (Margolis *et al.*, 2003; Schmidt y Bastians, 2007; Vogel *et al.*, 2007).

### Principales efectos adversos ocasionados por las drogas antimitóticas

El blanco primario de las drogas microtubulares es el huso mitótico, sin embargo, desde la interfase donde

las células diferenciadas requieren de la dinámica de los microtúbulos para el mantenimiento de las funciones del citoesqueleto y los procesos de transporte intracelular existen efectos adversos causados por estas drogas (Zhou y Giannakakou, 2005). La neuropatía periférica puede ser explicada por una disrupción de los MTs mediado por el flujo axonal que incluye entumecimiento, dolor mandibular, disfunción de las cuerdas vocales, constipación y calambres abdominales. La supresión de las funciones de los MTs mitóticos inhibe la proliferación de las células no transformadas, incluyendo precursores celulares hematopoyéticos, por lo que podría explicar la severa mielosupresión y neutropenia observada en los pacientes durante la terapia. Así, los antimitóticos durante la quimioterapia no son selectivos para células tumorales, afectando también las células que no están proliferando (Tabla 1). Además de la hipersensibilidad provocada por los solventes (Cremofor en Paclitaxel y Tween 80 en Docetaxel) que también contribuyen a los efectos adversos provocados por el tratamiento con los agentes antimitóticos.

### Posibles mecanismos de resistencia

Varias rutas de resistencia de las drogas que dañan el huso mitótico son concebidas por mecanismos de apoptosis. Ha sido mostrado en sistemas celulares que células con SAC defectuoso escapan de la apoptosis bajo tratamientos con Paclitaxel y otras drogas antimitóticas que activan SAC. Si bien, las mutaciones en los genes de SAC parecen ser bastante raras (Sato *et al.*, 2000; Hernando *et al.*, 2001) la expresión de los genes inactivados como MAD1 o MAD2 pueden debilitar la función de SAC en cánceres humanos (Wang *et al.*, 2002; Kienitz *et al.*, 2005). Además la sobreexpresión de Aur-A, la cual actúa como oncogén se ha demostrado que ocasiona abrogación de SAC permitiendo resistencia al taxol (Anand *et al.*, 2003). La alta incidencia de inestabilidad cromosómica en el carcinoma de colon, puede estar asociado con el mal funcionamiento de SAC, lo que explicaría la pobre eficacia del Paclitaxel u otras drogas relacionadas en este tipo de cáncer (Wheatley y McNeish, 2005).

Otra resistencia causada por las drogas antimitóticas puede ser una modulación de la composición de los microtúbulos y cambios en su dinámica de los mismos. Células tumorales resistentes mostraron expresiones mutantes de  $\alpha$  y  $\beta$ -tubulina donde los sitios de unión eran mutados (Giannakakou *et al.*, 2000; Kavallaris *et al.*, 2001). Alternativamente, las células tumorales

resistentes muestran sobreexpresión de isoformas  $\beta$ -tubulina ( $\beta$ III-tubulina) que ocasionan una dinámica de los MTs significativamente alta. Igual efecto es producido por  $\alpha$ -tubulina o por sobreexpresión de proteínas desestabilizantes de MTs (MAP4). De hecho, una expresión inactivada de las proteínas asociadas a MTs es detectada en células cancerígenas (Balachandran *et al.*, 2003). Aunque cambios en la composición y dinámica de los MTs pueden claramente contribuir a la resistencia *in vitro* de los taxanos y otras drogas anti-mitóticas, no es claro si este mecanismo ciertamente cuenta dentro de la resistencia (Kavallaris *et al.*, 2001). Notablemente, los taxanos y alcaloides de la vinca son buenos sustratos para la bomba de eflujo que hace la glicoproteína-P en la célula, producto del gen de multirresistencia MDR1, el cual actúa directamente a bajas concentraciones de las drogas (Galletti *et al.*, 2007).

### Nuevos blancos mitóticos como estrategias adicionales para la terapia anti-cáncer.

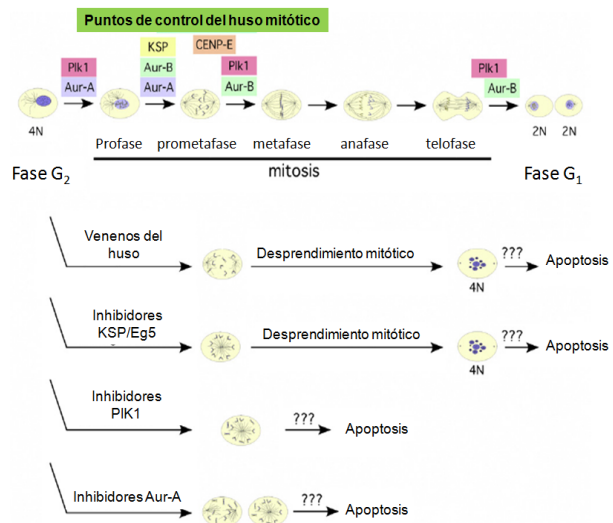
#### Quinesinas mitóticas:

Las quinesinas son una familia de proteínas que se unen y se mueven a lo largo de los MTs. En la interfase los miembros de la familia son responsables del transporte y durante la mitosis, algunas quinesinas son esenciales para un alineamiento adecuado de los cromosomas, segregación y separación del centrosoma (Miki *et al.*, 2005; Schmidt y Bastians, 2007). Hasta la fecha, existen 14 quinesinas específicas que se conoce que contribuyen con la adecuada ejecución de la mitosis. (Miki *et al.*, 2005; Schmidt y Bastians, 2007). Algunas de ellas, regulan la congregación y segregación cromosómica, otras median el posicionamiento de los centrosomas.

#### Proteína quinesina del huso mitótico (KSP/Eg5 -KSP del inglés kinesin spindle protein)

Una de las proteínas mitóticas específicas es una quinesina del huso conocida como Quinesin-5 o Eg5 (KSP/Eg5). Ella es requerida para la generación de husos bipolares y para la adecuada segregación de cromátidas hermanas (Blangy *et al.*, 1995; Schmidt y Bastians, 2007). La degradación de KSP/Eg5 previene la separación del centrosoma mitótico ocasionando la formación de un huso monopolar conllevando a un arresto mitótico SAC-dependiente. Sin embargo, un huso monopolar permite la unión de los cromosomas, pero evita la tensión entre los cinetocoros, así se explica por qué una inhibición funcional de KSP/Eg5 activa el punto de con-

trol de huso mitótico que lleva a un arresto del ciclo celular en la mitosis (Fig. 6). Se muestran (SAC) que controla la transición de metafase a anafase y las proteínas que son los blancos prometedores para la terapia de cáncer que incluye polo-quinasa 1 (Plk1), proteína quinesina del huso (KSP/Eg5), proteína centrómerica E (CENP-E), Aurora-Quinasa A (Aur-A) y Aurora-Quinasa B (Aur-B). Los inhibidores del huso mitótico (venenos del huso) son frecuentemente usados para el tratamiento anti-cáncer y los inhibidores de KSP/Eg5, Plk1 y Auroras quinasas están actualmente en el desarrollo clínico. El fenotipo mitótico causado por estos inhibidores se muestra esquemáticamente. La interferencia con el huso mitótico resulta en prometafase, mientras que la inhibición de KSP/Eg5, Plk1 y Aur-A generan un fenotipo de arresto mitótico con husos monopolares predominantes. Inhibición de Aurora-B previene la citocinesis e induce poliploidías. En el tratamiento prolongado con venenos del huso e inhibidores de quinesinas, las células exhiben un desprendimiento mitótico con la inducción subsecuente de apoptosis en la fase G1. Hasta ahora, no está claro si las células tratadas con los inhibidores de la Aur-A o de Plk1 sufren apoptosis durante el arresto mitótico o si ocurre el desprendimiento mitótico. Significativamente, es evidente que las quinesinas mitóticas son



**Figura 6.** Fases de la mitosis y fenotipos de drogas quimioterapéuticas. Figura adaptada a partir del artículo publicado por Schmidt y Bastians, 2007).

*Figure 6. Stages of mitosis and phenotypes of chemotherapeutic drug treatment (adapted of the published article for Schmidt y Bastians, 2007).*

dianas efectivas de las drogas que pueden ser inhibidores competitivos o alostéricos (Maliga *et al.*, 2002; DeBonis *et al.*, 2004; Bergnes *et al.*, 2005).

### **Proteína centromérica E (CENP-E)**

CENP-E (del inglés protein centromeric E) es otra quinasa mitótica localizada en los cinetocoros y alberga un dominio N-terminal, el cual es requerido para la actividad motora de los MTs. CENP-E es esencial para la progresión de la mitosis contribuyendo a la congregación de los cromosomas (Yao *et al.*, 2000). Ellas pueden actuar como un sensor para monitorear la unión de los cinetocoros a los MTs y podrían estar involucradas iniciando la señal del punto de control por activación de quinasas BubR1 (Yao *et al.*, 2000; Weaver y Cleveland, 2006; Birk *et al.*, 2012). Así, una pérdida de su función permite severos defectos mitóticos sugiriendo que la inhibición de CENP-E es una atractiva estrategia para la terapia del cáncer

### **Quinasas mitóticas**

#### **Polo quinasas (Plk – del inglés Polo like kinasa)**

La familia Plk comprende 4 miembros: Plk1, Plk2 (Snk), Plk3 (Fnk o Prk), y Plk4 (Barr *et al.*, 2004). Estos se caracterizan por una región C-terminal que contiene dos dominios polo, cada uno contiene 60-70 aminoácidos de longitud. El miembro más estudiado de la familia es el Plk1 con numerosos reportes sobre el rol esencial durante la mitosis en la maduración del centrosoma, ensamblaje del huso mitótico, segregación cromosómica, activación de APC/C, citocinesis y activación del punto de control del huso, así como la activación de Cdk1 (quinasa dependiente de ciclina-1) en la transición G2/M (Strebhardt y Ullrich, 2006). Por consiguiente, se espera que los inhibidores de Plk1 puedan ser terapéuticos beneficiosos para los pacientes de cáncer. Los inhibidores de Plk1 cumplen con las premisas de los blancos mitóticos (Fig. 6) como los agentes que interfieren con los MTs con un potencial sobre los tumores taxano-resistentes siendo aplicables en indicaciones en las cuales los venenos del huso no son eficaces del todo (ejemplo: cáncer de colon). Recientemente, se descubrió que la estructura de Plk1 permite incrementar el descubrimiento de inhibidores selectivos para Plk1 (Kothe *et al.*, 2007).

#### **Aurora Quinasas (Aur)**

Las Aur han llamado la atención en los últimos años, tanto para la academia como para la industria farmacéutica. Ellas cumplen importantes funciones durante la mitosis

para asegurar el funcionamiento adecuado del centrosoma, la alineación y la segregación cromosómica (Marumoto *et al.*, 2005; Vader *et al.*, 2006; Schmidt y Bastians, 2007). Ellas regulan la separación del centrosoma en profase y el ensamblaje de un huso bipolar en prometafase (Vader y Lens, 2008; Salmela y Kallio, 2013). Sin embargo, son frecuentemente sobreexpresadas en cánceres humanos y también pueden actuar como oncogenes (Katayama *et al.*, 2003).

Las células de mamíferos presentan tres miembros de la familia, llamadas Auroras A, B y C. Múltiples roles mitóticos presenta la Aurora A (Aur-A), uno de ellos, en la transición G2/M (Hirota *et al.*, 2003). Durante la mitosis, Aur-A se une a la proteína reguladora TPX2 (del inglés Targeting protein for Xklp2) y es localizada en los centrosomas y en los polos del huso (Kufer *et al.*, 2002). Allí, se une con TACC3 (del inglés transforming, acidic coiled-coil containing protein 3) una proteína de regulación centrosómica, la cual es requerida para la nucleación de los MTs y el ensamblaje del huso (Kinoshita *et al.*, 2005). Ablaciones o inhibición farmacológica de Aur-A ocasionan defectos en la maduración del centrosoma asociado con severas anomalías del huso como la formación de husos monopolares sugiriendo un rol importante en el mantenimiento de la bipolaridad del huso (Fig.6) (Girdler *et al.*, 2006; Liu y Ruderman, 2006; Manfredi *et al.*, 2007).

#### **Catástrofe mitótica**

La última meta del tratamiento quimioterapéutico del cáncer es la inducción de apoptosis (Mashima y Tsuruo, 2005). Sin embargo, existe una segunda forma de muerte celular tumoral llamada Catástrofe mitótica que se origina de una mitosis anormal y que no está relacionada con la muerte celular apoptótica (Okada y Mak, 2004). Más recientemente, se ha mostrado que la catástrofe mitótica podría representar una forma mitótica de apoptosis inducida por los tratamientos quimioterapéuticos (Castedo *et al.*, 2004; Vogel *et al.*, 2007). Un importante régimen de drogas, que genere daño al ADN durante la mitosis, conlleva a la catástrofe mitótica, una condición que resulta de una abrogación de los puntos de control de daño al ADN en G2 (Kawabe, 2004).

#### **Punto de control de daño al ADN en G2**

Terapias anti-cáncer que inducen un daño severo al ADN, activan los puntos de control de daño al ADN que producen una parada del ciclo celular. El primer paso de respuesta al daño de ADN es el recrudecimiento del complejo de sensores en los sitios dañados donde las

quinasas ATM / ATR son activadas. Estas quinasas pueden fosforilar y activar el factor de transcripción p53 directamente o pueden activar Chk2 (del inglés checkpoint kinase 2) que a su vez puede fosforilar y activar p53. Esta activación transcripcional de p53 resulta de la inducción de p21, el cual codifica a proteínas inhibitoras de CDK que se unen e inhiben el complejo CDK-ciclina en G1. Esta actividad CDK es requerida para la progresión en la fase S y la activación de este punto de control en G1 ocasiona un arresto celular en G1. También existe un segundo punto de control que actúa en G2. Las quinasas ATM y ATR pueden fosforilar y activar Chk1, la cual fosforila e inactiva a la fosfatasa Cdc25C permitiendo su secuestro citoplasmático. Cdc25C es la fosfatasa responsable de quitar dos fosfatos inhibitorios de CDK1 que se requieren para su activación y la entrada subsecuente en la mitosis. Así, el daño de ADN inducido por la inhibición de Cdc25C es mediada por Chk1 y previene la entrada en mitosis y constituye el punto de control de daño de ADN en G2 (Kastan y Bartek, 2004). Algunas células tumorales tienen pérdida de las funciones de los puntos de control en G1, tratamientos de estos tumores con agentes que dañan el ADN provocan un arresto celular exclusivamente en G2. Estas circunstancias admiten un blanco selectivo de células tumorales con el uso de inhibidores farmacológicos (agentes genotóxicos) del punto de control en G2, forzando la entrada en la mitosis provocando la inducción de catástrofe mitótica asociada con muerte celular (Kawabe, 2004).

#### LITERATURA CITADA

- Alberts, B. (2010) Cell biology: the endless frontier. *Mol Biol Cell* 21 (22): 3785.
- Anand, S., S. Penrhyn-Lowe, A.R. Venkitaraman (2003) AURORA-A amplification overrides the mitotic spindle assembly checkpoint, inducing resistance to Taxol. *Cancer Cell* 3(1): 51-62.
- Bai, R., D.G. Covell, X.-F. Pei, J.B. Ewell, et al. (2000) Mapping the binding site of colchicins on  $\beta$ -tubulin 2-chloroacetyl-2-demethylthiocolchicine covalently reacts predominantly with cysteine 239 and secondarily with cysteine 354. *Journal of Biological Chemistry* 275(51): 40443-40452
- Balachandran, R., M.J. Welsh, B.W. Day (2003) Altered levels and regulation of stathmin in paclitaxel-resistant ovarian cancer cells. *Oncogene* 22(55): 8924-8930.
- Barr, F.A., H.H. Sillje, E.A. Nigg (2004) Polo-like kinases and the orchestration of cell division. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5(6): 429-440.
- Bergnes, G., K. Brejc, L. Belmont (2005) Mitotic kinesins: prospects for antimitotic drug discovery. *Curr Top Med Chem* 5(2): 127-145.
- Bharadwaj, R., H. Yu (2004) The spindle checkpoint, aneuploidy, and cancer. *Oncogene* 23(11): 2016-2027.
- Birk, M., A. Burkle, K. Pekari, T. Maier, et al. (2012) Cell cycle-dependent cytotoxicity and mitotic spindle checkpoint dependency of investigational and approved antimitotic agents. *Int J Cancer* 130(4): 798-807.
- Blangy, A., H.A. Lane, P. d'Herin, M. Harper, et al. (1995) Phosphorylation by p34cdc2 regulates spindle association of human Eg5, a kinesin-related motor essential for bipolar spindle formation in vivo. *Cell* 83(7): 1159-1169.
- Brito, D.A., C.L. Rieder (2006) Mitotic checkpoint slippage in humans occurs via cyclin B destruction in the presence of an active checkpoint. *Curr Biol* 16(12): 1194-1200.
- Castedo, M., J.-L. Perfettini, T. Roumier, A. Valent, et al. (2004) Mitotic catastrophe constitutes a special case of apoptosis whose suppression entails aneuploidy. *Oncogene* 23(25): 4362-4370.
- Cleveland, D.W., Y. Mao, K.F. Sullivan (2003) Centromeres and kinetochores: from epigenetics to mitotic checkpoint signaling. *Cell* 112(4): 407-421.
- Cheeseman, I.M., A. Desai (2008) Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9(1): 33-46.
- Chen, J.G., C.P. Yang, M. Cammer, S.B. Horwitz (2003) Gene expression and mitotic exit induced by microtubule-stabilizing drugs. *Cancer Res* 63(22): 7891-7899.
- DeBonis, S., D.A. Skoufias, L. Lebeau, R. Lopez, et al. (2004) In vitro screening for inhibitors of the human mitotic kinesin Eg5 with antimitotic and antitumor activities. *Mol Cancer Ther* 3(9): 1079-1090.
- Dobles, M., V. Liberal, M.L. Scott, R. Benezra, et al. (2000) Chromosome missegregation and apoptosis in mice lacking the mitotic checkpoint protein Mad2. *Cell* 101(6): 635-645.
- Domenech, E., M. Malumbres (2013) Mitosis-targeting therapies: a troubleshooting guide. *Curr Opin Pharmacol* 13(4): 519-528.
- Downing, K.H. (2000) Structural basis for the interaction of tubulin with proteins and drugs that affect microtubule dynamics. *Annu Rev Cell Dev Biol* 16: 89-111.
- Dumontet, C., M.A. Jordan (2010) Microtubule-binding agents: a dynamic field of cancer therapeutics. *Nature reviews Drug discovery* 9(10): 790-803.
- Emmerson, B.T. (1996) The management of gout. *N Engl J Med* 334(7): 445-451.
- Field, J.J., J.F. Diaz, J.H. Miller (2013) The binding sites of microtubule-stabilizing agents. *Chem Biol* 20(3): 301-315.
- Galletti, E., M. Magnani, M.L. Renzulli, M. Botta (2007) Paclitaxel and docetaxel resistance: molecular mechanisms and development of new generation taxanes. *ChemMedChem* 2(7): 920-942.

- Gascoigne, K.E., S.S. Taylor (2008) Cancer cells display profound intra- and interline variation following prolonged exposure to antimetabolic drugs. *Cancer Cell* 14(2): 111-122.
- Giannakakou, P., R. Gussio, E. Nogales, K.H. Downing, et al. (2000) A common pharmacophore for epothilone and taxanes: molecular basis for drug resistance conferred by tubulin mutations in human cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(6): 2904-2909.
- Girdler, F., K.E. Gascoigne, P.A. Eyers, S. Hartmuth, et al. (2006) Validating Aurora B as an anti-cancer drug target. *J Cell Sci* 119 (Pt 17): 3664-3675.
- Griggs, J., J.C. Metcalfe, R. Hesketh (2001) Targeting tumour vasculature: the development of combretastatin A4. *The lancet oncology* 2(2): 82-87.
- Hanks, S., K. Coleman, S. Reid, A. Plaja, et al. (2004) Constitutional aneuploidy and cancer predisposition caused by biallelic mutations in BUB1B. *Nat Genet* 36(11): 1159-1161.
- Hayden, J.H., S.S. Bowser, C.L. Rieder (1990) Kinetochore capture astral microtubules during chromosome attachment to the mitotic spindle: direct visualization in live newt lung cells. *The Journal of cell biology* 111(3): 1039-1045.
- Hernando, E., I. Orlow, V. Liberal, G. Nohales, et al. (2001) Molecular analyses of the mitotic checkpoint components hMAD2, hBUB1 and hBUB3 in human cancer. *Int J Cancer* 95(4): 223-227.
- Hirota, T., N. Kunitoku, T. Sasayama, T. Marumoto, et al. (2003) Aurora-A and an interacting activator, the LIM protein Ajuba, are required for mitotic commitment in human cells. *Cell* 114(5): 585-598.
- Johnson, I.S., H.F. Wright, G.H. Svoboda, J. Vlantis (1960) Antitumor principles derived from *Vinca rosea* Linn. I. Vincalcalco-blastine and leurosine. *Cancer Res* 20: 1016-1022.
- Jordan, M.A. (2002) Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin. *Curr Med Chem Anti-cancer Agents* 2(1): 1-17.
- Jordan, M.A., K. Kamath (2007) How do microtubule-targeted drugs work? An overview. *Curr Cancer Drug Targets* 7(8): 730-742.
- Jordan, M.A., L. Wilson (2004) Microtubules as a target for anti-cancer drugs. *Nature reviews cancer* 4(4): 253-265.
- Kaestner, P., A. Aigner, H. Bastians (2011) Therapeutic targeting of the mitotic spindle checkpoint through nanoparticle-mediated siRNA delivery inhibits tumor growth in vivo. *Cancer Lett* 304(2): 128-136.
- Kastan, M.B., J. Bartek (2004) Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature* 432(7015): 316-323.
- Katayama, H., W.R. Brinkley, S. Sen (2003) The Aurora kinases: role in cell transformation and tumorigenesis. *Cancer Metastasis Rev* 22(4): 451-464.
- Kavallaris, M., N.M. Verrills, B.T. Hill (2001) Anticancer therapy with novel tubulin-interacting drugs. *Drug Resist Updat* 4(6): 392-401.
- Kawabe, T. (2004) G2 checkpoint abrogators as anticancer drugs. *Molecular cancer therapeutics* 3(4): 513-519.
- Kienitz, A., C. Vogel, I. Morales, R. Muller, et al. (2005) Partial downregulation of MAD1 causes spindle checkpoint inactivation and aneuploidy, but does not confer resistance towards taxol. *Oncogene* 24(26): 4301-4310.
- Kinoshita, K., T.L. Noetzel, L. Pelletier, K. Mechtler, et al. (2005) Aurora A phosphorylation of TACC3/maskin is required for centrosome-dependent microtubule assembly in mitosis. *J Cell Biol* 170(7): 1047-1055.
- Kothe, M., D. Kohls, S. Low, R. Coli, et al. (2007) Structure of the catalytic domain of human polo-like kinase 1. *Biochemistry* 46 (20): 5960-5971.
- Kufer, T.A., H.H. Silje, R. Korner, O.J. Gruss, et al. (2002) Human TPX2 is required for targeting Aurora-A kinase to the spindle. *J Cell Biol* 158(4): 617-623.
- Larkin, J.M., S.B. Kaye (2006) Epothilones in the treatment of cancer.
- Lee, S., C.A. Schmitt (2003) Chemotherapy response and resistance. *Current opinion in genetics & development* 13(1): 90-96
- Liu, Q., J.V. Ruderman (2006) Aurora A, mitotic entry, and spindle bipolarity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(15): 5811-5816.
- Lober, S., A. Frankfurter, J.J. Correia (1998) Energetics of vinca alkaloid interactions with tubulin isotypes: implications for drug efficacy and toxicity. *Cell Motil Cytoskeleton* 39(2): 107-121.
- Lloyd, C., J. Chan (2004) Microtubules and the shape of plants to come. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5(1): 13-22.
- Maiato, H., P. Sampaio, C.E. Sunkel (2004) Microtubule-associated proteins and their essential roles during mitosis. *Int Rev Cytol* 241: 53-153.
- Maliga, Z., T.M. Kapoor, T.J. Mitchison (2002) Evidence that monastrol is an allosteric inhibitor of the mitotic kinesin Eg5. *Chem Biol* 9(9): 989-996.
- Manchado, E., M. Guillamot, M. Malumbres (2012) Killing cells by targeting mitosis. *Cell Death Differ* 19(3): 369-377.
- Manfredi, M.G., J.A. Ecsedy, K.A. Meetze, S.K. Balani, et al. (2007) Antitumor activity of MLN8054, an orally active small-molecule inhibitor of Aurora A kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(10): 4106-4111.
- Margolis, R.L., O.D. Lohez, P.R. Andreassen (2003) G1 tetraploidy checkpoint and the suppression of tumorigenesis. *J Cell Biochem* 88(4): 673-683.
- Marumoto, T., D. Zhang, H. Saya (2005) Aurora-A - a guardian of poles. *Nat Rev Cancer* 5(1): 42-50.
- Mashima, T., T. Tsuruo (2005) Defects of the apoptotic pathway as therapeutic target against cancer. *Drug Resist Updat* 8(6): 339-343.
- Michel, L.S., V. Liberal, A. Chatterjee, R. Kirchwegger, et al. (2001) MAD2 haplo-insufficiency causes premature anaphase and chromosome instability in mammalian cells. *Nature* 409(6818): 355-359.

- Miki, H., Y. Okada, N. Hirokawa (2005) Analysis of the kinesin superfamily: insights into structure and function. *Trends Cell Biol* 15(9): 467-476.
- Mukhtar, E., V.M. Adhami, H. Mukhtar (2014) Targeting microtubules by natural agents for cancer therapy. *Mol Cancer Ther* 13(2): 275-284.
- Musacchio, A., E.D. Salmon (2007) The spindle-assembly checkpoint in space and time. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8(5): 379-393.
- Nasmyth, K. (2002) Segregating sister genomes: the molecular biology of chromosome separation. *Science* 297(5581): 559-565.
- Okada, H., T.W. Mak (2004) Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. *Nature Reviews Cancer* 4(8): 592-603.
- Peters, J.M. (2006) The anaphase promoting complex/cyclosome: a machine designed to destroy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7(9): 644-656.
- Pettit, G., S. Singh, E. Hamel, C.M. Lin, et al. (1989) Isolation and structure of the strong cell growth and tubulin inhibitor combretastatin A-4. *Experientia* 45(2): 209-211.
- Piehl, M., U.S. Tulu, P. Wadsworth, L. Cassimeris (2004) Centrosome maturation: measurement of microtubule nucleation throughout the cell cycle by using GFP-tagged EB1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(6): 1584-1588.
- Pines, J. (2006) Mitosis: a matter of getting rid of the right protein at the right time. *Trends Cell Biol* 16(1): 55-63.
- Portugal, J., S. Mansilla, M. Bataller (2010) Mechanisms of drug-induced mitotic catastrophe in cancer cells. *Curr Pharm Des* 16(1): 69-78.
- Risinger, A.L., F.J. Giles, S.L. Mooberry (2009) Microtubule dynamics as a target in oncology. *Cancer Treat Rev* 35(3): 255-261.
- Rowinsky, E.K., N. Onetto, R. Canetta, S. Arbusk (1992). Taxol: the first of the taxanes, an important new class of antitumor agents. *Seminars in oncology*.
- Rusan, N.M., C.J. Fagerstrom, A.-M.C. Yvon, P. Wadsworth (2001) Cell cycle-dependent changes in microtubule dynamics in living cells expressing green fluorescent protein- $\alpha$  tubulin. *Molecular biology of the cell* 12(4): 971-980.
- Salmela, A.L., M.J. Kallio (2013) Mitosis as an anti-cancer drug target. *Chromosoma* 122(5): 431-449.
- Sato, M., Y. Sekido, Y. Horio, M. Takahashi, et al. (2000) Infrequent mutation of the hBUB1 and hBUBR1 genes in human lung cancer. *Jpn J Cancer Res* 91(5): 504-509.
- Schiff, P.B., J. Fant, S.B. Horwitz (1979) Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature* 277(5698): 665-667.
- Schmidt, M., H. Bastians (2007) Mitotic drug targets and the development of novel anti-mitotic anticancer drugs. *Drug resistance updates* 10(4): 162-181
- Shin, S.Y., J.-H. Kim, H. Yoon, Y.-K. Choi, et al. (2013) Novel anti-mitotic activity of 2-hydroxy-4-methoxy-2', 3'-benzochalcone (HymnPro) through the inhibition of tubulin polymerization. *Journal of agricultural and food chemistry* 61(51): 12588-12597.
- Siemann, D.W., D.J. Chaplin, P.A. Walicke (2009) A review and update of the current status of the vasculature-disabling agent combretastatin-A4 phosphate (CA4P).
- Strebhardt, K., A. Ullrich (2006) Targeting polo-like kinase 1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 6(4): 321-330.
- Vader, G., S.M. Lens (2008) The Aurora kinase family in cell division and cancer. *Biochim Biophys Acta* 1786(1): 60-72.
- Vader, G., R.H. Medema, S.M. Lens (2006) The chromosomal passenger complex: guiding Aurora-B through mitosis. *J Cell Biol* 173(6): 833-837.
- Vogel, C., C. Hager, H. Bastians (2007) Mechanisms of mitotic cell death induced by chemotherapy-mediated G2 checkpoint abrogation. *Cancer Res* 67(1): 339-345.
- Wang, X., D.Y. Jin, R.W. Ng, H. Feng, et al. (2002) Significance of MAD2 expression to mitotic checkpoint control in ovarian cancer cells. *Cancer Res* 62(6): 1662-1668.
- Wani, M.C., H.L. Taylor, M.E. Wall, P. Coggon, et al. (1971) Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society* 93(9): 2325-2327.
- Waterman-Storer, C.M., E.D. Salmon (1997) Microtubule dynamics: treadmilling comes around again. *Curr Biol* 7(6): R369-372.
- Weaver, B.A., D.W. Cleveland (2006) Does aneuploidy cause cancer? *Curr Opin Cell Biol* 18(6): 658-667.
- Wheatley, S.P., I.A. McNeish (2005) Survivin: a protein with dual roles in mitosis and apoptosis. *Int Rev Cytol* 247: 35-88.
- Yao, X., A. Abrieu, Y. Zheng, K.F. Sullivan, et al. (2000) CENP-E forms a link between attachment of spindle microtubules to kinetochores and the mitotic checkpoint. *Nat Cell Biol* 2(8): 484-491.
- Yu, H. (2002) Regulation of APC-Cdc20 by the spindle checkpoint. *Curr Opin Cell Biol* 14(6): 706-714.
- Zhou, J., P. Giannakakou (2005) Targeting microtubules for cancer chemotherapy. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 5(1): 65-71.



**Editor para correspondencia:** Dra. Maday Alonso del Rivero