

Trabajo Original

Toxicología Experimental

Evaluación del efecto radioprotector del extracto acuoso de *Mangifera indica* L (Vimang), en el ensayo de SOS-Chromotest.

Luis Alfredo Rosario Fernández¹, Idania Rodeiro¹, Eliseo Almeida², Daniel Francisco Arencibia³, Osney Leyva¹, Alena Alonso², Yanet Rodríguez¹.

¹ Centro de Química Farmacéutica (COF), Calle 21 esquina a 200, Reparto Atabey, Municipio Playa, Ciudad Habana, Cuba.

² Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear (CEADEN), Calle 30 # 502, e/ 5ta y 7ma, Reparto Miramar, Municipio Playa, Ciudad de la Habana, Cuba.

³ Instituto Finlay, Vicepresidencia de Investigaciones, Avenida 17, e/ 198 y 200, Reparto Siboney, Municipio Playa, Ciudad de la Habana, Cuba.

Correspondencia a: Daniel Francisco Arencibia Arrebola,

Email: darencibia@finlay.edu.cu

Resumen

Las radiaciones ionizantes se emplean con éxito en el tratamiento contra el cáncer y otras enfermedades. Por ello, existe un creciente interés en desarrollar nuevos productos con carácter radioprotector que disminuyan los efectos adversos de la radioterapia. Los aminotioles (como la amifostina) son los agentes que más se han utilizado con este fin, sin embargo ocasionan severos efectos secundarios. Por esta razón, la tendencia actual se enfoca a la obtención de radioprotectores a partir de fuentes naturales. El producto natural, Vimang, se obtiene a partir de la corteza de *Mangifera indica* L, el cual constituye un candidato interesante para la evaluación de su carácter radioprotector si se tiene en cuenta que los estudios farmacológicos realizados hasta el momento, corroboran su eficacia como antiinflamatorio, analgésico, inmunomodulador y antioxidante, características todas descritas para un radioprotector ideal. El presente trabajo tuvo como objetivo, evaluar el efecto radioprotector del extracto acuoso de *M. indica* L (Vimang) frente a la radiación gamma, mediante el ensayo bacteriano SOS-Chromotest a una dosis de radiación de 150 Gy. Este ensayo indicó que el extracto no es genotóxico en el rango de concentraciones analizado (50, 250, 500 y 1000 µg/mL); en presencia o no de activación metabólica. Se concluyó que este producto es capaz de proteger la estructura celular a nivel del material nuclear, de los daños inducidos por la radiación gamma a las dosis estudiadas en el ensayo SOS Chromotest.

Palabras clave: *Mangifera indica* L, radioprotector, cepas, *E.coli* PQ-37, SOS.

Abstract

Evaluation of the radioprotector effect of the aqueous extract of Mangifera indica L (Vimang), in SOS-Chromotest assays.

The ionizing radiations are use with success in the treatment against the cancer and other illnesses. For it, a growing interest exists in developing new products with radioprotector character that diminish the adverse effects of the radiotherapy. The

aminotioles (as the amifostina) they are agents that more they have been used with this purpose; however they cause severe secondary effects. For this reason, the current tendency is focused to obtaining the radioprotector compounds from natural sources. The natural product, Vimang to obtains starting from the bark of *Mangifera indica* L, it constitutes a interesting candidate for the character radioprotector evaluation if one keeps in mind that the pharmacological studies carried out until the moment, which corroborate their effectiveness like antiinflammatory, analgesic, inmunomodulator and antioxidant. Some of the characteristics that have been mentioned by different authors like properties of an ideal radioprotector. The aim of this work is to evaluate the radioprotector effect of the aqueous extract of *M. indica* L (Vimang), front gamma radiation, by means SOS-Chromotest bacterial assays, to a 150 Gy dose of radiation. This assays indicated that the extract is not genotoxic in the analyzed range of concentrations (50, 250, 500 and 1000 g/mL); in presence or not of metabolic activation. We conclude that this product is able to protect the cellular structure at the nuclear material level, of the damages induced by the gamma radiation to the doses studied in the SOS Chromotest assays.

Key words: *Mangifera indica* L, radioprotector, strains, *E.coli* PQ-37, SOS.

Introducción

Las radiaciones ionizantes se emplean con éxito en el tratamiento contra el cáncer y otras enfermedades. Por ello, dentro de la medicina preventiva, existe un creciente interés en desarrollar nuevos productos con carácter radioprotector que disminuyan los efectos adversos de la radioterapia.^{1, 2}

Los aminotioles (como la amifostina) son los agentes que más se han utilizado con este fin.³⁻⁵ Sin embargo, además del alto precio que alcanzan en el mercado, el empleo continuado de este tipo de compuestos ocasiona severos efectos secundarios.⁶ Por esta razón, la tendencia actual se enfoca a la obtención de radioprotectores a partir de fuentes naturales, como son las plantas comestibles y/o medicinales.

Los extractos obtenidos a partir de especies vegetales presentan algunas de las actividades biológicas descritas para un radioprotector ideal, como son: estabilidad, fácil administración y baja toxicidad. Adicionalmente, su aplicación resulta de bajo costo y no presupone la ocurrencia de efectos secundarios en los pacientes que los consumen.⁷

Existen diferentes ensayos que pueden utilizarse para estudiar el efecto radioprotector de productos de origen natural. Entre estos se encuentran los sistemas bacterianos basados en la construcción de fusiones transcripcionales a partir de promotores de genes SOS,⁸⁻¹⁰ los ensayos que cuantifican la actividad enzimática mitocondrial en células eucarióticas y los que determinan el nivel de peroxidación lipídica en eritrocitos humanos.¹¹⁻¹³ Dichos sistemas se han empleado para evaluar diferentes extractos de plantas entre las que se encuentran: *Phyllanthus orbicularis* HBK, *Piper betel* L. y *Podophyllum hexamdrum* Royale).¹⁴

En Cuba se ha desarrollado un nuevo producto natural, conocido como Vimang, el cual se obtiene a partir de la corteza de *Mangifera indica* L., árbol de la familia *Anacardeaceae* conocido como mango. Al igual que otros extractos vegetales, este fitoquímico constituye una mezcla compleja, entre cuyos componentes se destacan los polifenoles.¹⁵

Los estudios químicos, farmacológicos y toxicológicos realizados hasta el momento, corroboran la eficacia del Vimang como antiinflamatorio, analgésico, inmunomodulador y antioxidante.¹⁶⁻¹⁹

Diferentes autores han asociado la radioprotección que ejercen algunos extractos vegetales con la capacidad de los polifenoles, presentes en estos, de secuestrar radicales libres.^{20,21} Sin embargo, en el caso del Vimang, hasta el momento no se ha investigado acerca de su potencial como radioprotector.

Teniendo en cuenta lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo, evaluar el efecto radioprotector del extracto acuoso de *M. indica* L (Vimang), frente a la radiación gamma, mediante el ensayo bacteriano SOS-Chromotest.

Materiales y Métodos

Cepa bacteriana.

Se empleó la cepa de *E.coli* PQ-37 desarrollada por Huisman y D'ari, (1981) de genotipo: (F^- *thr leu his-4 pyrD thi galE galK o galT lac* Δ U169 *sr300::Tn10 rpoB rpsL uvrA rfa trp::muc⁺ sfiA::mud*(Ap, lac)cts). El medio de cultivo utilizado fue Luria-Bertani (Maniatis y col.,1982) suplementado con 100 μ g/ml de ampicilina (LBA). Los cultivos se dejaron crecer durante toda la noche a 37°C en agitación (100 rpm); posteriormente se diluyeron en medio fresco (1/25) e incubaron a igual temperatura y agitación, hasta alcanzar una densidad óptica de 0.4 a 600nm.

Extracto acuoso de M. indica L (Vimang).

El extracto de *M.indica* L (Vimang) fue suministrado por el Centro de Química Farmacéutica (lote 0112). El producto es un polvo fino homogéneo, de color carmelita con una humedad de 7,65% y un 43,6% de fenoles totales. Funde con descomposición entre 216 y 218°C. La caracterización química de este extracto se realizó por diferentes métodos cromatográficos, espectrofotometría UV-Vis y de masa.¹⁵ El extracto sólido se disolvió en agua destilada estéril para su estudio.

Irradiación de las células.

La irradiación de las células se realizó en una fuente de ⁶⁰Co (modelo PX- γ -30M, Rusia), a una temperatura de $2 \pm 0.5^\circ\text{C}$. La actividad de la fuente disminuyó mensualmente a razón del 1%. El valor de la tasa de dosis estuvo entre 33-42 Gy/min, dependiendo de la fecha en que se desarrollaron los experimentos. La dosis absorbida fue calculada utilizando el dosímetro Fricke.²²

Ensayo SOS Chromotest (variante fluorescente).

Los ensayos para la determinación de actividad β -galactosidasa y fosfatasa alcalina se desarrollaron siguiendo el procedimiento descrito por Quillardet en el 1982,²³ pero con modificaciones para el uso de sustratos fluorescentes.⁹

Los cultivos bacterianos se dejaron crecer hasta una $DO_{600\text{nm}}$ de 0.4, posteriormente fueron diluidas (1/10) en un medio LBA (2X) y distribuidos en viales estériles (a razón de

500 μL por vial). Las concentraciones finales evaluadas del extracto fueron: 50, 250, 500 y 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y los experimentos se realizaron empleando una dosis de 150 Gy, escogida sobre la base de su potencialidad para inducir daño primario.²⁴ En los ensayos con activación metabólica se añadieron 50 μL de la fracción S_9 , y bleomicina (15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) como control positivo; en los desarrollados sin activación metabólica, se utilizaron 50 μL de agua destilada estéril y como control positivo se irradió el cultivo sin el extracto. En ambos casos el control negativo consistió en células sin el extracto y sin tratamientos. Todos los viales fueron incubados durante 30 minutos a 8°C y se irradiaron a 150 Gy incubaron durante 2 horas a 37°C para su recuperación. En la realización del ensayo se siguió un esquema de cotratamiento y posterior a la recuperación celular se realizaron los ensayos enzimáticos para la determinación de la actividad β -galactosidasa y fosfatasa alcalina.

Para la determinación de la actividad β -galactosidasa se distribuyeron 13 μL de las células tratadas en placas para ELISA, que contenía 110 μL de buffer Z por pocillo. Estas placas, se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente y luego, a cada pocillo, se le adicionaron 26 μL de 4-metil umbelliferil β -D galactopiranosido a una concentración de 0.39 mg/ml preparado en buffer T. Las placas se incubaron 40 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente e inmediatamente se pasaron a placa de lectura.

Para la determinación de la actividad fosfatasa alcalina se distribuyeron 13 μL de las células tratadas en placas para ELISA que contenía 110 μL de buffer T. Se incubó 20 minutos a temperatura ambiente y se adicionaron 26 μL de 4-metil umbelliferil fosfato a una concentración de 0.13 mg/ml preparado en buffer Dietanolamina. Las placas se incubaron 40 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente e inmediatamente se pasaron a placa de lectura. En ambos ensayos enzimáticos, la fluorescencia se midió con un lector de placas para ELISA, SUMA PR-531 (CIE), según las indicaciones del fabricante.

Cálculo del factor de inducción SOS (FI).

Como criterio de genotoxicidad se utilizó el Factor de Inducción SOS (FI) y se calculó según la fórmula siguiente:²⁵

$$FI = \frac{\frac{\beta - \text{galactosidasa (i)}}{\text{fosfatasa alcalina (i)}}}{\frac{\beta - \text{galactosidasa (c)}}{\text{fosfatasa alcalina (c)}}}$$

donde (i) y (c), son los valores de fluorescencia para la concentración evaluada y el control negativo del experimento, respectivamente. Se realizaron tres experimentos independientes para la cepa en estudio, con cuatro réplicas por muestra.

Cálculo del por ciento de genotoxicidad remanente (%GR).

El por ciento de genotoxicidad remanente (%GR) se determinó para cada una de las concentraciones evaluadas del extracto como se indica a continuación.

$$\%GR = 100 \times \frac{FI(Ie) - FI(Be)}{FI(I) - FI(B)}$$

donde FI (Ie) es el daño inducido en células irradiadas en presencia del extracto, FI (Be) es el daño inducido por el extracto sin irradiar, FI (I) es el daño inducido por radiaciones gamma (control positivo) y FI (B) es el daño inducido en el control negativo. El %GR fue calculado a partir de tres experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno.

Análisis estadístico.

Se calcularon los valores medios de FI y %GR para cada dosis y sus controles, de manera independiente para cada tratamiento. Posteriormente se verificaron los supuestos distribucionales de aproximación para una distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smírnov) y se aplicó la prueba de Levene para determinar homocedasticidad. Para la comparación de medias en todos los ensayos se utilizó la prueba Tukey. De forma global, los análisis se efectuaron con el software STATISTICA 6.1. En todos los casos se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$.

Resultados y Discusión

Con el objetivo de determinar las concentraciones y condiciones experimentales para el ensayo de antigenotoxicidad en SOS Chromotest, se evaluó primeramente el efecto genotóxico del Vimang en este mismo ensayo. Con este propósito, se consideró el criterio emitido por Kevekordes en el 1999;²⁶ para el caso específico de productos de origen natural. Según dichos autores, un compuesto de esta clase se considera como genotóxico cuando el factor de inducción SOS (FI), a la dosis dada, es igual o superior a dos.

En la figura 1 se grafican los valores FI obtenidos para las diferentes concentraciones de Vimang ensayadas (50, 250, 500 y 1000 µg/mL). Como se puede apreciar, en el caso de los experimentos realizados en ausencia de activación metabólica, todos los FI calculados para las muestras en ensayo, resultaron similares en magnitud al FI del control negativo e inferiores a dos. Por consiguiente, al realizar la comparación estadística entre los valores medios de FI no se detectaron diferencias significativas ni entre las cuatro concentraciones estudiadas ni con relación al control negativo. Esto indica que, en el rango de concentraciones estudiado, el Vimang no posee carácter genotóxico y guarda relación con lo encontrado por Garrido en el 2001;¹⁸ quienes reportaron que el Vimang no induce SSB ni clastogénesis en linfocitos polimorfonucleares. De forma similar, Rodeiro y colaboradores en el 2006,²⁷ no observaron la inducción de micronúcleos en células humanas, al evaluar diferentes concentraciones del extracto (150-1500 µg/mL).

Al analizar los resultados obtenidos para los ensayos realizados en presencia de la fracción S9, se encontró que FI siguió un comportamiento semejante al de los experimentos efectuados sin S9. Esta evidencia sugiere que la presencia de activación metabólica no altera la genotoxicidad del extracto, a diferencia de lo que se ha reportado para otros compuestos ricos en polifenoles.²⁸ Esto podría deberse a que: 1) alguno o varios de los componentes del extracto inhiban las enzimas de Fase I, predominantes en

la fracción microsomal; 2) las transformaciones bioquímicas promovidas por las enzimas de la fracción no modifican el potencial genotóxico del producto.

En general, las determinaciones anteriores de FI guardan relación con lo encontrado por Rodeiro y colaboradores en el año 2006;²⁷ quienes reportaron –con el empleo de una variante del ensayo de Ames- que el extracto objeto de estudio no es mutagénico en un rango de concentraciones entre 200 y 5000 µg/por placa; tanto en presencia como en ausencia de activación metabólica.

Paralelamente los estudios efectuados con la mangiferina, componente mayoritario del extracto, han demostrado que esta no provoca efectos genotóxicos sobre linfocitos de sangre periférica humana (ensayo de inducción de micronúcleos) e inhibe la carcinogénesis de médula en machos de la rata F344.²⁹

De forma general los resultados del ensayo SOS Chromotest complementan los estudios de genotoxicidad realizados al Vimang por otros autores, en los que no se ha reportado efecto mutagénico ni carcinogénico.

Para la evaluación del potencial radioprotector del Vimang con el empleo del ensayo SOS Chromotest, se recurrió a la determinación del por ciento de genotoxicidad remanente (%GR). En este caso, la disminución de este parámetro respecto al 100% (control positivo), constituyó el indicio apropiado para establecer el carácter radioprotector del compuesto investigado.

En la tabla 1 se muestran los valores de %GR calculados para las diferentes concentraciones del producto ensayadas en ausencia de S9. Como se puede apreciar; el producto investigado disminuyó el nivel de daño causado por la radiación gamma en las cuatro concentraciones utilizadas con relación al control positivo.

No obstante, al efectuar el análisis estadístico correspondiente, sólo se detectaron diferencias significativas con relación al control positivo en el caso del %GR calculado en las dosis 250, 500 y 1000 µg/ mL. Estos datos sugieren que en *E. coli* PQ37: 1) el Vimang presenta carácter radioprotector contra la radiación gamma, cuando se emplea a

una concentración igual o superior a 250 µg/mL; 2) los componentes de este extracto vegetal ejercen radioprotección a través de un mecanismo antígenotóxico.

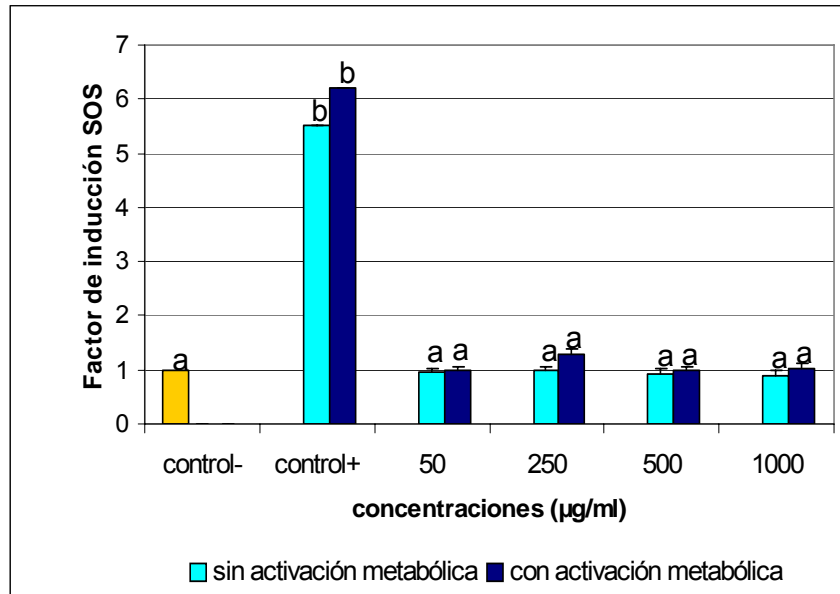
Con anterioridad se ha reportado la radioprotección que ejercen sobre el ADN los extractos vegetales. Ejemplo de ello son los extractos etanólicos de *Piper betel* L y de *Podophyllum hexandrum* R; los cuales se plantea, tienen la capacidad de prevenir las roturas de cadena inducidas por la radiación en el plásmido pBR322.^{7, 10}

La actividad genoprotectora de estos productos naturales se atribuye primariamente a la presencia en estos de compuestos fenólicos y a su habilidad de secuestrar radicales hidroxilo y superóxido.¹⁴ Coincidentemente, este efecto ha sido reportado también para el Vimang, el cual protege contra la generación de ERO inducida por bleomicina.¹⁷

Conclusiones

Se pudo concluir que el extracto acuoso de *M. indica* L (Vimang), mostró un efecto radioprotector en las dosis de 250, 500 y 1000 µg/mL, en el ensayo SOS Chromotest.

Figura 1. Inducción de la respuesta SOS en *E. coli* PQ37 frente al Vimang (ensayo SOS Chromotest). Para los estudios realizados en ausencia de activación metabólica, se utilizó radiación gamma (150 Gy) como control positivo. En el caso de los experimentos efectuados en presencia de la fracción S9, el control utilizado fue Bleomicina (15 mg/mL). Cada valor representa la $X \pm SD$ de cuatro experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno.



Letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 1. Genotoxicidad remanente (%GR) en *E. coli* PQ37 frente el Vimang (ensayo SOS-Chromotest). Como control positivo se utilizó radiación gamma (150 Gy). Cada valor representa la $X \pm SD$ de tres experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno.

		GENOTOXICIDAD REMANENTE (%GR)
Control positivo		100 (a)
Vimang (µg/mL)	50	82,3 ± 5,1 (a)
	250	55,5 ± 3,0 (b)
	500	60,9 ± 5,0 (b)
	1000	59,1 ± 3,0 (b)

Letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Referencias Bibliográficas

1. Littlefield L G, Joiner E, Coiler S, Sallam F, Frome E. Concentration dependent protection against X-ray-induced chromosome aberrations in human lymphocytes by aminothiols WR-1065. *Rad. Res* 1999; 133: 88-93.
2. Weiss J.F, Landauer M.R. Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals. *Toxicology* 2003; 189: 1-20.
3. Glover D, Riley L, Carmichael K, Spar B, Glik J, Kligerman M.M, Agus Z.S. Hypocalcemia and inhibition of parathyroid hormone secretion after administration of WR2721. *New England Journal of Medicine* 1983; 309(19): 1137-1141.
4. Imoto M, Regis M.R, Comodo H. Radioprotección intestinal por el WR2721: Análisis Morfométrico. *Rev.Chil. Anat* 1997; 15(2): 133-139.
5. Stolarska M, Mlynarski W, Zalewska-Szewczyk B, Bodalski J. Cytoprotective effect of amifostine in the treatment of childhood neoplastic diseases – a clinical study including the pharmacoeconomic analysis. *Phar. Rep* 2006; 58: 1734-1140.
6. Ravanat J.L, Sauvaigo S, Caillat S, Martinez G.R, Medeiros M.H, Di Mascio P, Favier A, Cadet J. Singlet oxygen-mediated damage to cellular DNA determined by the comet assay associated with DNA repair enzymes. *Biol. Chem* 2004; 385: 17-20.
7. Bhattacharya S, Subramanian M, Roychowdhury S, Bauri A.K, Kamat J.P. Radioprotective property of the ethanolic extract of *Piper betel* Leaf. *Jour. Rad. Res* 2005; 4:165-171.
8. Vernhes M. Efecto radioprotector de una mezcla de polifenoles con alto contenido de taninos de *Pinus caribaea*, Morelet. Tesis de Diploma. Fac. de Biol. UH 2003; p.34-35.
9. Cuétara E. Una variante fluorescente del SOS Chromotest para el estudio de radioprotectores naturales. Tesis en opción al título de Maestro en Bioquímica. Fac. de Biol. UH 2003; p.45-54.
10. Arora R, Chawla R, Sagar R, Prasad J, Singh, S. Evaluation of radioprotective activities of *Rhodiola imbricata* Edgew – A high altitude plant. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2005; 273: 209-223.
11. Krishna, A., and Kumar, A. Evaluation of radioprotective effects of Rajgira (*Amaranthus paniculatus*) extract in Swiss albino mice. *J. Radiat. Res* 2005; 46:233-239
12. Jagetia G.C, Baliga M.S, Malagi K.J, Kamath S.M. The evaluation of radioprotective effect of triphala (an Ayurvedic rejuvenating drug) in the mice exposed to gamma-radiation. *Phytomedicine* 2002; 9: 99-108.
13. Singh N.P. A simple method for accurate estimation of apoptosis. *Exp. Cell Res* 2000; 256:328–337.

14. Chawla R, Arora R, Kumar R, Sharma A, Prasad J, Singh S. Antioxidant activity of fractionated extracts of rhizomes of high-altitude *Podophyllum hexandrum*: Role in radiation protection. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2005; 273: 193-208.
15. Núñez A, Vélez H, Agüero J, González J, Naddeo F. Isolation and quantitative analysis of phenolic constituents, free sugars, fatty acids and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as nutritional supplement. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 762-766.
16. Sánchez G.M, Giuliani R.L, Núñez A, Davison G.P, León-Fernández O.S. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. *Pharmacol Res* 2000; 42:565-573.
17. Garrido G, González D, Lemus Y, García D, Lodeiro L. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG). *Pharmacological Research* 2004; 50:143-149.
18. Garrido G, González D, Delporte C, Backhouse N, Quintero G. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extracts (Vimang). *Phytother Res* 2001; 15:18-21.
19. García D, Delgado R, Ubeira F.M, Leiro J. Modulator effects of rat macrophage function by *Mangifera indica* L extract (Vimang) and mangiferin. *International Immunopharmacology* 2002; 2 (6):797-806.
20. Goel H.C, Kumar P, Samanta N, Rana S.V. Induction of DNA-protein cross-links by *Hippophae rhamnoides*: Implications in radioprotection and cytotoxicity. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2003; 245: 57-67.
21. Gupta D, Arora R, Garg A.P, Goel H.C. Radiation protection of mitochondrial system by *Podophyllum hexandrum* Royale *in-vivo*. *Mol Cell Biochem* 2004; 266: 65-77.
22. Prieto E, Cañet F. Aspectos a considerar en el dosímetro Fricke. *Tec. Quím* 1990; 2:19-20.
23. Quillardet P, Huisman O, D'Ari R, Hofnung M. SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1982; 79: 5971-5975.
24. Voloshin O.N, Ramirez B.E, Bax A, Camerini-Otero R.D. A model for the abrogation of the SOS response by an SOS protein: a negatively charged helix in DinI mimics DNA in its interaction with RecA. *Gen. & Dev* 2001; 15: 415-427.
25. Ysern P, Clerch B, Castaño M, Gibert I, Barbé J, Llagostera M. Induction of SOS genes in *Escherichia coli* and mutagenesis in *Salmonella typhimurium* by fluoroquinolones. *Mutagenesis* 1990; 5(1):63-66.

26. Kevekordes S, Volker M, Burghaus Ch.M, Spielberger J, Heinz H. SOS induction of selected naturally occurring substances in *Escherichia coli*_SOS chromotest . Mutation Research 1999; 445:81-91.
27. Rodeiro I, Cancino L, González J.E, Morffi J, Garrido G. Evaluation of the genotoxic potential of *Mangifera indica* L extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. Food and Chemical Tox 2006; 44: 1707-1713.
28. Williams R. J, Spencer P.E, Rice-Evans C. Serial Review: Flavonoids and Isoflavones: Absorption, Metabolism, and Bioactivity. Free Radical Biol. Med 2004; 36 (7): 838-849.
29. Mori H, *Yoshimi* N, Iwata H. Carcinogenicity of naturally liver and **bone marrow** of lacI transgenic mice. *Carcinogenesis* 1994; 15:2805-2809.

Recibido 19/08/09

Aceptado: 05/09/09