

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos

ENSAYOS PARA DETECTAR DAÑO GENÉTICO EN *ASPERGILLUS NIDULANS*

Lic. Alberto Ramos Ruiz

Los ensayos de mutagenicidad que emplean al hongo ascomiceto *Aspergillus nidulans* permiten evaluar varios tipos de daño genético: mutaciones puntuales, aneuploidía y clastogénesis.^{1,2} La prueba para mutaciones génicas cuantifica la frecuencia de supresores del locus *methG1* en mutantes auxotróficos para metionina.² Hoy día ha sido superado por pruebas más sensibles y eficientes (*test* de Ames). Para evidenciar efectos cromosómicos (mala segregación, haploidización, ciertas aberraciones estructurales, crossing-over mitótico) se emplea aún el ensayo de segregación mitótica en diploides heterocigóticos para mutaciones recesivas del color de los conidios.^{1,3,4} Éste emplea cepas con marcadores para diferenciar entre crossover y no disyunción, determinar la ploidía y seguir los patrones de segregación.⁴ Su realización es laboriosa, pero está compensada por el apreciable volumen de información que puede derivarse.⁵ Se considera una prueba complementaria dentro de las baterías de genotoxicidad con mayores perspectivas en la elucidación de efectos específicos como la inducción de aneuploidía y su aplicación a estudios mecanísticos y correlaciones de estructura-actividad en ciertas familias químicas.⁶

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Käfer E, Scott BR, Dorn GL, Stafford R. *Aspergillus nidulans*: systems and results of tests for chemical induction of mitotic segregation and mutation I. Diploid and duplication assay systems. *Mutat Res* 1982;98:1-48.
2. Scott BR, Dorn GL, Käfer E, Stafford R. *Aspergillus nidulans*: systems and results of tests for chemical induction of mitotic segregation and mutation II. Haploid assay systems and overall response of all systems. *Mutat Res* 1982;98:49-94.
3. Scott BR, Käfer E. *Aspergillus nidulans*: an organism for detecting a range of genetic damage. En: Serres FJ de, Hollaender A, eds. *Chemical mutagens. Principles and methods for their detection*. New York: Plenum, 1982;vol 7:447-78.
4. Käfer E, Scott BE, Kappas A. Systems and results of tests for chemical induction of mitotic malsegregation and aneuploidy in *Aspergillus nidulans*. *Mutat Res* 1986;167:9-34.
5. Crebelli R, Carere A. Chemical and physical agents assayed in tests for mitotic intergenic and intragenic recombination in *Aspergillus nidulans* diploid strains. *Mutagenesis* 1987;6:469-75.
6. Pary JM. An evaluation of the use of in vitro tubulin polymerisation, fungal and wheat assays to detect the activity of potential chemical aneugens. *Mutat Res* 1993;287:23-8.

Recibido: 26 de diciembre de 1997. Aprobado: 28 de septiembre de 1998.
Lic. Alberto Ramos Ruiz. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Avenida 26 No. 1605, Nuevo Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba. CP 10600.

Facultad de Biología, Universidad de La Habana

EVALUACIÓN *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LAS PROPIEDADES GENOTÓXICAS DE LA ESPECIE ENDÉMICA *PHYLLANTHUS ORBICULARIS* HBK

Lic. Ángel Sánchez-Lamar, Lic. Nancy Cápiro Trujillo y Lic. Gladys Fonseca López

Descriptores DeCS: EXTRACTOS VEGETALES/toxicidad; TESTS DE MUTAGENICIDAD; PLANTAS MEDICINALES.

El uso de las plantas medicinales como fuente primaria de medicamentos es una práctica milenaria que mantiene su vigencia. Cada vez se adicionan nuevas especies al arsenal de plantas con propiedades terapéuticas demostradas por la ciencia; sin embargo para que sea admitido su empleo como fármaco, es necesaria la evaluación genotóxica de éstas.¹ *Phyllanthus orbicularis*, es una especie vegetal con probado efecto antiviral² que se encuentra en fase de estudios preclínicos.

El presente trabajo expone los resultados de la evaluación genotóxica de *Phyllanthus orbicularis*, realizada con la aplicación de una batería de ensayos que permite detectar el posible daño al DNA, en diferentes niveles de su expresión.

No obstante las ventajas que ofrecen los preparados vegetales para el hombre por sus propiedades terapéuticas, se conoce de la existencia de algunos de ellos que han demostrado tener efectos tóxicos y genotóxicos (Calvo D, Trujillo N, Fonseca G. Información bibliográfica sobre genotoxicidad,

carcinogenicidad, embriotoxicidad y/o teratogenicidad de 133 plantas medicinales. [Tesis de Diploma]. Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 1994).

El daño genético causado en un organismo por un compuesto químico, sea éste natural o sintético, puede operar a diferentes niveles de organización del DNA,^{3,4} lo cual determina que, en los laboratorios dedicados a estos tipos de estudios, la primera acción que se debe acometer para iniciar un programa de *screening*, es la selección de una batería de ensayos de acuerdo con un conjunto de criterios generalizados internacionalmente.⁵

La puesta en marcha de una batería de ensayo que sea lo más completa posible para realizar evaluaciones genotóxicas en extractos de plantas, ha sido interés de nuestro equipo de investigación. En el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos con la aplicación de 6 ensayos de los que conforman esta batería, para la evaluación del extracto acuoso de una planta medicinal

endémica con actividad antiviral: *Phyllanthus orbicularis* HBK.

Para la evaluación genotóxica del referido extracto vegetal se seleccionaron 6 ensayos que miden el daño genético a los niveles de mutación génica, aberraciones cromosómicas y estructura primaria del DNA, lo cual permite una amplia caracterización del posible efecto genotóxico (tabla).

En todos los ensayos aplicados, los protocolos experimentales incluyeron diferentes dosis del extracto, así como diferentes tiempos de tratamiento según las recomendaciones internacionales establecidas para cada bioensayo particular.

Los resultados obtenidos fueron negativos, lo cual sugiere que, dadas las condiciones de experimentación aplicadas, no existen evidencias de que el extracto evaluado cause genotoxicidad. De esta forma *Phyllanthus orbicularis* se incorpora al reducido grupo de plantas medicinales cubanas (actualmente, 12 en total), a las que se

les ha realizado, con un mayor grado de completamiento, ensayos genotóxicos.

Un resultado como el obtenido para el *Phyllanthus*, es novedoso por cuanto se trata de la primera especie endémica de plantas medicinales que posee una evaluación genotóxica completa, realizada con la aplicación de ensayos que se ejecutan todos en un mismo laboratorio del país.

La evaluación genotóxica del extracto de la planta *Phyllanthus orbicularis* se realizó de forma completa, *in vitro* e *in vivo*, en una batería de ensayos que mide el daño genético a los niveles génico, cromosómico y de daño primario al DNA.

El extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* no resultó genotóxico en ninguno de los ensayos, para las condiciones experimentales probadas.

AGRADECIMIENTOS

A la técnica Dámarys Fernández Fuentes (reserva científica) por su participación en la revisión mecanográfica del presente trabajo y la confección de la tabla.

TABLA. Ensayos empleados para evaluar la posible acción genotóxica de *Phyllanthus orbicularis* HBK

Niveles	Mutación puntual		Aberraciones cromosómicas		Daño primario al DNA	
	<i>S.</i> <i>cerevisiae</i>	<i>D.</i> <i>melanogaster</i>	Células CHO	<i>M.</i> <i>musculus</i>	<i>S.</i> <i>cerevisiae</i>	<i>D.</i> <i>melanogaster</i>
Ensayos	Reversión génica ⁵	SMART ⁷	AC ⁶	MN ⁶	Conversión génica ⁵	SMART ⁷

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pelt JM. Las plantas medicinales florecen de nuevo. Correo UNESCO 1979;32:9.
2. Barrio G del, Caballero O, Chevalier P. Inactivación *in vitro* del AgsHB por extractos de plantas del género *Phyllanthus*. Rev Cubana Med Tropical 1995;47(2):127-30.
3. Sora S. Mutagenesi ambientale. En: Magni GE, ed. Metodiche di analisi. Test *in vitro*. Roma: CNR, 1979;vol 1:156-73.
4. Hoffmann GR. Toxicology. En: The basic science of poisons. 5 ed. New York: Mc Graw-Hill, 1996;86-102.
5. Brusick D. ed. Principles of genetic toxicology. 2 ed. New York: Plenum, 1987;t 1: 160-82.

6. Ishidate M Jr, ed. Data book of chromosome aberration test *in vitro*. Amsterdam: Elsevier, 1988:94-8.
7. Hoffman GR. Genetic Toxicology. En: The basic science of poisons. 5 ed. New York: Mc Graw-Hill, 1996:113-21.

Recibido: 26 de diciembre de 1997. Aprobado: 31 de agosto de 1998.

Lic. *Ángel Sánchez- Lamar*. Facultad de Biología, Universidad de La Habana. Calle 25 No. 455, entre J e I, El Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.