

Citotoxicidad de extracto acuoso de corteza de *Manguifera indica* L. (Vimang®) en *Escherichia coli* y linfocitos humanos

Cytotoxicity of the aqueous extract from the *Manguifera indica* L. (Vimang®) in *Escherichia coli* and human lymphocytes

Eliseo Almeida Varela,^I Luis Alfredo Rosario Fernández,^{II} Idania Rodeiro Guerra,^{III} Elizabeth Cuétara Lugo,^{IV} Alena Alonso Martín^V

^IMáster en Microbiología. Aspirante a Investigador. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II}Licenciado en Microbiología. Reserva científica. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{III}Doctora en Farmacia. Investigador Titular. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{IV}Máster en Bioquímica. Investigador agregado. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear. Ciudad de La Habana, Cuba.

^VMáster en Bioquímica. Aspirante a Investigador. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Vimang® es un producto de origen natural que se obtiene del árbol del mango (*Manguifera indica* L. familia Anacardiaceae). Este compuesto ha sido clasificado como antioxidante, inmunomodulador, etc. Por ello, resulta importante conocer su potencial citotóxico.

OBJETIVOS: evaluar la citotoxicidad de un extracto acuoso del Vimang®.

MÉTODOS: se emplearon los modelos procariótico (*Escherichia coli*, cepa PQ37) y eucariótico (eritrocitos humanos), se realizaron curvas de supervivencia celular con la cepa PQ37 (con activación metabólica y sin esta); así como se cuantificaron los niveles de la actividad fosfatasa alcalina (mediante la realización del SOS Chromotest). Posteriormente, se desarrolló el ensayo de inhibición de la actividad mitocondrial en eritrocitos. Las concentraciones de Vimang® estudiadas fueron: 50, 250, 500 y 1 000 mg de extracto liofilizado/mL.

RESULTADOS: el ensayo procariótico indicó que, en ausencia de fracción S9, el Vimang® disminuye significativamente la viabilidad celular cuando se aplica a concentración igual o superior que 500 mg/mL. Sin embargo, la presencia de

activación metabólica podría ocasionar una biotransformación de los componentes del Vimang[®] que conduce a la no citotoxicidad del producto en el rango de concentraciones analizado. El análisis de los niveles de fosfatasa alcalina cuantificados en presencia del Vimang[®]; sugirió que la citotoxicidad detectada en *E. coli* PQ37 no parece estar relacionada con la inhibición de la síntesis proteica. En el caso del ensayo eucariótico empleado y las concentraciones ensayadas, la supervivencia celular de los eritrocitos (en presencia de Vimang[®]) no disminuyó de forma significativa en relación con los controles correspondientes.

CONCLUSIONES: el Vimang[®] es citotóxico para la cepa PQ37 de *Escherichia coli* cuando se aplica a una concentración igual o superior que 500 mg/mL. Este efecto no se observa en estas células cuando se emplea activación metabólica ni en eritrocitos humanos para las condiciones reportadas en este trabajo.

Palabras clave: Vimang[®], citotoxicidad, SOS Chromotest, PQ37, MTT, eritrocitos humanos.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Vimang[®] is a product of natural origin obtained from the mango tree (*Manguifera indica* L. Anacardiaceae family). This compound has been classified as antioxidant, immunomodulation agent, etc. Thus, it is important to know its cytotoxic potential.

OBJECTIVES: to assess the cytotoxicity of a aqueous extract of Vimang[®].

METHODS: the prokaryotic (PQ37 strain-*Escherichia coli* and eukaryotic (human erythrocytes) models and cellular survival curves with PQ37 strain (with and without metabolic activation) were made and the levels of alkaline phosphatase were quantified (by Chromotest SOS test). Later, a trial of mitochondria activity was developed in erythrocytes. The concentrations of study Vimang[®] were: 50, 250, 500 and 1 000 µg of lyophilized/mL extract.

RESULTS: the prokaryotic trial indicated that, in absence of S9, Vimang[®] decrease significantly the cell viability when it is applied at a concentration similar o higher than 500 µg/mL. However, the presence of a metabolic activation could to cause a biotransformation of the Vimang's[®] components leading to the no-cytotoxicity of product within the study concentration rank. Analysis of alkaline phosphatase levels quantified in presence of Vimang[®] suggested that the cytotoxicity detected in PQ37 *Escherichia coli* apparently isn't related to protein synthesis inhibition. In the case of the eukaryotic trial used and the assayed concentrations, the cell survival of erythrocytes (in presence of Vimang[®]) not decreased significantly in relation to the corresponding controls.

CONCLUSIONS: Vimang[®] is cytotoxic for the PQ37 strain of *E.coli* when it is applied at a concentration similar or higher than 500 µg/mL. This effect is not observed in these cells neither when a metabolic activation is applied nor in the human erythrocytes for the conditions reported in present paper.

Key words: Vimang[®], cytotoxicity, SOS Chromotest, PQ37, MTT, human erythrocytes.

INTRODUCCIÓN

En Cuba se ha desarrollado un producto natural, conocido como Vimang[®], que se obtiene a partir de la corteza del árbol del mango (familia Anacardiaceae, especie *Mangifera indica* L.), el cual ha sido utilizado por la población cubana en el tratamiento de diferentes enfermedades.¹

Los estudios químicos, farmacológicos y toxicológicos realizados hasta el momento, corroboran la eficacia del Vimang[®] como antiinflamatorio, analgésico, inmunomodulador y antioxidante; esta última es la más avalada de sus propiedades.²

El ensayo bacteriano SOS Chromotest desarrollado en 1882 por *Quillardet* y otros ha sido utilizado en la evaluación de la citotoxicidad, genotoxicidad y actividad radioprotectora de extractos de origen vegetal.^{3,4} Este ensayo se basa en la determinación de la actividad β -galactosidasa (inducida por el daño en el ADN) y la fosfatasa alcalina, para la cual la cepa de ensayo (PQ37, *Escherichia coli*) es constitutiva. La inhibición de esta última actividad ha sido utilizada, además, como criterio para establecer la citotoxicidad de un compuesto.⁵

El bromuro 3-(4,5-dimetil-2-yl)-2,5-difeniltetrazolio [MTT], es un compuesto metabolizado normalmente por las deshidrogenasas mitocondriales de las células eucariotas. La oxidación del NADH a NAD⁺ posibilita que estas enzimas reduzcan el MTT dando lugar a un compuesto denominado formazán (sal de tetrazolio), el cual se puede cuantificar por colorimetría.⁶ La reducción catalítica del MTT en eritrocitos humanos, permite determinar la toxicidad de un producto que induzca la pérdida de la integridad de las membranas mitocondriales, sitio donde se genera el formazán. Este sistema, además de ser de fácil ejecución y bajo costo, ha sido utilizado en el estudio productos de origen natural.⁷ Por ello, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la citotoxicidad del Vimang[®].

MÉTODOS

Extracto acuoso de M. indica (Vimang[®])

La corteza del tallo del árbol de *Mangifera indica* L se colectó en la Unidad Agropecuaria Militar del municipio Corralillo, Villa Clara, en 2001. Un ejemplar de la planta se conserva en el Herbario de la Academia de Ciencias de Cuba, custodiado por el Instituto de Ecología y Sistemática del Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente, con el número 41722.

El extracto de la corteza de la planta se realizó mediante decocción con un disolvente polar por no menos de 2 h y posterior concentración por evaporación. El secado se produjo por atomización, para obtener un sólido de color pardo oscuro que funde con descomposición entre 216 y 218 °C; metodología desarrollada en el Laboratorio Farmacéutico «Mario Muñoz», de Ciudad de La Habana.

El extracto acuoso de *M. indica* (Vimang[®]) fue suministrado por el Centro de Química Farmacéutica (CQF) (lote 0112), con humedad de 5,71 %, solubilidad parcial en agua y 36,31 % de fenoles totales. Características organolépticas: polvo fino homogéneo, de color carmelita, de olor característico (CQF, Informe de Resultados de Servicio Analítico, 2003). La caracterización se realizó por diferentes métodos cromatográficos, espectrofotometría UV-Vis y de masa.¹ Como diluyente del sólido se empleó agua destilada. Las concentraciones de Vimang[®] ensayadas fueron: 50, 250, 500, 1 000 μ g/mL.

Irradiación

Las células se irradiaron en una fuente de ^{60}Co (modelo PX-g-30M, Rusia), a una temperatura de $2 \pm 0,5$ °C. La dosis absorbida fue calculada utilizando el dosímetro *Fricke*.⁸

Ensayos bacterianos

Se empleó la cepa de *E. coli* PQ-37⁹ de genotipo: [*F*⁻ *thr leu his-4 pyrD thi galE galK o galT lac* DU169 *sr/300::Tn10 rpoB rpsL uvrA rfa trp::muc⁺ sfiA::mud*(Ap, lac)cts].⁹ El medio de cultivo utilizado fue *Luria-Bertani*¹⁰ suplementado con 100 µg/mL de ampicilina (LBA) y 16 g/L de agar (LBA-agar, para siembra en placa de Petri).

Cada cultivo se dejó crecer toda la noche a 37 °C en LBA con agitación (100 rpm); posteriormente, se diluyó en medio fresco (1/25) e incubó a igual temperatura y agitación, hasta alcanzar una absorbancia (A_{600}) de 0,4 a 600 nm (lectura en espectrofotómetro Spekol 11).

La evaluación del Vimang[®] se efectuó con activación metabólica (fracción S9 de hígado de ratas Sprague-Dawley) y sin esta. Como control positivo de los experimentos desarrollados en presencia de fracción S9, se empleó bleomicina (15 mg/mL). En ausencia de fracción S9, se recurrió a la radiación gamma (150 Gy). Para cada concentración evaluada del producto; se realizó un esquema de co-postratamiento en relación con el control positivo.

a) Supervivencia celular

El cultivo que alcanzó $A_{600} = 0,4$ (equivalente a 10^8 células/mL) fue centrifugado (4 000 rpm) y resuspendido en igual volumen de *buffer* fosfato (0,2 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}/\text{NaH}_2\text{PO}_4$). La suspensión resultante se distribuyó en viales estériles de 1 mL de capacidad; para de esta forma efectuar los diferentes tratamientos (control negativo, positivo y células-Vimang[®]). Posteriormente, 100 µL de cada una de estas muestras se diluyó en viales que contenían 900 µL de suero fisiológico estéril (0,85 % NaCl); en un rango que varió en dependencia de la muestra. Por último, se sembraron tres réplicas (0,1 mL) de cada dilución en medio LBA-agar y se incubó a 37 °C durante 48 h. Finalmente, se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) por placa.

Como criterio de citotoxicidad se estableció la disminución del porcentaje de supervivencia celular (S_{PQ}) en cada tratamiento, en relación con 100 % (número medio inicial de UFC/mL en las muestras no tratadas).

b) Determinación de la actividad fosfatasa alcalina

Se determinó la actividad fosfatasa alcalina según el procedimiento descrito por *Quillardet* y otros,³ para el ensayo SOS Chromotest. Se efectuaron modificaciones para el uso de sustratos fluorescentes.⁴

Se distribuyeron 13 µL de cada muestra en placas ELISA que contenían 110 µL de *buffer* T. Se incubó 20 min a temperatura ambiente y se adicionaron 26 µL de sustrato fluorescente por pocillo (4-metil umbeliferil fosfato, 0,13 mg/mL-*buffer* dietanolamina). Se incubó nuevamente (40 min en la oscuridad y a temperatura ambiente) y se trasvasó a una placa de lectura. Se midió la fluorescencia con un lector SUMA PR-531 (CIE), según las indicaciones del fabricante.

Se realizaron 3 experimentos independientes, con 4 réplicas por muestra.

Para establecer la citotoxicidad del Vimang[®], se analizó si la presencia de este producto disminuyó la actividad fosfatasa alcalina en PQ37, cepa para cual esta actividad es constitutiva.⁵

Ensayo de reducción del MTT en eritrocitos humanos

La suspensión de eritrocitos se preparó según el método de *Dacie y Lewis*.¹¹ La sangre se obtuvo de un voluntario sano (23 años) y se utilizó EDTA como anticoagulante. Las células se resuspendieron en PBS 1X y se lavaron 3 veces con esta solución. La suspensión resultante se preincubó con azida sódica (2 mM) por 1 h a 37 °C con agitación, para inhibir la actividad catalasa.

Las células se resuspendieron (1/6) en PBS 1X. Para cada muestra y en viales estériles, se añadieron el extracto en estudio y la solución *stock* de MTT (5 mg/mL_{PBS}). El volumen final fue de 1 mL. Para cada concentración ensayada del producto, los tratamientos realizados fueron: Vimang-eritrocitos, Vimang-eritrocitos-radiación (250 Gy).⁶ Finalmente, se incubó a 37 °C por 3 h. Se centrifugó a 2 000 rpm durante 10 min y temperatura ambiente. Se desechó el sobrenadante y resuspendió el *pellet* en 250 µL de DMSO.

Se distribuyeron 50 µL de cada muestra en una placa de 96 pocillos. Se determinó la absorbancia a 570 nm en un lector de placas para ELISA, SUMA PR-531 (CIE). La absorbancia del formazán formado en las células no tratadas se tomó como 100 %, mientras que la de las células tratadas se consideró como % de supervivencia (%S_E) con respecto a las células no tratadas (empleadas como control).⁶

RESULTADOS

En la [figura 1](#) se representan los valores de S_{PQ} obtenidos para las diferentes concentraciones de Vimang[®] ensayadas. A las dosis más bajas (50 y 250 µg/mL) y en ausencia de activación metabólica, el Vimang[®] no parece afectar la supervivencia de las células en relación con la muestra no tratada (control negativo). Sin embargo, a concentraciones más elevadas (500 y 1 000 µg/mL), se observa una disminución más pronunciada de S_{PQ} con relación al control negativo; aunque esta no llega a ser tan marcada como en el control positivo.

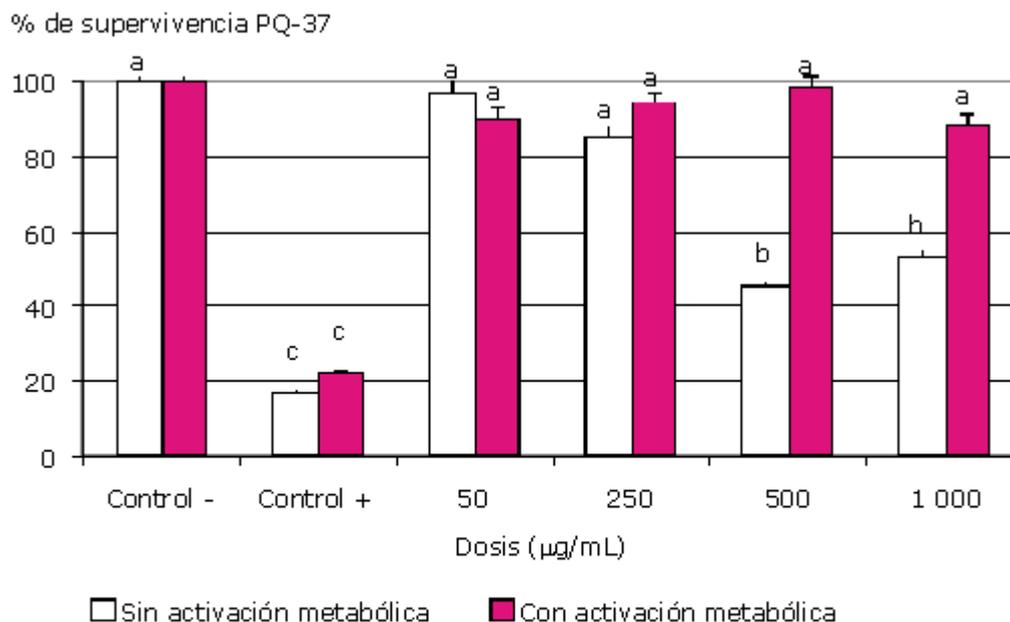


Fig. 1. Supervivencia de *Escherichia coli* PQ-37 (S_{PQ}) frente al Vimang[®]. En ausencia de activación metabólica, se empleó radiación gamma (150 Gy) como control y en presencia de fracción S9, bleomicina (15 mg/mL).

Al realizar el análisis estadístico, no se detectaron diferencias significativas entre los niveles de supervivencia alcanzados en las cuatro concentraciones ensayadas del producto, en ausencia de S9. Sin embargo, a 500 y 1 000 µg/mL, los valores S_{PQ} resultaron significativamente inferiores al control negativo. Este hecho sugiere que, en ausencia de fracción S9, el Vimang[®] afecta la viabilidad celular cuando se aplica a una concentración igual o superior que 500 µg/mL.

En cambio, en presencia de activación metabólica, la supervivencia bacteriana no parece ser afectada en ninguna de las concentraciones de Vimang[®] estudiadas. Por ello, al realizar el análisis estadístico solo se detectaron diferencias significativas entre el control positivo y el negativo.

En la [figura 2](#) se muestran los valores de actividad fosfatasa alcalina calculados para la cepa PQ37 de *E. coli* en el ensayo SOS Chromotest. En el rango analizado (50-1 000 µg/mL de Vimang[®]) no se observó variación en los niveles de expresión de esta enzima; tanto en presencia como en ausencia de fracción S9.

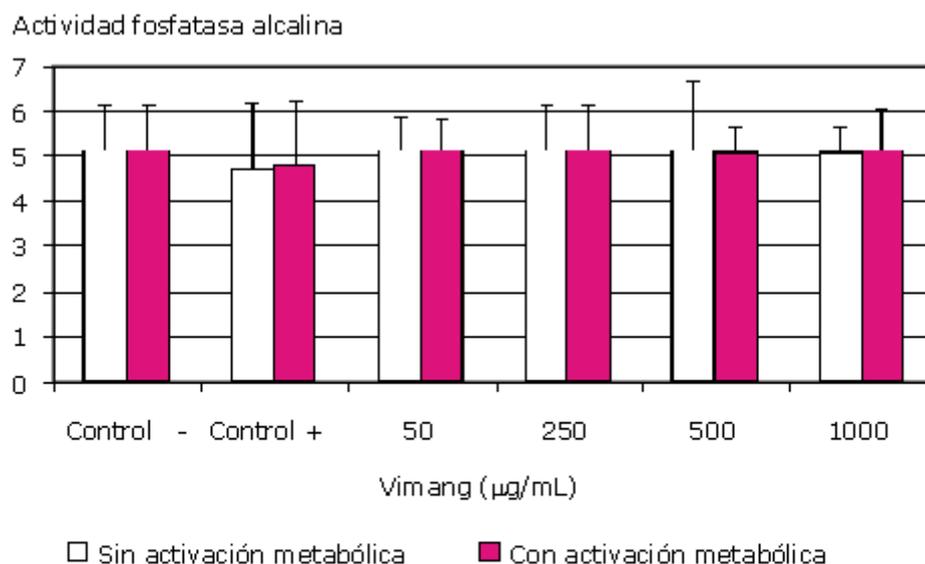


Fig. 2. Actividad fosfatasa alcalina de *Escherichia coli* PQ 37 frente al Vimang® (ensayo SOS Chromotest). En ausencia de activación metabólica, se empleó radiación gamma (150 Gy) como control y en presencia de fracción S9, bleomicina (15 mg/mL).

Al realizar el análisis estadístico de estos datos solo se detectaron diferencias significativas entre los controles negativo y positivo de los experimentos respectivos (es decir, con S9 y sin este). Ese hecho sugiere que, la citotoxicidad que el producto analizado provoca en *E. coli* PQ37, no debe estar relacionada con la inhibición de la síntesis proteica.

En la [tabla](#) se relacionan los valores de supervivencia (%S_E) calculados con la realización del ensayo de reducción catalítica del MTT en eritrocitos humanos. Como se aprecia, %S_E tiende a disminuir en la medida en que la concentración de Vimang® aumenta. Sin embargo, el análisis estadístico de los datos no detectó diferencias significativas entre los valores %S_E en las concentraciones ensayadas respecto al control negativo; por lo que el producto evaluado no resultó citotóxico para los eritrocitos en este rango.

Tabla. Supervivencia de eritrocitos humanos expuestos a Vimang®

Tratamiento	Dosis	% de supervivencia
Control negativo (agua destilada)	-	100 (a)
Control positivo (radiación gamma Gy)	250	45 ± 3,2 (b)
Vimang (µg/mL)	50	98 ± 1,0 (a)
	250	84 ± 3,0 (a)
	500	77 ± 2,8 (a)
	1000	63 ± 4,1 (a)

Como control positivo se empleó radiación gamma (250 Gy). Letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Tukey (p< 0,05).

DISCUSIÓN

Se ha demostrado que algunos tipos de polifenoles (flavonoides y taninos) pueden interferir el crecimiento microbiano.¹² Por ello, la toxicidad detectada para el Vimang[®] en el modelo empleado, a partir de 500 µg/mL y ausencia de activación metabólica, pudiese estar relacionada con la presencia entre sus componentes de biomoléculas similares. Tal pudiese ser el caso de catequinas y epicatequinas constituyentes de este producto que se conoce, inhiben eficazmente el crecimiento microbiano.^{13,14}

Sin embargo, el Vimang[®] no afecta la viabilidad de las células de *E. coli* en, ninguna de las concentraciones ensayadas, cuando se aplica en presencia de activación metabólica. Esto indica que los constituyentes del Vimang[®] causantes de su citotoxicidad a partir de 500 µg/mL pudiesen sufrir una biotransformación (en presencia de activación metabólica) que disminuya el efecto citotóxico de este producto sobre *E. coli*.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Kevekordes y otros,¹⁵ quienes demostraron que los polifenoles como la cumarina, emodina, quercetina y algunos taninos conjugados, provocan toxicidad en *E. coli* PQ-37 (en ausencia de activación metabólica), y que esta se hace menos evidente en presencia de fracción S9.

Por otra parte, se conoce que los flavonoides son extensamente metabolizados *in vivo*, lo cual ocasiona una modificación significativa de su potencial redox¹⁶ y que la presencia de activación metabólica en un sistema biológico puede alterar notablemente la actividad biológica propia de este tipo de compuestos.^{17,18} Por tanto, la ausencia de citotoxicidad del Vimang[®] en presencia de fracción S9, pudiera deberse a la biotransformación de los flavonoides que lo conforman.

En relación con el ensayo de reducción del MTT efectuado con Vimang[®] en eritrocitos humanos, estudios previos han demostrado que la acumulación en la mitocondria de la mangiferina (componente mayoritario de este producto) tampoco afecta la funcionalidad de este organelo.¹⁹

Sin embargo, estos hallazgos contradicen el resultado de la evaluación del extracto con el ensayo de micronúcleos en linfocitos humanos (150-1 500 µg/mL); donde la viabilidad celular disminuye en la medida en que la concentración del extracto aumenta (luego de 20 h de incubación) y el ensayo murino en eritrocitos policromáticos, donde resulta igualmente citotóxico cuando se administra vía intraperitoneal (150 mg/kg).²⁰

Las divergencias entre estos reportes y lo discutido en el presente trabajo podrían atribuirse a la diferencia en el rango de concentraciones de Vimang[®] empleadas en cada caso, los modelos utilizados y al criterio seguido en cada ensayo para establecer la toxicidad del compuesto.

Se concluye que el Vimang[®] es citotóxico para la cepa PQ37 de *Escherichia coli* cuando se aplica a una concentración igual o superior que 500 mg/µL. Este efecto no se observa en estas células en presencia de activación metabólica ni en eritrocitos humanos para las condiciones reportadas en este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Núñez-Sellés A, Vélez-Castro H, Agüero-Agüero J, Gonzáles-Gonzáles J, Naddeo F, De Simone F, et al. Isolation and quantitative analysis of phenolics 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;50:762-6.
2. Garrido G, Gonzáles D, Lemus Y, García D, Lodeiro L, Quintero G, et al. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang) and mangiferina. Pharm Res. 2004;50:143-9.
3. Quillardet P, Huisman O, D'Ari R, Hofnung M. SOS Chromotest, a direct assay of induction of a SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. Proc Natl Acad Sci (USA). 1982;79:5971-5.
4. Cuétara E. Una variante fluorescente del SOS Chromotest para el estudio de radioprotectores naturales [Tesis de Maestría en Bioquímica]. Ciudad de La Habana: Facultad Biología, Universidad de La Habana; 2003.
5. Quillardet P y Hofnung M. The SOS Chromotest: a review. Mutat Res. 1993;297:235-79.
6. Arora R, Chawla R, Sagar R, Prasad J, Singh S, Kumar R, et al. Evaluation of radioprotective activities of *Rhodiola imbricata* Edgew - A high altitude plant. Mol Cell Biochem. 2005;273:209-23.
7. Sang-Suk K, Ji-Young K, Nam H L, Chang-Gu H. Antibacterial and anti-inflammatory effects of Jeju medicinal plants against acne-inducing bacteria. J Gen Appl Microbiol. 2008;54:101-6.
8. Prieto E, Cañet F. Aspectos a considerar en el dosímetro Fricke. Rev Tec Quím. 1990;XI(2):19-20.
9. Huisman O, D'Ari R. An inducible DNA replication-cell division coupling mechanism in *Escherichia coli*. Nature. 1981;290:797-9.
10. Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. Molecular cloning. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, USA: Cold Spring Harbor; 1982.
11. Dacie JV, Lewis SM. Practical haematology. 8th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1995. p. 287-96.
12. Ben Sassi A, Harzallah-Skhiri F, N Bourgougnon, Aouni M. Antimicrobial activities of four Tunisian *Chrysanthemum* species. Indian J Med Res. 2008;127:183-92.
13. Yong-Mei Z, Rock O Ch. Evaluation of *Epigallocatechin gallate* and related plant polyphenols as inhibitors of the FabG and FabI reductases of bacterial type II fatty-acid synthase. J Biol Chem. 2004;279(30):30994-31001.
14. Yang CS, Wang ZY. Tea and Cancer. J Natl Cancer Inst. 1993;85:1038-49.

15. Kevekordes S, Mersch-Sunderman SV, Burghaus CM, Spielberger J, Schmeiser HH, Artl VM, et al. SOS induction of select naturally occurring substances in *Escherichia coli* (SOS Chromotest). *Mutat Res.* 1999;445:81-91.
16. Williams RJ, Spencer PE, Rice-Evans C. Serial review: Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radic Biol.* 2004;36(7):838-49.
17. Awad HM, Boersma MG, Boeren S, Van der Woude H, van Zanden J, Van Bladeren PJ, et al. Identification of o-quinone/quinone methide metabolites of quercetin in a cellular in vitro system. *FEBS Lett.* 2002;520(1-3):30-4.
18. Spencer JP, Abdel El, Mohsen M, Rice-Evans C. Cellular uptake and metabolism of flavonoids and their metabolites: implications for their bioactivity. *Arch Biochem Biophys.* 2004;423:148-61.
19. Pardo GL, Delgado R, Velho JA, Curti C, Vercesi AE. Mangiferin, a natural occurring glucosyl xanthone, increases susceptibility of rat liver mitochondria to calcium-induced permeability transition. *Arch Biochem.* 2005;439:184-93.
20. Rodeiro I, Cancino L, González JE, Morffi J, Garrido G, González RM, et al. Evaluation of the genotoxic potential of *Mangifera indica* L extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(10):1707-13.

Recibido: 22 de septiembre de 2008.

Aprobado: 4 de octubre de 2010.

MSc. *Eliseo Almeida Varela*. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear. Calle 62 N° 918 e/ 9 y 11. Playa. Ciudad de La Habana. Teléf. (53-7) 2093928. Correo electrónico: eliseo@ceaden.edu.cu