



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

CARRERA DE QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

**Determinación de la actividad antiproliferativa y  
citotóxica del extracto acuoso-etanólico de la corteza del  
árbol de *Mangifera indica L.* en células de cáncer  
cérvicouterino HeLa.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

KARINA YAMILET CASTRO PANTALEÓN

DIRECTOR DE TESIS  
M. EN C. LUIS SÁNCHEZ SÁNCHEZ

ASESOR DE TESIS  
Q. CARLOS SALVADOR VÁLDEZ SÁNCHEZ



MÉXICO, D.F.

ABRIL

2014

---

## Agradezco

Al M. en C. Luis Sánchez Sánchez, por permitirme trabajar en su laboratorio, por la orientación y enseñanza durante todo este trabajo y especialmente por siempre tener paciencia y disposición para resolver mis dudas.

Al Q. Carlos Salvador Váladez por brindarme su conocimiento y tiempo para realizar este trabajo, siempre de una manera amena y amable, por más que un asesor ha sido un amigo y me ha brindado consejos valiosos que no olvidare jamás.

Al M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez, por su gran ayuda y contribuciones que me permitieron realizar este trabajo, pues su colaboración fue fundamental en este trabajo y porque sus cuestionamientos me incitaron a seguir buscando respuestas.

Al M. en C. José Misael Vicente Hernández, porque con su conocimiento y observaciones contribuyeron al mejoramiento del presente trabajo.

Al Dr. Hugo López porque siempre estuvo dispuesto a regalarme algo de su conocimiento y de su tiempo.

A la Dra. Isabel Soto por su importante aporte y participación en la realización de este trabajo. Debo destacar su disposición y paciencia al realizar la revisión del escrito.

A la M. en C. Araceli García Por su guía, sus enseñanzas y su disponibilidad para la mejora de este trabajo así como su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas que ha sido un aporte invaluable.

A la M. en C. Abigail Aguilar Contreras directora del Herbario Medicinal de Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), por su ayuda en la autenticación del material vegetal.

Al M. en C. Moisés López, al M. en C. Javier Alvarado y al Q. F. B. Gerardo Díaz, por apoyarme en el trabajo de laboratorio, proporcionarme todos los medios para poder realizarlo y aconsejarme corregirme y orientarme en mis dudas y fallas.

A mis compañeros del Laboratorio Elena, Hugo, Saraí, Iván, Viri y Mauricio, por compartirme sus conocimientos, hacerme descubrir un mundo nuevo y su apoyo en el laboratorio.

A la Sra. Alicia Pantaleón Nájera y su familia por permitirnos entrar a su propiedad y facilitarnos la materia prima para la realización de este trabajo.

---

---

*Hoy que concluyo esta etapa de mi vida y alcanzo una meta que me fije desde mi infancia; quiero dar un reconocimiento mediante estas palabras:*

*A mis padres Antonina y Luis, por ser mi sustento fuerza e inspiración, porque siempre han creído en mí y me han alentado a luchar para alcanzar mis metas. Gracias por sus consejos que han hecho de mí una gran persona, porque a su lado soy invencible.*

*A mi hermano Héctor que ha estado conmigo desde el inicio de mi vida para cuidarme apoyarme y me enseñó a ser fuerte independiente, tolerante y compasiva. Recuerdo que desde pequeños me dabas ánimos para ser grande y llegar aquí. Te amo.*

*A Blanquita mi pequeña hermana porque me motiva a superarme, prepararme y emprender nuevos retos, para poder ser su guía en la vida que apenas empieza.*

*A Isidoro mi mejor amigo, mi alma gemela, mi compañero de desveladas y locuras por tantos años, gracias por acompañarme a través de tantas etapas de mi vida y en los momentos más difíciles ayudarme a superarlos.*

*A mi tía Alicia y mis queridos primos Nahúm, Bere y Ana, por ayudarme, apoyarme y siempre confiar en mí, porque sin su ayuda y sus ánimos yo no podría seguir luchando.*

*A mamá Caro porque me enseñó que en esta vida hay que luchar y esforzarse para lograr nuestras metas, porque ella me dió el don de ayudar a los demás.*

*Yaz, Liz, Magui, Yayis, Karla, Chendo, Chino, Mazto, Alan, Ricardo, Peter y Omar, que se convirtieron en mis amigos y mi familia, siendo parte fundamental de mi vida a lo largo de estos años y porque me mostraron que la escuela no es la vida sino que la vida es una escuela y hay que aprender a vivir mientras aprendes a estudiar. ¡Gracias pandilla!*

---

---

*A Yaz por ser una gran amiga, cuidarme y confiar siempre en mí, y a sus papis por darme tanto cariño y estar conmigo todos estos años.*

*A Chendo por cuidarme, enseñarme a ser mejor, perdonar mis errores y ayudarme a ser mejor persona.*

*A Nadia quien fue una amiga que me quiso y a la que yo quise mucho y a doña Paty por animarme a seguir estudiando y creer que yo podría lograr todo esto.*

*Por último quiero decirles que:*

*"Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica:*

*La voluntad."*

*Albert Einstein.*

---

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
1. ABREVIATURAS	i
2. RESUMEN	1
3. INTRODUCCIÓN	2
4. MARCO TEÓRICO	4
4.1 Plantas medicinales	4
4.1.1 Metabolitos primarios	4
4.1.2 Metabolitos secundarios	4
4.1.2.1 Compuestos fenólicos y sus derivados.	5
4.1.2.2 Compuestos nitrogenados o alcaloides.	6
4.1.2.3 Terpenos.	7
4.2. Fitoquímica	8
4.2.1 Extracción de material fitoterapéutico primario	8
4. 3 Medicina tradicional mexicana	8
4.4 Antecedentes del árbol de mango	9
4.4.1 Nombres populares	9
4.4.2 Origen y distribución	10
4.4.3 Características botánicas	12

---

4.4.4 Usos del mango	12
4.4.5 Actividades terapéuticas del mango	14
4.4.5.1 Actividad antiinflamatoria - analgésica	14
4.4.5.2 Actividad antimicrobiana	14
4.4.5.3 Actividad hipoglucemiante	14
4.4.5.4 Actividad antidiarreica	14
4.4.5.5 Actividad inmunológica	15
4.4.5.6 Actividad antitumoral	15
4.4.6 Composición química del árbol de mango	16
4.4.6.1 Las hojas	16
4.4.6.2 La pulpa del fruto	16
4.4.6.3 La semilla	16
4.4.6.4 La corteza del tallo y de la raíz	17
4.5 La célula	19
4.6 Proliferación celular	20
4.7 Ciclo celular	20
4.8 Muerte celular	23
4.8.1 Necrosis	23
4.8.2 Apoptosis	24

---

4.9 Cáncer	26
4.9.1 Cáncer cérvicouterino (CaCu)	27
4.9.1.1 Factores de riesgo	29
4.9.1.2 Tratamiento del cáncer cérvicouterino	29
4.9.1.2.1 Cirugía	30
4.9.1.2.2 Radioterapia	30
4.9.1.2.3 Quimioterapia	30
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	32
6. HIPÓTESIS	33
7. OBJETIVOS	34
7.1 Objetivo general	34
7.2 Objetivos particulares	34
8. MÉTODO	36
9. RESULTADOS	43
10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
11. CONCLUSIONES	57
12. PERSPECTIVAS	58
13. REFERENCIAS	59
14. GLOSARIO	65

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Contenido</b>	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Compuestos fenólicos	5
<b>Figura 2.</b> Compuestos nitrogenados y alcaloides	6
<b>Figura 3.</b> Terpenos	7
<b>Figura 4.</b> Producción nacional de mango	11
<b>Figura 5.</b> Características botánicas del mango	12
<b>Figura 6.</b> Estructuras de algunos compuestos encontrados en las diferentes partes del árbol de mango	18
<b>Figura 7.</b> Ciclo celular	21
<b>Figura 8.</b> Necrosis celular	24
<b>Figura 9.</b> Apoptosis vía extrínseca e intrínseca	25
<b>Figura 10.</b> Pérdida del control del crecimiento celular	27
<b>Figura 11.</b> Epitelio del cérvix y neoplasias intraepiteliales	28
<b>Figura 12.</b> Efecto antiproliferativo del extracto acuoso-etanólico de la corteza de <i>Mangifera indica L.</i> sobre células de cáncer cérvicouterino HeLa (IC <sub>50</sub> )	44

---

- Figura 13.** Confirmación de la IC<sub>50</sub> del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* sobre células de cáncer cérvicouterino HeLa 45
- Figura 14.** Micrografía óptica con iluminación de contraste de fases. Morfología de células de CaCu HeLa tratadas con la IC<sub>50</sub> del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* 46
- Figura 15.** Micrografía de fluorescencia. Núcleos de células de CaCu HeLa tratadas con la IC<sub>50</sub> del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* 48
- Figura 16.** Determinación de muerte necrótica inducida por *Mangifera indica L.* Incorporación de yoduro de propidio en células de CaCu HeLa 49
- Figura 17.** Determinación de muerte necrótica inducida por *Mangifera indica L.* en células de CaCu HeLa. Evaluación de actividad de la enzima LDH 50
- Figura 18.** Efecto del extracto acuoso-etanólico de la corteza de árbol de *Mangifera indica L* sobre el potencial proliferativo de células no tumorales (linfocitos) 51
- Figura 19.** Determinación del efecto necrótico de *Mangifera indica L.* sobre células no tumorales (linfocitos) por medio de la actividad de la enzima LDH 52
-

## 1. ABREVIATURAS

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ANDEVA</b>	Análisis de varianza
<b>CFSE</b>	Carboxifluoresceína
<b>GAE</b>	Equivalentes de ácido gálico
<b>IP</b>	Ioduro de propidio
<b>LDH</b>	Lactato deshidrogenasa
<b>m. s. n. m.</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>NIC</b>	Neoplasias intracervicales
<b>PA</b>	Principio activo
<b>PBS</b>	Buffer de fosfatos salinos
<b>PHA</b>	Fitohemaglutinina
<b>SFB</b>	Suero fetal bovino
<b>SNT</b>	Suero neonatal de ternera
<b>VPH</b>	Virus del papiloma humano

## 2. RESUMEN

Con el propósito de evaluar la actividad antiproliferativa y citotóxica de la corteza de *Mangifera indica L.*, se elaboró un extracto acuoso-etanólico por destilación hasta lograr un sólido, partiendo de 25 g de corteza y su actividad antiproliferativa y citotóxica fue evaluada en cultivos de la línea de cáncer cervicouterino HeLa. Los resultados obtenidos indican que el extracto afecta el potencial proliferativo de las células HeLa en un 50 % a una concentración de 95 µg/mL, induciendo cambios morfológicos en las células tumorales tales como contracción celular, pérdida de las proyecciones citoplasmáticas, forma esférica, que en conjunto son características clásicas de células apoptóticas. Las pruebas de incorporación de Ioduro de propidio (IP) así como la determinación de la actividad de la enzima Lactato deshidrogenasa (LDH) en los sobrenadantes de los cultivos tratados con el extracto, indican que éste presenta una baja inducción de muerte por necrosis (2.6 a 7.4%). La observación de una fuerte condensación y/o fragmentación de la cromatina nuclear determinada por tinción nuclear con el fluorocromo DAPI junto con los cambios morfológicos observados en las células tratadas, sugieren que el extracto induce a las células HeLa a una muerte por apoptosis. De manera paralela, cultivos de linfocitos de sangre periférica humana de donadores sanos fueron tratados con 95 µg/mL de extracto y la actividad antiproliferativa y citotóxica (necrótica) fueron evaluadas mediante la técnica de marcaje con carboxifluoresceína y actividad de LDH. El extracto de *Mangifera indica L* no afecta el potencial proliferativo de estas células, ni induce una muerte celular necrótica, indicando una actividad selectiva del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* entre células tumorales y células no tumorales (linfocitos).

### **3. INTRODUCCIÓN**

El Cáncer es una enfermedad en la que una serie de alteraciones genéticas en el interior de la célula, las vuelve anormales, provocando una división sin control con la posibilidad de invadir otros tejidos. Esta enfermedad es una de las principales causas de muerte en todo el mundo; causando 7,6 millones de defunciones al año (aproximadamente un 13% del total de muertes reportadas). Si no se toman medidas para prevenir y controlar este mal, se prevé que las muertes por cáncer para el 2030 alcancen la cifra de 13,1 millones a nivel mundial.<sup>1</sup>

El cáncer cervicouterino (CaCu) es el segundo tipo de cáncer más frecuente en la población femenina y es responsable de aproximadamente 275 000 muertes anuales a nivel mundial, de esta cifra el 80 % de los casos se da en países en desarrollo, como México. Este tipo de cáncer afecta el sistema reproductivo de la mujer, cuya causa predominante es el virus del papiloma humano (VPH). El 97.7% de los casos son provocados por éste.<sup>2-4</sup>

En el caso específico de nuestro país, 70% de los casos se asocia con los tipos de VPH 16 y 18, siendo éstos los más agresivos. El resto de los casos son provocados por los tipos 31, 33 y 45. Solo el 1 % de los casos son negativos a este virus.<sup>2-4</sup>

El CaCu tiene una alta tasa de curación cuando se detecta tempranamente y se tratan correctamente. Entre las alternativas de tratamiento se encuentran la cirugía, radioterapia y quimioterapia por mencionar las más usadas. En el caso de la cirugía solo es aplicable a tumores localizados, la radioterapia y quimioterapia son ineficientes en estados avanzados y/o en pacientes terminales o con metástasis, provocan un efecto necrótico en las células, lo que causa efectos colaterales que demeritan la calidad de vida de los pacientes. Por esta razón es importante la búsqueda de alternativas terapéuticas.<sup>3-6</sup>

Al respecto, Las plantas tienen una larga historia de uso en el tratamiento del cáncer, y juegan un papel muy importante en el descubrimiento y desarrollo de

nuevos fármacos. Más del 60% de los agentes anticancerígenos actualmente en uso, derivan de una u otra forma de fuentes naturales que incluyen plantas, organismos marinos y microorganismos. Entre los productos comerciales más efectivos derivados de plantas destacan los siguientes:

- 1) Los alcaloides de la vinca (vincristina y vinblastina), que se obtuvieron de *Catharantus roseus*, planta originaria de Madagascar, utilizada para tratar linfomas, leucemias y otros cánceres.
- 2) La podofilotoxina, obtenida de *Podophyllum peltatum* que se utiliza para preparar los derivados menos tóxicos etopósido y tenipósido, para el tratamiento de linfomas y cánceres bronquial y testicular.
- 3) El taxol, obtenido de la yuca ecuatoriana *Taxus brevifolia* utilizado en el tratamiento de cánceres de ovario, de mama y de pulmón.
- 4) La camptotecina obtenida del árbol chino *Camptotheca acuminata* que se emplea para preparar derivados comerciales utilizados en el tratamiento de cánceres de ovario, de pulmón y colorectal.<sup>7</sup>

México es un país con una gran biodiversidad botánica y una amplia tradición en el uso de la medicina herbolaria. De acuerdo con diferentes fuentes bibliográficas se concluye que en México se han empleado 238 especies de plantas para tratar enfermedades consistentes con la sintomatología de cáncer.<sup>7</sup> Entre éstas, existen reportes que establecen que en los estados de Guerrero, Morelos y Oaxaca se utiliza una infusión de corteza de *Mangifera indica L.*, para tratar esta enfermedad, sin embargo, se carece de reportes o estudios científicos al respecto, por lo que es necesario realizar estudios que permitan evaluar la actividad antitumoral de esta corteza. Por ello, en el presente trabajo se evaluó la actividad antiproliferativa y citotóxica de este extracto en cultivos de la línea de cáncer cervicouterino HeLa y en cultivos de células linfocíticas humanas provenientes de sangre periférica de donadores sanos.

## **4. MARCO TEÓRICO**

### **4.1 Plantas medicinales**

Desde tiempos remotos las civilizaciones han utilizado las plantas con fines decorativos, culinarios, curativos, entre otros; existen registros del uso de una gran cantidad de plantas como tratamientos de diversas enfermedades en las grandes culturas antiguas, como la China, la Hindú y las del norte de África.<sup>8,9</sup> En la actualidad cerca del ocho por ciento de la población mundial recurre a sistemas de medicina alternativa,<sup>10</sup> los cuales se basan en la utilización de las plantas medicinales, que son todos aquellos vegetales que contengan, en cualquiera de sus órganos, alguna sustancia con actividad farmacológica que se pueda utilizar con fines terapéuticos o que se puedan emplear como prototipo para obtener nuevos fármacos por síntesis o hemisíntesis farmacéutica.<sup>11</sup>

#### **4.1.1 Metabolitos primarios**

Las plantas presentan metabolitos primarios y secundarios provenientes de sus diferentes procesos biológicos, estos metabolitos sirven como nutrientes, para su mantenimiento, reproducción, curación, defensa, entre otras funciones. Dentro de los metabolitos primarios se incluyen los carbohidratos, proteínas y lípidos. Estos compuestos son continuamente sintetizados y utilizados, ya que son biomoléculas indispensables para su supervivencia.<sup>10,12,13</sup>

#### **4.1.2 Metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios son un grupo de compuestos no esenciales para el desarrollo de la planta, sin embargo estas sustancias intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente y son los responsables de los efectos terapéuticos de éstas. Los metabolitos secundarios de las plantas pueden ser divididos en 3 grandes grupos, con base a sus orígenes biosintéticos:<sup>10,13,14</sup>

- a) Compuestos fenólicos y sus derivados.
- b) Compuestos nitrogenados o alcaloides.
- c) Terpenos.

#### 4.1.2.1 Compuestos fenólicos y sus derivados

Los compuestos fenólicos, como se muestra en la figura 1, son un grupo de compuestos formados por la unión de un anillo aromático y uno o más grupos hidroxilos (-OH). En las plantas son parte de los metabolitos secundarios, muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos, otros proveen soporte mecánico a la planta, otros atraen polinizadores o dispersores de frutos, algunos de ellos absorben la radiación ultravioleta, o actúan como agentes alelopáticos. Algunos compuestos fenólicos son solubles en disolventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos y por lo tanto solubles en agua, y otros son polímeros muy grandes e insolubles. Con base en su esqueleto químico los compuestos fenólicos se clasifican en: fenoles simples (como la vainillina y el ácido salicílico) y fenoles complejos (por ejemplo los flavonoides).<sup>9,12,14</sup>

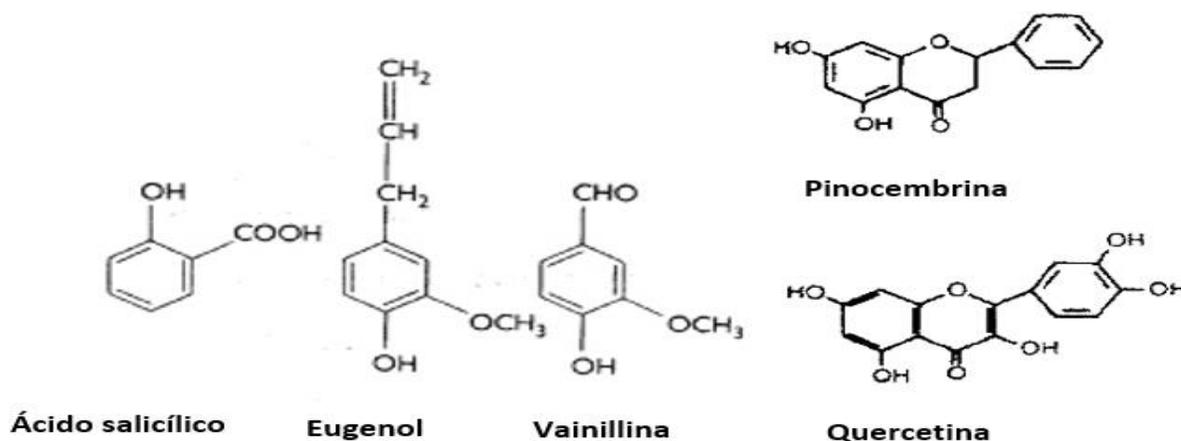


Figura 1. Representación de algunos compuestos fenólicos producidos por las plantas. Imagen tomada de <http://www.google.com.mx/imgres?q=vainillina,+ac+salicilico+y+flavonoides&um>

#### 4.1.2.2 Compuestos nitrogenados o alcaloides

Los alcaloides poseen una gran diversidad de estructuras químicas (figura 2). Muchos de los que se conocen, contienen uno o más átomos de nitrógeno, son biosintetizados principalmente a partir de aminoácidos. Son fisiológicamente activos en los animales en bajas concentraciones, por lo que son muy usados en medicina, presentando notables propiedades fisiológicas y toxicológicas, que se ejercen fundamentalmente sobre el sistema nervioso central, por estas razones pueden ser usados como fármacos, ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, la atropina, la quinina, entre otros. La mayoría de los alcaloides son insolubles o muy poco solubles en agua, pero se disuelven bien en alcohol, éter, cloroformo u otros disolventes orgánicos. Se combinan con ácidos para formar sales, comportándose entonces como bases. Las sales son bastante solubles en agua e insolubles en disolventes orgánicos.<sup>10,12</sup>

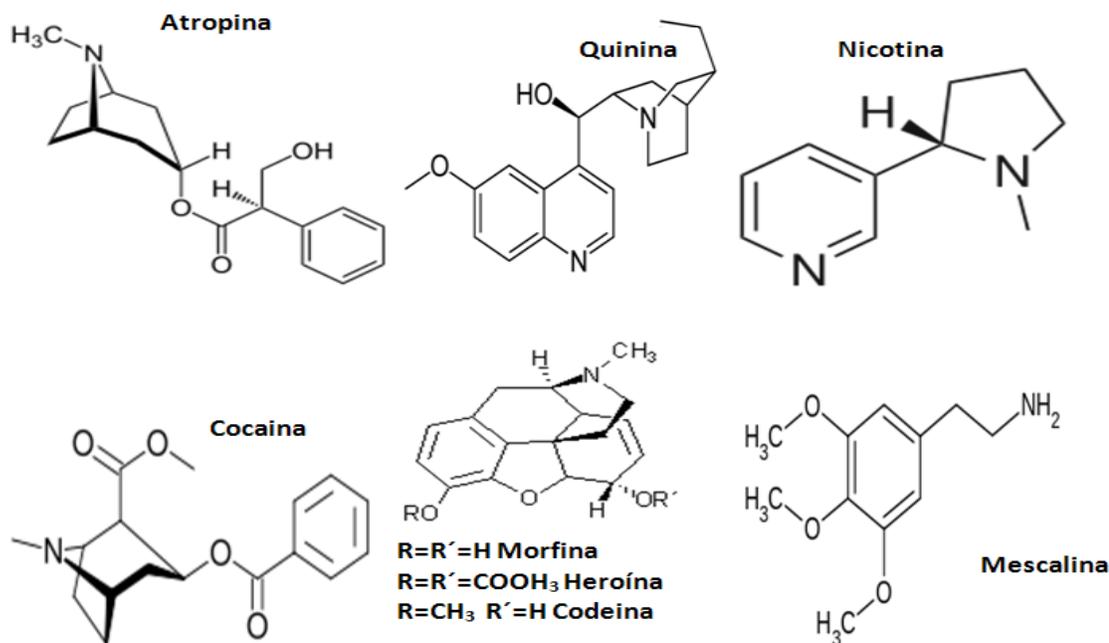


Figura 2. Estructuras de alcaloides conocidos. Imagen tomada de <http://www.google.com.mx/imgres?q=alcaloides&num=10&um=1&hl=es&biw=1280&bih=709&tb>

### 4.1.2.3 Terpenos

Los terpenos son productos orgánicos naturales constituidos por la unión de dos o más unidades de isopreno, acopladas por dos dobles enlaces formando un grupo de compuestos con características propias, como se muestra en la figura 3. Son típicos constituyentes de los aceites esenciales que determinan la variedad de los efectos terapéuticos que se presentan; también se encuentran presentes en algunas especies animales, desempeñando un papel fisiológico importante (vitamina A, hormonas, etc.).<sup>10,15,16,17</sup>

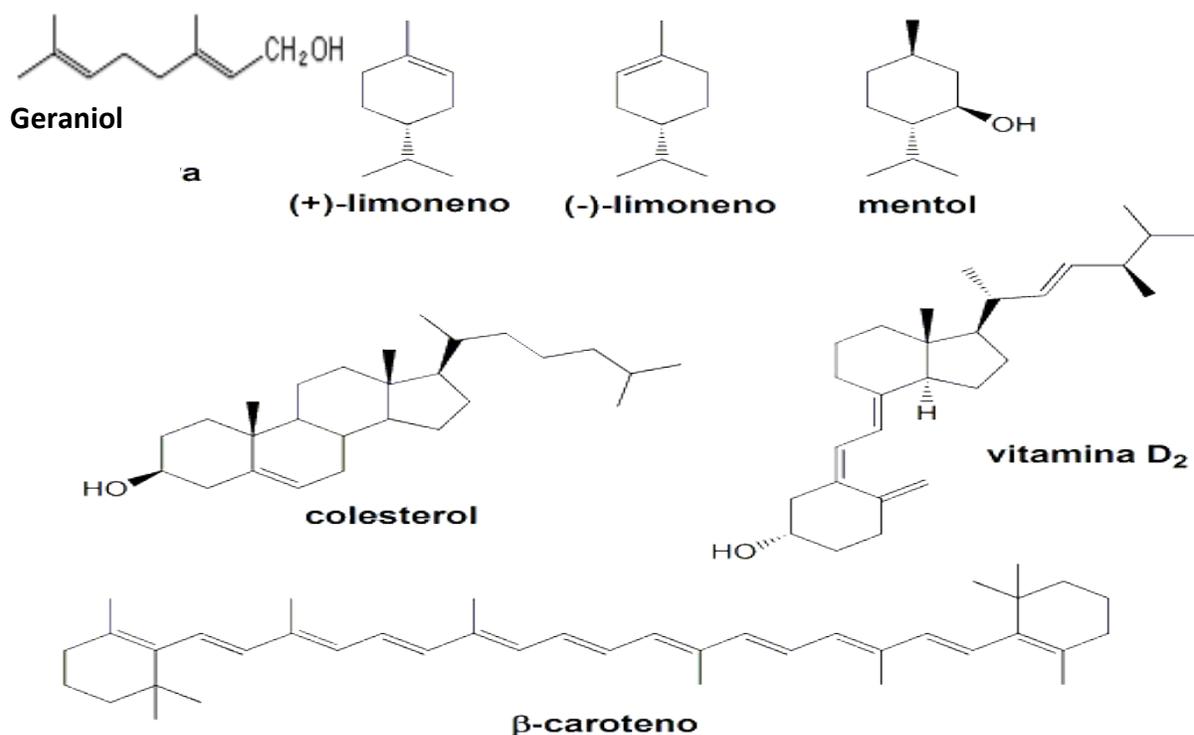


Figura 3. Representación de algunas estructuras de terpenos presentes en aceites esenciales de plantas y en especies animales. Imagen tomada de <http://www.google.com.mx/imgres?q=terpenos&start=47&num=10&um=1&hl=es&biw=1280&bi>

## **4.2. Fitoquímica**

La fitoquímica es una rama de la química orgánica que comprende el aislamiento, separación, identificación y determinación de metabolitos secundarios.<sup>16,17</sup>

La fitoquímica trata el tema de la biosíntesis de los metabolitos en las plantas, por ejemplo: alcaloides, taninos, ceras, aceites, terpenos, entre otros. Esta rama se desarrolla cada vez más, por tener un alto potencial como fuente de nuevos medicamentos.<sup>13,16</sup>

Un estudio fitoquímico puede implicar lo siguiente: identificación y extracción del material vegetal; separación, aislamiento e identificación de los componentes de interés de los compuestos aislados y evaluaciones cualitativas y cuantitativas.<sup>10,12</sup>

Paralelo a esto, se realiza la evaluación farmacológica de los componentes separados mediante pruebas biológicas para la comprobación de los efectos farmacológicos.<sup>10,18</sup>

### **4.2.1 Extracción de material fitoterapéutico primario**

El inicio de la investigación fitoquímica empieza con la recolección y secado de las plantas a estudiar, también se puede requerir de una molienda, dependiendo de las características botánicas del objeto de estudio.<sup>9</sup> Los productos de origen natural puros se caracterizan por su composición química variada y por consiguiente es necesario someterlos a procesos de extracción, separación y purificación, para así evitar impurezas o contaminaciones.<sup>13,19</sup>

## **4.3 Medicina tradicional mexicana**

La medicina tradicional es reconocida hoy como un recurso fundamental para la salud de millones de seres humanos, un acervo de información, recursos y prácticas para el desarrollo y el bienestar, así como un factor de identidad de numerosos pueblos del planeta.<sup>7,21,22</sup>

La medicina tradicional mexicana, como toda institución social, ha cambiado en el curso de los siglos, interactuando con otros modelos terapéuticos para conformar lo que llamamos el “sistema real de salud” (uso de fármacos, medicina casera y la llamada medicina alternativa o complementaria) de millones de mexicanos del siglo XXI.<sup>7,21,22</sup>

México es el tercer país a nivel mundial en diversidad de especies vegetales y en América Latina, ocupa el primer lugar. Su flora es muy variada y se estima que entre cinco mil y 10 mil especies vegetales del territorio son medicinales, o potencialmente curativas.<sup>7,21,22</sup>

#### **4.4 Antecedentes del árbol de mango**

De los cultivos frutícolas, el mango, quizás es de los más aceptados a nivel mundial por su agradable sabor y gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales. En la actualidad se han iniciado una serie de investigaciones para comprobar algunas propiedades farmacológicas que se le atribuyen. A continuación se desarrollan tópicos de carácter botánico, geográfico y químico, acerca del árbol de mango.<sup>23,24</sup>

##### **4.4.1 Nombres populares**

**Portugués:** Manga

**Inglés:** Mango

**Francés:** Manguier

**México:** Mango criollo, palo de mango, rosamorada; Oaxaca: tzon te manko (amuzgo), mang, mangaay; Puebla: tzapot (náhuatl).<sup>23,24</sup>

#### **4.4.2 Origen y distribución**

El origen del mango se sitúa en el noreste de Asia en la zona tropical que se extiende desde la India hasta Filipinas. Este árbol es de clima tropical, habita en temperaturas cálidas y semicálidas.<sup>23,25,26</sup> Se encuentra desde los 0 hasta los 2600 m.s.n.m., es cultivada en sitios con vegetación circundante de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, perennifolio y bosque mesófilo de montaña.<sup>21</sup> Su distribución en occidente se dió a finales del siglo XVI, llegando por primera vez a Brasil en 1700 y extendiéndose después al resto del continente americano.<sup>24,27</sup> En México se tienen plantadas aproximadamente 181,000 hectáreas.<sup>28,29,30</sup> Se producen mangos de diferentes cultivos los cuales son consumidos o demandados para diversos fines. El país ocupa el quinto lugar por volumen de exportación en el mundo. La mayor parte de la superficie cultivada se ubica en los estados de Veracruz, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Nayarit, Sinaloa y Chiapas, sin embargo existen muchos otros estados donde también se cultiva, como se muestra en la figura 4.<sup>28,29,30</sup>



Figura 4. Mapa de la República Mexicana. Las zonas sombreadas son los estados de la República Mexicana donde se cultiva mango y contribuyen al volumen de exportación nacional de este fruto. Imagen tomada de <http://www.siap.gob.mx/opt/123/77/76.html>

#### 4.4.3 Características botánicas

El árbol del mango llega a medir hasta 20 m de altura, son poligamodióicos, hermafroditas o unisexuales por reproducción, con el tallo resinoso o lechoso, grueso con un follaje denso y extendido.<sup>25</sup> Las hojas miden de 10 a 20 cm de largo, de color verde oscuro o verde pálido sin pelos. Las flores son verde-blanquecinas amarillentas, agrupadas en racimos muy grandes. Los frutos cuelgan en racimos, son carnosos y lisos, jugosos de sabor dulce, olor agradable, la cáscara es delgada verdosa o amarillenta, la semilla envuelta en una cáscara tipo hueso (figura 5).<sup>24,26,30</sup>

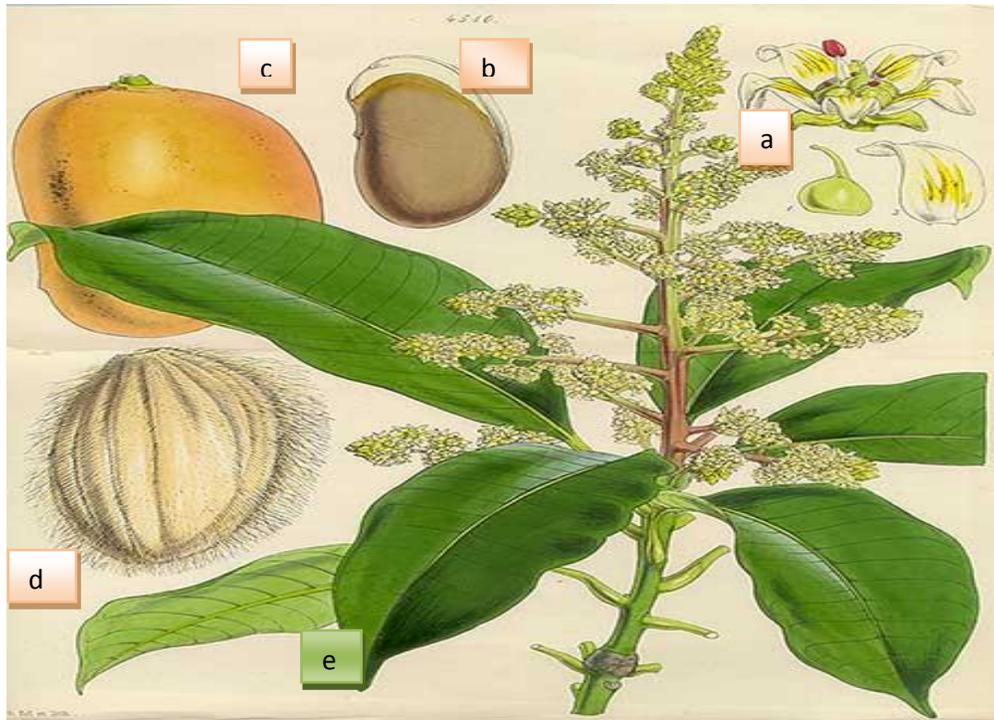


Figura 5. a) Flores, b) semilla, c) Fruto, d) Hueso y e) Hojas. Imagen tomada de [http://www.google.com.mx/search?hl=es&rlz=1R2ADFA\\_esMX473&q=Avance%20de%20siembras](http://www.google.com.mx/search?hl=es&rlz=1R2ADFA_esMX473&q=Avance%20de%20siembras)

#### 4.4.4 Usos del mango

El mango ha demostrado a lo largo de varios ensayos, numerosas propiedades nutritivas y terapéuticas (antimicrobianos, antiinflamatoria, hipoglucemiante, por

mencionar las más sobresalientes), también se utiliza para la producción de madera, como porta injertos y para la extracción de aceites, resinas y gomas.<sup>21,24,,30,31</sup>

En los estados de México, Guerrero, Jalisco, Morelos, Quintana Roo y Sonora, se le utiliza en diversos padecimientos respiratorios, principalmente para aliviar la tos, empleando las hojas solas o combinadas con otras plantas, que varían según la región. En Sonora, además de la hoja, utilizan la corteza, semilla y resina para el asma, la tos y para fortalecer los pulmones. Por otro lado, en padecimientos del aparato digestivo, es frecuente el empleo de la semilla como antiparasitario. En el Estado de México se recomienda contra la diarrea, por sus propiedades astringentes. En algunas otras regiones se emplea la resina como antisifilítico, y para algunos problemas ginecobstétricos: para el flujo y hemorragia vaginal; para aliviar el asco en el embarazo y en el postparto. Se utiliza de manera externa o local, para aplicar en diversas lesiones como: heridas, piquetes de animales ponzoñosos, estomatitis o escoriaciones de la boca y llagas. También se usa como analgésico en el dolor de cabeza y el dolor muscular causado por algún golpe, para bajar la temperatura, para controlar el colesterol y aliviar incontinencia urinaria.<sup>32,33</sup>

A finales del siglo XIX, el Instituto Médico Nacional comunica que el árbol del mango es antiescorbútico, antidontálgico, antiparasitario y astringente, que sirve para incontinencia urinaria, como depurativo, para dermatosis, diaforético y para enfermedades exantemáticas.<sup>21,23,24</sup>

En el siglo XX, Maximino Martínez lo registra como antidiarreico, antisifilítico, astringente y contra incontinencia. La Sociedad Farmacéutica de México, reporta su uso como anticatarral, antidiarreico, antiparasitario y tusígeno.<sup>23,24</sup>

#### **4.4.5 Actividades terapéuticas del mango**

##### 4.4.5.1 Actividad antiinflamatoria-analgésica:

El extracto etanólico de la semilla de mango presentó una significativa actividad antiinflamatoria en el ensayo de edema plantar por carragenina y una actividad inhibitoria frente a inductores de inflamación como el dextrán y bradiquinina. Sin embargo, no demostró propiedades antagonistas frente a histamina. El extracto acuoso de la corteza dió resultados en el estudio de carragenina equivalentes a los producidos por naproxeno sódico e indometacina.<sup>24,32-35</sup>

##### 4.4.5.2 Actividad antimicrobiana:

Esta actividad la presenta el extracto acuoso de las hojas en estudios tanto *in vivo* como *in vitro*; el extracto etanólico de la corteza de mango se considera de acción débil; pero el extracto acuoso, etanólico y metanólico de la semilla presenta una fuerte actividad contra bacterias Gram positivas en estudios *in vitro* y actividad antimicótica contra *Candida albicans*.<sup>24,32-36</sup>

##### 4.4.5.3 Actividad hipoglucemiante:

Estudios en conejos demostraron que el extracto acuoso de hojas de mango redujeron significativamente el área bajo la curva de tolerancia a la sobrecarga de glucosa.<sup>32,34,37,38</sup>

##### 4.4.5.4 Actividad antidiarreica:

Tanto la decocción de las hojas como la maceración de la corteza tienen el efecto antidiarreico en humanos, mientras que el extracto acuoso y metanólico de las semillas (250mg/kg) demostró en ratas, el efecto antidiarreico después de inducir diarrea por aceite de ricino o sulfato de magnesio.<sup>21,32</sup>

#### 4.4.5.5 Actividad inmunológica:

La administración a ratas del extracto etanólico de la corteza de mango produjo un aumento de anticuerpos humorales, provocando un retraso en la aparición de la hipersensibilidad al extracto (actividad inmunoestimulante).<sup>21,32,34,39</sup>

#### 4.4.5.6 Actividad antitumoral:

En 2009 la Universidad de Texas reportó la capacidad antiproliferativa y proapoptótica de los polifenoles obtenidos de la pulpa del mango Ataulfo y Haden en las líneas celulares Molt-4 de leucemia, A-549 de cáncer de pulmón, MDA-MB-231 de cáncer de mama, LnCap de cáncer de próstata, y SW-480 de cáncer de colon, de manera *in vitro*. Este efecto es selectivo ya que no se inhibió el crecimiento de miofibroblastos de colon (CCD-18Co) no cancerígenos.<sup>40</sup>

En 2011 se publicó el efecto antitumoral de Vimang®, un fitomedicamento cubano obtenido por una extracción acuosa de la corteza de *Mangifera indica L.* sobre la línea celular MDA- MB231 de cáncer de mama. Este efecto se le atribuye al ácido gálico y la xantana mangiferina, presentes en este extracto.<sup>41</sup>

El Dr. Ramjan Ali y su equipo en 2012 reportan el efecto antitumoral de la cascara y la pulpa de cinco variedades de mango, Fozli, Khershapat, Langra, Dudsagor y Lakhna, sobre células de cáncer cervicouterino HeLa basados en las propiedades antioxidantes de los extractos acuoso, cetónico y metanólico. El extracto de la cascara de la variedad Fozli presentó mayor contenido de compuestos fenólicos y/o flavonoides, así como el mayor efecto antiproliferativo. Su mecanismo de acción se da por vía apoptótica desencadenando la activación proteolítica de las caspasas 3, 8 y 9.<sup>42</sup>

El estudio más reciente se realizó con el aceite de las hojas de *Mangifera indica var.* Coquino, se evaluó su efecto antiproliferativo y citotóxico en líneas celulares tumorales humanas de mama MCF-7, leucemia K562, ovario NCI.ADR y OVCAR03,

pulmón NCI.460, melanoma UACC.62, riñón 786-0, próstata PCO.3 y colon HT-29. Obteniendo una fuerte actividad contra NCI-ADR/RES, OVCAR-3 (ovario), NCI-H460 (pulmón), 786-0 (riñón) y UACC-62 (melanoma) y una actividad moderada contra HT-29 (colon), PC-3 (próstata) y MCF-7 (mama).<sup>43</sup>

#### **4.4.6 Composición química del árbol de mango**

##### **4.4.6.1 Las hojas**

Contienen un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos camfeno, car-3-eno, limoneno, linalol, mirceno, ocimeno, alfa y beta-pineno, sabineno, terpineno, alfa-terpineol y alfa-tuyona; los sesquiterpenos aloaromandreno, beta-bulneseno, beta-cariofileno, alfa-cubeneno, beta y delta-elemeno, alfa-farneseno, humuleno, indiceno, mangífireno y alfa-guaieno; y los componentes fenílicos eugenol, estragol, y el éter metílico de eugenol. Otros componentes aislados de las hojas incluyen los flavonoides galato de epi-catequina, camferol, rutín y quercetín; las xantonas mangiferina y sus isómeros homo e iso-mangiferina; el galato de mangiferina y los triterpenos friedelin, lupeol, taraxerol y su cetona.<sup>21,37,43,44,</sup>

##### **4.4.6.2 La pulpa del fruto**

Se han aislado los monoterpenos ar-3-eno, para-cimeno, alfa y beta-felandreno, limoneno, alfa-pineno y gama-terpineno; las xantonas mangiferina y cis-ocimeno, el componente azufrado sulfuro de dimetilo y el compuesto fenólico ácido gálico.<sup>21,40,42,44,45</sup>

##### **4.4.6.3 La semilla**

Contiene los alcaloides cis y trans-zeatin y sus ribósidos y la almendra de la semilla contiene los triterpenos alfa y beta-amirenona, alfa-amirina, citrostadienol, 24-

metileno-cicloar-tenol, ciclobromol, ciclosadol, dammaradienol, friedelinol, germanicol, gramisterol, lofenol y obtusigenol; y los esteroides dehidro-avenasterol, campesterol, colesterol y beta-sitosterol.<sup>21,44,45,</sup>

#### 4.4.6.4 La corteza del tallo y de la raíz

Se han detectado principalmente triterpenoides, alfa y beta-amirina, cicloartenol, ácidos mangiferólico y mangiferónico y el beta-sitosterol; sólo en la corteza del tallo varios derivados hidroxilados, deshidrogenados del cicloartenol y del ácido cicloartenólico, dammarendiol II y su cetona hopanatriol, los ésteres metílicos de los ácidos mangiferólico y mangiferónico, ocotilol II y epi-taxarastenediol; y sólo en la corteza de la raíz el friedelín y su alcohol, y la xantona Mangiferína (figura 6).

<sup>21,23,32,3739,41,44,45</sup>

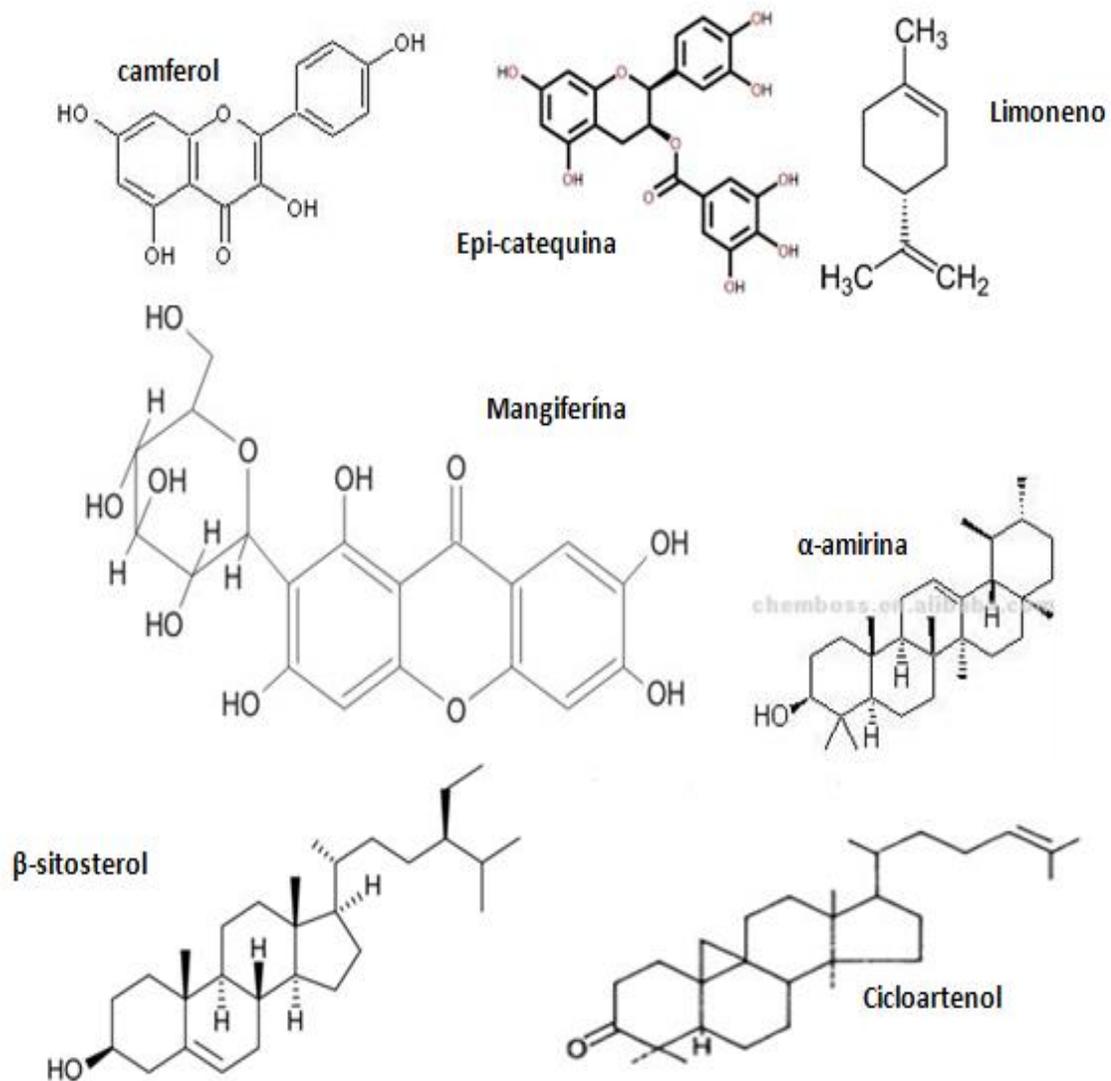


Figura 6. Estructuras de algunos compuestos encontrados en las diferentes partes del árbol de mango. Imagen creada por Karina Castro.

#### **4.5 La célula**

La teoría celular, propuesta en 1839 por Matthias Jakob Schleiden y Theodor Schwann, postula que todos los organismos están compuestos por células, y que todas las células derivan de otras células precedentes. La célula es la unidad más pequeña que conforma a los seres vivos. Las células se distinguen por su tamaño (Los diámetros de la mayoría de las células oscilan entre 1 y 100  $\mu\text{m}$ ), forma y sus actividades, pero todas presentan una membrana plasmática, una región de información genética y citoplasma.<sup>46-48</sup>

La membrana plasmática define a la célula como una entidad individual. Esta delgada membrana separa las actividades metabólicas y los eventos del exterior pero sin aislar el interior.<sup>46-48</sup>

En las células eucariotas el ADN se encuentra en un núcleo delimitado por un saco interno membranoso, mientras que las células procariotas carecen de núcleo celular definido.<sup>46-48</sup>

El citoplasma es todo lo que se encuentra entre la membrana y la región de ADN. Tiene una matriz semilíquida y componentes estructurales que intervienen en la síntesis de proteínas, en la conversión de energía y en otras funciones vitales.<sup>46-48</sup>

En los organismos pluricelulares las células guardan una estrecha relación entre sí, organizándose en una estructura jerarquizada y colaborando para mantener un estado de homeostasis en donde las condiciones de un ambiente relativamente constante son sostenidas para sobrevivir. Sin embargo, cada uno de los diferentes linajes de células que conforman al organismo tiene un micro ambiente particular en el cual se reúnen las condiciones necesarias para el establecimiento de una densidad celular requerida para conservar la estructura de un tejido o de un órgano.<sup>46-48</sup>

El mantenimiento de la estructura que constituye a un organismo pluricelular requiere de señales celulares que permitan a un tejido u órgano crecer o detener su crecimiento. Estas señales guardan un equilibrio entre proliferación, diferenciación

y muerte celular, procesos que están enmarcados dentro de lo que se denomina ciclo celular.<sup>49,50</sup>

#### **4.6 Proliferación celular**

La proliferación celular es un evento biológico que se regula mediante señales químicas que la activan o la inhiben. Las células presentan diferentes ritmos de proliferación lo cual depende del tejido del cual forman parte. Además de las células especializadas que no se dividen después de su diferenciación, se tienen a otras que se dividen de manera regular y a ritmo acelerado, entre estos dos extremos se encuentran aquellas que se dividen lentamente o que no se dividen, pero que pueden llegar a ser estimuladas por factores de crecimiento secretados por células vecinas o localizadas en tejidos u órganos distantes y que actúan de manera autocrina, paracrina o endocrina.<sup>47,51</sup>

Las células necesitan señales procedentes de otras células, no solamente para proliferar, sino también para sobrevivir. Si se les priva de tales factores de supervivencia, las células activan un programa intracelular de suicidio y mueren por un proceso denominado muerte programada (apoptosis). El hecho de necesitar señales procedentes de otras células para poder sobrevivir ayuda a garantizar que las células sobrevivan sólo cuándo y dónde son necesarias. Este control de la división celular es tan solo uno de los eventos que constituyen el ciclo celular.<sup>47,51</sup>

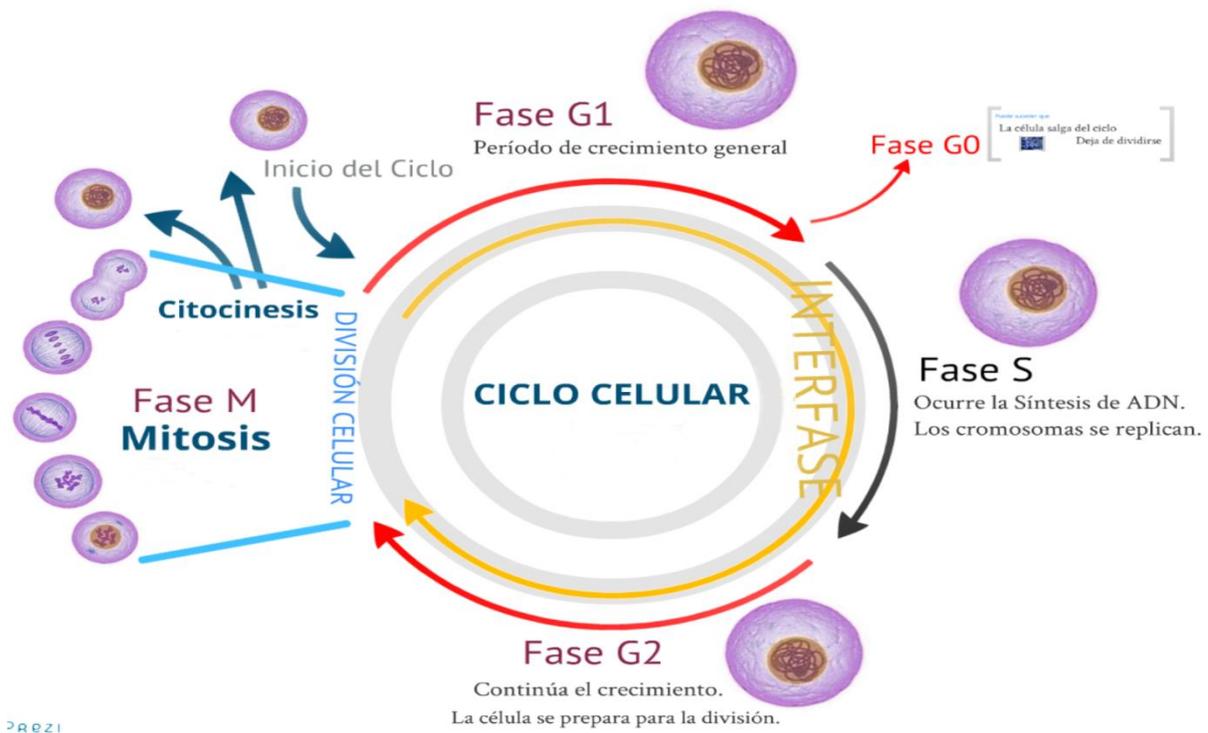
#### **4.7 Ciclo celular**

Una célula se reproduce llevando a cabo una secuencia ordenada de acontecimientos en los cuales duplica su contenido y luego se divide en dos. Este ciclo de duplicación y división es conocido como ciclo celular. El ciclo celular (también llamado ciclo de división celular) es una secuencia de sucesos que conducen primero al crecimiento de la célula y posteriormente a la división en células hijas.<sup>48</sup>

El ciclo celular es la base para la reproducción de los organismos. Su función no es solamente originar nuevas células sino asegurar que el proceso se realice en forma debida y con la regulación adecuada (con controles internos para evitar la posible creación de células con múltiples errores). La creación de nuevas células permite al organismo mantenerse en un constante equilibrio, previniendo así aquellos desórdenes que puedan perjudicar su salud (enfermedades congénitas, cáncer, etc.).<sup>46,49,51</sup>

Los controles internos en la célula son ejecutados por proteínas que no permiten que se presenten alteraciones en las células. El ciclo celular (figura 7) comprende dos periodos bien definidos:

1. La interfase (etapas G1 – S y G2), es el período comprendido entre divisiones



**Figura 7.** Ciclo celular, se observa la obtención de dos células hijas con la misma información genética. Imagen tomada de <http://www.google.com.mx/imgres?um=1&hl=es&biw=1024&b>

celulares, Se divide en tres subetapas: G1, S y G2.<sup>51,52</sup>

1.1 La etapa G1, del inglés Growth o Gap1, es la primera fase del ciclo celular, en la que existe crecimiento celular con síntesis de proteínas y de ARN. Es el período que transcurre entre el fin de una mitosis y el inicio de la síntesis de ADN. Tiene una duración de entre 6 y 12 h, y durante este tiempo la célula duplica su tamaño y masa debido a la continua síntesis de todos sus componentes.<sup>48,52</sup>

1.2 La etapa S (del inglés Synthesis) representa "Síntesis". Es la segunda fase del ciclo, en la que se produce la replicación o síntesis del ADN, como resultado cada cromosoma se duplica y queda formado por dos cromátidas idénticas. Con la duplicación del ADN, el núcleo contiene el doble de proteínas nucleares y de ADN que al principio. Tiene una duración de unos 6-8 h.<sup>48-50</sup>

1.3 La etapa G2 del inglés Growth o Gap2, es el tiempo que transcurre entre la fase S y el inicio de la mitosis (la célula se prepara para la mitosis). Tiene una duración entre 3 y 4 h. Termina cuando la cromatina empieza a condensarse al inicio de la mitosis.<sup>48,51,52</sup>

2. La división celular (etapa M). Esta tiene lugar por meiosis o mitosis.

2.1 La fase M, incluye la mitosis o reparto de material genético nuclear (donde se divide la cromatina duplicada de modo tal que cada célula hija obtenga una copia del material genético o sea un cromosoma de cada tipo) y la citocinesis (división del citoplasma).<sup>48,51,52</sup>

El ciclo completo dura aproximadamente 24 h y la fase M dura alrededor de 30 minutos. El final de la mitosis da inicio a un nuevo ciclo en G1 o puede que la célula entre en fase G0 que corresponde a un estado de reposo especial característico de algunas células, en el cual se comprueba que la célula esté en óptimas condiciones para iniciar la división.<sup>46-48</sup>

Como todo proceso orgánico, el ciclo celular está sujeto a regulación. Ésta es realizada en sitios específicos llamados puntos de control, que pueden frenar o disparar diversos procesos que le permitan a la célula proseguir con su ciclo normal de replicación del material genético, crecimiento y división. La función de la

regulación, básicamente es realizada por proteínas específicas conocidas como cinasas (kdc) y ciclinas (ciclinas A ó B).<sup>51-53</sup>

#### **4.8 Muerte celular**

El equilibrio de un organismo se mantiene por la existencia de mecanismos que regulan la proliferación, diferenciación y muerte celular. Los dos tipos de muerte celular más estudiados son necrosis y apoptosis. El primero implica un carácter patológico y se genera por un daño celular como la falta de oxígeno, que dañan a la célula de manera irreversible. En cambio la apoptosis responde a un mecanismo interno para terminar con aquellas células que deben ser eliminadas por razones funcionales como la reabsorción de la cola de un renacuajo, células envejecidas o que presentan un deterioro en su estructura o en su ADN.<sup>47,48,51,52</sup>

##### **4.8.1 Necrosis**

El origen de las alteraciones necróticas es un desequilibrio osmótico. La permeabilidad de la membrana plasmática se ve alterada y se facilita un flujo de iones anormal al interior de la célula, principalmente  $\text{Ca}^{2+}$ , acompañado de entrada de agua. Esta descompensación provoca un aumento en el tamaño de la célula y la dilatación de algunos organelos como la mitocondria y el retículo endoplásmico.<sup>51</sup>

El aumento de la concentración de los iones calcio en el interior de la célula inhibe la producción de ATP, al mismo tiempo estimula la síntesis de enzimas proteolíticas. La cromatina nuclear pierde su conformación original resultando en pequeños agregados; los ribosomas se desorganizan y los lisosomas se rompen.<sup>50</sup>

Como etapa final los organelos estallan, la membrana plasmática y la envoltura nuclear se fragmentan y el contenido celular se vierte al exterior, promoviendo la activación de las células fagocíticas que ingieren y degradan los desechos celulares, provocando un proceso inflamatorio (figura 8).<sup>51,52</sup>

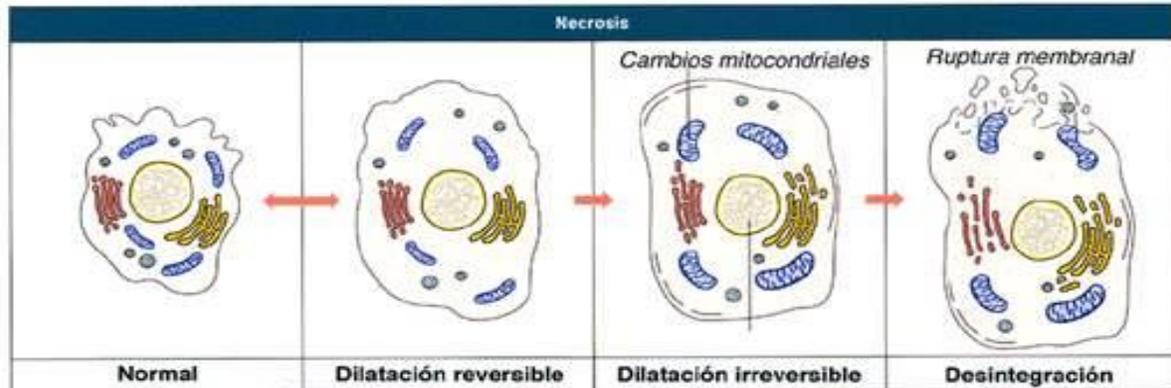


Figura 8. Necrosis celular, cambios morfológicos que sufre la célula durante una muerte necrótica. Imagen tomada de [https://www.google.com.mx/search?gs\\_rn=16&gs\\_](https://www.google.com.mx/search?gs_rn=16&gs_)

#### 4.8.2 Apoptosis

El desencadenamiento de la apoptosis puede ser consecuencia de la alteración de la membrana mitocondrial, en cuyo caso estaremos en la vía intrínseca u originarse por la unión de determinados ligandos con sus respectivos receptores en la superficie celular, vía extrínseca. A continuación se explica cada vía.<sup>51,52</sup>

##### Vía intrínseca

La mitocondria desempeña un papel importante en la apoptosis. El daño en el ADN, la hipoxia y la privación de factores de crecimiento entre otros, pueden modificar el equilibrio entre algunos miembros proapoptóticos y antiapoptóticos de la familia Bcl-2; si se favorecen los elementos proapoptóticos se altera la permeabilidad de la membrana mitocondrial y su potencial de membrana, liberándose diversos factores proapoptóticos como por ejemplo las procaspasas, el Factor de Inducción de Apoptosis (AIF por sus siglas en inglés), la endonucleasa G, el citocromo C, entre otros. La salida del citocromo C, componente de la cadena respiratoria mitocondrial, conlleva la activación de la procaspasa-9 a través de la formación de un complejo multiproteico denominado apoptosoma, en cuya formación desempeña un papel importante la proteína apaf-1. Tras su liberación de la mitocondria Apaf-1 se une al citocromo C y en presencia de ATP, se unirá a la procaspasa-9 inactiva

promoviendo su actividad. Esta caspasa a su vez activa a otras caspasas efectoras, como la caspasa-3, propiciando así la ruptura de las uniones del ADN (ver figura 9).<sup>51,52</sup>

### Vía extrínseca

Existe un amplio grupo de receptores llamados receptores de muerte (DR, Death Receptors), que tras unirse con su ligandos, son capaces de desencadenar la muerte celular por apoptosis (ver figura 9). En los receptores DR se pueden identificar dominios extracelulares, una región transmembranal y una cola intracitoplasmática en la que destaca el dominio de muerte (Death Domain DD). La unión de estos receptores con sus correspondientes ligandos conlleva la interacción de los DD con otros DD presentes en proteínas adaptadoras. Estas proteínas adaptadoras presentan a su vez dominios efectores de muertes (Death Effectors Domain DED) que interaccionan con los DED de la procaspasa-8 y 10 generando un complejo multimérico, DISC (Death-Inducing Signaling Complex) que permite la activación de las procaspasas y desencadena el comienzo de la apoptosis.<sup>47,52</sup>

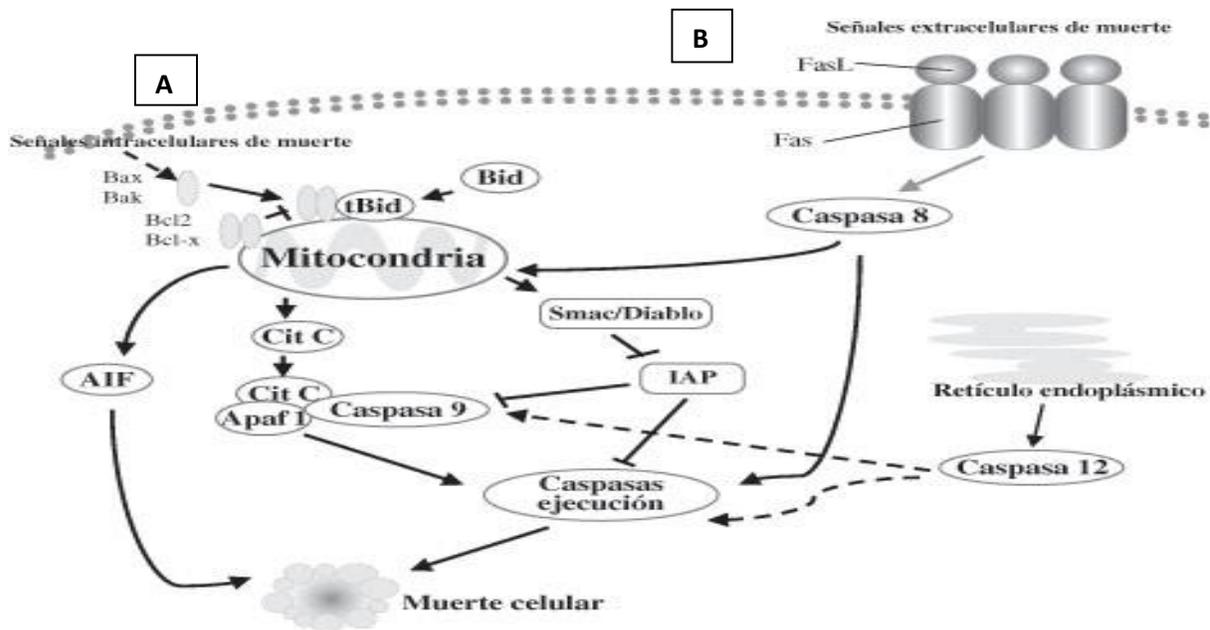


Figura 9. Representación de las vías de la apoptosis. A vía intrínseca; B vía extrínseca. Imagen tomada de <http://www.google.com.mx/imgres?um=1&hl=es&biw=1024&bih=543&tbn=isch&tbnid=>

## **4.9 Cáncer**

Cáncer es un término que se usa para enfermedades en las que células anormales genéticamente, se dividen sin control y pueden invadir otros tejidos. Las células cancerosas pueden diseminarse a otras partes del cuerpo por el sistema sanguíneo y por el sistema linfático (metástasis).<sup>54-56</sup>

El cáncer se concibe como un proceso de múltiples fases, en las que sucede una serie de alteraciones genéticas en el interior de la célula, que descontrolan el crecimiento, la diferenciación y la muerte celular, conduciendo a la malignización celular.<sup>53</sup> El material genético (ADN) de una célula puede dañarse o alterarse, lo cual produce mutaciones (cambios) que afectan el crecimiento y la división normal de las células. Cuando esto sucede, las células no mueren cuando deberían morir y células nuevas se forman cuando el cuerpo no las necesita. Las células que sobran forman una masa de tejido conocido como tumor (figura 10). Algunos cánceres no forman tumores, por ejemplo, la leucemia, que es un cáncer de la médula ósea y de la sangre.<sup>54</sup>

Hay más de 100 diferentes tipos de cáncer. La mayoría de los cánceres toman el nombre del órgano o de las células en donde empiezan; por ejemplo, el cáncer que empieza en el colon se llama cáncer de colon, el que comienza en el pulmón se conoce como cáncer de pulmón, y así sucesivamente.<sup>55-57</sup>

El cáncer a nivel mundial ocupa el primer lugar entre las causas de mortalidad para todos los grupos de edad adulta de ambos géneros; en 2012 fue responsable de 8.2 millones de defunciones a nivel mundial.<sup>1,2,3,57</sup>

El origen de esta enfermedad se da por características genéticas y estímulos ambientales, tales como la susceptibilidad genética individual a cancerígenos, que están en función de la respuesta metabólica del individuo y provoca que unas sustancias sean más tóxicas para su organismo; el consumo de tabaco y alcohol,

así como la administración de algunos fármacos de acción sistémica (hormonales e inmunodepresores) están asociados con la aparición de diferentes neoplasias.

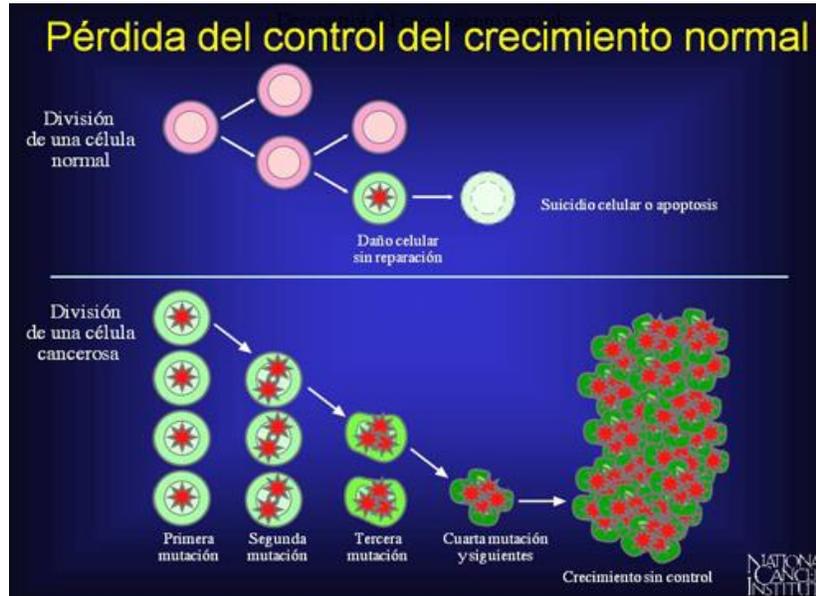


Figura 10. Arriba, división normal de una célula y eliminación de célula dañada (apoptosis). Abajo Pérdida del control de crecimiento normal de las células, generación de un tumor. Imagen tomada de <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>

Asimismo se han reconocido numerosos ADN y ARN virales asociados con neoplasias humanas producidas por una infección vírica. Por ejemplo el retrovirus humano HTLV-I (virus de la leucemia de células T humanas tipo I), el virus Epstein-Barr (VEB) y los virus de la hepatitis B y C que infectan de manera crónica al ser humano provocando neoplasia y el más representativo el virus del papiloma humano, del cual se conocen 77 tipos.<sup>55,56</sup>

#### **4.9.1 Cáncer cervicouterino (CaCu)**

El cáncer cervicouterino, es el segundo tipo de cáncer más frecuente en la población femenina, ocasionando la muerte de aproximadamente 274,000 mujeres cada año, de esta cifra el 80% de los casos se da en países en desarrollo, como México.<sup>1</sup>

El CaCu afecta el sistema reproductivo de la mujer. La causa predominante de éste se debe a diferentes tipos del virus del papiloma humano (VPH), una de varias

enfermedades venéreas. Aunque muchas mujeres contraen infecciones cervicales por el VPH,<sup>58</sup> la mayoría de ellas no progresan a cáncer de cuello de útero, por lo general, el sistema inmunológico del organismo evita que el virus afecte de forma grave al sistema reproductor. Sin embargo, en algunos casos, éste logra sobrevivir el tiempo suficiente para afectar las células localizadas en la superficie del cérvix, transformándolas en cancerígenas.<sup>3</sup> Esta transformación conlleva un periodo aproximado de 10 años.<sup>59</sup>

Las neoplasias intraepiteliales (neoplasias intracervicales, NIC) son lesiones caracterizadas por desorganización estructural y proliferación de células atípicas más o menos diferenciadas cuya evolución no siempre es progresiva; se desarrollan en la superficie que recubre el cuello uterino, lo cual es indetectable y asintomático en la mujer. Los cambios celulares asociados con una infección por el VPH, son encontrados comúnmente en las NIC. En algunos casos, las neoplasias intraepiteliales persisten o incluso remiten.<sup>5,59,60</sup>

Las lesiones preinvasivas se clasifican en tres grados:

- a) Displasia leve o NIC-1.
- b) Displasia moderada o NIC-2.
- c) Displasia grave o NIC-3 (carcinoma *in situ*) (figura 11).<sup>5,59,60</sup>

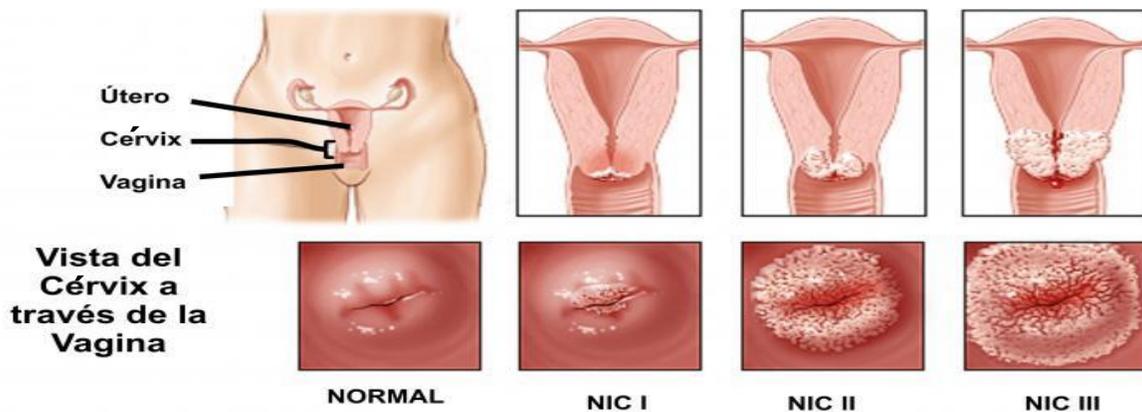


Figura 11. Vista normal del epitelio del cérvix y neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC) de grado 1, 2 y 3. Imagen tomada de <http://citotecnologiaucpic.blogspot.mx/>

#### **4.9.1.1 Factores de riesgo**

El principal factor de riesgo asociado al cáncer cervicouterino es la infección por VPH, los cuales son una familia de virus de ADN que causan lesiones genitales benignas papilomatosas. Se ha encontrado ADN viral en el 60-70% de los casos. Se han identificado más de 100 genotipos diferentes, de los cuales 30-40 son anogenitales, y de ellos 15-20 son considerados de alto riesgo por su capacidad oncogénica. Los subtipos 16 y 18 son los tipos oncogénicos más frecuentes, seguidos de los subtipos 31, 33 y 45. Existen evidencias que indican que las proteínas E6 y E7 codificadas por estos virus interfieren en la actividad de la proteína p53 evitando la apoptosis, facilitando así la proliferación de células genéticamente anormales. Existen otros virus de la familia que se consideran de bajo riesgo como los subtipos 6, 11, 40, 42, 43 y 44.<sup>58,61,62</sup>

Otros factores de riesgo que propician el contagio de CaCu son el inicio temprano de las relaciones sexuales, tener múltiples parejas sexuales, el tabaquismo que se asocia con un aumento del riesgo de padecer carcinoma epidermoide, presentar infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), tener historial de enfermedades de transmisión sexual (Chlamydia trachomatis, virus herpes simple [VHS] tipo 2, virus de Epstein-Barr), el uso prolongado de anticonceptivos orales, la multiparidad (tener más de tres partos), tener historia previa de displasia vulvar o vaginal, antecedentes familiares y otros factores como el uso de dietilestilbestrol (es un estrógeno sintético utilizado durante años para disminuir el riesgo de aborto en mujeres embarazadas y para tratar problemas de próstata) aumenta la incidencia de carcinoma de células claras de cérvix y de vagina.<sup>4,6,58,62</sup>

#### **4.9.1.2 Tratamiento del cáncer cervicouterino**

Algunas de las formas más comunes de cáncer, como el mamario, el cervicouterino, el bucal y el colorrectal, tienen tasas de curación más elevadas cuando se detectan tempranamente y se tratan correctamente. El tratamiento de CaCu va a depender de la edad y el nivel de avance en el que se encuentre el cáncer. Para el tratamiento

de cáncer cervical existen varias opciones de tratamiento como: Cirugía, radioterapia y quimioterapia por mencionar los más usados.<sup>6,62</sup>

#### **4.9.1.2.1 Cirugía**

Los procesos quirúrgicos varían según lo avanzada que esté la enfermedad. Puede implicar una criocirugía o cirugía láser si la lesión es mínima, una conización si tiene una lesión moderada; una histerectomía para retirar el útero en caso de una lesión grave. En ocasiones también son extirpados los ganglios linfáticos pélvicos. El proceso de recuperación varía según el tipo de cirugía que se requiera y se pueden presentar sangrados e infecciones en las heridas. En algunos casos se requiere ayuda psicológica para reincorporarse a su vida. En casos de metástasis esta terapia es ineficiente.<sup>4,62,63</sup>

#### **4.9.1.2.2 Radioterapia**

La radioterapia usa rayos X de alta energía para destruir las células cancerosas. Estos rayos X se pueden administrar externamente en un procedimiento que es muy parecido a la radiografía diagnóstica. Para el cáncer de cuello uterino, este tipo de radioterapia se administra a menudo con bajas dosis de un medicamento de quimioterapia llamado cisplatino.<sup>2,6,62,63</sup>

Entre los efectos secundarios que presenta este tratamiento son problemas estomacales, náuseas, vómitos, cansancio, irritación de la vejiga, menopausia prematura, irritación de la zona expuesta a radiación y relaciones sexuales dolorosas, su acción incide principalmente en células en división.<sup>4,62,63</sup>

#### **4.9.1.2.3 Quimioterapia**

La quimioterapia sistémica usa medicamentos contra el cáncer que se administran vía intravenosa u oral. Estos medicamentos entran al torrente sanguíneo y pueden llegar a todas las áreas del cuerpo, lo que hace que este tratamiento sea muy útil para eliminar las células cancerosas en la mayoría de las partes del cuerpo. A

menudo, la quimioterapia se administra en ciclos, de manera que cada período de tratamiento va seguido de un período de recuperación. Los medicamentos que se utilizan con más frecuencia para tratar el cáncer de cuello uterino incluyen al cisplatino, carboplatino, paclitaxel (Taxol®), topotecán, gemcitabina (Gemzar®), docetaxel (Taxotere®), ifosfamida (Ifex®), 5-fluorouracilo (5-FU), irinotecán (Camptosar®) y mitomicina o combinaciones de estos. Algunos de los efectos secundarios de este tratamiento son náusea y vómito, cansancio, úlceras en la boca, falta de apetito, pérdida de cabello, diarrea, problemas respiratorios, depresión del sistema inmune, anemia y problemas nerviosos.<sup>6,59-63</sup>

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer cervicouterino es el segundo tipo de cáncer más frecuente en mujeres a nivel mundial. Las estadísticas muestran que 83% de los casos nuevos y 85% de las muertes ocasionadas por esta neoplasia ocurren en los países en desarrollo.<sup>1,3</sup> Los tratamientos actuales resultan ser ineficientes en pacientes terminales, altamente citotóxicos, costosos, agresivos y poco selectivos, generando la necesidad de implementar nuevas alternativas terapéuticas que sean más factibles en el aspecto costo-beneficio.<sup>2,60,61</sup>

Actualmente la medicina herbolaria es una alternativa muy explotada para el tratamiento de gran número de padecimientos, sobre todo en México, donde se tiene una gran diversidad botánica.<sup>7</sup> En algunas regiones del país, como el estado de Morelos, Oaxaca y Guerrero se utilizan infusiones de la corteza del mango como tratamiento para inflamaciones, diarreas, infecciones por microorganismos, diabetes y cáncer. Esta última actividad terapéutica no ha sido probada y se desconoce el principio activo, por lo que es necesario en primer lugar determinar la actividad antitumoral del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* con la intención de obtener información que permita proponer a el extracto de mango como una alternativa que deberá ser estudiada para fines terapéuticos contra el cáncer.

## **6. HIPÓTESIS**

Se ha descrito que extractos provenientes de la corteza de diferentes plantas como la Yuca, presentan diversas actividades biológicas tales como antiinflamatorias, antibacterianas, antidiarreicas, hipoglucemiantes, antioxidantes y antiproliferativas sin efectos citotóxicos, por lo que se espera que el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* presente un efecto antiproliferativo sobre la línea celular de cáncer cervicouterino HeLa, sin provocar citotoxicidad en células no tumorales.

## 7. OBJETIVOS

### 7.1 Objetivo general

Determinar el potencial antiproliferativo y el efecto citotóxico del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* en cultivos de la línea tumoral de cérvix HeLa y en células no tumorales.

### 7.2 Objetivos particulares

- Obtener el extracto acuoso-etanólico (60:40) de una muestra de corteza de *Mangifera indica L.*
- Determinar la concentración de extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* que abate la proliferación celular en un 50 % (IC<sub>50</sub>) en la línea celular de cáncer cervicouterino HeLa.
- Evaluar el efecto citotóxico del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* en la línea celular de cáncer cervicouterino HeLa, mediante dos parámetros de daño a la integridad de la membrana celular.
- Establecer si el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* induce a las células HeLa a presentar una morfología apoptótica así como inducir condensación de la cromatina nuclear, considerados como dos parámetros de muerte apoptótica.
- Determinar si la concentración de extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* que afecta la proliferación celular en un 50 % (IC<sub>50</sub>) en

células tumorales HeLa, afecta de igual forma el potencial proliferativo de células linfocíticas no tumorales provenientes de sangre periférica humana.

- Comprobar si la concentración de extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* que afecta la proliferación celular en un 50 % (IC<sub>50</sub>) en células tumorales HeLa, provoca un efecto necrótico en cultivos de células linfocíticas no tumorales provenientes de sangre periférica humana, mediante la detección de la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en los sobrenadantes de los cultivos celulares.

## 8. MÉTODO

### **Obtención del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.***

La obtención del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* se realizó en el laboratorio de Síntesis de Fármacos y Materias Primas L-312, a cargo del Q. Carlos Salvador Váladez Sánchez (FES Zaragoza). Se colocaron 25 g de corteza molida y se dejó a reflujo por 1 h con 150 mL de agua-etanol (60:40), se filtró a vacío para retirar los restos de la corteza y por último se sometió a una destilación hasta obtener un sólido.

### **Preparación del stock del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.***

1 mg de extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* fue solubilizado en 100  $\mu$ L de agua-etanol (60:40) en un tubo cónico tipo Eppendorf de 600  $\mu$ L.

### **Determinación de la concentración de extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* que abate el 50% del número celular de cultivos de células tumorales**

Se cultivaron células de la línea tumoral HeLa en cajas de plástico de 96 pozos (Corning, USA), a una densidad de 7,500 células/pozo en 100  $\mu$ L de RPMI-1640 al 5% de suero neonatal de ternera (SNT), por 24 h. Posteriormente se retiró el medio de cultivo y se adicionó el extracto en concentraciones de 0  $\mu$ g/mL a 200  $\mu$ g/mL, durante 24 h. El control para el vehículo empleado en la solubilización del extracto, H<sub>2</sub>O-EtOH, contempla la máxima concentración utilizada en la preparación del extracto a 200  $\mu$ g/mL, 10  $\mu$ L de agua-etanol diluido en 1 mL RPMI-1640 al 5% de SNT, al control testigo únicamente se le realiza el cambio de medio por medio de cultivo fresco. Al término del estímulo se procedió a evaluar el número celular de acuerdo a la técnica de incorporación de cristal violeta. Para ello se retiró el medio

de cultivo e inmediatamente las células se fijaron con glutaraldehído al 1.1% (Sigma-Aldrich, USA) en agua destilada por 15 min, al término de los cuales se retiró el fijador para posteriormente lavar las células con agua destilada, a continuación se dejó secar al aire y se añadió el colorante cristal violeta (Sigma-Chemical Co.) al 0.1% en ácido fórmico (Sigma-Aldrich, USA) por 20 min. Se retiró el exceso de colorante a través de lavados con agua destilada y nuevamente se deja secar al aire. Por último, el colorante incorporado en el núcleo de las células se solubilizó con ácido acético (J.T. Baker, MEX) al 10% en agitación por 20 min. Finalmente se midió la absorbancia a 590 nm en un espectrofotómetro (Image Tecan Spectra). Cada uno de los tratamientos se realizó por sextuplicado. En cada caso los resultados fueron analizados por regresión lineal para la obtención de la concentración que abate el 50% de la población celular ( $IC_{50}$ ).

#### **Identificación de efecto apoptótico inducido por el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* por tinción con diamino-fenol-indol (DAPI) en células de cáncer cervicouterino HeLa**

Se cultivaron células de la línea tumoral HeLa en cajas Petri de 5 cm de diámetro con cristales de 1 cm<sup>2</sup> adheridos al fondo de la caja, a una densidad de 500 000 células/caja en 5 mL de RPMI-1640 al 5% de SNT, por 24 h. Posteriormente se retiró el medio de cultivo y se adicionó el extracto a la concentración de  $IC_{50}$ , durante 24 h. El control para el vehículo empleado en la solubilización del extracto, H<sub>2</sub>O-EtOH, contempla la máxima concentración utilizada en la preparación del extracto a la concentración de  $IC_{50}$ , en 5 mL de RPMI-1640 al 5% de SNT, al control testigo únicamente se le realiza el cambio de medio por medio de cultivo fresco y al control positivo se le agrega Camptotecina a su concentración de  $IC_{50}$  para esta línea celular. Al término del estímulo se procedió a evaluar el cambio morfológico en las células y los núcleos de estas mediante la incorporación de DAPI. Para ello se retiró el medio de cultivo e inmediatamente las células fueron fijadas con etanol al 70% por 15 min, al término de los cuales se retiró el fijador para posteriormente

lavar las células con PBS frío, a continuación se agregaron 3  $\mu$ L de DAPI dejando reposar por 5 min en oscuridad, después se lavó nuevamente con PBS frío y colocó sobre un portaobjetos limpio con 2  $\mu$ L de medio de montaje, se selló con barniz de uñas transparente. Por último se observó en microscopio de contraste de fases y epifluorescencia.

**Determinación de daño en la membrana celular provocado por el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* mediante incorporación de ioduro de propidio (IP) en células de cáncer cervicouterino HeLa**

Se cultivaron células de la línea tumoral HeLa en placa de 24 pozos, a una densidad de 50 000 células HeLa/pozo con 500  $\mu$ L de RPMI-1640 al 5% de SNT por 24 h a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>. Posteriormente se retiró el medio de cultivo y se adicionó el extracto a la concentración de IC<sub>50</sub>, durante 24 h. El control para el vehículo empleado en la solubilización del extracto, H<sub>2</sub>O-EtOH, contempla la máxima concentración utilizada en la preparación del extracto a la concentración de IC<sub>50</sub>, en 500  $\mu$ L de RPMI-1640 al 5% de SNT, a los controles testigo únicamente se le realizó el cambio de medio por medio de cultivo. Al término del estímulo se procedió a evaluar la incorporación de IP mediante citometría de flujo. Para ello se retiró el medio de cultivo e inmediatamente se agregaron 500  $\mu$ L de verseno por 5 min, al término de los cuales se recolectó en tubos de citómetro, posteriormente se centrifugó a 1500 rpm por 5 min, pasado el tiempo se decantó el sobrenadante de cada tubo y resuspendieron las células de cada tubo en 1 mL de PBS. Para el control positivo se resuspendió el botón celular en 1 mL de Etanol al 70%, dejando en frío por 15 min. Se centrifugó a 1500 rpm por 5 min y decantó el sobrenadante. Se añadió 1 mL de PBS y resuspendió el botón celular. A todas las muestras se adicionaron 3  $\mu$ L de ioduro de propidio, homogenizando con suavidad. Las muestras se analizaron en citómetro de flujo.

### **Determinación de muerte celular por necrosis provocada por el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* por medio de la liberación de la enzima LDH en células tumorales**

En una caja de 24 pozos se sembraron 50 000 células HeLa con 500  $\mu$ L de RPMI al 5% de SNT, por 24 h. Los tratamientos se hicieron por triplicado. Posteriormente se retiró el medio de cultivo y se realizaron los siguientes tratamientos: dos controles a los que únicamente se les hizo cambio de medio de cultivo, un control para H<sub>2</sub>O-EtOH con la concentración empleada para preparar la IC<sub>50</sub> correspondiente y el tratamiento con extracto a la concentración IC<sub>50</sub> correspondiente a esta línea celular. A las 23 h de tratamiento, a uno de los cultivo control se le hizo un nuevo cambio de medio de cultivo por medio fresco al 1% de tritón X-100 y se dejó que el ensayo completara las 24 h de tratamiento.

Para la determinación de la actividad de la enzima LDH liberada al medio de cultivo, los sobrenadantes de los cultivos se colectaron de manera individual en tubos cónicos de plástico de 600  $\mu$ L y centrifugaron a 2000 rpm por 5 min, 40  $\mu$ L de los sobrenadantes fueron traspasados a una placa de 96 pozos, para su evaluación. La actividad de LDH se determinó con el kit Cyto Tox 96 (Promega, USA), del cual se agregaron 40  $\mu$ L de la mezcla de reacción. Se incubó a temperatura ambiente protegiendo de la luz por 30 min. Se evaluó a una longitud de onda de 490 nm en un espectrofotómetro (Image Tecan Spectra). Los datos se analizaron haciendo una comparación relativa al control positivo tratado con tritón X-100.

### **Efecto del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* sobre la proliferación de linfocitos humanos marcados con carboxifluoresceína**

En tubos Vacutainer® con EDTA, se obtuvieron 20 mL de sangre periférica de un voluntario sano y se colocaron (5 mL) en tubos cónico de vidrio de 15 mL (Pirex, USA), con 5 mL de Histopaque (Sigma-Aldrich USA) (un total de 4 tubos), se centrifugaron (centrifuga; Dinac, USA), inicialmente a una velocidad de 300 rpm y

se aumenta gradualmente la velocidad (300 rpm cada 2 min) hasta llegar a 1500 rpm después de lo cual se dejó centrifugando por 25 min más. Con ayuda de la pipeta de 1000  $\mu$ L se retiró el plasma y se colectó el anillo de linfocitos, posteriormente el paquete celular obtenido de cada tubo fue transferido a tubos limpios y se resuspendió con 10 mL de PBS (por tubo), se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min, se retiró el sobrenadante y se resuspendió en 1 mL de RPMI - 1640 sin suero. El total de células quedó contenido en un solo tubo con un volumen total de 4 mL. Se centrifugó la suspensión celular a 1500 rpm durante 5 min, se retiró el sobrenadante y se resuspendió nuevamente el botón celular en 5 mL de RPMI - 1640 al 20 % de SFB. Se tomó una alícuota de 20  $\mu$ L, y se determinó el número celular con ayuda de la cámara de Neubauer.

Para marcar las células linfocíticas con carboxifluoresceína (CSFE) (Sigma-Aldrich, USA) los linfocitos se resuspendieron en 4 mL de PBS con 10  $\mu$ L de carboxifluoresceína (12  $\mu$ moles/mL de solución o por millón de células) y se incubaron 15 min protegidos de la luz a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron con PBS al 5% de SFB, se centrifugaron a 1500 rpm (dos veces) y se resuspendieron en 4 mL de RPMI-1640 al 20% de SFB. Para activarlos con fitohemaglutinina (PHA), los linfocitos fueron transferidos a tubos cónicos de plástico de 1.6 mL a una densidad de  $10^6$  células/mL de RPMI-1640 al 20% de SFB y 25  $\mu$ L de fitohemaglutinina/mL (diluida 1:10 de PBS) (Micro Lab S.A., Méx.). La preparación de los tratamientos se realizó en este momento: control solo con medio de cultivo con y sin PHA, control para el vehículo al cual se le agregó la cantidad de H<sub>2</sub>O-EtOH empleada en la preparación de la concentración IC<sub>50</sub> obtenida para células tumorales de CaCu HeLa, y el extracto en la concentración IC<sub>50</sub> para células tumorales HeLa. Las células contenidas en cada tubo cónico fueron sembradas en una placa de cultivo de 96 pozos a una concentración de 200,000 células/pozo en un volumen de 200  $\mu$ L e incubadas en condiciones de cultivo por 72 h.

Para la evaluación, las células fueron cosechadas extrayendo todo el medio de cultivo, y colectando en tubos cónicos de plástico de 1.6 mL. Se centrifugaron a

1500 rpm por 5 min, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en 1 mL de verseno frío; se centrifugó nuevamente y se retiró el verseno. Posteriormente se resuspendió con 1 mL de PBS. Las células fueron evaluadas en un citómetro de flujo FACSAria II. Los datos se analizaron haciendo una comparación con respecto al control positivo para proliferación, células tratadas con PHA.

**Determinación de muerte celular por necrosis provocada por el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* por medio de la liberación de la enzima LDH en cultivos de linfocitos humanos**

En tubos Vacutainer® con EDTA, se obtuvieron 20 mL de sangre periférica de un voluntario sano y se colocaron (5 mL) en tubos cónico de vidrio de 15 mL (Pirex, USA), con 5 mL de Histopaque (un total de 4 tubos), se centrifugaron (centrífuga; Dinac, USA), inicialmente a una velocidad de 300 rpm y se aumentó gradualmente la velocidad (300 rpm cada 2min) hasta llegar a 1500 rpm después de lo cual se dejó centrifugando por 25 min más. Con ayuda de la pipeta de 1000 µL se retiró el plasma y se colectó el anillo de linfocitos, posteriormente el paquete celular obtenido de cada tubo fue transferido a tubos limpios y se resuspendió con 10 mL de PBS (por tubo), se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min, se retiró el sobrenadante y se resuspendió en 1 mL de RPMI-1640 sin suero. El total de células quedó contenido en un solo tubo con un volumen total de 4 mL. Se centrifugó la suspensión celular a 1500 rpm durante 5 min, se retiró el sobrenadante y se resuspendió nuevamente el botón celular en 5 mL de RPMI-1640 al 20% de SFB. Se tomó una alícuota de 20 µL, y se determinó el número celular con ayuda de la cámara de Neubauer.

Los linfocitos fueron transferidos a tubos cónicos de plástico de 1.6 mL a una densidad de  $10^6$  células/mL de RPMI-1640 al 20% de SFB y 25 µL de fitohemaglutinina/mL (diluida 1:10 de PBS) (Micro Lab S.A., Méx.). La preparación de los tratamientos se realizó en este momento: control solo con medio de cultivo

con PHA, control positivo al cual en este momento no se agrega tritón X-100, control para el vehículo al cual se le agrega la cantidad de H<sub>2</sub>O-EtOH empleada en la preparación de la concentración IC<sub>50</sub> para células tumorales de CaCu HeLa, el extracto en la concentración IC<sub>50</sub> para células tumorales HeLa. Las células contenidas en cada tubo cónico fueron sembradas en una placa de cultivo de 96 pozos a una concentración de 200,000 células/pozo en un volumen de 200 µL de RPMI-1640 al 20% de SFB y son incubadas en condiciones de cultivo por 72 h.

Para la evaluación, a las 71 h de tratamiento al control positivo se le agregaron 2 µL de tritón X-100 y se homogenizó suavemente el medio de cultivo, se incubó por 1 h más. A las 72 h de cultivo las células fueron cosechadas extrayendo todo el medio de cultivo, se colectó en tubos cónicos de plástico de 1.6 mL de manera individual. Se centrifugó a 1500 rpm por 5 min, y se traspasaron 40 µL de cada muestra y de cada tratamiento a una placa de 96 pozos para su evaluación. La actividad de LDH se determinó con el kit Cyto Tox 96 (Promega, USA), del cual se agregaron 40 µL de la mezcla de reacción. Se incubó a temperatura ambiente protegiendo de la luz por 30 min. Se evaluó a una longitud de onda de 490 nm en un espectrofotómetro lector de placas de Elisa (Image Tecan Spectra). Los datos se analizaron haciendo una comparación relativa al control positivo tratado con tritón X-100. Todas las muestras fueron por triplicado.

## 9. RESULTADOS

### **Recolección, autenticación y extracción de la corteza de árbol de *Mangifera indica L.***

Se colectó corteza del árbol de *Mangifera indica L.* fresca en Julio de 2012 en Chilpancingo de los Bravos, Guerrero. Las muestras se autenticaron como *Mangifera indica L.* con el número de registro 15 802 por la M. en C. Abigail Aguilar Contreras, directora del Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

Se obtuvo un sólido de corteza del árbol de *Mangifera indica L.* a partir de 25 g de corteza seca, con un rendimiento del 20%.

### **Actividad antiproliferativa del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.*, en cultivos de células tumorales HeLa**

#### **Determinación de la IC<sub>50</sub>**

Con el propósito de establecer el efecto antiproliferativo del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* en las células tumorales, cultivos de células HeLa fueron estimuladas con diferentes concentraciones del compuesto y la concentración requerida del extracto que induce un decremento del 50 % en la densidad celular (IC<sub>50</sub>) fue determinada. El número celular fue evaluado por medio de la técnica de tinción con cristal violeta (Figura 12).

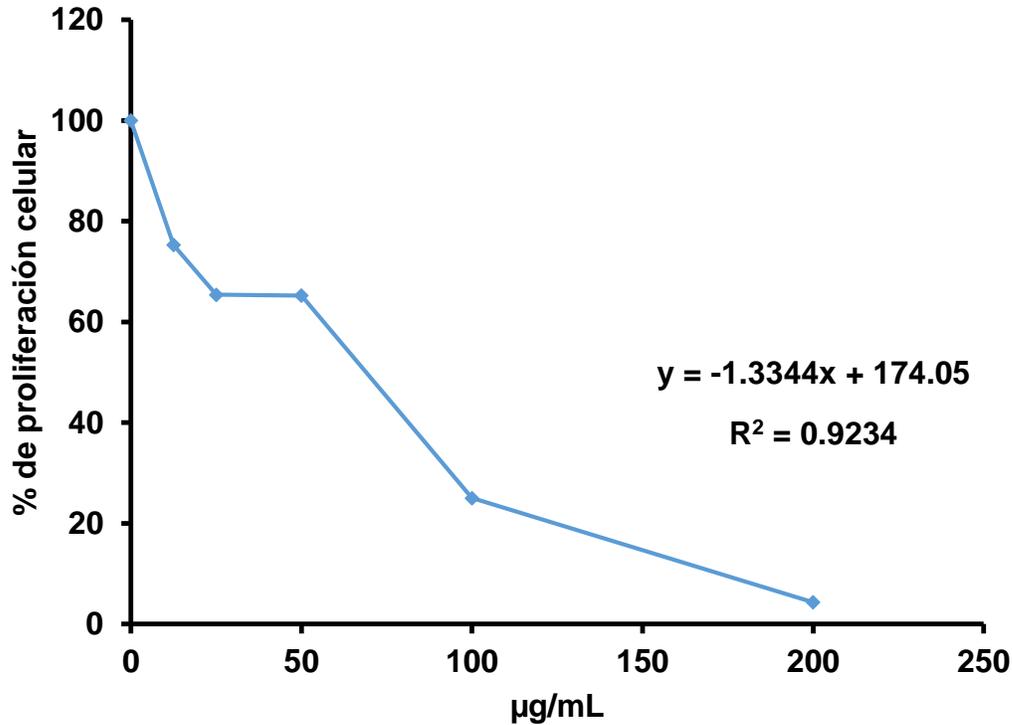


Figura 12. Efecto antiproliferativo del extracto acuoso-etanólico de la corteza de árbol de *Mangifera indica* L. sobre células de cáncer cervicouterino HeLa, 7500 células fueron sembradas en placas de 96 pozos y estimuladas por 24 h a concentraciones de 0 a 200 µg/mL del extracto. El porcentaje de proliferación se cuantifica con la técnica de incorporación de cristal violeta y la IC<sub>50</sub> fue calculada con ayuda de la ecuación de la recta.

### Confirmación de IC<sub>50</sub>

Como se puede apreciar en la figura 12, el extracto acuoso-etanólico de la corteza del árbol de *Mangifera indica* L. afectó el potencial proliferativo de las células tumorales de una manera dependiente de la dosis, con una IC<sub>50</sub> calculada de 95 µg/mL.

Con la intención de confirmar la IC<sub>50</sub> obtenida para las células HeLa, cultivos de células HeLa fueron tratadas con 95 µg/mL de extracto y el número celular fue evaluado mediante la técnica de cristal violeta (Fig.13).

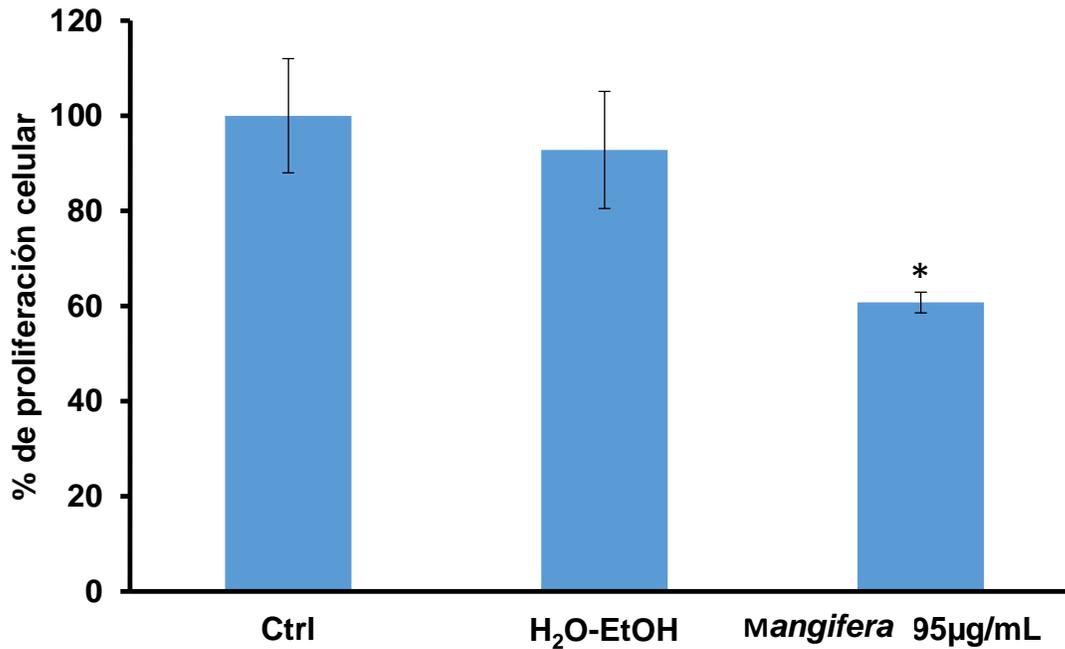


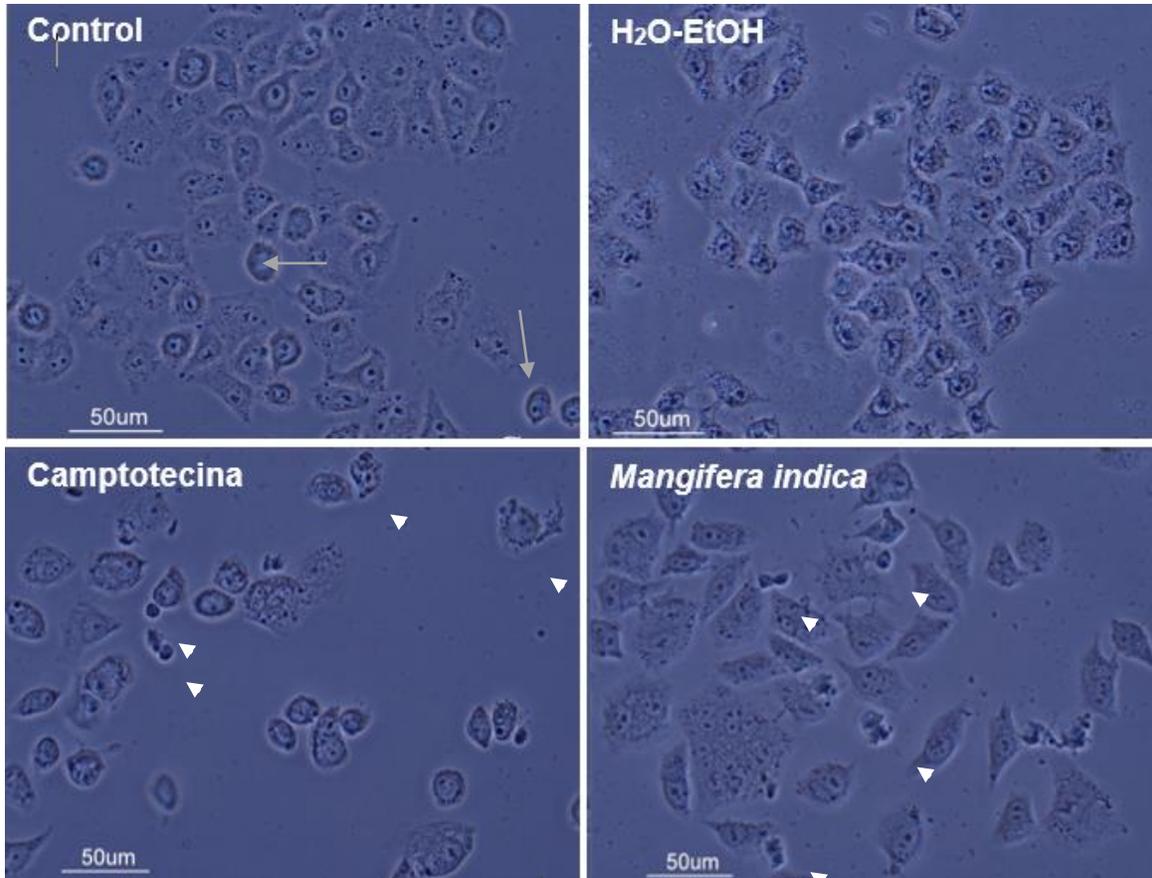
Figura 13. Efecto del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. sobre el potencial proliferativo de las células tumorales de CaCu HeLa. Ctrl: células cultivadas con RPMI al 5 % de SNT. H<sub>2</sub>O-EtOH: células cultivadas con RPMI al 5% de SNT y 1% de una mezcla de agua-etanol 60:40. Mango 95 µg/mL: células cultivadas con RPMI al 5% de SNT, 1% de una mezcla de agua-etanol 60:40 y 95 µg/mL de extracto de mango. \* indica que existe diferencia significativa con  $p < 0.05$  vs H<sub>2</sub>O-EtOH ANDEVA, seguido de una prueba de Tukey  $n=6$ .

Como se puede apreciar en la figura 13, se confirmó que la concentración de 95 µg/mL del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L disminuye en un 50 % el número celular de cultivos de células de CaCu HeLa.

### Efecto del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. sobre la morfología de células HeLa

Con el fin de evaluar si el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. induce a las células HeLa a presentar una morfología apoptótica, cultivos de células HeLa fueron estimulados con 95 µg/mL del extracto durante 24 h y

posteriormente los cultivos fueron observados y fotografiados en un microscopio de campo claro (Aus Jena Sedival) mediante la técnica de contraste de fases (figura 14).



**Figura 14.** Micrografías ópticas con iluminación de contraste de fases. Células HeLa tratadas por 24 h con una concentración de 95 µg/mL del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica* L. En el control y en el vehículo se observan células con forma poliédrica, citoplasma extendido y núcleo de forma regular. Algunas células están en división (flechas). Las células tratadas con camptotecina muestran cambios morfológicos como compactación citoplasmática y nuclear, indicando cuerpos apoptóticos (cabezas de flecha). Las células tratadas con el extracto de mango presentan una fuerte compactación celular (cabezas de flecha).

Las células control y las tratadas con el vehículo, muestran la clásica morfología poliédrica para las células HeLa. Estas células poseen un citoplasma extendido y mantienen un estrecho contacto entre ellas. El núcleo posee una morfología regular con uno o varios nucléolos grandes con respecto al tamaño nuclear indicando que los nucléolos son funcionales. Cuando las células son tratadas con el inductor de apoptosis camptotecina, algunas células se ven afectadas y su morfología cambia,

mostrando una contracción citoplasmática evidenciada por la separación entre ellas y la forma esférica. Algunas células muestran alteraciones más avanzadas en forma de claros cuerpos apoptóticos. Los cultivos tratados con el extracto de mango presentan diferentes fases del proceso apoptótico, algunas células empiezan a perder la extensión citoplasmática mientras que otras expresan una fuerte compactación celular que indica la formación de cuerpos apoptóticos (figura 14).

### **Condensación y/o fragmentación de la cromatina nuclear inducido por el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* en células de cáncer cervicouterino HeLa**

Con el fin de establecer los efectos del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* sobre la cromatina de células HeLa, los cultivos fueron estimulados con 95 µg/mL del extracto por 24 h y posteriormente los núcleos fueron teñidos con el colorante fluorescente DAPI, que es específico para ADN. Las células fueron evaluadas y fotografiadas con un microscopio de epifluorescencia (Fig.15).

Las células control y las tratadas con el vehículo, presentan un núcleo con cromatina laxa y compacta distribuida en el núcleo. Las regiones con intensa tinción corresponden a cromatina compacta. En ambos casos los núcleos presentan tamaños similares. Esta tinción también permite observar el arreglo de la cromatina en forma de cromosomas en aquellas células que están en diferentes fases del proceso de división (flechas figura 15). Los núcleos de las células tratadas con la camptotecina presentan cambios que evidencian una compactación de la cromatina, la cual se puede apreciar por la disminución del tamaño nuclear. También se pueden observar algunos cuerpos apoptóticos que indican la fragmentación de la cromatina (cabeza de flecha figura 15). El tratamiento con el extracto de mango provoca una reducción nuclear y una fuerte compactación de la cromatina, que está evidenciada por el incremento de la intensidad de la fluorescencia. Tras este tratamiento, la cromatina se fragmenta dando origen a los cuerpos apoptóticos (cabezas de flecha figura 15).

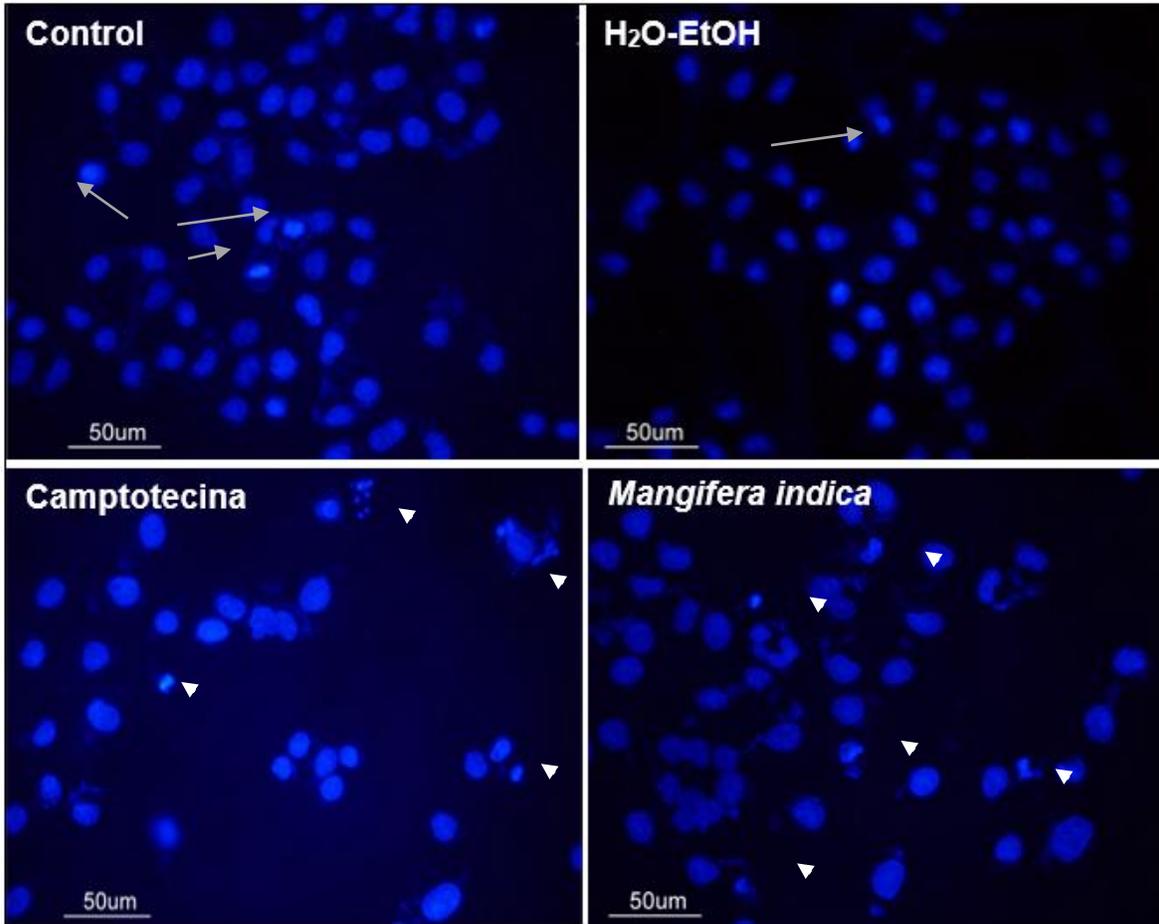


Figura 15. Micrografía de fluorescencia. Células HeLa teñidas con DAPI. Los núcleos de las células control y del vehículo poseen cromatina distribuida en el nucleoplasma. Algunas presentan figuras mitóticas (flechas). Las células tratadas con camptotecina y con el extracto inducen la condensación y/o fragmentación de la cromatina (cabezas de flecha).

Los resultados mostrados en la figura 15, indican que el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* induce en las células de cáncer cervicouterino un proceso de muerte apoptótica.

### **Efecto necrótico (citotóxico) del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* en células tumorales HeLa.**

Con la intención de establecer si la actividad antiproliferativa presente en el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.*, es debido a un efecto

necrótico (citotóxico), cultivos de células HeLa fueron estimulados con 95 µg/mL del extracto por 24 h y la pérdida de la integridad de la membrana celular fue evaluada mediante la incorporación celular de IP cuantificada por citometría de flujo y a través de la cuantificación de la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) presente en los sobrenadantes provenientes de los cultivos celulares (Figura 16 y 17).

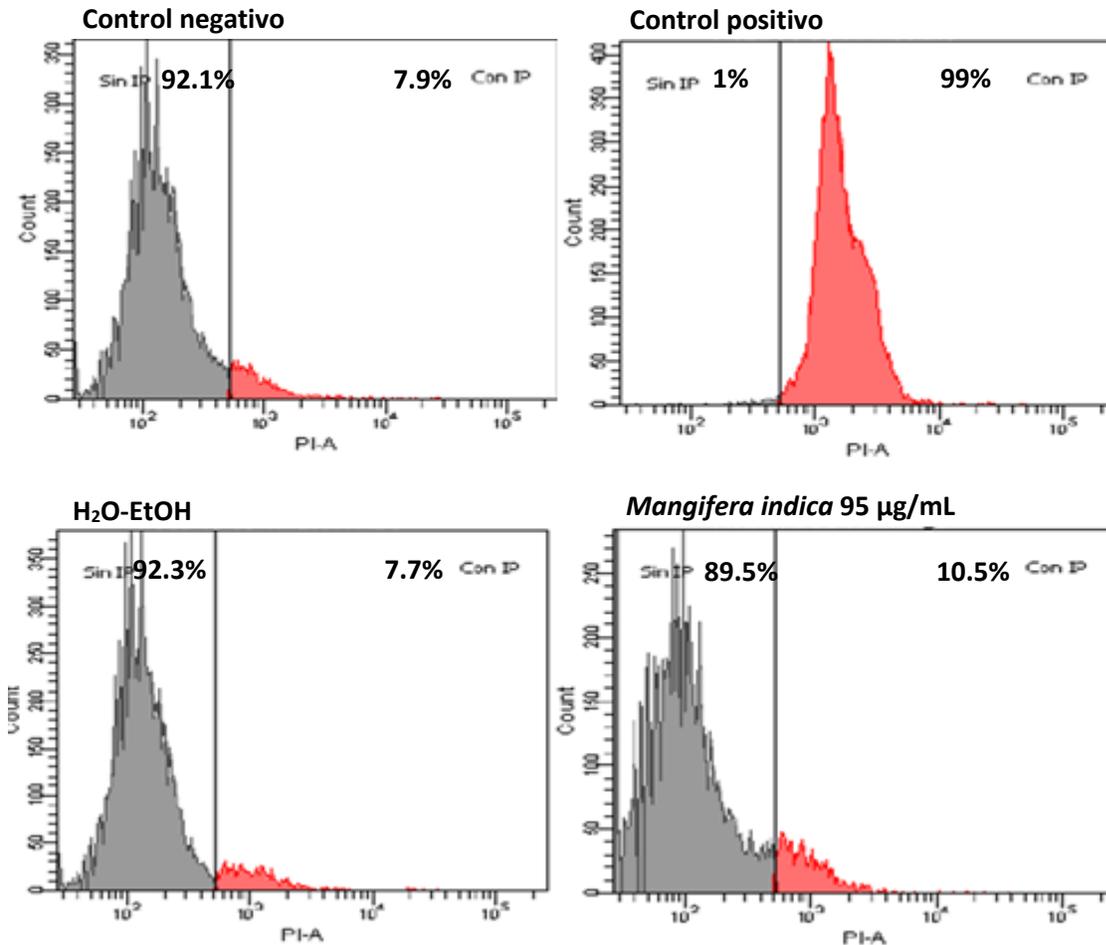


Figura 16. Determinación de muerte por necrosis inducida por *Mangifera indica* L. Incorporación celular de yoduro de propidio en células de CaCu HeLa (área roja del histograma). Control negativo, células sin tratamiento, incubadas con RPMI al 5% de SNT por 24 h. Control positivo, células tratadas con EtOH al 70% en frío por 15 min. H<sub>2</sub>O-EtOH (60:40), vehículo utilizado para disolver el extracto. Extracto de *Mangifera indica* 95 µg/mL. Las imágenes representan uno de tres ensayos independientes.

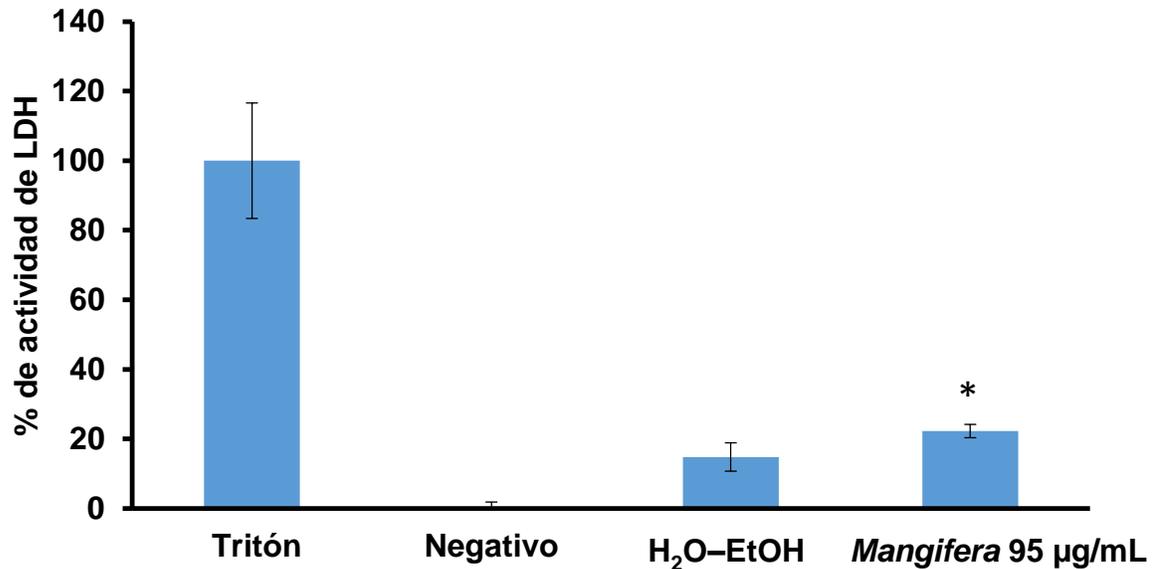


Figura 17. Determinación de muerte por necrosis inducida por *Mangifera indica* L. Se evaluó la actividad de la enzima LDH en sobrenadantes provenientes de cultivos de la línea celular HeLa (7500 células por pozo en placas de cultivo de 96 pozos), estimuladas con la IC<sub>50</sub> respectiva por 24 h. La liberación máxima de LDH (100%) se determinó con la aplicación de tritón X-100 por 1 h a un tratamiento control. La gráfica representa uno de tres ensayos independientes. \* indica que no existe diferencia significativa con  $p < 0.05$  vs H<sub>2</sub>O-EtOH ANDEVA, seguido de una prueba de Tukey  $n=3$ .

Los resultados mostrados en las figuras 16 y 17 indican que el extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica* L. genera una baja o nula incorporación celular de IP así como una baja o nula actividad de LDH, sugiriendo que el extracto no induce a las células HeLa a una muerte celular necrótica.

### **Efecto antiproliferativo del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica* L. sobre células no tumorales (Linfocitos humanos de sangre periférica)**

Para determinar si el extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica* L. afecta el potencial proliferativo de linfocitos humanos, éstos fueron cultivados en presencia del extracto a una concentración de 95 µg/mL y marcados con carboxifluoresceína durante 72 h; el potencial proliferativo fue evaluado por citometría de flujo (FACS ARIA-II B D) (Figura 18).

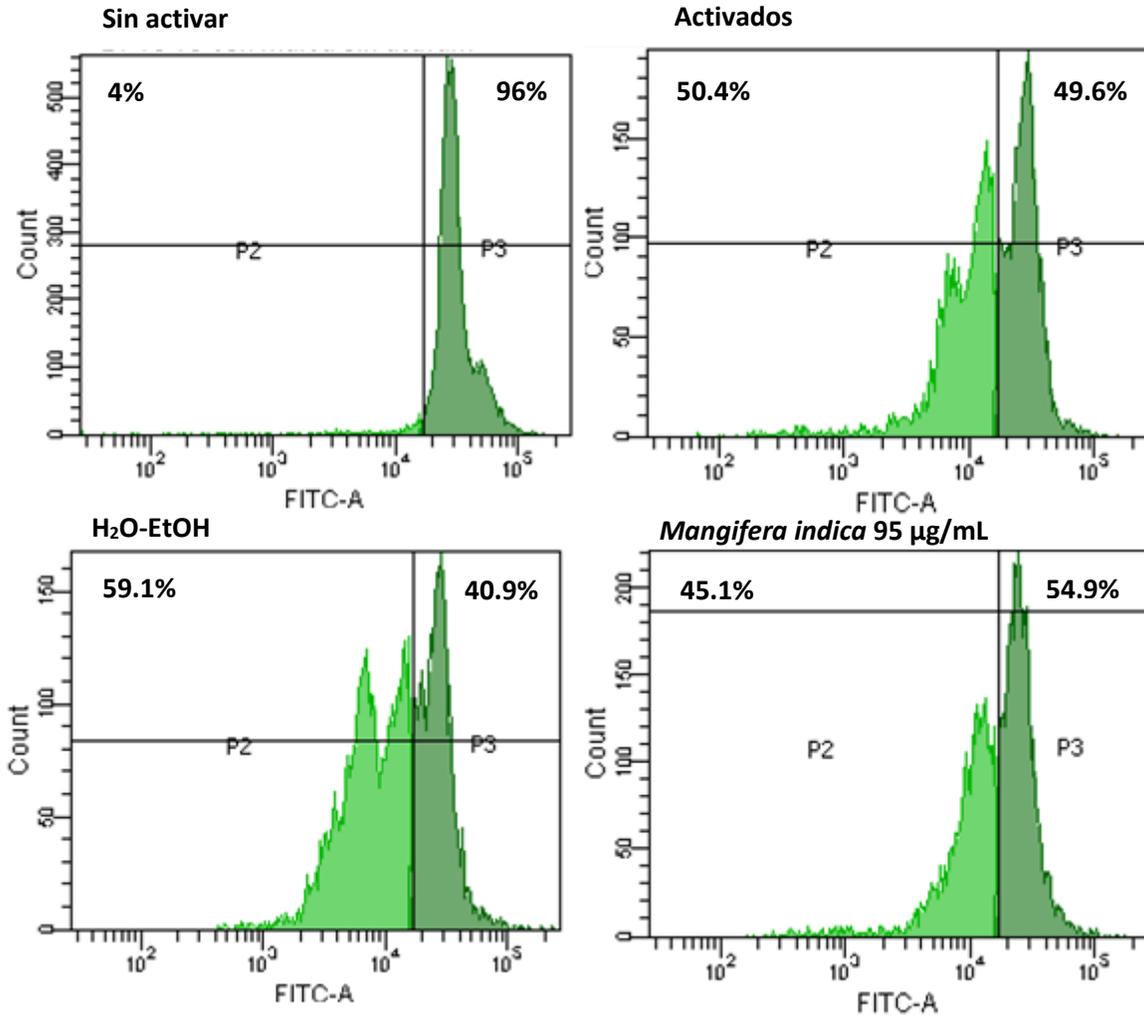


Figura 18. Efecto del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. sobre el potencial proliferativo de células no tumorales (linfocitos). Cultivos de linfocitos fueron marcados con carboxifluoresceína (CSFE) con y sin 25 µL de fitohemaglutinina (PHA). La cuantificación fue realizada por citometría de flujo. Linfocitos no activados (sin PHA). Linfocitos activados (con PHA). H<sub>2</sub>O-EtOH, vehículo utilizado para disolver el extracto en proporción 60:40. Extracto de *Mangifera indica* (95 µg/mL) concentración de extracto correspondiente a la IC<sub>50</sub> de la línea celular HeLa. La figura representa uno de tres ensayos independientes.

Los datos mostrados en la figura 18 indican que la concentración del extracto empleada, afecta el potencial proliferativo de cultivos primarios de linfocitos extraídos de sangre periférica humana en un 13.7%, sugiriendo que el extracto tiene acción selectiva.

### Efecto necrótico del extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica* L. sobre células no tumorales (Linfocitos humanos de sangre periférica).

Con la finalidad de conocer si el extracto acuoso-etanólico de corteza de árbol de *Mangifera indica* L. induce muerte celular por necrosis en cultivos primarios de linfocitos humanos de sangre periférica, cultivos de linfocitos fueron tratados con 95 µg/mL del extracto por 24 h. La cuantificación de la actividad de la enzima LDH fue evaluada en los sobrenadantes de estos cultivos (Figura 19).

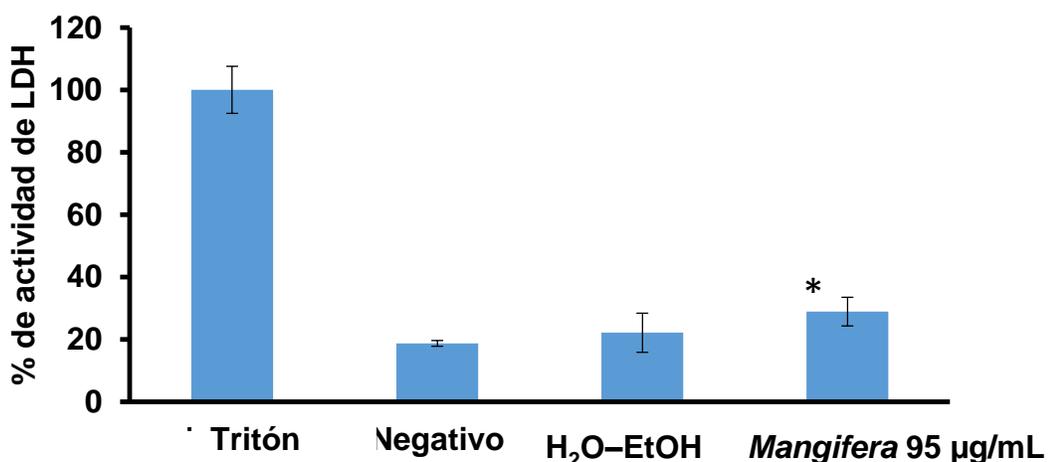


Figura 19. Efecto del extracto acuoso-etanólico de *Mangifera indica* L. para inducir necrosis en células normales. Actividad de LDH en cultivos de linfocitos humanos. 200,000 células fueron sembradas en 200 µL de RPMI al 20% de SFB por pozo en placas de cultivo de 96 pozos, estimulados con 95 µg/mL del extracto durante 72 h. La gráfica representa uno de tres ensayos independientes, n=3. \* indica que no existe diferencia significativa con  $p > 0.05$  vs H<sub>2</sub>O-EtOH ANDEVA seguida de una prueba de Tukey.

Como se puede apreciar en la figura 19, el extracto de *Mangifera* no induce actividad significativa de la enzima LDH en células normales, sugiriendo que el extracto acuoso-etanólico de corteza de árbol de *Mangifera indica* L. no causa en los linfocitos una muerte necrótica.

## 10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En los últimos años se han realizado numerosos estudios acerca de los beneficios del mango no solo como alimento sino también como una fuente de moléculas con actividad terapéutica. Algunos estudios realizados con otras partes del árbol del mango, señalan que los diferentes extractos como el de acetona: metanol: agua de la pulpa del fruto,<sup>40</sup> el acuoso de la corteza del árbol,<sup>41</sup> el cetónico, metanólico y acuoso de la cascara del fruto,<sup>42</sup> el metanólico y acuoso de la pulpa del fruto y el aceite esencial de las hojas<sup>43</sup> poseen un efecto antitumoral *in vitro* contra células de cáncer de mama, pulmón hígado, riñón, próstata, colon, ovario, leucemia y cervicouterino, concluyendo que el extracto de las hojas, de la pulpa del fruto, de la cascara del fruto y de la corteza del árbol de mango presenta actividad antiproliferativa.

En el caso particular del extracto H<sub>2</sub>O-EtOH (60:40) de la corteza del árbol de *Mangifera indica L*, nuestros resultados indican que también presenta actividad antiproliferativa en la línea celular de cáncer cervicouterino HeLa, con una IC<sub>50</sub> de 95 µg/mL. Estudios realizados en diferentes plantas establecen IC<sub>50</sub> superiores o inferiores a la obtenida en este trabajo. En el caso de *Mangifera indica*, el extracto acuoso de la corteza mostró una IC<sub>50</sub> de 259 µg/mL en la línea MDA-MB231 de cáncer de mama,<sup>41</sup> el aceite de las hojas mostró una IC<sub>50</sub> de 1.88 µg/mL para la línea k562 de leucemia, 2.86 µg/mL para la línea NCI-ADR/RES de ovario, 3.51 µg/mL para la línea OVCAR-3 de ovario, 4 µg/mL para la línea NCI-H460 de pulmón, 4.44 µg/mL para la línea 786-0 de riñón, 4.51 µg/mL para la línea UACC-62 de melanoma, 18.43 µg/mL para la línea HT-29 de colon, 22.97 µg/mL para la línea PC-3 de próstata y 30.04 µg/mL para la línea MCF7 de mama.<sup>43</sup> Otros trabajos realizados con la línea celular HeLa han mostrado que el extracto etanólico de *Plumbago pulchella* posee una IC<sub>50</sub> de 19.5, 1.5 y 1.0 µg/mL a las 24, 48 y 72 h respectivamente,<sup>64</sup> mientras que el extracto cetónico de la cascara del fruto de *Mangifera indica* a 200 µg/mL esta próxima a su valor de IC<sub>50</sub> para 5 variedades de

esta planta (Fozli 33.33%  $\pm$  1.37, Khershat 54.44%  $\pm$  2.92, Langra 46.90%  $\pm$  1.36, Dudsagor 49.81%  $\pm$  4.69 y Lakhna 55.03%  $\pm$  2.21).<sup>42</sup>

Todos estos extractos analizados han sido reportados con actividad antiproliferativa, confirmando que dicha actividad antiproliferativa en células tumorales de esta planta es un hecho. No obstante esta confirmación, la mayoría de los trabajos reportan actividad antiproliferativa en células tumorales, careciendo de pruebas en células no tumorales. Al respecto, los resultados mostrados en este trabajo en células linfocíticas humanas provenientes de sangre periférica revelan que el extracto acuoso-etanólico de la corteza del árbol de *Mangifera indica L* ejerce un bajo efecto antiproliferativo en estas células, sugiriendo que la acción antiproliferativa presente en el extracto es selectiva. Estos resultados coinciden con reportes anteriores de diferentes extractos de este mismo árbol, donde se obtuvo que las células no tumorales utilizadas fueron afectadas en algunos casos y en otros no, como en el extracto acuoso de la corteza de *Mangifera indica L*. que afectó la proliferación linfocítica de ratones inmunizados de manera *in vitro* en un 33.4%<sup>39</sup> o el caso de los polifenoles aislados del mango Ataulfo, los cuales no afectaron el potencial proliferativo de las células no-cancerígenas CCD-18Co de miofibroblastos de colon.<sup>40</sup> Así mismo, se ha registrado en otros trabajos el efecto que tienen diferentes compuestos aislados de *Mangifera indica L*. sobre células tumorales y no tumorales. Se ha reportado que los compuestos fenólicos, como el ácido gálico, la Mangifera y los carotenoides aislados del fruto de este árbol provocan un efecto antiproliferativo en la línea celular SW-480 de cáncer de colon, obteniendo que a la dosis más alta, 5 mg GAE/L (mg de equivalentes de ácido gálico), se inhibió el crecimiento de estas células en aproximadamente un 72%, sin inhibir el crecimiento de células de miofibroblastos de colon (CCD-18Co) no tumorales.<sup>40</sup> Este reporte coincide con lo observado al estimular células de cáncer de mama MDA-MB231 con mangiferina (25, 50, 100, 200, 400, 800  $\mu$ g/mL) aislada de la corteza del árbol, la cual afecta el potencial proliferativo de estas células teniendo una disminución de la población celular de 20% a concentraciones de 50 y 400  $\mu$ g/mL. Al utilizar el extracto acuoso

de la corteza de *Mangifera indica L.* en estas mismas células se observó una disminución mayor del 70% a la concentración de 200 µg/mL.<sup>41</sup> Esta comparación también se hizo con linfocitos de ratones inmunizados a concentraciones de 500 µg/mL y 50 µg/mL de extracto y mangiferina respectivamente, observando una inhibición de la proliferación de un 33.4% para el extracto y un 17.4% para la mangiferina.<sup>39</sup> La concentración de Mangiferina se calculó en proporción a la cantidad contenida en el extracto, 10 a 20%. No obstante, el efecto de la Mangiferina siempre es inferior al del extracto, sugiriendo que otros componentes del extracto, como el ácido gálico, el ácido linoleico y las catequinas, también pudieran estar involucrados en su efecto antiproliferativo.<sup>39</sup>

En lo que respecta a la actividad citotóxica (necrótica), nuestros resultados establecen que el extracto no induce a las células HeLa ni a las células linfocíticas a una muerte necrótica a la concentración de 95 µg/mL, indicando que el decremento celular observado en los cultivos tratados con el extracto es causado por un mecanismo diferente a la muerte necrótica. Al respecto, la morfología apoptótica mostrada en los cultivos de células HeLa tratados con el extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* sugiere que el extracto induce a estas células a una muerte apoptótica, lo cual es congruente con lo descrito en la literatura, como en el caso del extracto cetónico de la cascara del fruto de *Mangifera indica* en células HeLa en el que se realizó un análisis mediante el colorante Hoechst 33342 donde se mostró condensación de cromatina y un análisis por Western blot donde se observó la expresión de la proteína anti-apoptótica Bax/Bcl-2 y pro-apoptótica caspasa 3, 8 y 9<sup>42</sup> o el caso del extracto acuoso de corteza de este mismo árbol donde con el mismo método se observó la expresión de las proteínas IκBa, IKKa/ IKKb, IKKa, p65 NFjB y p65 anti-NFjB.<sup>41</sup>

Los resultados presentados constituyen un importante hallazgo que demuestra que el extracto de *Mangifera indica L.* presenta actividad antiproliferativa de acción selectiva, sin actividad necrótica a la concentración de 95 µg/mL, sugiriendo que

este extracto es un digno candidato para continuar con su estudio, de tal manera que se puedan en un corto plazo aislar los componentes o moléculas que constituyen al extracto y probar en cada una de ellas, actividad antiproliferativa, citotóxica e inductora de apoptosis, con la intención de encontrar el principio activo de la actividad antitumoral presente en el extracto y proponerla como un agente con posible aplicación terapéutica contra el cáncer.

## 11. CONCLUSIONES

El extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* **abate** el número celular en un 50% en células tumorales de cáncer cervicouterino HeLa a una concentración de 95 µg/mL.

El extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* a una concentración de 95 µg/mL **no induce** muerte necrótica en las células tumorales de cáncer cervicouterino HeLa ni en células no tumorales (linfocitos de sangre periférica humana).

El extracto acuoso-etanólico de corteza de *Mangifera indica L.* a una concentración de 95 µg/mL **no afecta** el potencial proliferativo de células linfocíticas humanas provenientes de sangre periférica.

## 12. PERSPECTIVAS

- Analizar el contenido de los diferentes compuestos presentes en el extracto acuoso–etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.*
- Analizar el efecto del extracto acuoso–etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* sobre la expresión de caspasa 3 en las células HeLa.
- Analizar el efecto del extracto acuoso–etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* en otras líneas celulares de cáncer cervicouterino.
- Analizar el efecto del extracto acuoso–etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* en otros tipos de líneas celulares.

### 13. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Suiza: OMS [actualizado Feb **2014**; citado 10 Ene 2014] Disponible en: <http://www.who.int/features/factfiles/cancer/es/>
2. Organización Mundial de la Salud. Control Integral Del Cáncer Cervicouterino. Guía de prácticas esenciales. [Internet]. **2007** [citado 10 Mar 2014]; 3-37. Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789243547008\\_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789243547008_spa.pdf)
3. Bañuelos J, Gonzales N, Gonzales R, Mondragón L, Gonzales M, *et al.* Diagnóstico y tratamiento de cáncer cervicouterino. IMSS [Internet]. **2010** [citado 10 Mar 2014]; 10-13. Disponible en : [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/433\\_GPC\\_Ca\\_cervicouterino/GER\\_Cxncer\\_cervicouterino.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/433_GPC_Ca_cervicouterino/GER_Cxncer_cervicouterino.pdf)
4. Centro Nacional de Equidad de Género y Salud reproductiva [Internet]. México: Webmaster CNEGSR [actualizado 29 Mar **2012**; citado 10 Mar 2014]. Disponible en: <http://www.cnegsr.gob.mx/programas/cancer-cervico-uterino/acciones-relevantes.html>
5. Baldauf J, Averous G, Baulon E, Thoma V, *et al.* Neoplasias intraepiteliales del cuello uterino. EMC Gin-obst. Paris. **2003**: 1-22.
6. Alonso P, Lazcano E, Hernández M. Cáncer cervicouterino: Diagnóstico, prevención y control. 2ª ed. México: Médica panamericana; **2005**.
7. Villareal M. L. Plantas contra el cáncer. Hypatia [Internet]. **2013** [citado 14 feb 2014]; 25: 1, 2. Disponible en: [http://hypatia.morelos.gob.mx/index.php?option=com\\_content&task=view&id=376&Itemid=273](http://hypatia.morelos.gob.mx/index.php?option=com_content&task=view&id=376&Itemid=273)
8. Olaya J, Méndez J. Guía de plantas y productos medicinales. Bogotá: Convenio Andrés Bello; **2005**.
9. Ramawat K. Biotechnology of medicinal plants. Vitalizer and therapeutic. Nuevo Hampshire: Science Publishers, Inc; **2004**.

10. Daniel M. Medical plants chemistry and properties. India: Science publishers; **2006**.
11. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; **2003**.
12. Lincoln T, Zeiger E. Secondary metabolites and plant defense. Plant physiology. 5<sup>th</sup> edn. Sinauer Associates, Inc; **2006**.
13. Evans W. Pharmacognosy. 16<sup>th</sup> edn. Beijing: W. B. Saunders Elsevier; **2009**.
14. Croteau R, Kutchan T, Lewis N. Natural products (Secondary metabolites). Texas: Buchanan, Grissem and Jones; **2004**.
15. Primo E. Química orgánica, básica y aplicada. De la molécula a la industria. Barcelona: Reverté; **2007**.
16. Surana J. Comprehensive Pharmacognosy and Phytochemistry. 2<sup>nd</sup> edn. Pragati: Books PVT; **2008**.
17. Harbone JB. Phytochemical Methods. 3<sup>rd</sup> edn. London: Chapman & Hall; **2008**.
18. Shah B, Seth A. Textbook of pharmacognosy and phytochemistry. Haryana: Elsevier; **2010**.
19. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Colombia: Convenio Andrés Bello; **2005**.
20. Waizel JB. Las plantas medicinales y las ciencias. Una visión multidisciplinaria. México: Instituto Politécnico Nacional; **2006**.
21. Biblioteca digital medicina tradicional mexicana [internet]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; [actualizado **2009**; citado 19 feb 14]. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>.
22. Ara A. 40 Plantas medicinales. 3<sup>a</sup> ed. EDAF; **2006**: 22, 23.
23. Sergent E. El cultivo del mango ("Mangifera indica" L.): Botánica, manejo y comercialización. Caracas: Universidad central de Venezuela. Consejo de desarrollo científico y humanístico; **2013**.

24. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Rosario: Corpus; **2004**.
25. Cabrera E, Salazar C, Flores J. *Anacardiaceae*. Taxonomía, florística y etnobotánica. Yucatan: Universidad Autónoma de Yucatán; **2010**.
26. Baraona M, Sancho E. Aguacate y mango, fruticultura especial II. Costa rica: Limusa; **2008**.
27. Bukasov S. Las plantas cultivadas de México, Guatemala y Colombia. Lima: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA; **2007**.
28. Resumen nacional de la producción agrícola [Internet]. México. Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. [actualizado 25 Jul **2012**; citado 20 Nov 2013]. Disponible en: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper &Itemid=261](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=261).
29. Principales productores de mango [Internet]. México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. [actualizado May **2012**; citado 07 Nov 2013]. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/opt/123/77/76.html>.
30. Mango [Internet]. México: Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. [actualizado 25 Jul **2012**; citado 07 Dic 2013]. Disponible en: <http://w4.siap.sagarpa.gob.mx/AppEstado/Monografias/Frutales/Mango>.
31. Morsi M, Tahan N, Hadad A. Effect of aqueous extract *Mangifera indica* leaves, as functional foods. J. Of Applied Scien Research. **2010**; 6 (6): 712-721.
32. Duke J, Bogenschutz M, Duceillier ,. Duke P. Handbook of medical herbs. 2<sup>nd</sup> edn. California: CRC Press, beca raton; **2012**.
33. Corona M, Arias Z, González W, Núñez L, Miniet E. Eficacia del enjuagatorio con té de Vimang<sup>®</sup> en la estomatitis subprótesis. Rev Cubana Estomatol. **2006**; 43(4): 1-6.
34. Garrido G, Delgado R, Lemus Y, García D, Beltran A, Rodriguez J, et al. Extracto natural de Magifera indica (Vimang<sup>®</sup>): de la etnomedicina a la

- clínica. Boletín latino y del Caribe de plant med y arom. **2004**; 3(6): 107-109.
35. Márquez L, Pérez B, Gárate I, García B, Madrigal J, Menchén L, et al. Anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract in a model of colitis. *World J Gastroenterol.* **2010**; 16 (39): 4922-4931.
36. Sowmiya S, Soundarapandian P, Rajan S. Bioactive studies of *Mangifera indica* against bacteria isolated from urine samples. *J. of Biolog Scien.* **2009**; 1(3): 139-143.
37. Bhowmik A, Ali khan L, Akhter M, Rokeya B. Studies on the antidiabetic effects of *Mangifera indica* stem-barks and leaves on nondiabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats. *J. Pharmacol.* **2009**; 4: 110-114.
38. Yogisha S, Anandarao K. Dipeptidyl Peptidase IV inhibitory activity of *Mangifera indica*. *J. of natural Products.* **2010**; 3: 76-79.
39. García D. Efecto inmunomodulador del extracto acuoso de *Mangifera indica* L. sobre la funcionalidad de los macrófagos y la respuesta alérgica. [Tesis]. La Habana: Laboratorio de farmacología; **2006**.
40. Noratto D, Bertoldi M, Krenek K, Talcott S, Stringheta P. Efectos anticancerígenos de polifenoles de Mango ( *Mangifera indica* ) Variedades. *J. Agric. Food Chem.* **2010**; 58 (7): 4104-4112.
41. García D, Delgado R, Bougarne N, Haegeman G, Vanden W. Gallic acid indanone and mangiferin xanthone are strong determinants of immunosuppressive anti-tumour effects of *Mangifera indica* L. bark in MDA-MB231 breast cancer cells. *Cancer Letters.* **2011**; 305: 21–31.
42. Ramjan A, Yong M, Gyawali R, Mosaddik A, Ryu Y, Cho S. Mango (*Mangifera indica* L.) Peel Extracts Inhibit Proliferation of HeLa Human Cervical Carcinoma Cell via Induction of Apoptosis. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* **2012**; 55: 397–405.
43. Simionatto E, Peres M, Hess S, da Silva C, Chagas C, Poppi N, et al. Chemical Composition and Cytotoxic Activity of Leaves Essential Oil from

- Mangifera indica var. coquinho (Anacardiaceae). J of Essential Oil Research. **2013**; 22 (6): 596-599.
44. Torres J, Caballero B, Burgos J, Fernández J. Análisis del aprovechamiento de subproductos del mango (*Mangifera indica* L.) para la obtención de compuestos farmacológicos y nutricionales. Artículo técnico. **2010**; 417: 95-98.
45. Guevara M, González S, Álvarez A, Riaño A, Garrido G, Nuñez A. Uso etnomédico de la corteza de *Mangifera indica* L. en Cuba. Rev. Cubana Plant Med. **2004**; 9 (1): 1-7.
46. Paniagua R, Nistal M, Sesma P, Álvarez M, Fraile B, Anadon R, et al. Biología celular. 3ª ed. Madrid: Mc Graw-Hill interamericana; **2007**.
47. Becker W, Kleinsmith L, Hardin J. El mundo de la célula. 6ª ed. México: Pearson edition Wesley; **2007**.
48. Starr C, Taggart R. Biología: la unidad y diversidad de la vida. 11ª ed. México: Cengage Learning editors; **2008**.
49. Tavassoli J. The cell theory: a foundation to the edifice of biology. American J. of pathology. **2001**; 1: 44-61.
50. George M. Building blocks of life: cells. Creative edition; **2002**.
51. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell. 5<sup>th</sup> edn. New York: Garland Publishing inc; **2008**.
52. Gardner E, Simmons M, Snustad P. Principios de genética. 4ª ed. México: Limusa-Wiley; **2010**.
53. Lodish, Berk, Kaiser, Scott, et al. Biología celular y molecular. 5ª ed. Buenos aires: Editorial médica panamericana; **2005**.
54. Marchal J, Gaforio J, Aránega A. Avances en oncología básica y aplicada. Vega de Granada: Universidad de Granada; **2006**.
55. Instituto Nacional del Cáncer [Internet]. Estados Unidos de América: Institutos Nacionales de Salud de EU. [citado 07 Feb 2014]. Disponible en: <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>.

56. Rubín P. Oncología clínica. Enfoque multidisciplinario para médicos y estudiantes. 8ª ed. Madrid: Elsevier Science imprint; **2003**.
57. International Agency of Research on Cancer. [Internet]. Francia: World Health Organization. [actualizado **2014**; citado 10 dic 2013]. Disponible en: <http://www.iarc.fr>.
58. Carreras R, Xercavins J, Checa M. Virus del Papiloma Humano y Cáncer de cuello de útero. Buenos Aires: Médica panamericana; **2007**.
59. León G, Bosques J. Infección por el virus del papiloma humano y factores relacionados con la actividad sexual en la génesis del cáncer de cuello uterino. La Habana. Rev Cubana Obstet Ginecol [internet]. **2005** [citado 13 Mar 20014]; 31 (1). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=>
60. Kumar V, Abul K, Nelson F, Aster J. Cervix: premalignant and malignant neoplasms. 8<sup>th</sup> edn. Barcelona: Elsevier; **2003**.
61. Angulo M, Martínez B, Navarro F, Álvarez M. Cáncer de cérvix. Medicine. **2009**; 10 (24): 1606- 1612.
62. Disaia P, Creasman W. Clinical gynecologic oncology. 6<sup>th</sup> edn. Madrid: Mosby, Inc; **2002**.
63. American Cancer Society [Internet]. American cancer society. [actualizado **2014**; citado 25 Ene 2014]. Disponible en: <http://www.cancer.org/espanol/cancer/cancerdecuellouterino/>.
64. Cortés J. Actividad biológica de extractos de plantas usadas para el tratamiento del cáncer e infecciones en Tepatepec, Hidalgo. [Tesis]. Hidalgo: Universidad autónoma del estado de Hidalgo; **2005**.

## 14. GLOSARIO

- **Ácidos carboxílicos:** Los ácidos carboxílicos constituyen un grupo de compuestos que poseen un grupo funcional llamado grupo carboxilo o grupo carboxi (-COOH); se puede representar como R<sub>x</sub>-COOH ó R<sub>x</sub>-CO<sub>2</sub>H.
- **Alelopáticos:** Interacciones químicas: planta - vertebrado, planta - planta, planta - insecto y planta - microorganismo, ya sean éstas perjudiciales o benéficas. La Alelopatía es la ciencia que estudia las relaciones entre las plantas afines y las plantas que se rechazan, utilizando sus ferormonas para evitar el ataque de las diferentes plagas y enfermedades a las que pueden ser susceptibles
- **ANDEVA:** Son las siglas en español para designar la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA, ANalysis Of VAriance, según terminología inglesa) que permite separar la varianza entre y dentro de los tratamientos realizados para probar hipótesis relativas.
- **Anexectomía:** Es una intervención quirúrgica que implica la extirpación de los anexos uterinos (trompa de Falopio, ovarios, entre otros). Los motivos para tener que recurrir a esta operación pueden ser: miomas uterinos, cáncer, hemorragias abundantes, prolapsos, endometriosis grave, inflamaciones y algunos otros.
- **Anticuerpos humorales o respuesta humoral:** Es definida como la interacción entre los anticuerpos y los antígenos. Los anticuerpos son proteínas específicas liberadas de cierta clase de células inmunitarias (linfocitos B).
- **Antiescorbútico:** Que combate el escorbuto (deficiencia de vitamina C).
- **Antiodontálgico:** Producto usado en odontología para el dolor de encías y piezas dentales.
- **Antisifilítico:** Adj. Med. Que sirve para combatir la sífilis.
- **Astringente:** Adj./s. m. Se aplica a la sustancia que contrae los tejidos orgánicos y seca las heridas: el alcohol es astringente. Se aplica a la

sustancia que hace fácil la expulsión de los excrementos: la manzana es astringente. Laxante.

- **Autocrina:** Se aplica a un tipo de secreción química que afecta a la misma célula que secretó la sustancia, como una hormona, por ejemplo.
- **Caducifolio:** Del latín *cadūcus* («caduco, caído», participio de *cadēre* «caer») y *folĭum* («hoja»), hace referencia a los árboles o arbustos que pierden su follaje durante una parte del año.
- **Carcinoma epidermoide:** Cáncer que empieza en las células escamosas, que son células delgadas y planas que se parecen a las escamas de los peces. Las células escamosas se encuentran en el tejido que forma la superficie de la piel, el recubrimiento de los órganos huecos del cuerpo, como los conductos de los aparatos respiratorio y digestivo.
- **Decocción:** Acción y efecto de cocer en agua sustancias vegetales o animales
- **Delección:** En genética, es un tipo especial de anomalía estructural cromosómica que consiste en la pérdida de un fragmento de ADN (ácido desoxirribonucleico) de un cromosoma.
- **Deprivación:** f. Supresión de algo. Normalmente se utiliza esta expresión para indicar la supresión de información al sistema nervioso central, ya sea de toda la sensibilidad o bien de alguna en particular.
- **Depurativo:** (Del latín, *depurare*, lavar). Que purifica el organismo y elimina las toxinas o venenos. Medicamento que, en otro tiempo, tenía la propiedad de librar a los humores de sus principios nocivos.
- **Dermatosis:** Enfermedad que afecta a la piel y sus anexos.
- **Deshidrogenasa láctica (LDH):** es una enzima catalizadora que se encuentra en muchos tejidos del cuerpo, cataliza una reacción de oxidación-reducción, en la que el piruvato es reducido a lactato gracias a la oxidación de NADH (nicotinamida adenín dinucleótido) a NAD<sup>+</sup>.
- **Detoxificación:** Liberación de toxinas de un sustrato. Es la limpieza de un sistema u organismo que contiene sustancias nocivas para la vida.

- **Diaforético:** Adj. Dícese de la sustancia que aumenta la sudoración, como la pilocarpina y la eserina.
- **Displasia:** Del griego δυσ- "mal" y πλάσσω "formar" es una anomalía en el aspecto de las células debido a alteraciones en el proceso de maduración de las mismas.
- **Dioico,ca:** Adj. biol. Díc. Se aplica a la especie vegetal que posee los órganos sexuales masculino y femenino en individuos distintos. Planta que posee flores masculinas y femeninas en individuos distintos.
- **Endocrina:** El sistema endocrino o también llamado sistema de glándulas de secreción interna es el conjunto de órganos que segregan un tipo de sustancias llamadas hormonas, que son liberadas al torrente sanguíneo y regulan algunas de las funciones del cuerpo.
- **Estomatitis:** f. med. Inflamación de la mucosa bucal.
- **Exantemáticas:** s. m. Erupción de la piel, de color rojo, que aparece con enfermedades como el sarampión, la rubeola, entre otros.
- **Glucósido:** Sustancia derivada de los glúcidos (carbohidratos) en la que se ha producido la sustitución de un grupo hidroxilo por un grupo extraño a los glúcidos como los radicales ácido, acetilo, amina, fosfato, etc.
- **Gotiera paracólica:** Espacio parietocólico, paracolic gutter: Espacio de la cavidad peritoneal formado por la pared lateral del abdomen y el colon ascendente, en el lado derecho, y el colon descendente, en el lado izquierdo. En su parte posterior está limitado por el peritoneo y hacia delante comunica libremente con la cavidad peritoneal.
- **HeLa:** Las células HeLa (también conocidas como "células hela" o simplemente "Hela") son un tipo particular de células usadas en investigación científica. El linaje al cual pertenecen estas células deriva de una muestra de cáncer cérvico-uterino obtenida el 8 de febrero de 1951 de una paciente llamada Henrietta Lacks (de allí el acrónimo He{nrietta} La{cks}), estas células son positivas a VPH 18.

- **Hipoxia.** es un estado en el cual el cuerpo se ve privado del suministro adecuado de oxígeno.
- **Histerectomía:** Una histerectomía (del griego ὑστέρα hystera "útero" y εκτομία ektomia "sacar por corte") es la extracción del útero o matriz, por causa de una intervención quirúrgica.
- **Holística:** Es una tendencia o corriente que analiza los eventos desde el punto de vista de las múltiples interacciones que los caracterizan.
- **Homeostasis:** (del griego homo (ὅμος) que significa "similar" y estasis (στάσις) "posición", "estabilidad") es la característica de un organismo vivo, mediante la absorción de alimentos y regular las funciones que existen dentro de él, para mantener una condición estable y constante. La homeostasis es posible gracias a los múltiples ajustes dinámicos del equilibrio y los mecanismos de autorregulación.
- **Infusión:** f. Acción y efecto de infundir. Acción de tratar con agua caliente, hasta el punto de ebullición, una sustancia, usualmente vegetal, para extraer de ella las partes solubles. Producto líquido así obtenido. Introducción en agua hirviendo o muy caliente de algunas partes de una planta, especialmente sus hojas o semillas, para extraer los principios activos.
- **Laparoscopía:** Examen del interior del abdomen mediante un laparoscopio (láser), realizado para vaporizar tejido, como por ejemplo para el tratamiento de la endometriosis o para la lisis de adherencias.
- **Miometrio:** Sustantivo masculino. Es la capa muscular intermedia (formada por músculo liso), entre la serosa peritoneal y la mucosa glandular (endometrio), que constituye el grueso del espesor de la pared del cuerpo uterino. Fundamental en la contracción del útero en el trabajo de parto. Se caracteriza por ser el tejido más flexible del cuerpo humano, pues es capaz de estirarse lo suficiente como para permitir el crecimiento y desarrollo del embrión durante el embarazo; volviendo tras el parto a su tamaño normal.
- **Multimérico:** Un multímero es una proteína formada por varias subunidades proteicas, denominada oligómero cuando estas subunidades son pocas. De

esta forma, un multímero es el nombre dado a una proteína que presenta estructura cuaternaria.

- **Neoplasia:** (nuevo crecimiento en griego), es el proceso de proliferación descontrolada de células en un tejido u órgano que desemboca en la formación de un tumor y puede ser benigno o maligno.
- **Neoplasia cervical intraepitelial:** (abreviado NIC, o también CIN por las siglas en inglés) es un crecimiento anormal y pre-canceroso de células escamosas en el cuello uterino.
- **Paraórticos, gánglios:** Son un grupo numeroso de 40 a 50 ganglios linfáticos, dispuestos de manera discontinua alrededor de la aorta abdominal (parte más distal de la aorta, comienza a la altura del músculo diafragma), que drenan linfa de los miembros inferiores, de la pelvis y las vísceras abdominales.
- **Paracrina:** Se refiere a un tipo de comunicación celular por secreción química que afecta a una célula vecina a la célula emisora, como es el caso de muchas hormonas, por ejemplo.
- **Perennifolio:** Adj. bot. [Árbol o planta] que conserva su follaje todo el año.
- **Perfusión:** f. Aporte o circulación sanguínea, bien sea natural o artificial, a un órgano, tejido o territorio. Administración intravascular continua de un fármaco o una sustancia.
- **Poligamodioicos:** Planta dioica que tiene algunas flores hermafroditas.
- **Principio activo (PA) o fármaco:** a la sustancia natural o sintética que tenga alguna actividad farmacológica y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no se presenten en forma farmacéutica y que reúna condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un medicamento.
- **Rizoma:** m. bot. Tallo horizontal y subterráneo que contiene yemas y del que nacen las raíces, propio de plantas de montaña y de clima frío, como el lirio común.

- **Subcaducifolio:** Árboles que pierden sus hojas por efecto del clima y de la estación del año, o por encontrarse en su periodo de reproducción y formación de flores, frutos y semillas. Generalmente esto pasa en invierno.
- **Tusígeno:** Adj. Que provoca tos.
- **Virus del papiloma humano (VPH):** El virus del papiloma humano (VPH o HPV del inglés human papillomavirus) es un grupo diverso de virus ADN perteneciente a la familia de los *Papillomaviridae* y representa una de las enfermedades de transmisión sexual más común.