



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO DEL ARAVINÓSIDO DE QUERCETINA
(AVICULARINA) SOBRE *Drosophila melanogaster* CRUZA DE BIOACTIVACIÓN
ELEVADA (BE), BIOENSAYO SMART**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

Pablo Cano Salazar



Directora de tesis M. en C. María Eugenia Isabel Heres y Pulido

Los Reyes Iztacala, Edo. De México, 2023.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradezco a todas esas personas que estuvieron conmigo en este largo proceso, en especial a Kamoba que sin su ayuda no hubiera podido llegar hasta este momento de mi vida.

INDICE

Resumen	1
Summary.	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Quercetina	5
Avicularina	6
ROS y su efecto en el ADN	7
Bioensayos	11
<i>Drosophila melanogaster</i>	11
Bioensayo SMART en ala de <i>Drosophila melanogaster</i>	13
ANTECEDENTES DE LA QUERCETINA Y LA AVICULARINA.....	17
Quercetina	17
Avicularina	18
JUSTIFICACIÓN.....	18
OBJETIVO GENERAL	19
MATERIALES Y MÉTODO	19
Análisis estadístico	21
RESULTADOS.....	21
DISCUSIÓN.....	25
CONCLUSIONES	26
Literatura citada	29

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de los flavonoides.....	2
Figura 2: Estructura general de los flavonoides comparada con sus derivados.....	4
Figura 3: Estructura de la quercetina.....	5
Figura 4: Estructura de la avicularina.....	7
Figura 5: Ciclo de vida <i>D. melanogaster</i>	12
Figura 6: Discos imaginales <i>Drosophila melanogaster</i>	13
Figura 7: Eventos que se observan en SMART en ala.....	16
Figura 8 Alas de <i>D. melanogaster</i> dividida en sectores.....	21
Tabla 1. Resumen de los resultados obtenidos con el programa SMART 2.1 para la cruza de bioactivacion elevada (CBE) en el ensayo SMART en ala de <i>Drosophila melanogaster</i>	22
Gráfica 1. Frecuencia de los tres tipos de manchas: pequeñas, grandes y gemelas entre tratamientos de avicularina y testigo disolvente.....	23
Gráfica 2. Frecuencia de manchas de los diferentes testigos, donde se comparan las frecuencias de los tres tipos de manchas: pequeñas, grandes y gemelas. * $P < 0.05$	23
Gráfica 3. Distribución, frecuencia y comparación entre manchas <i>mwh</i> obtenidas en los tratamientos con avicularina y el testigo disolvente. * $P < 0.05$	24

Resumen

Los flavonoides son compuestos de origen vegetal que se encuentran en una gran cantidad de alimentos, el más abundante es la quercetina la cual tiene diferentes propiedades benéficas para la salud como la capacidad de reducir el estrés oxidante provocado por especies reactivas de oxígeno. La quercetina tiene diferentes derivados como la avicularina con una estructura química similar, pero con una arabinofuranosa en el carbono 3 del anillo C; la avicularina se encuentra en las hojas de *Psidium guajava* que se usan en medicina tradicional. Para estudiar los efectos de sustancias de uso tradicional en cuestión de salud se utilizan bioensayos que permiten determinar su genotoxicidad; uno de los más usados es la Prueba de Mutación y Recombinación Somáticas (SMART) por ser fácil de mantener, tener un ciclo de vida corto y por la robustez de los resultados.

Summary

Flavonoids are compounds of plant origin that are found in a large number of foods, the most abundant is quercetin, which has different beneficial properties for health, such as the ability to reduce oxidative stress caused by reactive oxygen species. Quercetin has different derivatives such as avicularin with a similar chemical structure, but with an arabinofuranose on carbon 3 of the C ring; Avicularin is found in the leaves of *Psidium guajava* which are used in traditional medicine. To study the health effects of traditionally used substances, bioassays are used to determine their genotoxicity; One of the most used is the Somatic Mutation and Recombination

Test (SMART) for being easy to maintain, having a short life cycle and for the robustness of the results.

INTRODUCCIÓN

Los flavonoides tienen un papel fundamental para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, éstos son metabolitos secundarios que se pueden encontrar en sus tejidos, frutos y semillas en forma de glicósidos (Martínez *et al.*, 2000). De las diversas funciones que tienen estos compuestos destaca la función protectora contra agentes ionizantes de la luz UV, contra la infección por organismos fitopatógenos y contra la herbivoría (Martínez-Flórez *et al.*, 2002). Actualmente se han identificado un aproximado de 5000 tipos de flavonoides; compuestos de una muy amplia distribución, encontrándose fácilmente en casi todos los productos vegetales producidos para la alimentación humana y que presentan actividad antioxidante (Ross *et al.*, 2002). Los flavonoides tienen relación con la salud humana debido a su capacidad antioxidante que ayuda a reparar o prevenir el daño causado por las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas del inglés *Reactive Species Oxygen*) (Cartaya y Reinaldo, 2001).

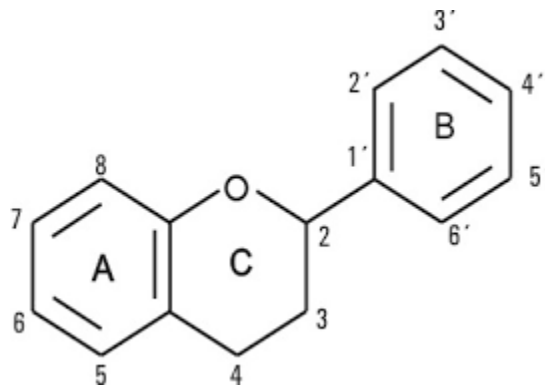


Figura 1: Estructura química de los flavonoides (Tomado de Escamilla *et al.*, 2012).

La estructura básica de los flavonoides está compuesta de dos anillos fenilos (A y B), ligados mediante un anillo C pirano heterocíclico, siendo esta estructura la que les permite tener distintos grupos funcionales en sus anillos de carbono (Limón *et al.*, 2010; Martínez-Flores *et al.*, 2002) (Figura 1), en función de esto los flavonoides cuentan con diferentes estructuras moleculares, las cuales con base en su función y sus características estructurales se clasifican en cinco grupos principales (Martínez-Flores *et al.*, 2002): Las isoflavonas, representadas por la genisteína que tiene dos grupos -OH unidos a la posición 1 y 3 del anillo C; los flavanos, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C; los flavonoles, representados por la quercetina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C; los flavanonoles en los que destaca la taxifolina, que se caracteriza por la unión de un grupo -OH al carbono 1, 2 y 3 del anillo C (Limón *et al.*, 2010); las antocianidinas, que tienen unido el grupo -OH en posición 3, pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C (Figura 2).

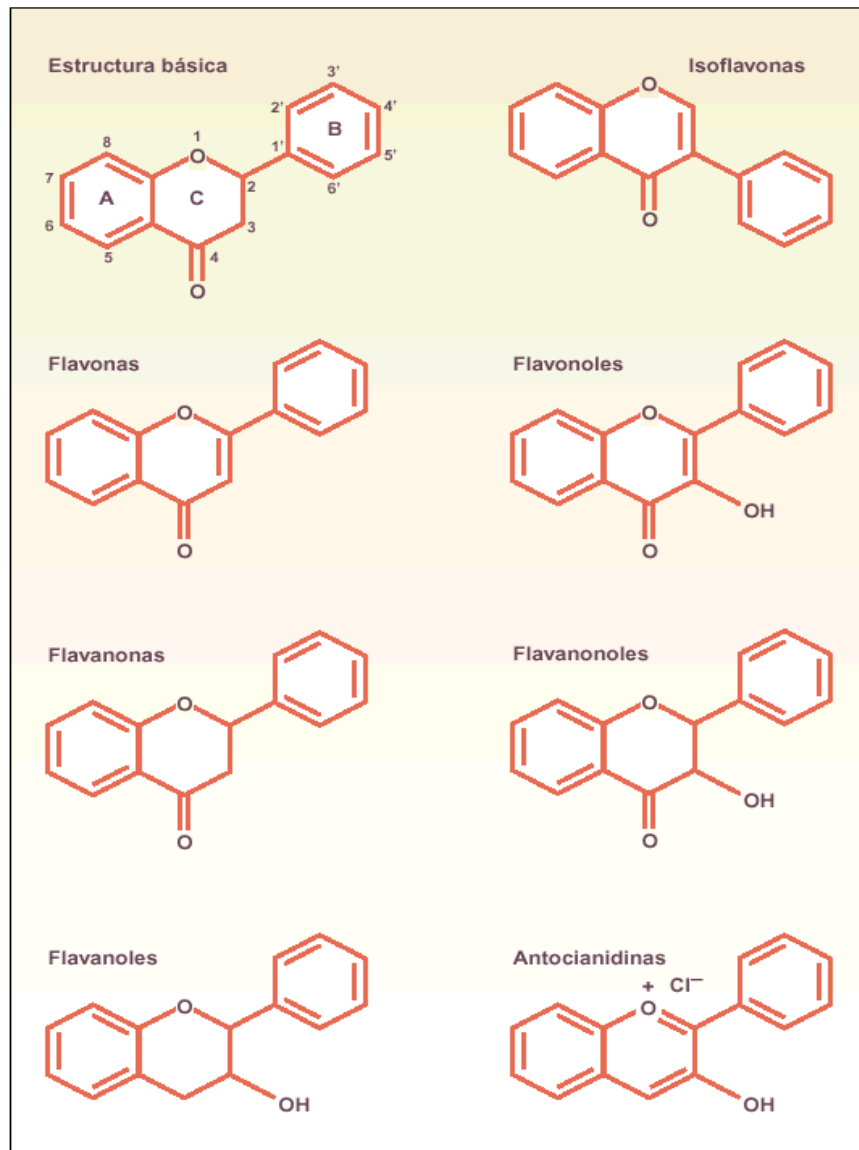


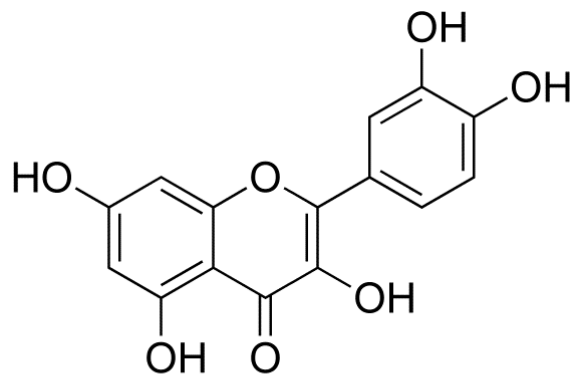
Figura 2: Estructura general de los flavonoides comparada con sus derivados (Tomada de: Limón et al. 2010).

El valor medio de ingesta de flavonoides se estima cerca de 100-100mg/día, (Vicente-Vicente et al., 2013), siendo predominantes los flavonoles especialmente la quercitina. Las fuentes alimenticias principales de los flavonoles son, entre otras, el té negro, las cebollas, las manzanas, la pimienta negra que contiene cerca de 4 g/Kg de quercitina y bebidas alcohólicas

como vino y cerveza; en una dieta diaria el consumo de flavonoles es de unos 20 mg/día, de los cuales la quercetina está representada en alrededor de 10 mg/día (Kawabata *et al.*, 2015).

Quercetina

La quercetina es un flavonoide que posee grupos hidroxilo (-OH) unidos a las posiciones 3 C, 5 y 7 A, 3' y 4' B y se encuentra comúnmente como un glucósido (Figura 3). La quercetina es una molécula lipofílica no polar, la cual tiene diferentes derivados glucorinidados, metilados y sulfatados. Está presente en una amplia variedad de frutas y verduras, entre otros alimentos, como lo son: la cebolla blanca y la roja, las manzanas, las bayas (por ejemplo, los arándanos, las fresas, las cerezas negras y las bayas azules), el perejil, el aceite de oliva, el cacao, las frutas cítricas, el té (verde, negro o blanco) y el vino tinto (Harris *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2016).



Quercetina

*Figura 3: Estructura de la quercetina.
(Tomada de Tenorio-López et al., 2010).*

Se ha reportado que la quercetina tiene diferentes propiedades benéficas para la salud las cuales son antiinflamatorias, anticancerígenas, antibacterianas y antioxidantes; y por esta última se ha sugerido que la quercetina y/o sus derivados actúan modulando los propios mecanismos de defensa antioxidantes de la célula y además, ayuda a reducir el estrés oxidante provocado por las ROS (Costa *et al.*, 2016); la quercetina no solo cuenta con propiedades benéficas para la salud, también puede actuar como un prooxidante al ingerirse una cantidad mayor a 100 μM al día (Halliwell, 2008). En estudios *in vitro* la quercetina demostró tener capacidades citotóxicas en células cancerígenas (Harris *et al.*, 2016). El IARC la reporta en el Grupo 3 (1999) porque no se cuenta con reportes que demuestren que la quercetina, sea clasificable como cancerígena en humanos, porque la evidencia es inadecuada para los humanos o inadecuada y limitada en animales experimentales.

Avicularina

Entre los derivados de la quercetina se encuentra la avicularina (quercetina-3-O- α -L-arabinofuranósido) que es un glicosídico de la quercetina (Massi, *et al.*, 2007). La avicularina tiene un arabinósido unido al esqueleto de quercetina (Figura 4) y a la fecha no hay algún reporte de que se comporte como genotóxico, sin embargo, sí se tiene reporte de que este compuesto actúa como citotóxico al inhibir células hepáticas cancerígenas y células epiteliales cancerígenas (Wang *et al.*, 2020). Además, la avicularina tiene efectos antibacterianos como fue demostrado en un estudio en el cual se utilizaron extractos metanólicos de las hojas de *Psidium guajava*, *Lespedeza cueneta* y *Lindera erythrocarpa* los cuales fueron utilizados como inhibidores del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Candida spp* (Pérez *et al.*, 2008).

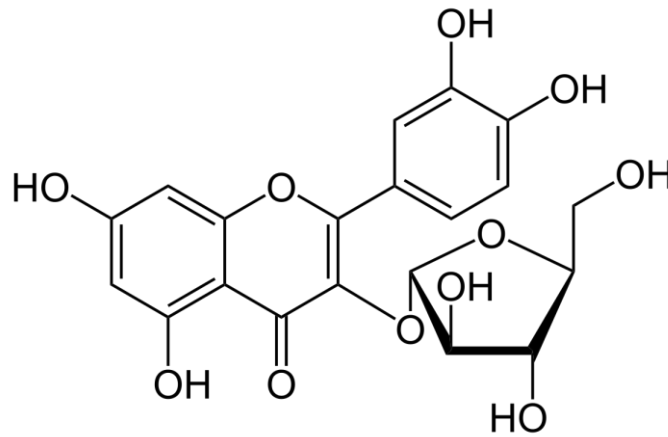


Figura 4: Estructura de la avicularina. Tomado de Wang *et al.* 2020)

En la actualidad, se han estudiado más los efectos genotóxicos de la quercetina y se ha encontrado que sí puede tener efectos genotóxicos, esto se atribuye a su biotransformación que se lleva a cabo por la familia de citocromos P450 (CYP450s). Sortibrán *et al.* (2011) reportaron que en la cruz estándar (ST) de la prueba SMART en ala, a la concentración de 50 μM , la quercetina fue genotóxica y es probable que tenga un efecto prooxidante en *D. melanogaster*. Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, se sabe muy poco sobre los efectos genotóxicos que puedan tener la quercetina y sus derivados (Castañeda *et al.*, 2011). Por esa razón es muy importante el estudio de este flavonoide y de sus derivados. ya que se encuentra en diferentes alimentos o bebidas de consumo humano y de uso medicinal (Pérez *et al.*, 2008).

ROS y su efecto en el ADN

Un radical libre es una condición química, ya sea atómica o molecular, que contenga uno o más electrones desapareados, en un orbital molecular o atómico; esto podría deberse a la ganancia o pérdida de un electrón del o los átomos de un radical. Los electrones desapareados modifican generalmente la reactividad química de un átomo o de una molécula, lo que provoca que se formen diferentes tipos de radicales libres. Aunque los radicales libres pueden ser

derivados de muchos elementos o moléculas químicas, los más conocidos son aquellos derivados del oxígeno denominados como ROS (Zorrilla-García, *et al* 2004) o los del nitrógeno conocidos como RNS, término que se refiere a un grupo de moléculas que contienen nitrógeno con diferente reactividad química. Como ya se mencionó, las ROS incluyen a los radicales libres, los iones de oxígeno y los peróxidos. Los más conocidos y estudiados son los iones de la molécula de oxígeno (O_2) los cuales son producidos por una reducción química parcial. En este grupo de ROS se incluyen los superóxidos ($O_2^{\bullet-}$) y el radical hidroxilo (OH^{\bullet}). Además, existen otras especies reactivas como el radical alcohoxilo, el radical peroxilo, el dióxido de nitrógeno y el hidroperóxido o lipoperóxido (LOOH). Los principales ROS son el anión superóxido, el radical hidroxilo y los productos derivados del peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Al ser las moléculas parcialmente reducidas por tener un electrón adicional en estado desapareado, se provoca que dichas moléculas sean inestables y hace que tengan una fácil reacción con lípidos, proteínas y ácidos nucleicos de su entorno. Las ROS se generan en varios sistemas celulares los cuales se encuentran en la membrana plasmática, en el citosol, en el retículo endoplásmico y en la mitocondria principalmente (Vaquero-Rayaa *et al* 2005).

La mayoría de las ROS se generan en la mitocondria, por ejemplo, en ésta se generan los aniones superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que son producidos en los complejos I y III de la cadena de transporte de electrones, mediante la transferencia del oxígeno molecular. Ya que el ($O_2^{\bullet-}$) es el principal ROS que se produce en la célula y da origen a otros ROS como son el radical hidroxilo y el peroxilo. Sin mecanismos antioxidantes eficientes en la célula, la mitocondria, mediante su actividad, llevaría a un aumento del superóxido, lo cual comprometería la sobrevivencia celular (Carvajal 2019).

Las ROS también se forman por la actividad llevada a cabo en el retículo endoplasmático a través de una cadena de transporte de electrones, cuya función es el metabolismo de los

xenobióticos y la introducción de dobles enlaces en los ácidos grasos. Este sistema está constituido por un grupo de citocromos conocidos como citocromos P450 (CYP450s) y las enzimas B5. (Zorrilla-García *et al.*, 2004).

Otra forma en que se producen es por la actividad de enzimas como las NADPH oxidasas, (NOXs) a nivel vascular; estas enzimas producen una gran cantidad de ROS, particularmente de superóxido. Además, las NOXs se consideran un sistema enzimático responsable de la producción de ROS en enfermedades como la hipertensión, la aterosclerosis y la diabetes tipo 1 y 2 (Carvajal 2019). Las ROS pueden ser las causantes de distintos padecimientos, incluyendo las enfermedades coronarias, el cáncer y el envejecimiento. Las más conocidas provocan la reacción del radical hidroxilo con lípidos insaturados y la reacción de radicales con proteínas puede llevar a la oxidación de cadenas laterales reactivas de aminoácidos, al entrecruzamiento de proteínas, a la desnaturalización, a la unión con el ADN, e incluso dañar a las proteínas cercanas (Esper *et al.*, 2016).

El daño al ADN por ROS es de suma importancia ya que se pueden generar mutaciones y éstas pueden producir enfermedades hereditarias. Se han podido estudiar alrededor de 20 tipos de modificaciones estructurales de las bases debido a las ROS, lo cual provoca la fragmentación del ADN y que aparezcan fragmentos formados por la ruptura del ADN que está entre los nucleosomas, ocasionando alteraciones en las propiedades morfofuncionales de la misma cromatina, lo cual juega un papel importante en la regulación de la transcripción génica (Tecalco-Cruz *et al.*, 2021).

El ADN es una molécula que constantemente tiene modificaciones debido a la exposición a las ROS, lo cual es relevante, ya que por consecuencia presenta disminución o pérdida de la homeostasis. Las ROS dañan a la molécula de ADN cuando reaccionan con las bases

nitrogenadas, rompe el esqueleto azúcar-fosfato en una o las dos hebras, satura y fragmenta el anillo de la timina y forma enlaces cruzados (*cross-links*) ADN-ADN o ADN-proteína(s).

Algunos de los daños que se producen en el ADN por las ROS son:

1. Modificación de bases del ADN: se conoce que el daño al ADN por radicales libres endógenos ocurre de forma espontánea y existe un nivel normal de bases modificadas por ROS en éste. La acción del (OH^-) da lugar a más de 20 modificaciones y entre ellas la más frecuente es la 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OH-dG) que tiene un potencial altamente mutagénico al igual que la 5-hidroximetil-2-desoxiuridina (Delgado-Roche *et al.*, 2010).
2. Eliminación de bases del ADN: los sitiosapurínicos o apirimidínicos (AP), se generan por ruptura del enlace glicosídico, que puede resultar del ataque al azúcar por parte del (OH^-). Estas lesiones presentan la base correspondiente a los pares A:T y G:C de una manera opuesta a la lesión.
3. Rupturas de una cadena del ADN: se producen por escisión del enlace fosfodiéster. Ocurren por el ataque químico o de radicales libres a la porción desoxirribosa del esqueleto del ADN. Se ha demostrado que sustancias carcinógenas, generadoras de ROS, provocan la aparición de estas rupturas y además de provocan modificaciones de bases (Delgado-Roche *et al.*, 2010).

La manera que tienen las células para reparar los daños producidos por ROS, son los mecanismos de reparación del ADN que se activan en el momento en que éste presenta modificaciones, éstos actúan continuamente e impiden que exista una inadecuada secuencia de bases en la molécula de ADN; en caso de existir alguna mutación (ya sea ruptura, entrecruzamiento o eliminación de bases, entre otros daños) reparan el daño causado. La

reparación por escisión de bases (BER, por sus siglas en inglés) es el proceso más importante en el caso de la modificación oxidativa. Cuando la modificación afecta regiones más extensas del ADN, actúa el sistema de reparación por escisión de nucleótidos (NER, por sus siglas en inglés), removiendo todo el segmento dañado a través de nucleasas, para ser reemplazado el fragmento por las ADN polimerasas y las ligasas (Cárdenas-Rodríguez *et al.*, 2006)

Bioensayos

Un agente genotóxico puede ser físico o químico y tiene la capacidad de inducir de forma directa o indirecta, alteraciones en el material genético de los seres vivos; estos agentes pueden bloquear y alterar la replicación del DNA y promover la aparición de mutaciones que derivarían en patologías. Son muy dañinos para los seres vivos por lo cual se debe estudiar el efecto que éstos tengan; para estudiarlo se ha propuesto utilizar ensayos a corto y a largo plazo, los cuales se dividen en cuatro tipos de bioensayos: *in vitro*, *ex vivo*, *in silico* e *in vivo* este último tiene la ventaja de que se puede observar cómo actúan las sustancias sobre el metabolismo de los organismos como *Drosophila melanogaster* (Zuluaga *et al.*, 2009)

Drosophila melanogaster

Drosophila melanogaster es un insecto que pertenece al Orden Díptera, solo su primer par de alas es funcional y el segundo se ha transformado en órganos del equilibrio, los llamados halteríos o balancines (Ramos, 1993). Durante su ciclo de vida (Figura 5) *D. melanogaster* pasa por los estadios de huevo-larva-adulto; etapas en las que pueden ser expuestos a diversos tratamientos experimentales y que puede durar desde 10 días a 25 ± 2 °C y 65 % de humedad relativa, o llegar a durar hasta dos semanas a 18-21 °C.

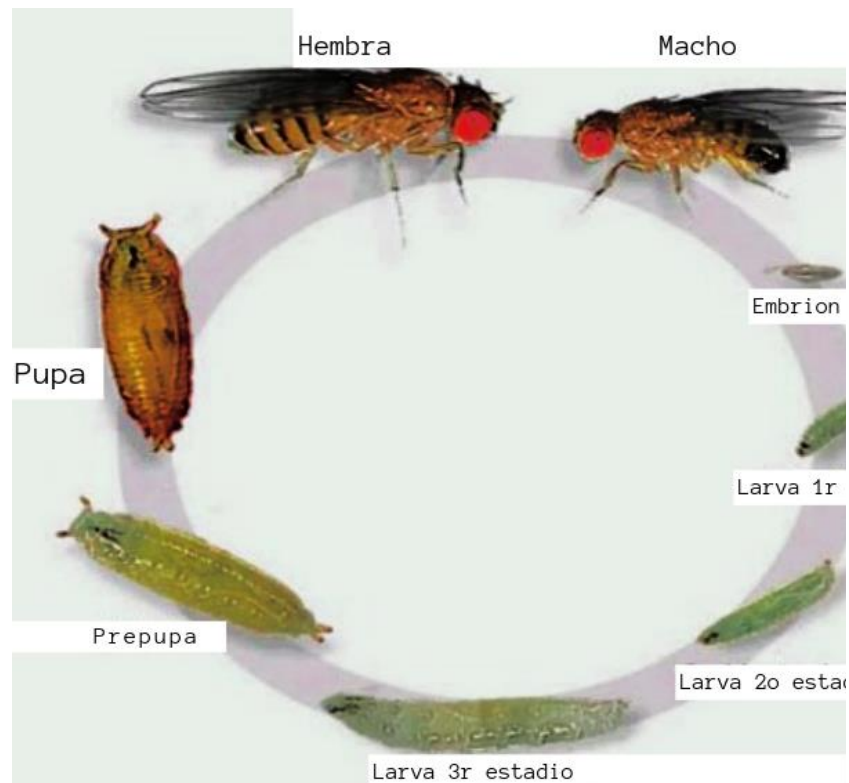


Figura 5: Ciclo de vida *D. melanogaster*. Modificado de Montalvo, 2020

El ciclo de vida completo comienza con la ovoposición, en la que la hembra puede depositar entre 600 a 800 huevos en sus 40 – 60 días de vida. El huevo de *D. melanogaster* mide menos de medio milímetro de largo, es translúcido y presenta dos micrópilos que le permiten respirar y flotar en los jugos de frutas fermentadas en donde puede ser ovopositado; del huevo eclosiona la larva e inmediatamente comienza a alimentarse. La larva pasa por tres estadios: el primero a las 24 h, el segundo a las 48 h y el tercero a las 72 h. Durante la fase larvaria, la ingesta de alimento es continua, llegando a consumir de 3 a 5 veces su peso, incrementando de 0.5 a 2.0 mg. Durante el desarrollo tardío de la larva, la metamorfosis, los discos imaginales (bolsas epiteliales de 20 a 50 células) (Figura 6) se diferencian y forman las estructuras y tejidos presentes en el adulto (Castañeda- Partida *et al.*, 2013). “Después de 240 horas emerge el imago con un cuerpo alargado de color blancuzco y las alas enrolladas en el dorso. Después de unos minutos expande el exoesqueleto lo que permite que se endurezca al contacto con el aire y el color de éste se oscurece; también hace fluir la hemolinfa por las venas de las alas,

expandiéndolas y rigidizándose al contacto con el aire; para que sean maduros sexualmente, deben de pasar entre 6 y 8 h en el caso de los machos, y entre 10 y 12 h para el de las hembras” (Castañeda-Partida *et al.*, 2013).

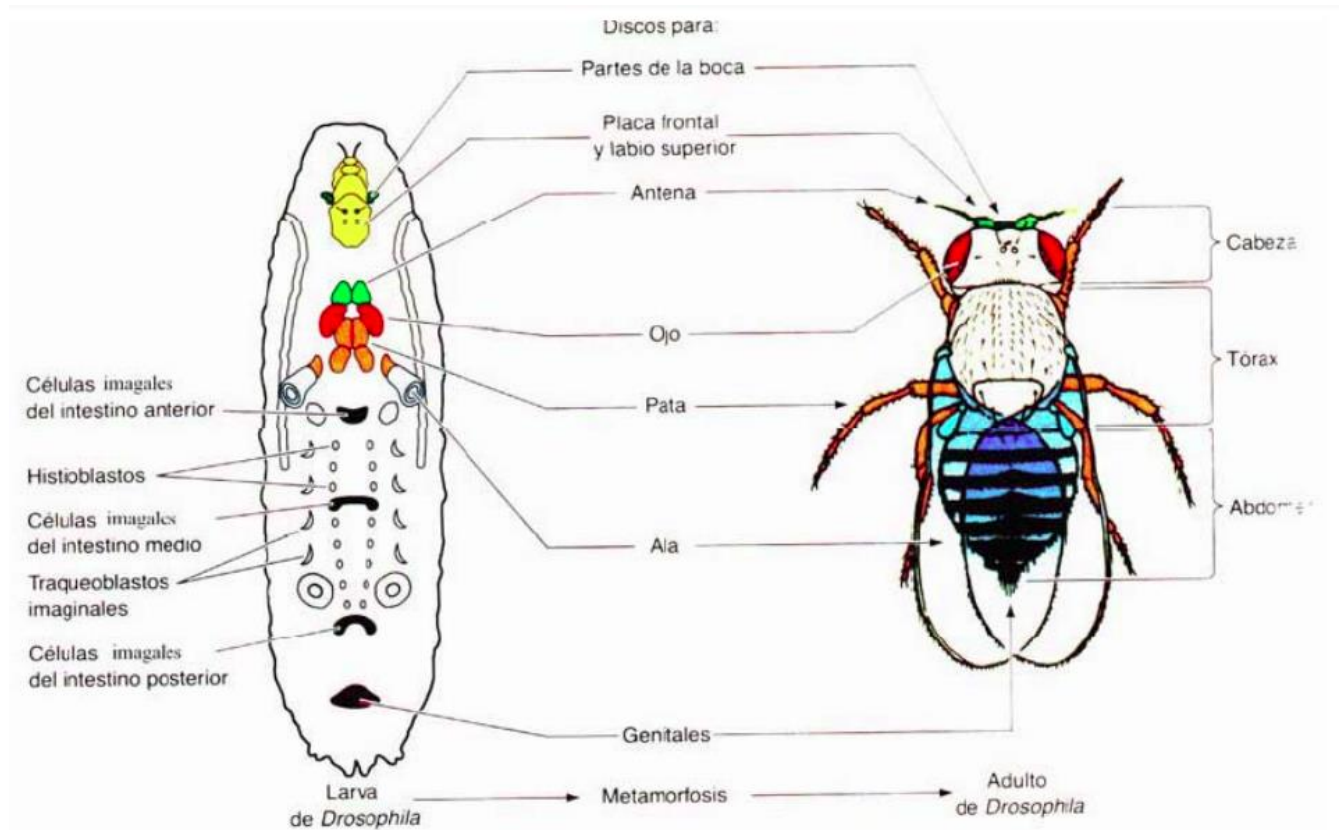


Figura 6: Discos imaginales de *Drosophila melanogaster* (Méndez, 2009)

Bioensayo SMART en ala de *Drosophila melanogaster*

Un agente genotóxico puede ser físico o químico y tiene la capacidad de inducir de forma directa o indirecta, alteraciones en el material genético de los seres vivos; estos agentes pueden bloquear la replicación del DNA y promover la aparición de mutaciones que derivarían en patologías (Zuluaga *et al.*, 2009). Para estudiar los efectos de sustancias nocivas como son los genotóxicos, se han utilizado modelos invertebrados, como la mosca de la fruta *Drosophila*

melanogaster. El género *Drosophila* ofrece una serie de ventajas como sistema de prueba en genotoxicidad *in vivo* y permite estudiar la expresión de genes durante el desarrollo (Lewis *et al.* 1995). Este pequeño eucarionte prolifera rápidamente y es fácil de mantener, su ciclo de vida es corto, por lo que se obtienen resultados rápidamente de cualquier experimento donde se utilice (Llorens, 2009), además de estar secuenciado su genoma totalmente (Adams *et al.*, 2000). La similitud entre mamíferos y *D. melanogaster* en las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos en proteínas es de aproximadamente 40% entre homólogos y entre los dominios funcionales conservados puede ser de 80 a 90% o mayor (Pandey y Nichols, 2011). *Drosophila* es un modelo eucarionte con 70% de genes homólogos funcionales que se asocian a enfermedades en humanos (Schneider, 2000).

Uno de los bioensayos para no usar animales vertebrados y determinar la genotoxicidad de agentes físicos o químicos es la Prueba de Mutación y Recombinación Somáticas (SMART, por sus siglas en inglés: *Somatic Mutation and Recombination Test*) en ala de *D. melanogaster* (Graf *et al.*, 1984). Ésta consiste en exponer larvas de tercer estadio de *D. melanogaster* a un agente (químico o físico) que provoca la pérdida de heterocigosis de marcadores que en homocigosis se expresan en las alas del adulto; ya que las células de los discos imaginales se dividen de manera constante durante la metamorfosis en la fase pupal; si se produce una mutación en las células expuestas, ésta dará lugar a una alteración del fenotipo que se expresará como un grupo de células mutantes (mancha o clon) distinguibles en las alas de la mosca adulta (Graf *et al.*, 1984).

El ensayo de recombinación y mutación somáticas SMART en ala de *D. melanogaster* ha sido diseñado para detectar daños genéticos de una forma certera y estadísticamente confiable. La prueba se aplica *in vivo*; su fundamento es que, durante el desarrollo temprano de la mosca, grupos de células llamados discos imaginales, proliferan mitóticamente durante todo el periodo larval hasta la diferenciación en el estado pupa de las diferentes estructuras de la mosca adulta

(Graf *et al.*, 1984). Es posible, a través de este ensayo, evaluar el potencial de un agente xenobiótico directo o indirecto para inducir la pérdida de heterocigosis, resultado de una mutación, recombinación somática, delección del segmento de un cromosoma o aneuploidía (pérdida del cromosoma) (de Andrade *et al.*, 2004; Graf *et al.*, 1984).

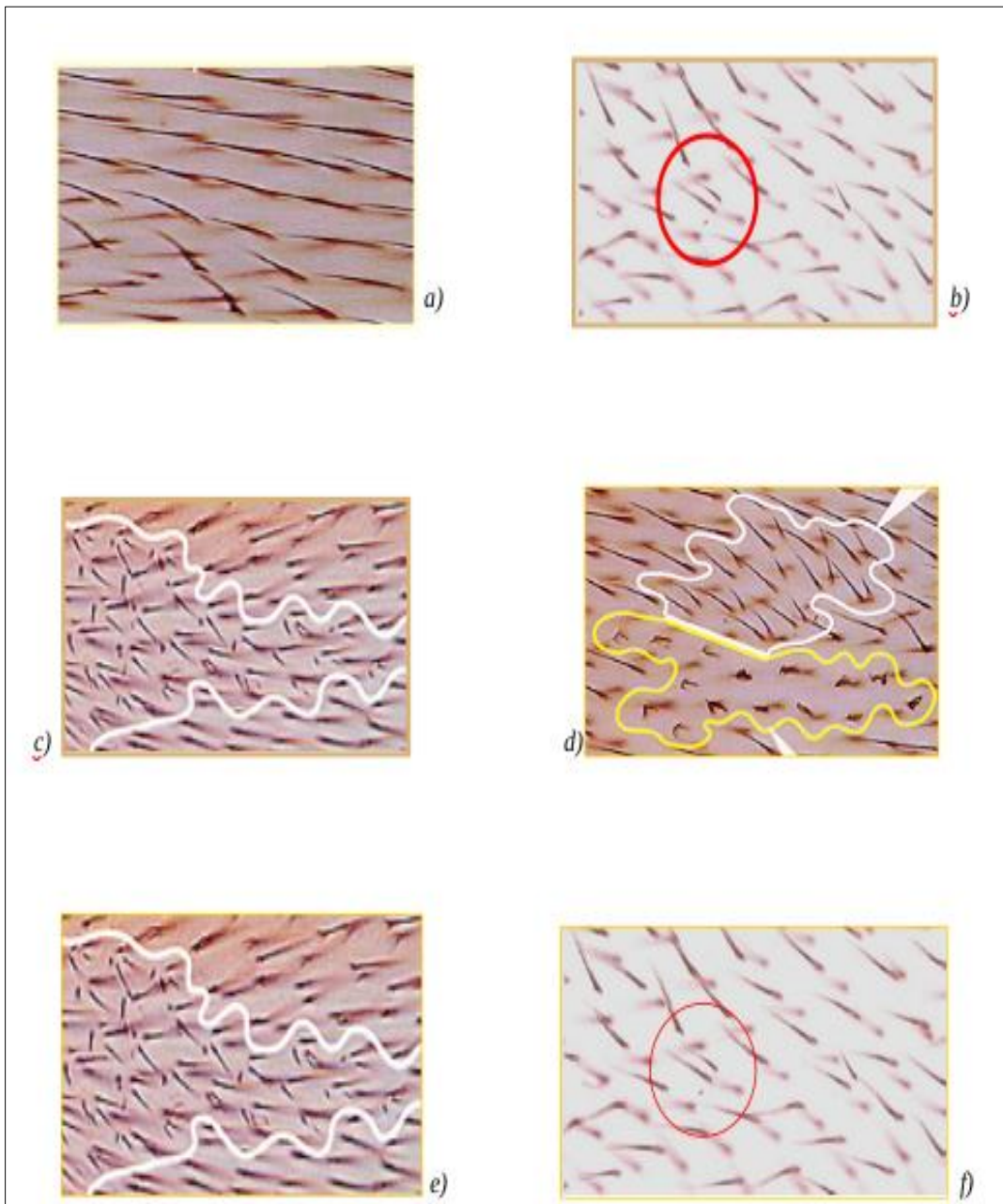


Figura 7: Eventos que se observan en SMART en ala: a) Fenotipo normal de los tricomas en el ala, b) Pérdida de heterocigosis ($mwh +/ + flr3$) por aneuploidía, c) Pérdida de heterocigosis por recombinación cercana al centrómero, d) Pérdida de heterocigosis por recombinación distal al centrómero, e) Pérdida de heterocigosis por mutación puntual, f) Pérdida de heterocigosis por delección. (Fotos proporcionadas por Frei, 1996).

Cruza de bioactivación elevada (CBE).

La CBE produce genotipos transheterocigotos $ORR(1)/+; ORR(2)/+; mwh, flr^3+/mwh+, flr^3$ con alas de fenotipo silvestre y heterocigotos $ORR(1)/+; ORR(2)/+; mwh flr^3+/mwh+ flr^3+, TM3, BdS$

con alas de fenotipo Serratia. Cuando en esta cruce hay pérdida de heterocigosis se pueden detectar los daños ocasionados por mutágenos (Graf *et al.*,1992). En las moscas transheterocigotas con fenotipo silvestre se pueden ver daños como mutaciones y recombinación, ya que no está presente la inversión múltiple, expresándose como manchas simples y gemelas y en las heterocigotas con alas Serratia, sólo se observan manchas simples causadas por mutaciones debido a que la inversión múltiple^{TM3} impide la recombinación somática por recombinación entre homólogos (Graf *et al.*, 1984).

ANTECEDENTES DE LA QUERCETINA Y LA AVICULARINA

Quercetina

Ranganathan y Halagowder (2015) reportaron que la quercetina tiene propiedades quimioprotectoras lo que fue evaluado en células cancerígenas de mama MCF-7 y MDA-MB-231 expuestas a concentraciones de 34 y 40 μM durante 8, 16 y 24 h, en este tiempo hubo un incremento apoptótico en la fase G1.

Harris *et al.* (2016) observaron que la quercetina induce apoptosis mediante la inducción del factor de respuesta antioxidante Nrf2 y promueve la expresión de la proteína p53 en tejido de melanoma DB-1 en concentraciones de 4-40 μM .

Costa *et al.* (2016) demostraron que la quercetina promueve la reducción de células cancerígenas, e induce la apoptosis en tejido de melanoma DB-1 en concentración de 60 μM aplicado durante 6 h.

Nam *et al.* (2016) reportan que la quercetina tiene un efecto quimioprotector contra el tungsteno a concentraciones de 30 mg/Kg aplicado durante 30 días, y a concentraciones de 0.5, 5, 50 mg/Kg aplicada por 45 días tiene efecto quimioprotector contra policlorados.

Avicularina

Wang *et al.* (2019) utilizando diferentes concentraciones de avicularina (25, 50 y 100 µg/mL) reportan que ésta funciona como supresor de tumores en el HCC (carcinoma hepatocelular), e investigaron su influencia en la migración e invasión de las células Huh (células hepáticas humanas que se cultivan en laboratorio). Además, hubo una marcada disminución en la acumulación de células de la fase S en el grupo tratado con avicularina, similar al sorafenib, particularmente a la concentración de 100 µg/mL. Estos datos sugirieron que la inhibición de la proliferación celular por la avicularina estaba relacionada con un aumento en la fase G0/G1 y una disminución de la fase S del ciclo celular.

Wang *et al.* (2020) encontraron que la avicularina a diferentes concentraciones (10, 30, 100 o 300 µM) durante 24, 48 y 72 h inhibió significativamente la viabilidad de células escamosas de carcinoma cutáneo en un ensayo CCK-8 de una manera dependiente de la dosis y el tiempo, en comparación con las células de control sin tratamiento. Estos resultados sugirieron que la avicularina tenía efectos citotóxicos sobre las células SCC13 (células de carcinoma escamoso humano de piel) de una manera dependiente de la dosis y el tiempo.

JUSTIFICACIÓN

Se ha reportado que la quercetina y su derivado glucosídico (avicularina) cuentan con diferentes propiedades benéficas para la salud ya que reducen las ROS; aunque también se menciona que la quercetina tiene un efecto genotóxico (Sortibrán *et al.*, 2011); para la avicularina no se cuenta con estudios sobre sus posibles efectos genotóxicos. Por lo anterior, se decidió realizar el ensayo SMART con este glucósido de la quercetina para contribuir al conocimiento de los posibles efectos genotóxicos que pueda o no tener esta molécula.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto genotóxico en SMART en ala de *Drosophila melanogaster* de diferentes concentraciones de avicularina, que es un derivado glucosídico de la quercetina.

MATERIALES Y MÉTODO

Se utilizaron las cepas *mwh* y *OR(R)-flare* de *D. melanogaster* del Laboratorio de Toxicología Genética de la FES Iztacala, UNAM, donadas originalmente por el Dr. Ulrich Graf del Instituto de Toxicología (*Swiss Federal Institute of Technology*) y de la Universidad de Zurich, Schwerzenbach, Suiza.

Ambas cepas fueron cultivadas en frascos de vidrio de 250 mL conteniendo 5 g de hojuela de papa y 20 mL de solución conservadora (5 mL de tegosept al 12% en etanol (EtOH) y 5 mL de ácido propiónico, aforados a 1 litro de agua) y 0.15 g de levadura seca (Dueñas *et al.*, 2002), posteriormente fueron colocadas en una incubadora a una temperatura de 25 ± 2 °C y humedad relativa (HR) de 65 % a oscuridad total.

Después de 15 días de cultivo se trasvasaron los organismos parentales *OR(R)-flare* a otro frasco de cultivo junto con las moscas nacidas ese mismo día, se esperó un periodo de 1 h a que emergieran nuevos imagos, este procedimiento se repitió hasta que no emergieron más moscas, tras sedar con CO₂ a las moscas se aislaron a los machos de las hembras *OR(R)-flare* y se colocaron 20 organismos de estas últimas en un tubo de fondo plano con 0.5 g de hojuelas de puré de papa hidratadas con solución conservadora; se esperaron de 3 a 5 días para comprobar que no hubiera larvas en los tubos lo que verifica que fueran vírgenes. Se pusieron 60 hembras vírgenes en un frasco de 250 mL con 5 g de hojuelas de puré de papa

hidratadas con solución conservadora y 20 machos *mwh* para realizar la cruce de bioactivación elevada (CBE), se les dejó un periodo de tres días para una mayor fecundación de las hembras.

Se preparó un medio de colecta con levadura fresca (*Saccharomyces cerevisiae*) y se vertió en frascos de vidrio, dejando secar 24 h y se colocaron las moscas parentales de la CBE para que depositaran sus huevecillos durante un periodo de 8 h, tras 72 ± 4 h se recuperaron las larvas de tercer estadio con agua corriente y una coladera de malla fina; las larvas recuperadas se usaron para realizar los experimentos crónicos con la avicularina.

Se alimentaron crónicamente las larvas de 72 ± 4 h a concentraciones de 0.38, 0.19, 0.095, 0.047 y 0.023 mM de avicularina disuelta en una solución de acetona+ EtOH 2%; como testigo positivo de la bioactivación elevada se usó 4-NQO (2 mM) (Graf *et al.*, 1989); como testigo positivo potencialmente prooxidante vitamina C (5.6 mM) (Dueñas-García *et al.*, 2017); como testigo disolvente agua milli-Q hasta la emergencia de los imagos. Se hicieron tres experimentos independientes con tres réplicas cada uno y al final se colectaron los adultos sedándolos. Los imagos fueron recolectados sedados con CO₂ y conservados en EtOH 70%, posteriormente las alas de los individuos con alas silvestres (*mwh +/ + flr³*) fueron disectadas y montadas en preparaciones permanentes con resina Entellan®. Se revisaron al microscopio óptico a 40x las superficies de las alas por secciones (Figura 8) de un mínimo de 55 individuos (tamaño óptimo de muestra) (Frei y Würzler, 1995), registrando las manchas pequeñas, grandes y gemelas de acuerdo con Graf *et al.* (1984).

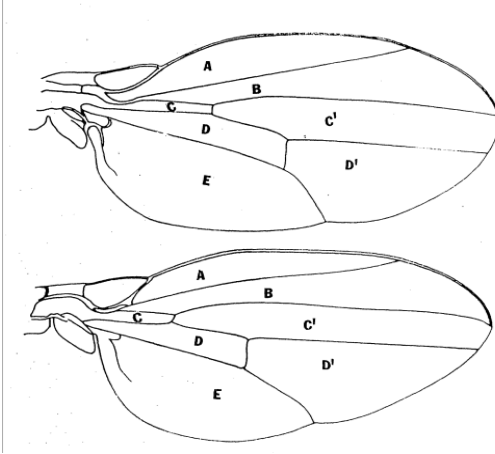


Figura 8 Alas de D. melanogaster dividida en sectores.

Análisis estadístico

Los resultados se evaluaron mediante la prueba de Kastenbaum-Bowman (K-S) a nivel de significancia de $P < 0.05$ con el software para PC, no publicado, de Würgler, que permite medir el grado de concordancia que existe entre la distribución del conjunto de datos y una distribución teórica específica derivada de la tasa espontánea de mutación y recombinación del testigo negativo (Frei y Würgler, 1988). Los resultados indecisos o débiles se analizaron con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney-Wilcoxon con $P < 0.05$ (Frei y Würgler, 1995).

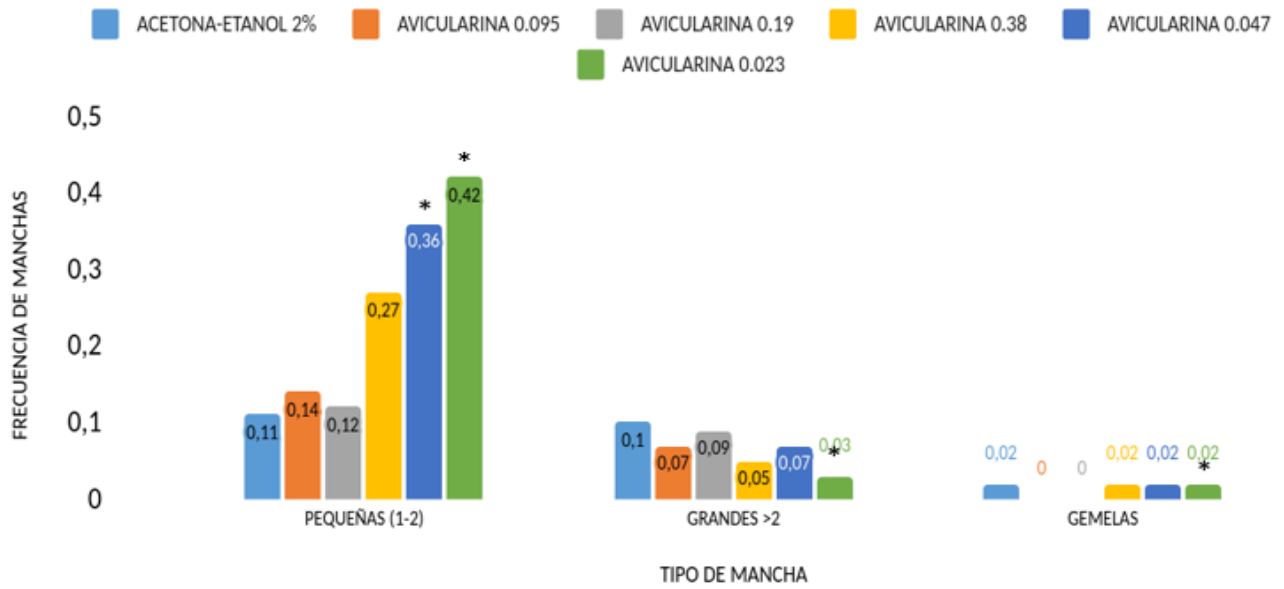
RESULTADOS

Se sometieron larvas de tercer estadio hasta el inicio de la fase pupa, a cinco distintos tratamientos de avicularina [0.023 mM, 0.047 mM, 0.095 mM, 0.19 mM y 0.38 mM], 4NQO [2 mM], como testigo positivo de la actividad de los Cyp450s, vitamina C [5.6 mM] como testigo positivo potencialmente prooxidante, agua como testigo negativo y acetona-EtOH 2% como testigo disolvente.

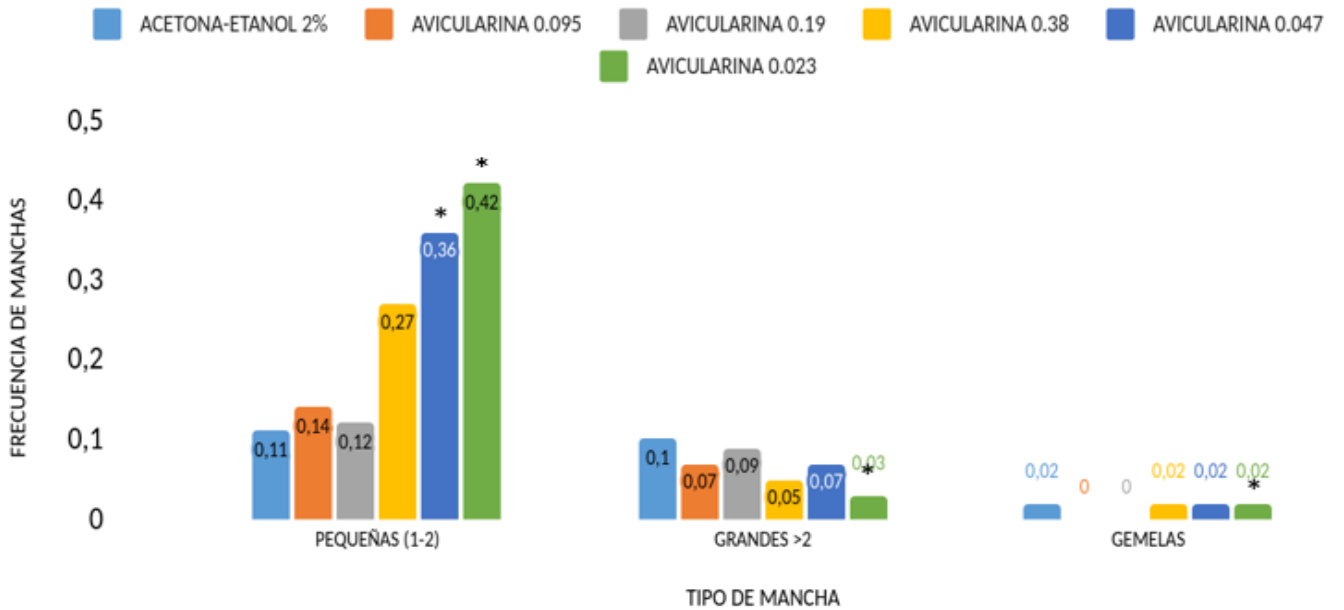
Tabla 1. Resumen de los resultados obtenidos con el programa SMART 2.1 para la cruce de bioactivación (CBE) elevada en el ensayo SMART en ala de *Drosophila melanogaster*.

TRATAMIENTOS	NUMERO DE INDIVIDUOS	Manchas pequeñas (1 - 2 células) m=2			Manchas grandes (> 2 células) m=5			Manchas gemelas m=5			Manchas totales M=2			Clones mwh
AGUA VS TESTIGOS														
AGUA MILLI-Q	58	0.47	(27)	-	0.02	(1)	-	0.05	(3)	-	0.53	(31)	-	31
TESTIGO 4NQO [2mM]	66	0.52	(34)	+	1.38	(9 1)	+	0.58	(38)	+	2.47	(16 3)	+	145
VITAMINA C [5.6 mM]	64	0.31	(20)	-	0.03	(2)	-	0.02	(1)	-	0.36	(23)	-	22
ACETONA- ETANOL [2%]	63	0.11	(7)	-	0.10	(6)	-	0.02	(1)	-	0.22	(14)	-	14
AVICULARINA VS ACETONA-ETANOL 2%														
ACETONA- ETANOL [2%]	63	0.11	(7)	-	0.10	(6)	-	0.02	(1)	-	0.22	(14)	-	14
AVICULARINA [0.023 mM]	59	0.42	(25)	+	0.03	(2)	-	0.02	(1)	-	0.47	(28)	+	28
AVICULARINA [0.047 mM]	59	0.36	(21)	+	0.07	(4)	+	0.02	(1)	+	0.44	(26)	+	26
AVICULARINA [0.095 mM]	58	0.14	(8)	-	0.07	(4)	-	0	(0)	-	0.21	(12)	-	12
AVICULARINA [0.19 mM]	58	0.12	(7)	-i	0.09	(5)	-	0	(0)	-	0.21	(12)	-	11
AVICULARINA [0.38 mM]	59	0.27	(16)	+	0.05	(3)	-	0.02	(1)	-	0.34	(20)	-	20

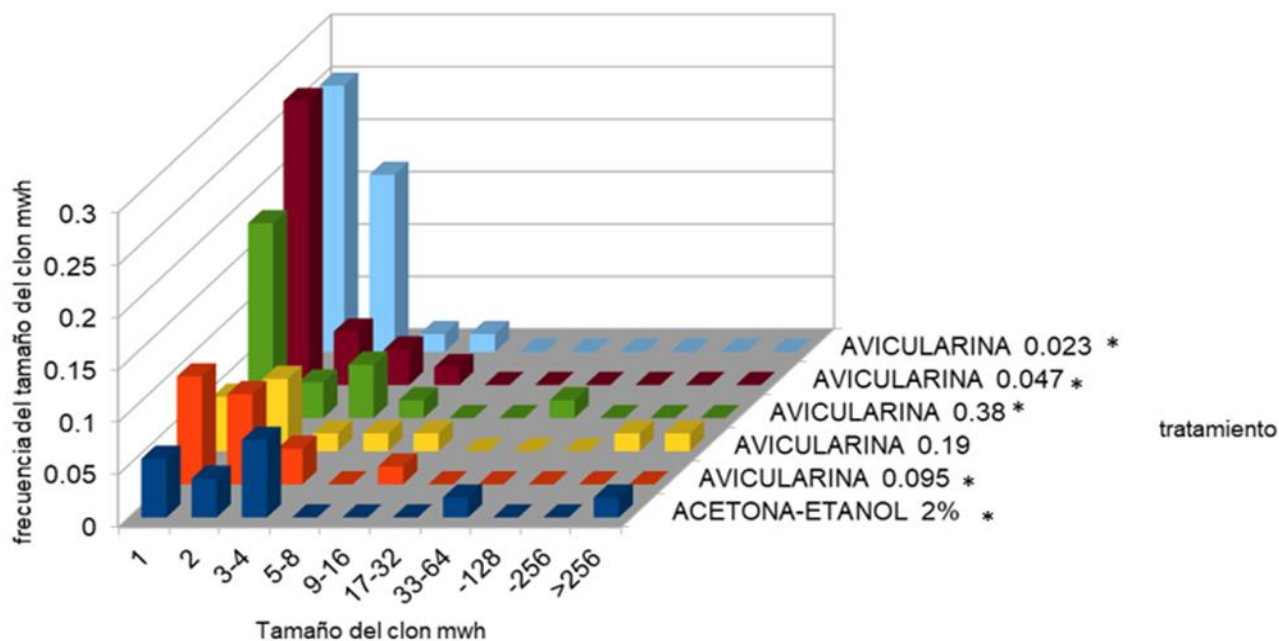
. *Diagnóstico estadístico de acuerdo con Frei y Würigler (1988, 1995) comparados con su testigo correspondiente: -, negativo; +, positivo; i, no concluyente; m, factor de multiplicación de riesgo mínimo para asignar un resultado positivo ($p < 0.05$)



Gráfica 1. Frecuencia de los tres tipos de manchas: pequeñas, grandes y gemelas entre tratamientos de avicularina y testigo disolvente. * $P < 0.05$.



Gráfica 2. Frecuencia de manchas de los diferentes testigos, donde se comparan las frecuencias de los tres tipos de manchas: pequeñas, grandes y gemelas. * $P < 0.05$



Gráfica 3. Distribución, frecuencia y comparación entre manchas mwh obtenidas en los tratamientos con avicularina y el testigo disolvente. * $P < 0.05$.

La comparación entre las frecuencias de manchas de los testigos (Tabla 1 y Gráfica 1) confirma el efecto genotóxico del testigo positivo 4NQO (2 mM), pero señala que la vitamina C (5.6 mM), que se utilizó como testigo pro-oxidante, no fue genotóxico y se descarta como testigo positivo. El testigo disolvente acetona-etanol 2% tuvo una aparente disminución en la frecuencia de manchas pequeñas en comparación con el testigo agua. Esto pudo suceder por algún daño ocurrido en la primera fase larvaria que indujera apoptosis en algunas células, sin embargo, no causó daños estadísticamente significativos.

Tres de las concentraciones (0.023, 0.047 y 0.38 mM) del compuesto avicularina parecen tener mayor frecuencia de manchas pequeñas y totales con respecto al testigo disolvente (acetona-etanol 2%) (Tabla 1 y Gráfica 2), sin embargo al aplicar la prueba estadística de U, prueba no paramétrica que compara diferencias individuales, se obtuvo que sólo las concentraciones 0.023, 0.047 mM fueron significativas para estos tipos de manchas, y por lo tanto la avicularina a estas dos concentraciones es genotóxica. También los resultados muestran que con la concentración de 0.047 mM de avicularina, las manchas grandes y gemelas resultaron significativas. Dado que para esta concentración la frecuencia de manchas grandes es igual a la de 0.095 mM y a la de gemelas con 0.023 mM, se propone que las diferencias estadísticas

se deban a las diferencias individuales que detecta la prueba de U y no a la frecuencia correspondiente, o bien sean resultados falsos positivos.

En la Gráfica 3 se muestra la frecuencia y distribución en el tamaño de clones *mwh* de los tratamientos de avicularina y testigo disolvente acetona-etanol 2%, con un aumento de células de 1 a 8 por tratamiento; al realizar la prueba estadística de Kolmogorof-Smirnov para el análisis de la distribución acumulada nos arroja que en cuatro tratamientos y el testigo disolvente los datos son significativos $P < 0.05$; esto indica que hubo alteraciones en la división de células en los discos imaginales que formaron las alas.

DISCUSIÓN

Los resultados de la prueba SMART muestran que a concentraciones bajas la avicularina es un agente genotóxico (Graf, 1984, 1989). Los testigos agua y disolvente no fueron genotóxicos; como se esperaba el testigo positivo 4NQO fue genotóxico y el testigo pro-oxidante vitamina C, no fue adecuado porque no provocó los efectos esperados. Los resultados positivos obtenidos con las concentraciones 0.023 y 0.047 de avicularina fueron en la frecuencia mayor de manchas pequeñas que provocaron que las manchas totales fueran positivas. Las manchas pequeñas pueden originarse por dos eventos: (1) por la producción de clones aneuploides que detuvieron la división celular o (2) por moléculas genotóxicas que se hubieran generado por un metabolismo lento en el organismo, después de la exposición (Graf, 1989). Los efectos de los tratamientos 0.023 y 0.047 mM podrían deberse a un efecto pro-oxidante derivado de la exposición a una concentración del flavonoide mayor a la normal-, dado que los flavonoides con un grupo 3-OH en combinación con un doble enlace entre los C2 y C3 en el anillo B (Figura 1) tienen normalmente una actividad antioxidante (Van Acquire, 1996). Se propone que los efectos negativos de las concentraciones mayores (Tabla 1, Gráficas 1 y 2) podrían ser resultado de un efecto tóxico que provocara la muerte celular, lo cual coincide con los resultados de la comparación estadística de la distribución acumulada de clones *mwh* (Gráfica 3) que indican una alteración de la división celular de las células imaginales que dieron origen a las alas. Los resultados positivos para las manchas grandes y gemelas, con el tratamiento 0.047 mM de avicularina, podrían ser resultado de las diferencias entre los individuos tratados, ya que estas mismas frecuencias se presentan en otros tratamientos no significativos, por lo que podrían ser falsos positivos, y se decide que dichos resultados son discutibles.

CONCLUSIONES

El ensayo SMART en ala de *Drosophila melanogaster* cruza de bioactivacion elevada (CBE) mostró que a concentraciones bajas el compuesto avicularina es genotóxico, porque sí se detectó daño significativo, lo que se puede atribuir a su estructura molecular y las concentraciones utilizadas en este bioensayo.

LITERATURA CITADA

Adams M.D. *et al.* The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*. 2000 287(5461):2185-2195. doi: 10.1126/science.287.5461.2185.

Bjeldanes L. F., Chang G.W. 1977. Mutagenic activity of quercetin and related compounds. *Science AAAS*, 197 (4303): 577-578. doi: 10.1126/science.327550. PMID: 327550.

Pedraza-Chaverri J., Cárdenas-Rodríguez N., 2006. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educación Química* 17 (2): 164-173. doi: <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2006.2.66056>

Cartaya O., I. Reynaldo. 2001. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales* 22 (2): 5-14

Sortibrán A. N., Ordaz-Téllez, M. G., Rodríguez-Arnaiz, R. 2011. Flavonoids and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res.* 726(1): 60–65. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.08.005. Epub 2011 Sep 1. PMID: 21907306.

Castañeda-Partida, L., Heres y Pulido, M. E., Dueñas-García, I. (2013). *Drosophila melanogaster*, un modelo experimental. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Tlanepantla, Estado de México, México. Universidad Autónoma de México. 81 pp.

Carvajal Carvajal C. 2019. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100. Consultado el 20 de junio de 2023, Accesible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091

Costa L.G., Garrick, J. M., Roquè, P. J., Pellacani, C. 2016. Mechanisms of neuroprotection by quercetin: counteracting oxidative stress and more. *Oxid Med Cell Longev.* 2016:2986796. doi: 10.1155/2016/2986796.

de Andrade H. H., Reguly, M. L., Lehmann, M. (2004). Wing somatic mutation and recombination test. *Methods Mol Biol* 247; 389-412. doi: 10.1385/1-59259-665-7:389.

Demerec M., Kaufmman B. P. 1975. Introducción a la genética y citología de *Drosophila melanogaster*. Traducción de Félix Estrada R. Instituto Nacional de Energía Nuclear. División de Aplicaciones. Departamento de Genética y Radiobiología. México, Distrito Federal. 56 pp.

Delgado-Roche, L., Martínez-Sánchez, G. 2010. Papel de las especies reactivas del oxígeno en el daño al miocardio inducido por isquemia/reperfusión *Revista Argentina de Cardiología*, vol. 78 (1): 54-60.

Dueñas I.E., M.E. Heres, P.L. Castañeda, U. Graf. 2002. Easy raising of *Drosophila melanogaster* on a medium consisting of mashed potato flakes and a preservative solution. *Dros. Inf. Serv.* 84: 166

Dueñas-García IE, Heres-Pulido ME, Arellano-Llamas MR, De la Cruz-Núñez J, Cisneros-Carrillo V, Palacios-López CS, Acosta-Anaya L, Santos-Cruz LF, Castañeda-Partida L, Durán-Díaz A. 2017. Lycopene, resveratrol, vitamin C and FeSO₄ increase damage produced by pro-oxidant carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide in *Drosophila melanogaster*: Xenobiotic metabolism implications. *Food Chem Toxicol.* 103:233-245. doi: 10.1016/j.fct.2017.02.007.

Escamilla, C. I., Cuevas M., E.Y. Guevara F., J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes.

Carrillo Esper, C., Díaz Ponce Medrano R., Peña-Pérez C.A. *et al.* 2016. Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 59(1), 6-18. Consultado el 21 de junio de 2023, Accesible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422016000100006&lng=es&tlng=es

Espinosa-Trujillo, E. (2012, Mayo 12). *Estructura química general de los flavonoides*. ResearchGate. Consultado Enero 7, 2021, Accesible en: https://www.researchgate.net/profile/Edgar_Espinosa-Trujillo2/publication/313427218/figure/fig3/AS:669337778139140@1536593970158/Figura-1-Estructura-quimica-general-de-los-flavonoides-A-B-y-C-son-anillos-aromaticos. Los números indican los carbonos de la molécula.

png

Frei H., Würigler F.E. 1988. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. *Mutat Res.* 203(4): 297-308. doi: 10.1016/0165-1161(88)90019-2. PMID: 3136327.

Frei H., Würigler F.E. 1995. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila*." *Mutat. Res.* 334(2): 274-258. doi: 10.1016/0165-1161(95)90018-7. PMID: 7885379.

Graf U., van Schaik, N. 1992. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 271: 59-67. doi: 10.1016/0165-1161(92)90032-h. PMID: 1371830.

Graf U., Würigler F.E., Katz A.J., Frei H., Juon H., Hall C.B., Kale P.G.. 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ Mutagen* 6 (2): 153-188. doi: 10.1002/em.2860060206.

Graf U, Frei H, Kägi A, Katz AJ, Würigler FE 1989. Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test. *Mutat Res.* 222, 359-373. doi: 10.1016/0165-1218(89)90112-2.

Halliwell B. 2008. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and *in vivo* studies? Arch Biochem Biophys. 476 (2): 107-112. doi: 10.1016/j.abb.2008.01.028.

Harris Z., Donovan M.G., Branco G.M., Limesand K. H., Burd R. 2016. Quercetin as an emerging anti-melanoma agent: a four-focus area therapeutic development strategy. Front Nutr 3:48. doi: 10.3389/fnut.2016.00048

IARC: Internacional Agency Research of Cancer: World Health Organization; [En línea] 1999 [Fecha de acceso 22 de Mayo de 2018] Accesible en: http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php

Kawabata K., Mukai R. y Ishisaka, A. 2015. Quercetin and related polyphenols: new insights and implications for their bioactivity and bioavailability. Food Funct. 6 (5): 1399-1417. doi: 10.1039/c4fo01178c.

Limon, D.D. Mendieta, A., Luna L., *et al.*. 2010. Figura 1. Estructura de los principales flavonoides.-Consultado-el-6-de-mayo-del-2022-Accesible-en: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Estructura-de-los-principales-flavonoides-La-diferencia-entre-ellos-radica_fig1_259344548

Lewis E.B., Nusslein-Volhard, C.Wieschaus, E.F. 1995. Premio Nobel de Fisiología o Medicina. Accesible en: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1995/summary/>

Llorens Liorens.J.V. 2009. Estudio en *Drosophila melanogaster* del efecto de la reducción y la sobreexpresión de la proteína deficitaria en la ataxia de Friedreich (Tesis de licenciatura) Universitat de València, España.

Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ.. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 17(6): 271-278.

Martínez- Valverde I, Periago M., J. Ros G., 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. ALAN, 50(1), 5-18. Recuperado en 20 de junio de 2023, Accesible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&tlng=es.

Massi A, Bortolini O, Ragno D, Bernardi T, Sacchetti G, Tacchini M, De Risi C. 2017. Research progress in the modification of quercetin leading to anticancer agents. *Molecules*, 22(8): 1270. doi: 10.3390/molecules22081270.

Montalvo Salcedo. E. F. 2020. Duración del ciclo de vida de *Drosophila* sp. en *Passiflora edulis* f. *edulis* Sims, 1818, en función a temperatura y humedad relativa específicas, en laboratorio y campo. Tesis de grado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/36770/efmotalvos.pdf?se>

Mendez García L.A. 2009. Valoración del efecto genotóxico de *Monarda austromontana* Epling en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de grado. Universidad Nacional Autónoma de Mexico. https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000649271

Nam JS, Sharma AR, Nguyen LT, Chakraborty C, Sharma G, Lee SS. 2016. Application of bioactive quercetin in oncotherapy: from nutrition to nanomedicine. *Molecules* 21(1):E108. doi: 10.3390/molecules21010108

Pandey UB, Nichols CD. 2011. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacol Rev.* 63(2):411-436. doi: 10.1124/pr.110.003293.

Gutiérrez R.M., Mitchell S., Solis R.V. 2008. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol.* 117(1): 1-27. doi: 10.1016/j.jep.2008.01.025.

Ramos Morales P. 1993. Manual de laboratorio de genética para *Drosophila melanogaster*. Mc Graw-Hill Interamericana de México, México D.F., 3-30.

Ranganathan S, Halagowder D, Sivasithambaram ND. 2015. Quercetin suppresses twist to induce apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. PLoS ONE, 10(10):e0141370. doi: 10.1371/journal.pone.0141370.

Rzedowski J., Rzedowski G.C.. 1999. Flora del Bajío y regiones adyacentes. Instituto de Ecología, A. C. Centro Regional del Bajío de Pátzcuaro, Michoacán. Fascículo 78(Sep), 52 pp.

Santos-Cruz L.F., Ramírez-Cruz B.G., García-Salomé M., Olvera-Romero Z.Y., Hernández-Luis F., Hernández-Portilla L.B., Durán-Díaz Á., Dueñas-García I.E., Castañeda-Partida L., Piedra-Ibarra E., Mendoza-Martínez C., Heres-Pulido M.E. 2020. Genotoxicity assessment of four novel quinazoline-derived trypanocidal agents in the *Drosophila* wing somatic mutation and recombination test. *Mutagenesis*;35(4):299-310. doi: 10.1093/mutage/gez042.

Schneider D. 2000. Using *Drosophila* as a model insect. *Nat Rev Genet.*; 1(3);218–226. doi:10.1038/35042080.

Tenorio-López, F.A., del Valle Mondragón, L., Pastelín-Hernández, G,. 2006. Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica? *Arch. Cardiol.Méx.* - 76(4), 33 45.Consultado el 06 de mayo de 2022.-Accesible-en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402006000800004&lng=es&tlng=es.

Tecalco-Cruz, A.C., Macías-Silva, M., Ramírez-Jarquín J.O., Ríos-López D.G., Zepeda-Cervantes J. 2021. Mecanismos básicos en la modulación de la expresión génica: algunas implicaciones en el envejecimiento del cerebro. *TIP. Revista especializada en ciencias*

químico-biológicas, 24, e295. Consultado el 20 de junio de 2023. Accesible en: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.0.295>

Vaquero-Rayaa, E.C., Molero-Richarda X. 2005. Reactive oxygen species in inflammatory diseases of the pancreas. A possible therapeutic target? Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España. 28 (8): 473-484. doi:10.1157/13078997.

van Acker SA, van den Berg DJ, Tromp MN, Griffioen DH, van Bennekom WP, van der Vijgh WJ, Bast A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(3):331-42. doi: 10.1016/0891-5849(95)02047-0.

Vicente-Vicente L., M. Prieto, M., Morales, A.I.. 2013. Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimentación. *Rev. de Toxicol.* 30(2):171-181

Wang, Z., Li, F., Quan, Y., Shen, J. 2019. Avicularin ameliorates human hepatocellular carcinoma via the regulation of NF- κ B/COX-2/PPAR- γ activities. *Mol. Med Rep*, 19(6), 5417–5423. doi.org/10.3892/mmr.2019.10198

Wang, Y., Liu, M., Chen, S., & Wu, Q. 2020. Avicularin inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Exp Ther Med* 19(2): 1065–1071. doi.org/10.3892/etm.2019.8303

Zorrilla-García A. E., Eirez-Izquierdo, M., Izquierdo-Expósito, M.. 2004. Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 23(1), 51-57. Consultado el 31 de julio de 2021, Accesible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000100008&lng=es&tlng=es.

Zuluaga Quintero, M., Valencia Ruiz, A.M., Ortiz Trujillo, I.C. 2009. Efecto genotóxico y mutagénico de contaminantes atmosféricos. *Medicina UPB* 28(1):33-41.