

INDICE

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABLAS

RESUMEN

ABSTRACT



	Pág.
1. INTRODUCCION	
1.1 Alcaloides	1
1.2 Alcaloides isoquinolínicos	3
1.2.1 Alcaloides protoberberínicos	4
1.2.1.1 Actividad antimicrobiana	5
1.2.1.2 Interacción con ácidos nucleicos y actividad antitumoral	5
1.2.1.3 Otros efectos	7
1.2.2 Alcaloides apomorfínicos	8
1.2.2.1 Propiedades farmacológicas de la apomorfina..	8
1.2.2.2 Interacción de la apomorfina con el ADN	9
1.2.3 Alcaloides bencilisoquinolínicos	9
1.3 Interacción de los alcaloides con el ADN	10
1.3.1 Interacciones directas	10
1.3.2 Interacciones enzimáticas a través de las topo- isomerasas	11

1.4	Utilización de ensayos con microorganismos para la detección de actividades mutagénicas y/o potencialmente oncogénicas	18
1.4.1	Fundamentos biológicos de estos ensayos con microorganismos	18
1.4.2	Ensayos en bacterias	21
1.4.2.1	Ensayo de Ames	21
1.4.2.2	Cromotest SOS	22
1.4.3	Ensayos en levaduras	25
1.4.3.1	Mutación.....	26
1.4.3.2	Recombinación	28
1.4.3.3	Efectos citotóxico y citostático en células de levaduras proeficientes y deficientes en sistemas de reparación del ADN	30
1.5	Utilización de ensayos en linfocitos periféricos humanos	34
1.5.1	La respuesta inmune	34
1.5.1.1	Respuesta inmune celular	36
1.5.1.2	Respuesta inmune humoral	38
1.5.2	Proliferación de linfocitos <u>in vitro</u>	40
1.6	Objetivos	45
2.	MATERIALES Y METODOS	
2.1	Alcaloides estudiados	46

2.2	Ensayos realizados en células procariotas	46
2.2.1	Ensayo de Ames	46
2.2.2	Cromotest SOS	48
2.3	Ensayos realizados en células eucariotas	51
2.3.1	Ensayos en levaduras	51
2.3.2	Ensayos en linfocitos periféricos humanos	55
3.	PARTE EXPERIMENTAL	
3.1	Ensayos en células procariotas	57
3.1.1	Ensayo de Ames	57
3.1.2	Cromotest SOS	63
3.2	Ensayos en células eucariotas	69
3.2.1	Ensayos en levaduras	69
3.2.1.1	Condiciones de crecimiento	69
3.2.1.2	Aislamiento de colonias sensibles a la radiación ultravioleta (UV).....	71
3.2.1.3	Determinación de los efectos citostático y citotóxico.....	71
3.2.1.4	Verificación de los efectos mutagénicos	73
3.2.1.4.1	Mutaciones nucleares	73
3.2.1.4.2	Mutaciones citoplasmáticas "petites"	75

3.2.1.5	Verificación de los efectos recombinogénicos mitóticos	76
3.2.2	Ensayos en linfocitos periféricos humanos	78
3.2.2.1	Preparación de la suspensión de linfocitos ..	78
3.2.2.2	Recuento y viabilidad de las células	79
3.2.2.3	Preparación de los cultivos e incubación de las placas.....	79
3.2.2.4	Marcación de los cultivos, recolección de las células y expresión de los resultados	81

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1	Ensayos en células procariotas	83
4.1.1	Ensayo de Ames	83
4.1.2	Cromotest SOS	89
4.2	Ensayos en células eucariotas	96
4.2.1	Ensayos en levaduras	96
4.2.1.1	Efectos citotóxico y citostático de la berberina en células haploides de levadura <u>S. cerevisiae</u> proeficientes y deficientes en sistemas de reparación del ADN	96
4.2.1.2	Efecto mutagénico de la berberina en células haploides de la levadura <u>S. cerevisiae</u>	110
4.2.1.3	Efectos citotóxico y recombinogénico de la berberina en células diploides de <u>S. cerevisiae</u>	117

4.2.2 Ensayos en linfocitos periféricos humanos	120
5. CONCLUSIONES	127
6. PERSPECTIVAS PARA EL ESTUDIO Y LA APLICACION MEDICA DEL ALCALOIDE BERBERINA.....	130
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	134