

SCIENDO 18(2):12-19,2015

Gonzales-Llontop

Efecto bio-reparador de *Piper aduncum* L. “matico” en raicillas de *Allium cepa* L. “cebolla” con aberraciones cromosómicas inducido por ciprofloxacina

Bioreparating effect of *Piper aduncum* L. "matic" in rawns of *Allium cepa* L. "onion" with chromosomal aberrations induced by ciprofloxacina

Luis Felipe Gonzales-Llontop¹
Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Amazonas-Perú
luisfego@hotmail.com¹

RESUMEN

Se determinó el efecto bio-reparador de *Piper aduncum* L. “matico” en raicillas de *Allium cepa* L. “cebolla” con aberraciones cromosómicas inducido por ciprofloxacina. Se escogió raicillas de 2,5 cm de 27 bulbos de *Allium cepa* L. a fin de consolidar una dinámica de mitosis continua de la muestra. Se usó un modelo experimental con 3 grupos, señalando las raicillas cada 10 minutos para mostrar las células en diversos momentos de mitosis. Se asignó la técnica de coloración rápida de Tjio y Levan. Los tejidos de *Allium cepa* L. que fueron inducidos por ciprofloxacina 1% presentaron perjuicio cromosómico del tipo: puente (18,4%), fragmentaciones (7,9%), reordenamiento (15,7%) y sin aberraciones (58,0%), mientras el grupo que recibió ciprofloxacina 1% más matico mostró: puente (6,5%), fragmentaciones (2,7%), reordenamiento (3,8%) y sin aberraciones (87,0%). Se reafirma el efecto bio-reparador de *P. aduncum* L. al encontrar que las distintas aberraciones cromosómicas halladas descendieron porcentualmente y se presenta la alternativa de que *A. cepa* L. se establezca en un biotest que identifique el perfil genotóxico de los poderosos fármaco-mutagénicos que se vienen consumiendo en nuestro país.

Palabras clave: aberraciones cromosómicas, genotoxicidad, ciprofloxacina.

ABSTRACT

The bioreparator effect of *Piper aduncum* L. "matic" was determined on rootlets of *Allium cepa* L. "onion" with chromosomal aberrations induced by ciprofloxacina. 2.5 cm rootlets of 27 *Allium cepa* L. bulbs were selected in order to consolidate a continuous mitosis dynamics of the sample. An experimental model was used with 3 groups, pointing the rootlets every 10 minutes to show the cells at various moments of mitosis. Tjio and Levan's fast staining technique was assigned. The tissues of *Allium cepa* L. that were induced by ciprofloxacina 1% presented chromosomal damage of the type: bridge (18.4%), fragmentations (7.9%), rearrangement (15.7%) and without aberrations (%). While the group that received 1% more mafic ciprofloxacina showed: bridge (6.5%), fragmentation (2.7%), rearrangement (3.8%) and no aberration (87.0%). The bioreparator effect of *P. aduncum* L. is confirmed by finding that the different chromosomal aberrations found are decreasing in percentage and the alternative is that *A. cepa* L. is established in a biotest that identifies the genotoxic profile of the powerful drug-mutagens that Are consuming in our country.

Key words: chromosomal aberrations, genotoxicity, ciprofloxacina.

RECIBIDO: 22 Febrero de 2015

ACEPTADO: 15 Diciembre de 2015

INTRODUCCIÓN

En este mundo globalizado la vida de los seres humanos está propensa al consumo de sustancias químicas indeseables tales como la amoxicilina, cuyo uso para sofocar ciertas dolencias en el ser humano ya sea por prescripción médica y/o automedicación y que sin medir sus consecuencias (efectos colaterales) conjuntamente acompañado con agentes externos (estrés) podrían empezar el nacimiento de un conjunto de células malignas^{1,2}. Dubinin³ y Hayflik⁴, afirmaron que los procesos de reparación del ADN es uno de los caminos principales para la comprensión de los fenómenos oncogénicos, desarrollo individual y envejecimiento humano. En el 2000 usando aminol-extra, un bioestimulador de tallos y hojas, logró reparar tejidos meristemáticos de *Vicia faba* L. “haba” dañados por efecto del herbicida 2,4-Diclorofenoxiacetico logrando repotenciar la maquinaria enzimática reparadora del vegetal⁵.

Las investigaciones sobre transformaciones celulares en tejidos vegetales y animales han permitido entender que ciertos agentes químicos como el ácido acetilsalicílico⁶, 2,4-Diclorofenoxiacetico²⁶, el metilcolantreno, el benzopireno y otros más usados como los preservantes de alimentos, en un momento determinado pueden originar una cascada de células malignas. Su núcleo de ataque de estos mutágenos se centraría en los ácidos nucleicos de las células donde ocasionarían múltiples errores cromosómicos, clave biológica para la posterior transformación celular⁷.

Los efectos colaterales y adversos producidos por distintos fármacos han sido comprobados y demostrados en más de un paciente y en modelos biológicos de animales (ratas albinas) de experimentación, plantas, bacterias en muchos países como Estados Unidos, Argentina, Brasil, Perú y otros; sin embargo, el efecto reparador del *Piper aduncum* L. “matico” como un posible agente bioreparador de tejidos simples (epiteliales) no ha sido demostrado.

Piper aduncum L. “matico”, es una especie nativa de Perú, Chile y Argentina. La medicina popular le atribuye al matico, propiedades cicatrizantes, es así como el té o infusión de las hojas es usado en forma tópica para el tratamiento de heridas, de quemaduras, inflamaciones, dolor de garganta, tos, úlceras externas e internas, etc.^{8,9}

Con los resultados se pretende aportar evidencias de la alternativa de constituir el infuso de *Piper aduncum* L. “matico”, en parte de una estrategia preventivo-terapéutico de bajo costo, que pueda contribuir al restablecimiento de la salud de las personas y nos permita identificar el perfil toxicológico de los compuestos químicos que como la ciprofloxacina, son consumidos actualmente en nuestro país.

El presente trabajo tuvo como objetivos: determinar el efecto bioreparador de *Piper aduncum* L. “matico” en raicillas de *Allium cepa* L. con aberraciones cromosómicas inducido por ciprofloxacina y así esperar que la “cebolla” se constituya en componente de un biotest que señale el perfil genotóxico (daño cromosómico) de los poderosos fármaco-mutagénicos que actualmente se consumen en el país.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con 27 bulbos de *A. cepa* L. “cebolla” variedad arequipeña. El número de bulbos utilizado por sistema fue de 09 y se realizaron 03 tratamientos que fueron los grupos A (testigo), grupo B (control) y grupo C (experimental). Los bulbos fueron puestos en agua constantemente aireada, en oscuridad y a temperatura de 20°C. Tres días después se eligieron solamente las raicillas que mostraron una longitud promedio de 2,5 cm a fin de obtener muestras con dinámica de mitosis continua.

Para la determinación del periodo del ciclo celular promedio de la población de *A. cepa* L se tomó como sustento la duración de la onda celular binucleada usando cafeína 0,1% por una hora de iniciado los sistemas. Para ésto se estableció con anticipación el índice del ciclo celular¹⁰ promedio como se muestra en la Tabla 1 determinándose las duraciones promedio de la interfase y de las 4 fases de la mitosis¹¹ e inducción de la genotoxicidad química con ciprofloxacina 1%.

Cuando se conoció los tiempos de los acontecimientos celulares¹² en el grupo A (Testigo) se sometió las raicillas de *A. cepa* L. por 13 horas en agua pura. En el grupo B (control) las raicillas de cebolla, fueron sometidas a la acción de la ciprofloxacina 1% a partir de la 4ta. hora hasta la 6ta. hora en la etapa “S” del periodo inicial de la etapa de interfase a fin de inducir la formación de perjuicios cromosómicos; luego en el grupo experimental C las raicillas se sometieron al efecto combinado de la ciprofloxacina 1% como agente inductor del deterioro cromosómico y la infusión de *P. aduncum* L. “matico” como agente bioreparador de tejidos vegetales, para ello se utilizó un diseño experimental que fue elaborado por investigadores de la Universidad Nacional de Trujillo¹³. Se trabajó con 9 bulbos de cebolla que formaron 3 grupos experimentales. Se utilizaron 60 raicillas por cada grupo experimental. Luego se evaluó su efecto cada 1,000 campos microscópicos en un microscopio marca Leica modelo 1349522X a un aumento de 1,000X, calculando el número de células que presentaron daño cromosómico en el periodo terminal de la duplicación del ADN.

La infusión de “matico” se obtuvo de una cocción de 50 gramos de las hojas de “matico” en 100 ml agua destilada caliente y por 15 minutos. Luego se dejó reposar por 10 minutos, se filtró y guardó en frasco oscuro hasta su utilización.

En base a un trabajo piloto se encontró la dosis efectiva cincuenta (DE₅₀) del infuso de “matico”, con el fin de hallar la concentración promedio standarizada. Esta se determinó en función al número de bulbos utilizados para conocer si existen o no efectos dañinos y/o efectos colaterales del infuso empleado, para ello se utilizó el 10% del número total de los bulbos de cebolla (3 bulbos), siendo la concentración a utilizar de 50 mL de “matico”. equivalente al 50%.

Cálculo del índice mitótico

Apreciamos en la Tabla 1 los índices promedio de los periodos del ciclo celular y de las fases de la mitosis de *A. cepa* que ya fueron realizados por otros autores en células de raicillas^{10,14} y se determinaron los índices de cada fase mitótica siendo profase y anafase la más y menos numerosa, respectivamente. Dichos valores permitieron calcular a su vez, las duraciones promedio en horas de dichas fases.

Análisis estadístico e interpretación de datos

Los datos obtenidos fueron sometidos a las medidas de tendencia central (media) y de dispersión (varianza, error estándar), previa transformación arco seno de los porcentajes originales, para luego presentarse estos resultados en una Tabla de frecuencias de doble entrada. La comparación entre grupos se realizó mediante la prueba no paramétrica de Mac Wittney.

RESULTADOS

En la Tabla 1 (grupo A) apreciamos los índices promedio del ciclo celular y de las fases de la mitosis de *A. cepa*; asimismo, se determinó los índices de cada fase mitótica siendo profase y anafase la más y menos numerosa (44,6% y 9,2%), respectivamente. Dichos valores permitieron calcular a su vez, las duraciones promedio en horas de dichas fases¹⁵.

Tabla 1: Índices y duración promedio de los periodos y fases del ciclo celular de la población celular mononucleada de *Allium cepa* L. (grupo A)

Indicadores	Ciclo celular		Fases de la mitosis			
	Interfase	Mitosis	Profase	Anafase	Anafase	Telofase
Índices promedio	85.4	14.6	44.6	15.4	9.2	30.8
Varianza	3.1	2.8	3.2	1.4	1.8	2.7
Error estándar	0.7	0.75	0.80	0.530	0.60	0.73
Duraciones promedio (HS)	11.2	2.0	0.89	0.32	0.18	0.61

Tabla 2: Porcentajes promedio de los tipos de aberraciones cromosómicas halladas en raicillas de *Allium cepa* L. “cebolla” tratadas con ciprofloxacina 1% (grupo B)

	Puentes Cromosómicos	Fragmentaciones cromosómicas	Reorganización cromosómica	Sin aberraciones
CELULAS ANAFASICAS	18,4	7,9	15,7	58,0
VARIANZA	4,1	0,9	1,6	0,8
ERROR STANDARD	0,81	0,33	0,41	0,28

Con respecto a la Tabla 2 observamos los porcentajes de aberraciones cromosómicas tipo: puentes cromosómicos (18,4%), fragmentaciones cromosómicas (7,9%), reorganización cromosómica (15,7%) y sin aberraciones (58%) halladas en células mononucleadas durante el ciclo celular de *A. cepa* con sus medidas centrales y de dispersión.

Tabla 3: Porcentajes promedio de los tipos de aberraciones cromosómicas halladas en raicillas de *Allium cepa* L. “cebolla” tratadas con ciprofloxacina 1% más de *Piper aduncum* L. “matico” (grupo C)

	Puentes Cromosómicos	Fragmentaciones cromosómicas	Reorganización cromosómica	Sin aberraciones
CELULAS ANAFASICAS	*6,5	*2,7	*3,8	*87,0
VARIANZA	1,3	0,5	0,9	1,1
ERROR STANDARD	0,11	0,14	0,6	0,19

Con respecto a la Tabla 3 observamos los porcentajes de aberraciones cromosómicas tipo: puentes cromosómicos (7,1%), fragmentaciones cromosómicas (3,7%), reorganización cromosómica (6,8%) y sin aberraciones (82,4%) halladas en células mononucleadas durante el ciclo celular de *A. cepa* con sus parámetros estadísticos descritos.

En relación a las alteraciones cromosómicas, los resultados de la Tabla 3 (reorganización cromosómica) comparados con la Tabla 2, presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$).

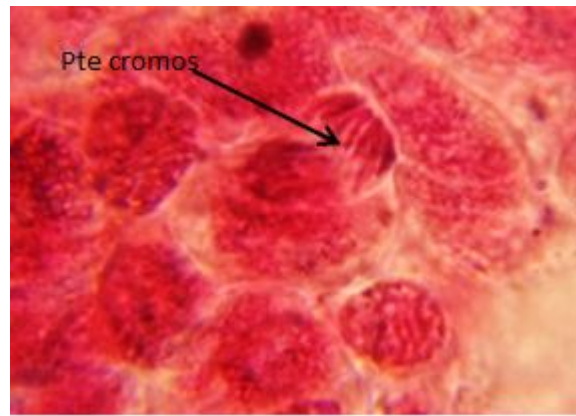


Fig. 1: Células de raicillas de *A. cepa* L. “cebolla” mostrando puentes cromosómicos causadas por efecto de la ciprofloxacina 1% (1000X).

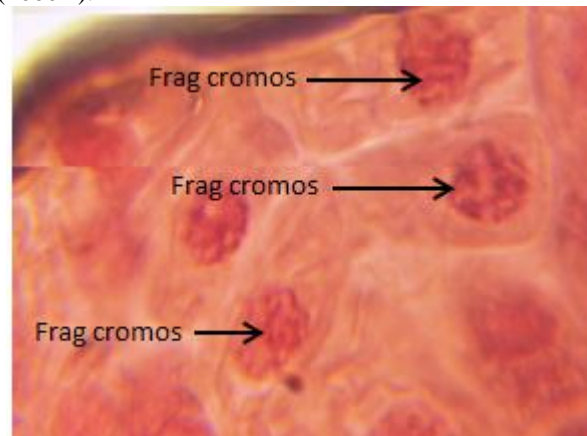


Fig. 2: Células de raicillas de *A. cepa* L. “cebolla” exhibiendo fragmentaciones cromosómicas causadas por efecto de la ciprofloxacina 1% (1000X).



Fig. 3: Células de raicillas de *A. cepa* L. “cebolla” presentando reordenamiento cromosómico causado por efecto de la ciprofloxacina 1% (1000X).

DISCUSIÓN

Los resultados señalados en la Tabla 1 muestran los índices del ciclo celular y sus fases mitóticas de la población mononucleada de *A. cepa* L. que fueron calculados por Gonzales y otros estudiosos^{5,6,14,16,13,17} dichos índices expresaron las duraciones de 11,2 hs. para interfase y de 2,0 hs. para mitosis, habiendo sido tomados como base en este trabajo para enfrentar a los bulbos de *A. cepa* L. con la ciprofloxacina.

Analizando la Tabla 2 el grupo de células de raicillas de *A. cepa* L. “cebolla” que recibió tratamiento con ciprofloxacina 1% presentó aberraciones cromosómicas tales como: puentes (18,4%), fragmentaciones (7,9%) y reordenamiento (15,7%) y sin aberraciones (58,0%). Estos resultados al ser comparados con los valores obtenidos en la Tabla 3 cuyas alteraciones cromosómicas halladas fueron: puentes (6,5%), fragmentaciones (3,7%), reordenamiento (3,9%) y sin aberraciones (87,0), señalan el alto poder regenerativo que tiene el infuso de hojas de *P. aduncum* L. “matico” que al estimular la reparación celular posiblemente por los flavonoides que contiene pudo corregir los errores cromosómicos y por ende, también los errores genéticos que pudo haberse originado en la molécula del ADN por efecto de la ciprofloxacina¹⁰.

En las Tablas 2 y 3 nos indican que se realizaron tratamientos continuos con las células de raicillas de *A. cepa* L. más ciprofloxacina 1% seguido de la aplicación de. “matico” lográndose inducir una mayor presencia de alteraciones cromosómicas, así como un alto poder de reducción de tales aberraciones; esto concuerda con De Robertis¹⁸, quien manifiesta que con tratamientos continuos se logra una mayor cantidad de alteraciones cromosómicas que con tratamientos intermitentes.

De Robertis¹⁸ afirma que las dosis bajas no son suficientes como para ocasionar aberraciones en un cromosoma. Al aumentar las dosis el número de fragmentaciones se incrementa y las “conexiones aberrantes” aumentan más su frecuencia. Con una dosis baja existe mayor posibilidad de que la ruptura pueda repararse como en la estructura original, antes de que ocurra una nueva rotura que sea capaz de suscitar tal aberración. Según los resultados obtenidos de las Tablas 2 y 3, esto concuerda con los estudios realizados por otros autores^{18,19,25}. En la comparación de los resultados obtenidos según las Tablas mencionadas se comprobó que a mayor dosis del agente supuestamente mutagénico (ciprofloxacina 1%) ocasionó mayor aparición de anomalías cromosómicas¹⁹.

Los puentes cromosómicos se producen por la rotura de los brazos cromosómicos en el momento de la división celular (telofase). Durante la mitosis, los dos centrómeros se mueven hacia los polos opuestos y pueden quedar estables formando “puentes” debido a la resistencia física que estos ofrecen²⁰. En la Fig. 1 se observa que los puentes cromosómicos formados no se rompieron²¹ con lo cual se deduce la alta incidencia de desorden cromosómico ocasionado por la ciprofloxacina 1%.

Croce y Klein²², afirman que el reordenamiento cromosómico es el producto de translocaciones recíprocas (aberraciones inter cromosómicas) entre dos cromosomas de las células afectadas, existiendo intercambio de segmentos entre cromosomas no homólogos (Fig. 3). Por este proceso se origina un nuevo tipo de cromosomas y se reduce el número de cromosomas de una especie. Se trata de un mecanismo que ha intervenido en la evolución de diversas especies como la filogenia de la *Drosophila*, langostas, reptiles, aves, mamíferos y otros. La reorganización cromosómica (delecciones, duplicaciones e inversiones) está relacionadas con enfermedades congénitas en el ser humano como: síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, síndrome XYY, mujeres con polisomía del X, mongolismo, harmafroditismo, monosomías y trisomías. Además ciertos tumores cancerígenos mostraron reorganización cromosómica así tenemos la leucemia mieloide crónica (relacionada con el cromosoma Filadelfia), el linfoma de Burkitt, el retinoblastoma (cáncer de la retina)²³ y el cáncer de pulmón²⁴. En este estudio (Fig. 3) se puede observar el reordenamiento cromosómico ocasionado por la ciprofloxacina 1% en tejidos meristemáticos de raíces de “cebolla”.

El resultado de este trabajo nos ha permitido valorar el efecto dañino de la ciprofloxacina a nivel cromosómico y así como el efecto reparador del *P. aduncum* L. “matico” lo cual nos permite sugerir que deberá tenerse en cuenta lo encontrado en este estudio y se deberá aplicar una estrategia preventivo-terapéutico contra las diversas dolencias que afectan a

los seres humanos reemplazando el uso de ciertos fármacos (con efectos colaterales) por productos naturales de comprobada eficacia.

CONCLUSIONES

En condiciones experimentales de laboratorio, a una dosis de 50 mL del infuso de *P. aduncum* L. “matico” presenta el mejor efecto reparador en raicillas de *A. cepa* L. “cebolla” con aberraciones cromosómicas.

El grupo control de *Allium cepa* L. que fue inducida por ciprofloxacina 1% presentó aberraciones cromosómicas como: puentes, fragmentaciones, reordenamiento y sin aberraciones en porcentajes de: 18,4%, 7,9%, 15,7%, y 58,0%; mientras que el grupo comparativo que recibió ciprofloxacina 1% más matico presentó: puentes (6,5%), fragmentaciones (2,7%), reordenamiento (3,8%) y sin aberraciones (87,0%), respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gonzáles, L.; Díaz, C. Efecto citoreparador de un *Aloe vera* L. “sábila” en tejidos embrionarios de *Allium cepa* L. “cebolla” con daño cromosómico inducido por amoxicilina. ACC-CIETNA. 2: 1-10, 2014.
2. Cairns, V. El problema del cáncer. En Cairns Eds. Prensa Científica. España. 2010.
3. Dubinin, N. Genética General. Tomo I y II. Edit. MIR. Moscú. Rusia. 2005.
4. Hayflick, L. Biología celular del envejecimiento humano. En Cairns Eds. El cáncer pp. 169-177. Prensa científica. España. 2010.
5. Gonzáles, L. Efecto reparador del aminol extra en meristemos de *Vicia faba* L. tratados con el herbicida 2,4 D. SCIENDO. 5(1 -2): 61 -73, 2002.
6. Gonzáles, L.; Hernández, E. y Beltrán, R. Efecto citoreparador sinérgico de *Solanum tuberosum* L. “papa” y *Croton Lechleri* L. “sangre de grado” en *Allium cepa* L. “cebolla” con daño cromosómico inducido por ácido acetilsalicílico “aspirina”. Revista Conocimiento para el Desarrollo. 4 (1):103-110, 2013.
7. Devoret, R. Test bacterianos de sustancias potencialmente cancerígenas. En Cairns Eds. El cáncert pp. 46-56. Prensa científica. España. 2008.
8. Lezaeta, M. La medicina natural al alcance de todos. 10º edición. Editorial Limusa S.A. México, 2012.
9. Mostacero, J; R. Ramírez; F. Mejia. Evaluación de Plantas Preventivas y Terapéuticas del Tracto Gastro-Intestinal en Trujillo- La Libertad. REBIOL 31 (1) 45-61, 2011
10. De la Torre. C. ; GimenezAbian, MG; Giménez Martin, G. Stringecy at Four Regions of the Plant Cell Cycle were Proteins Regulating its Progresión are Synthesized. Journal of cell Science. 94: 259-265. 1999.
11. Stent, G. S. y R. Calendar. Genética molecular. Ed.Omega S.A. Barcelona. 2011.
12. Sans, J. Giménez Martin, G.; De La Torre, C. Onset of Cell Proliferation in Dormant Roots of *Allium cepa* L. Bulbs Kinetics Analysis. Biol. Cell 38: 99-104. 2000.
13. Beltrán, R., Gonzáles, L. Inducción de puentes cromosómicos permanentes en meristemos de *Allium cepa* L. REBIOL. 15 (1- 2): 9-17, 1995.
14. Gonzáles, L. Efecto citotóxico del herbicida 2,4~D sobre meristemos de *Allium cepa* L. y *Vicia faba* L. REBIOL. 17(1 -2): 15-21, 1997.
15. Ahmed, M.; Grant, W. Cytological affects of the pesticidas Phosdrin and Bladex on Tradescantia and Vicia fava. Journal Genet. Cytol. 14: 157-165, 1972.

16. Gonzáles, L.; Beltrán, R. Efecto de la sangre de grado, *Croton lecheri*, en la reparación cromosómica de tejidos mitóticos de *Allium cepa* dañados por acción del metronidazol. REBIOL 30 (1) 28-37. 2010.
17. Gonzáles, L. Efecto reparador de *Aloe vera* “sábila” en tejidos mitóticos de *Allium cepa* L. con daño cromosómico por efecto del ibuprofeno. ANDÍAMAZ :5-10, 2009.
18. De Robertis, E. D. P. y E. M. F. De Robertis. Biología Celular y Molecular. Edit. Ateneo. Buenos Aires. Argentina. 2014.
19. Tortora y Grawosky. Principios de Anatomía y Fisiología. Edit. Mosby. España. 2012.
20. Weinberg, R. Base Molecular del Cáncer. El Cáncer. Prensa científica. España. 2011.
21. Howard, F. Flanders. Reparación Inducible del DNA. En Cairns Eds. El cáncer pp. 36-46 Prensa Científica. España. 2011.
22. Croce, C; Klein. Translocaciones cromosómicas y cáncer humano. En Cairns Eds. El cáncer pp. 117 123. Prensa Científica. España. 2010.
23. Bishop, M. Oncogenes. En Cairns. El Cáncer. Prensa Científica. España. 2009.
24. Castell, J. V. y M. Gómez. Photolytic degradation of ibupofen. Toxicity of the isolated photoproducts on fibroblasts and erythrocytes. Photobiol, 46 (6), 991-6. 2003
25. Alberts, B.; Lewis; M. Raff Robertis; J. D. Watson. Biología Celular. Edit. Omega S.A. Barcelona. España. 2015.
26. Gonzales, L.; Beltrán, R.; Gastañadui, C. y Puma,V. Inducción de la transformación celular en células meristemáticas de *Allium cepa* L. utilizando 2,4 Diclorofenoxiacético. SCIENDO. Vol. 10: 28-35. 2007.