



UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



**EFFECTO DE LA INFUSIÓN DE *Dracontium lorentense* EN
EL CICLO CELULAR DE *Allium cepa* L.**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR:

BACH. MELVIN YONNER VÁSQUEZ VARGAS

ASESOR METODOLÓGICO:

DR. CRISTIAN DÍAZ VELEZ

ASESOR TEMÁTICO:

DR. NÉSTOR RODRÍGUEZ ALAYO

LAMBAYEQUE-PERÚ

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



**EFFECTO DE LA INFUSIÓN DE *Dracontium lorentense* EN
EL CICLO CELULAR DE *Allium cepa* L.**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

BACH. MELVIN YONNER VÁSQUEZ VARGAS
AUTOR

DR. CRISTIAN DÍAZ VÉLEZ
ASESOR METODOLÓGICO

DR. NÉSTOR RODRÍGUEZ ALAYO
ASESOR TEMÁTICO



UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



**EFFECTO DE LA INFUSIÓN DE *Dracontium lorentense* EN
EL CICLO CELULAR DE *Allium cepa* L.**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

DRA. BLANCA SANTOS FALLA ALDANA
PRESIDENTE DE JURADO

DR. SEGUNDO FELIPE ULCO ANHUAMÁN
SECRETARIO DE JURADO

DR. ORLANDO VELASCO VELA
VOCAL DE JURADO

DR. JOSÉ ENRIQUE PECSÉN MONTEZA
SUPLENTE DE JURADO

DEDICATORIA

**A Dios, mi padre y amigo por estar conmigo en cada momento de mi existencia,
por ser fiel y tenerme paciencia.**

**A mi familia por motivarme a luchar constantemente sin desmayar,
especialmente a mis padres, coautores espirituales del presente trabajo.**

**A mi hermano José Martín Vásquez Vargas, por ser la razón que me llevo a
estudiar esta noble profesión y el motor impulsor de mi sed de investigación.**

AGRADECIMIENTO

A mi asesor Dr. Néstor Rodríguez Alayo, por guiarme en el maravilloso mundo la biología celular experimental.

A mi asesor Dr. Cristian Díaz Vélez, por brindarme su amplia experiencia en la elaboración y optimización de la presente obra.

A los técnicos de laboratorio Guillermo Carbone Guevara y Genaro Silva Valdera, por facilitarme los ambientes y equipos de laboratorio, así como su apoyo durante la ejecución del proyecto.

A la Dra. M.V. Gloria Vásquez Sánchez por ayudarme desinteresadamente durante la ejecución del trabajo y motivarme a seguir adelante.

INDICE

RESUMEN.....	7
ABSTRACT	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
A. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	11
B. HIPÓTESIS.....	11
C. OBJETIVOS	11
D. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO.....	11
II. ANTECEDENTES	13
III. BASE TEÓRICA.....	17
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	20
V. RESULTADOS	23
VI. DISCUSIÓN.....	30
VII. CONCLUSIONES.....	34
VIII. RECOMENDACIONES.....	36
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
ANEXOS	46

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto de la infusión de *Dracontium lorentense* (IDL) en el índice y anomalías del ciclo celular de *Allium cepa* L (ACL). **Material y métodos:** Estudio experimental donde se utilizaron 30 bulbos de cebollas formando 3 grupos, de 10 bulbos/grupo (A1, A2 y A3), germinándolas en agua potable hasta que sus raicillas alcancen un tamaño de 2-3cm. Luego A1 y A2 fueron sumergidas en IDL a dosis de 0.5g/dl (A1) y 1g/dl (A2), mientras el grupo control (A3) permaneció con agua potable, recambiándose diariamente todos los líquidos por 5 días. Después de cada exposición diaria a líquidos, se extrajo una raicilla de todos los bulbos, para teñir el meristemo apical con Orceína acética al 1% y observar las células al microscopio a 400x, para determinar el índice mitótico (IM), recuento de fases, y posibles anomalías de la división celular, repitiendo este procedimiento también por 5 días. Se utilizó Test de comparación de frecuencias, nivel de significancia $p < 0.01$. **Resultados:** El IM de los grupos A1 y A2 fue 1.1%, mientras que en el control fue 6,5%. Además, se evidenció engrosamiento de ápices de las raicillas de los grupos de estudio, que al ser observadas mostraron agregación de células no meristemáticas en interfase. **Conclusiones:** La disminución del ciclo celular de los grupos de estudio respecto del control fue de 82.9%. No encontramos diferencias dosis-dependientes en el IM entre los grupos expuestos a IDL. No hemos observado anomalías de la división celular en ninguno de los grupos.

Palabras clave: *Dracontium lorentense*, *Allium cepa* L., Allium test, Ciclo celular, División celular, Índice mitótico.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of *Dracontium lorentense* infusion (DLI) on the mitotic index and anomalies of cell cycle of *Allium cepa* L (ACL). **Material and methods:** An experimental study was carried out, where 30 bulbs of onions were used forming 3 groups, of 10 bulbs / group (A1, A2 and A3), germinating them in drinking water until their rootlets reach a size of 2-3cm. Then A1 and A2 were submerged in IDL at doses of 0.5g / dl (A1) and 1g / dl (A2), while the control group (A3) remained with drinking water, replacing all fluids daily for 5 days. After each daily exposure to liquids, a rootlet of all the bulbs was extracted, to stain the apical meristem with acetic orcein 1% and to observe the cells under a microscope at 400x, to determine the mitotic index, phase count, and possible anomalies of cell division, repeating this procedure also for 5 days. Frequency comparison test was used, level of significance $p < 0.01$. **Results:** It was found that the mitotic index of groups A1 and A2 was 1.1%, while in the control group it was 6.5%. On the other hand, apex thickening was evidenced in rootlets of groups A1 and A2, which when observed showed aggregation of non-meristematic cells in the interphase. **Conclusions:** The percentage of decrease of the cell cycle of the groups treated with DLI with respect to the control was 82.9%. We did not find dose-dependent differences in the percentage of cell cycle decrease among the groups exposed to IDL. We have not observed abnormal cell division in any of the groups.

Keywords: *Dracontium lorentense*, *Allium cepa* L., Allium test, Cell cycle, Cell division, Mitotic index.

I. INTRODUCCIÓN.

I. INTRODUCCIÓN.

El cáncer es un problema de salud desde la antigüedad, los primeros hallazgos fiables descritos en humanos de lesiones compatibles con cáncer datan del siglo IV a.C, durante la época de Hipócrates (1,2); y a lo largo de la historia ha manifestado mayor impacto en la salud pública, generando cada vez mayor mortalidad en la población humana. De hecho, en la actualidad, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó al cáncer como la segunda causa de mundial de muerte; con 8,8 millones de defunciones durante el 2015 (3), mientras que según el estudio GLOBOCAM 2018, esta cifra ascendió a 9.6 millones de muertes (4); lo que implica que casi una de cada seis defunciones en el mundo se debe a esta enfermedad; y se prevé un aumento aproximado del 70% de nuevos casos en los próximos 20 años (3).

Las estadísticas de cáncer en Perú, también muestran constante crecimiento anual, siendo el número de casos notificados por vigilancia epidemiológica durante el periodo 2006-2011, de 16671 en 2006, a 19461 en 2011, con estimaciones de 51695 para el 2025 (5); teniendo a Lambayeque como el tercer departamento con más casos de cáncer durante el periodo 2006-2011 (5).

A ello se añade, que hasta nuestros días no existe tratamiento curativo del cáncer en general, salvo raras excepciones, como algunos tipos de leucemias (6,7), o cuando éste se encuentra en estadios incipientes mediante cirugía (8); pero lamentablemente, al menos en Perú, el 85% de cánceres se detecta en estadios avanzados (9); y aún más, los actuales quimioterápicos coadyuvantes generan muchos efectos adversos que alteran significativamente la calidad de vida del paciente, lo que provoca en ocasiones un daño mayor que el de la enfermedad en su curso natural.

A pesar de sus elevadas incidencia y mortalidad, la prevención del cáncer, su diagnóstico temprano y tratamiento oportunos son un hecho desatendido por gran parte de la población lambayecana, peruana y mundial, de modo que incluso hoy, “solo uno de cada cinco países con ingresos medianos o dispone de los datos necesarios para impulsar políticas de lucha contra la enfermedad” (10).

La presente investigación fue realizada con la finalidad de hacer frente a esta problemática, valorando los efectos de la IDL como detentor del ciclo celular en ACL, con la finalidad de obtener un posible nuevo, eficaz y menos dañino agente quimioterápico contra esta enfermedad.

A. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Cuál es el efecto de la infusión de *Dracontium loretense* en el ciclo celular de *Allium cepa* L.?

B. HIPÓTESIS.

H₁: La administración de la infusión de *Dracontium loretense* disminuye la actividad mitótica en *Allium cepa* L.

C. OBJETIVOS.

Objetivo general.

- Evaluar los efectos de la administración de la infusión de *Dracontium loretense* en el ciclo celular de *Allium cepa* L.

Objetivos específicos.

1. Determinar el porcentaje de disminución del ciclo celular en *Allium cepa* L. luego de la administración de la infusión de *Dracontium loretense*.
2. Definir si existen diferencias cuantitativas dosis-dependientes en la disminución del ciclo celular de *Allium cepa* L. luego de la administración de la infusión de *Dracontium loretense*.
3. Evaluar la aparición de posibles alteraciones de la mitosis en *Allium cepa* L. relacionadas a la administración de la infusión de *Dracontium loretense*.

D. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO.

Al ser el cáncer un problema de salud global, y el segundo agente causante de mayor mortalidad en el mundo; es necesario que busquemos nuevas formas de prevenir, disminuir y combatir esta enfermedad, mediante diversas formas de terapias, entre las que también se encontraría el uso de recursos naturales; teniendo a favor que nuestra nación, el Perú, cuenta con miles de especies de plantas medicinales eficaces contra muchas enfermedades, muchas de ellas aún no descubiertas. Por lo que, en el presente trabajo, utilizamos una planta todavía desconocida por la mayoría de la población (más conocida en zonas de selva) con posibles y potenciales efectos preventivos y/o terapéuticos contra los FCA, lesiones preneoplásicas del cáncer colorrectal.

Es importante mencionar que no hemos encontrado estudios previos para evaluar los efectos antitumorales de *Dracontium loretense*, sino que los estudios ya realizados con esta especie mediante la búsqueda realizada en cinco bases de datos: Pubmed,

Science Direct, Scielo, Web of Science y Biblioteca virtual en Salud; han sido esencialmente para determinar sus componentes químicos (11–14), evaluar sus propiedades antibacterianas (15), sus efectos antiofídico (16), antirretroviral (17) e inmunoestimulante (18).

La consecución esperada de los objetivos de esta investigación, está abocada a contribuir al conocimiento de posibles nuevas terapias eficaces (y menos dañinas), mejorando nuestro arsenal terapéutico contra el cáncer, la calidad de vida la población y tal vez disminuyendo costos para combatir esta enfermedad.

II. ANTECEDENTES.

II. ANTECEDENTES.

En los últimos años se ha acrecentado el uso de plantas medicinales como fármacos anticancerígenos, de las que se han generado notabilísimos avances en la quimioterapia coadyuvante, siendo el alcaloide Taxol (Paclitaxel) extraído de *Taxus brevifolia* Nutt. (Tejo del Pacífico, conífera del oeste de Norteamérica) (19–21) y su derivado semisintético Taxotere (Docetaxel), los mayores exponentes, ya que de hecho, son considerados actualmente como la droga anticancerígena más eficaz en muchos tipos de cáncer (22); ambos aprobados por la Food and Drug Administration en muchos tipos de cánceres entre los que se incluyen el cáncer de mama (Docetaxel) (23), cáncer pulmonar de células no pequeñas (Docetaxel y Paclitaxel), cáncer prostático metastásico hormono-refractario (Docetaxel), cáncer de cabeza y cuello (Docetaxel) adenocarcinoma metastásico de páncreas (Paclitaxel) (24).

También existen otros quimioterápicos derivados de plantas, con eficacia antitumoral ya demostrada, tales como los alcaloides de la Vinca (ej. Vinblastina, Vincristina) (25) derivados de *Catharanthus* G.Don (Vinca rosea, o menor; planta herbácea que crece en Madagascar) (26–28), utilizados en Linfomas (29), cáncer urotelial (30), cáncer pulmonar de células no pequeñas (31), Histiocitosis X (32), etc.

Asimismo, las Epipodofilotoxinas (Etopósido, Tenipósido) (25), derivadas de *Podophyllum peltatum* (Planta de manzana de mayo, originaria de América; con su componente activo Podofilotoxina, un lignano extraído de la resina Podofilino) (33–36), usadas principalmente en tumores testiculares y uroteliales (37,38), sarcoma de Ewing (39), cáncer pulmonar de células pequeñas (40), linfomas y leucemias de células T (41), etc.

Las Camptotecinas (ej. Irinotecán, Topotecán) (25), extraídas de *Camptotheca acuminata* Decne (“árbol de la felicidad”, originario del Tíbet y de la China; con su compuesto activo, el alcaloide Camptotecina) (42,42–44), de gran utilidad en cáncer colorrectal (45) y gastrointestinal (46–48).

Debido a lo expuesto anteriormente, se continúa investigando las propiedades antitumorales de muchas otras plantas en todo el mundo, habiéndose corroborado los efectos citostáticos/citotóxicos de por ejemplo: *Aloysia gratissima* (Cedrón de Monte) (49), *Aloe vera* (Sábila) (50), *Hymenaea stigonocarpa* (Jatobá Del Cerrado) (51), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Pimiento brasileño) (52), *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) (53), *Jatropha gossypifolia* L. (“árbol del dolor de barriga”) (54,55), etc.

Así, Majewska et al. (22) en 2008, en un estudio comparativo sobre la actividad de Taxol y Taxotere, encontraron que Taxol a dosis de 26ug/ml, a las 6h incrementó marcadamente el índice de profases, con cambios turbagénicos (CT, engrosamiento y acortamiento de cromosomas) y cambios clastogénicos (CC, engrosamiento cromosómico y formación de numerosos micronúcleos); a las 12h disminuyó el número de profases a expensas del de telofases (lo que indica desbloqueo y progresión a cariocinesis), y a las 24h redujo de forma dosis-dependiente el IM desde 12.5% (control en agua) hasta 2.8%, sin observarse formación de micronúcleos. Por otro lado, Taxotere a dosis de 640 ug/ml no inhibió el IM, sin embargo, generó notables disturbios sobre todo en metafase, induciendo c-metafases (cromosomas caóticamente distribuidos, en reemplazo de la placa ecuatorial de metafase), CT y sobre todo CC (proporcionales a la concentración); así como alteraciones morfológicas en anafase y telofase, todo ello con valores máximos a las 24h.

Luego, Hister et al. (49) en 2009, con 5 bulbos/grupo, evaluaron el efecto anti proliferativo del extracto acuoso de *Aloysia gratissima*, que, luego de 24h de incubación, a dosis de 6g/dl redujo el IM de 6.83% (control en agua) a 4.55%, mientras que a dosis de 24g/L, lo redujo hasta 2.04%.

Asimismo, Kurás et al. (53) en 2009, con 3 bulbos/grupo, determinaron el efecto inhibitorio dosis-dependiente de mitosis de *Uncaria tomentosa*, que a dosis de 0.56mg/ml redujo IM a 40% en 3h, casi 0% a las 12h e inhibición completa a 24h, todo ello, sin aparición de aberraciones o alteraciones mutagénicas.

Después, Badria et al. (50) en 2013, con 4 bulbos/grupo para los grupos de estudio y 3 bulbos para el grupo control, utilizando derivados naturales de antraceno encontraron que: a dosis de 500ppm y luego de 24h de incubación, Antrona causó 43% de inhibición dosis-dependiente de actividad mitótica, Aloe emodina, 49% de inhibición mitótica y Emodina 53% de inhibición mitótica, con variaciones de IM entre 56%, 35% y 40% para los demás compuestos derivados (Alizarina, Quinizarina y Reína respectivamente). Adicionalmente, la Antrona, evitó la formación de nuevas raicillas saludables.

También, Fedel-Miyasato et al. (52) en 2014, valorando los efectos antimutagénicos y antigenotóxicos del extracto metanólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi, y luego de 24h de incubación, encontraron aumento del IM de 18.56% (control en agua) a 29.03% (dosis de 16.8mg/L), 33.58% (dosis de 33.6mg/L) y 21.11% (dosis de 50.4mg/L), así

como mayor efecto quimiopreventivo de dicha sustancia a concentraciones menores, lo cual sugiere que la mayor capacidad protectora de daño mutagénico subyace en la diferencia en el balance final de concentraciones de fitoquímicos, pro-oxidantes, y antioxidantes en las diferentes concentraciones.

Por su parte, Mišík et al. (56) en 2014, utilizando aproximadamente 2 bulbos/grupo (10 sometidos a al menos 5 citostáticos diferentes), y luego de 24h de incubación, hallaron que el IM en Etopósido fue de aproximadamente 3% (a concentración de 1 uM), mientras que en Vinblastina fue 13% (a concentración de 1uM). Además, la mayor actividad genotóxica, la tuvo Etopósido, respecto de Vinblastina. A su vez, Zabka et al. (57) en 2015, encontró resultados similares de IM para Etopósido, con 5% a las 18h.

Asimismo, Santana et al. (51) en 2016, con 5 bulbos/grupo, demostraron el efecto antimutagénico de extracto de *Hymenaea stigonocarpa*, que luego de 24h de incubación redujo el IM de 25.4% (control en agua) a 3.9% (dosis 0.5mg/ml), 3.6% (dosis 1mg/ml), y 1% (dosis 1.5mg/ml) y reduciendo significativamente el número de aberraciones cromosómicas ocasionadas por paracetamol 0.008mg/ml.

También, Almeida et al. (54) en 2016, con 20 bulbos/grupo, y tiempo de incubación 24h, investigando el potencial genotóxico de los extractos etanólico y acuoso de *Jatropha gossypifolia* L. determinaron un efecto dosis-dependiente que a concentración de 1g/dl, produjo un IM de 19% y 30% respectivamente, en comparación con el placebo (agua destilada), cuyo IM fue aproximadamente 50%. Además, dicha sustancia indujo la aparición dosis-dependiente de c-metafases, pérdida cromosómica, anafases multipolares, micronúcleos, puentes cromosómicos, etc.

III. BASE TEÓRICA.

III. BASE TEÓRICA.

Hoy en día se acepta que los estudios de citotoxicidad y genotoxicidad son de gran relevancia para la evaluación toxicológica de fármacos (58,59); esto, debido a que “los organismos biológicos tienen la capacidad de expresar las alteraciones más sutiles que operan durante cierto tiempo, mediante respuestas individuales (fisiológicas, etiológicas, morfológicas, bioquímicas” (58,60). En este sentido, la utilidad de ACL, mediante el Allium test planteado por Fiskesjo (61) 1995, en estudios experimentales para valorar la citotoxicidad (mediante evaluación del índice mitótico), genotoxicidad (por la frecuencia de alteraciones cromosómicas) y mutagenicidad (determinada por la presencia de micronúcleos) (54) de muchos compuestos es indiscutible, siendo ampliamente usada en todo el mundo, por su seguridad, sencillez, rapidez y fiabilidad para evaluar las alteraciones en el proceso de división celular (22), y con ello, detectar sustancias potencialmente útiles y/o peligrosas para la salud humana y del medio ambiente (58,62).

En nuestro trabajo, presentamos a *Dracontium loretense*, una planta herbácea perteneciente a la familia Araceae, que mide 1.5-2m de altura y crece en los bosques húmedos tropicales de Perú, Brasil y Costa Rica fundamentalmente, con temperatura promedio anual de 18-24°C y precipitación pluvial de 1200-3000 mm/año (16), conocida comúnmente como “Sacha Jergón”, del quechua “sacha” -parecido a-, por su parecido a la serpiente Jergón (*Bothrops atrox*) (63) (ver Anexo 1).

Sobre sus usos medicinales, en la selva peruana a menudo es usada como un antídoto eficaz a la mordedura de la serpiente antes mencionada; sin embargo, en el folklor local, también es utilizada como inmunoestimulante (64) y en enfermedades como SIDA, Diabetes Mellitus, cáncer, herpes, asma, etc. (65)

Respecto a su composición fitoquímica, Lovera et al. (16) en 2006, reportaron la presencia de taninos, saponinas, fenoles, flavonoides, alcaloides, terpenoides, proteínas y cenizas. Luego, Collantes et al. (65) en 2011, encontraron un elevado porcentaje de ácidos grasos y triglicéridos, así como esteroides (Sitosterol y Estigmasterol), acetonas (3-βhidroxi-5-eno-7-cetona), aldehídos (p-hidroxibenzaldehído), derivados de ácido benzoico (ácido p-hidroxibenzoico) y sacarosa. Por otro lado, Napolitano et al. (14) en 2011, aislaron los esfingolípidos Dracontiósido A y Dracontiósido B (66–68), y además encontraron 11 tipos de ácidos grasos y 21 especies de ceramidas y cerebrósidos, 7 de los cuales no habían sido antes reportados. Después, Gayan et al (11) en 2014, aislaron Oxilipinas, algunas de ellas (Oxilipina con un un anti-diol en los carbonos C9 y C10), con efecto inmunoestimulante.

De los diversos componentes fitoquímicos de *Dracontium lorentense* antes mencionados, adquieren aquí especial importancia, los esfingolípidos, las ceramidas y cerebrósidos, ya que mediante su abordaje se están desarrollando “novedosas estrategias de intervención terapéutica en cáncer, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y VIH” (14), ya que dichos compuestos, interaccionando de manera adecuada tienen efectos apoptóticos y citolíticos mediante células Natural Killer (14,69).

Debido a ello, sometemos a *Dracontium lorentense*, al Allium test para evaluar sus probables efectos antitumorales y/o genotóxicos, pues no hemos encontrado estudios previos al respecto.

Señalamos además que, los mecanismos de acción de los quimioterápicos derivados de plantas, ocurren tanto en la interfase (Camptotecinas y Epipodofilotoxinas actúan sobre la fase S) como en la mitosis (Taxanos y Alcaloides de la Vinca) estabilizando y desestabilizando los microtúbulos respectivamente (70), deteniendo ambos a las células en profase y metafase (22).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

- **Tipo de investigación y diseño:**

Estudio cuantitativo, experimental.

- **Población y muestra:**

Población.

✓ Bulbos de *Allium cepa* L.

Muestra.

✓ Infusión: 20 bulbos de cebollas divididas en 2 grupos (10 por cada grupo).

✓ Control: 10 bulbos de cebollas.

- **Procedimiento.**

Infusión de *Dracontium lorentense* (IDL).

Los tubérculos de *Dracontium lorentense* fueron recolectados del bosque de la ciudad de Juanjuí, a 03 horas de la ciudad (departamento San Martín), y se los sembró en un biohuerto en la Facultad de Medicina Humana - UNPRG, diseñado para este propósito (ver Anexo N° 01).

Se extrajeron hojas de las plantas del biohuerto para todos los grupos de trabajo y se preparó la infusión manualmente por trituración de las hojas sobre mortero, diluyéndose todas las concentraciones en agua estéril (ver Anexo N° 01).

***Allium cepa* L. (ACL).**

Se seleccionaron 36 bulbos de ACL de entre 7.5-8cm de diámetro, que fueron preparados y expuestas a agua potable, hasta que sus raicillas alcanzasen una altura de 2-3 cm; de éstas, se escogió aquellas 30 con mejor crecimiento de raicillas (uniformidad y longitud), de acuerdo al modelo de Fiskesjö (61), ya que en cualquier población de cebollas, hasta el 20% presenta alteraciones de crecimiento (61). (ver Anexo N° 01)

Luego, se formó 3 grupos, de 10 cebollas / grupo (A1, A2 y A3) y se añadió IDL a los grupos A1 y A2, a dosis de 0.5g/dl (A1), 1g/dl (A2), mientras el grupo control (A3) permaneció con agua potable, recambiándose todos los líquidos diariamente durante 05 días.

Luego de haber sido expuestas durante 24 horas a sus respectivas sustancias, de todos los bulbos se extrajo diariamente 01 raicilla, seccionando los ápices (porción meristemática) con bisturí en una longitud de 0.3cm y fueron sumergidas en lunas de reloj con Orceína acética al 1% (9 gotas) y HCl 1N (1 gota). Asimismo, se calentaron las muestras con mechero y alcohol hasta la obtención de 3 vapores, con respectivo enfriamiento a 37°C entre cada vapor; luego se las dejó reposar durante 15min.

Seguidamente se colocó sobre los portaobjetos y se realizó el “squash” tras colocar el cubreobjetos, luego se hizo el montaje con Gelatina Fenicada y se examinaron las láminas con microscopio óptico a 100x y 400x para determinar el IM, de fases y anomalías de la división celular.

Criterios de selección.

Bulbos de cebollas de 1.5-2 centímetros (cm) de diámetro, no secas, ni mohosas, ni con hojas verdes (61), o con superficie agrietada o dañada.

Recolección de datos.

Los datos fueron obtenidos mediante una ficha de recolección de datos (ver Anexo 2) dividida en dos secciones: en la primera se registró información del IM y de fases; y en la segunda, las anomalías de la división celular (efectos clastogénicos, c-mitosis, otras aberraciones).

Análisis estadístico de datos.

Para el análisis de los datos se utilizó el Software EPIDAT 4.2. Se utilizó test de comparación de frecuencias. Se consideró un nivel de significancia $p < 0.01$.

Aspectos éticos.

El presente trabajo cumple con los aspectos éticos de la investigación experimental en plantas.

V. RESULTADOS.

V. RESULTADOS.

Se utilizaron 36 bulbos de ACL, para crecimiento inicial con agua potable. Luego se seleccionaron los 30 con mejor crecimiento (tamaño, cantidad y uniformidad de raicillas), y que a la vez no estuvieran mohosos, o con corteza dañada, agrietada, o secos.

A continuación, se muestra el promedio de fases para los grupos A1 (0.5%), A2 (1%) y A3 (control).

Tabla N° 01. Frecuencia promedio de fases de *Allium cepa* L. según tiempo de exposición a infusión de *Dracontium lorentense* 0.5% (A1)

Día de exposición a IDL	Fases del ciclo celular					Total (%)
	I (%)	P (%)	M (%)	A (%)	T (%)	
1	99.47	0.53	0.00	0.00	0.00	100.00
2	98.32	1.21	0.23	0.07	0.17	100.00
3	99.05	0.55	0.15	0.10	0.15	100.00
4	99.69	0.19	0.00	0.06	0.06	100.00
5	98.18	0.58	0.00	0.80	0.44	100.00

IDL: Infusión de *Dracontium lorentense*, I: Interfase, P: Profase, M: Metafase, A: Anafase, T: Telofase.

Fuente: Propia.

Tabla N° 02. Frecuencia promedio de fases de *Allium cepa* L. según tiempo de exposición a infusión de *Dracontium lorentense* 1% (A1)

Día de exposición a IDL	Fases del ciclo celular					Total (%)
	I (%)	P (%)	M (%)	A (%)	T (%)	
1	99.47	0.38	0.05	0.10	0.00	100.00
2	98.56	0.76	0.17	0.30	0.21	100.00
3	98.95	0.52	0.18	0.30	0.05	100.00
4	98.72	0.88	0.11	0.23	0.06	100.00
5	98.73	0.47	0.33	0.27	0.20	100.00

IDL: Infusión de *Dracontium lorentense*, I: Interfase, P: Profase, M: Metafase, A: Anafase, T: Telofase.

Fuente: Propia.

Tabla N° 03. Frecuencia promedio de fases *Allium cepa* L. Control (A3)

Día de exposición a IDL	Fases del ciclo celular					Total (%)
	I (%)	P (%)	M (%)	A (%)	T (%)	
1	93.02	4.46	1.00	0.58	0.94	100.00
2	94.66	2.61	1.06	0.61	1.06	100.00
3	93.32	3.81	1.36	0.65	0.86	100.00
4	93.74	2.94	1.53	0.52	1.27	100.00
5	93.49	3.27	1.86	0.48	0.90	100.00

IDL: Infusión de *Dracontium lorentense*, I: Interfase, P: Profase, M: Metafase, A: Anafase, T: Telofase.

Fuente: Propia.

Luego se muestra el promedio global de mitosis para todos los grupos (Tabla N° 04), diariamente y en general, así como el índice global de fases (Gráfico N° 01).

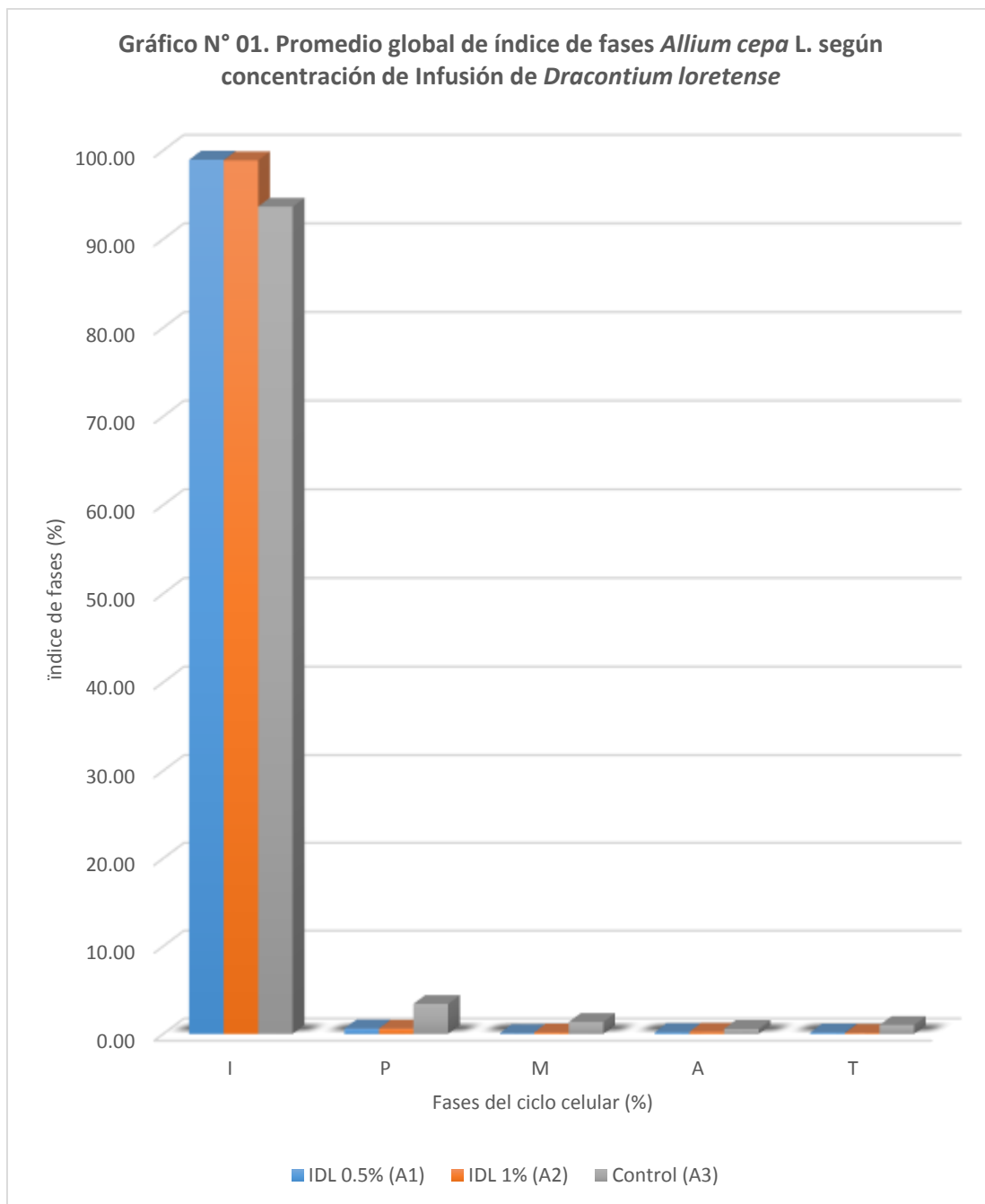
Tabla N° 04. Promedio de índice mitótico de *Allium cepa* L., según concentración de infusión de *Dracontium loretense* y tiempo de exposición

Día de exposición a IDL	Grupos de estudio		
	IDL 0.5% (A1) (%)	IDL 1% (A2) (%)	Control (A3) (%)
1	0.53	0.53	6.91
2	1.68	1.44	6.09
3	0.95	1.05	6.32
4	0.31	1.28	6.67
5	1.82	1.27	6.50
PT*	1.06	1.11	6.50

PT*: Promedio total, IDL: Infusión de *Dracontium loretense*,

Fuente: Propia.

Nivel de significancia $p < 0.01$, de la diferencia de IM entre el grupo control y los grupos de tratamiento.



IDL: Infusión de *Dracontium lorentense*.

Fuente: Propia.

Además, se calculó el porcentaje de disminución de mitosis entre el grupo control y cualquiera de los grupos, debido a que el porcentaje promedio de los otros dos grupos fue similar (aproximadamente 1.1%), así:

$$\textit{Porcentaje de reducción de mitosis} = \frac{6.5\% - 1.1\%}{6.5\%} = 82.9\%$$

Por otro lado, se presentaron algunos cambios en la morfología de las raicillas sometidas al IDL, tales como adelgazamiento de estas y engrosamiento distal desde el tercer día de exposición a IDL (Figura N° 01), lo que se evidenció durante la preparación y observación de láminas, pues se encontró mayor resistencia del tejido al “squash”, así como abundante tejido de células maduras (no meristemáticas) en la zona meristemática (Figura N° 02). Asimismo, no se observaron anomalías de la mitosis en ninguno de los grupos.



Figura N° 01. Bulbo de ACL expuesto a IDL 0.5% durante 72h, con adelgazamiento de raicillas (A) y engrosamiento del meristemo apical (B).

Fuente: Propia.

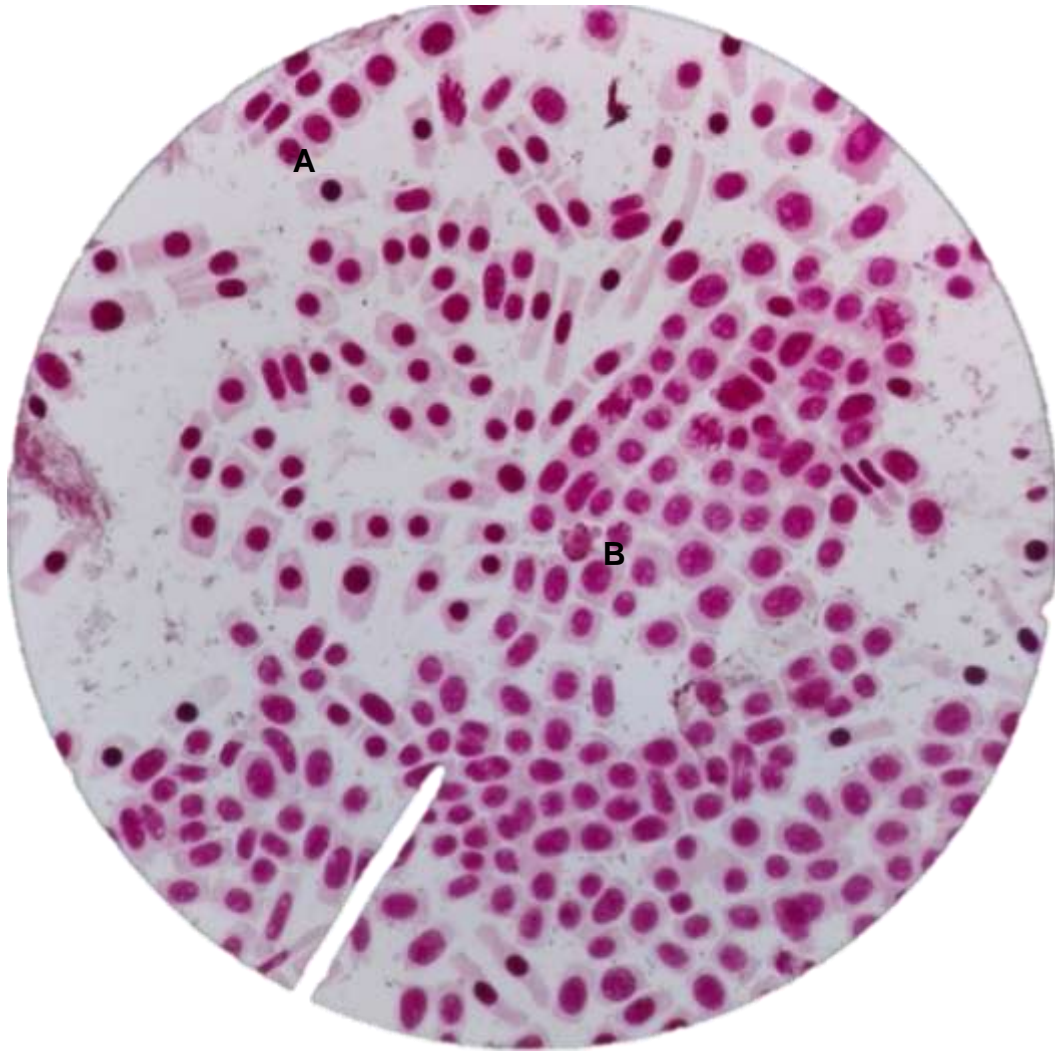


Figura N° 02. Porción apical de bulbo de ACL expuesto a IDL 0.5% durante 72h. Se observa células maduras (no meristemáticas) en parte superior e izquierda de la lámina (A) más rectangulares o poligonales, mientras que, en la parte inferior y derecha, células meristemáticas más redondeadas (B).

Fuente: Propia.

VI. DISCUSIÓN.

VI. DISCUSIÓN.

Durante mucho tiempo, investigadores de todo el mundo vienen trabajando para encontrar una terapia efectiva contra los tumores, y una de estas formas es interviniendo en el ciclo celular. Si bien es cierto, existen ya diversos agentes terapéuticos derivados de plantas, planteamos a *Dracontium lorentense* como un nuevo fármaco citostático, dado su rica composición en ceramidas y cerebrósidos, las cuales forman parte de las estrategias actualmente utilizadas para combatir cáncer entre otras enfermedades (14), ya que por ejemplo, las ceramidas en general, tienen un efecto señalizador anti proliferativo tumoral, generando estrés celular inducido por ceramidas (69,71), además ayudan a sensibilizar las células a la radioterapia (72). Por su parte, la B-Glucosilceramida ha demostrado “inhibir el crecimiento de células cancerígenas, disminuir la metástasis tumoral de linfomas e inducir activación de células Natural Killer de actividad antitumoral” (14); siendo estas actividades ya demostradas en el estudio de algunos cánceres, tales como pulmón (73–75), mama (76), ovario (77), leucemia (78), etc.

En nuestro estudio, al evaluar el efecto de la IDL en el ciclo celular de ACL, encontramos en primer lugar la notable diferencia de promedio de fases de los grupos tratados con IDL (A1 y A2) respecto del grupo control (A3), siendo mayor el porcentaje de interfases en los grupos expuestos a IDL que en el control; por consiguiente, el IM de los primeros grupos es menor (1.1%) que el del grupo control (6.5%), lo cual se ve mejor expresado en el porcentaje de reducción de mitosis, que es 82.9%, lo cual manifiesta potencial citotóxico

Por otro lado, los índices mitóticos de los grupos expuestos a IDL encontrados durante las primeras 24h, fueron menores respecto de los hallados en otras especies, es decir de 0.5% (grupos A1 y A2) a 2.8% (*Taxus brevifolia*, Paclitaxel) (22), 2.04% (*Aloysia gratissima*) (49), 21.11% (*Schinus terebinthifolius* Raddi) (52), 3% (*Podophyllum peltatum*, Etopósido) (56), 13% (*Catharanthus* G.Don, Vinblastina) (56), 1% (*Hymenaea stigonocarpa*) (51) y 19% (*Jatropha gossypifolia* L.) (54); lo cual indicaría mayor potencial citostático y citotóxico (54), dado que las condiciones de crecimiento de bulbos y exposición a compuestos fueron similares o iguales. Aunque, si bien es cierto, este IM fue mayor al encontrado con *Uncaria tomentosa* (53), la cual presentó inhibición completa de la mitosis a las 24h de incubación.

Sin embargo, debemos mencionar que el IM encontrado a las 24h en el grupo control (que fue 6.5%) fue más bajo que los encontrados por Majewska et al. (22) 2008 (12.5%),

Fedel-Miyasato et al. (52) 2014 (18.56%), Santana et al. (51) 2016 (25.4%), Almeida et al. (54) 2016 (aproximadamente 50%) y finalmente Muñoz y Guerrero (58) 2013, quienes estandarizaron el método Allium test, reportando un IM de 55%. Por otro lado, nuestro IM control fue similar al encontrado por Hister et al. (49) 2009 (6.8%); por lo que tal vez, el menor IM de los grupos expuestos a IDL pudiera deberse a la menor cantidad de división celular global de la muestra empleada. Sin embargo, a diferencia de todos los estudios anteriores, en el presente trabajo realizamos un seguimiento mayor (por 5 días), para evaluar posibles efectos dosis-dependientes o acumulativos de dosis, pero sorprendentemente no encontramos mayor diferencia, dado que los resultados durante los días de seguimiento, mostraron un patrón regularmente constante de inhibición de la división celular, así como un IM similar e independiente de dosis de IDL (oscilante entre 0.53% y 1.82%), con una diferencia promedio global de IM entre ambos grupos de 0.05% (IM 1.06% y 1.11% con IDL de 0.5% y 1% respectivamente) no estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Este hecho es parecido, a la anemia aplásica fatal dosis-independiente reportada con Cloranfenicol (79,80), de modo que podríamos estar frente a una nueva reacción idiosincrática reportada a la literatura.

A su vez, en el índice de fases, se observa aumento de interfases en los grupos expuestos a IDL, a expensas de disminución de profases, metafases, anafases y telofases, respecto del control; de lo cual se infiere, un mecanismo de acción citostática análogo al de las Camptotecinas y Epipodofilotoxinas (25,34,44), con detención del ciclo celular en interfase.

Además, cabe resaltar que no encontramos anomalías en la mitosis, tales como micronúcleos, puentes cromosómicos, c-metáfases, anafases multipolares, etc., similar a lo que ocurre con *Uncaria tomentosa* (53) y *Schinus terebinthifolius* Raddi (52); pero diferente de las encontradas en otras especies, como *Taxus brevifolia* (Taxol) (22), donde se evidencian micronúcleos, engrosamiento y acortamiento cromosómico; *Catharanthus* G. Don (Vinblastina) (56,81), que promueve la aparición de c-metáfases y anafases multipolares fundamentalmente; *Podophyllum peltatum* (Etopósido) (56,57), que altera la integridad genómica generando ruptura y pérdida cromosómica, puentes cromosómicos, engrosamientos cromosómicos, mitosis multipolares; *Jatropha gossypifolia* L. (54), que induce la aparición dosis-dependiente de micronúcleos, pérdida cromosómica, puentes cromosómicos, c-metáfases, anafases multipolares, etc.

Por otra parte, creemos que la disminución o detención del crecimiento de raicillas, análogo al que ocurre con los derivados naturales de Antraceno (50); así como los cambios en su morfología (adelgazamiento de la raicilla y engrosamiento apical), se

debe a lo siguiente, -el adelgazamiento- al debilitamiento del tejido producido por el efecto anti proliferativo y de estrés celular inducido por ceramidas (14,69,71) y citotoxicidad de cerebrósidos (82) de la IDL; mientras que el -engrosamiento apical- a la diferenciación en el meristemo apical sobre todo en las células de la periferia (de células meristemáticas a células maduras, cuya transformación induce engrosamiento de la pared celular y aumento subsecuente de volumen) por causa de la mayor exposición al IDL de células periféricas que las centrales y tal vez por el “intento” de autopreservación del bulbo, mediante las células diferenciadas de la periferia hacia las células meristemáticas centrales del meristemo apical. Esta diferencia de tejidos vegetales (meristemáticos y diferenciados) en el meristemo apical de las células expuestas al IDL de las no expuestas, también se evidencia por la mayor dificultad al “Squash” en las primeras.

Finalmente, señalamos que, dada su particular composición muy rica en ceramidas, cerebrósidos y oxilipinas, se conjuga una óptima fórmula citostática, convirtiendo a esta planta, como potencial fármaco para mejorar nuestro arsenal terapéutico contra el cáncer.

VII. CONCLUSIONES.

VII. CONCLUSIONES.

1. El porcentaje de disminución de la mitosis en *Allium cepa* L. respecto del grupo control, luego de la administración de infusión de *Dracontium loretense* durante 5 días, fue en promedio 82.9%.
2. No encontramos diferencias cuantitativas dosis-dependientes en la disminución del ciclo celular de *Allium cepa* L. luego de la administración de la infusión de *Dracontium loretense* a dosis de 0.5% y 1%.
3. No hemos observado anomalías de la división celular en ninguno de los grupos de *Allium cepa* L., durante todos los días de seguimiento.

VIII. RECOMENDACIONES.

VIII. RECOMENDACIONES.

1. Dada la relevancia de los hallazgos de la presente investigación y el gran impacto que puede llegar a tener en el manejo actual del cáncer, recomendamos a la comunidad científica ampliar la investigación al siguiente eslabón, utilizando animales experimentales.
2. Recomendamos a la Facultad de Medicina Humana - UNPRG, apoyar más de cerca la investigación, con especial énfasis en los trabajos experimentales, pues además de su -a menudo- compleja elaboración y ejecución, se suelen requerir de equipos y materiales con los que muchas veces no contamos.
3. Recomendamos a la Facultad de Medicina Humana – UNPRG y a la Universidad en general, crear fondos de financiamiento para apoyar la investigación, sobre todo proyectos experimentales, debido a que frecuentemente éstos, por su naturaleza, suelen presentar presupuestos elevados, lo que dificulta o imposibilita en muchos casos, su ejecución.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Salaverry O. La etimología del cáncer y su curioso curso histórico. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2013 Jan;30(1):137–41.
2. Says VS. Historia del Cáncer [Internet]. News-Medical.net. 2009 [cited 2017 Apr 4]. Available from: [http://www.news-medical.net/health/Cancer-History-\(Spanish\).aspx](http://www.news-medical.net/health/Cancer-History-(Spanish).aspx)
3. OMS | Cáncer [Internet]. WHO. [cited 2017 Apr 3]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
4. New Global Cancer Data: GLOBOCAN 2018 | UICC [Internet]. [cited 2019 Feb 22]. Available from: <https://www.uicc.org/new-global-cancer-data-globocan-2018>
5. Perú, Ministerio de Salud. Análisis de la situación del cancer en el Perú, 2013. Lima: Ministerio de Salud; 2013.
6. Ganzel C, Rowe JM. Prognostic factors in adult acute leukemia. Hematol Oncol Clin North Am. 2011 Dec;25(6):1163–87.
7. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ, Honda S, Sierra J, Djulbegovic BJ, et al. Allogeneic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission: Systematic Review and Meta-analysis of Prospective Clinical Trials. JAMA. 2009 Jun 10;301(22):2349–61.
8. Watanabe T, Itabashi M, Shimada Y, Tanaka S, Ito Y, Ajioka Y, et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. Int J Clin Oncol. 2015;20(2):207–39.
9. Gestion.pe. Cáncer en Perú: El 85% de casos se detectan en estadios avanzados [Internet]. Gestion. 2016 [cited 2017 Apr 3]. Available from: <http://gestion.pe/tendencias/cancer-peru-85-casos-se-detectan-estadios-avanzados-2154023>
10. WHO. Cáncer [Internet]. 2018 [cited 2019 Feb 22]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
11. Abeykoon GA, Chatterjee S, Chen JS. anti-Diols from α -oxyaldehydes: synthesis and stereochemical assignment of oxylipins from *Dracontium lorentense*. Org Lett. 2014 Jun 20;16(12):3248–51.
12. Benavides A, Napolitano A, Bassarello C, Carbone V, Gazzerri P, Malfitano A, et al. Oxylipins from *Dracontium lorentense*. J Nat Prod. 2009 May 22;72(5):813–7.
13. Lock O, Perez E, Villar M, Flores D, Rojas R. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. Nat Prod Commun. 2016 Mar;11(3):315–37.

14. Napolitano A, Benavides A, Pizza C, Piacente S. Qualitative on-line profiling of ceramides and cerebrosides by high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization ion trap tandem mass spectrometry: the case of *Dracontium lorentense*. *J Pharm Biomed Anal*. 2011 Apr 28;55(1):23–30.
15. Kloucek P, Polesny Z, Svobodova B, Vlkova E, Kokoska L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. *J Ethnopharmacol*. 2005 Jun 3;99(2):309–12.
16. Lovera A, Bonilla C, Hidalgo J. Efecto neutralizador del extracto acuoso de *Dracontium lorentense* (jergón sachá) sobre la actividad letal del veneno de *Bothrops atrox*. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2006;23(3):177–181.
17. Incháustegui R. Estudio Clínico Fase II del *Dracontium lorentense* K. Krause (Araceae) en pacientes con VIH/SIDA. Instituto de Medicina Tradicional de EsSalud; 2003.
18. Miyake M, Sasaki K, Ide K, Matsukura Y, Shijima K, Fujiwara D. Highly oligomeric procyanidins ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis via suppression of Th1 immunity. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2006 May 15;176(10):5797–804.
19. *Taxus brevifolia* [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>
20. *Taxus* [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&task=exact_term&previous_page=homepage&interface_language=e&search_language=e&search_exp=taxus
21. *Taxus brevifolia* - An Overview [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/taxus-brevifolia>
22. Agnieszka M, Sliwinska E, Wierzbicka M, Kuras M. Comparative investigations of cytotoxic action of anticancer drugs Taxol and Taxotere on meristematic cells of *Allium cepa*. *Caryologia*. 2008;61(1):26–44.
23. Bissery MC, Nohynek G, Sanderink GJ, Lavelle F. Docetaxel (Taxotere): a review of preclinical and clinical experience. Part I: Preclinical experience. *Anticancer Drugs*. 1995 Jun;6(3):339–55, 363–8.
24. Research C for DE and. Approved Drugs - Hematology/Oncology (cancer) Approvals & Safety Notifications: Previous News Items [Internet]. 2016 [cited 2017 May 6]. Available from: <http://wayback.archive-it.org/7993/20170111231729/http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm279177.htm>
25. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 13th ed. McGraw-Hill Education; 2017.

26. Catharanthus [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&previous_page=homepage&task=exact_term&interface_language=e&search_language=e&search_exp=Catharanthus
27. Catharanthus - An Overview [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/catharanthus>
28. Endress ME, Liede-Schumann S, Meve U. An updated classification for Apocynaceae. *Phytotaxa*. 2014 Feb 14;159(3):175.
29. Huang C, Wu H, Zhu H, Liu L, Tian R, Xu C, et al. [NAPD regimen for patients with recurrent refractory diffuse large B-cell lymphoma]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2018 Jul 28;43(7):754–9.
30. Wang Y, Xu L, Meng X, Qin Z, Wang Y, Chen C, et al. Different Chemotherapy Regimens in the Management of Advanced or Metastatic Urothelial Cancer: a Bayesian Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol*. 2018;50(1):1–14.
31. D'Ascanio M, Pezzuto A, Fiorentino C, Sposato B, Bruno P, Grieco A, et al. Metronomic Chemotherapy with Vinorelbine Produces Clinical Benefit and Low Toxicity in Frail Elderly Patients Affected by Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *BioMed Res Int*. 2018;2018:6278403.
32. Kim SS, Hong SA, Shin HC, Hwang JA, Jou SS, Choi S-Y. Adult Langerhans' cell histiocytosis with multisystem involvement: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Nov;97(48):e13366.
33. Podophyllum peltatum [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>
34. Epipodophyllotoxin - An Overview [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/epipodophyllotoxin>
35. Epipodofiloxina [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&task=exact_term&previous_page=homepage&interface_language=e&search_language=e&search_exp=Epipodofiloxina
36. Plants Profile for Catharanthus roseus (Madagascar periwinkle) [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=Caro14>
37. Boulos S, Mazhar D, Warren AY, Wong HH. Adjuvant chemotherapy and follow-up for recurrences in localized testicular cancer. *Future Oncol Lond Engl*. 2017;13(11):947–50.

38. Kobayashi Y, Arai H, Honda M, Yasuhara Y, Yoshida K. Primary small cell neuroendocrine carcinoma of the ureter. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi Jpn J Urol*. 2018;109(1):30–4.
39. Eddaoualline H, Mazouz K, Rafiq B, El Mghari Tabib G, El Ansari N, Belbaraka R, et al. Ewing sarcoma of the adrenal gland: a case report and review of the literature. *J Med Case Reports*. 2018 Mar 16;12(1):69.
40. Pan Y, Kong F-W, Wang H, Wang X, Zhang H, Wu W-B, et al. A recurrence-free survivor with chemotherapy-refractory small cell lung cancer after pneumonectomy: A case report and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Nov;96(47):e8922.
41. Mehta-Shah N, Ratner L, Horwitz SM. Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. *J Oncol Pract*. 2017;13(8):487–92.
42. *Camptotheca acuminata* [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma06/plantas/pc46sm.htm>
43. *Camptothecina* [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/?lslsScript=../cgi-bin/decsserver/decsserver.xis&task=exact_term&previous_page=homepage&interface_language=e&search_language=e&search_exp=Camptotecina
44. *Camptotheca acuminata* - An Overview [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/camptotheca-acuminata>
45. Sánchez-Gundín J, Fernández-Carballido AM, Martínez-Valdivieso L, Barreda-Hernández D, Torres-Suárez AI. New Trends in the Therapeutic Approach to Metastatic Colorectal Cancer. *Int J Med Sci*. 2018;15(7):659–65.
46. Yang L, Jiang X, Yan H, Li Y, Zhen H, Chang B, et al. Irinotecan-containing doublet treatment versus irinotecan monotherapy as second-line choice for advanced gastric cancer. *BMC Gastroenterol*. 2018 Apr 2;18(1):43.
47. Saung MT, Zheng L. Current Standards of Chemotherapy for Pancreatic Cancer. *Clin Ther*. 2017 Nov;39(11):2125–34.
48. Ku GY. Systemic therapy for esophageal cancer: chemotherapy. *Chin Clin Oncol*. 2017 Oct;6(5):49.
49. Hister CAL, Laughinghouse HD, Da Silva CB, Dorow TSDC, Tedesco SB. Evaluation of the antiproliferative effect of infusions and essential oil of *Aloysia gratissima*. *Pak J Biol Sci PJBS*. 2009 Dec 15;12(24):1581–4.
50. Badria FA, Ibrahim AS. Evaluation of natural anthracene-derived compounds as antimitotic agents. *Drug Discov Ther*. 2013 Apr;7(2):84–9.

51. Santana GM, Deus MSM, Sousa JMC, Ferreira PMP, Fernandes HB, Peron AP, et al. Antimitotic and antimutagenic action of the *Hymenaea stigonocarpa* bark on dividing cells. *Braz J Biol*. 2016 Jun;76(2):520–5.
52. Fedel-Miyasato LES, Formagio ASN, Auharek SA, Kassuya C a. L, Navarro SD, Cunha-Laura AL, et al. Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: a comparative study. *Genet Mol Res GMR*. 2014 Apr 30;13(2):3411–25.
53. Kuraś M, Pilarski R, Nowakowska J, Zobel A, Brzost K, Antosiewicz J, et al. Effect of Alkaloid-Free and Alkaloid-Rich preparations from *Uncaria tomentosa* bark on mitotic activity and chromosome morphology evaluated by *Allium* Test. *J Ethnopharmacol*. 2009 Jan;121(1):140–7.
54. Almeida PM, Araújo SS, Santos IRMR, Marin-Morales MA, Benko-Iseppon AM, Santos AV, et al. Genotoxic potential of leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L. *Genet Mol Res GMR*. 2016 Feb 5;15(1).
55. *Jatropha gossypifolia* [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>
56. Mišík M, Pichler C, Rainer B, Filipic M, Nersesyan A, Knasmueller S. Acute toxic and genotoxic activities of widely used cytostatic drugs in higher plants: Possible impact on the environment. *Environ Res*. 2014 Nov;135:196–203.
57. Žabka A, Winnicki K, Polit JT, Maszewski J. The effects of anti-DNA topoisomerase II drugs, etoposide and ellipticine, are modified in root meristem cells of *Allium cepa* by MG132, an inhibitor of 26S proteasomes. *Plant Physiol Biochem PPB*. 2015 Nov;96:72–82.
58. Muñoz-Solarte DM, Guerrero-Pepinosa N. *Allium* test para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristemáticas de *Allium cepa*. *Memorias*. 2013;11(19):83–86.
59. Nunes LG, Gontijo DC, Souza CJA, Fietto LG, Carvalho AF, Leite JPV. The mutagenic, DNA-damaging and antioxidative properties of bark and leaf extracts from *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2012 Mar;33(2):297–303.
60. Dutka, B F G. Toxicological Monitoring of Drinking Waters in Developing Countries. 1996;89–153.
61. Fiskesjö G. *Allium* Test. In: O'Hare S, Atterwill C, editors. *In Vitro Toxicity Testing Protocols* [Internet]. Humana Press; 1995 [cited 2017 May 22]. p. 119–27. (Methods in Molecular Biology™). Available from: <http://dx.doi.org/10.1385/0-89603-282-5%3A119>
62. Fiskesjö G. The *Allium* test--an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutat Res*. 1988 Feb;197(2):243–60.

63. *Bothriopsis atrox* [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=8725&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
64. A. Brack Egg. Diccionario Enciclopedico de Plantas utiles del Perú. Cuzco, Peru: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolome de las Casas; 1999.
65. Díaz IEC, Gonçalves EG, Yoshida M. Constituyentes químicos del tubero de *Dracontium spruceanum* (Schott) G.Zhu ex *Dracontium lorentense* Krause (Araceae). Rev Soc Quím Perú. 2011;10.
66. Pubchem. Dracontioside A [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/134812535>
67. Pubchem. Dracontioside B [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/134812536>
68. LIPID MAPS Lipidomics Gateway [Internet]. [cited 2019 Mar 13]. Available from: <https://www.lipidmaps.org/data/structure/LMSDSearch.php?Mode=ProcessClassSearch&LMID=LMSP05>
69. Hait NC, Maiti A. The Role of Sphingosine-1-Phosphate and Ceramide-1-Phosphate in Inflammation and Cancer. Mediators Inflamm. 2017;2017:4806541.
70. Dominguez-Brauer C, Thu KL, Mason JM, Blaser H, Bray MR, Mak TW. Targeting Mitosis in Cancer: Emerging Strategies. Mol Cell. 2015 Nov 19;60(4):524–36.
71. Ogretmen B. Sphingolipid metabolism in cancer signalling and therapy. Nat Rev Cancer. 2018 Jan;18(1):33–50.
72. Al-Mahrouki A, Giles A, Hashim A, Kim HC, El-Falou A, Rowe-Magnus D, et al. Microbubble-based enhancement of radiation effect: Role of cell membrane ceramide metabolism. PloS One. 2017;12(7):e0181951.
73. Kachler K, Bailer M, Heim L, Schumacher F, Reichel M, Holzinger CD, et al. Enhanced Acid Sphingomyelinase Activity Drives Immune Evasion and Tumor Growth in Non-Small Cell Lung Carcinoma. Cancer Res. 2017 01;77(21):5963–76.
74. Chang YC, Fong Y, Tsai E-M, Chang Y-G, Chou HL, Wu C-Y, et al. Exogenous C₈-Ceramide Induces Apoptosis by Overproduction of ROS and the Switch of Superoxide Dismutases SOD1 to SOD2 in Human Lung Cancer Cells. Int J Mol Sci. 2018 Oct 2;19(10).
75. Huang H, Tong T-T, Yau L-F, Chen C-Y, Mi J-N, Wang J-R, et al. LC-MS based sphingolipidomic study on A549 human lung adenocarcinoma cell line and its taxol-resistant strain. BMC Cancer. 2018 Aug 8;18(1):799.
76. García-González V, Díaz-Villanueva JF, Galindo-Hernández O, Martínez-Navarro I, Hurtado-Ureta G, Pérez-Arias AA. Ceramide Metabolism Balance, a Multifaceted

Factor in Critical Steps of Breast Cancer Development. *Int J Mol Sci.* 2018 Aug 26;19(9).

77. Knapp P, Bodnar L, Błachnio-Zabielska A, Świdorska M, Chabowski A. Plasma and ovarian tissue sphingolipids profiling in patients with advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2017;147(1):139–44.
78. Wątek M, Durnaś B, Wollny T, Pasiarski M, Góźdz S, Marzec M, et al. Unexpected profile of sphingolipid contents in blood and bone marrow plasma collected from patients diagnosed with acute myeloid leukemia. *Lipids Health Dis.* 2017 Dec 8;16(1):235.
79. Wallerstein RO, Condit PK, Kasper CK, Brown JW, Morrison FR. Statewide Study of Chloramphenicol Therapy and Fatal Aplastic Anemia. *JAMA.* 1969 Jun 16;208(11):2045–50.
80. Beninger P. Pharmacovigilance: An Overview. *Clin Ther.* 2018 Dec;40(12):1991–2004.
81. Hillmann G, Ruthmann A. Effect of mitotic inhibitors on the ultrastructure of root meristem cells. *Planta.* 1982 Jul;155(2):124–32.
82. Youssef DTA, Ibrahim SRM, Shaala LA, Mohamed GA, Banjar ZM. New Cerebroside and Nucleoside Derivatives from a Red Sea Strain of the Marine Cyanobacterium *Moorea producens*. *Molecules* [Internet]. 2016 Mar 9 [cited 2019 Mar 14];21(3). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6272925/>

ANEXOS

ANEXO N° 01: FOTOGRAFÍAS DEL PROCEDIMIENTO



Figura N° 01. Tubérculos de *Dracontium lorentense*. Se muestran tubérculos de morfología cerebriforme (A) y espiralada (B).



Figura N° 02. Sembrado de las raíces y tronco de las plantas (A). Las plantas que fueron trasplantadas si germinaron (C), así como las raíces (D). No así los troncos que fueron sembrados (B).



Figura N° 03. Extracción de las hojas (A) y trituration sobre mortero (B). Dilución de la infusión a dosis adecuada (C) y filtración del extracto (C).



Figura N° 04. Germinación de las cebollas en agua potable (A). Medición de raicillas hasta alcanzar tamaño adecuado (3-4cm) (B). Exposición de algunas raicillas a IDL 0.5% en comparación con el control (C).

ANEXO N° 02: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS EN CEBOLLAS

Ficha de Recolección de datos <i>Allium cepa</i> L.									
Índice de fases						Anomalías de mitosis			
Láminas		I	P	M	A	T	PC	c-M	AM
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								
Lámina	I								
	II								
	III								
	IV								

I: Interfase, P: Profase, M: Metafase, A: Anafase, T: Telofase, PC: Puentes de cromosomas, cM: c-mitosis, AM: Anafases multipolares.