

DETERMINACION DEL INDICE MITÓTICO DE MERISTEMOS RADICULARES DE *Allium cepa* EXPUESTAS AL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Erythroxylum coca* "coca" A DIFERENTES CONCENTRACIONES Y TIEMPOS DE EXPOSICIÓN

MITOTIC INDEX DETERMINATION OF *Allium cepa* ROOT MERISTEMS EXPOSED TO THE ETHANOLIC EXTRACT OF *Erythroxylum coca* "coca" LEAVES AT DIFFERENT CONCENTRATIONS AND EXPOSURE TIME AND TIME EXPOSURE

Carmen Cumpa-Yupton*, **Fátima Zavala-de la Cruz****

Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo. Perú.

*carolina_leiva92@hotmail.com**, *fat_zdc@hotmail.com***

RESUMEN

La especie *Erythroxylum coca* "coca" es una planta nativa del Perú, cuyo uso en las regiones andinas datan desde la época prehispánica, se utilizaba como planta sagrada para rituales y fiestas, también la usaban como medicina tradicional antiinflamatorio de las vías respiratorias y para curar algunas heridas. En la actualidad se realizan investigaciones en lo que se ha encontrado que sus hojas contienen alcaloides como la cocaína, tropococaina, higrina, truxillinas, taninos, aceites esenciales, glucósidos, es así como se ha demostrado lo importante actividad microbiana y propiedades antivirales frente a algunos virus como por ejemplo el virus del herpes. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto citotóxico de diferentes concentraciones y tiempos de exposición al extracto etanólico de hojas de *E. coca* en el índice mitótico de meristemos radiculares de *Allium cepa*. Se establecieron 6 sistemas dos de control 0 ug/ml y cuatro del problema donde se agregaron extracto etanólico a 10 ug/ml, 100 ug/ml a 12 hrs y 24 hrs respectivamente. Luego se extrajeron las raíces para cortar los ápices y tñó con orceina más HCl 1N, fijarlas en lámina portaobjeto y observó el índice mitótico en las líneas celulares de *A. cepa*, los datos obtenidos fueron analizados con el método estadístico prueba de Tukey. A las concentraciones trabajadas no se encontró diferencias significativas. Esto permite concluir que el extracto etanólico de *E. coca* "coca" a las concentraciones de 10ug/ml, 100ug/ml a 12 hrs y 24hrs respectivamente no producen ningún efecto citotóxico en las líneas celulares de *A. cepa*

Palabras clave: *Erythroxylum*, higrina, truxillinas.

ABSTRACT

Erythroxylum coca "coca" is a native plant of Peru, whose use in the Andean regions date back to pre-Hispanic times; it was used as a sacred plant for rituals and festivals, and also as an anti-inflammatory for respiratory illness in traditional medicine as well as an antiseptic for wounds. Nowadays many investigations have been carried out about it and it has been found that the leaves contain alkaloids such as cocaine, tropococaine, higrine truxillines, tannins, essential oils and glycosides, and by this way its anti-microbial and anti-viral activity has been demonstrated against some viruses e.g. herpes virus. The present study aimed to evaluate the cytotoxic effect of different concentrations and exposure time of ethanolic extract of leaves of *E. coca* in the mitotic index of root meristems of *Allium cepa*. Six systems were established, where two blank controls 0 ug/ml and four treatments where ethanolic extract was added at a concentration of 10 ug/ml and 100 ug/ml at 12 hrs and 24 hrs respectively. The tip of the root were isolated and stained with orcein and HCl 1N, the mitotic index of the cell lines in *A. cepa* was afterwards observed directly with an optical microscope, the obtained data were analyzed using the statistical method of the Tukey test. The studied concentrations didn't show significant differences. It's concluded that the ethanolic extract of *E. coca* "coca" at a concentration of 10ug/ml and 100ug/ml at 12 hrs and 24 hrs of exposure respectively, produces no cytotoxic effect on *A. cepa* cell lines.

Key words: *Erythroxylum*, higrine, truxillines.

Recibido: 9 Diciembre de 2012

Aceptado: 4 de Febrero de 2013

INTRODUCCION

Los antiguos peruanos utilizaban plantas no solo como alimento, también las empleaban para curar males que los aquejaban. Existen informaciones bibliográficas en la que se da a conocer el empleo de las plantas para estos fines. Se sabe que las plantas medicinales fueron la base para diversos tratamientos y para muchos fármacos tienen su origen en plantas medicinales siendo la fuente de droga para la población mundial. La OMS estima que la mayoría de los habitantes del planeta recurren a remedios tradicionales. (Cabieses, 1980).

La coca es nativa del Perú y ha sido cultivada desde tiempos muy remotos por lo menos desde dosmil años a.c., los habitantes del área andina consumían hojas de coca en el Perú hace 4000 años. Los estudios realizados acerca de la hoja de coca lo relacionan generalmente a sus efectos aditivos dados por sus constituyentes alcaloides. Pero pocos son los estudios que se refieren a las propiedades benéficas que posee (Horna et al, 1980). Existen 250 especies conocidas de mayor presencia en el Perú como *Erythroxylum coca* Lam. var *coca* *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*. Ambas tienen similar composición con diferente concentración contiene taninos vitaminas grasas salicatos en diferentes proporciones (Mostacero, 2009).

La "coca" tiene diversos usos ejemplo la fabricación de anestésicos o la utilización del extracto de sus hojas como parte de los saborizantes de una bebida gaseosa, en la población andina tradicional el uso más conocido que se le da a las hojas de coca es el chacqueo. Sin embargo también lo usan como medicina, instrumento para adivinar el futuro, diagnóstico de enfermedades y como asentativo de las comidas. (Domic y col., 1985).

Actualmente los estudios realizados sobre la hoja de coca se enfocan en estudiar sus propiedades nutricionales y medicinales. En el aspecto nutricional diversos estudios indican que la hoja de coca es una fuente rica en proteínas contiene hasta cinco veces el calcio de la leche ayuda a metabolizar las grasas y carbohidratos. Además tiene un alto contenido de Selenio, Zinc Magnesio y vitaminas además de cocaína y otros alcaloides tenemos a los taninos, silicatos y otras sustancias que le proporcionan su benéfica acción medicinal entre ellas propiedades anestésicas, analgésicos, antidiarreico, evita el soroche, regula la presión arterial, terapéuticas para la gastritis y úlceras evita la formación de caries dental ayuda en la coagulación entero otras. (Machado, 1968).

En un estudio del fraccionamiento químico de la hoja de *Erythroxylum coca* "coca" se obtuvo que con el uso de diversos métodos y solventes de extracción de ese producto se extraído, identificado y evaluado el contenido de proteínas y aminoácidos según los solventes y condiciones de extracción (agua fría agua BM 100°C NaHCO 0.1 Ph 8.5 y HC1 1N BM 100°C) Así se determinó que este producto es rico en proteínas sin estar exento totalmente de otros compuestos químicos puede ser fuente adecuada de proteínas para los estudios químicos y nutricionales respectivos. (Roger, 2005).

Desde el punto de vista biológico se han estudiado extractos de varias especies vegetales del género *Erythroxylum* para ello se han desarrollado ensayos para evaluar el efecto citotóxico, la actividad antibacteriana y la actividad antiviral entre otras (Payo et al., 2000). Las especies mayormente utilizadas son: *E. coca* var. *coca*, *E. coca* var. *ipadu.*, *E novogratense* var. *novogranatense* y *E. novogranatense* var. *truxillense*.

En el trabajo de investigación "Determinación de la Citotoxicidad de Extractos de *Erythroxylum confusum* mediante el método de la *Artemia salina*" (camarones de mar) se evaluó que de manera general las preparaciones obtenidas de la especie (10ug/ml, 100ug/ml y 1000 ug/ml) se consideran no tóxicas según el método de *Artemia salina*, lo que permitirá continuar la realización de experimentos biológicos para evaluar sus efectos farmacológicos

La mayoría de estos estudios han estado referidos a los flavonoides y alcaloides presentes en troncos y hojas de la *E. coca* en los datos recientes obtenidos en laboratorio demostraron que un extracto etanólico de *E. minutifolium* resultó citotóxico en células de *E. coli* a las concentraciones de 200ug/ml. (Leyva y col., 2007).

En investigaciones más recientes se utiliza a los animales para evaluar la citotoxicidad de los extractos de algunas especies de plantas un ejemplo es la "Evaluación de la Toxicidad de los Extractos Etanólicos de *Baccharis latifolia* y *Baccharis papulosa* en ratas albinas suizas" que resultó que los extractos a dosis de 3000 y 5000 mg/kg para el EE-Bp y 5000 mg/kg para el EE-B1 fueron administrados por canulación vía oral a los ratones y como resultado ambos extractos no manifiestan toxicidad aguda (mortalidad hasta 5000 mg/kg) a dosis única. (Loza y col., 2011).

Por otro lado se sabe que para que exista crecimiento en cualquier tipo de tejido es necesario que las células atraviesen por una serie de eventos moleculares englobados en el Ciclo Celular. En este intervienen una serie de genes que regulan positivamente el ciclo, como los que codifican a las proteínas del sistema de ciclinas y Kinasas dependientes de Ciclinas (CDK) las cuales hacen posible la formación de complejos moleculares como el denominado MPF (factor promotor de la anafase) quien cumplirá un rol importante cuando las células pasen desde la metafase hacia la anafase, además de permitir que las células puedan salir de la mitosis e ingresar a un nuevo ciclo celular. (Aller y col., 1992).

No obstante el ciclo no termina en división celular ya que su regulación genética condiciona a cada una de las fases que lo conforman. Esto exige una transcripción y síntesis de proteínas específicas, las cuales determinan el inicio del ciclo celular, la replicación la finalización del periodo S el paso de G2 hacia la mitosis y el flujo de cada fase de esta última. De esta manera el ciclo puede ser afectado por sustancias antimitóticas citotóxicas y genotóxicas, tales como los compuestos fenólicos que alteren e incluso ocasionan daños a nivel cromosómico. (Karp y col., 2006).

Existen diversos bioensayos que ayudan a evaluar el riesgo toxicogénico de una sustancia o una mezcla de sustancias; Ejemplo de ellos, ejecutados en meristemos de liliáceas como los de *A. cepa* "cebolla" quien es frecuentemente utilizada para estudios de la dinámica celular puesto que su cultivo in vitro constituye un sistema ideal para estudiar los mecanismos regulatorios que puedan afectar el ciclo celular. En 1938 el uso de la cebolla se introdujo como un sistema de prueba biológico para evaluar los efectos citogenéticos de la colchicina. Desde entonces debido al rápido crecimiento de sus raíces y la inmediata respuesta de su material genético a la presencia de citotóxicos potenciales en líquidos de prueba, como el extracto de coca. Es por ello que algunos agentes físicos y químicos que puedan causar daño a nivel del ciclo celular, podría llevar a pensar que dichos agentes tendrían el potencial de generar un efecto tóxico en los procesos de división celular de cualquier tipo de células eucariotas, debido a la casi universalidad del código genético. (Silva, 2003).

En el presente trabajo se determinó el efecto citotóxico de diferentes concentraciones y tiempos de exposición al extracto etanólico de hojas de *E. coca* "coca" en el índice mitótico de meristemos radiculares de *A. cepa*.

Así mismo se determinó el índice de fases de células meristemáticas de *A. cepa* expuestas al extracto etanólico de hojas de *E. coca*.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. MATERIAL BIOLÓGICO :

- Hojas de *E. coca* "coca".
- Bulbos de *A. cepa*

2. PROCEDIMIENTO:

2.1. Obtención de hojas *Erythroxylum coca* "coca"

Hojas de *E. coca* fueron obtenidas del mercado La Unión de procedencia del distrito de Sinsicap de la Provincia de Otuzco.

2.2. Procesamiento de las hojas de *Erythroxylum coca* "coca".

Las hojas fueron lavadas con agua potable luego secadas bajo sombra a temperatura ambiente sobre papeles sabanas que se cambiaban diariamente y esparcidas para evitar la humedad y la producción de hongos durante 15 días.

2.3. Preparación del extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* "coca"

Se colocaron 60gr. de hojas secas en frascos de vidrio de boca ancha que contengan 03 litros de etanol al 96% dejándolo macerar herméticamente durante 15 días a temperatura ambiente, después se procedió a retirar las hojas de los frascos de vidrio, para la filtración a temperatura ambiente se utilizó papel de filtro Whatman N° 1, luego se procederá a volatizar a temperatura ambiente con la ayuda de un ventilador; se evapora el solvente presente en el filtrado usando una estufa. Se obtendrá un extracto crudo, producto de la evaporación del solvente, este fue pesado en una balanza digital y será rediluido con agua destilada a temperatura ambiente a un volumen equivalente al peso del extracto crudo (gr/ml) con la finalidad de obtener una suspensión madre a partir de la cual se prepararan las suspensiones a las concentraciones indicadas.

2.4. Obtención de raicillas de *Allium cepa* var. Arequipeña.

Los bulbos de *Allium cepa* se limpiaran desproviniendo de catafilas y raicillas secas, luego se colocaran en vasos descartables de 300cc de capacidad, que contendrán aprox. 100ml de agua de caño esto permitirá que el líquido este en contacto con el disco germinativo para permitir la emisión de nuevas raicillas manteniéndose con aireación constante del ambiente.

La renovación del agua contenida en los vasos será diaria permaneciendo por un periodo de tres días en dichos. Habiendo las raíces crecido de 2-3 cm.

2.5. Exposición y obtención de raicillas de *Allium cepa* L. var. Arequipeña a tres concentraciones de extracto de hojas de *Erythroxylum coca* "coca".

Los bioensayos se llevaran a cabo siguiendo un diseño bifactorial 3x2 considerando el factor tiempo: 12, 24 horas y el factor concentración con tres niveles 0, 10ug/ml, 100ug/ml. Al finalizar el tiempo de exposición de cada tratamiento se realizaran cortes de las raicillas y colocar en carnoy. Para la presente investigación se realizaran tres repeticiones por cada tratamiento.

T1: [0 ug/ml] x 12h T2: [0 ug/ml] x 24h
T3: [10ug/ml] x 12h T4: [10ug/ml] x 24h
T5: [100ug/ml] x 12h T6: [100ug/ml] x 24h
*cada tratamiento tiene 3 repeticiones.

2.6. Aplicación de los tratamientos.

Se colocaron en los vasos descartables los bulbos de cebolla para su enraizamiento por tres días luego se colocaron las concentraciones indicadas 0, 10ug/ml, 100ug/ml .a las 12 horas se procedió a extraer 6 raicillas de cada concentración y las demás se expusieron hasta las 24 horas.

2.7 Toma de muestra y Coloración

Se corta el ápice de las raíces se las colorea con orceina y HCl 1N posterior se realiza la prueba de los tres humos se cubre con la luna de reloj se deja colorear por un tiempo aproximado de media hora luego se coloca en la lamina se cubre con la laminilla se realiza el SQUAST y se observa al microscopio.

La lectura de las láminas se realizó a aumentos de 10x y 40x encontrando un rango de 26 a 28 campos observando metafases, anafases, telofases interfase y profases.

2.8. Análisis estadístico:

Se realizara el análisis de varianza y la comparación de todos los tratamientos con la PRUEBA DE TUKEY.

RESULTADOS

Al determinar el índice mitótico y de fases del ciclo celular de *A. cepa* expuesta a diferentes concentraciones y tiempos de exposición al extracto etanólico de *E. coca* "coca" se obtuvieron los siguientes resultados.

En la Tabla 1 y Figura 1 se muestra los valores obtenidos de los promedios del Índice mitótico (IM) y de fases de los diferentes tratamientos. Observándose que el IM aumenta y que el valor del índice profasico aumenta; conforme se incrementa las concentraciones del químico, de acuerdo con los diferentes tiempos ensayados.

Las tablas 2, 3, 4,5 y 6 muestran los análisis de comparación múltiple de promedios de los índices mitóticos y de fases. Los cuales confirman la existencia de diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ensayados para los índices mitóticos, de profase, de anafase. Sin embargo con respecto al índice Metafasico los tratamientos no presentan diferencias significativas así mismo el Índice Telofásico tampoco presenta diferencias significativas.

La Figura 1 muestra los gráficos de los promedios de los índices mitóticos y de fases de los diferentes tratamientos.

Las Figura 2 muestra las diferentes fases del ciclo celular en células meristemáticas de ápices radiculares en *A. cepa*, expuestas al extracto etanólico a una concentración de 100ug/ml y tiempo de 12 horas.

Las Figura 3 muestra las diferentes fases del ciclo celular en células meristemáticas de ápices radiculares en *A. cepa*, expuestas al extracto etanólico a una concentración de 100ug/ml y tiempo de 12 horas.

Tabla 1. Promedios de los índices mitótico y de fases (%±D.E.) en células meristemáticas de *Allium cepa* "cebolla" expuestas a tratamientos de extracto etanólico de *Erythroxylum coca* "coca".

TRATAMIENTOS	INDICE MITOTICO X±D.E.	INDICES DE FASES			
		PROFASE X±D.E.	METAFASE X±D.E.	ANAFASE X±D.E.	TELOFASE X±D.E.
T1	14,4±0.854	87,34±0.984	4,65±0,3522	5,1±0,527	2,89±0,484
T2	14,82±0.211	88,41±1,534	4,86±0,763	3,46±0,920	3,26±1,184
T3	14,84±0.1277	88.31±1,425	4,90±0,811	3,51±0,991	3,26±1,102
T4	14.43±0.307	87,37±2,005	4,75±0,165	5,09±1,511	3,55±2,315
T5	15,96±0,474	83,07±1,713	5,09±0,329	7,66±1,573	4,16±0,413
T6	15,04±0.165	87,51±0.803	5,08±0,509	4,83±0,460	2,48±0,223

Tratamientos con *E. coca* (según concentraciones y tiempos de exposición)

T1: Control; [0ug/ml] de extracto etanólico , 12 horas.

T2:[10ug/ml] de extracto etanólico, 12 horas.

T3:[100ug/ml] de extracto etanólico, 12 horas.

T4:control; [0ug/ml] de extracto etanólico, 24 horas

T5:[10ug/ml] de extracto etanólico, 24 horas

T6: [100ug/ml] de extracto etanólico, 24 horas.

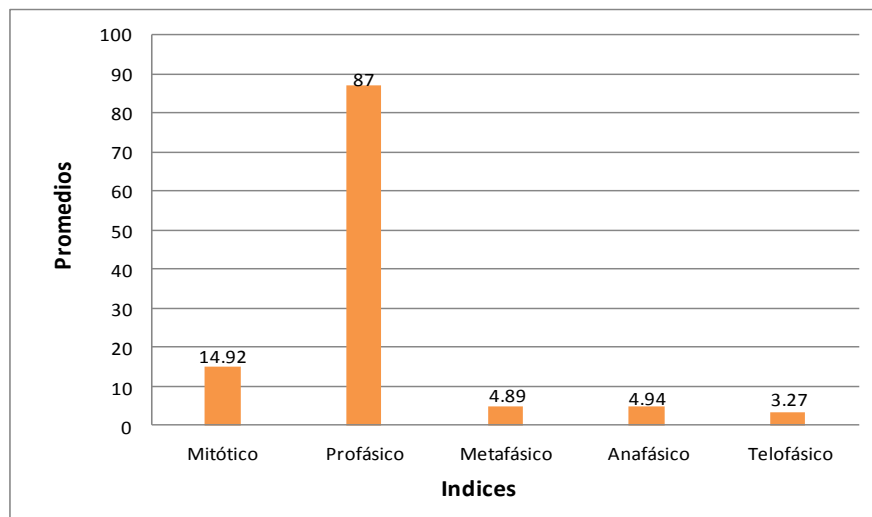


Fig. 1: Índice mitótico y de fases de células meristematicas de *Allium cepa* expuestas a tratamientos de *E. coca* "coca".

Tabla 2. Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$) de índices mitóticos en células meristematicas de *Allium cepa* "cebolla" expuestas a tratamientos de extracto etanólico de *Erythroxyllum coca* "coca".

Metodo 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Tratamientos	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
T1	3	14.4	X
T4	3	14.4267	X
T2	3	14.8233	XX
T3	3	14.84	XX
T6	3	15.0403	XX
T5	3	15.9567	X

Tabla 3. Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$) de índices Profasico en células meristematicas *Allium cepa* "cebolla" expuestas a tratamientos de extracto etanólico de *Erythroxyllum coca* "coca".

Método 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Tratamientos	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
T5	3	83.0667	X
T1	3	87.3367	X
T4	3	87.37	X
T6	3	87.5133	X
T3	3	88.3067	X
T2	3	88.41	X

Tabla 4. Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$) de índices metafásicos en células meristematicas *Allium cepa* "cebolla" expuestas a tratamientos de extracto etanólico de *Erythroxyllum coca* "coca".

Metodo 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Tratamientos	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
T1	3	4.64667	X
T4	3	4.75333	X
T2	3	4.85667	X
T3	3	4.90333	X
T6	3	5.081	X
T5	3	5.09	X

Tabla 5. Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$) de índices anafásicos en células meristemáticas *Allium cepa* "cebolla" expuestas a tratamientos de extracto etanólico de *Erythroxylum coca* "coca".

Método 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Tratamientos	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
T2	3	3.45667	X
T3	3	3.50667	X
T6	3	4.83333	XX
T4	3	5.091	XX
T1	3	5.1	XX
T5	3	7.66	X

Tabla 6. Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$) de índices telofásicos en células meristemáticas *Allium cepa* "cebolla" expuestas a tratamientos de extracto etanólico de *Erythroxylum coca* "coca".

Método 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Tratamientos	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
T6	3	2.48333	X
T1	3	2.89333	X
T3	3	3.25667	X
T2	3	3.25667	X
T4	3	3.54667	X
T5	3	4.16333	X

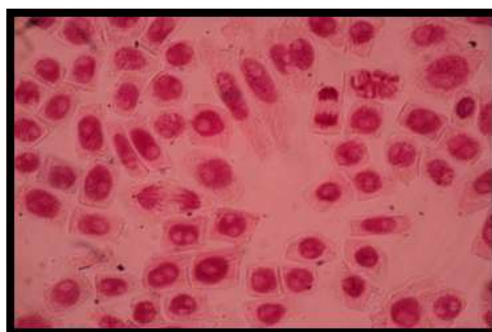


Fig. 2: Fases del ciclo celular interfase (I), profase (P), metafase (M), anafase (A), telofase (T) en células meristemáticas de ápices radiculares de *A cepa* expuestas a 100µg/ml de *Erythroxylum coca* 12 horas.

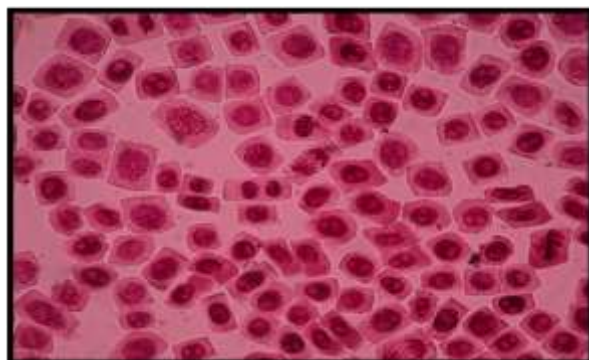


Fig. 3: Fases del ciclo celular interfase (I) profase (P) metafase (M) anafase (A) telofase (T) en células meristemáticas de ápices radiculares de *A cepa* expuestas a 100µg/ml de *Erythroxylum coca* 24 horas.

DISCUSION

Cuando un bulbo de cebolla se rehidrata se produce una estimulación en la división de las células, lo que produce la elongación en las raíces de las plantas. La población de células meristemáticas de cebolla se encuentran sujetas a un equilibrio dinámico estable, hallándose asincrónicamente distribuidas a través del ciclo. (Valladolid y col., 2000).

En las células meristemáticas presentes en los ápices radiculares de *A. cepa* L. "cebolla" constituyen un modelo ideal para el estudio de los fenómenos celulares debido a que se encuentran en constante equilibrio proliferativo; de esta manera es como el número de células que se encuentran en una fase determinada es también constante y proporcional a la duración de la misma pero cuando se lleva a cabo en presencia de sustancias antimitóticas, citotóxicas o genotóxicas, altera su normal desarrollo e incluso ocasionan daño a nivel cromosómico, ocasionando que la división celular de los meristemas radiculares pueda inhibirse, retardarse u ocasionar apoptosis. (Díaz y col., 2007).

En las fases que conforman el ciclo celular, es controlado por complejos ciclinas-quinasas dependientes de ciclinas (CDK); que implican una regularidad en el proceso de transcripción y síntesis de proteínas específicas que determinan el inicio del ciclo celular y el consecuente paso a G2, en la que ocurren eventos asociados a la condensación cromosómica, formación de fibras del uso, preparación para la desintegración de la envoltura nuclear como eventos previos al proceso de mitosis evento que asegura la repartición del material cromosómico en las células hijas, mediante el flujo a través de fases. (Talledo, 1995).

Al evaluar los Índices Mitóticos (IM) hallados en células meristemáticas de los tratamientos control que corresponde a 14,4% (T1: [0ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 12horas), 14,82% (T4: [0ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 24horas.) estos valores se aproximan a los reportados por Beltrán y Gonzales (1995), los cuales hallaron que el promedio de IM es 14,6% y la ligera variación de los valores obtenidos en este caso probablemente se debería a la influencia de factores ambientales. (Beltrán, 1995).

El aumento significativo de los índices mitóticos en 14,82 % (T2:[10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 12horas), 14,84% (T3: [100ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 12horas.) y 15,96 % (T5:[10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 24horas) Y 15,04% (T6: [100ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 24horas.) con respecto a los controles demostraría la acción citotóxica del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* en el ciclo celular de *A. cepa* probablemente se debería a la presencia de ciertos compuestos en las hojas de coca como cocaína lírica, cocaína dextrogiro (iso cocaína), benzoilecgonina, cinameleoginina, cinamol cocaína, alfa y beta trujillina, higrina (alcaloide líquido), cuskigrina (alcaloide líquido), Trofacocaina y la Cocaina. (Cazaña, 2004).

El Índice Profásico muestra diferencias significativas mediante la formación de grupos homogéneos esto evidencia que los tratamientos del extracto etanólico a concentraciones de 10ug/ml, 100ug/ml a las 12 horas y 24 horas presentaría efecto significativo sobre esta fase del ciclo celular. Las diferencias significativas se da en los pares T1-T5, T2-T5, T3 –T5, T4-T5y T5- T6. La disminución del Índice profásico en 83,07% (T5:[10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 24horas) con respecto a los controles indica que existe un buen porcentaje de citotoxicidad con respecto a los tratamientos control, el extracto etanólico inhibe el desarrollo celular. Cabe resaltar que varía mucho con los valores encontrados por Beltrán y Gonzales (1995) quienes reportan un valor de 44,6 %.

El incremento del IP en los tratamientos se debería probablemente a que dicha sustancia al inactivar la formación de los complejos CdK1-Ciclinas A y B; los cuales además de iniciar la condensación del material genético, activando a un grupo de proteínas conocidas como condensinas, encargadas del mantenimiento estructural de los cromosomas (SMC) y de inducir el ensamble del huso mitótico, asegurándose de que los cromosomas se unan a este. Traería como consecuencia que los procesos de condensación del material genético y de polimerización de

microtúbulos para la formación del huso se ven afectados; por lo que las células no transitarían normalmente desde profase a metafase. (Lodish y col., 2002 y Losada y col., 2001).

Los 6 grupos estadísticamente homogéneos para el Índice Metafísico no muestran diferencia significativa, no existe aumento ni disminución del índice de 4,64% (T1; [0ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 12horas.) hasta 5,09%(T5 [10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 12horas) siendo estos valores cercanos a los del control.

Las diferencias significativas en el índice Anafásico entre los tratamientos, muestran que el valor aumenta desde 3,46% (T2: [10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 12 horas.) hasta 7,66%(T5: [10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 24 horas.) Acercándose estos valores a los del control lo cual se explica que el extracto etanólico permite el desarrollo de células en fase Anafásico mediante sus componentes, así permitiendo la formación del complejo promotor de la anafase y permitir la actividad catalítica de las cohesinas, generando así el desplazamiento de los cromosomas sobre los microtúbulos y como consecuencia permitiendo que las células transiten desde anafase a telofase. (Alberts, 2004; Murakami, 2000).

De los resultados obtenidos a partir de los diferentes tratamientos para el índice Telofásico se observan los grupos homogéneos estadísticamente diferentes. Los valores van aumentando de 2,89% (T2: [10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 12horas) hasta 4,26% (T5:[10ug/ml] de extracto etanólico de *E. coca*, 24horas.) Este aumento se debe a que el extracto etanólico con sus componentes favorecen los procesos de segregación de cromátidas que ocurre en la telofase estaría aumentando en relación a la concentración y tiempo. (Hidalgo y col., 2000; Murrari, 1991).

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *E. coca* no tiene efecto citotóxico en el índice mitótico y de Fases en células meristemáticas de *A. cepa* en concentraciones 10ug/ml y 100ug/ml.

El extracto etanólico de *E. coca* no tiene efecto citotóxico en el índice mitótico y de Fases en células meristemáticas de *A. cepa* en concentraciones 10ug/ml y 100ug/ml y a los tiempos 12 y 24 horas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aller, A. & C. de la Torre. 1992. "The involvement of discrete genome regions in post-mitotic chromosome de condensation in GL Timing in *Allium cepa* L. meristemáticas cells." *Journal of cell science* 103: 1047-1051.
- Alberts, B; A. Jonson; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts & P. Walter. 2004 *Biologic Molecular de la célula* 4ta Edición Ediciones Omega S.A.
- Almanza, G.; L. Salcedo; Y. Flores; O. Mamani; C. Curí; Z. Escobar; A. San Martin; E. Gonzales; E. Valenzuela; D. Salinas; E. Ocampo; R. Cabezas; M. Saavedra & G. Rodrigo. 2010. Development of phytopharmaceutical and cosmetic products from two Bolivian native plants. En: 4th TWOWS General Assembly: "Women Scientists in a Changing World" Beijing; TWAS Beijing Office, BIC, CAS; p.45.
- Beltran-Orbegoso, R. & I. F. Gonzales-Llontop. 1995 Inducción de puentes cromosómicos permanentes en meristemas de *Allium cepa*. *REBIOL* 15 (1y2): 9-17.
- Cabieses, F. 1980. Aspectos etnológicos de la coca y la cocaína" -Seminario Interamericano sobre Aspectos Médicos y Sociológicos de la Coca y la Cocaína Lima Editorial F. R. Jeri.
- Cazaña-Martínez, Y. 2004. Evaluación fitoquímica preliminar de tres especies cubanas de *Erythroxylum*. *Acta Farm. Bonaerense* 23 (2): 193 -7.
- Cordero, S. 2002 Evolución nutricional de la proteína de la hoja de coca. Trabajo de aptitud académica para optar el título profesional de químico Farmacéutico. UNMSM. Lima, Perú.
- De la Torre, C. & Q. García. 2005. Aceleración y frenado de proliferación celular" *Anal, Real Acad. NAC. Farm*, volumen 71: 535-569. disponible en <http://www.ranf.com/pdf/anales/2005/03/cap02.pdf>33.
- Domic, Z. 1985 Revisión crítica bibliográfica y consideraciones generales acerca del masticado de coca. *Cocaína 1985-Seminario Interamericano sobre Aspectos Médicos de la coca y la cocaína*. Lima: EDITORIAL F.R. Jeri.

- Falero, N. & J. Herrera.** 2006 Estudio de la hoja de *Erythroxylum coca* Lam. (Coca) en úlceras gástricas inducidas en ratas albinas (Trabajo de aptitud académica para optar el título profesional de Químico Farmacéutico). Lima: UNMSM.
- Festejo, G.** 1987. The Allium test as Standard in environmental Monitoring, Hereditas, 102: 99-102p
- Hidalgo, J. & J.F. Lopez Saez.** 2000. Effects of protein synthesis inhibition during plant mitosis; cell Res. 89; 336- 342p
- Horna R.** 1980 La producción de coca en el Perú. Cocaína. Seminario interamericano sobre aspectos médicos y sociológicos de la coca y la cocaína. Lima: editorial F.R. Jeri.
- Jiménez, N.; A. González; S. Prieto; J. Molina & A. Urquilla.** 2004. Evaluación fitoquímica de tres especies de *Erythroxylum*. Rev. Cubana PlantMed 9 (2): 1-8.
- Karp, G.** 2006 Biología Celular y Molecular, Conceptos y Experimentos. Cuarta Edición Impreso en México.
- Leyva, O.; A. Alonso; I. Rodeiro; A. Díaz; S. Scarro; A. Alvarez & J.A. González.** 2006. Evaluación genotóxica de un extracto etanólico de *E. minutifolium*. Tesis de Diploma. Fac. de Biología. Universidad de la Habana. pág.1-56.
- Levano, C. A.** 1988 Estudio fotoquímico de *Erythroxylum coca* " Hoja de Coca". Revista de Sanidad de las Fuerzas Policiales; 49 (2): 130-132.
- Lodish, H.; A. Berk; S. Lawrence; P. Matsudaira; D. Baltimore & J. Arnell.** 2002 "Biología Celular y Molecular"; Cuarta Edición Editorial Medica panamericana S.a. .
- Losada, A. & T. Hirano.** 2001. Shaping the metaphase chromosome: coordination of cohesion and condensation. Bioessays 23: 924-935.
- Machado, E.** 1968. El género *Erythroxylum* en el Perú. Lima.
- Martínez, Y. C.** 2004 Acta de recepción: "Evaluación fitoquímica preliminar de tres especies cubanas de *Erythroxylum*" Edit. Cinvestav pág. 193-197.
- Martínez, I.** 2006 Acta farmacéutica Bonaerense "Determinación de la citotoxicidad de extractos de *Erythroxylum confusum* Britt mediante el método de la Artemia salina Edit. ISSN pág. 429.
- Mitchison, T.J. & M.W. Kirshner.** 1999. Dynamic instability of microtubule growth. Nature. 312: 237-242.
- Monteagudo, B.** 2005. Actividad citotóxica y antiviral de fracciones de *Erythroxylum minutifolium*. XX Congreso Ítalo Latinoamericano Etnomedicina.
- Mostacero, J.** 2009 Fanerógamas del Perú 1era ed. Edit. Concytec pág. 397.
- Murrai, A. & M. Kirschner.** 1991 Control del ciclo Celular ; Investigación y Ciencia; N°176
- Murakami, H. & P. Nurse.** 2009. DNA replication and damage checkpoints and meiotic cell cycle controls in the fission and budding yeast. Biochen 349: 1-12.
- Osney, L.** 2003 Evaluación antigenotóxica del extracto etanólico de *Erythroxylum minutifolium* grises utilizando el ensayo SOS.Revista de investigación en línea. Edit. Sertox copyright pág. 36
- Payo, A.L.; S. Domínguez; O. Suae; B. Batista; M. Velez & H. T. Castro.** 2000. Tropane alkaloids from leaves and item bark of *Erythroxylum alaternifolium* and *Erythroxylum rotindifolium*. Phitochem 54(8) 927-932.
- Pierce, A. & L. Preston.** 2000. Radiation-related cáncer risk at low doses among atomic bomb survivors Radiat. Res 154: 178-186.
- Pelayo, H.R.; J. Pincherina; J. Jimenez-Abian; J.F. Clarke & D.J. De la Torre.** 2003 p-53 Independent Checkpoint Control in a plant cell model. Biol. Res 36: 381-388.
- Ramos, R.** 2005 Revisitasoc. Química Perú, 71 N° 1 "Fraccionamiento químico de la Hoja de coca y Obtencion de un producto rico en proteínas", pág. 3-11
- Silva, J.; B. EndTmann & J. Henriques.** 2003. Genética Toxicología. Primera ed. Editorial Alcana-Porto Alegre 422p.
- Srinivasan P. Nathan S. Suresh T,** 2001 Perumaisamy PL. " Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine, Ethnopharmacol"; 74; 217-220.