

Efecto bioprotector de *Croton lechleri* L. “sangre de grado” frente a la toxicidad del meloxicam en *Allium cepa* L. “cebolla”

The bioprotective effect of *Croton lechleri* L, “blood grade” against the toxicity of meloxicam in *Allium cepa* “onion”

Recibido: febrero 15 de 2020 | Revisado: agosto 12 de 2020 | Aceptado: noviembre 17 de 2020

LUIS FELIPE GONZALES-LLONTOP¹
JULIO CHICO-RUIZ²

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto bioprotector de *Croton lechleri* L. “sangre de grado” frente a la toxicidad del meloxicam en *Allium cepa* L. “cebolla”. Se desarrollaron raíces de 2.5 cm en quince bulbos, luego se expusieron durante cuatro horas a tres tratamientos: T1 (100 ml de agua destilada), T2 (meloxicam 1%), T3 (meloxicam 1% más 20 μ L de *C. lechleri*). Las raíces tratadas con meloxicam 1% exhibieron aberraciones cromosómicas del tipo clastogénicas: como puentes (5.3%) y cromosomas aislados (1.4%), otra aberración del tipo aneugénicas: como cromosomas helicoidales (2.5%), cromosomas adhesivos (3.3%) y sin aberraciones (87.5%). Mientras el grupo que recibió meloxicam + 1% más sangre de grado presentó puentes (2.1%), cromosomas helicoidales (0.5%), cromosomas adhesivos (0.4%) y sin aberraciones (97%). El meloxicam presentó una elevada citotoxicidad (factor mitótico de 4.5 % con trastorno de fases y paralización de crecimiento de raicillas) y genotoxicidad. Se concluye que la sangre de grado presente un efecto bioprotector frente al meloxicam.

Palabras clave: Citotoxicidad, genotoxicidad, meloxicam, *Allium cepa* L

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the bioprotective effect of *Croton lechleri* L. “grade blood” against the toxicity of meloxicam in *Allium cepa* L. “onion”. 2.5 cm roots were developed in fifteen bulbs, then they were exposed for four hours to three treatments: T1 (100 ml of distilled water), T2 (meloxicam 1%), T3 (meloxicam 1% plus 20 μ L of *C. lechleri*). The roots treated with meloxicam 1% exhibited clastogenic-type chromosomal aberrations: as bridges (5.3%) and isolated chromosomes (1.4%), another aneugenic-type aberration: as helical chromosomes (2.5%), adhesive chromosomes (3.3%) and without aberrations (87.5%). While the group that received meloxicam 1% more grade blood presented bridges (2.1%), helical chromosomes (0.5%), adhesive chromosomes (0.4%) and without aberrations (97%). Meloxicam showed high cytotoxicity (4.5% mitotic factor with phase disorder and rootless growth paralysis) and genotoxicity. It is concluded that grade blood has a bioprotective effect against meloxicam.

Key words: Cytotoxicity, genotoxicity, meloxicam, *Allium cepa* L

- 1 Facultad de Educación y Ciencias de las Comunicaciones, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza (UNTRM) Chachapoyas-Perú
- 2 Laboratorio de Cultivos Celulares. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú

Autor para correspondencia jchico@unitru.edu.pe

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Campus de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de San Martín de Porres. Este artículo se distribuye en los términos de la Licencia Creative Commons Atribución No-comercial – Compartir-Igual 4.0 Internacional (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio siempre que la obra original sea debidamente citada. Para uso comercial contactar a: revistacampus@usmp.pe.

<https://doi.org/10.24265/campus.2021.v26n31.03>

Introducción

El proceso de globalización ha posibilitado a nuestras sociedades desarrollarse en diversas actividades aplicando la tecnología y ello ha permitido, en este lapso, la contaminación ambiental y por ende la contaminación humana con el uso de agentes químicos como complemento de ciertos productos industrializados (fármacos, enlatados, insecticidas, plaguicidas, saborizantes) incrementando las enfermedades (Alberts *et al.*, 2016; Cairns, 2016; Del Castillo *et al.*; 2019, Stent & Calendar, 2017) al causar mutaciones puntuales génicas en ciertos órganos y despertar ciertos oncogenes que por amplificación o sobredosis de ciertas enzimas desembocarían en la formación de tejidos cancerígenos mortales para la humanidad (Gonzales, 2016; Lodish *et al.*, 2015, Beltrán & Beltrán, 2016).

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) es uno de los grupos de fármacos más consumidos, y su prescripción se incrementa debido a la prevalencia de enfermedades reumáticas. Sus propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas están ampliamente aceptadas. Sin embargo, su uso no es inocuo y está asociado a un amplio espectro de efectos adversos, siendo las complicaciones gastrointestinales (GI) y cardiovasculares (CV) las más importantes (Marcen *et al.*, 2015). Meloxicam es un AINE del grupo de los oxicamos con una actividad inhibitoria preferencial (aunque no selectiva) COX2 (ciclooxigenasa) que ha sido aprobada en más de 80 países para el tratamiento de osteoartritis, artritis reumatoide y espondilitis anquilosante. Su perfil farmacocinético sugiere una buena biodisponibilidad con una vida

media de eliminación de 20 horas y se une extensamente a proteínas séricas (99%) y es metabolizado en el hígado (Marcent *et al.*, 2015; Velázquez de Campos, 2017, Velázquez de Campo, 2019). Está demostrado que los AINE (tradicionales y coxibs) pueden lesionar todo el tracto digestivo. El espectro de la gastroenteropatía inducida por AINE es amplio (Lanza *et al.*, 2009; Sostres *et al.*, 2009) tanto en el tipo de lesiones como en su distribución dentro de tracto digestivo, pudiendo variar desde petequias, pasando por úlceras, hasta complicaciones graves como la hemorragia, la perforación e incluso la muerte (Marcen *et al.*, 2015; Cardona *et al.*, 2009). Los estudios de citotoxicidad y genotoxicidad constituyen un paso importante en la evaluación toxicológica de los medicamentos que son mezclas complejas con una o más acciones terapéuticas en las que también pueden estar presentes compuestos mutagénicos relacionados con el desarrollo de procesos carcinogénicos y teratogénicos (Nunes *et al.*, 2012). Los test ensayados con animales para probar una potencial capacidad genotóxica y citotóxica requieren tiempo y mucho dinero. Hay una opción a estos clásicos experimentos y son los tejidos embrionarios de vegetales que como organismos vivos de ensayo pueden durar solo horas o días y es muy económica su utilización (Fradkin & Budnik, 2016). La importancia del *A. cepa* radica en que es un excelente modelo de ensayo in vivo, donde es posible evaluar el daño producido por una sustancia o solución de interés sobre el crecimiento de las raíces y sobre el ADN vegetal (López *et al.*, 2016). Su aplicación en el análisis genotóxico de compuestos químicos y mezclas complejas es ampliamente utilizada desde su implementación desarrollada por Levan en 1938.

El género *Croton* es una Euforbiaceae, que está formada por hierbas, arbustos, árboles y, aunque menos comunes, algunos se presentan como lianas (Caruzo et al., 2011). Se ha reportado aproximadamente 1300 especies diseminadas en las regiones cálidas del planeta, especialmente en América del Sur y África. Los estudios fitoquímicos han conducido al aislamiento de esteroides, alcaloides, flavonoides, cumarinas, y una gran variedad de diterpenos con esqueleto carbonado. Muchas especies son ricas en mono y sesquiterpenos (Junior et al., 2006), y en péptidos cíclicos (Quintyne-Walcott et al., 2007; Mehmood y Malik, 2010). Varias especies de *Croton* contienen un látex rojo viscoso el cual es utilizado ampliamente en la medicina tradicional de Sudamérica para el tratamiento de heridas, inflamación, infecciones, diarreas y cáncer, como por ejemplo *C. lechleri* (Cai et al., 1993). Por lo expuesto, el trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto bioprotector de *Croton lechleri* L. “sangre de grado” frente a la toxicidad del meloxicam en *Allium cepa* L. “cebolla”.

Método

Se trabajó con 15 bulbos de “cebolla” que fueron suspendidos en un recipiente con agua para inducir la formación de raíces. Además, se acondicionó los bulbos con permanente aireación, oscuridad completa y a temperatura de 20°C. Después de tres días se seleccionaron raicillas con longitudes promedio de 2.5 cm a fin de asegurarnos muestras con cinética de mitosis constante. Se consideró como “hora cero” la exposición de las raicillas a cafeína 0,1 % para todos los tratamientos, durante una hora, con la finalidad de obtener una subpoblación de células binucleadas.

Se realizó un trabajo piloto donde se determinó la dosis efectiva cincuenta (DE₅₀) del extracto de *C. lechleri* L. “sangre de grado”. El trabajo piloto se realizó con el 10% del número total de los bulbos (cinco en total), a los cuales se les administró diferentes concentraciones del extracto donde se obtuvo la (DE50) de extracto de sangre de grado. La muestra de sangre de grado fue extraída de la corteza del tallo de la planta, y esta procedió de la ciudad de Iquitos, Perú. La extracción y concentración de principios activos se realizó disolviendo 20 uL de la savia pura en 100 mL de agua destilada, acidulada con ácido clorhídrico al 5 %. Se decantó separando los residuos y luego filtró. Se dejó reposar a temperatura ambiente y en oscuridad por dos semanas hasta que se consiguió la formación de un extracto puro y moderadamente diluido. Se lavó con acetato de etilo para eliminar las impurezas y calentó lentamente a una temperatura no mayor de 35 °C hasta que se logró un extracto fluido adecuado. Se utilizó 20 uL (2 gotas) de extracto de sangre de grado para cada tratamiento. Posteriormente, las raicillas se sometieron a la acción del extracto antes mencionado utilizándose un diseño experimental para tal finalidad.

Se formaron tres tratamientos e hizo la medición de las raíces antes y después de aplicado el tratamiento. En el grupo testigo se sometió las raicillas por 13 horas al agua pura; en el grupo control, las raicillas fueron sometidas a partir de la cuarta hora hasta la octava hora con el meloxicam 1% (comprendiendo el periodo temprano y terminal del período replicativo “S”). A partir de la novena hora hasta la onceava se mantuvieron en agua pura para su recuperación. En el grupo experimental, las raicillas

estuvieron sometidas a partir de la cuarta hora hasta la octava en una combinación de meloxicam 1% y savia de *C. lechleri* L, luego a partir de la novena hora hasta la onceava estuvieron en agua pura para su recuperación. Finalizada la onceava hora y hasta la decimotercera hora, todos los grupos fueron sometidos en agua pura.

El efecto citotóxico del meloxicam se midió calculando el factor mitótico (FM) y el promedio de longitud de raicillas afectadas, mientras que el efecto genotóxico se evaluó por la clase y los porcentajes de lesiones cromosómicas. Luego se comparó con el grupo testigo y el grupo experimental, que recibió meloxicam y savia de *C. lechleri* L. “sangre de grado”.

Se trabajó con cinco bulbos de cebolla para cada uno de los tratamientos. Se obtuvo información de 1000 campos microscópicos, los cuales fueron promediados y luego analizados por estadísticos de dispersión (varianza y desviación estándar) para finalmente aplicar la prueba de ANVA. Se utilizó el programa estadístico SSPS versión 21,0. Los datos fueron previamente transformados a arco seno de los porcentajes originales.

Resultados

En la Tabla 1 observamos un FI alto en el grupo control (95.9%) lo cual se repite en FP (85.1%). Para el grupo experimental presenta elevado su FT (6.2%). También se observan valores altos en FM, FMe, Fa para el grupo testigo.

Tabla 1

Grados de citotoxicidad del meloxicam probados con el promedio de los factores interfásicos (FI), mitóticos y factores de fases de *A. cepa* L. “cebolla”

Grupo	FI	FM	FP	F Me	FA	FT
Testigo	91.1	8.8±0.29 *	80.2	7.9	6.4	5.5
Control	95.9	4.1±0.29*	85.1	6.3	4.1	4.5
Experimental	92.3	7.7±0.29*	81.6	6.9	5.3	6.2

*P<0.05 respecto al testigo
 FI= factores interfásico
 FM=factor mitótico
 FP = factor profásico
 FMe = factor metafásico

FA = factor anafásico
 FT = factor telofásico
 Los factores se expresan en porcentajes.
 Se tabularon 1000 células en cada tratamiento.

La Tabla 2 muestra las diferencias en el promedio de longitud de las raicillas de *A. cepa* L. de los grupos tratados, manifestando que en el grupo control hubo detenimiento del ciclo celular

(raicillas no crecieron) por efecto del meloxicam mientras que en el grupo experimental siguió su ruta (continuidad del ciclo celular) de desarrollo normal.

Tabla 2

Longitud de raicillas, en cm, de *A. cepa* L. entre los grupos ensayados

Grupo	T1	T2	T3	T4	T5
Testigo	0.79	0.79	0.71	0.83	0.89
Control	0.04	0.06	0.04	0.15	0.13
Experimental	0.74	0.67	0.73	0.73	0.78

En la Tabla 3 observamos los porcentajes de aberraciones cromosómicas tipo clastogénicas como puentes cromosómicos (5.3%), cromosoma aislado (1.4%); tipo

aneugénicas como cromosoma helicoidal (2.5%) y cromosoma adhesivo (3.3%). Sin aberraciones cromosómicas (87.5%) halladas en el ciclo celular de *A. cepa* correspondientes al grupo control.

Tabla 3

Porcentajes de aberraciones cromosómicas inducidas por meloxicam 1% en raicillas de *A. cepa* L.

	Aberraciones cromosómicas				SA
	Clastogénicas		Aneugénicas		
	PC	CA	CH	CA	
Células anafásicas	*5.3	*1.4	*2.5	*3.3	87.5
Varianza	0.01	0.4	1.2	0.4	0.5
Error estandard	0.05	0.03	0.21	0.3	0.2

PC= puente cromosómico
 C = cromosoma aislado
 CE = cromosoma helicoidal

CA = cromosoma adhesivo
 SA = sin aberraciones

Se tabularon 1000 células por tratamiento

En la Tabla 4 se presentan los porcentajes de aberraciones cromosómicas tipo clastogénicas como los puentes cromosómicos (2.1 %) y cromosomas aislados (0%); también se observan

tipos aneugénicas como cromosomas helicoidales (0.5 %), y cromosomas adhesivos (0.4 %). Sin aberraciones cromosómicas (97.0 %); todos ellos correspondientes al grupo experimental.

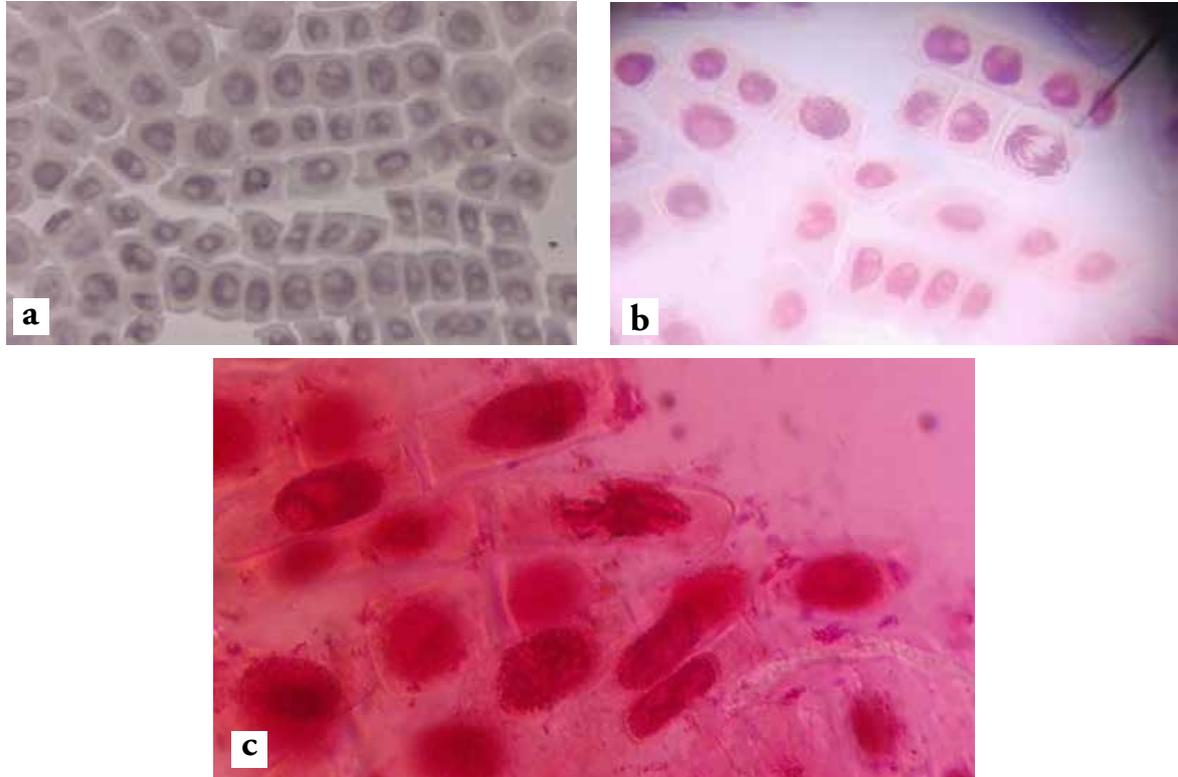


Figura 1. Efecto de meloxicam 1% en células meristemáticas *A. cepa*. a. células en interfase. b. puentes cromosómicos (aberración clastogénica) c. cromosomas adhesivo (aberración aneugénica) (1000X).

Tabla 4

Porcentajes de aberraciones cromosómicas inducidas por meloxicam 1% más *C. lechleri* L. en raíces de *A. cepa* L.

	Aberraciones cromosómicas				SA
	Clastogénicas		Aneugénicas		
	PC	CA	CH	CA	
Células anafásicas	*2.1	-	*0.5	*0.4	97
Varianza	0.03	-	1.1	0.6	0.3
Error estandar	0.04	-	0.13	0.5	0.1

PC= puente cromosómico
 C = cromosoma aislado
 CE = cromosoma helicoidal

CA = cromosoma adhesivo
 SA = sin aberraciones
 Se tabularon 1000 células por tratamiento

Discusión

El factor mitótico (FM) de *A. cepa* L. del grupo testigo es 8.9% (Tabla 1), lo cual indica que por cada 100 células nueve ingresan a división (Beltrán & Gonza, 2016). Por tanto, cálculos menores indican un alto grado de citotoxicidad del meloxicam, pues daña el número de células que ingresan a una próxima división. Valores superiores indican un efecto adverso de inducción de la reproducción celular llevando a un incremento celular descontrolado (De Robertis, 2017). Si confrontamos este resultado del factor mitótico (8.9%) del grupo testigo con el grupo control (4.1%), contemplamos que el meloxicam dificulta en un 54% la entrada de células a división, lo cual evidencia una alta citotoxicidad del fármaco. La disminución del FM se debe a que las raicillas toleran un efecto tóxico del meloxicam, fenómeno que se comprueba en la interrupción del crecimiento longitudinal de dichas raicillas analizado en el grupo control (Tabla 2) (Figura 1). El FM del grupo experimental nos muestra que las células se recuperaron y retomaron la continuidad de la división celular al ser estimulados posiblemente

por los fitoconstituyentes que posee *C. lechleri* L. en un 81.6% con respecto al factor mitótico del grupo control, los que nos hace suponer que los diversos factores que controlan el ciclo celular fueron activados porque estuvieron paralizados supuestamente por la citotoxicidad del meloxicam (Menone *et al.*, 2015).

En lo referente a los factores de fases (Tabla 1), todos los porcentajes están trastocados, donde solamente el factor profásico (FP) presenta estimaciones mayores referente al testigo y al experimental. La causa es por el efecto inhibitorio producido por el meloxicam. Este fármaco causa una alta estimación del FP (85.1%), demostrando que una alta proliferación celular, en contraposición al testigo de 80.2%, se encuentran inmóviles en la profase. Esto sugiere que el fármaco actúa eludiendo la desintegración de la carioteca (fosforilación), eventos moleculares primordiales en el tránsito de la profase hacia la metafase (Lozano, 2016; Karp, 2018).

Los resultados de las longitudes de las raicillas (Tabla 2) fueron tratados con meloxicam (después de las 14 horas que duró el ciclo celular de *A. cepa* L.)

demuestran el efecto inhibitor y/o citostático del meloxicam, al observar macroscópicamente la inhibición del crecimiento en longitud de las raicillas en comparación con el grupo testigo y el grupo experimental (que recibió una dosis de meloxicam más sangre de grado) que crecieron casi normalmente. Las células embrionarias en crecimiento habrían detenido su proliferación por efecto del meloxicam. Posiblemente, ingresaron en un periodo de letargo celular (interfase u otra fase) al encontrar dichas células un medio ambiente desfavorable para continuar con su crecimiento (Fig. 1 b y c) (Gonzales, 2016; Guevara 2015).

En la Figura 1b observamos un caso típico de aberración cromosómica clastogénica: el puente cromosómico; en este caso, el material cromosómico ha experimentado una quebradura de su doble hélice (Karp, 2018) o ha sufrido trastornos en su proceso replicativo o reparativo por la sustancia química en prueba. La otra respuesta a la aparición de estas anomalías genéticas sería que el meloxicam actuaría como un factor de trastorno molecular rápido con un alto poder citotóxico-mutagénico (Vicent y Wordeman, 2015). Coincidimos con Beltrán & Gonza (2016) quienes usando *Vicia faba* L. como material biosensor y exponiéndolo a diferentes tipos de agua contaminada de la cuenca del río Moche (La Libertad) encontraron diferentes aberraciones cromosómicas tanto clastogénicas como aneugénicas (Ramírez & Blas, 2017) producto de la interacción del biosensor con la presencia de metales pesados (Taylor *et al.*, 2016).

En la Tabla 3 observamos que los puentes cromosómicos fueron inducidos en un 5.3 % de células anafásicas;

mostrando el alto poder mutagénico del meloxicam. Si comparamos este resultado encontrado con lo hallado por Gonzales (2015) usando ácido acetilsalicílico “aspirina” 1% y *S. tuberosum* y *C. lechleri* que fue de 15.8% de puentes cromosómicos podemos afirmar que solamente la sangre de grado tiene el efecto bioprotector eficiente y adecuado por el reducido porcentaje encontrado según la Tabla 4 (2.1%) de daño cromosómico en la forma de puente. No se halló cromosomas aislados (Tabla 4) en el tratamiento con meloxicam y sangre de grado, evidenciándose que la sangre de grado tiene la capacidad de inducir los mecanismos de reparación celular (Kirp *et al.*, 2016; Lezaeta, 2018) para poder enfrentar y corregir los errores cromosómicos que hubiese causado la sustancia en ensayo. Nuestros resultados coinciden con los hallados por Beltrán & Gonza (2016) que respecto a las aberraciones clastogénicas como puentes (6.0 %) y cromosomas aislados (2.0 %) son similares a lo obtenido en este ensayo.

Según la Tabla 3, las aberraciones cromosómicas aneugénicas de tipo cromosoma helicoidal y cromosoma adhesivo, el grupo control que recibió meloxicam 1% muestra los porcentajes de 2.5% y 3.3% y mostrado en la Figura 1c; mientras en el grupo experimental que recibió meloxicam 1% y sangre de grado se presentan reducidos porcentajes de 0.5% para cromosomas helicoidales y 0.4% para el cromosoma adhesivo. Se comprobó que la sangre de grado pudo amortiguar el daño cromosómico (Katzung & Trevor, 2016; Weimberg, 2015) de esta clase, esto puede explicarse debido a la efectividad de sus fitoconstituyentes (ácidos orgánicos) que puso en activación los factores bioquímicos

del ciclo celular y también estimuló la reparación celular verificándose esto con la reducción del daño ocasionado por el meloxicam (Tabla 4). En este hallazgo de aberraciones aneugénicas concordamos con Beltrán & Gonza (2016) quien encontró porcentajes similares en su estudio del efecto de metales pesados contaminantes en el río Moche.

Los resultados encontrados comprueban el alto nivel citotóxico del meloxicam, por lo cual es importante la aplicación de un plan de prevención en el consumo de este fármaco ya que es prescrito frecuentemente por los médicos a sus pacientes. Además, este resultado nos permite proponer su ensayo en animales de experimentación y así poseer información fiable de lo que podría estar pasando en tejidos humanos y por

consiguiente adecuar su consumo para evitar problemas de toxicidad.

Conclusiones

El grupo experimental que recibió meloxicam 1% más *C. lechleri* L. “sangre de grado” demostró escaso efecto citotóxico y genotóxico respectivamente. El meloxicam 1% del grupo control ocasionó un mayor efecto citotóxico y genotóxico por la paralización del crecimiento en longitud de las raicillas de “cebolla” y la existencia de aberraciones cromosómicas. El meloxicam 1 % presentó un elevado efecto citotóxico en cebolla al inducir un factor mitótico de 4.1 %, un incremento del factor profásico de 85,1% y disminución de los factores metafásicos (6.3 %), anafásico (4.1 %) y telofásico (4.5 %).

Referencias

- Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Morgan, D.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. (2016). *Molecular Biology of the Cell* (7^o ed.). New York: Garland Science. 1616 p.
- Beltrán, R.; Gonza, K. (2016). Citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche mediante el bioindicador ambiental *Vicia faba* L. *Scientia Agropecuaria* 8(3): 203 – 213.
- Beltrán, R.A.; Beltrán, P.M. (2016). Regulación del ciclo celular (CC) de *Vicia faba* L por el extracto alcohólico de *Annona cherimola* Mill “chirimoya”. *Scientia Agropecuaria* 7(3): 245 – 251.
- Cai Y.; Chen P.; Phillipson D. (1993). Clerodane diterpenoids from *Croton lechleri*. *Phytochemistry* 34: 265-268.
- Cairns, V. (2016). *El problema del cáncer*. (8^o ed.). Edit. Cairns Eds. Prensa Científica. España.
- Cardona R.; Ramírez R.; Reina Z.; Escobar M.; Morales E. (2009). Alergia e intolerancia a antiinflamatorios no esteroides: desensibilización exitosa en tres casos y revisión de la literatura. *Biomédica* 29:181-90.
- Caruzo M.; Cordeiro I.; Berry P.; Rina R. (2011). *Molecular phylogenetics and character evolution of the*

- «sacaca» clade: novel relationships of *Croton* section *Cleodora* (Euphorbiaceae). *Mol Phylogenet Evol* 60: 193-196.
- DeRobertis, E. & DeRobertis E. (2017). *Biología Celular y Molecular*. (16° ed.) Edit. Ateneo. Buenos Aires. Argentina. 463 p.
- Del Castillo, V.; Uranga, R.; Zafra de la Rosa, G. (2019). *Genética Clínica*. (2° ed.). Edit. Manual Moderno. 651p.
- Fradkin, L.G.; Budnik, V. (2016). This bud's for you: mechanisms of cellular nucleocytoplasmic trafficking via nuclear envelope budding. *Current Opinion in Cell Biology* 41: 125-131.
- Gonzales, L. (2015). Efecto reparador de un *Piper aduncum* L. “matico” en tejidos embrionarios de *Allium cepa* L. “cebolla” con lesiones cromosómicas inducido por ciprofloxacina. *Sciendo* 18 (2): 12-19.
- Gonzales, L. (2016). Efecto citoreparador del tónico INTI en tejidos meristemáticos de *Allium cepa* L. “cebolla” con daño cromosómico por acción de la bencilpenicilina benzatínica. Informe Final. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Chachapoyas. Perú.
- Guevara, V. (2015). Efecto de *Morinda citrifolia* L. noni en el ciclo celular de *Vicia faba* L. Tesis Bach. Universidad Nacional Trujillo, Perú.
- Junior S.; Alves V.; Moura F.; Vieira M.; Conserva L.; Lemos R. 2006. Constituentes químicos das folhas e caule de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae). *braz j Pharmacognosia* 16: 397-402.
- Karp, G. (2018). *Biología Celular y Molecular*. (8° ed.). Ediciones Mc Graw Hill S.A. México. 740p.
- Katzung, B.; Trevor, A. (2016). *Farmacología Básica y Clínica*. (13° ed.). Mc Graw Hill S.A. México. 1141 p.
- Kir, G.; Sarbay, B.C.; Gumus, E. (2016). Significance and outcome of nuclear anaplasia and mitotic index in prostatic adenocarcinomas. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 34(10): 430.e9–430.e16.
- Lanza F.; Chan F.; Quigley E.. (2009). Practice parameters. Committee of the American College of Gastroenterology. Guidelines for prevention of NSAID-related ulcer complications. *Am J Gastroenterol*. 104:728---38.
- Levan A (1938), The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas* 24:471-486.
- Lezaeta, M. (2018). *La medicina natural al alcance de todos*. (9° ed.). Editorial Keir. S.A. Buenos Aires. Argentina. 337 p.
- Lodish, H.; Baltimore, D.; Berk, S.; Zipursky, S.L.; Matsudaira, P.; Darnell, J. (2015). *Molecular Cell Biology*. (7° ed.). New York: Edit.

- Scientific American Books.INC.
1186 p.
- López, B.; Valentine, M. (2015). Molecular control of stress transmission in the microtubule cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta* 1853:3015-3024.
- Lozano, J. (2016). *Bioquímica y Biología Molecular en Ciencias de la Salud*. (3° ed.). Editorial Mc Graw S.A. México. 803 p.
- Marcen B.; Sostres C.; Lanas C. (2016). AINE y riesgo digestivo. *Aten Primaria*. 48(2):73-76.
- Mehmood R.; Malik A. (2010). Isolation and characterization of *Crotos parsamide*, a new cyclic nonapeptide from *Croton sparsiflorus*. *Nat Prod Commun* 5: 1885-1888.
- Menone, M.; Pérez, D.; Lukaszewicz, G.; Camadro, E. (2015). Identification of freshwater hydrophytes for genotoxicity assessment of aquatic pollutants. *Journal of Basic & Applied Genetics* 26: 9-17.
- Nunes, L.; Gontijo D.; Souza C.; Fietto L. (2012). The mutagenic, DNA-damaging and antioxidative properties of bark and leaf extracts from *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(2), 297-303.
- Quintyne-Walcott S.; Maxwell A.; Reynolds W. (2007). Crotogossamide, a cyclic nonapeptide from the latex of *Croton gossypifolius*. *J Nat Prod* 70: 1374-1376.
- Ramírez-Pérez, A.; Blas, E. (2017). Iron reactivity in anoxic sediments in the Ría de Vigo (NW Spain). *Chemosphere* 174: 8–19.
- Sostres C.; Gargallo C.; Lanas A. (2009). Drug-related damage of the ageing gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 23:849---60
- Stent, G. & Calendar R. (2017). *Genética molecular*. Libro de Resúmenes. Ed.Omega S.A. Barcelona. España. 136 p.
- Taylor, S.; He, Y.; Hiscock, K. (2016). Modelling the impacts of agricultural management practices on river water quality in Eastern England. *Journal of Environmental Management* 180: 147-163.
- Velázquez de Campos, O. (2019). Meloxicam, un AINE con características especiales. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 38 (2) :1-8
- Velázquez de Campos, O. (2017). Evidencias para el uso combinado de meloxicam –esomeprazol. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 36 (1): 26-32
- Vicente, J.; Wordeman, L. (2015). Mitosis, microtubule dynamics and the evolution of kinesins. *Experimental Cell Research* 334:61–69.
- Weinberg, R. (2015). *Base Molecular del Cáncer*. Libro de Resúmenes. El Cáncer. Prensa científica. España. 136 p.