

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EFECTO PROTECTOR DEL LÁTEX DE *Croton lechleri* DEL ÍNDICE
MITÓTICO Y DE FASES EN MERISTEMOS RADICULARES DE *Allium cepa*
FRENTE A LA TOXICIDAD DE ACETAMINOFENO PARACETAMOL®.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
BIÓLOGO**

Autora: Br. Bracamonte Nole Milagros Matilde

Asesor: Dr. Fátima Zavala De La Cruz

TRUJILLO-PERÚ

2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE

CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EFFECTO PROTECTOR DEL LÁTEX DE *Croton lechleri* DEL ÍNDICE
MITÓTICO Y DE FASES EN MERISTEMOS RADICULARES DE *Allium cepa*
FRENTE A LA TOXICIDAD DE ACETAMINOFENO PARACETAMOL®.**

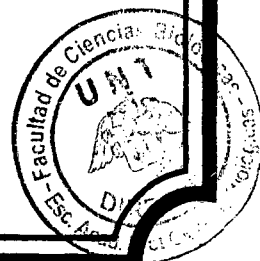
**TESIS
PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO**

Autora : Br. Bracamonte Nole Milagros Matilde

Asesora : Dra. Fátima Zavala De La Cruz

TRUJILLO - PERÚ

2012



**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO QUE
OTORGAN EL TITULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO**

RECTOR

Dr. Orlando Velásquez Benites

VICERECTORA ACADEMICA

Dr. Vilma Julia Mendez Gil

VICERECTORA ADMINISTRATIVA

Dr. Flor Marlene Luna Victoria Mori

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Dr. Hermes Escalante Añorga

SECRETARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Dr. Cesar Augusto Jara Campos

DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Dr. Segundo Eloy López Medina

MIEMBROS DEL JURADO



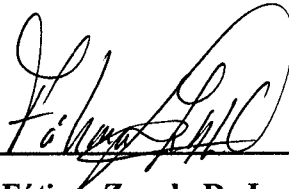
Dr. Radigud Fernández Romero

PRESIDENTE



Dr. Zulita Prieto Lara

SECRETARIO

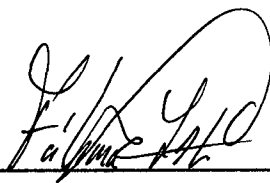


Dr. Fátima Zavala De La Cruz

VOCAL

ASESOR

El que suscribe, profesor asesor de la presente tesis, declara que ésta ha sido ejecutada de conformidad con su correspondiente proyecto y con las debidas orientaciones brindada al tesista. En cuanto al informe, este ha sido revisado y acoge las observaciones y sugerencias correspondientes.



Dr. Fátima Zavala De La Cruz

Asesor

APROBACIÓN

Los profesores que suscriben, miembros del jurado dictaminador, declaran que la presente tesis ha cumplido los requisitos formales y fundamentales siendo aprobada por unanimidad.



Dr. Radigud Fernández Romero
PRESIDENTE



Dr. Zulita Prieto Lara
SECRETARIO



Dr. Fátima Zavala De La Cruz
VOCAL

DEDICATORIA

A Dios por su infinita bondad y amor, por darme momentos felices y difíciles en mi vida a través de los cuales pude madurar, permitiéndome así llegar hasta este punto.

Milagros

A la Santísima Virgen María por nunca abandonarme en este caminar.

Milagros

A mis padres Elio y Violeta, por sus consejos, apoyo incondicional, por sus cuidados, por todo el amor que me dan, por enseñarme a mantenerme siempre perseverante ante las dificultades. Los amo mucho papitos.

Milagros

A mis hermanos Teresa y Juan Diego, por sus ocurrencias y alegrías dadas, gracias por las enseñanzas que me dan.

Milagros

A Miguel, por todo su amor, por su paciencia, comprensión, por ayudarme a volver a encontrar mi fe y a nunca perder la esperanza. Gracias, por ayudarme a ser una mejor persona.

Te Amo.

Milagros

A los profesores por sus enseñanzas, consejos, apoyo y palabras de aliento que me ayudaron a alcanzar esta meta.

Milagros

A la todo el personal técnico y administrativo que me brindaron su apoyo en el desarrollo de este proyecto.

Milagros

A mis amigas y amigos, por los momentos de felicidad que compartimos durante la universidad.

Milagros

AGRADECIMIENTO

*Expreso mi más sincero agradecimiento a los profesores **Dr. Fátima Zavala De La cruz** y **Dr. Radigud Fernández Romero**, por su apoyo desinteresado, por tenerme la paciencia necesaria, sus consejos e inapreciables aportes para cumplir con los objetivos programados en el presente trabajo de tesis.*

En general quisiera agradecer a todas y cada una de las personas que me brindaron su apoyo y colaboraron en la realización de esta tesis y que no necesito nombrar porque tanto ellas como yo sabemos que desde lo más profundo de mi corazón les agradezco su apoyo y aliento en esos momentos difíciles de trabajo, gracias por su amistad y cariño.

Milagros Matilde Bracamonte Nole

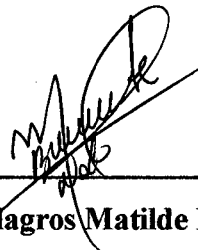
PRESENTACIÓN

Señores Miembros del Jurado:

Cumpliendo con el reglamento interno de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo; para la obtención de grados y títulos, someto a vuestra consideración y elevado criterio la tesis titulada: Efecto protector del látex de *Croton lechleri* del índice mitótico y de fases en meristemas radiculares de *Allium cepa* frente a la toxicidad de acetaminofeno paracetamol®. Con la que pretendo optar el Título de Biólogo.

Esperando que vuestro criterio sea de comprensión por errores u omisiones cometidos en la elaboración del presente trabajo, me someto a vuestro dictamen.

Trujillo, 27 de marzo del 2012.



Br. Milagros Matilde Bracamonte Nole.

ÍNDICE

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS.....	ii
MIEMBROS DEL JURADO.....	iii
DEL ASESOR.....	iv
APROBACIÓN.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	viii
PRESENTACIÓN.....	ix
ÍNDICE.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
RESULTADOS.....	10
DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIÓN.....	32
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	33
ANEXOS.....	41

RESUMEN

En la presente investigación, se determinó el efecto protector del látex de *Croton lechleri* del índice mitótico y de fases en meristemos radiculares de *Allium cepa*, frente a la toxicidad de Acetaminofeno Paracetamol®. Se enraizaron los bulbos de *A. cepa* en agua potable hasta la obtención de raicillas de dos cm. de longitud; luego, los bulbos seleccionados se sometieron a quince tratamientos, distribuidos en tres controles negativos, tres controles positivo con 400 ug/ml de Acetaminofeno Paracetamol®, y nueve tratamientos con 400 ug/ml de Acetaminofeno Paracetamol® a los cuales se les agregó respectivamente 0.1%, 1% y 2% del látex de *Croton lechleri*, evaluándose a 12, 24 y 36 horas. Posteriormente, las raicillas fueron conservadas en solución Carnoy's, se colorearon con Orceína acética al 2% de acuerdo a la técnica de Tjio y Levan. Se observó una recuperación del índice mitótico a medida que aumenta la concentración y tiempo de exposición al látex de *Croton lechleri*, en relación a los controles positivos, hasta alcanzar el valor de 9.29% en T12 (2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas) acercándose a los valores del control negativo. El incremento del índice mitótico probablemente se debería a la presencia de ciertos compuestos alcaloides antitumorales como la piridona, indol aporfina, quinoleina, tropanos, ácidos grasos insaturados, antraquinonas y triterpenos, presentes en el látex de *C. lechleri*, los cuales estarían actuando a nivel del segundo punto de control en el ciclo celular (G_2), promoviendo la formación de los complejos CdK1-ciclina B; las cuales forman al FPM, ello ocasionaría la transición de las células en G_2 hacia la mitosis.

PALABRAS CLAVES: *Croton lechleri*, Acetaminofeno Paracetamol®, *Allium cepa*, Índice Mitótico, Índice de Fases.

ABSTRACT

In this present research, it determined the protector effect of *Croton lechleri*'s latex into the mitotic and phases index in meristems root of *Allium cepa*, against the toxicity of Acetaminophen Paracetamol®. *Allium cepa*'s bulbs were putted in water to obtain roots of two cm length; then, fifteen treatments were performed, three negative controls only with water, three positive controls with 400 ug/ml of Acetaminophen Paracetamol®, and nine treatments with 400 ug/ml de Acetaminophen Paracetamol® to which were added in that order 0.1%, 1% y 2% of *Croton lechleri*'s latex, which were evaluated at 12, 24 and 36 hours. At the end of the treatments, the roots were putted in Carnoy's solution, and then stain with acetic orcein 2% according to Tjio and Levan's technique. After the results, it observed that the mitotic index increased in relation with the concentration and time of exposure, until 9.29% in T12 (2% latex *C. lechleri* with 400ug/ml of Acetaminophen Paracetamol® 36 hours), closer to the values of negative control. The inceased in the mitotic index should be by the antitumor alkaloid components such us pyridine, indole aporphine, quinomile, tropanes, unsaturated fatty acids, anthraquinones, and triterpenes presents in the latex of *Croton lechleri*, which would be acting at the second checkpoint in the cell cycle(G2) promoting the formation of the complex CDK1- ciclin B, which form the MPF, and it cause the transition of cells from G2 to mitosis.

KEYWORDS: *Croton lechleri*, Acetaminophen Paracetamol®, *Allium cepa*, Mitotic index, Phases index



INTRODUCCIÓN

La salud siempre ha sido prioridad en la persona y el estado ha promovido la distribución de medicamentos de manera gratuita o a bajo costo, asegurando de este modo una mejor calidad de vida. Sin embargo, hoy en día el número de enfermedades ha ido en aumento y para muchas de ellas el tratamiento no está a su alcance; es así, que las personas optan por adquirir paliativos, sin prescripción médica, tal es el caso del Acetaminofeno Paracetamol®¹.

El acetaminofeno (paracetamol, N -acetil- p -aminofenol, AAP) es uno de los analgésicos más utilizados para aliviar molestias leves a moderadas y para bajar la fiebre; generalmente se considera seguro en dosis terapéuticas. Sin embargo, cuando se consume en grandes dosis, causa daño y/o necrosis hepática, episodios de asma, rinitis, daño renal y cardíaco^{2,3,4}; así mismo, se ha demostrado que aumenta la frecuencia de micronúcleos, cromosomas con rupturas, variaciones morfométricas en las regiones AgNOR⁵ y daño oxidativo *Allium cepa* evidenciado en la disminución del índice mitótico^{6,7}.

Por otro lado, los productos naturales provenientes de las plantas, han sido utilizados para el tratamiento de enfermedades desde hace miles de años en civilizaciones como Egipto, China, India y Grecia, existiendo documentos que evidencian el uso medicinal de estas plantas desde los años 2600 aC. por los sumerios; 1500 aC en Egipto; 1100 aC, en China⁸. Hoy en día se sabe que más del 60% de productos médicos aprobados y utilizados contra el cáncer son de origen natural⁹, existiendo así, estudios de antagonismo

de la acción citotóxica de Acetaminofeno paracetamol® en *Sargassum polycystum*¹⁰, *Curcuma longa*¹¹, *Chebula terminalia*¹² y de *Solanum pimpinellofolium*¹³.

El Perú posee gran variedad de plantas que son usadas para el tratamiento de diversas enfermedades^{14,15}, entre las cuales se encuentran *Croton lechleri* Muell. Arg. “sangre de grado” que pertenece a la familia Euphorbiaceae, especie arbórea de 30 m. de altura, crece en ecorregiones de la selva alta y baja hasta los 2000 msnm. De la corteza del árbol se extrae un látex viscoso de color rojo oscuro llamado “sangre de grado” o “sangre de drago”, que se usa como cicatrizante interno y externo, y antiinflamatorio; siendo su mayor uso contra la gastritis y úlceras gástricas^{16,17}.

En un estudio fitoquímico del látex, se han encontrado que contiene alcaloides antitumorales como la piridona, indol aporfina, quinoleína, tropanos, ácidos grasos insaturados, antraquinonas y triterpenos^{16,17}, también se identificaron tres megastigmanes, cuatro flavan-3-oles, tres fenilpropanoides, tres lignanos, un clerodano, y se aislaron en menor cantidad el B blumenol, C blumenol, 4,5 dihidroblumenol, eritro-guayacil-gliceril-B-O-4' dihidroconiferil eter, 2-[4-(3-hidroxiopropil)-2-metoxifenoxi]-propano-1,3-diol y ácido glucosido floribundico¹⁸.

Diversas investigaciones han demostrado que el látex del género *Croton* (*C. lechleri* y *C. palanostigma*) poseen efectos antioxidantes e inmunoreguladores en diferentes organismos. Determinándose que el látex de *Croton palanostigma* posee capacidad antioxidante causando una menor lipoperoxidación (45.91%) en células gástricas de ratas

albinas machos a concentración de 0.8ml/kg, respecto a la injuria de daño que produce el alcohol (86,41%), evaluado por la prueba TBARS¹⁶.

Así mismo, estudios han determinado la capacidad antimutagénica del látex de *C. lechleri* en *Salmonella typhimurium* cepa TA98 y TA100 sobre compuestos como 2-nitrofluoreno y azida de sodio; mostrándose que en TA98 en presencia de 2-nitrofluoreno el látex de *C. lechleri* inhibe la histidina revirtiendo el daño en 45% a la concentración de 500ug/placa, mientras que el sistema TA100/ azida de sodio el efecto inhibitorio fue de 34% a la concentración de 1000ug/placa, se debe a la presencia de gran cantidad de proantocianinas, taninos y compuestos fenólicos¹⁹. También, el extracto solo presenta capacidad antiproliferativa después de tres días de evaluación sobre células leucémicas humanas K562 y el IC50 fue de 2.5 +/- 0.3ug/ml, demostrándose así su actividad antitumoral, debido a compuestos polifenólicos como flavonoides²⁰.

Además se evaluó el efecto cicatrizante de *Croton lechleri* mediante el método de incisión en ratas previamente anestesiadas, con diferentes concentraciones de cremas y suspensiones alcohólicas de extracto atomizado de *Croton lechleri*; encontrándose mayor actividad cicatrizante en la crema elaborada al 1% y la suspensión elaborada al 2% de extracto atomizado de *Croton lechleri*, equivalente a un 5% y un 10% del látex puro²¹.

Así mismo, se determinó la actividad inmunomoduladora del látex de *Croton lechleri*, mediante ensayos in vitro, el cual se determinó en suero humano. Observándose a concentraciones una potente actividad inhibitoria sobre la proliferación de células T-activadas, demostrándose así, las propiedades antioxidantes²².

También se halló que el látex de *C. lechleri* presenta efecto citotóxico a la concentración de 120 mg/kg en células gástricas de ratones, pero por debajo de este valor ejerce efecto protector y antioxidante²³.

Para determinar el efecto citotóxico o protector de cualquier sustancia es necesario el uso de bioindicadores. Este término hace referencia a cualquier medida que refleje una interacción entre un sistema biológico y un agente medioambiental, ya sea químico físico o biológico²⁴.

Ante esto, existen diversos bioensayos que permiten evaluar el riesgo toxicogénico de una sustancia o una mezcla de sustancias. Ejemplo de ello se tiene al Allium Test ejecutado por Levan desde el año 1938 usando meristemos de *Allium cepa* “cebolla”, y que actualmente es considerado un bioindicador ideal por el rápido crecimiento de sus raíces, inmediata respuesta de su material, bajo costo, semejanza de resultados con modelos animales, y por permitir estudiar la dinámica celular y los mecanismos regulatorios del ciclo celular^{25,26}, en cada una de las fases, en la cual interactúan complejos ciclinas-quinasas dependientes de ciclinas (CDK), implicando procesos de transcripción y síntesis de proteínas específicas que determinan el ciclo celular, la replicación, la finalización del periodo S, el paso de G2 hacia la mitosis y el flujo hacia cada fase^{27,28,29,30}.

Por las razones expuestas anteriormente el trabajo tuvo por objetivo determinar el índice mitótico y de fases del ciclo celular de *Allium cepa* expuestos a diferentes concentraciones y tiempos de exposición del látex de *Croton lechleri* en sinergismo a la toxicidad de Acetaminofeno paracetamol ®.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Material biológico:

El látex de *Croton lechleri* “sangre de Grado” fue obtenido del A-INDUSTRIAS Sayal S.A.C. , en presentación líquida.

Los bulbos de cebolla fueron obtenidos en el mercado “Unión” del Distrito de Trujillo. La variedad elegida fue roja arequipeña, teniendo en cuenta las buenas características fitosanitarias y la homogeneidad (forma, tamaño, peso, ancho del disco germinativo y sequedad de las raicillas).

2. Material Farmacológico:

El material farmacológico considerado para esta investigación fueron comprimidos de 500 mg de Acetaminofeno paracetamol® del Laboratorio Industriaquímica S.A.

3. Métodos y Técnicas:

3.1 *Enraizamiento de bulbos de Allium cepa “cebolla”*

A 200 bulbos de *A. cepa* “cebolla” se les extrajo las catáfilas y raicillas muertas; seguidamente, cada uno de ellos se sujetaron con palitos mondadientes, se colocaron en vasos plásticos con agua potable filtrada en papel Watmann N° 3, y se colocaron en oscuridad a temperatura ambiente (20 ± 2), realizándose el recambio diario de agua hasta obtener 45 bulbos con las raicillas de 2 cm de longitud aproximadamente. ANEXO (A-F)



3.2 Preparación de la solución de Acetaminofeno Paracetamol®

La solución se preparó usando 0.04 g de Acetaminofeno Paracetamol®, que contenía 0.04g del principio activo, los cuales se disolvieron en 100 ml de agua para obtener una concentración de 400ug/ml.

ANEXO 1 (G y H)

3.3 Diseño estadístico

El diseño que se realizó fue jerarquizado o anidado, en el cual se evaluaron quince tratamientos; tres controles negativos con agua potable filtrada a 12, 24 y 36 horas, tres controles positivo con 400 ug/ml de Acetaminofeno Paracetamol® a 12 ,24 y 36 horas, y nueve tratamientos con 400 ug/ml de Acetaminofeno Paracetamol® a los cuales se les agregó respetivamente 0.1%, 1% y 2% del látex de *Croton lechleri*, y se evaluaron a 12, 24 y 36 horas. Se distribuyeron tres bulbos dentro de cada tratamiento según el tiempo de exposición, y se evaluaron 4 raicillas en cada grupo. (Tabla 1). Terminados los tratamientos se realizaron los preparados citológicos. ANEXO 1(I)

Tabla 1: Diseño estadístico anidado para determinar el efecto protector del látex de *Croton lechleri* "Sangre de Grado" en el índice mitótico y de fases en meristemos radiculares de *Allium cepa* expuesta a Acetaminofeno Paracetamol®.

TTO S	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15																																					
BUL BOS	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45							
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
RAI CI	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
LLAS	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

Legenda:

- T1: Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2: Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3: Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7: 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8: 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9: 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13: Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14: Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15: Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

3.4 *Obtención de preparados citológicos*

Después del tiempo de exposición según los tratamientos anteriormente indicados, se cortaron las raicillas, se fijaron en Carnoy's (ANEXO 2). Luego, fueron colocadas en una luna reloj, previamente rotulada según el tratamiento, y se procedió a colorear con 9 gotas de Orceina acética 2% y 1 gota de HCl por 45 minutos mediante el método de Tjio y Levan(1956). Pasado el tiempo de coloración, se disectaron los ápices de las raicillas y se colocaron sobre las laminas portaobjetos, agregandose una gota de gelatina fenicada, como sustancia cementante y luego se colocó sobre ésta una laminilla cubreobjetos, y se procedió a utilizar la técnica de "squash" o del aplastamiento. ANEXO 3 (A- J)

3.5 *Obtención de datos y análisis citológico*

De los preparados citológicos se efectuó el recuento celular, registrándose el número de células en las diferentes fases del ciclo celular por el método del barrido a 400 aumentos, en un microscopio *Olympus* CX21 (ANEXO 3 K). Contándose un total de 4000 células por cada lámina aproximadamente con lo que se determinó el índice mitótico y de fases según las fórmulas presentadas en el ANEXO 4.

3.6 *Análisis estadístico*

Los datos obtenidos a partir del conteo de células de los diferentes tratamientos, fueron recolectados y organizados en tablas procediéndose a

realizar ANOVA anidada ($p < 0.05$) (ANEXO 5, 6, 7, 8 y 9) utilizando el programa estadístico Minitab versión 16 (Demo) y la posterior comparación múltiple de promedios se realizó mediante la prueba de Duncan ($p < 0.05$) en el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI versión 16(Demo).

RESULTADOS

Al determinar el índice mitótico y de fases del ciclo celular de *Allium cepa* expuestos a diferentes concentraciones y tiempos de exposición al látex de *Croton lechleri* en sinergismo a la toxicidad de Acetaminofeno paracetamol®, se obtuvieron los siguientes resultados.

En la TABLA 2 y FIGURA 1, se muestra la disminución del índice mitótico en los controles positivos (1.15%, T15: 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® 36 horas de exposición, FIGURA 5), comparados con los controles negativos que presentaron los IM más elevados(12.52%, T3: control negativo, agua potable, 36 horas de exposición, FIGURA 3); sin embargo, en los demás tratamientos se observa una recuperación del valor del Índice Mitótico, que va en relación directa al aumento de concentración y tiempo de exposición al látex de *C. lechleri* en sinergismo con el A. paracetamol®. De este modo el I. mitótico del T4 (0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas de exposición, FIGURA 4) fue del 2.81% y del T12 (2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición) fue de 9.29% .

La comparación múltiple de promedios para el índice mitótico en células meristemáticas de *Allium cepa* (TABLA 3 y FIGURA 2), realizada luego del análisis estadístico ANOVA anidada (ANEXO 5); mostraron que el T15 (control positivo con 400ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición) presentó el IM más bajo, 1.15%, con respecto al grupo estadísticamente homogéneo de mayor promedio, representado por T1 (Control negativo, agua potable, 12 horas de exposición), T2 (Control

negativo, agua potable, 24 horas de exposición) y T3(Control negativo, agua potable, 36 horas de exposición) FIGURA 5.

La comparación múltiple de promedios para el Índice Profásico, muestra la existencia de nueve grupos estadísticamente homogéneos (TABLA 4), en los cuales el índice va aumentando en relación directa al aumento de la concentración y tiempo de exposición del látex de *Croton lechleri* interactuando con el Acetaminofeno Paracetamol®, en contraste a los tratamientos controles positivos (400ug/ml de Acetaminofeno Paracetamol®), en los cuales estarían disminuidos (FIGURA 5). Previamente se realizó el ANOVA anidada (ANEXO 6).

En la TABLA 5 y FIGURA 7 se muestran los diferentes grupos homogéneos, estadísticamente diferentes para el Índice Metafásico, es así que, T3 (control negativo con 36 horas de exposición) presenta el mayor promedio, 2.18 %; en contraste con el valor del control positivo ,0.27%(T15 : agua potable, 24 horas de exposición).

El análisis de comparación múltiple de promedios en el Índice Anafásico (TABLA 6 y FIGURA 8) posee el valor mínimo de 0.17% (T15: 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas de exposición) y el valor máximo de 1.16% en el control negativo (T3: agua potable a 36 horas de exposición).

Al observar la TABLA 7 y la FIGURA 9, del Índice Telofásico, se diferencia la existencia de siete grupos estadísticamente homogéneos entre los tratamientos; siendo el valor promedio más bajo de 0.21% en el control positivo (T15: 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición) , respecto al promedio de control negativo (T3: agua potable a 36 horas de exposición), que alcanzan el valor de 3.22% .

Tabla 2: Promedios de los Índices Mitótico, y de fases (%±D.E.) en células meristemáticas de *Allium cepa* “cebolla” expuestas a tratamientos de Acetaminofeno Paracetamol y látex de *Croton lechleri* “Sangre de Grado”.

TRATAMIENTOS	ÍNDICE	ÍNDICES DE FASES			
	MITÓTICO ±D.E.	PROFASE ±D.E.	METAFASE ±D.E.	ANAFASE ±D.E.	TELOFASE ±D.E.
T1	12.26±0.59	5.88±1.87	2.11±0.24	1.19±0.17	3.13±0.51
T2	12.57±1.18	5.95±0.07	2.15±0.05	1.18±0.11	3.29±0.62
T3	12.52±0.53	5.95±0.57	2.18±0.01	1.17±0.08	3.22±0.19
T4	2.81±0.39	1.32±0.60	0.46±0.17	0.28±0.03	0.75±0.03
T5	4.27±0.25	1.74±1.00	0.87±0.04	0.51±0.06	1.16±0.42
T6	5.42±0.32	2.23±0.77	1.09±0.17	0.58±0.08	1.52±0.40
T7	3.46±0.25	1.48 ±0.12	0.66±0.42	0.35±0.11	0.97±0.33
T8	7.76±0.71	3.41±0.66	1.46±0.13	0.69±0.16	1.72±0.84
T9	9.70±0.50	4.44±0.39	1.78±0.54	0.84±0.04	2.20±0.76
T10	3.89±0.26	1.81±0.23	0.72±0.03	0.36±0.09	1.00±0.47
T11	8.69±0.58	4.38±0.58	1.89±0.89	0.71±0.01	2.17±0.44
T12	9.29±0.77	4.51±0.28	2.00±0.09	0.86±0.03	2.41±0.82
T13	1.96±0.16	0.79±0.03	0.44±0.04	0.27±0.02	0.46±0.20
T14	1.77±0.29	0.84±0.07	0.41±0.09	0.25±0.01	0.28±0.07
T15	1.15±0.15	0.51±0.01	0.27±0.02	0.17±0.08	0.21±0.05

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1: Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2: Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3: Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7: 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8: 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9: 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13: Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14: Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15: Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

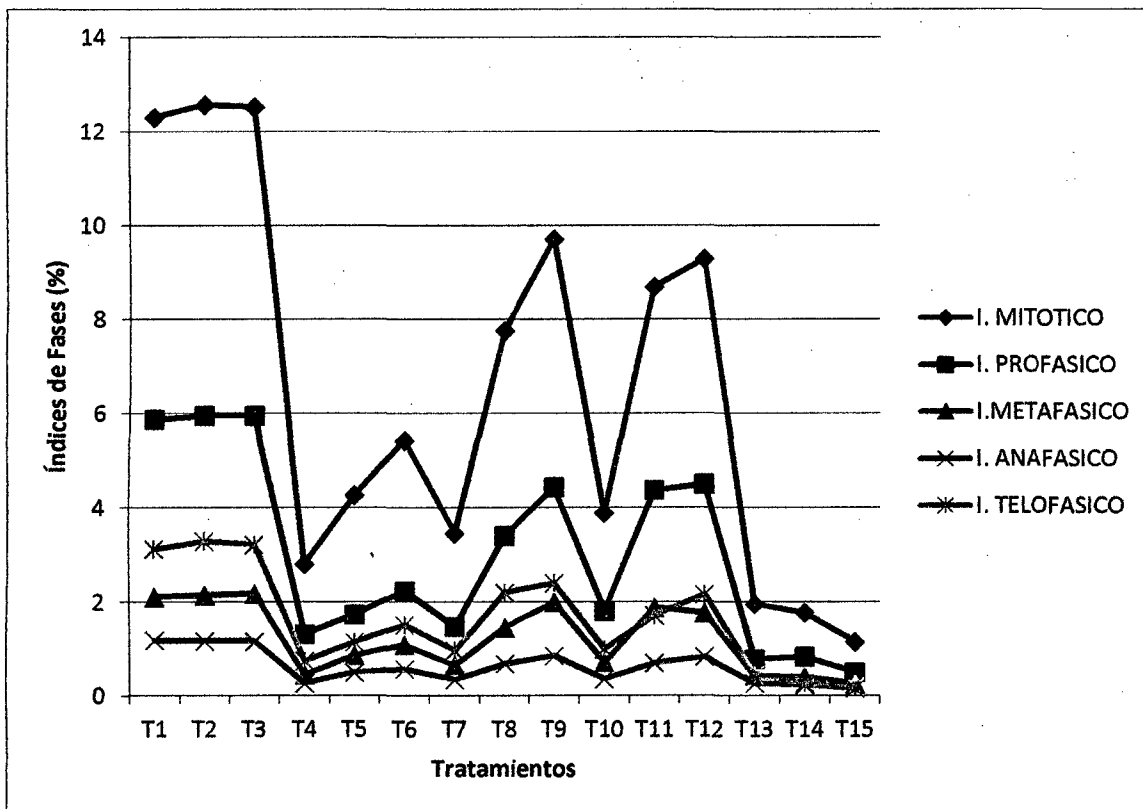


Figura 1: Índice mitótico y de fases de células meristemáticas de *Allium cepa* expuestas a tratamientos de Acetaminofeno Paracetamol y látex de *Croton lechleri* “Sangre de Grado”.

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

Tabla 3: Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Duncan ($p < 0.05$) de índices mitóticos en células meristemáticas de *Allium cepa* “cebolla”, expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
15	12	1.15833	X
14	12	1.77917	X
13	12	1.96333	X
4	12	2.8125	X
7	12	3.465	X
10	12	3.89417	X X
5	12	4.27333	X
6	12	5.4275	X
8	12	7.76417	X
11	12	8.69667	X
12	12	9.29083	X
9	12	9.70917	X
1	12	12.2643	X
3	12	12.525	X
2	12	12.5708	X

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

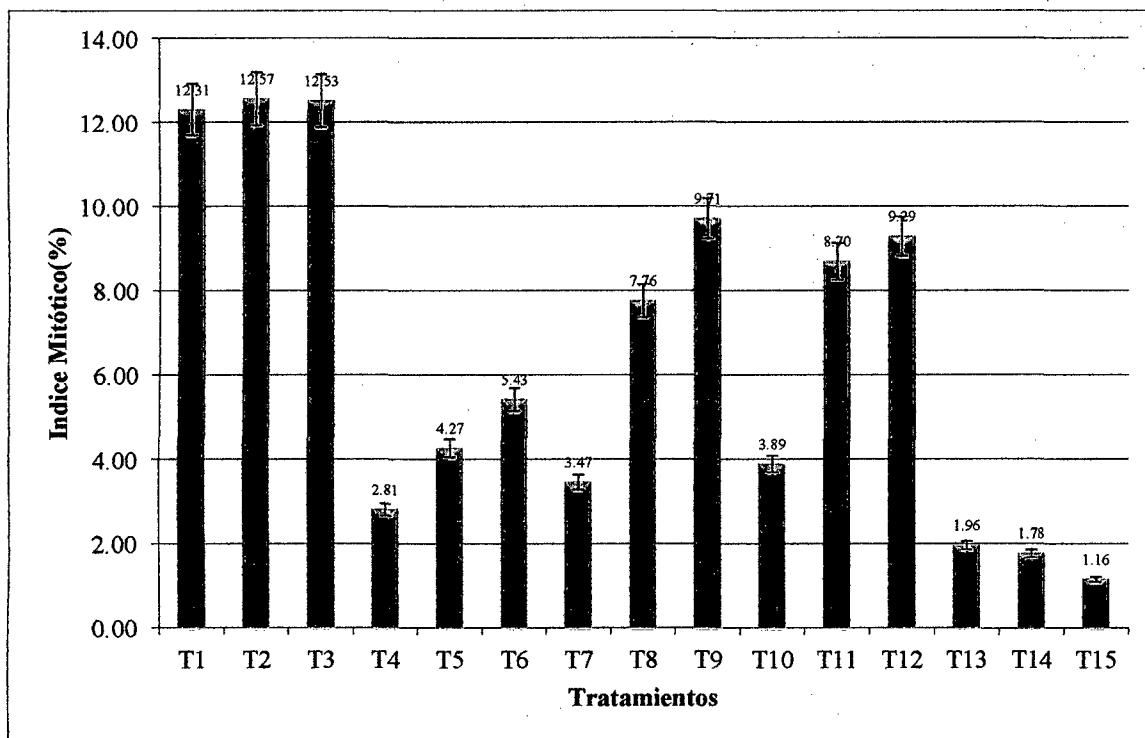


Figura 2: Promedios del Índice Mitótico (%) en meristemos radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

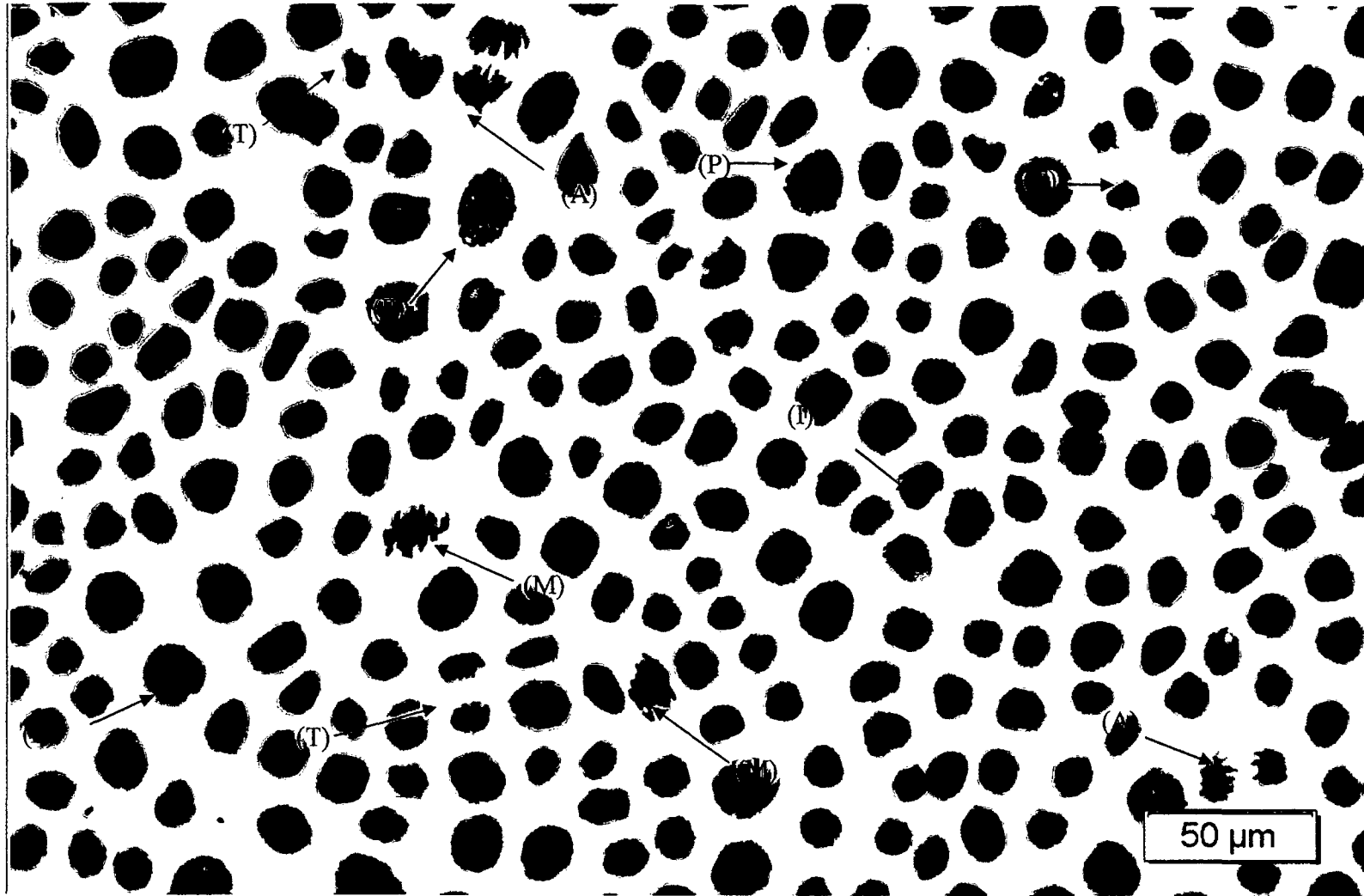


Figura 3: Fases del ciclo celular: (I) Interfase, (P) Profase, (M) Metafase, (A) Anafase, (T) Telofase, en células meristemáticas de ápices radiculares de *A. cepa* L. del control negativo.

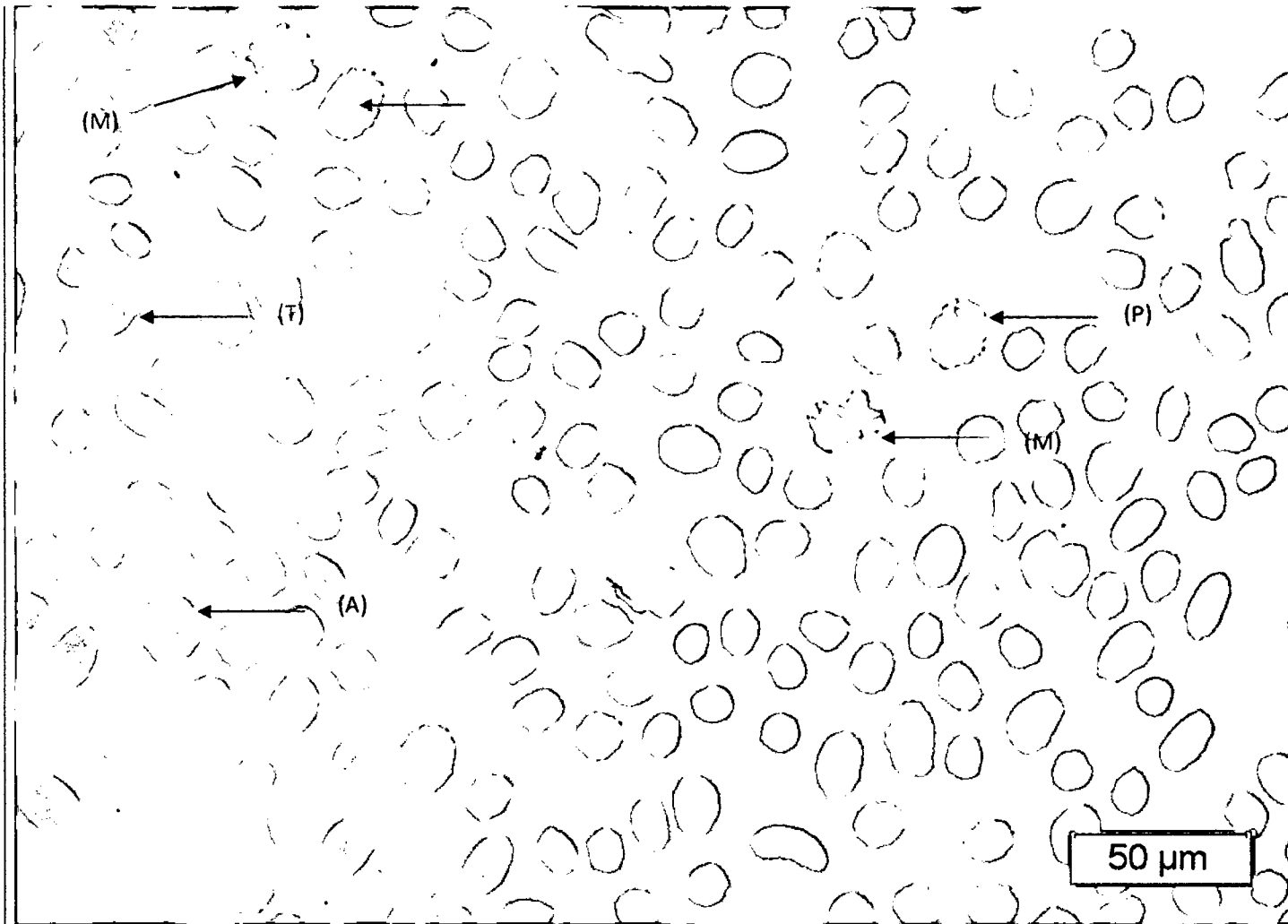


Figura 4: Fases del ciclo celular: (I) Interfase, (P) Profase, (M) Metafase, (A) Anafase, (T) Telofase en células meristemáticas de ápices radiculares de *A. cepa* *L.* expuestas a 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas.

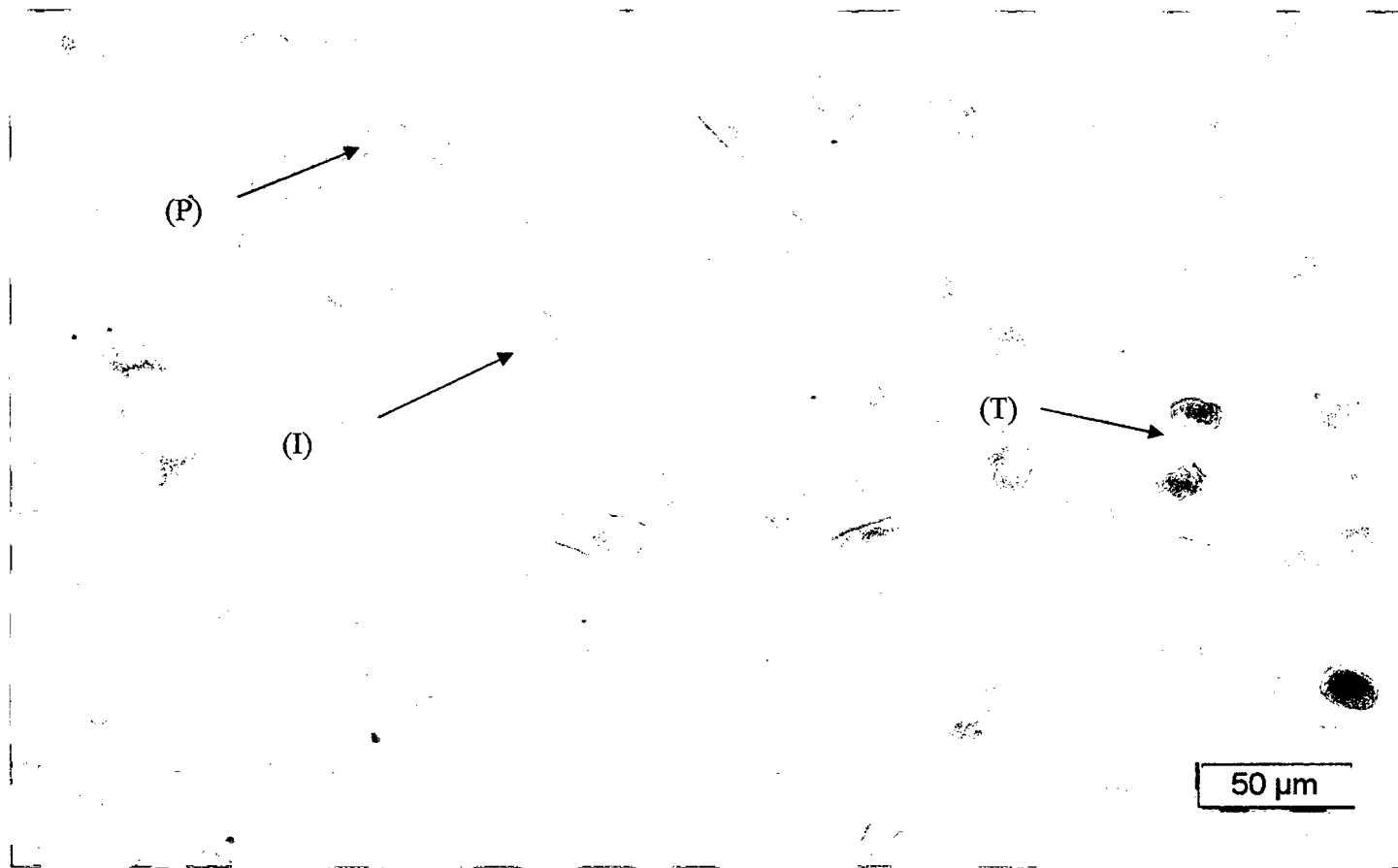


Figura 5: Fases del ciclo celular: (I) Interfase, (P) Profase, (T) Telofase en células meristemáticas de ápices radiculares de *A. cepa L.* expuestas a 400 µg/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas.

Tabla 4: Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Duncan ($p < 0.05$) de índices profásicos en células meristemáticas de *Allium cepa* “cebolla”, expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos		
15	12	0.5075	X		
13	12	0.7925		X	
14	12	0.840833		X	
4	12	1.32333			X
7	12	1.48167		X	X
5	12	1.74		X	X
10	12	1.80667			X
6	12	2.23417			X
8	12	3.40667			X
11	12	4.37583			X
9	12	4.4375			X
12	12	4.50583			X
1	12	5.87583			X
3	12	5.95333			X
2	12	5.95333			X

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

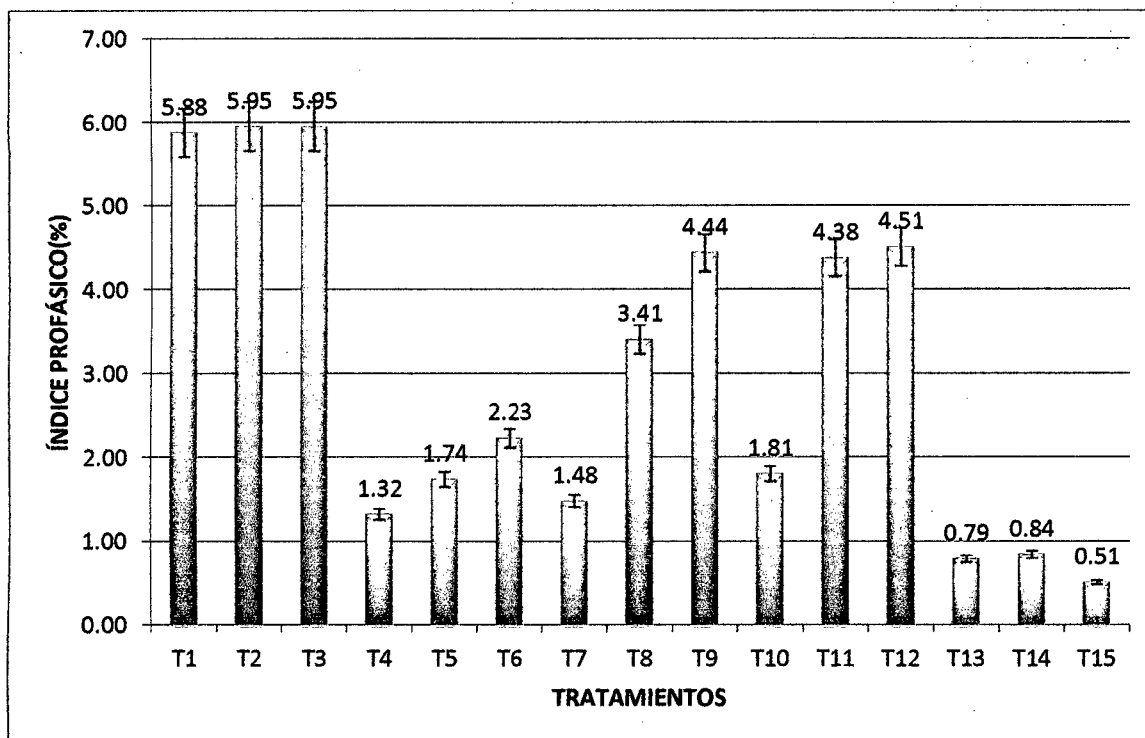


Figura 6: Promedios del Índice Profásico (%) en meristemos radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

Tabla 5: Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Duncan ($p < 0.05$) de índices metafásicos en células meristemáticas de *Allium cepa* “cebolla”, expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
15	12	0.269167	X
14	12	0.414167	X
13	12	0.439167	X X
4	12	0.459167	X X
7	12	0.656667	X X
10	12	0.72	X
5	12	0.87	X
6	12	1.09333	X
8	12	1.46333	X
9	12	1.775	X
11	12	1.8875	X X
12	12	2.00083	X X
1	12	2.10833	X X
2	12	2.14667	X
3	12	2.18	X

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

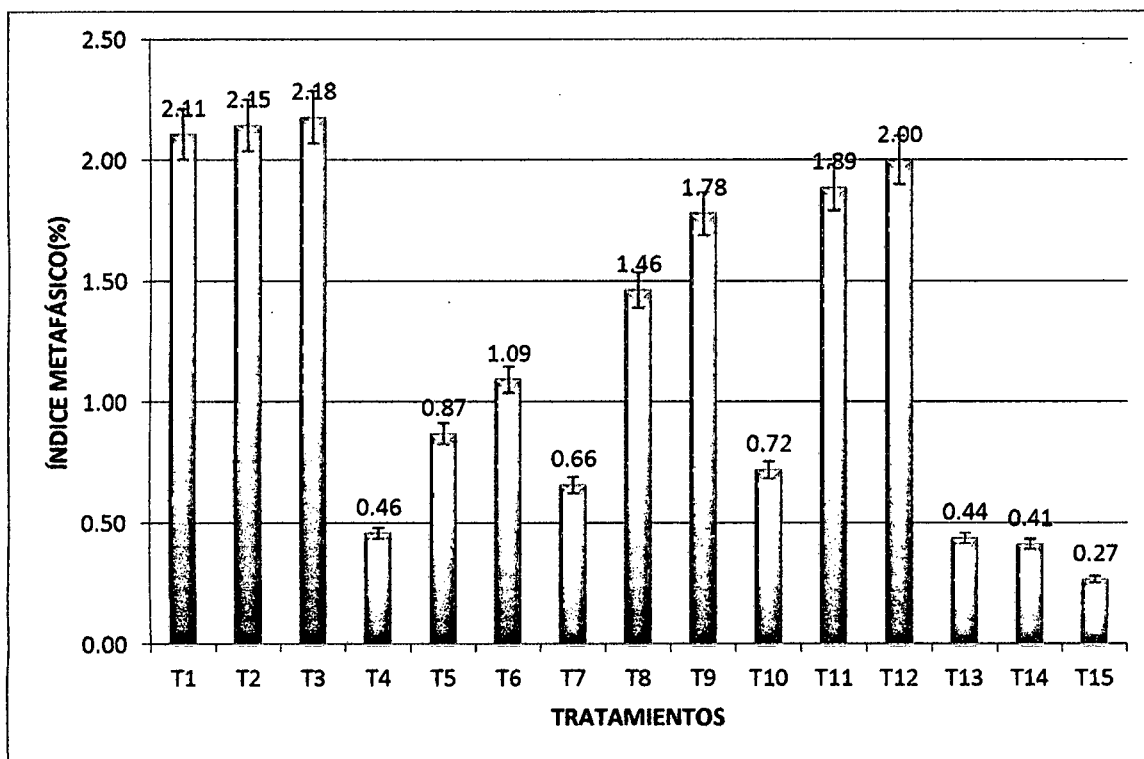


Figura 7: Promedios del Índice Metafásico (%) en meristemos radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

Tabla 6: Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Duncan ($p < 0.05$) de índices anafásicos en células meristemáticas de *Allium cepa* “cebolla”, expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
15	12	0.170833	X
14	12	0.245833	X X
13	12	0.275	X X
4	12	0.275	X X
7	12	0.353333	X
10	12	0.363333	X
5	12	0.5075	X
6	12	0.579167	X X
8	12	0.691667	X
11	12	0.709167	X
9	12	0.843333	X
12	12	0.860833	X
3	12	1.16667	X
2	12	1.1775	X
1	12	1.19	X

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

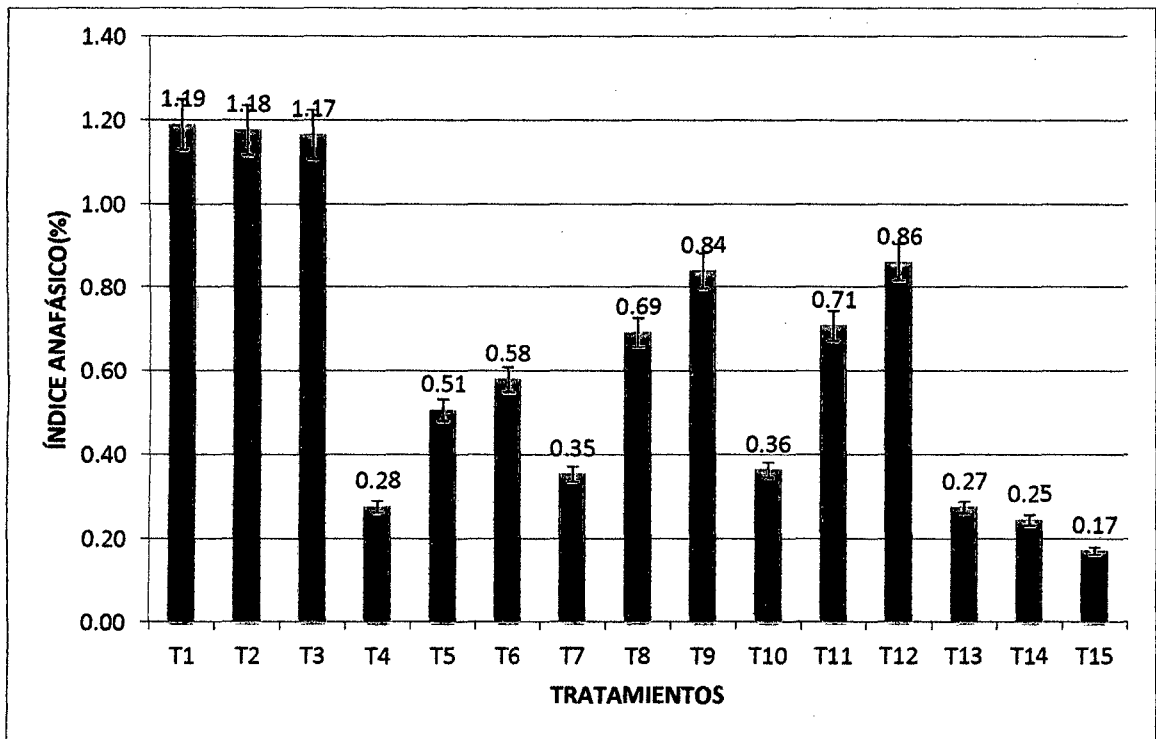


Figura 8: Promedios del Índice Anafásico (%) en meristemos radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.

Tabla 7: Análisis estadístico de comparación múltiple de promedios mediante la prueba de Duncan ($p < 0.05$) de índices telofásicos en células meristemáticas de *Allium cepa* “cebolla”, expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
15	12	0.2125	x
14	12	0.28	x
13	12	0.46	x x
4	12	0.7525	x x
7	12	0.9725	x x
10	12	1.00417	x x
5	12	1.15583	x
6	12	1.52	x
8	12	1.72333	x
11	12	2.16667	x
9	12	2.20083	x
12	12	2.4075	x
1	12	3.12833	x
3	12	3.22583	x
2	12	3.29333	x

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.



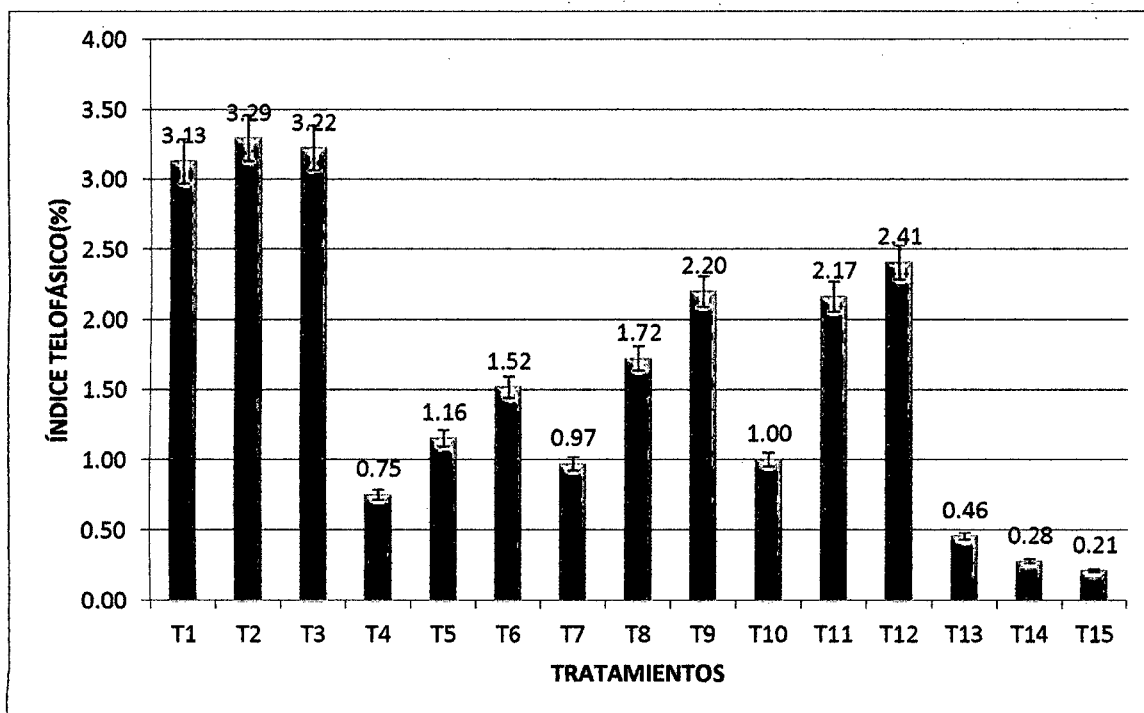


Figura 9: Promedios del Índice Telofásico (%) en meristemos radiculares de *A. cepa* L. expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

Leyenda de Tratamientos (según concentraciones y tiempos de exposición)

- T1:** Control negativo, agua potable filtrada, 12 horas
- T2:** Control negativo, agua potable filtrada, 24 horas
- T3:** Control negativo, agua potable filtrada, 36 horas
- T4:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T5:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T6:** 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T7:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T8:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T9:** 1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T10:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T11:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T12:** 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.
- T13:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 12 horas.
- T14:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 24 horas.
- T15:** Control positivo, 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol®, 36 horas.



DISCUSIÓN

Las células meristemáticas presentes en los ápices radiculares de *Allium 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 forma, el número de células que están 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^{32,33}.

Cada una de 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 huso, 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 fases³⁴.

Al evaluar los Índices Mitóticos (IM) hallados en células meristemáticas de los tratamientos control negativo que corresponde a 12.26% (T₁: agua potable, 12 horas de exposición), 12.57% (T₂: agua potable, 24 horas de exposición), 12.52% (T₃: agua potable, 36 horas de exposición) (TABLA 3 y FIGURA 2) no presentaron diferencias significativas entre sí, observándose que dichos valores se aproximan a lo reportado por Rosales (2011)³⁵.

La disminución significativa de los índices mitóticos en el control positivo hasta 1.96% (T13: 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 12 horas de exposición), 1.77% (T14: 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 24 horas de exposición) y 1.15 % (T15: 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición, FIGURA 5) con respecto a los controles negativos (TABLA 3 y FIGURA 2), demostraría la acción citotóxica del Acetaminofeno Paracetamol® en el ciclo celular de *A. cepa* L. Estos resultados coinciden con lo reportado por Bender , y col. (2004) y Córdova(2011); quienes demostraron la acción inhibitoria de Acetaminofeno paracetamol® sobre la actividad de la topoisomerasa II, evitando así que las células no pasen hacia los procesos de mitosis; ya que esta proteína evita el enrollamiento del ADN durante la fase S, generando una rotura transitoria de las dos cadenas del ADN, mediante la hidrólisis de ATP^{13,28,36}.

Asimismo, se ha demostrado que el Acetaminofeno Paracetamol® , estaría actuando a nivel del segundo punto de control en el ciclo celular(G2), lo que impediría la formación del complejo ciclina B-Cdk1, las cuales a su vez forman el Factor Promotor de la Mitosis(FPM), que permite el paso a través de este punto hacia el punto M, lo que traería como consecuencia que las células no transiten normalmente de la fase G2 hacia la mitosis, explicándose en la acumulación de células en interfase^{45,46}.

El incremento del Índice Mitótico en los tratamientos con látex de *Croton lechleri* y Acetaminofeno Paracetamol ® (TABLA 3 y FIGURA 2) a medida que fue aumentando el tiempo de exposición (9.29% , T12: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición) con respecto a los controles positivos (1.15%, T15: 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición) probablemente se debería a la presencia de ciertos compuestos alcaloides

antitumorales como la piridona, indol aporfina, quinoleina, tropanos, ácidos grasos insaturados, antraquinonas y triterpenos^{16,17}. Estos resultados se contrastan con los obtenidos por Rossi, los que obtuvieron una citotoxicidad en el tratamiento en que se trabajó solo con el látex de *C. lechleri*. Esto debido al sinergismo con el Acetaminofeno Paracetamol® que es un compuesto oxidante y el látex de *C. lechleri* es antioxidante, lo cual atenuaría el efecto del Acetaminofeno paracetamol® sobre las células meristemáticas de *A. cepa*; sin embargo se requerirían estudios de la acción directa de *Croton lechleri* sobre meristemas de *A. cepa* para determinar con mayor certeza el efecto^{19,20,21}.

El Índice Profásico muestra diferencias significativas mediante la formación de nueve grupos homogéneos (TABLA 4 y FIGURA 6). Esto evidenciaría, que los tratamientos de látex de *Croton lechleri* y Acetaminofeno paracetamol® presentarían efecto significativo sobre esta fase del ciclo celular, recuperando de este modo el Índice Profásico de 1.32% (T4: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 12 horas de exposición) hasta 4.50% (T12: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición), valor similar al del control negativo (5.95%, agua potable filtrada a 24 horas de exposición); lo cual se debería a que los componentes del látex de *Croton lechleri* estaría disminuyendo la acción oxidativa del Acetaminofeno Paracetamol®, por consiguiente se estarían recuperando los valores del índice profásico hasta obtener resultados muy similares a los del control negativo. Ello permitiría que el complejo Ciclina B- CDK 1, favorezca los procesos de condensación del material genético y su acción activadora de un grupo de proteínas conocidas como condensinas, encargadas del mantenimiento estructural de los

cromosomas, e inducción del ensamblaje del huso mitótico, que permite asegurar su unión a los cromosomas^{13, 38, 39}

Los ocho grupos estadísticamente homogéneos para el Índice Metafásico (TABLA 5 y FIGURA 7), muestran el aumento significativo de éste índice de 0.45% (T4: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 12 horas de exposición) hasta 2.00 % (T12: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición), que se debería a que el látex de *Croton lechleri* al interactuar con el Acetaminofeno Paracetamol®, estaría impidiendo el efecto oxidativo, favoreciendo de esta manera a los procesos regulados por el complejo Ciclina B- CDK1, que actúa sobre la formación de los centros de organización de microtúbulos (COMT) que inducen el ensamblaje del huso mitótico^{27,28,30,39,40,41}

Las diferencias significativas en el Índice Anafásico entre los tratamientos (TABLA 6 y FIGURA 8), muestran que el valor aumenta desde 0.27% (T4: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno Paracetamol® a 12 horas de exposición) hasta 0.86% (T12: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición), acercándose estos valores a los del control negativo(1.16% ,T3: agua potable, 36 horas de exposición) . Lo cual se podría explicar mediante la acción antioxidante de los componentes del látex, que estarían inhibiendo la acción oxidante del Acetaminofeno Paracetamol®, lo cual estarían permitiendo que se forme el complejo Promotor de la anafase (APC), y permitiría actividad catalítica de las cohesinas, generando así el desplazamiento de los cromosomas sobre los microtúbulos; y como consecuencia permitiendo q las células transiten desde anafase hacia telofase^{28,49}

De los resultados obtenidos a partir de los diferentes tratamientos para el Índice Telofásico (TABLA 7 y FIGURA 9) se observan siete grupos homogéneos estadísticamente diferentes. Los valores van aumentando desde 0.75% (T4: 0.1% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 12 horas de exposición) hasta 2.40% (T12: 2% de látex de *C. lechleri* con 400 ug/ml de Acetaminofeno paracetamol® a 36 horas de exposición). El aumento de este índice se debería a que los compuestos fenólicos del látex de *C. lechleri* al interactuar con el Acetaminofeno Paracetamol ® actuarían impidiendo su efecto oxidativo, favoreciendo los procesos de segregación de cromátidas, que ocurre en la telofase estaría aumentado en relación a la concentración y tiempo de ^{47, 48}.

CONCLUSIÓN

El látex de *Croton lechleri* tiene efecto protector del Índice Mitótico y de Fases en células meristemáticas de *Allium cepa* en sinergismo a la toxicidad de Acetaminofeno Paracetamol®.

El Acetaminofeno paracetamol® en concentración de 400ug/ml, produce efecto citotóxico sobre el ciclo celular de *Allium cepa* evidenciado por la disminución del índice mitótico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud. <http://www.minsa.gob.pe/>. Encontrado el 30 de noviembre del 2011.
2. Rosa H.; Prudente M.; Cardoso V. 1994. Paracetamol hepatic necrosis and its prevention by cholestyramine. *Arq. Gastroenterol*; 1994. 21(4): 164, 166.
3. Anon T. 2003. El paracetamol ingerido en exceso favorece episodios de asma y rinitis. *Escencia Odontol*. 2003. (105) :31.
4. Mahadevan S.; Mickiernan P. Nelly D. 2006. Paracetamol induced hepatotoxicity. *Arch Dis Chile*, 2006, 91 (7):598-603
5. Amesquita M. 2009. Genotoxicidad de tres concentraciones de Acetaminofeno paracetamol® en médula ósea de *Mesocricetus auratus*. Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias Biomédicas.
6. Hemant S.; Pooja C. 2005. Prevention of Acetaminophen-Induced Mitodepression with Myrobalan (Fruit of *Terminalia chebula*) in *Allium cepa* Model
7. Aganović-Musinović I.; Todić M.; Becić F.; Kusturica J. 2004 Citotoxicity evaluation of paracetamol applying *Allium* test . *Med Arh* 58(4):206-9 (2004)

8. Shoeb M. 2006. Anticancer agents from medicinal plants. *Bangladesh J Pharmacol* 2006; 1: 35-41
9. Cragg G.; Newman D.1997. *Drug Discovery and Development from Natural Products: The Way Forward.*
10. Donato A.1975. Efecto de la curcumia (*Curcuma longa*) sobre la peroxidacion inducida por paracetamol® en hepatocitos de ratas.
11. Raghvendra E.; Sathivel R. y Devki O. 2005. Efecto protectos de *Sargassum polycystum* (alga parda) contra la peroxidacion lipidica inducida por Acetaminofeno en ratas. *Phytother. Res* 2005; 19 113-5.
12. Denizo F.; Lang R. 1996. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modification to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Meth.* 1996. 99: 271-277.
13. Córdova E. 2011. Efecto del extracto hidroalcoholico de *Solanum pimpinellifolium* frente a la citotoxicidad del Acetaminofeno paracetamol® evaluado en el ciclo celular de *Allium cepa*.

14. Gonzales G.; Valerio L. 2006. Medicinal Plants from Peru: A Review of Plants as Potential Agents Against Cancer en *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2006.
15. Williams E. 2001. Review of Antiviral and Immunomodulating Properties of Plants of the Peruvian Rainforest with a Particular Emphasis on Uña de Gato and Sangre de Grado
16. Sandoval M. 2006. Capacidad antioxidante de la sangre de grado (*Croton palanostigma*) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. An Fac Med Lima 2006; 67(3)
17. Castillo A. , G. Domínguez .2010 . Evaluación de la producción de látex de sangre de grado (*Croton lechleri*) en función al diámetro y cuatro periodos de precipitación en poblaciones naturales de UCAYALI, PERÚ. Ecología Aplicada, 9(2), 2010
18. De Marino S.; Gala F.; Zollo F.; Vitalini S.; Fico G.; Visoli F. y Iorizzi M. 2008. Identification of Minor Secondary Metabolites from the Latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and Evaluation of Their Antioxidant Activity. Molecules 2008, 13, 1219-1229.

19. Rossi D. 2003. Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of *Croton lechleri* (Muell. Arg.) latex. *Phytomedicine*. 2003 Mar; 10(2-3): 139-44.
20. Gupta D., Bleakly B., Gupta R., 2007. Dragon's blood: Botany, Chemistry and therapeutic uses. *Journal of Ethnopharmacology* 115 (2008) 361-380.
21. Williams J. 2001. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian reainforest with a particular emphasis on uña de gato and Sangre de grado. *Alternative Medical Review*. Volumen 6, Number 6
22. Risco E, Ghia F, Vila R, Iglesias J, Alvarez E, Canigual S. 2003, Immunomodulatory activity and chemical characterisation of sangre de drago (dragon's blood) from *Croton lechleri*. *Plant med* 2003 Sep; 69(9): 785-94
23. Ayala s., Jurupe H., Diaz D. , Lock O. 2001. Efecto protector de látex desecado y fracción alcaloidea de *Croton palanostigma* frente a injuria de mucosa gástrica inducida por etanol en ratas. *ISSN 1025 – 5583, Vol. 62, N° 4 – 2001*
24. Pastor S. 2002. Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas expuestas a plaguicidas mediante el ensayo de micronúcleos. Tesis para optar el Grado de Doctor en Biología.
25. Silva, J.; Erdtmann, B.; Henriques, J. 2003. *Genética Toxicología*. Primera edición. Editorial Alcance. Porto Alegre. 422p.

26. Fistejo, G. 1985. The *Allium* test as Standard in environmental Monitoring; Hereditas; 102: 99 – 102p
27. Mitchison , T.J.; Kirshner, M.W. 1999. Dinamic instability of microtubule growth. Nature 312.237- 242.
28. Alberts, B.; Jonson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. 2004. Biología Molecular de la Célula. 4^{ta} Edición. Ediciones Omega S.A.
29. Andrioli N.; Wulff A.; Mudry M. 2006; *Allium cepa* como bioindicador de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol; Theoria, Vol. 15 (2): 9-16, 2006
30. De La Torre, C.; garcía, Q. Aceleración y frenado de la proliferación Celular. 2005. Anal. Real Acad. Nac. Farm., Vol. 71: 535-569
31. Tjio J.; Levan A. The use of Oxiquinoline in chromosome analysis. Analysis. Ann. Estac. Exptl. Aula Dei. 2:21-64p. 1950
32. Díaz, B. M.; Ronco, A.; Pica, G. Y.; Ensayo de toxicidad aguda con *Alliumcepa L.* mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla; Rev. Med. Vallejana; Perú; 2007; 4 (1).
33. Vesna, S.; Stegnar, P.; Locka, M.; Toman, M. J.; The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure; Mutat. Res.; 1996; 368,171 – 179p.

34. Talledo, D., Carola, E. El ciclo celular en vegetales; 1995, 2:13-31 p
35. Rosales, V. Efecto del extracto etanólico de hojas de *Annona cherimola* “chirimoya” a diferentes concentraciones y tiempos de exposición sobre el ciclo celular en meristemas radiculares en *Allium cepa* L. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo, 2011.
36. Bender, R., Lindsey, R., Burden, D., Osheroff, N. N-acetyl-P-benzoquinone imine, the toxic metabolite of acetaminophen, is a topoisomerase II poison, *Biochemistry*. 2004. 30:3731-9
37. Quispe, J. Efecto del Sorbato de potasio a diferentes concentraciones y tiempos de exposición sobre el ciclo celular y el material genético en meristemas radiculares de *Allium cepa* L. “cebolla”. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo, 2009.
38. Verde, T. Efecto del extracto acuoso de *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones y tiempos de exposición sobre el ciclo celular de *Allium cepa*. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo, 2009.
39. Dayan, F., Hernandez, A. , Allen, S., Moraes, R. y Vroman J. 1999. Comparative phytotoxicity of artemisinin and several sesquiterpene analogues. *Phytochemistry*. Vol. Nº 50, 607-614.

40. García, G., Fernandez, M., Hidalgo, J., López S, F. 2000. Effects of protein síntesis inhibition durimng plant mitosis. Exp. Cell Res. 89: 336- 342.
41. Aller, A., De La Torre, C. 1992. The involvement of discrete genome regions in post – mitotic chromosome decondensation in G1 timing in *Allium cepa L.* meristematic cells. Journal of Cell Science 103: 1047-1051.
42. Montgomery, R. 2005. Diseños y análisis de experimentos. 2da edición. Editorial LIMUSA WILLEY. Capítulo 13 pag. 557-590.
43. Vicente, M. 2005. Diseño de experimentos soluciones con SAS y SPSS. 1° Edición. Editorial Pearson Prentice Hill. Capítulo 4 pag. 207-225.
44. Milton, S. 2007. Estadística para Biología y Ciencias de la Salud. 3° Edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. Capítulo 10 pag. 340.
45. Bulku E, Stohs SJ, Cicero L, Brooks T, Halley H, Ray SD. 2012. Curcumin exposure modulates multiple pro-apoptotic and anti-apoptotic signaling pathways to antagonize acetaminophen-induced toxicity. Curr Neurovasc Res. 2012 Feb 1;9(1):58-71.
46. Baravalia Y, Chanda S. 2011. Protective effect of *Woodfordia fruticosa* flowers against acetaminophen-induced hepatic toxicity in rats. Pharm Biol. 2011 Aug;49(8):826-32. Epub 2011 Apr 18.

47. Hidalgo, J.; López Sáez, J.F. Effects of protein síntesis inhibition durimng plant mitosis; Cell Res; 2000; 89:336- 342p.

48. Murria, A.; Kirschner, M. Control del ciclo celular; Investigación y Ciencia.; 1991; N^o 176

49. Murakami, H.; Nurse, P. DNA replication and damage checkpoints and meiotic cell cycle controls in the fission and budding yeast; Biochem; 2000; 349:1-12p.

ANEXOS

ANEXO 1



Figura 9: Enraizamiento y preparación de sistemas. (A) Cebollas compradas en el mercado “La Unión”. (B) Extracción de catáfilas y raicillas muertas. (C) Colocación de palitos mondadientes en el bulbo. (D) y (E) Llenado de agua hasta el disco germinativo, ordenar los bulbos de *Allium cepa* en un lugar oscuro. (F) Selección de 45 bulbos de *Allium cepa* con las raicillas de tamaño homogéneo. (G) y (H) Moler y pesar las el Acetaminofeno Paracetamol®. (I) Preparación de tratamientos, y colocarlos en un lugar oscuro hasta que sea el tiempo de corte.

ANEXO 2

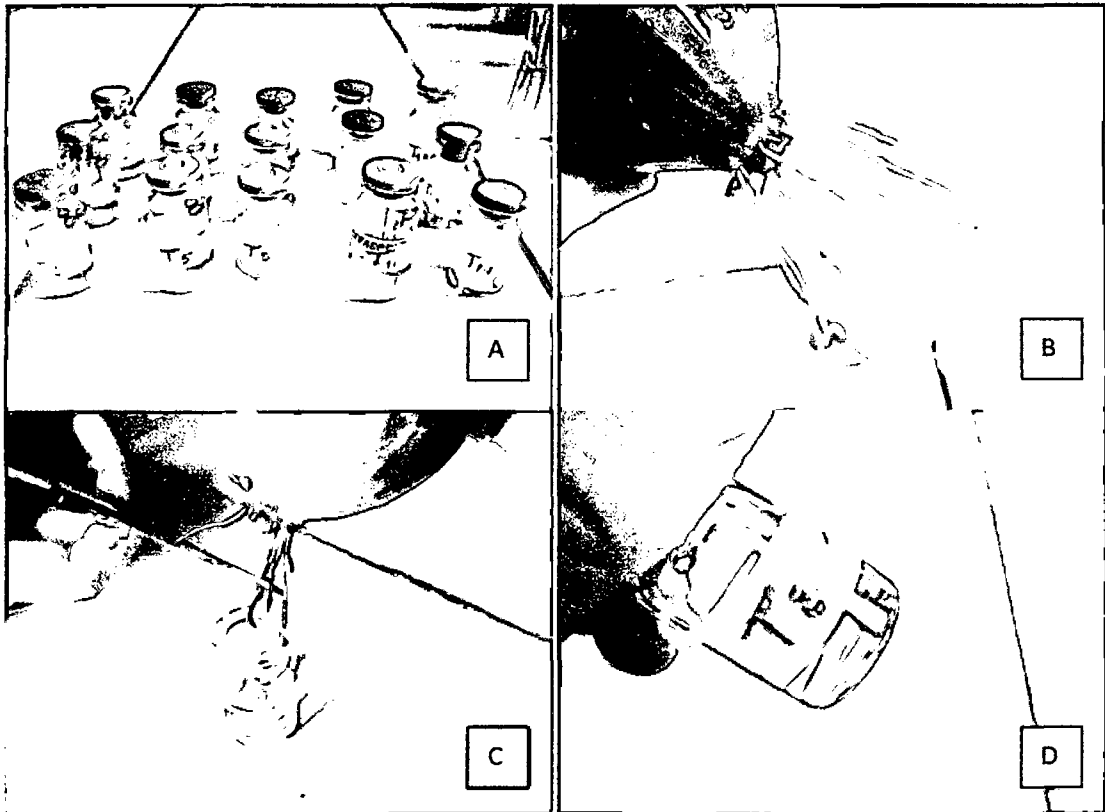


Figura 10: Fijación de las raicillas (A) Agregar Solución de Carnoy's, en los frasquitos de penicilina y rotularlos. (B) y (C) Corte de las raicillas de *Allium cepa*. (D) Conservación en solución Carnoy's de raicillas de *Allium cepa* hasta que sean coloreadas

ANEXO 3

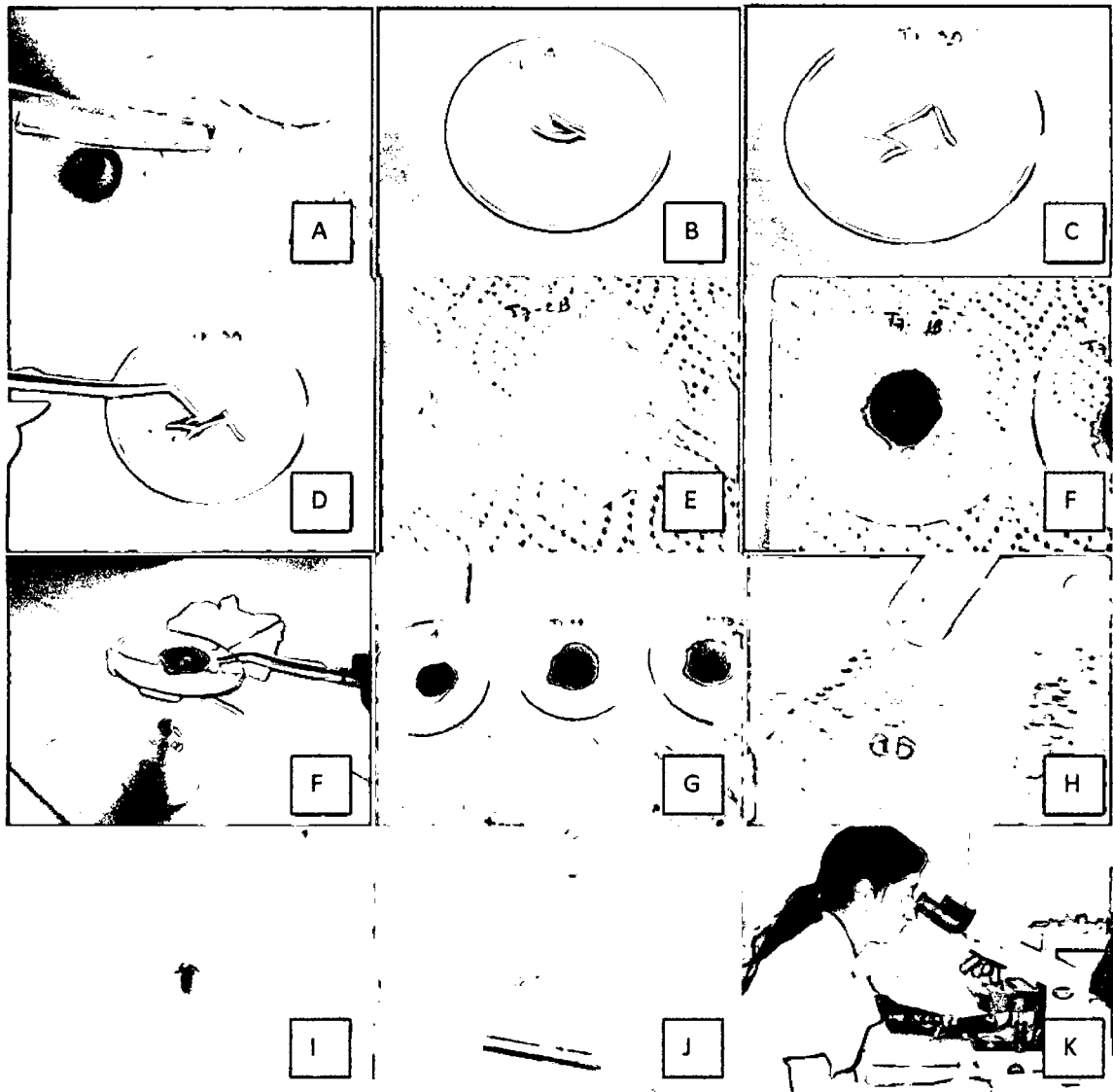


Figura 11: Coloración Tjio y Levan. (A) Selección de raicillas de *Allium cepa* a colorear. (B) Colocar de las raicillas de *Allium cepa* sobre una luna de reloj. (C), (D), (E) Lavar las raicillas de *Allium cepa* 3 veces con agua destilada, y secarlas. (F) Agregar 9 gotas de Orceína Acética 2% y 1 gota de HCl 1N. (F) Prueba de los 3 humos. (G) Dejar reposar 45 minutos. (H) Sobre las laminas portaobjetos, colocar gelatina fenicada. (I) Disección de los ápices de las raicillas de *Allium cepa*. (J) Técnica del squash. (K) Observación al microscopio.

ANEXO 4

FORMULA PARA DETERMINAR EL INDICE MITOTICO

(Según Tjio y Levan, 1950)

$$IM = \frac{NCM}{NTC} \times 100$$

Donde:

IM= Índice Mitótico.

NCM=Número de Células en Mitosis.

NTC=Número Total de Células Observadas.

FORMULA PARA DETERMINAR EL INDICE DE FASES

(Según Tjio y Levan, 1950)

$$IF = \frac{A}{B} \times 100$$

Donde:

IF= Índice de Fase.

A=Número de Células de la fase respectiva.

B=Número Total de Células en mitosis.

ANEXO 5

Tabla 8: Análisis ANOVA anidado del Índice Mitótico en meristemos radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol ®.

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamientos	14	2862.1276	204.4377	1893.273	0.000
Bulbos	30	3.2394	0.1080	0.332	1.000
Error	135	43.9679	0.3257		
Total	179	2909.3349			

ANEXO 6

Tabla 9: Análisis ANOVA anidado del Índice Profásico en meristemas radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol ®.

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamiento	14	1630.3586	116.4542	2.673	0.012
Bulbos	30	1307.2226	43.5741	1.247	0.198
Error	135	4718.4132	34.9512		
Total	179	7655.9944			

ANEXO 7

Tabla 10: Análisis ANOVA anidado del Índice Metafásico en meristemas radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol®.

Fuente	GL	SC	MC	F	P
TRATAMIENTOS	14	886.8635	63.3474	5.037	0.000
BULBOS	30	377.3084	12.5769	0.805	0.751
Error	135	2108.0286	15.6150		
Total	179	3372.2005			

ANEXO 8

Tabla 11: Análisis ANOVA anidado del Índice Anafásico en meristemas radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol ®.

Fuente	GL	SC	MC	F	P
TRATAMIENTOS	14	783.8808	55.9915	4.944	0.000
BULBOS	30	339.7533	11.3251	1.662	0.027
Error	135	919.8465	6.8137		
Total	179	2043.4805			

ANEXO 9

Tabla 12: Análisis ANOVA anidado del Índice Anafásico en meristemas radiculares de *A. cepa L.* expuestas a tratamientos con látex de *Croton lechleri* “sangre de grado” y Acetaminofeno Paracetamol ®.

Fuente	GL	SC	MC	F	P
TRATAMIENTOS	14	2319.1317	165.6523	7.435	0.000
BULBOS	30	668.4320	22.2811	1.044	0.416
Error	135	2879.8711	21.3324		
Total	179	5867.4348			