

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**EFFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ACUOSO DE
HOJAS Y FLORES DE *Brassica rapa* L. EN EL CICLO CELULAR DE
MERISTEMOS RADICULARES DE *Allium sativum* L.**

PRESENTADO POR:

Br. DENISI FABIOLA MAMANI QUISPE

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



EFEECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ACUOSO DE
HOJAS Y FLORES DE *Brassica rapa* L. EN EL CICLO CELULAR DE
MERISTEMOS RADICULARES DE *Allium sativum* L.

TESIS

PRESENTADO POR:

Br. DENISI FABIOLA MAMANI QUISPE

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR:

PRESIDENTE

.....
Mg. MARTHA ELIZABETH APARICIO SAAVEDRA

PRIMER MIEMBRO

.....
M. Sc. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS

SEGUNDO MIEMBRO

.....
M. Sc. MARIA ELENA SUAÑA QUISPE

DIRECTOR / ASESOR

.....
Dr. Sc. JUAN JOSÉ PAURO ROQUE

Fecha de sustentación: 27 / 12 / 2017.

Área: CIENCIAS BIOMÉDICAS

Sub línea: BIOTECNOLOGÍA VEGETAL, AMBIENTAL Y HUMANA

Tema: BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi familia quienes por ellos soy lo que soy.

Para mis padres a José Benito y a Rufina por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

A mi amado esposo Jhonn por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar. A mi hijo Hans Mackley quien ha sido y es una mi motivación, inspiración y felicidad.

Denisi Fabiola Mamani Quispe

AGRADECIMIENTO

- A la primera casa superior de estudios, la Universidad Nacional del Altiplano y a la Facultad de Ciencias Biológicas, por acogerme y brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente.
- A los docentes de la Escuela Profesional de Biología, que con su conocimiento y enseñanza contribuyeron en mi formación académica.
- Agradezco de manera muy especial a mi director de tesis, Dr. Juan José Pauro Roque, quien dirigió esta tesis e hizo posible su culminación, por su motivación y su apoyo intelectual.
- Al presidente del jurado calificador de esta tesis Mcs. Martha Elizabeth Aparicio Saavedra y a los dos miembros de jurado, M.Sc. Vicky Cristina Gonzales Alcos y M.Sc. Maria Elena Suaña Quispe, por la disponibilidad, valiosas ideas y sugerencias durante las revisiones, correcciones del proyecto de investigación y dictamen del borrador de tesis.
- Al Dr. Francisco A. Lajo Soto, por facilitarme el uso del Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Manuel Núñez Butron.
- Al Dr. Buenaventura Carpio Vasquez Jefe del Laboratorio de Zoología Aplicada de la FCCBB, por brindarme las facilidades necesarias para realizar este trabajo.
- A mis amigos, quienes me ayudaron en la realización de este trabajo.
- A todas las personas que contribuyeron en alguna manera, me brindaron ideas y consejos para que se culmine mi proyecto de investigación.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	11
ABSTRACT.....	12
I. INTRODUCCIÓN.....	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1 ANTECEDENTES	15
2.2 MARCO TEÓRICO.....	19
2.2.1 El ciclo celular	19
2.2.2 Fases del ciclo celular	20
2.2.3 Factor promotor de la fase M (FPM)	21
2.2.4 Regulación del ciclo celular	21
2.2.5 Vías de señalización involucradas en la regulación del ciclo celular	22
2.2.6 Duración del ciclo celular	22
2.2.7 Ciclinas y Quinasa dependientes de ciclinas	23
2.2.8 Factor transcripcional E2F	24
2.2.9 Genes regulados por E2f que participan en el ciclo celular	26
2.2.10 Las plantas como fuente de compuestos antineoplásicos	28
2.2.11 Nabo silvestre (<i>Brassica rapa</i> L.)	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1 TIPO DE ESTUDIO.	31
3.2 LUGARES DE MUESTREO.	31
3.3 TAMAÑO DE MUESTRA.....	31
3.4 DETERMINACIÓN DE LA FITOQUÍMICA CUALITATIVA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS HOJAS Y FLORES DE LA <i>Brassica Rapa</i> L.....	31
3.5 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>Brassica rapa</i> L. SOBRE EL CICLO CELULAR DE MERISTEMOS RADICULARES <i>Allium sativum</i> L.	34
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1 COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA CUALITATIVA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE HOJAS Y FLORES DE MOSTAZA	37
4.2 EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>Brassica rapa</i> L. SOBRE EL CICLO CELULAR DE MERISTEMOS RADICULARES DEL AJO	42



V. CONCLUSIONES	47
VI. RECOMENDACIONES.....	48
VII. REFERENCIAS	49
ANEXOS	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. (A) Fases del ciclo celular y (B) puntos de control de cada fase (Garza <i>et al.</i> , 2014).....	19
Figura 2. Regulación del ciclo celular, en el que los procesos básicos tales como la replicación del DNA, la mitosis y la citocinesis se ponen en marcha mediante un sistema de control central del ciclo celular (Lomanto <i>et al.</i> , 2003).....	22
Figura 3. Organización estructural y propiedades de la familia de E2F en <i>Arabidopsis</i> (Trimarchi & Lees, 2002).....	25
Figura 4. Modelo propuesto para la regulación de la transición G1-S del ciclo celular en plantas (Colli <i>et al.</i> , 2007).....	27
Figura 5. Planta de nabo silvestre (<i>Brassica rapa</i>), recolectado en el centro poblado de Jayllihuaya – Puno, febrero a marzo del 2017.....	34
Figura 6. Partes del bulbo de ajo, sus raíces y la ubicación del ápice radicular.	35
Figura 7. Comparación del contenido de metabolitos secundarios en infusiones de mostaza, gabinete de Zoología, FCCBB, UNA Puno, agosto del 2017.	38
Figura 8. Regresión lineal del porcentaje de células bimitóticas, durante la B-interfase, luego de la aplicación de extractos acuosos de hojas de mostaza (a control, b 30%, c 50% y d 100%), laboratorio de Microbiología, agosto 2017.	44
Figura 9. Recolección de plantas de nabo silvestre (<i>Brassica rapa</i>), recolectado en el centro poblado de Jayllihuaya - Puno, febrero a marzo del 2017.....	54
Figura 10. Secado de muestras de flores y hojas de nabo silvestre, gabinete de Zoología, FCCBB, UNA Puno, marzo del 2017.	54
Figura 11. Pesado de muestra vegetal molida de hojas y flores de nabo silvestre, abril del 2017.	54
Figura 12. Obtención de extractos acuosos de hojas y flores de nabo silvestre, gabinete de Zoología, abril a mayo del 2017.....	55
Figura 13. Evaluación fitoquímica de los extractos acuosos de hojas y flores de nabo silvestre, gabinete de Zoología, FCCBB, UNA Puno, mayo del 2017.	55
Figura 14. Preparación de extractos acuosos de nabo silvestre, gabinete de Zoología, FCCBB – UNA Puno, mayo del 2017.	55

Figura 15. Tinción de células de las raíces del ajo, laboratorio de Patología Clínica del hospital Regional Manuel Núñez Butrón, junio a julio del 2017.	56
Figura 16. Observación de células de la cofia de las raíces de ajo, laboratorio de Patología Clínica del hospital Regional Manuel Núñez Butrón, julio del 2017.	56
Figura 17. Células de la cofia de las raíces de ajo, laboratorio de Patología Clínica del hospital Regional Manuel Núñez Butrón, julio del 2017.	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diferentes nombres que reciben las proteínas de control por especies para el FPM (Ramírez <i>et al.</i> , 2003).	21
Tabla 2. Duración del ciclo celular (Garza <i>et al.</i> , 2014).....	23
Tabla 3. Lectura y rangos de intensidad de contenido de metabolitos secundarios vegetales (Medina, 1997).....	34
Tabla 4. Intensidad de contenido de metabolitos secundarios, en infusiones de <i>Brassica rapa</i> L., realizado en el gabinete de Zoología, FCCBB – UNA Puno, durante febrero (feb) y abril (abr) del 2017 (n = 3).	37
Tabla 5. Células bimitóticas (%), durante la B-interfase luego de la aplicación de extractos acuosos de hojas de mostaza, laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón, agosto 2017.	42

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

% = porcentaje

% inhibición = porcentaje de inhibición

≤ = menor o igual

° C = grados centígrados

µg = microgramos

ATCC = American Type Culture Collection

CMI = concentración mínima inhibitoria

CS = Citrato Simmons

EMB = Eosin Metil Blue

et al. = y colaboradores

FCCBB = Facultad de Ciencias Biológicas

g = gramos

ITU = infecciones del tracto urinario

LIA = Lisina hierro agar

mL = mililitro

mm = milímetros

MS = Manitol Salado

n = tamaño de muestra

NCCLS = National Committee for Clinical Laboratory Standards

No = número

R1, R2 y R3 = repeticiones 1, 2 y 3

spp = especies

TSI = Triple azúcar hierro

UNA – Puno = Universidad Nacional del Altiplano de Puno

Φ = diámetro

RESUMEN

Los objetivos de la investigación fueron: a) determinar la composición fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles, taninos y carbohidratos presentes en los extractos acuosos de las hojas y flores de la mostaza (*Brassica rapa* L.) y b) determinar el efecto del extracto de *Brassica rapa* L. a concentraciones de 1%, 30%, 50% y 100% sobre el ciclo celular de meristemas radiculares del ajo (*Allium sativum* L.). los métodos que se realizaron , constaron en la obtención de extractos acuosos al 1% 30%, 50% y 100% de hojas y flores de la mostaza, que se obtuvieron en estado de infusión en un litro de agua; en el análisis fitoquímico cualitativo se aplicó el método colorimétrico para la determinación de alcaloides, fenoles, taninos y carbohidratos; los efectos de extracto acuoso sobre el ciclo celular de los meristemas, las raíces del ajo (*Allium sativum* L.), fueron fijados en Carnoy, luego se realizó un análisis citológico, mediante la determinación de los índices mitóticos y de las fases mitóticas; resultados fueron analizados mediante pruebas de regresión lineal y correlación de Pearson, con un nivel de confiabilidad del 95%. Los resultados fueron: que los extractos acuosos de hojas de mostaza se caracterizan por poseer el mayor contenido de alcaloides, fenoles, taninos y azúcares reductores, con respecto a las flores, asimismo, se determinó que el índice mitótico disminuyó mientras aumentaba las concentraciones del extracto, lográndose la prolongación del ciclo celular en 51 y 92 minutos con las concentraciones de 50 y 100% de hojas de mostaza, con respeto al tratamiento control.

Palabras clave: *Allium sativum*, *Brassica rapa*, ciclo celular, extracto acuoso, raíz meristemas.

ABSTRACT

The objectives of the research were: a) to determine the qualitative phytochemical composition of alkaloids, phenols, tannins and carbohydrates present in the aqueous extracts of the leaves and flowers of mustard (*Brassica rapa* L.) and b) to determine the effect of extract *Brassica rapa* L. at concentrations of 30%, 50% and 100% on the cell cycle of garlic radicle meristems (*Allium sativum* L.). The methods to be carried out consisted in obtaining aqueous extracts at 30%, 50% and 100% of leaves and flowers of the mustard, which will be obtained in the boiling state of 10 g and 50 g in a liter of water; in the qualitative phytochemical analysis the colorimetric method was applied for the determination of alkaloids, phenols, tannins and carbohydrates; the effects of aqueous extract on the cell cycle of the meristems, the roots of garlic (*Allium sativum* L.), were fixed in Carnoy, then a cytological analysis was carried out, by means of the determination of the mitotic indexes and the mitotic phases; the results were analyzed by analysis of variance tests and T tests, with a level of reliability of 95%. The results were: that the aqueous extracts of mustard leaves are characterized by having the highest content of alkaloids, phenols, tannins and reducing sugars, with respect to flowers, likewise, it was determined that the mitotic index decreased while increasing the concentrations of the extract, reaching the extension of the cell cycle in 51 and 92 minutes with concentrations of 50 and 100% of mustard leaves, with respect to the control treatment.

Key words: *Allium sativum*, aqueous extract, *Brassica rapa*, cell cycle, meristems, root.

I. INTRODUCCIÓN

En la ciudad de Puno, se expenden una gran variedad de plantas medicinales que proceden de las zonas altas de la región Puno, así como también de su selva, entre acuáticas y terrestres. Los expendedores de plantas medicinales, otorgan empíricamente ciertas propiedades medicinales como las de ser anticancerígenas, entre ellas las citaban a la mostaza (*Brassica rapa* L.), la cual no es creído por la población ya que carecen de estudios científicos que demuestren ello.

El uso de extractos vegetales en lugar de fármacos químicos sintéticos se ha aumentado progresivamente en el tratamiento de enfermedades (Ruenes, 2002), entre estos extractos se encuentran la mostaza (*Brassica rapa* L.), una planta silvestre que crece libremente en los campos de cultivo de papa y cebada, pero muchas personas dedicadas a tratar a las enfermedades como lo son los curanderos, aducen tener propiedades anticancerígenas (Bermúdez *et al.*, 2005), que en términos científicos de Biología Celular, se entiende como la disminución del tiempo que dura el ciclo celular el cual incluye la interfase con sus subfases tales como la G1, S y G2 y la mitosis propiamente dicha, debido a que estas plantas probablemente poseerían sustancias fitoquímicas con actividad antioxidante (Liu, 2004), en tal sentido son consideradas entre los alimentos anticancerígenos por su abundantes antioxidantes (Amri, 2014).

Por tales razones, se plantea la realización de este trabajo de investigación, con la finalidad de deslindar si tiene o no los extractos acuosos de la mostaza (*Brassica rapa* L.) algún efecto en el normal desarrollo del ciclo de las células con respecto a su división celular, ya que, si en caso lo disminuye o retarda, estaríamos ante un potencial complejo activo de origen vegetal con propiedades anticancerígenas y se tendrían que desarrollar estudios muy minuciosos de sus compuestos fotoquímicas en posteriores investigaciones, radicando ahí lo valioso de realizar este tipo de investigaciones. Por tal razón esta investigación tuvo los siguientes objetivos:

1.1 Objetivo General

Determinar el Efecto del extracto acuoso de *Brassica rapa L.* a diferentes concentraciones sobre el ciclo celular en meristemas radiculares de *Allium sativum*.

1.2 Objetivos Específicos

- a. Determinar la composición fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles, taninos y carbohidratos presentes en los extractos acuosos de las hojas y flores de la mostaza (*Brassica rapa L.*).
- b. Determinar el efecto del extracto acuoso de *Brassica rapa L.* a concentraciones de 30, 50 y 100% sobre el ciclo celular de meristemas radiculares del ajo (*Allium sativum L.*).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

El 60% de los medicamentos usados actualmente para el tratamiento del cáncer fueron aislados a partir de alcaloides de la vinca, los taxanos, los alcaloides derivados de la camptotecina y los lignanos derivados de epipodofilotoxina (Lomanto *et al.*, 2003), por tanto, se requieren de estudios para determinar su eficacia en el tratamiento del cáncer en seres humanos, frente a ello se viene realizando evaluaciones en ensayos clínicos (Llopart, 2016), en China es el caso del género *Gnaphalium*, que pertenecen a la familia Asteraceae y posee flavonoides, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, fitosteroles, antraquinonas, derivados de ácidos cafeoilquínicos, entre otros compuestos, atribuyéndoles propiedades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas, antitusígenos y expectorantes, repelentes de insectos, citotóxica, antiinflamatoria, antidiabética e hipouricémicas (Zheng *et al.*, 2013).

El extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” a concentraciones de 1 y 2%, sobre el ciclo celular de meristemas radiculares de *Allium cepa* “cebolla” var. roja Arequipeña, el índice mitótico disminuyó en T2 y T3, alcanzando su mínimo en T3 (11.07%), el índice profásico incrementó en los diferentes tratamientos con respecto a T1, llegando hasta 54.22% en T3 (Saldaña *et al.*, 2012), debido a la anormal actividad de las ciclinas mitóticas, a causa de la capacidad oxidante de taninos, ácidos, ésteres triterpénicos, alcaloides, heterósidos de sitosterol y estigmasterol, presentes en el extracto acuoso (Suárez *et al.*, 2010). *Kalanchoe tubiflora*, posee la actividad de supresión de tumores, inhibiendo la proliferación celular a causa de la solución soluble en butanol N fracción de KT (KT – NB), después de 48 horas de tratamiento con 6.75 g/ml de KT, la fracción de KT – NB inhibe la proliferación celular y reduce la viabilidad celular mediante la inducción de la multipolaridad e interrumpe los cromosomas en la metafase (Hsieh *et al.*, 2012).

Senecio atacamensis Phil., posee quince monoterpenos, ocho sesquiterpenos y un diterpeno, las hojas poseen aceites esenciales y presentaron α -terpineno, α -felandreno y p-cimeno; mientras que los tallos presentaron α -felandreno, p-cimeno y α -terpineno. Y el aceite esencial de *S. atacamensis* Phil (Morales *et al.*, 2011), los aceites esenciales

poseen actividades biológicas antimicrobianas, fungicidas y antioxidantes (Sotelo *et al.*, 2017), el aceite esencial de *S. atacamensis* se exhibió actividad antibacteriana frente a *K. pneumoniae* y *S. aureus*; pero el de hojas sólo exhibió actividad frente a *K. neumonía*, *E. coli* y *E. faecalis* fueron los más resistentes a ambos aceites, las concentraciones mínimas inhibitorias de los aceites esenciales estaban en el rango de 150 a 300 mg/ml. El aceite de hoja inhibió el crecimiento de *S. aureus* y *E. faecalis* con actividad bacteriostática a 260 y 152.9 µg/ml (Benites *et al.*, 2011).

Bomarea cornigera, administrado vía intraperitoneal, con los tratamientos de ciclofosfamida (control positivo), agua destilada (control negativo) y el extracto acuoso a concentración de 1X (2 nudos en 1000 ml), 2X (2 nudos en 500 ml) y 4X (2 nudos en 250 ml) de agua, inhibieron el desarrollo del sarcoma TG - 180 en ratones, con tasas de inhibición del 87.44 y 8.52% después de 17 días con tratamientos 1X y 2X respectivamente (Martínez, 2013), por otro lado, los extractos etanólicos de *Plumbago pulchella* Boiss, *Jatropha dioica* Sessé ex Cerv. Var dioica y *Decatropis bicolor* (Zucc) Radlk, resultaron poseer efecto citotóxico en células de la línea de cáncer cérvico uterino HeLa, en especial *P. pulchella* logrando una CL₅₀ del extracto de 19.5, 1.5 y 1.0 µg/mL a 12, 24 y 48 horas (Cortés, 2005).

Los extractos etanólicos de *Physalis peruviana* “uchuva” mostraron actividad citotóxica y antiproliferativa contra diferentes células de cáncer de colon SW480 y SW620, incrementando las células hipodiploides SW480 y SW620 en 13% y 12%, respectivamente, las células apoptóticas incrementaron 19% y 21% en SW480 y SW620, respectivamente, donde el extracto neutralizó radicales OH⁻ (Areiza *et al.*, 2013), asimismo el extracto alcohólico de la pulpa de *Annona cherimola* Mill “chirimoya” es sugerida por poseer efecto antineoplásico ante una población celular con el ciclo celular (CC) alterado, ya que regula el ciclo celular de *V. faba* L., alterado por tartrazina, al generar un índice mitótico (IM) de 19.2 ± 2.0 hallándose diferencia significativa (Beltrán & Beltrán, 2016).

Los extractos de *Lepidium meyenii* Walp "maca" poseen actividad sobre los meristemas radiculares de *Allium cepa*, logrando índices mitóticos de 13 a 5.4 y en las fases fueron las siguientes: profase de 47 a 89.5; metafase de 13 a 5.6; anafase de 9.5 a 2.0 y telofase de 30.0 a 3.5, demostrándose que inhiben la progresión normal del ciclo celular en

Allium cepa bloqueando el inicio de la metafase (Cano *et al.*, 2002); el extracto de caléndula (*Calendula officinales*) *in vitro* origina la inhibición de la proliferación de células de tumores sólidas y de leucemias, alcanzando el 100%, debido a una detención del ciclo celular en la fase G_0 / G_1 , y a un aumento de la apoptosis, el extracto origina un descenso en los niveles de expresión de ciclinas A, D1 y E; CDKs 1, 2 y 4; y de los factores transcripcionales, E2F – 1, E2F – 2 y DP – 1 (Jiménez, 2006).

El extracto metanólico de seis especies de macroalgas marinas del Caribe colombiano, presentaron un potente efecto antimitótico, debido a su efecto citotóxico de estos extractos originando un bloqueo mitótico, produciendo alteraciones en la morfología y disposición cromosómica, por lo tanto se les atribuye actividad antineoplásica y antimitótica (Ospina *et al.*, 2007); *Justicia spicigera* y *Moussonia deppeana* son plantas mexicanas prehispánicas recomendadas como antiinflamatorios y para el cáncer, *J. spicigera*, posee actividad citotóxica en celulares de cáncer y su efecto antitumoral resultó en un modelo *in vivo*, por disminución de la expresión de la proteína Ki-67, e incrementando el porcentaje de células en G_0 y en interfase (G_1 tardía/S/ G_2), reduciendo el porcentaje de células en fase G_1 temprana y en mitosis (Fernández, 2015).

El extracto vegetal chuchuuasa presentó citotoxicidad y genotoxicidad en células meristemáticas de *Allium cepa*, inhibiendo el crecimiento radicular y el índice mitótico, a concentraciones de 1.92, 3.19 y 4.92 mg/mL, generando células como binucleaciones, trinucleaciones, aberraciones cromosómicas, irregularidad de formas celulares y vacuolizaciones (Freyre *et al.*, 2009); la Pentagalolilglucosa (PGG), es un polifenol con un centro de glucosa esterificado por 5 ácidos gálicos y se encuentra ampliamente distribuido en plantas medicinales como: *Rhus chinensis*, *Paeonia suffruticosa*, *Paeonia lactiflora*, *Terminalia chebula* y *Caesalpinia spinosa* entre otras, las cuales demostraron efectos citotóxicos, antimetástasicos, antiangiogénicos, antiproliferativos, antiinflamatorios y antitumorales, en líneas celulares de cáncer de próstata, cáncer de seno, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, sarcoma, melanoma y leucemia (Li, 2011).

El extracto comercial de *Solanum dulcamara* L. (BIRM) ha sido usado empíricamente para el cáncer, disminuyendo la proliferación celular y la capacidad clonogénica de las células estudiadas, siendo dependientes de la concentración, indujo apoptosis y demostrándose que induce a un efecto antiproliferativo y antiinvasivo sobre células de

carcinoma mamario canino (Gallmeier, 2017); *Alchomea castaneifolia* (WiU) Jussieu es una planta medicinal perteneciente a la familia Euforbiáceae, al cual origina un retardo del ciclo celular de *Allium cepa* y un retardo del desarrollo embrionario del erizo de mar, a nivel de blástula y gástrula, así como un aumento significativo de la mortalidad, su análisis fitoquímico arrojó la presencia de alcaloides, esteroides, triterpenos, azúcares reductores, saponinas, fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, antocianidinas y principios amargos (Castañeda *et al.*, 2006).

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 El ciclo celular

Es esencial en la reproducción de los organismos, su función es originar nuevas células asegurándose un proceso se lleve a cabo en forma debida y con la regulación adecuada (Benites *et al.*, 2011); un ciclo celular está estructurado en dos fases, la interfase dividida en subfases G₁, la S y la G₂ y otra fase denominada mitosis dividida en profase, metafase, anafase, telofase y citocinesis; en la subfase G₁ se realiza la acumulación del ATP necesario para llevar a cabo el proceso de división y ulterior incremento de tamaño de la célula; la fase S o de síntesis es en que se ejecuta la replicación del ADN nuclear; y en la G₂, la célula se prepara para mitosis (Lomanto *et al.*, 2003).

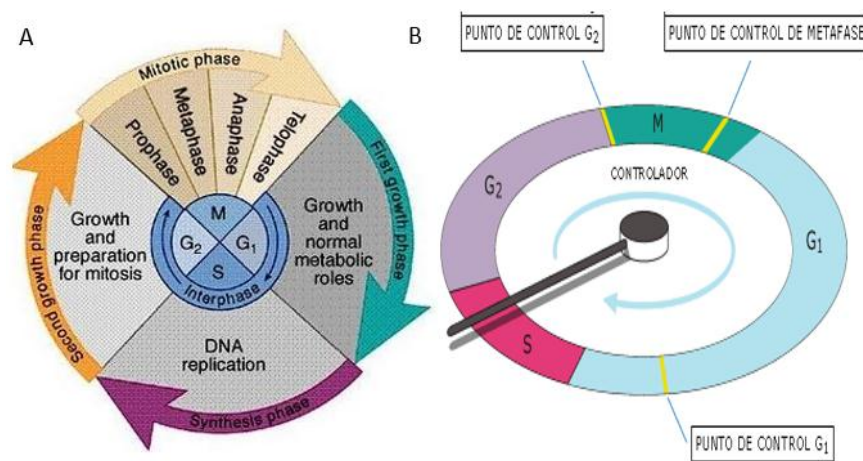


Figura 1. (A) Fases del ciclo celular y (B) puntos de control de cada fase (Garza *et al.*, 2014).

El ciclo celular, quien posee 4 fases (G₁, S, G₂ y M) (Figura 1), presenta tres puntos principales de control ubicadas en las transiciones G₁/S, G₂/M y en la mitosis (metafase/anafase), en ella participan varias proteínas que controlan la evolución del ciclo celular, en plantas se mencionan a las ciclinas tipo D (CycD), quienes perciben las condiciones externas e internas de la célula, así como también son muy sensibles a fitohormonas y nutrientes; y a las cinasas dependientes de ciclinas (CdKs), junto a sus correspondientes inhibidores como son las proteínas KRPs, a continuación se citan las proteínas factores transcripcionales E2F: las PCNA y la familia de las RBRs, entre otras (Garza *et al.*, 2014).

2.2.2 Fases del ciclo celular

Fase G1 (Growth o Gap 1)

Es la primera fase del ciclo celular, que transcurre entre el fin de una mitosis y el inicio de la síntesis de DNA, en esta etapa la célula, a raíz del ARN sintetizado duplicara su tamaño y masa, proteínas y sus componentes, a causa de la expresión de genes que codifican las proteínas responsables de la fase (Lomanto *et al.*, 2003). Esta fase se caracteriza por dividirse en temprana y tardía, mediante el punto de restricción R (punto de control G1), en el que la célula comprueba que ha generado la masa necesaria y que las condiciones ambientales son favorables, esto se realiza en un lapso de 6 y 12 horas (Stein & Pardee, 2004), fase S o de síntesis es la siguiente del ciclo celular; en la cual se ejecutara la síntesis del ADN denominada también replicación, permitiendo la formación de las cromáticas hermanas. Con la duplicación del ADN, el núcleo contiene el doble de proteínas nucleares y de ADN que al principio, esta fase transcurre a lo largo de 10 a 12 horas y ocupa alrededor de la mitad del tiempo que dura el ciclo celular en una célula de mamífero (Vertientes, 2014, los puntos de control evitan la progresión del ciclo celular en presencia del ADN dañado, dando tiempo para que la reparación se produzca al mismo tiempo y se prevengan alteraciones genéticas capaces de propagarse en las generaciones posteriores. Consistentemente, los puntos de control proporcionan una barrera para el desarrollo del cáncer (Lagunas *et al.*, 2014).

Fase G2

Durante la fase G2 ocurre la preparación para la mitosis en la cual se producirá repartición equitativa del material genético; todos los organelos y la maquinaria necesaria esencial para la división de la célula progenitora en dos células hijas idénticas en contenido, aunque de menor tamaño, se adquieren en esta etapa, por otro lado la cromatina recién duplicada, que está dispersa en el núcleo en forma de cordones filamentosos, comienza a enroscarse lentamente y a condensarse en una forma compacta llamada cromosoma; además, la célula confirmara la duplicación del ADN realizado con anterioridad (Lagunas *et al.*, 2014), durante este periodo la célula empieza a ensamblar las estructuras especiales requeridas para asignar un conjunto completo y equitativo de cromosomas a cada célula hija lo cual se desarrollará durante la mitosis (Karp, 2014).

Fase M

Mitosis y citocinesis, en esta fase ocurre la división nuclear, y esta incluye 4 subfases: profase, metafase, anafase, telofase, por su parte la mitosis finaliza con la citocinesis, que se inicia en la telofase; con el fraccionamiento del citoplasma que dará lugar a dos células hijas, en esta fase existe el punto de control M, que comprueba la correcta alineación de todos los cromosomas. Este proceso dura aproximadamente 1 hora (Karp, 2014).

2.2.3 Factor promotor de la fase M (FPM)

También conocido como factor promotor de la maduración, actúa como inductor para mitosis y para el mantenimiento e iniciación de la profase. Corresponde al punto de control G2 del ciclo celular. El FPM consta de dos subunidades: una subunidad catalítica llamada kdc (p34 en los mamíferos y cdc2 en levaduras), que lleva a cabo la transferencia de grupos fosfatos del ATP a residuos específicos de serina y treonina (Ramírez *et al.*, 2003). Otra subunidad reguladora del tipo ciclina es: p45 esencial en el cumplimiento de la función de la cinasa junto a sustratos apropiados. Estas subunidades tienen denominaciones variables que varían entre especies (Tabla 1) (Watson *et al.*, 2006).

Tabla 1. Diferentes nombres que reciben las proteínas de control por especies para el FPM (Ramírez *et al.*, 2003).

Factor promotor de mitosis		
Especie	Cinasa	Ciclina
Levaduras	Cdc2 Cdc28	Cdc13 CLB1-4
Rana mamíferos	p34	Ciclinas A, B1, B2

2.2.4 Regulación del ciclo celular

Procesos primordiales como la replicación del ADN, la mitosis y la citocinesis se ponen en marcha mediante un sistema de control central del ciclo celular (Figura 2). Éste es un dispositivo bioquímico que actúa cíclicamente, compuesto por un conjunto de proteínas interactivas y dependientes (Lomanto *et al.*, 2003).

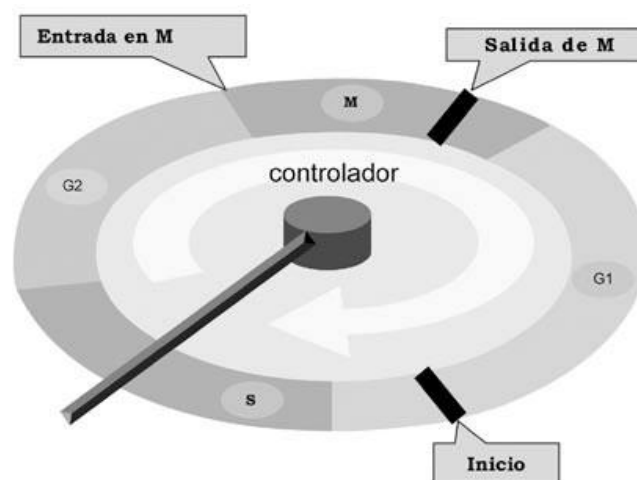


Figura 2. Regulación del ciclo celular, en el que los procesos básicos tales como la replicación del DNA, la mitosis y la citocinesis se ponen en marcha mediante un sistema de control central del ciclo celular (Lomanto *et al.*, 2003).

2.2.5 Vías de señalización involucradas en la regulación del ciclo celular

El proceso de regulación del ciclo celular desempeña un papel crítico en la oncogénesis y en el desarrollo de la resistencia terapéutica por lo tanto en las células de los mamíferos el proceso de regulación del ciclo celular desempeña un papel crítico en la oncogénesis (Campbell & Reece, 2007) en el desarrollo de la resistencia terapéutica por ende la estimulación constitutiva de la proliferación celular, a través de factores de crecimiento normales para el desarrollo tumoral es insuficiente para causar transformación oncogénica de células normales, ya que se requiere de la interacción de varios factores para desarrollar un tumor (Alberts *et al.*, 2004) Otro paso importante relacionado en la tumorigénesis es la pérdida de señales anti crecimiento que mantienen las células avanzando en el ciclo celular y las diferentes rutas implicadas en la proliferación, son sistemas altamente dinámicos, con elementos positivos y negativos. Muchos de los elementos positivos son protooncogenes, que a menudo están mutados para convertirse en genes activos constitutivamente originando los oncogenes encontrados en muchas células tumorales. Los elementos negativos están constituidos por los supresores de tumores, que son inactivados en muchas células tumorales (Lagunas *et al.*, 2014).

2.2.6 Duración del ciclo celular

La duración del ciclo celular presenta variaciones de un tipo de célula a otra y entre las

especies Existen tres tipos o clases de células básicamente en el organismo: la primera clase con alta especialización estructural como las células nerviosas, las células musculares y los eritrocitos que maduran y pierden su capacidad de división y la segunda clase, que normalmente no se divide, aunque excepcionalmente puede dar inicio a un ciclo de división como respuesta a un estímulo adecuado; ejemplo de ellas, los hepatocitos y linfocitos. La tercera clase de células (Aguirre, 2000) con un alto nivel de división celular, tales como las células epiteliales en un organismo multicelular es de importancia crítica que los diferentes tipos celulares se dividan a velocidad suficiente como para producir todas las células que sean necesarias para el crecimiento y reemplazo únicamente de la cantidad de células que son eliminadas por el organismo, ya sea por muerte celular programada o por deterioro. Si en este proceso se crea un desbalance, por ejemplo, un aumento exagerado en la división de una célula en particular cuando no es necesario, se ocasiona una interrupción en el funcionamiento normal del órgano y finalmente del organismo. Este es el curso de los acontecimientos en algunos casos de cáncer (Suárez *et al.*, 2010).

Tabla 2. Duración del ciclo celular (Garza *et al.*, 2014).

Interfase			Mitosis
G1	S	G2	M
5 horas	7 horas	3 horas	1 hora
Mitosis			
Profase	Metafase	Anafase	Telofase
36 minutos	3 minutos	3 minutos	18 minutos

2.2.7 Ciclinas y Quinasa dependientes de ciclinas

Los componentes centrales del sistema de control del ciclo son miembros de una familia de proteínas quinasas conocidas como quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) en las actividades de estas quinasas aumentan y disminuyen conforme la célula progresa a través del ciclo celular llevando a cambios cíclicos en la fosforilación de proteínas intracelulares que inician o regulan los principales eventos del ciclo celular ocurren cambios cíclicos en la actividad de las CDKs están controlados (Lagunas *et al.*, 2014) por otras proteínas que regulan a estas quinasas por lo tanto las más importantes son las proteínas conocidas como ciclinas. Las CDKs, como su nombre indica, para su

actividad son dependientes de ciclinas; a menos que estén fuertemente unidos a una ciclina y no tienen actividad de proteína quinasa (CDKs) las actividades de estas quinasas aumentan y disminuyen conforme la célula progresa a través del ciclo celular llevando a cambios cíclicos en la fosforilación de proteínas intracelulares que inician o regulan los principales eventos del ciclo celular (Lomanto *et al.*, 2003) los cambios cíclicos en la actividad de las CDKs están controlados por otras proteínas que regulan a estas quinasas y las más importantes son las proteínas conocidas como ciclinas y las CDKs como su nombre indica que para su actividad son dependientes de ciclinas a menos que estén fuertemente unidos a una ciclina y no tienen actividad de proteína quinasa (Garza *et al.*, 2014).

2.2.8 Factor transcripcional E2F

La molécula conocida como E2F, factor involucrado en la activación del promotor viral E2, representa una familia de proteínas, la cual en humanos comprende siete miembros (E2F1 a E2F7) los cuales encuentran pareja con alguno de los dos miembros de la proteína DP (Trimarchi & Lees, 2002), esta molécula inicialmente fue caracterizada como una actividad celular requerida para la expresión de la proteína E1A del adenovirus, que interviene en la activación transcripcional del promotor viral E2, también estudios posteriores demostraron que E2F, al unirse al ADN, controla la transcripción de genes esenciales para la división celular y se han identificado proteínas tipo E2F y DP en varias especies de plantas, incluyendo trigo, tabaco, zanahoria, *Arabidopsis* y arroz (Wen, 2002).

Con la publicación del genoma de *Arabidopsis* se logró el reconocimiento de E2F y dos DP, lo interesante es que mientras atE2Fa-c necesitan formar heterodímeros con atDPs para lograr una unión eficaz al ADN y regular la expresión génica, los otros tres miembros de la familia de E2F, los cuales tienen duplicado el dominio (región de la molécula de proteína) de unión al ADN, se unen eficientemente en ausencia de atDPs (Wen, 2001). Además, las proteínas E2F que han sido ya caracterizadas en *Arabidopsis* y otras especies de plantas contienen dominios similares a las proteínas de E2F en animales, incluyendo un dominio de dimerización, un dominio de transactivación, un posible sitio de unión de CDKs en E2Fb y DPb y variados espacios de gran probabilidad para la fosforilación en la familia de E2F, donde están involucrados como reguladores de la actividad transcripcional (Trimarchi & Lees, 2002) (Figura 3).

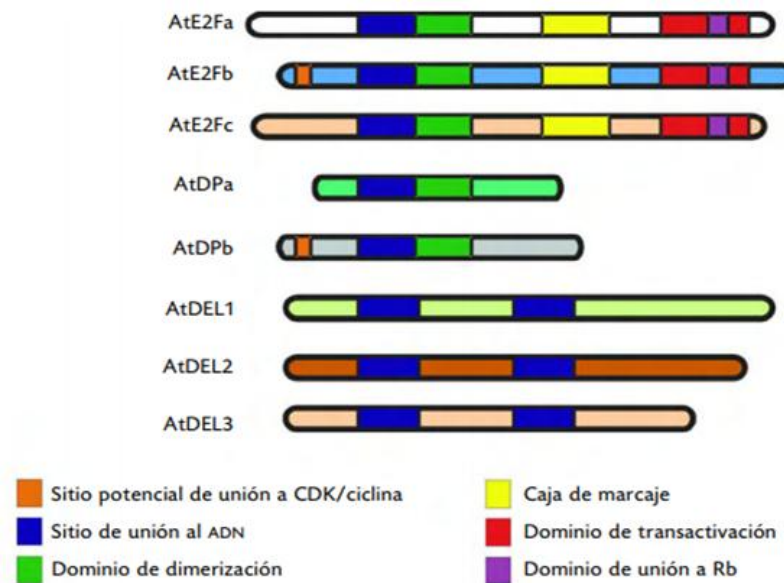


Figura 3. Organización estructural y propiedades de la familia de E2F en *Arabidopsis* (Trimarchi & Lees, 2002).

Los dominios de asociación al ADN se conservan en la familia de E2F, así como los de dimerización, de caja de marcaje y el dominio de transactivación. Basado en la conservación de los diferentes dominios, las ocho proteínas de E2F de *Arabidopsis* son clasificadas en E2Fy DP y DEL. La ruta E2F/PRB en el control de la transición de G₁ a S. Se ha propuesto un modelo del control de la transición G₁-S en el ciclo celular en el cual las ciclinas tipo D (CycD) (Ramírez *et al.*, 2003) son los mediadores primarios de la transición y tienen la responsabilidad de estimular el avance del ciclo celular. La transcripción de las CycD es activada por señales extracelulares, lo cual lleva a la formación de complejos activos CDK-CycD, este complejo activo CDK-CycD es capaz de fosforilar e inactivar a la proteína del retinoblastoma (pRb) un factor antiproliferativo por lo tanto se separa de E2F, este hecho determinará que los genes que son regulados por esta molécula sean activados. Cabe mencionar que la fase G₁ del ciclo celular generalmente representa el mayor punto de regulación de las fases restantes (Colli *et al.*, 2007).

Un recorrido equivalente de E2F/pRb en el paso de G₁ al S del ciclo celular, que involucra la fosforilación de pRb por los complejos CDK/ciclina y la liberación de E2F, ha sido dilucidada recientemente en células vegetales, y probablemente (Ramírez *et al.*, 2003) los mecanismos de su regulación sean los mismos que en sus contrapartes en

humanos y otros eucariontes superiores y aunque no se han encontrado homólogos de las ciclinas E en plantas, fundamentales en la transición G1-S en animales, las ciclinas tipo A o quizá algunas del tipo D podrían participar en la regulación de la transición G1-S y de G2-M del ciclo celular (Wen, 2001). Durante la fase G₁, la proteína Rb se encuentra en su forma activa (hipofosforilada) y puede unirse a activadores transcripcionales de la familia de E2F, dando como resultado la formación de un complejo que reprime la transcripción de genes clave para E2F y, consecuentemente, impide la progresión de la fase G₁/S. Conforme avanza la fase G₁, pRb es fosforilada secuencialmente por diferentes complejos CDK/ciclinas, inactivándola y finalmente liberando a E2F necesario para la activación de genes y el progreso del ciclo celular (Colli *et al.*, 2007).

2.2.9 Genes regulados por E2f que participan en el ciclo celular

La transcripción de E2F en vegetales esta corrientemente disminuida, sin embargo, se ha demostrado en *Arabidopsis* que hay una expresión diferencial, dependiendo del tejido. Por otra parte, se verifico que en células suspendidas que estaban sincronizadas parcialmente los niveles de transcripción de E2F muestran un incremento en la transición de G1 a S del ciclo celular (Ramírez *et al.*, 2003) y la vigilancia en el paso de G1-S corrientemente simboliza el paraje crucial en la división celular, por ende en la fase G1 del ciclo celular las células “deciden” si permanecen o salen del ciclo mitótico, a este punto de control se le ha llamado Start, en levaduras, y “punto de restricción” (R), en animales y aunque tales puntos no han sido definidos exactamente en plantas, la aplicación de inhibidores químicos reveló un punto crucial de control en la fase G1 en células de tabaco (Wen, 2001).

Así, E2F es fundamental para controlar los genes necesarios para la continuidad del ciclo celular. Estos genes son: la ciclina A, genes de histonas y genes involucrados en la síntesis de ADN, como el ADN polimerasa δ , la dihidrofolato reductasa, CDC6, ORC1, ORC3, RPA, MCM, el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), el ribonucleótido reductasa y una subunidad de la polimerasa δ (Ramírez *et al.*, 2003).

La expresión de las ciclinas D es impulsada por señales medioambientales y de desarrollo, dichas ciclinas podrían asociarse a la CDK-A (Figura 4). Este complejo activo ciclina D/CDK-A puede fosforilar a la Rb se encuentra formando un complejo

con E2F/DP, inhibiendo la transcripción. Conforme avanza el ciclo celular, Rb es hiperfosforilada por el complejo ciclina D/CDK-A en G1 tardía, lo que ocasiona que se libere el complejo transcripcional E2F/DP, el cual activará la transcripción de genes necesarios para la fase S del ciclo celular (Trimarchi & Lees, 2002).

E2F es una molécula que además de regular los genes afines al ciclo celular vegetal también regula diversos genes funcionales. Recientemente se ha demostrado que el complejo E2F/DP juega un papel importante para regular la expresión de genes, no sólo en células en estado proliferativo, sino también durante la diferenciación, el desarrollo y en procesos de apoptosis (muerte celular programada) (Watson *et al.*, 2006), en la última década, debido al gran avance de la investigación sobre la regulación del ciclo celular en las plantas, es posible comprender más a fondo la regulación de este proceso vital, en el que los elementos principales son semejantes al de los animales, sin embargo, los vegetales tienen diversas y únicas características desarrollo y crecimiento, lo que trae por consiguiente que desarrollaran habilidades exclusivas para controlar el ciclo celular, generando nuevas rutas de desarrollo (Alberts *et al.*, 2004).

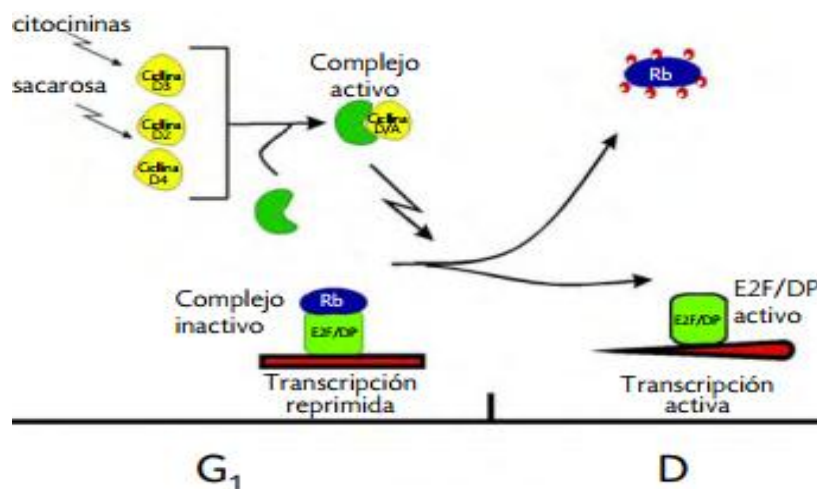


Figura 4. Modelo propuesto para la regulación de la transición G1-S del ciclo celular en plantas (Colli *et al.*, 2007).

Estudios realizados en *Arabidopsis* demostraron que en los ápices foliares de esta planta se encuentran varios tipos de tejidos que difieren tanto en su estado de crecimiento como de diferenciación, en tejidos que se dividen activamente, en los primordios foliares, en tejido vascular de los primordios maduros, en botones axilares y en la epidermis y dermis del hipocotilo se encuentra un alto nivel de expresión de E2Fa/DPa, esto indicaría que E2Fa-DPa no sólo controla el progreso del ciclo celular mitótico, sino

que también participa en la diferenciación celular (De Veylder *et al.*, 2002), recientemente (Ramírez *et al.*, 2003) realizaron una investigación manejando el genoma de *Arabidopsis* para encontrar genes que pudieran ser regulados por E2F/DP y en este estudio se enfocaron en un sitio bien definido de unión de E2F al ADN, así como en un sitio variante del mismo, este sitio de unión al ADN se encuentra altamente conservado entre humanos y plantas, incluyendo *Arabidopsis*, en particular la hélice $\alpha 3$ involucrada directamente en el contacto con el ADN (Zheng *et al.*, 2013).

Los análisis dieron como resultado la identificación de 126 genes que engloban la razón de la asociación de E2F al ADN en la región promotora de estos genes, los que fueron clasificados en las siguientes categorías funcionales: genes que participan en el ciclo celular y en la reparación del ADN (31.3%) y genes que participan en la transcripción (21.7%), en estas categorías se encuentra el mayor porcentaje de genes expresados además se encontraron, con menores porcentajes, genes involucrados en los procesos de estrés y defensa, en transducción de señales, en organización del citoplasma, en transporte, en metabolismo y en biogénesis celular (Ramírez *et al.*, 2003), ahora bien, no olvidemos que los resultados anteriores son solamente estudios preliminares, que utilizan aproximaciones geonómicas para identificar genes regulados por E2F, no obstante por lo anterior, los estudios futuros podrían enfocarse a genes específicos para demostrar la función de E2F en la regulación de su expresión, y a pesar de las grandes interrogantes que aún persisten sobre la regulación de la división celular en plantas, los actuales avances permiten indicar que éstas recurren, en las vías que regulan la división celular, a mecanismos similares a los que se encuentran en animales y es de esperarse, sin embargo, que el rápido avance de la investigación en este campo de la ciencia arroje, en un futuro próximo, un mejor y claro enfoque acerca de la regulación del ciclo celular vegetal (De Veylder *et al.*, 2002).

2.2.10 Las plantas como fuente de compuestos antineoplásicos

Alcaloides Vinca. Inicialmente los compuestos obtenidos de vegetales con propiedades anticancerosas fueron: la vincristina (Oncovin®) y vinblastina (Velban®), aislados de *Catharanthus roseus*, planta empleada por varias culturas para el tratamiento de la diabetes. Las modificaciones químicas que se realizaron en vinblastina y vincristina llevaron a la obtención de los compuestos semisintéticos vinorelbina (navelbine®) y vindesina (eldisine®), aprobados en Europa para el tratamiento del cáncer (Vega *et al.*,

2006), la vincristina es administrada en combinación con demás medicamentos antineoplásicos para tratamiento de leucemia linfocítica aguda en infantes, cáncer cervicouterino, de colon, de mama y otros carcinomas, mientras que la vinblastina se emplea para el tratamiento de linfoma de Hodgkin, carioepitelioma y cáncer de ovario (Alberts *et al.*, 2004).

Alcaloides análogos de la camptotecina. La camptotecina es un alcaloide del tipo indólico que en un inicio se obtuvo de *Camptotheca acuminata* (denominada “Xi Shu” o árbol de la alegría), este árbol es nativo del Tibet y China y en este último se utiliza en medicina tradicional, los extractos de *C. acuminata* (Colli *et al.*, 2007), investigaron en la década de 1950 como fuente de saponinas esteroidales para su conversión posterior en cortisona y fue al azar que se resolvió evaluar la actividad antineoplásica, siendo el NCI el primero en dar este reporte y el principio activo resultó ser la camptotecina, es así que en los estudios preclínicos, la camptotecina mostró su eficacia contra tumores de colon y de origen gástrico (Watson *et al.*, 2006), debido a que la camptotecina es poco soluble en agua se decidió emplearla en forma de sal sódica y para obtener dicha sal se abrió el anillo lactona, obteniendo así la sal soluble en agua, misma que resultó ser menos eficaz y a la par que ocasiono en los pacientes cistitis hemorrágica y mielotoxicidad, razón por la que se suspendió los estudios clínicos (Nelson & Cox, 2009).

2.2.11 Nabo silvestre (*Brassica rapa* L.)

Sinónimos: *Brassica campestris* L.

Otros nombres comunes: mostaza, pata de cuervo, semilla para pájaros, vaina, flor de nabo, nabo de canarios.

Taxonomía:

Dominio	: Eucarya
Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Brassicales
Familia	: Brassicaceae
Género	: <i>Brassica</i>

Especie : *Brassica rapa* L. (Mostacero *et al.*, 2009).

Descripción botánica (Rzedowski & Rzedowski, 2001).

- a. **Hábito y forma de vida:** Vegetal (hierba), de florecimiento anual o bianual, puede ser simple o ramificada, erecta y glabra.
- b. **Tamaño:** 30 a 130 cm
- c. **Tallo:** Cilíndrico, con diversos pelos erectos y ásperos.
- d. **Hojas:** Con disposición alterna. Las hojas inferiores están pecioladas, pinnatífidas o lobadas, con el lóbulo posterior cerrado, comúnmente mucho más grandes que los lóbulos laterales, ocasionalmente con el margen anormalmente sinuoso, de 4 a 20 cm de largo a 1.8 a 8 cm de ancho, con 2 – 4 lóbulos laterales; hojas superiores sésiles (sentadas, sin pecíolos), amplexicaules (abrazando el tallo), con la orilla entera, ocasionalmente sinuoso, oblongas a lanceoladas, glaucas, más diminutas, hasta 6 cm de largo por 1.3 cm de ancho, ápice obtuso; hojas intermedias de formas variadas.
- e. **Brote:** Ramillete trasero de 10 – 30 cm de largo.
- f. **Flores:** Amarillas, con 4 sépalos verdes de 4 – 5 mm de largo y 4 pétalos de 6 – 10 mm de largo, 6 estambres, 2 de estos (los finales) de naturaleza corta.
- g. **Frutos y semillas:** Pedicelos 1 – 2.5 cm, silícula desarrollada, lineal, cilíndrica, dehiscente, 2 – 6 cm de largo, ápice de pico de 1 – 3 cm de largo. Semillas globulares, de 1.5 – 2 mm en diámetro, café o negras.
- h. **Plántulas:** Hipocótilo estirado; cotiledones con duplicados, de lámina oblonga a cuadrada, de 4 a 8 mm de largo y 4 a 10 de ancho, sin pelos; hojas simuladamente opuestas o alternadas.
- i. **Raíz:** Napiforme y estrecha.
- j. **Hábitat.** Frecuentemente se visualiza en campos de cultivo, así como también en cultivos de maíz tradicionales, pero además como ruderal, en potreros, rastros, vías de ferrocarril y en terrenos de agricultura abandonados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO.

Experimental y analítico de corte transversal.

3.2 LUGARES DE MUESTREO.

Las plantas de mostaza (*Brassica rapa* L.), fueron colectadas desde los campos de cultivo del Centro Poblado de Jayllihuaya, distrito, provincia y región de Puno. La zona de colecta de las plantas, se caracterizó por tener campos de cultivo de cebada, papa, maíz entre otros cultivos, y durante las campañas de cosecha los campos de cultivo presentan gran cantidad de plántulas de mostaza, lo que hizo propicia trabajar con esta especie vegetal.

3.3 TAMAÑO DE MUESTRA.

La población de las plantas de mostaza en la provincia de Puno es muy amplia, es por eso que se planificó un muestreo no probabilístico por conveniencia, en el que el número de muestras sea representativo de la población. En tal sentido las muestras evaluadas fueron de 30 plantas, distribuidos en dos muestreos cada mes (febrero y abril), a partir de ellas fueron separadas en hojas y flores, haciéndolas secas en sombra a temperatura ambiente.

3.4 DETERMINACIÓN DE LA FITOQUÍMICA CUALITATIVA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS HOJAS Y FLORES DE LA *Brassica Rapa* L.

3.4.1 Preparación de extractos acuosos.

Previamente las flores y hojas de *Brassica rapa* L. fueron secadas a temperatura ambiente por 15 días, luego se cortaron en pedazos pequeños, hasta completar 100 g de hojas y 100 g de flores. Estos fueron colocados en matraces diferentes de 100 mL de volumen conteniendo agua destilada recientemente hervida y caliente, posteriormente se dejó reposar durante 5 minutos, obteniéndose así un extracto acuoso al 100%, posteriormente se procedió a filtrar con papel Whatman No. 4 exento de cenizas, con similar metodología se prepararon los extractos acuosos al 30% (30 g / 100 mL), 50% (50 g / 100 mL) (Saldaña *et al.*, 2012).

3.4.2 Análisis fitoquímico cualitativo

a) Identificación de alcaloides

Método: Colorimetría

Fundamento:

El fundamento de la extracción se basa en el carácter básico de los alcaloides y en el hecho de su existencia en las plantas como sales de ácidos orgánicos o como combinaciones solubles de otras sustancias, entre los principales se encuentran: los ácidos tíglico, 3 metil butírico, benzoico, cinámico, hidroxifenil propiónico, trópico y tricarbóxicos, y además con otro tipo de sustancias como taninos y fenoles. El reactivo Dragendorff, el cual contiene una solución ácida de iodobismutato de potasio, al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración rojo – naranja. El reactivo Mayer, el cual contiene una solución neutra de iodomercuriato de potasio, al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración amarilla pálida. El reactivo Wagner, el cual contiene una solución iodada de ioduro de potasio, al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración marrón (Evans, 1991).

Reactivo de Dragendorff. En un tubo de ensayo se colocó 5 ml del extracto acuoso a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Dragendorff, se homogenizó y procedió a la lectura visual tomando en cuenta el rango de intensidad de la valoración. Debió formar un precipitado café rojizo (Medina, 1997).

Reactivo de Mayer: En un tubo de ensayo se colocó 5 ml del extracto acuoso a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Mayer, se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración. Debió formar un precipitado amarillo pálido (Medina, 1997).

Reactivo de Wagner: En un tubo de ensayo se colocó 5 ml del extracto acuoso a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo Wagner, se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración. Debió formar un precipitado naranja oscuro (Medina, 1997).

b) Identificación de fenoles

Método: Colorimetría

Fundamento:

La prueba del cloruro férrico es utilizada para determinar la presencia o ausencia de

fenoles en una muestra dada. La muestra es disuelta en agua, o una mezcla de agua y etanol, y se agrega unas gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido. La formación de una coloración roja, azul, verde, o púrpura indica la presencia de fenoles. Los fenoles forman un complejo con Fe (III), que es intensamente coloreado. El cloruro férrico al reaccionar con los fenoles, origina como producto una coloración verde oscura (Carvajal *et al.*, 2009).

Reacción con Cloruro Férrico: En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de FeCl_3 al 5% y 5 ml del extracto acuoso a investigar, se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta para ello el precipitado verde oscuro (Medina, 1997).

c) Identificación de carbohidratos

Método: Colorimetría

Fundamento:

El reactivo de Fehling es una solución que se caracteriza fundamentalmente por su utilización como reactivo para la determinación de azúcares reductores es decir demostrar la presencia de glucosa o sus derivados como la sacarosa o la fructosa. Está formado por dos soluciones acuosas que son: sulfato de cobre cristalizado y tartrato mixto de potasio y sodio. Su acción se fundamenta en el poder reductor del grupo carbonilo de los aldehídos el cual se oxida a ácido y se reduce la sal de cobre en medio alcalino a óxido de cobre, formando un precipitado de color rojo. El reactivo de Fehling se fundamenta principalmente, en su reacción, la oxidación de cobre, el poder reductor de los azúcares, sea este en monosacáridos, polisacáridos, aldehídos, y en ciertas cetonas, es así que al reaccionar en los azúcares origina una coloración roja (Lock, 1994).

Reactivo de Fehling: En un tubo de ensayo se agregó unas gotas del reactivo de Fehling y 5 ml del extracto, posteriormente se llevó a baño maría por 5 minutos y se observó. Debió formar un precipitado rojo (Medina, 1997). La lectura de resultados será mediante los siguientes rangos:

Tabla 3. Lectura y rangos de intensidad de contenido de metabolitos secundarios vegetales (Medina, 1997).

Lectura	Rango
Color intenso	+++ = Muy abundante
Color regular	++ = Abundante
Color débil	+ = Leve

Análisis estadístico

Para los análisis de los resultados no se realizó ningún análisis estadístico, ya que se realizó estudios netamente descriptivos, tales como la presencia de coloraciones en la determinación de metabolitos secundarios de las plantas y su intensidad para evaluar cualitativamente la presencia de dichos metabolitos.

3.5 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Brassica rapa* L. SOBRE EL CICLO CELULAR DE MERISTEMOS RADICULARES *Allium sativum* L.

La mostaza (*Brassica rapa* L.), es una de las especies que desde tiempos muy antiguos ha sido usada como fuente de aceite comestible en el área de medicina como antídoto en picaduras de escorpión y mordida de víboras. Actualmente las semillas y las hojas se cosechan para propósitos medicinales, alimenticios y ciertas aplicaciones agrícolas (Mostacero *et al.*, 2009).



Figura 5. Planta de nabo silvestre (*Brassica rapa*), recolectado en el centro poblado de Jayllihuaya – Puno, febrero a marzo del 2017.

Para cumplir con este objetivo se realizó los procedimientos recomendados por Saldaña *et al.* (2012).

a. Obtención de las raicillas de ajo (*A. sativum* L.)

Las raicillas del ajo, se caracterizaron, como todas las plantas, de poseer un ápice radicular, el cual posee células meristemáticas (Azcon & Talom, 2003), las cuales están en constante división celular, éstas serían equivalente a las células “cancerígenas”, y en esta investigación, se evaluó el efecto de los extractos de la planta mostaza, justamente si disminuye o no el tiempo de duración de sus ciclos celulares.

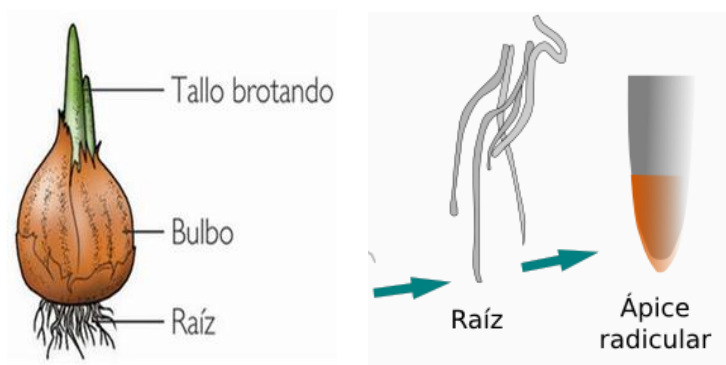


Figura 6. Partes del bulbo de ajo, sus raíces y la ubicación del ápice radicular.

Se utilizaron tres bulbos de ajo, a los cuales se les quitaron los catafilos secos, luego se colocaron tres mondadientes equidistantemente para sostener el bulbo en la boca del vaso de tecnopor, esto permitió que el extracto acuoso se ponga en contacto con el disco germinativo para la emisión de nuevas raicillas. El frasco de vidrio se llenó con 100 ml de agua de pozo y presentó aireación constante para lo cual se utilizó un sistema de manguerillas conectadas a un motor de pecera, estos se mantuvieron en un sistema de soporte diseñado especialmente hecho de triplay. El agua se renovó cada 24 horas durante tres días (72 horas) y en oscuridad hasta que se obtengan raicillas de 2.5 cm de longitud.

b. Exposición de las raicillas

Para la evaluación del efecto de las concentraciones (30%, 50% y 100%) de los extractos acuosos de mostaza sobre el ciclo celular de *A. sativum*, se expusieron las raicillas obtenidas a dichas concentraciones durante 11 horas. En esta investigación, se utilizó el agua destilada como control o testigo, en el cual las raicillas fueron expuestas de similar forma que los tratamientos con los extractos antes mencionados.

c. Obtención de preparados citológicos

Luego de los tratamientos, las raicillas fueron diseccionadas y lavadas tres veces seguidas con agua bidestilada y colocadas en la solución fijadora de Carnoy.

Posteriormente se sacaron del fijador y se lavaron tres veces en agua bidestilada para retirar de esta manera los restos del fijador. Luego se procedió a secarlas con papel toalla para eliminar los restos de agua en la superficie. En seguida, fueron depositadas sobre una luna de reloj para su respectiva coloración.

d. Análisis citológico

Los ápices coloreados se colocaron entre las láminas porta y cubre objetos para su aplastamiento. Los preparados citológicos se observaron al microscopio óptico compuesto con el objetivo de inmersión. Posteriormente, se cuantificaron un total de 100 células meristemáticas por cada uno de los diferentes tratamientos ensayados, utilizando la técnica de observación de campos ópticos se evaluará la presencia de células binucleadas (Cb) o en bimitosis. El bioensayo se realizó en tres repeticiones y los datos obtenidos se expresarán en porcentajes. Luego de realizar la gráfica de la regresión, se logró el cálculo de la duración de ciclo celular según los tratamientos, despejando el valor X de la ecuación de la recta de la regresión ($Y = a + bX$).

Análisis estadístico de datos

El diseño experimental que se aplicó fue completo al azar. Se aplicó el siguiente modelo matemático:

$$Y = a + b X$$

Donde: Y = variable dependiente; a = intercepto con el eje Y; X = variable independiente; y b = pendiente (Ibáñez, 2009).

Asimismo, para determinar el grado de asociación entre las variables porcentaje de células binucleadas y número de horas de tratamiento, se aplicó pruebas de correlación de Pearson:

$$r_{xy} = \frac{\sum x_i y_i}{n S_x S_y}$$

Donde: x_i e y_i se refieren a las puntuaciones diferenciales de cada par; n al número de casos; y S_x y S_y a las desviaciones típicas de cada variable.

Lo valores del coeficiente de correlación fueron cercano a -1 (correlación lineal negativa); cercano a 0 (ausencia de correlación lineal) y cercano a +1 (correlación lineal positiva) (Ibáñez, 2009).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA CUALITATIVA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE HOJAS Y FLORES DE MOSTAZA

Los análisis fitoquímicos preliminares de los extractos acuosos o infusiones de hojas de mostaza, presentaron las más altas intensidades de color, en comparación con las infusiones de flores, los cuales fueron proporcionales al contenido de sus principios activos. Las infusiones de hojas presentaron muy abundante (+++) cantidad de alcaloides según los reactivos de Dragendorf, Wagner y azúcares reductores según el reactivo de Fehling; mientras que los alcaloides según el reactivo de Mayer y fenoles y taninos según el reactivo cloruro de hierro, indican abundante (++) contenido. Por otro lado, las flores de mostaza, presentaron entre leve (+) y abundante (++) todos los principios activos (Tabla 4).

Tabla 4. Intensidad de contenido de metabolitos secundarios, en infusiones de *Brassica rapa* L., realizado en el gabinete de Zoología, FCCBB – UNA Puno, durante febrero (feb) y abril (abr) del 2017 (n = 3).

Reacciones fitoquímicas	Órganos vegetales			
	Hojas		Flores	
	Feb	Abr	Feb	Abr
Dragendorf	+++	+++	++	++
Wagner	+++	++	+	+
Mayer	++	++	+	+
Cloruro de hierro	++	++	+	++
Fehling	+++	+++	+	+

Donde: + es contenido leve; ++ es contenido abundante; y +++ es contenido muy abundante.

Las hojas presentaron el mayor contenido de metabolitos secundarios frente a las flores, presentando diferencia estadística significativa ($F=26.61$; $gl = 1$; $P = 0.0001$), según la prueba de contraste de Tukey, el mayor contenido de metabolitos secundarios fue mayor en hojas que en flores.

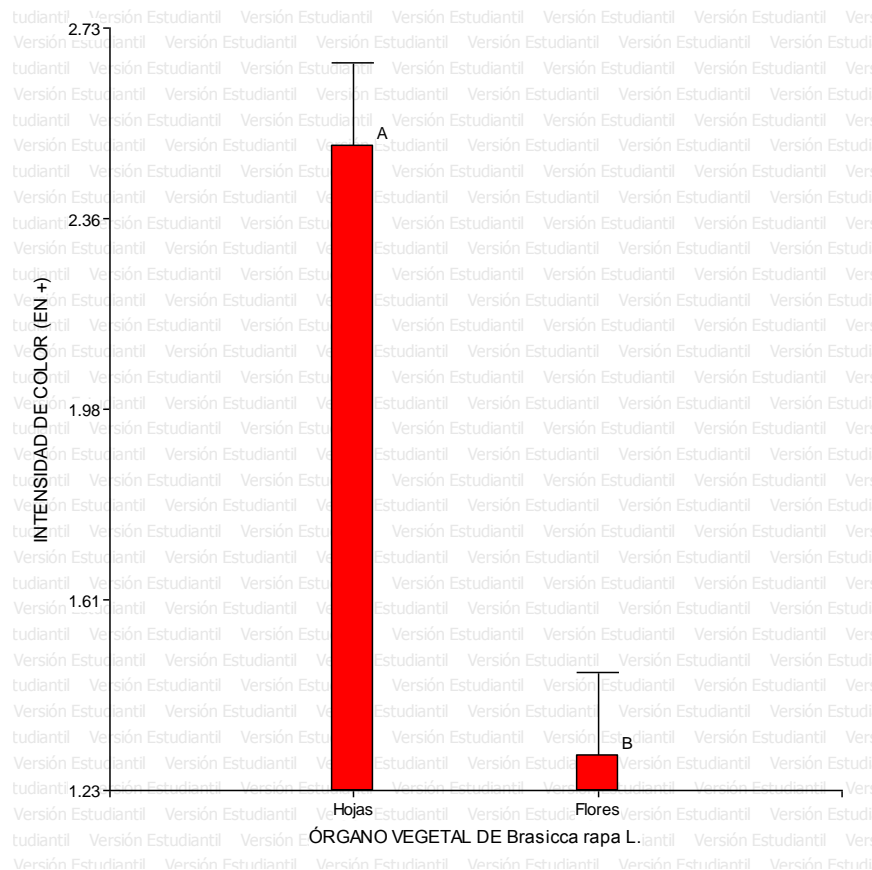


Figura 7. Comparación del contenido de metabolitos secundarios en infusiones de mostaza, gabinete de Zoología, FCCBB, UNA Puno, agosto del 2017.

Estos resultados concuerdan con lo mencionado por Llopart (2016), quienes reportan la presencia de alcaloides en plantas de la vinca, por otro lado, Zheng *et al.* (2013), reporta la presencia de flavonoides, diterpenos, fitosteroles, antraquinonas en las plantas poseen múltiples actividades farmacológicas tales como las propiedades antioxidantes, antibacteriana, antitumorigénica, antiinflamatoria, antidiabética, entre otros efectos, así como anticancerígena (Ren *et al.*, 2003). Asimismo, Suárez *et al.* (2010), afirma la presencia de taninos, ácidos, ésteres triterpénicos, presentes en el extracto acuoso de clavo de olor.

Realizando la comparación del contenido de metabolitos secundarios, con otras plantas medicinales, las que presentaron el mayor contenido o en cantidades muy abundantes (+++) de alcaloides, se tienen a las plantas pertenecientes a las familias Asteraceae, Erythroxilaceae, Hydrophyllaceae, Urticaceae y Valerianaceae. De igual forma los fenoles son muy abundantes (+++) en las familias: Asteraceae, Chenopodiaceae, Ephedraceae, Erythroxilaceae, Escrofulariaceae, Euphorbiaceae, Gencianaceae,

Hydrophyllaceae, Lamiaceae, Plantaginaceae y Santalaceae. Los taninos son muy abundantes (+++) en las siguientes familias: Asteraceae, Chenopodiaceae, Ephedraceae, Erytroxilaceae, Gencianaceae, Hydrophyllaceae, Lamiaceae, Plantaginaceae y Santalaceae, mientras que los carbohidratos fueron muy abundantes (+++) en la planta “panti panti” perteneciente a la familia Asteraceae (Brack, 1999).

Los resultados fitoquímicos cualitativos de la investigación, concuerdan con las pruebas de caracterización fitoquímica practicadas en los extractos de hojas y ramas de *Laurelia sempervirens*, partes aéreas de *Modiola caroliniana* y láminas y peciolos de las hojas de *Gunnera tinctoria*, quienes mostraron resultados positivos a la presencia de azúcares reductores, azúcares no reductores, taninos, flavonoides, antraquinonas, gomas, mucílagos y esteroides para todas las partes analizadas (Fenglin *et al.*, 2004), asimismo con Charri & Huamán (2017), quienes en la canela (*Cinnamomum zeylanicum*), demostraron la presencia de esteroides, triterpenoides, flavonoides, fenoles, naftoquinonas, alcaloides y azúcares.

En la planta evaluada, se estableció la presencia abundante (2+) de taninos, a los cuales se les atribuye propiedades anti – inflamatorias, antidiarreicas y cicatrizantes, donde la actividad anti – inflamatoria, se deben principalmente a la capacidad de retener los radicales libres, deteniendo algunos procesos inflamatorios (Fenglin *et al.*, 2004). La presencia de flavonoides en las plantas de mostaza, exhibiría múltiples propiedades beneficiosas, por lo que es ampliamente utilizada en medicina tradicional Mapuche (Pacheco *et al.*, 1993), tal es el caso de la infusión de las hojas de *Laurelia sempervirens* que es utilizado para calmar dolores de cabeza (Arberts *et al.*, 2003), lo cual puede estar relacionado con las propiedades analgésicas mostradas por flavonoides; sin embargo, no concuerda con los resultados obtenidos por Schmeda *et al.* (1996), quienes no reportaron alcaloides en *Laurelia sempervirens*, en especial alcaloides del tipo bisbencil isoquinolínicos, atribuyendo esta diferencia a que la metodología escogida no fue la indicada para determinar la presencia de este tipo de metabolitos en las especies de este estudio.

En los últimos años se viene investigando a las plantas en la búsqueda de nuevos principios activos, en razón de que desde el comienzo de la medicina fueron las que proveyeron las estructuras básicas de numerosos medicamentos (Carballo *et al.*, 2005),

razón por la cual se vienen realizando registros de plantas medicinales, así como también su screening o tamizaje a nivel genotóxico mediante el ensayo de electroforesis de una sola celda, para su determinación si inducen al daño del ADN, tales como el paico (*Chenopodium multifidum*), la canchalagua (*Schkuhria pinnata*), el espino colorado (*Solanum sisymbriifolium*) y el molle de beber (*Lithraea molleoides*), induciendo a roturas de cadena simple y doble, dándose a conocer que el consumo masivo de algunas plantas necesitan de regulación y estudio toxicológicos de las plantas medicinales .

En la investigación de principios activos en mostaza, se ha determinado que, en el mes de febrero, se observó mayor contenido de principios activos con respecto al mes de abril, siendo un aspecto muy importante, y que la variación se debe a los factores internos de la planta, así como son aquellos relacionados con el adecuado crecimiento de la especie, los referidos a la recolección y conjuntamente también las condiciones climáticas, pues como seres vivos que son, las plantas están en constante interacción con el medio que las rodea; esencialmente el clima influye en un momento determinado en su crecimiento y desarrollo y en especial en la producción de sus metabolitos secundarios (Acosta, 2003).

El clima del hábitat donde crecen las plantas, ejerce gran influencia en la producción de principios activos, por otro lado, la luz, temperatura y las precipitaciones fundamentalmente tienen un efecto marcado sobre su presencia en las plantas, este último factor ambiental (la precipitación) sería la razón del por qué las plantas colectadas en el mes de febrero presentaron mayor contenido de principios activos. Otro factor poco estudiado es la velocidad del viento, que por su acción se incrementa la evaporación de aceite esenciales y que sin embargo en el caso de los alcaloides tropánicos el aumento de la transpiración en las plantas hace que sea mayor el contenido de líquido que asciende desde las raíces, por lo que es muy probable, aunque no se ha comprobado, que por esta vía se incremente el contenido en las hojas en las especies productoras de estos alcaloides, tal como lo sucedido en la investigación (Acosta *et al.*, 1989).

La luz es posiblemente el factor de mayor significación, está estrechamente relacionada con la temperatura y varía con la estación del año y la hora del día; es menor en otoño e

invierno a causa de la inclinación de los rayos solares y al alto grado de nubosidad y más intensa en horas del mediodía debido a la mayor elevación angular del sol. La luz favorece el crecimiento de los tejidos jóvenes etapa en la cual se sustenta la teoría ocurre la acumulación de los principios activos (Lemes *et al.*, 1998). La temperatura también juega un papel importante en la producción de metabolitos secundarios, influye grandemente en el crecimiento acelerado y en el equilibrio entre el proceso de fotosíntesis y respiratorio y por consiguiente en la producción de los principios activos, con relación a las precipitaciones, la misma juega un rol fundamental al modificar los efectos ecológicos de otros factores, por ejemplo, regulador de las temperaturas; en el caso de las plantas cultivadas también el riego es un elemento a considerar (Acosta, 2003).

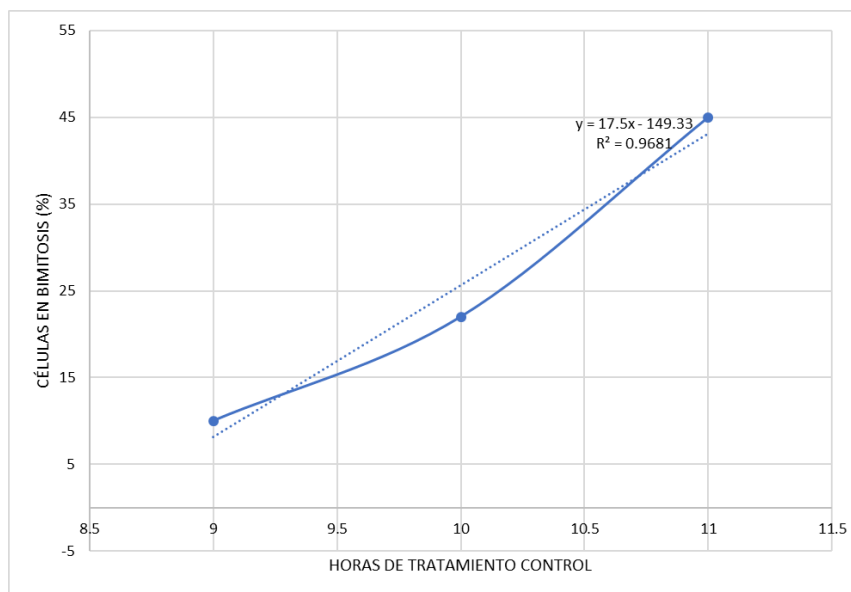
4.2 EFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Brassica rapa* L. SOBRE EL CICLO CELULAR DE MERISTEMOS RADICULARES DEL AJO

Para esta parte de la investigación, solo se trabajó con los extractos acuosos de hojas de mostaza, en razón de que presentó un mayor performance con respecto a al contenido de principios activos, dichos extractos o infusiones de hojas fueron experimentadas en concentraciones de 30, 50 y 100%, comparadas con el tratamiento control (agua destilada). En el tratamiento control (agua destilada) se determinó una duración de la B - interfase de 7 horas 00 minutos de dura, estas fueron inferiores a los obtenidos con las concentraciones de 50 y 100% con 7 horas 51 minutos y 8 horas 32 minutos respectivamente (Tabla 5), constatándose así que estos dos extractos demoran el proceso de la división celular, alargando los tiempos de duración del ciclo celular, por lo que se les estaría considerando que la mostaza poseería actividad antiproliferativa celular y por ende anticancerígena, faltando por cierto realizar estudios más minuciosos con respecto a su composición fitoquímica.

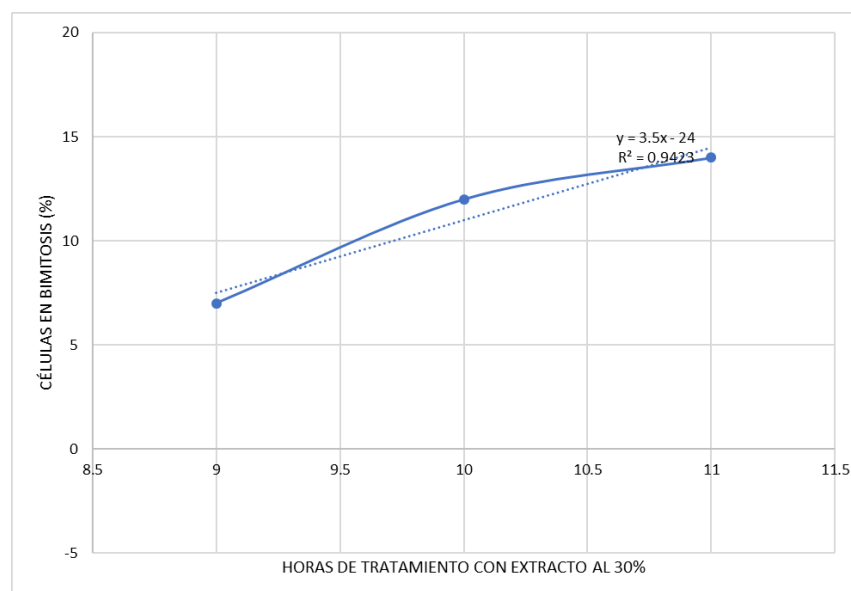
Tabla 5. Células bimitóticas (%), durante la B-interfase luego de la aplicación de extractos acuosos de hojas de mostaza, laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón, agosto 2017.

Concentración del extracto acuoso	Horas de tratamiento						Duración del ciclo celular	
	6	7	8	9	10	11	Cálculo	hr/min
30%	0.00	0.00	0.00	7.00	12.00	14.00	6.85	6h51m
50%	9.00	24.00	45.00	66.00	52.00	34.00	7.85	7h51m
100%	4.00	9.00	21.00	28.00	24.00	25.00	8.53	8h32m
Control	0.00	0.00	0.00	10.00	22.00	45.00	7.00	7h00m

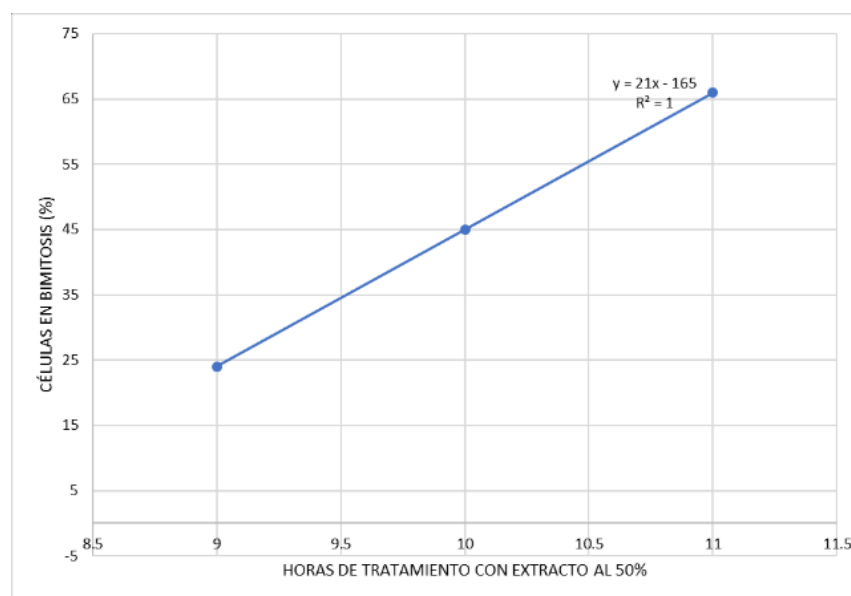
Luego de realizar los análisis estadísticos de regresión lineal, se obtuvieron coeficientes de correlación de 0.9681, 0.9423, 1 y 0.9774, para el tratamiento control, extracto acuoso al 30%, 50% y 100% respectivamente; de todos estos análisis, la regresión lineal que se ajusta adecuadamente a los datos reales y sirve para realizar pronósticos sería el tratamiento al 50% de extracto de mostaza, ya que se obtuvo una correlación perfecta positiva de 1 (Figura 8). Por otro lado, se observa que la tendencia es al incremento del porcentaje de células en bimitosis, mientras transcurre el tiempo de tratamiento con los extractos.



a



b



c

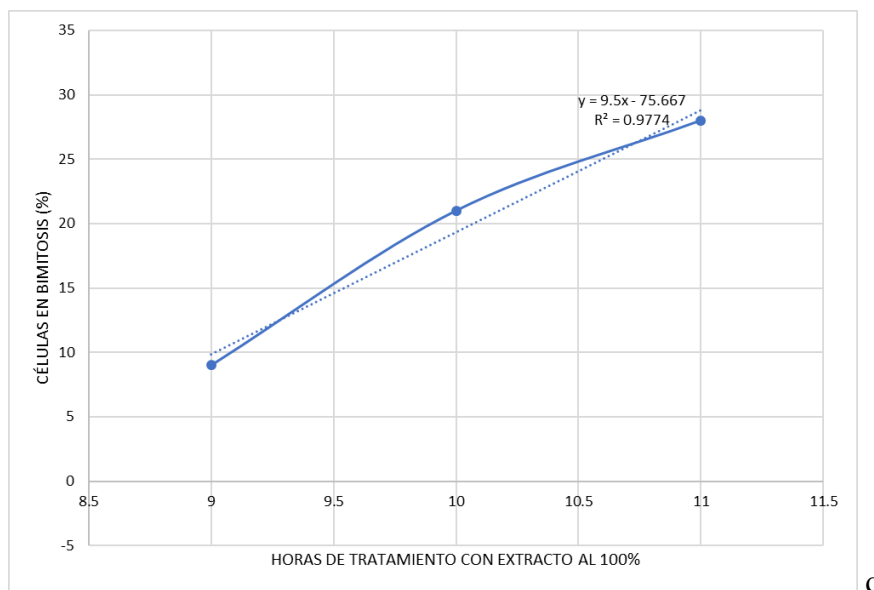


Figura 8. Regresión lineal del porcentaje de células bimitóticas, durante la B-interfase, luego de la aplicación de extractos acuosos de hojas de mostaza (a control, b 30%, c 50% y d 100%), laboratorio de Microbiología de la FCCBB-UNA PUNO, agosto 2017.

Aunque se debería esperar que la mayor eficacia del efecto antitumoral, lo lograría a mayores concentraciones de la infusión, esto no sería así debido a una sobresaturación de los componentes activos sobre el sustrato. Los resultados de la investigación concuerdan con lo mencionado por Suárez *et al.* (2010), quienes demostraron que la infusión de la planta *Bomirea cornigera* a una concentración de 1X posee un efecto antitumoral, tanto en términos de peso como en longitud, similar al de la Ciclofosfamida; sin embargo, este fármaco posee un índice terapéutico muy bajo y es frecuente encontrar efectos tóxicos especialmente en pacientes que han recibido tratamiento inmunosupresor, por lo tanto, existen la necesidad de encontrar tratamientos alternativos con plantas medicinales que muestren eficacia pero sin presentar efectos adversos, y así lograr mejorar la calidad de vida de los enfermos de cáncer (Xue *et al.*, 2009).

Las duraciones de los ciclos celulares con extractos al 50 y 100% de mostaza, fueron incrementados con respecto a la duración del ciclo celular del tratamiento control, en 51 y 92 minutos. Estos resultados se explicarían debido a que probablemente se estaría afectando la normal actividad de las ciclinas mitóticas; en razón de que los compuestos fitoquímicos que poseen las hojas de la mostaza presentaría capacidad oxidante, tales como los taninos, los ácidos, los ésteres triterpénicos, los alcaloides, los heterósidos de

sitosterol y el estigmasterol, entre otros presentes en los extractos acuosos, quienes estarían ejerciendo un efecto oxidativo que estaría afectando la formación del complejo CdK1-ciclina B, el cual forma a su vez forma el Factor Promotor de la Mitosis (FPM), ocasionando que las células no transiten normalmente de la fase G2 (segundo punto de control del ciclo celular) hacia la mitosis; disminuyendo consecuentemente el número de células en división (Saldaña *et al.*, 2012).

Por otro lado, Paniagua *et al.* (2002), afirman que el efecto oxidativo de los compuestos mencionados anteriormente afectarían la formación del complejo Ciclina B- cdk1, que entre otras funciones es responsable de activar a las proteínas del mantenimiento estructural cromosómico (SMC) conocidas como condensinas, de llevar a cabo la polimerización de microtúbulos para la formación del huso mitótico, traería como consecuencia que los procesos de condensación del ADN y formación del huso acromático, se vean seriamente afectados, no transitando entonces las células normalmente desde la profase hacia la metafase. Asimismo, Quispe (2009), indica que se debería a la inhibición del FPM, disminuyendo el ensamblaje del huso mitótico y dejando de inducir la polimerización de microtúbulos que se elaboran perpendicularmente al eje mayor del cromosoma y que se anclan por una de sus extremidades en el cinetocoro.

Beltrán (2009), menciona que si un compuesto químico como es el caso del extracto acuoso de mostaza, posee alargamiento del ciclo celular (probable actividad anticancerígena), se debería a un alto efecto citostático de algunos de los componentes de las plantas, bloquea el paso de las células de profase a metafase al actuar sobre las moléculas de ciclina que ordenan la progresión de la profase o porque el principio activo estaría inhibiendo la disgregación de la envoltura nuclear o carioteca (Beltrán y Beltrán, 2016), asimismo actuarían inhibiendo la actividad catalítica de las proteínas denominadas cohesinas, MAPs y catastrofinas; las cuales a su vez se encargan de llevar a cabo el proceso de segregación de cromátidas, originando que las células transiten normalmente hacia anafase y telofase (Lodish *et al.*, 2012).

En la región Puno, contamos con una gran flora poco estudiada hasta el momento, razón por la cual se realizó esta investigación, ya que en los últimos años la fitoterapia representaría una buena alternativa como complemento terapéutico antineoplásico, dado

su descrita baja toxicidad (Vickers & Cassileth, 2006), en Ecuador, el extracto herbal derivado de la planta *Solanum Dulcamara* es un suplemento nutricional que se comercializa para fines médicos, incluyendo algunas enfermedades neoplásicas (Shamaladevi *et al.*, 2016). El potencial anticanceroso de las plantas medicinales es ampliamente reconocido tanto por su contenido en antioxidantes naturales como por ser fuente potencial de compuestos químicos con actividad antitumoral y citotóxica al sintetizar en sus estructuras compuestos bioactivos estructuralmente diversos. Debido a la gran cantidad y variedad de compuestos de origen vegetal con actividad antiproliferativa.

V. CONCLUSIONES

- La composición fitoquímica cualitativa en los extractos acuosos de la mostaza (*Brassica rapa* L.) fue de alcaloides (++ o +++), fenoles (++) y azúcares reductores (+++) en hojas, siendo superior al contenido de metabolitos secundarios en flores (+ o ++).
- Los extractos acuosos de mostaza (*Brassica rapa* L.) en concentraciones de 50 y 100% retardaron en 51 y 92 minutos el proceso del ciclo celular, con respecto al tratamiento con agua destilada, poseendo un efecto retardante en la finalización del ciclo celular.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios acerca de la composición fitoquímica cuantitativa de los complejos activos con potencial reductor del ciclo celular.
- Realizar una comparación del efecto en duración del ciclo celular de plantas de una misma especie, pero procedentes de diferentes altitudes que se presenta en el Altiplano Peruano. ya que los factores ambientales y edafológicos podrían variar la producción de metabolitos activos en las plantas.

VII. REFERENCIAS

- Acosta L., Triana J., Jiménez L., Granda M., Fuentes V. & Fernández A. (1989) Variación en los contenidos de aceite esencial y (-)-alfa-bisabolol en la manzanilla (*Matricaria recutita*). I. Cosecha a diferentes horas del día. Rev Plant Med. Vol. 9: 15 – 24.
- Acosta L. (2003). Principios agroclimáticos básicos para la producción de plantas medicinales. Rev. Cubana Plant. Med. No. 1. Ene – abr.
- Aguirre A. (2000). Guía práctica del ciclo celular y mitosis. Editorial Norma. Cali – Colombia. 8va Edición. 651 - 676.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. & Walter P. (2004). Biología molecular de la célula. Ediciones Omega. Barcelona – España. 4ta Edición.
- Amri E. (2014). The role of selected plant families with dietary ethnomedicinal species used as anticancer. Jorunal of Medicinal Plants Studies. Vol. 2 (1): 28 – 39.
- Arbert C., Bittner M., Becerra J. & Silva M. (2003). Estudio Químico y de Actividad Biológica de Alcaloides en las especies *Laureliopsis philippiana* y *Laurelia sempervirens* (Monimiaceae), Nativas de Chile. XXIX Jornadas Argentinas de Botánica & XV Reunión Anual de la Sociedad Botánica de Chile. Boletín de Fitoquímica.
- Areiza N., Maldonado M. & Rojano B. (2013). Extracto acuoso de uchuva (*Physalis peruviana*): actividades antiproliferativa, apoptótica y antioxidante. Rev. Perspectivas en Nutrición Humana. Vol. 15, No. 1: 41 – 55.
- Azcon M. & Talom V. (2003). Fundamentos de Fisiología Vegetal. Ed. Mc. Graw Hill. España.
- Beltrán R. y Beltrán P. (2016). Regulación del ciclo celular (CC) de *Vicia faba* L. por el extracto alcohólico de *Annona cherimola* Mill “chirimoya”. Rev. Scientia Agropecuaria. Vol. 7 (3): 245 – 251.
- Beltrán O. (2009). Perfiles ecotoxicológicos de solventes de la industria del calzado y de plaguicidas agroquímicos mediante los biomonitores *Vicia faba* y *Allium cepa* en la región La Libertad. Libro de resúmenes, Cong. Intern. de Ecología y Medio Ambiente. p. 152.
- Benites, J., Bravo F., Rojas M., Fuentes R., Moiteiro C. & Florencia V. (2011). Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis* Phil. from Chile. J. Chilean Chemical Society. 56 (2), 712 – 714.
- Bermúdez, A., Oliveira-Miranda M. & Velázquez D. (2005). La Investigación Etnobotánica Sobre Plantas Medicinales: Una Revisión de sus Objetivos y Enfoques Actuales. Rev Cubana Farmacia. Vol. 30 (8): 453 – 459.
- Brack, A. (1999). Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Centro Bartolomé de las Casas, Cuzco. 550 p.
- Campbell N. & Reece J. (2007). Biología. Séptima edición. Editorial Médica Panamericana.

Madrid – España.

- Cano M., Peña J. & Gonzáles H. (2002). Alteraciones de los índices de fases y mitótico en meristemas de *Allium cepa*, inducidas por extractos de *Lepidium meyenii* Walp. “maca”. Rev. De la Facultad de Medicina Humana. Vol. 3 (1): 21 – 22.
- Carvajal L., Hata Y., Sierra N. & Rueda D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). Revista Colombia Forestal. Vol. 11: 161 – 170.
- Carballo M., Cortada C. & Gadano A. (2005). Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. Theoria. Vol. 14 (2): 95 – 108.
- Castañeda B., Castro R., Manrique R., Paredes M. & Ibáñez L. (2006). Evaluación de la acción citotóxica y embriotóxica del extracto metanólico de *Alchornea castaneifolia* “Hiporuro”. Rev. Medicina. USMP. Lima – Perú. Vol. 6 (1): 1 – 10.
- Colli J., Rodríguez L., & Castaño E. (2007). El control del ciclo celular en plantas. Ciencia. 67 – 72.
- Cortés, J. (2005). Actividad biológica de extractos de plantas usadas para el tratamiento del cáncer e infecciones en Tepatepec, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Área Académica de Biología, Centro de Investigaciones Biológicas, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Hidalgo – México. 139 p.
- Charri K. & Huamán C. (2017). Actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* “canela” frente a biopelículas de *Psuedomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas in vitro sobre lentes de contacto blandos. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
- De Veylder L., Beeckman T., Beemster G., De Almeida J., Ormenese E., Maes S., Naudts M., Van Der Schueren E., Jacqmard A., Engler G. & Inze D. (2002). Control of proliferation and of reduplication and differentiation by the Arabidopsis E2Fa-DPa transcription factor. The EMBO Journal. Vol. 21: 1360 – 1368.
- Evans W. (1991). Treese y Evans Farmacognosia. 13ª edición. Edirotrial Interamericana McGraw – Hill.
- Fenglin H., Ruili L., Bao H. & Liang M. (2004) Freeradical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants. Fitoterapia. Vol. 75: 14 – 23.
- Fernández C. (2015). Efecto de los extractos etanólico / acuoso de *Moussonnia deppeana* y *Justicia spicigera* sobre la proliferación y la viabilidad de la línea celular de carcinoma prostático LNCaP. Tesis Doctoral. Posgrado en Neuroetología, Universidad Veracruzana. Veracruz – México. 118 p.
- Freyre S., Estrada M. & Bolaños H. 2009. Estudio preliminar de la citotoxicidad y la

- genotoxicidad de un extracto de origen vegetal conocido como palmo rosado en células meristemáticas de *Allium cepa*. Revista Nacional de Investigaciones – Memorias. Vol. 5 (12): 12 – 17.
- Gallmeier M. (2017). Efecto antineoplásico de un extracto de *Solanum dulcamara* (BIRM ®) sobre células de carcinoma mamario canino (*Canis Lupus familiaris*) CF41.Mg. Tesis de Magíster. Maestría en Ciencias Animales y Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. 52 p.
- Garza M., Sánchez V., Godínez S. & Lara A. 2014. Avances recientes en el estudio del ciclo celular de plantas. Rev. REB. Vol. 32 (2): 39 – 47.
- Hsieh, Y., Yang M., Leu Y., Chen Ch., Wan Ch., Chang M. & Chang Ch. (2012). *Kalanchoe tubiflora* extract inhibits cell proliferation by affecting the mitotic apparatus. BMC Complementary and Alternative Medicine. 12 (149), 10 p.
- Ibañez, V. (2009). Métodos estadísticos. Maestría en Ganadería Andina. Escuela de Post Grado, Universidad Nacional del Altiplano. Editorial Universitaria. Puno – Perú. 582 p.
- Jiménez E. (2006). Estudio de las actividades antitumorales de un extracto de caléndula: propiedades inmunomoduladoras y citotóxicas. Tesis Doctoral. Departamento de Bioquímicas y Biología Molecular. Universidad de Granada. Granada – España. 184 p.
- Karp G. (2014). Biología Celular y Molecular. Editorial McGraw – Hill Interamericana. Séptima Edición.
- Lagunas M., Valle A. & Soto I. (2014). Ciclo celular: Mecanismos de regulación. Revista Especializada en Ciencias de la Salud. Vol. 17 (2): 98 – 107.
- Lemes M., Rodríguez C., Reyes M. & Echevarria I. (1998). Efecto de las condiciones de cultivo sobre el rendimiento de follaje y el porcentaje de aceite en hojas de *Piper auritum* Kunth (caisimón de anís). Rev Cubana Plant Med. Vol. 3 (1): 37 – 41.
- Li, L. (2011). Preparation of penta-O-galloyl-beta-D-glucose from tannic acid and plasma pharmacokinetic analyses by liquid-liquid extraction and reverse-phase HPLC. J Pharm Biomed Anal. Vol. 54 (3): 545 – 50.
- Liu R. (2004). Potential synergy of Phytochemicals in cancer prevention, mechanism of action. Journal Nutr. Vol. 134 (12): 3479 – 3485.
- Llopart, N. (2016). Las plantas medicinales como fuente de compuestos antineoplásicos. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. España. 25 p.
- Lock O. (1994). Investigación fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. Segunda Edición. Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima – Perú.
- Lodish H., Baltimore D., Berk S., Ziapursky S., Matsudaira P. & Darnell J. (2012). Molecular Cell Biology. New York: Edit. Scientific American Books. INC.
- Lomanto L., Ortiz O., Bretón C., Gómez A. & Meza V. (2003). El ciclo celular. Rev. Med

UNAB. Vol. 6, No. 16: 21 – 29.

- Martínez, B. (2013). El género *Bomarea* (Alstromeriaceae) en la región La Libertad, Perú, 2013. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo – Perú. 75 p.
- Medina, M. (1997). Estudio Fitoquímico de *Ephedra americana* H. & B. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa – Perú. 54 p.
- Morales, G., Sierra P., Loyola L. & Borquez J. (2000). A new eremophylanolide from *Senecio atacamensis*. Bol. Soc. Chil. Quím. Vol. 45 (4).
- Mostacero J., Mejía F. y Gamarra O. (2009). Fanerógamas del Perú: Taxonomía, utilidad y ecogeografía. Edit. Graficart SRL. Trujillo - Perú. 1331 p.
- Nelson D. & Cox M. (2009). Lehninger, Principios de Bioquímica. Quinta Edición. Ediciones Omega. Barcelona – España.
- Ospina S., López J. & Márquez M. 2007. Efecto antimutagénico *in vitro* en el extracto metanólico de macroalgas marinas de la costa Caribe colombiana. Rev. Vitae. Universidad de Antioquía, Medellín - Colombia. Vol. 14 (2): 84 – 89.
- Pacheco P., Crawford D., Stuessy T. & Silva M. (1993). Flavonoid chemistry and evolution of *Gunnera* (Gunneraceae) in the Juan Fernandez Islands, Chile. Gayana Botánica. Vol. 50 (1): 17 – 28.
- Paniagua R., Nistal M., Sesma P. & Alvarez U. (2002) Citología e Histología Vegetal y Animal. 3ra edición. Editorial Mc. Graw – Hill. Interamericana. Madrid – España.
- Quispe J. (2009) Efecto del sorbato de potasio a diferentes concentraciones y tiempos de exposición sobre el ciclo celular y el material genético en meristemos radiculares de *Allium cepa*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo.
- Ramírez E., Corinne F. & Gutiérrez C. (2003). A genome – wide identification of E2F-regulated genes in *Arabidopsis*. The Plant Journal. Vol. 33: 801 – 811.
- Trimarchi J. & Lees J. (2002). Sibling rivalry in the E2f family. Nat. Rev. Mol Cell Biol. Vol. 3: 11 – 20.
- Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L. & Zhang L. (2003). Flavonoids: Promising Anti-cancer Agents. Med. Res. Rev. Vol. 23 (4): 519 – 534.
- Ruenes C. (2002). Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria, Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas de la República de Cuba.
- Schmeda G., Dutra M., Habermehl G. & Jakupovic J. (1996). Seco – isotetradrine from *Laurelia sempervirens*. Phytochemistry. Vol. 41: 339 – 341.
- Saldaña, J., Muro J., Zavala F., Zavaleta G., Araujo Jh. y Fajardo K. (2012). Efecto del extracto acuoso de *Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones sobre el ciclo celular en

- meristemas radicales de *Allium cepa*. Revista REBIOL. Trujillo – Perú. 32 (2), 27 – 38.
- Shamaladevi N., Araki S., Lyn D., Ayyathurai R., Gao J., Lokeshwar V., Navarrete H., Lokeshwar B. (2016). The andean anticancer herbal product BIRM causes destabilization of androgen receptor and induces caspase-8 mediated-apoptosis in prostate cancer. *Oncotarget*. Vol. 7 (51): 84201 – 84213.
- Sotelo A., Figueroa C., Césare M. & Alegría M. (2017). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Bursera graveolens* (Burseraceae) from Perú. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. Vol. 51 (3).
- Stein G. & Pardee A. 2004. *Cell Cycle and Growth Control: Biomolecular Regulation and Cancer*. 2nd Edition. 824 p.
- Suárez, J., Villanueva Ch., Rodríguez Cl., Lavado K., Barbieri M., Guzmán L., Alfaro R. & Pino J. (2010). Efecto antitumoral del extracto acuoso de *Bomarea cornígera* (Alstroemeriaceae) en sarcomas inducidas en ratones. *Rev. Peru. Biol.* 17 (3), 385 – 388.
- Vega E., Velasco R., & Jiménez M. (2006). Las plantas como fuente de compuestos antineoplásicos. *Medigraphic Artemisa*. Vol. 31 (3): 97 – 11.
- Vickers A. & Cassileth B. (2006). *Complementary and Alternative Medicine for Cancer. Oncology: An Evidence-Based Approach*. 194 – 203.
- Watson J., Baker T., Bell S., Gann A., M. Levine & M. Losick. (2006). *Biología molecular del gen*. 5ta edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid – España. 776 p.
- Wen S. (2001). The plant cell cycle: G1/S regulation. *Euphytica*. Vol. 118: 223 – 232.
- Wen S. (2002). The plant E2F – Rb pathway and epigenetic control. *Trends in Plant Science*. Vol. 7: 505 – 511.
- Xue Z., W. Yu, M. Wu, & J. Wang. (2009). *In Vivo* antitumor and antioxidative effects of a rapeseed meal protein hydrolysate on an S180 tumor-bearing murine model. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. Vol. 73 (11): 2412 – 2415.
- Zheng, X., Wang W., Piao H., Xu W., Shi H. & Zhao Ch. (2013). The Genus *Gnaphalium* L. (Compositae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. *Review. Molecules Journal*. 18. 8298 – 8318.

ANEXOS



Figura 9. Recolección de plantas de nabo silvestre (*Brassica rapa*), recolectado en el centro poblado de Jayllihuaya - Puno, febrero a marzo del 2017.



Figura 10. Secado de muestras de flores y hojas de nabo silvestre, gabinete de Zoología, FCCBB, UNA Puno, marzo del 2017.



Figura 11. Pesado de muestra vegetal molida de hojas y flores de nabo silvestre, abril del 2017.



Figura 12. Obtención de extractos acuosos de hojas y flores de nabo silvestre, gabinete de Zoología, abril a mayo del 2017.



Figura 13. Evaluación fitoquímica de los extractos acuosos de hojas y flores de nabo silvestre, gabinete de Zoología, FCCBB, UNA Puno, mayo del 2017.

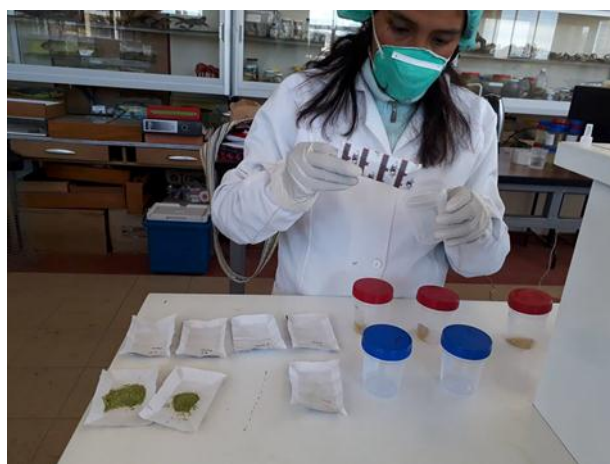


Figura 14. Preparación de extractos acuosos de nabo silvestre, gabinete de Zoología, FCCBB – UNA Puno, mayo del 2017.



Figura 15. Tinción de células de las raíces del ajo, laboratorio de Patología Clínica del hospital Regional Manuel Núñez Butrón, junio a julio del 2017.

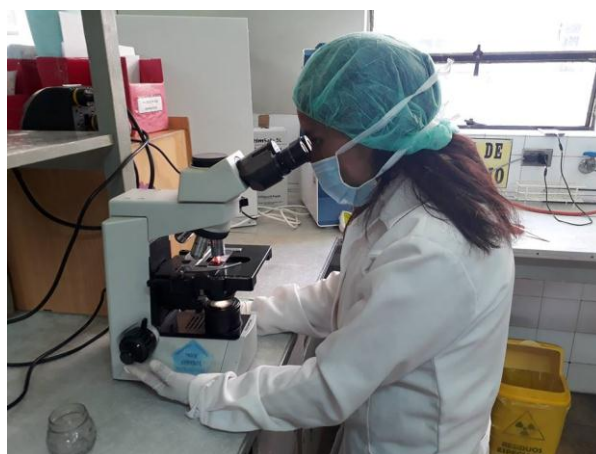


Figura 16. Observación de células de la cofia de las raíces de ajo, laboratorio de Patología Clínica del hospital Regional Manuel Núñez Butrón, julio del 2017.

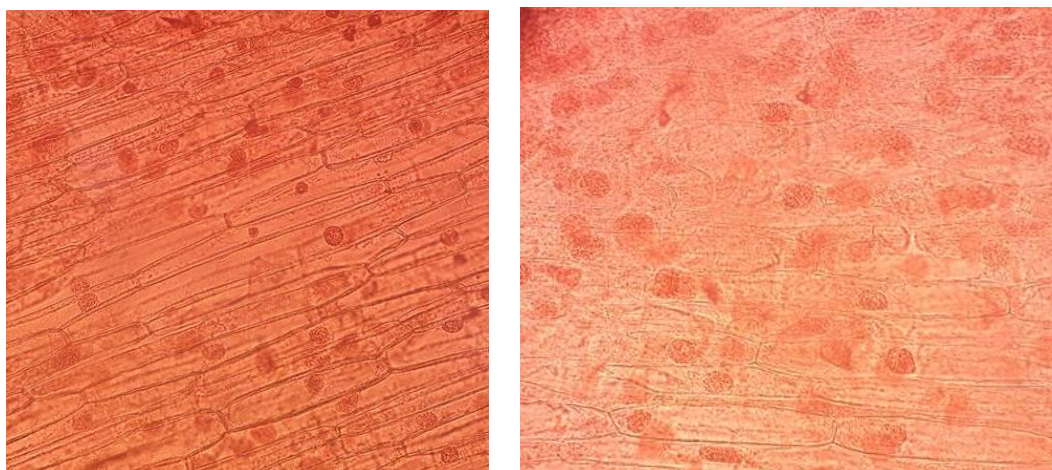


Figura 17. Células de la cofia de las raíces de ajo, laboratorio de Patología Clínica del hospital Regional Manuel Núñez Butrón, julio del 2017.



PERÚ

Ministerio
de SaludHOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRON
AV. EL SOL N°1022

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

“Año del Buen Servicio al Ciudadano”

CONSTANCIA**El Jefe del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” de Puno.****HACE CONSTAR:**

Que la Srta. Denisi Fabiola MAMANI QUISPE, egresada de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno, con mención en **Microbiología y Laboratorio Clínico** ha realizado la lectura de láminas microbiológicas de su trabajo de investigación, durante cuatro días en el microscopio del área de Microbiología del servicio de Patología Clínica del Hospital Regional “MNB” de Puno, en el mes de Julio del 2017.

Se expide la presente a solicitud personal para fines que crea por conveniente.

Puno, 17 de Noviembre del 2017

Atentamente



Dr. Francisco A. Lajo Soto
Patólogo Clínico y Anatómico Patólogo
JEFE DE DEPARTAMENTO
CNP. 19965 RNE. 13738



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE ZOOLOGIA APLICADA

CONSTANCIA

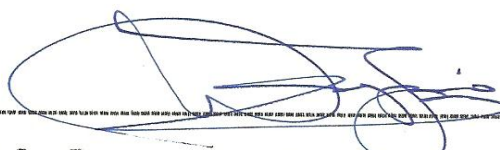
EL JEFE DE LABORATORIO DE ZOOLOGIA APLICADA: MICROBIOLOGIA
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO

HACE CONSTAR QUE:

La Srta Br. DENISI FABIOLA MAMANI QUSPE Egresada de la facultad ciencias biológicas de la especialidad de Microbiología y laboratorio clínico; ha realizado su trabajo de Investigación titulado EFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS Y FLORES DE *Brassica rapa* L. EN EL CICLO CELULAR DE MERISTEMOS RADICULARES DE *Allium sativum* L. ejecutado en los meses de febrero a julio del 2017; desempeñándose con responsabilidad y dedicación.

Se expide el presente a solicitud de la interesada y para los fines que vea conveniente, que en caso necesario me remite al documento de autoridad del Sr. Decano de la facultad.

Puno 07 de agosto de 2018



D. Sc. Buenaventura Carpio Vásquez
JEFE DEL LABORATORIO DE
ZOOLOGIA APLICADA