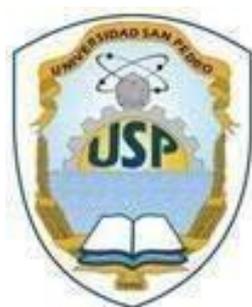


UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto protector del extracto de flores de Cordia lutea Lam.
"Flor de overo" ante la toxicidad del mercurocromo en
raíces de Allium cepa L

Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico

Autor

Oscar Israel Jiménez Paiva

Asesor

Q.F. Felipe Ortiz Coloma

Sullana - Perú

2018

1.- Palabras clave

Tema	Farmacoterapia de los Productos Naturales
Especialidad	Farmacología y Farmacia

Keywords

Subject	Pharmacotherapy of Natural Products
Speciality	Farmacología y Farmacia

Línea de Investigación

Recursos Naturales Terapéuticos y Fitoquímica

Disciplina (OCDE)

Farmacología y Farmacia

2.- Título

Efecto protector del extracto de flores de *Cordia lutea Lam.* "Flor de overo" ante la toxicidad del mercurocromo en raíces de *Allium cepa L*

JURADO EVALUADOR

Q.F. Walter Gonzales Ruiz

Presidente

Q.F. Edwin Sánchez Moreno

Secretario

Q.F. Felipe Ortiz Coloma

Vocal

3.- RESUMEN

La contaminación por metales pesados y metaloides en recursos hídricos, suelos y aire plantea una de las más severas problemáticas que comprometen la seguridad alimentaria y salud pública a nivel global y local, por lo cual son necesarios estudios de monitoreo y control de la magnitud de estas exposiciones y sus efectos, con el fin de identificar el estado de salud de las poblaciones. La presente investigación se enfocó en estudiar el nivel de protección del flavonoide rutina, presente en las flores de *Cordia lutea Lam.* "flor de overo", frente a la genotoxicidad del mercurio.. El estudio realizado fue de tipo experimental prospectivo, para lo cual se inició el trabajo mediante la obtención de la muestra vegetal en el mercado local de abastos de la ciudad de Sullana, Piura, Perú; posteriormente se procedió a realizar las siguientes etapas: Selección y lavado, secado de la muestra vegetal, obtención de la infusión, aplicación de la infusión sobre los 25 bulbos de *Allium cepa* previamente preparados, observación y tabulación de resultados. Se concluye que la infusión de *Cordia lutea* tiene efecto citoprotector en células meristemáticas de *Allium cepa*.

Palabras clave: Toxicidad, mercurocromo, protección celular.

4.- ABSTRACT

The contamination by heavy metals and metalloids in water, soil and air resources poses one of the most severe problems that compromise food security and public health at a global and local level, for which studies of monitoring and control of the magnitude of these are necessary. exposures and their effects, in order to identify the health status of the populations. The present investigation focused on studying the level of protection of the flavonoid routine, present in the flowers of *Cordia lutea* Lam. "flower of overo", against the genotoxicity of mercury .. The study was a prospective experimental type, for which work was started by obtaining the plant sample in the local market of supplies of the city of Sullana, Piura , Peru; Subsequently, the following stages were carried out: Selection and washing, drying of the vegetable sample, obtaining the infusion, application of the infusion on the 25 previously prepared *Allium cepa* bulbs, observation and tabulation of results. It is concluded that *cordia lutea* infusion has a cytotoprotective effect in meristematic cells of *Allium cepa*.

Key words: Toxicity, mercurochrome, cells protection.

ÍNDICE

1. PALABRAS CLAVE.....	i
2. TITULO	iii
3. RESUMEN	iv
4. ABSTRACT	v
5. INTRODUCCIÓN.....	1
5.1 Antecedentes yFundamentación científica.....	2
5.2 Justificación de la investigación	15
5.3 Problema.....	20
5.4 Conceptualización y operacionalización de las variables de investigación	22
5.4.1 Variable	22
5.4.1.1 Conceptualización.....	22
5.4.1.2 Operacionalización	22
5.5 Hipótesis	23
5.5.1 Hipótesis general	23
5.6 Objetivos.....	23
5.6.1 Objetivo General.....	23
5.6.2 Objetivos específicos.....	23
6. METODOLOGÍA	25
6.1 Tipo y diseño de investigación.....	25

6.2 Población y muestra.....	25
6.3 Técnicas e instrumentos.....	26
7. RESULTADOS.....	31
7.1 Resultados.....	31
8. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	41
9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
9.1 Conclusiones.....	45
9.2 Recomendaciones.....	45
10. Agradecimiento.....	47
11. Referencias Bibliográficas.....	48
12. Anexos.....	52

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Efecto del tipo de cebolla y proveedor sobre la longitud de las raicillas en 96 horas.....	36
Tabla 2: Efecto del tipo de agua sobre el crecimiento de las raicillas en 96 horas. ..	37
Tabla 3: Efecto de soluciones de mercurocromo sobre el crecimiento radicular en 96 horas.....	38
Tabla 4: Efecto de soluciones de mercurocromo + Infusión protectora de Cordia lutea sobre el crecimiento radicular en 96 horas.....	40
Tabla 5: Cuadro comparativo del crecimiento de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de Cordia lutea	42
Tabla 6: Cuadro comparativo del porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de Cordia lutea. 44	

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Efecto del tipo de cebolla y proveedor sobre la longitud de las raicillas en 96 horas.	37
Gráfico 2: Efecto del tipo de agua sobre el crecimiento de las raicillas en 96 horas.....	38
Gráfico 3: Efecto de soluciones de mercurocromo sobre el crecimiento radicular en 96 horas..	39
Gráfico 4: Efecto de soluciones de mercurocromo + Infusión protectora de Cordia lutea sobre el crecimiento radicular en 96 horas	41
Gráfico 5: Gráfico comparativo del crecimiento de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de Cordia lutea.....	43
Gráfico 6: Gráfico comparativo del porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de Cordia lutea.....	45

5. INTRODUCCIÓN

Actualmente en nuestro país existe un problema que se remota hasta hace varias décadas, especialmente en la parte de la selva, es la intoxicación aguda y crónica por el metal pesado conocido como mercurio (Hg).

En el Perú la expansión minera artesanal especialmente la aurífera y en muchos de los casos también denominada ilegal se inicia desde la década de los 70 y 80, debido a la crisis de las empresas formales y al abandono de las mismas las cuales pasan a formar parte de la explotación de los mismos trabajadores y otros actores que vieron en esta oportunidad de generar divisas de una forma ilegal y sin pagar impuestos.

Junto con este desarrollo de la minería ilegal también trae aparejado la contaminación desmedida por metales pesados como el mercurio que se necesita para obtener un producto puro y con un proceso más rápido aunque eso signifique contaminar desmedidamente.

El ingreso del mercurio se realiza por diferentes vías: respiratoria, digestiva y cutánea, el mercurio elemental tiene una vía principal de llegar al organismo que es la respiratoria y que puede alcanzar la sangre hasta con una eficacia del 80%, la cual es una cifra muy alta. Le sigue en importancia la vía digestiva, pero para que el mercurio llegue por esta vía tiene que transformarse en mercurio orgánico como es el caso del metilmercurio para de esta forma llegar al organismo por diferentes formas.

Este contacto del mercurio con el organismo es muy tóxico; produce daños a nivel del sistema nervioso central, perturbaciones del comportamiento y sobre todo a nivel renal que es el más afectado. Una de las características que hace peligroso al mercurio es que tiene la propiedad de acumularse en todos los seres vivos y de esta forma traer consigo la intoxicación aguda y crónica por mercurio de las cuales la segunda es la más peligrosa debido a que el paciente no puede detectar si se encuentra contaminado por este metal o no lo está.

Debido a esta problemática que se desarrolla no solo en los sitios de la selva de nuestro país como el departamento de Madre de Dios que tiene el porcentaje de minería ilegal más alto del Perú y asimismo la contaminación por mercurio más elevada con un aproximado de 181 toneladas de mercurio que se arrojan libremente al medio ambiente por empresas informales ignorantes o inescrupulosas, lo que causa que la contaminación por este metal sea muy elevada; también el efecto de este metal se puede observar en la costa y la sierra que son receptores de las aguas contaminadas.

Debido a ello es que se analizará la actividad citoprotectora de los flavonoides de *Cordia lutea Lam* más conocida como la “flor del overo” como una probable solución para la disminución de los efectos tóxicos agudos y crónicos del mercurio elemental así como el mercurio orgánico.

5.1 Antecedentes y Fundamentación científica

El crecimiento económico y la globalización han dado origen a evidentes beneficios pero al mismo tiempo han provocado la presencia de nuevos riesgos. Actualmente existen dificultades e incertidumbres para identificar con exactitud la relación causal entre medio ambiente y salud. La medición de la exposición a numerosos factores ambientales es compleja porque no disponemos de sistemas adecuados de información y vigilancia sanitaria que permitan valorar la magnitud y gravedad de los riesgos. La información disponible sobre las enfermedades relacionadas con el medio ambiente procede de la experimentación en animales, estudios de laboratorio, estudios epidemiológicos y toxicológicos. Los resultados de estos trabajos de investigación permiten extrapolar y estimar posibles riesgos para la salud pública. Sabemos, además, que algunas sustancias ambientales por debajo de ciertos niveles no son peligrosas. Sin embargo, otros agentes, tales como alérgenos, radiaciones ionizantes, contaminantes del aire, preparados químicos carcinógenos, pueden suponer un riesgo a niveles más bajos de los observados. A pesar de ello existen algunos trabajos que han identificado la relación entre determinados agentes ambientales y la salud humana (Marcos, 2005, pág. 118).

5.1.1 Antecedentes de la Investigación

Según nos refiere (Ospina, 2009) en su tesis titulada “Evaluación del Efecto Protector del aceite esencial de *Lippia alba* sobre la Toxicidad del Mercurocromo” en cuyo trabajo se evaluó la genotoxicidad y citotoxicidad del mercurocromo (merbromina) y el efecto protector del aceite esencial obtenido de la planta *Lippia alba* (Mill.). Se utilizó como sistema de prueba el Test de *Allium cepa*, el cual permite relacionar propiedades físico-químicas, concentración, tiempo de exposición, factores biológicos y nutricionales con la fitotóxicidad y genotóxicidad de un contaminante químico. Se utilizaron meristemos radiculares de cebolla blanca obtenidos de la incubación de los bulbos en agua potable, expuestos posteriormente a soluciones de mercurocromo de diferente concentración, a tiempos de exposición de 24 y 72 horas y empleando como blanco agua potable. El mismo procedimiento fue utilizado en un ensayo independiente para el aceite de *L. alba*. El efecto protector del aceite esencial de *L. alba* sobre la toxicidad del mercurocromo en los meristemos fue evaluado exponiéndolos a una concentración de 10 y 500 μM del mismo, más el aceite esencial (100 μM) con sus controles respectivos (DMSO y Cd). Para cada ensayo fue obtenido el índice mitótico (IM), la inhibición del crecimiento radicular, peso y la inducción de aberraciones cromosómicas, incluyendo puentes, cromosomas aislados y fragmentados (Ospina, 2009, pág. 19). El efecto protector del aceite esencial de *L. alba* fue observado al analizar las diferencias significativas que se presentaron cuando se compararon los valores de los parámetros evaluados, a saber Índice Mitótico (IM), Índice de Aberraciones (IA), longitud y peso de las raíces para las dos concentraciones de mercurocromo ensayadas (10 y 500 M), en ausencia y presencia del aceite esencial (100 ppm). Las conclusiones del estudio fueron:

5.1.1.1 El mercurocromo a las concentraciones de 10, 250 y 500 μM presentó efecto tóxico sobre el crecimiento radicular, índice mitótico e inducción de aberraciones cromosómicas en las células meristemáticas de *Allium cepa*, demostrándose el grado de sensibilidad de esta especie a la exposición con productos órganomercuriales.

5.1.1.2 A la concentración de 100 μM del aceite esencial empleada en este estudio, no

se produjo disminución del índice mitótico de las células meristemáticas ni del crecimiento de las raíces de *Allium cepa* en comparación con el control negativo (DMSO). Esto indica que a esta concentración el aceite de *Lippia alba* no presenta efecto genotóxico, a pesar de que para la carvona, componente principal del aceite esencial de *Lippia alba* se ha reportado efecto mutagénico débil en el Test Ames.

5.1.1.3 El aceite esencial de *Lippia alba* a la concentración de 100 μM , disminuyó la aparición de aberraciones cromosómicas (puentes cromosómicos, cromosomas fragmentados y aislados) y cambios morfológicos (adelgazamiento de las raíces) producidos por la exposición de células meristemáticas de *Allium cepa* a mercurocromo 10 μM , indicando un efecto protector o antígenotóxico del aceite de *Lippia alba* (Ospina, 2009, págs. 85-86).

Llontop & Díaz Vargas, (2014) en su estudio “Efecto citoreparador de *Aloe vera* L. “sábila” en tejidos embrionarios de *Allium cepa* L. “cebolla” con daño cromosómico inducido por amoxicilina”, determinó el efecto citoreparador de *Aloe vera* L. “sábila” en tejidos embrionarios de *Allium cepa* L. “cebolla” con daño cromosómico inducido por amoxicilina. Se seleccionó raicillas de 2.5 cm de 45 bulbos de *Allium cepa* L a fin de asegurar una cinética de mitosis constante de la muestra. Se usó un diseño experimental con 5 grupos tratados fijándose las raicillas cada 10 minutos para detectar las células en diversos momentos de mitosis. Se aplicó la técnica de coloración rápida de Tijo y Levan. Las conclusiones de esta investigación se resumen en lo siguiente:

5.1.1.3.1 En las condiciones experimentales de nuestro laboratorio a una dosis de 150 mL de *Aloe vera* L. “sábila” se observó mejor efecto citoreparador en tejidos embrionarios de *Allium cepa* L. “cebolla” dañados por amoxicilina.

5.1.1.3.2 El grupo control de *Allium cepa* L. que fue inducida por amoxicilina 1% presento alteraciones cromosómicas como: puentes, fragmentaciones, reordenamiento y sin aberraciones en porcentajes de 16.6%, 6.4%, 13.8% y 63.2% mientras que el grupo comparativo que recibió amoxicilina 1% más sábila presentó: puentes (5.3%),

fragmentaciones (2.9%), reordenamiento (4,9%) y sin aberraciones (86,9%), respectivamente.

5.1.1.3.3 Se presenta la posibilidad de que *A. cepa L.* se constituya en componente de un bioensayo que identifique el perfil genotóxico de los potenciales fármacos mutagénicos que actualmente se consumen en nuestro país (Llontop & Díaz Vargas, 2014, pág. 9).

5.1.2 Fundamentación Científica

Según Marcos, (2005) en su artículo titulado “La contaminación ambiental como factor determinante de la salud” en la Revista Española de Salud Pública, nos indica que:

Según KR, Corvalán, Kjellström, (1999), en su artículo titulado “How Much Global Health Is Attributable to Environmental Factors?”, nos hace referencia que: La estricta definición médica de las enfermedades con causas ambientales sería todas aquellas que no son genéticas. Esta es la clásica dicotomía entre "naturaleza" y "crianza", en la que los factores ambientales incluyen a todos aquellos que afectan al organismo después de la concepción, independientemente de si están mediados por las condiciones sociales y la elección individual a través de los medios ambientales. Se podría argumentar aún más, sin embargo, que los factores genéticos son en realidad también ambiental, pero simplemente en una escala de tiempo diferente. Por lo tanto, la mutación, la selección natural y otros mecanismos de evolución han cambiado la composición genética de la humanidad de acuerdo con las condiciones ambientales existentes en el pasado. En este contexto, es decir, en el cual los genes actuales se ven como el resultado de ambientes previos, todas las enfermedades son completamente ambientales (pág. 573).

Según Méndez, Gónzales Ramírez, Román Gutierrez, Prieto García, (2009), también determinaron que: Los altos niveles de metales pesados como plomo, mercurio, arsénico, níquel, cadmio y manganeso, presentes en suelos y agua negra, utilizada para riego agrícola radican principalmente, que pueden ser acumulados en estos sistemas de suma importancia para la agricultura. Por su carácter no biodegradable, la toxicidad que ejercen

sobre los diferentes cultivos y su biodisponibilidad, puede resultar peligrosos. Los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse en diferentes cultivos. La bioacumulación significa un aumento en la concentración de un producto químico en un organismo vivo en un cierto plazo de tiempo, comparada a la concentración de dicho producto químico en el ambiente (pág. 34).

Según Gaioli, Amoedo, Gonzales, (2012), Desde el inicio de la era industrial los niveles de mercurio (Hg) en el ambiente han aumentado considerablemente, hasta alcanzar concentraciones que afectan los ecosistemas y la salud humana. El mercurio es un metal pesado, plateado, ubicuo y líquido a temperatura ambiente. En su forma pura se lo conoce como mercurio elemental. Éste se volatiliza fácilmente formando vapores incoloros e inodoros. El mercurio (Hg) es actualmente un contaminante de relevancia mundial. Es un importante tóxico ambiental con gran impacto sobre la salud humana ya que ocasiona daños irreversibles en el sistema nervioso central, principalmente en las etapas de mayor vulnerabilidad. El vapor de Hg^0 se absorbe rápidamente en los pulmones (75-85% de la dosis inhalada). En forma líquida o vapor apenas se absorbe por la vía gastrointestinal (0,01%). Por su gran liposolubilidad se difunde a los tejidos atravesando fácilmente la barrera hematoencefálica y la placenta. El Hg^0 se oxida a ion mercuríico perdiendo la capacidad de difundirse. Queda luego retenido en los glóbulos rojos, sistema nervioso central (SNC) y riñones. La concentración sanguínea de mercurio disminuye rápidamente, con una semivida bifásica. La vía de excreción más importante es la digestiva y, en menor porcentaje, la urinaria, respiratoria y sudorípara. En orina, la semivida es de 40-90 días. Este dato es importante pues se considera un marcador biológico de las exposiciones crónicas (pág. 262).

Según el estudio realizado por Amador, Gonzales Martinez, Martinez Hernandez, Vergara, Celedon Suarez, (2015), en Bogotá, Colombia, nos indicó que: Las exposiciones ambientales a metales pesados constituyen un problema de salud pública en el mundo, por lo cual son necesarios estudios de monitoreo y control de la magnitud de estas exposiciones y sus efectos, con el fin de identificar el estado de salud de las poblaciones.

Esto resulta útil para los sistemas de salud, debido a que los recursos que invierten se pueden redireccionar cada año hacia donde se requieren, teniendo en cuenta los principales riesgos de cada población. En este sentido, es evidente que desde el enfoque ambiental, los individuos se exponen a diversas sustancias químicas que provienen principalmente de los desechos industriales, los residuos de actividades agrícolas, la combustión de hidrocarburos o la disposición inadecuada de residuos domésticos. La relevancia de monitorear los niveles de metales en diversas muestras biológicas radica en la posibilidad de evaluar sus variaciones por incremento, las cuales puedan ser sugestivas de exposiciones inadecuadas.

Según los estudios de Fiskesjô, (2014), En la búsqueda de sistemas de prueba a corto plazo, los materiales vegetales han demostrado ser útiles en la investigación básica, así como en una batería de prueba para el monitoreo ambiental. En un taller sobre "Sistemas de plantas superiores como monitores de mutágenos ambientales" se afirmó: "Los sistemas de plantas parecen especialmente adecuados para la investigación en al menos las áreas de mecanismos básicos, detección y monitoreo ambiental". Las razones para usar sistemas de plantas son muchas: las plantas son fáciles de almacenar y manejar, con frecuencia hay buenas condiciones cromosómicas, bajo costo y, lo más importante, buena correlación con otros sistemas de prueba. El *Allium* como material biológico experimental es bien conocido y se ha utilizado para el estudio de mecanismos básicos, así como para evaluar los efectos de los productos químicos. Entre las especies de *Allium*, *Allium cepa* (la cebolla común) ha demostrado ser la más útil, y se ha sugerido repetidamente como material de prueba estándar. El test de *Allium cepa* es de utilidad para conducir investigaciones sobre aguas, ya sean de consumo humano, de depósitos municipales, aguas superficiales o subterráneas, efluentes cloacales u otras. La importancia del *Allium cepa* test radica en que es un excelente modelo de ensayo in vivo, donde es posible evaluar el daño producido por una sustancia o solución de interés sobre el crecimiento de las raíces y sobre el ADN vegetal. Es ventajoso el uso del *Allium cepa* test por emplearse como indicador una planta vascular, que permite configurar un modelo excelente para realizar ensayos sobre sustancias contaminantes, mutagénicas o cancerígenas cuyos datos pueden ser extrapolados a toda la biodiversidad de plantas y animales.

Según la reseña bibliográfica realizada por Cartaya Reynaldo, (2001), El término flavonoides denota un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- γ -pirano, los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos. La alta reactividad química de los flavonoides se expresa en su afinidad de enlace a polímeros biológicos e iones de metales pesados así como su habilidad para catalizar el transporte de electrones y secuestrar radicales libres. Con la quelación de metales, los dos puntos de unión de los iones de los metales de transición a la molécula de flavonoide son los grupos Orto difenólicos en las posiciones 3' y 4' en el anillo B, y las estructuras 4 ceto y 5 hidroxilo en el anillo C de los flavonoles (pág. 6).

Según León, (2011), *Cordia lutea* Lam. "flor de overo" es una planta perteneciente a la familia Boraginaceae. Crece hasta 7.5 m de altura, la corteza es de color marrón oscuro, fisurada, es un árbol ramificado con flores campanuladas de color amarillo. La planta crece en el norte de Perú, en las regiones de Tumbes, Piura, Cajamarca, Lambayeque y La Libertad. La flor de *C. lutea* es del tipo campana de la corola, cáliz tubular; 4 sépalos, estambres 9: 1 carpelo y un solo pétalo. Tiene un peso promedio de 0.1127 g, 2.3 cm de ancho y 2.9 cm de largo. Dentro de las características organolépticas, es una flor amarilla, con olor "*sui generis*", sabor ligeramente amargo y consistencia suave. La literatura se refiere a la presencia de terpenoides y compuestos fenólicos en la planta.

Casanova, y otros, (2018), aporta que: La especie nativa *Cordia lutea* Lam. "flor de overo", es utilizada en el Perú por la medicina popular en el tratamiento de enfermedades hepáticas como la ictericia y otras. A partir del extracto fluido de las flores, se aisló e identificó el flavonoide quercetina – 3-O ramnoglucósido (rutina). La fuente natural de la rutina, en las referencias de la literatura, son las flores de *Ruta graveolens*, la corteza de los cítricos y en las flores de *Sambucus nigrans* y *Sambucus peruviana* H.B.K. La rutina es muy importante en medicina porque es antiinflamatoria, antiespasmódica, antioxidante, protectora hepática, para evitar la fragilidad capilar y como un potencial anticancerígeno (pág. 4). Según Cañizares Villanueva, (2000), nos indica que: Los metales pesados constituyen un grupo cercano a los 40 elementos de la Tabla Periódica que tienen una

densidad mayor o igual a 5 g/cm³. El rasgo distintivo de la fisiología de los metales pesados, es que aun cuando muchos de ellos son esenciales para el crecimiento como el Na, K, Mg, Ca, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y Mo, se ha reportado que también tienen efectos tóxicos sobre las células, principalmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas. Debido a su movilidad en los ecosistemas acuáticos naturales y a su toxicidad para las formas superiores de vida, los iones de metales pesados presentes en los abastecimientos de aguas superficiales y subterráneas, se les ha dado prioridad como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente. Aun cuando se encuentren presentes en cantidades bajas e indetectables, la recalcitrancia y consiguiente persistencia de los metales pesados en cuerpos de agua, implica que a través de procesos naturales como la biomagnificación, su concentración puede llegar a ser tan elevada que empiece a ser tóxica. Los metales pesados pueden ser detectados ya sea en su estado elemental, lo que implica que no sufren modificaciones, o enlazados en varios complejos con sales. De cualquier manera, los iones metálicos no pueden ser mineralizados (págs. 131-132).

Además dentro del estudio de Gaioli, Amoedo, & gonzales , (2012) realizado sobre “Impacto del mercurio sobre la salud humana y el ambiente” nos indica que: El mercurio es utilizado por el hombre desde hace siglos como colorante para adornar tumbas (por lo llamativo del color rojo en su estado natural), como medicina para el tratamiento de la sífilis, como diurético y como catártico. Numerosos grupos étnicos lo han empleado con fines mágicos o religiosos. En cuanto a su repercusión sobre la salud humana cabe mencionar la intoxicación crónica y en masa por exposición a altas dosis de metilmercurio (MeHg) ocurrida en Japón, donde la Chisso Corporation, una empresa de fertilizantes, petroquímicos y plásticos, vertió toneladas de compuestos de mercurio en la bahía de Minamata entre 1932 y 1968. Esto propició la formación de MeHg (la forma más tóxica de este metal) y su paso a la cadena biótica a través de la bioacumulación y biomagnificación en los peces. Así, la población autóctona consumidora de pescados resultó afectada. Los recién nacidos desarrollaron lo que después se conoció como la Enfermedad de Minamata, caracterizada por trastornos del neurodesarrollo. La población adulta manifestó síntomas

neurológicos: ataxia, temblores, trastornos cognitivos y neurosensoriales. En la Argentina, en la década de 1980, un grupo de lactantes resultó expuesto al acetato de fenilmercurio por vía percutánea, debido a pañales de tela procesados con este derivado mercurial en lavanderías. Los pacientes presentaban: sudoración, irritabilidad, alteraciones gastrointestinales, insomnio, mareos, anorexia y ftofobia (págs. 262-263).

Según Fuentes Reyes Gil, (2003), nos indica El mercurio y sus compuestos pueden ser clasificados según su grado de toxicidad. Los compuestos mercuriales orgánicos son más tóxicos que los vapores de mercurio elemental. El vapor de mercurio es absorbido en un 80-90 % por el tracto respiratorio llegando hasta los alvéolos y penetrando al torrente sanguíneo. Debido a su alta propiedad lipofílica atraviesa la membrana celular de los eritrocitos donde es oxidado ($Hg^0 \rightarrow Hg^{+2}$). Sin embargo, la tasa de oxidación es más lenta que el tiempo de circulación del vapor de mercurio desde los pulmones al cerebro; permitiendo que el mercurio inorgánico no oxidado (Hg^0), cruce rápidamente la barrera hematoencefálica. El mercurio en el cerebro es oxidado, acomplejado y retenido, además aumenta la permeabilidad de la membrana plasmática al calcio lo cual causa neurotoxicidad. La inhalación de vapor de mercurio por un periodo prolongado causa el mercurialismo, la que es una enfermedad que se caracteriza por temblores finos y eretismo (timidez, depresión, resentimiento a las críticas, dolores de cabeza, fatiga e insomnio) (pág. 267).

Según Peñaloza, Camargo, Palacio, (2003), indicaron que: El mercurio tiene la capacidad de acumularse a lo largo de la cadena alimentaria en los tejidos animales expuestos a este metal, especialmente en peces. Así, la alimentación se constituye en una de las formas de exposición indirecta más frecuentes del hombre a este xenobiótico. Los efectos genotóxicos reportados del mercurio son contradictorios, ya que no induce mutación en bacterias pero ejerce efectos aneugénicos y clastogénicos en eucariotas, tales como incremento de aneuploidías y del número de micronúcleos tanto in vitro (células CHO) como in vivo (en peces). Los compuestos mercuriales inorgánicos también inducen la formación de especies reactivas de oxígeno y reducen el glutatión en células de mamíferos, lo cual disminuye la capacidad de detoxificación de este metal y se aumenta la frecuencia de mutaciones. En trabajadores expuestos a diversas formas orgánicas e

inorgánicas de mercurio, se ha reportado aumento significativo de intercambio de cromátidas hermanas (ICH). Sin embargo, hay otros reportes de resultados negativos en relación con la genotoxicidad, en los que no se observó incremento de alteraciones cromosómicas ni micronúcleos. Pero en otro estudio llevado a cabo en India, también con personas que consumieron pescado contaminado, se observó lo contrario (pág. 106).

Según Quintana, Gómez Arroyo, Castillo Cadena, Sanchez Alarcón, (2014), Los resultados de los bioensayos genéticos son relevantes para los seres humanos ya que el blanco toxicológico es el ADN, el cual existe en todas las formas de vida. Así, en teoría, se podría pensar que los compuestos que son capaces de alterar el material genético de alguna especie, tienen el potencial de producir efectos similares en otras especies, incluyendo el ser humano, aunque en la realidad no es tan sencillo. En general, las alteraciones al material genético son deletéreas para el organismo y pueden llevar a severas e irreversibles consecuencias para la salud. Estas consecuencias comúnmente se asocian a la exposición a compuestos genotóxicos incluyen al cáncer, defectos en el nacimiento y enfermedades cardíacas (...) el daño genético se precisa en términos de lesiones estructurales que ocurren en el ADN, de estas, tres tipos principales pueden ser descritas: la mutagénesis se refiere a cambios puntuales en los genes, los cuales ocurren en la secuencia de bases del ADN dentro de un gen; la clastogénesis se refiere a cambios en la estructura cromosómica que resulta en la ganancia, pérdida o rearrreglos de los cromosomas; y finalmente, la aneuploidía, que se refiere a la ganancia o pérdida de cromosomas intactos. Más de 200 pruebas de corto plazo que utilizan microorganismos, insectos, plantas y animales han sido desarrolladas durante los últimos 50 años para ayudar a la identificación de agentes que representen un riesgo genético para los humanos. Las pruebas pueden ser organizadas en grupos mayores con base en los sistemas biológicos empleados, tales como microorganismos, plantas, animales y cultivos celulares; y al biomarcador genético detectado, como AC, MN, ICH y fragmentación de ADN (ensayo cometa), entre otros (págs. 73-75).

Caballero, Patiño, (2007), proponen que, “investigaciones previas han sugerido que el estudio de las alteraciones en el Índice Mitótico (IM), bloqueo del crecimiento e inducción

de aberraciones cromosómicas (AC), son marcadores biológicos para el estudio potencial de sustancias mutagénicas y carcinogénicas presentes en el ambiente como contaminantes” (pág. 21).

Según Paredes, Molina Paredes, Casassa Padron, (2006), “el Porcentaje de Índice Mitótico (IM) es una medida para el estado de proliferación de una población de células. Es definido como el cociente entre el número de núcleos en mitosis y el número total de núcleos” (pág. 12).

$$\% \text{ IM} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de núcleos en mitosis}}{\text{Total de núcleos observados}} \times 100$$

Según Cuenca, Ramirez, (2004), explicaron que: La mutagénesis ambiental o genética toxicológica es una disciplina que tiene como objetivo estudiar las mutaciones inducidas por agentes físicos, químicos y biológicos, identificar estos agentes, analizar sus interacciones y mecanismos de acción. Los estudios de toxicología genética enfocan su atención en niveles de exposición que no se consideran tóxicos, porque no causan efectos inmediatos identificables fácilmente, pero que tienen su efecto sobre el ADN. En 1983 la Comisión internacional para la protección contra mutágenos y carcinógenos ambientales estableció una definición que limita el uso del término genotóxico a aquellos agentes que tienen afinidad para interactuar con el ADN. Entonces los agentes genotóxicos se definen, como aquellos que causan daño al material genético a dosis subtóxicas. Con respecto a los métodos usados por la toxicología genética, existe una amplia gama dependiendo de los objetivos que se deseen alcanzar. Como el objetivo, en la mayoría de los casos, es determinar si un agente en particular es capaz de inducir daño al ADN, se han desarrollado modelos de estudio para análisis de modificaciones en el ADN (como aductos) y de las mutaciones antes y después de la exposición al agente de interés. Es así como existen modelos con bacterias, algas, células eucarióticas, mamíferos y mamíferos modificados por ingeniería genética. Los ensayos pueden ser diseñados in vitro o in vivo. También pueden llevarse a cabo ensayos específicos para las células germinales, y de esta manera observar el efecto sobre la reproducción.

Para Cuenca, Ramirez, (2004), el monitoreo de grupos de población expuestos a agentes potencialmente dañinos para el ser humano es una herramienta valiosa en salud pública y ocupacional. Tiene como objetivo preservar la salud y la calidad de vida en aquellos grupos de trabajadores que son de alto riesgo por la naturaleza de las sustancias a que están expuestos. Es posible utilizar diferentes marcadores y técnicas de monitoreo, desde que el tóxico entra al cuerpo, cuando interacciona con su sitio de acción, en los diferentes momentos de su metabolismo, y hasta que causa enfermedad o la muerte. Si el objetivo es hacer monitoreo de personas expuestas para evaluar daño genético en las células somáticas, se pueden aplicar diferentes ensayos:

5.1.2.1 Los micronúcleos, tanto en linfocitos, como en células epiteliales descamadas de las mucosas.

5.1.2.2 Las aberraciones cromosómicas, en sus versiones más clásicas como la búsqueda de lagunas, fracturas y cromosomas dicéntricos en cultivos convencionales, así como intercambio de cromátidas hermanas.

5.1.2.3 En la aplicación de métodos de citogenética molecular para buscar inversiones, translocaciones, o para identificar el origen cromosómico de los micro- núcleos. Todos estos se consideran marcadores de efecto temprano, lo cual significa que permiten detectar un nivel de daño que todavía es reversible. Se pudo demostrar en estudios prospectivos realizados en países europeos, que la mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en las personas expuestas es un buen predictor del aumento del riesgo para cáncer (pág. 587).

Según Berrocal, Blas, Flores, Siles, (2013), nos indica que: El test de *Allium cepa* viene siendo usado para el diagnóstico de toxicidad de diferentes compuestos tanto farmacéuticos, alimenticios y contaminantes, esto debido a que fácilmente se pueden distinguir algunas anomalías cromosómicas, producto de un agente mutagénico, en consecuencia el obtener un diagnóstico citogenético. Frente a la utilización de biocidas en cultivos de importancia agronómica, la utilización del test de *Allium cepa* permite obtener un buen registro de la ocurrencia de estas anomalías; existen muchos trabajos que aprovechan la facilidad de identificar efectos genotóxicos debido a diferentes

contaminantes biológicos ambientales. El test de *Allium cepa* aprovecha la consecuencia de la disminución del índice mitótico, expresada en el menor desarrollo radicular, observando así diferencias significativas entre compuestos a distintas concentraciones, y tiempos de exposición (...). El uso del test de *Allium cepa* permite determinar la toxicidad de muchos compuestos por su gran sensibilidad, es por ello que en la actualidad se viene usando para monitorear el grado toxicológico de distintos compuestos como el azufre, magnesio, boro, cromo, pesticidas, herbicidas, farmacéuticos entre otros. El test de *Allium cepa* además, es usado en programas de biorremediación, y también podría usarse en estudios de conservación (págs. 19-20).

Según Trueba, (2003), nos indica que: Los flavonoides comprenden un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo. Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da. Existen 13 subclases de flavonoides con un total de más de 5 000 compuestos, todos presentando un esqueleto hidrocarbonado del tipo C6-C3-C6 (difencilpropano) derivado del ácido shiquímico y de 3 restos de acetato. Poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales, antiasmáticas e inhibidoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C, calmodulina, ornitina decarboxilasa, hexoquinasa, aldosa reductasa, fosfolipasa C y topoisomerasa II. Entre todas, las propiedades biológicas de mayor interés han sido sus efectos antioxidantes, los cuales han sido blancos de un sinnúmero de estudios principalmente de corte clínico y nutricional, teniendo en cuenta que a menudo dosis farmacológicas de antioxidantes dietéticos comúnmente recomendados en todo el mundo, como es el caso de las combinaciones vitamínicas (vitamina E más vitamina C y β - caroteno), no producen los efectos esperados o estos resultan dañinos, por lo que para lograr una mejor acción antioxidante se prefiere incluir en la dieta una mezcla de flavonoides y taninos (págs. 50-52).

Para Guerrero, (2008), nos dice que: La propiedad de los flavonoides de quelar metales indica que estos compuestos pueden jugar un papel importante en el combate de

enfermedades por altas concentraciones de metales y en todas las condiciones de estrés oxidativo que involucren iones de metales de transición. La actividad quelante de los flavonoides puede ser porque estas sustancias pueden tener la capacidad de desplazar ligandos prooxidantes del hierro férrico para formar complejos de gran estabilidad, y así, prevenir su ciclación redox y por lo tanto, un daño oxidativo potencial. Para determinar la actividad quelante y la estabilidad de los complejos hierro-flavonoide se llevan a cabo titulaciones de los flavonoides con diferentes concentraciones del metal de interés y posteriormente se hacen mediciones espectrofotométricas (UV/Vis) con las muestras de las soluciones tituladas, observando los cambios en el espectro de absorción; con esto se demuestra que existe interacción entre los flavonoides y los iones metálicos (pág. 38).

5.2 Justificación de la investigación

El presente estudio tiene una **Justificación Teórica**, ya que sus teorías y conceptos científicos, pueden ser utilizadas en futuras investigaciones, que tiene como propósito el estudio agentes protectores contra las intoxicaciones con mercurio que día a día se incrementan en todas nuestras regiones del Perú.

Tiene una **Justificación Social**, porque mediante los resultados obtenidos, y estas al ser informadas a las autoridades de salud, se podrán proponer y diseñar acciones de intervención frente a esta problemática de salud pública; teniendo un beneficio a las poblaciones que se encuentran vulnerables frente a la contaminación con mercurio.

A la vez el estudio tiene una **Justificación Práctica**, porque a través de las conclusiones llegadas y las recomendaciones planteadas, pueden ser utilizadas como tratamiento preventivo y recuperativo de los pacientes afectados por este tipo de metal pesado.

Y por último, tiene una **Justificación Metodológica**, porque todos los procesos y métodos que se utilizaran para llegar a un término exitoso en la investigación, estos pueden ser utilizadas en futuras investigaciones que tengan relevancia con la variable estudiada.

La presente investigación se enfocó en estudiar el nivel de protección del flavonoide rutina, presente en las flores de *Cordia lutea* Lam. "flor de overo", frente a la genotoxicidad del mercurio (Hg), considerando que la contaminación por metales pesados y metaloides en recursos hídricos, suelos y aire plantea una de las más severas problemáticas que comprometen la seguridad alimentaria y salud pública a nivel global y local, al realizar el presente trabajo de investigación nos proponemos contribuir en el conocimiento sobre la potencial utilidad de los flavonoides basados en su muy conocido efecto quelante de metales.

Además, con el presente trabajo de investigación se propuso demostrar que los flavonoides del tipo de la rutina se pueden usar para prevenir y/o tratar intoxicaciones por metales pesados, sin las limitaciones de los quelantes químicos, pues los flavonoides al ser parte de la alimentación diaria no deben tener efectos secundarios considerables. Adicionalmente, tal vez sea factible usar flavonoides en fitorremediación de aguas procedentes de la minería.

La investigación en líneas generales se fundamenta en el test de *Allium cepa* en donde se evaluara el efecto sobre las células radiculares de una solución de mercurocromo, frente a la acción de la solución de mercurocromo sobre las raicillas de cebolla que crecen en la solución nutritiva adicionada con infusión de flores de *Cordia lutea*.

En el estudio realizado por Zumarán & Vásquez Villacampa, (2015) se describió a nuestra muestra de la siguiente forma:

Cordia lútea (flor de overo) es una planta indígena del Perú, este arbusto o a veces árbol, caducifolio, de hasta 7,5 m de altura, corteza externa color pardo oscuro agrietada, fuste deforme, con abundantes ramas; cuando es árbol, copa globosa y cuando es arbusto la copa bien extendida. Hojas simples, alternas, sin estipulas, sub-redonda a ovado elíptica, borde ligeramente crenado, ápice redondo y base obtusa, de consistencia cartacea, pubescentes, en el envés con pelos cerosos e hirsutos. Flores en inflorescencia panícula, bisexuales, cáliz tubuliformes y corola amarilla campanular, ovario supero. Fruto baya, de color blanquecino, globoso, con 2 semillas, mesocarpo gomoso. Semillas duras y leñosas, se dispersa por los niveles bajos y medios del sur también el centro y norte del

Perú. En el campo de la medicina tradicional se le atribuye propiedades curativas como antiasmática, antitusígena, eliminación de cálculos biliares, ictericia y afecciones respiratorias. Estos efectos pueden ser atribuidos a la presencia de flavonoides dentro de la composición de las flores (...) los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Los flavonoides pertenecen a un grupo de compuestos naturales arreglados bajo un sistema C6-C3-C6, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. Se conoce como 10 clases de flavonoides (Chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides, etc) los cuales pueden encontrarse como aglicona o bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa (págs.9 -10).

Sigue diciendo Zumarán Vásquez Villacampa, (2015), con respecto a los flavonoides: Está comprobado que los flavonoides son importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas al protegerlas contra agentes agresores externos, como la radiación UV, microorganismos, animales herbívoros y del medio ambiente. Pueden actuar como señalizadores químicos, indicando a los insectos que planta es apropiada para su alimentación, oviposición o simplemente guiándolos y facilitando así la polinización (...) los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en las flores de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo. Una excepción son los tubérculos de cebolla, que contienen una gran cantidad de quercitina 4'-D-glicósidos.

Para concluir Zumarán, Vásquez, Villacampa, (2015), nos indica que, “los flavonoides no poseen las características de las vitaminas: no son aminos y conforman otro grupo químico, pero por su acción protectora y la imposibilidad del organismo humano de producirlos merecen ser incorporados al grupo de los nutrientes esenciales” (pág. 9). La cinética del elemento tóxico conocido como mercurio; se inicia por el ingreso por medio de las vías respiratoria, digestiva y cutánea principalmente.

Según nos indica Ramírez, (2008), “la vía respiratoria es por inhalación. En salud ocupacional esta vía es la más importante y, tanto el mercurio elemental como el inorgánico y sus compuestos, puede ingresar por inhalación y alcanzar la sangre con una eficiencia del 80%”. Pero no solamente la vía respiratoria es la única que causa el problema por intoxicación con mercurio, son diferentes formas de como este elemento tan perjudicial llega a nuestro organismo.

Ramírez, (2008), continúa explicando: La vía digestiva es por ingestión. En el tracto gastrointestinal, el mercurio inorgánico se absorbe en cantidad menor al 0,01%, probablemente por su incapacidad de reacción con moléculas biológicamente importantes, al formar macromoléculas que dificultan su absorción y porque pasa por un proceso de oxidación. Los compuestos inorgánicos de mercurio (sales) se absorben entre 2 y 15%, dependiendo de su solubilidad. Mientras que, en contraste, la absorción de los compuestos orgánicos por esta vía es 95%, independiente de si el radical metilo está unido a una proteína o no (...) la vía cutánea es por contacto. Se ha descrito casos de intoxicación por aplicación tópica de compuestos que contenían metilmercurio. Sin embargo, no está demostrado que esta vía tenga un papel importante en la exposición ocupacional, comparada con las otras. Es más, es posible que en el caso de aplicación de pomadas, el tóxico penetre en el organismo por inhalación, a partir del ungüento puesto en la piel, más que atravesándola directamente. Una vez que el mercurio llega a nuestro organismo por medio de la absorción, el mercurio es transportado por la sangre en una relación de glóbulo rojo a plasma de 1.5 a 3 y para sus sales inorgánicas la relación existente es menor es decir 0.4. En resumen el 90% de los compuestos orgánicos se transporta en las células rojas, mientras que la mitad del mercurio en forma elemental es transportado unido a la albúmina, esto según lo indicado por (pág. 47)

Según Calabuig, (2005), “la liberación progresiva de mercurio inorgánico tras la administración de metilmercurio ocasiona lesiones renales. Para muchos autores, la acción neurotóxica del metilmercurio resulta de la persistencia de la molécula intacta en el tejido nervioso y no de la liberación del mercurio inorgánico (pag. 941)”

Continúa diciendo Calabuig, (2005), con respecto a la eliminación: El mercurio inorgánico

no absorbido se excreta por las heces mientras que el absorbido lo hace por el colon, los riñones y la saliva. También puede ser importante la eliminación por la piel (sudor y faneras). En la excreción renal la filtración glomerular tiene poca importancia, ya que predomina la secreción tubular por un mecanismo no bien conocido (...) el metilmercurio es excretado fundamentalmente por las heces.

Según Repetto, (1997), nos dice que el mecanismo de acción de la toxicidad del mercurio: No se conoce todavía la lesión bioquímica inicial responsable de los fenómenos tóxicos inducidos por el mercurio y sus derivados. Esta es la razón por la que aún no existe ningún test biológico válido para el diagnóstico precoz de la intoxicación.

En líneas generales se podría resumir en dos formas su mecanismo de actuación:

1. Alteraciones de actividades enzimáticas
2. Alteración de la composición de la membrana (pág. 135).

Continúa diciendo Ramírez, (2008), Sin embargo, cabe resaltar su gran afinidad por el encéfalo, quizá porque la mayor parte del mercurio circulante va al cerebro, más que al hígado o riñón. En el encéfalo, tiene mayor afinidad por la sustancia gris que por la blanca. Los niveles más altos de mercurio son hallados en ciertos grupos neuronales del cerebelo, médula espinal, pedúnculos y mesencéfalo, aunque también se le ha detectado en epitelio de tiroides y páncreas, en células medulares de las glándulas adrenales, en espermatozoitos, epidermis y cristalino.

Según Camean, (1995), las biotransformaciones del mercurio se pueden resumir en cuatro clases:

1. Oxidación del vapor de mercurio metálico o mercurio divalente
2. Reducción del mercurio divalente a mercurio metálico
3. Metilación del mercurio inorgánico
4. Conversión del metilmercurio en mercurio inorgánico

5.3 Problema

5.3.1 Planteamiento del problema

La mayoría de los pobladores nos encontramos expuestos de alguna u otra forma al mercurio, mediante rutas diferentes y de mercurio de distintas formas; entre ellas tenemos las amalgamas dentales, vapores en el medio ambiente que son producto del mercurio y uno de las formas que en estos tiempos está destacando es los alimentos en la dieta, para los cuales no hay una forma eficaz como prevenir este consumo, puesto que no existe una metodología rápida, segura y económica que identifique las concentraciones mínimas de mercurio en alimentos o medio ambiente.

Según Plengue, (2010), “la OMS considera aceptable una concentración en el agua de 0,001 mg/L y una ingesta semanal tolerable de 5 µg/kg de Hg total y 3,3 µg/kg de MeHg (...) se consideran niveles normales de Hg en sangre los inferiores a 10 µg/l y en orina de 20 µg/l”. (pág. 311)

Según JECFA, (2004), Comité de Expertos en Aditivos de Comida: Estableció una ingesta tolerable de 1,6 µg/kg del peso corporal por semana de metilmercurio con fines de proteger la aparición de efectos neurológicos en el feto. En el 2006, JECFA aclaró que otros estadios de la vida que no sean el embrionario ni fetal van a tener una menor sensibilidad a los efectos adversos del metilmercurio (...) para adultos, el doble de la dosis de ingesta tolerable por semana no presentaría ningún riesgo de neurotoxicidad (págs. 132- 133).

Según Plengue, Huamán Guerrero, Grández Castillo, (2009), “*La toxicidad de mercurio depende de su forma química y, por lo tanto, de las fuentes de exposición*” (págs. 45-52).

Las investigaciones de Plengue, Huamán Guerrero, & Grández Castillo, (2009) nos indican que:

El compuesto orgánico de mercurio conocido como metilmercurio es sumamente tóxico y tal vez la forma más peligrosa de este veneno, se concentra en los alimentos,

especialmente pescados, tanto de agua salada como dulce, mariscos y otros comestibles vegetales y animales de la cadena trófica alimenticia; pasa con suma facilidad a través del epitelio digestivo y de allí las membranas biológicas de los demás tejidos del organismo para afectar importantes vías enzimáticas (...) alteraciones sensoriales, reducción del campo visual, trastornos de coordinación, disartria, alteración auditiva y temblor son algunos de los síntomas más frecuentes en esta enfermedad. La intoxicación transplacentaria del feto es uno de los aspectos más temibles generando Enfermedad de Minamata Congénita mostrando retraso mental, reflejos primitivos, trastornos de coordinación, disartria, deformación de las extremidades, trastorno de crecimiento, corea y movimientos atetósicos e hipersalivación (págs. 310-311).

Por estas razones tan importantes es imprescindible que nuestros esfuerzos se enfoquen en la forma de prevención y tratamiento de este tipo de intoxicación mercurial por medios que son conocidos por la mayoría de nuestra población, como son los recursos naturales; en este caso tratándose de la “flor del overo” que ha demostrado ser un agente importante en la protección celular ante la agresión del mercurio.

5.3.2 Formulación del Problema

5.3.2.1 General

¿Cuál es el efecto protector del extracto de flores de *Cordia lutea Lam.* "Flor de overo" sobre la toxicidad del mercurio en las raíces de *Allium cepa L.*?

5.3.2.2 Específicos

- a) ¿Cuál es la concentración mínima en infusión, requerida para que tenga el efecto protector de la “flor del overo”?
- b) ¿Cuál es la concentración máxima de la solución en infusión, requerida para obtener el rango de seguridad de la “flor del overo”?
- c) ¿Cuál es la metodología más adecuada para el estudio de la citotoxicidad del mercurio?

5.4 Conceptualización y operacionalización de las variables de investigación.

5.4.1 Variable.

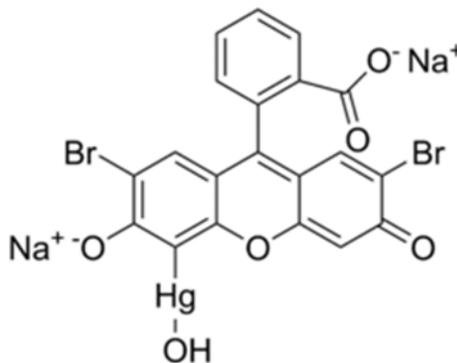
Actividad citoprotectora de la “flor de overo”.

5.4.1.1 Conceptualización

Toxicidad aguda: Propiedad de una sustancia que presenta efectos adversos o tóxicos tras la administración por vía oral o cutánea de una sola dosis de dicha sustancia, de dosis múltiples administradas a lo largo de 24 horas, o como consecuencia de una exposición por inhalación durante 4 horas.

Toxicidad crónica: es la propiedad de una sustancia de causar daños a largo plazo. Estos efectos tienen un período de latencia y se manifiestan después de un largo tiempo. Los efectos tóxicos crónicos pueden resultar de una exposición simple severa o repetidas exposiciones a lo largo de un periodo.

Mercurocromo: La merbromina o mercurocromo es un compuesto organomercurial de color verde en estado sólido, cuya fórmula molecular es $C_{20}H_8Br_2HgNa_2O_6$. Su denominación química es dibromohidroxiomercurifluorosceína sal disódica (IUPAC).



5.4.1.2 Operacionalización

La variable se estudió por medio de procesos experimentales repetitivos para confirmar los datos de manera más segura.

Con el objetivo de saber si se está operando correctamente la variable se tendrá en cuenta los indicadores como:

- 5.4.1.2.1 Estado adecuado de los bulbos de *Allium cepa L.*
- 5.4.1.2.2 Secado adecuado de la “flor de overo”.
- 5.4.1.2.3 Concentración del infuso a aplicar en el experimento.
- 5.4.1.2.4 Estímulo adecuado para el crecimiento celular homogéneo
- 5.4.1.2.5 Control del agua a utilizar.

5.5 Hipótesis

5.5.1 Hipótesis general

La adición del extracto de flores de *Cordia lutea Lam*, al medio de cultivo que contiene mercurocromo en el test de *Allium*, protege de la toxicidad del mercurio a las células meristemáticas de las raicillas de *Allium cepa Lam*.

5.6 Objetivos

5.6.1 Objetivo General

Determinar la actividad protectora del extracto de flores de *Cordia lutea Lam*. "Flor de overo" frente a la toxicidad del mercurio sobre las células meristemáticas de las raicillas de *Allium cepa Lam*.

5.6.2 Objetivos específicos

- 5.6.2.1 Obtener el extracto de *Cordia lutea Lam*. "Flor de overo" mediante el método de infusión.
- 5.6.2.2 Aplicar el test de *Allium* para determinar la actividad protectora del

extracto de flores de *Cordia lutea* Lam. "Flor de overo" en la toxicidad del mercurio sobre las células meristemáticas de las raicillas de *Allium cepa* Lam;

5.6.2.3 Determinar la concentración óptima protectora de la infusión de *Cordia lutea* Lam. "Flor de overo".

6. METODOLOGÍA

6.1 Tipo y diseño de investigación

6.1.1 Tipo

El tipo de investigación es Aplicativa y experimental.

Aplicativa, porque el investigador hará uso de las teorías y conceptos dados por investigadores cuya publicación antecedieron a la presente investigación y estas teorías y conceptos pueden ser utilizadas por futuras investigaciones.

Experimental, porque se trata de una colección de diseños de investigación que utilizan la manipulación y las pruebas controladas para entender los procesos causales. En general, una o más variables son manipuladas para determinar su efecto sobre una variable dependiente.

6.1.2 Diseño

El estudio tendrá un diseño experimental.

Experimental, porque el investigador manipula las variables en estudio, las observa y mide.

6.2 Población y muestra

6.2.1 Población

La población de estudio estará determinada por el material biológico obtenido en el mercado local de la ciudad de Sullana; tanto de *Cordia lutea Lam* así como de bulbos de *Allium cepa L.*

6.2.2 Muestra

La muestra fue una muestra seleccionada de *Cordia lutea Lam*, intactas, en buen estado libres de deterioro y de contaminación bacteriana.

6.3 Técnicas e instrumentos

6.3.1 Técnicas

La presente investigación hizo uso de las técnicas de:

6.3.1.1 Observación experimental de laboratorio.

6.3.1.2 Observación No Experimental Bibliográfico.

6.3.1.1 Materiales

- **Material botánico:** El material vegetal estuvo conformado por inflorescencias de la planta conocida como “flor de overo”
- **Material biológico:** Se consideró los bulbos de *Allium cepa L.*
- **Material químico:** Solución de mercurocromo
- **Materiales y equipos de laboratorio:**
 - Vasos de precipitación de 50, 100 y 150 mL
 - Fiolas de 10, 25 y 50 mL
 - Pipetas de 1, 5 y 10 mL
 - Varillas de vidrio
 - Frascos para muestras biológicas
 - Frascos de vidrio de color ámbar de 120 mL
 - Balanza analítica Biolab

6.3.1.2 Procedimiento experimental

6.3.1.2.1 Estandarización de las condiciones del bioensayo

Según Trisak, Doungdee, & Rode, (1990) en esta parte se debe de considerar múltiples variables para adecuar el trabajo según lo referido en la literatura científica. Entre las cuales tenemos: *Tipo de cebolla, tipo de agua, fuente de luz, (...) recambio o no de las soluciones con las cuales se experimentan*; Para iniciar con el trabajo se identificó el *tipo de cebolla* a utilizar la cual fue la cebolla morada de 3.0 cm de diámetro, secas y todas sin formación de las hojas y raíces; adquiridas en el mercado de abastos de la ciudad de Sullana escogiendo las mejores muestras, las cuales fueron obtenidas de 5 puestos de venta diferentes. Posteriormente se lavaron meticulosamente retirando las catafilas exteriores, se secaron y se procedió a limpiar con un bisturí la zona radicular lo más superficialmente posible para evitar de esa forma la destrucción de los primordios y alterar el crecimiento de las raíces que son objeto de nuestra observación.

El *tipo de agua* en este estudio es considerada muy importante por eso se debe de estandarizar su calidad, para ello se evaluaron tres tipos de agua que se pudo obtener: Agua destilada, agua potable y agua embotellada de marca “Cielo”. Las cebollas seleccionadas en la parte anterior se colocaron en los vasos plásticos transparentes con el tipo de agua correspondiente y se sometió a observación, realizando el recambio correspondiente con su mismo tipo de agua cada 24 horas hasta terminar el periodo de estimulación radicular.

Para la estandarización de la *luz y temperatura*, las cebollas se dividieron en grupos de la siguiente forma: Cebollas expuestas a la luz de los fluorescentes del laboratorio con una temperatura controlada que fluctuaba entre 24 – 25 °C, para lo cual cada 24 horas fueron medidas la longitud de sus raicillas hasta completar las 96 horas, este es el tiempo en que las

raicillas alcanzan un crecimiento promedio entre 1.7 y 7.5 cm.

Para terminar este paso de estandarización del bioensayo se considera el recambio de las soluciones del ensayo, lo cual fue dado cada 24 horas hasta completar el periodo indicado.

6.3.1.2.2 Determinación de la concentración tóxica y el efecto del mercurocromo en los meristemos de *Allium cepa*.

Una vez estandarizado el procedimiento anterior se procedió a colocar los bulbos seleccionados de cebolla en vasos plásticos transparentes de 3 onzas con el agua potable que fue seleccionada como la mejor para el crecimiento de las raicillas, bajo la iluminación directa de los fluorescentes del laboratorio (por considerarse la mejor controlada) y la temperatura entre 21 y 25 °C, realizando el recambio de agua cada 24 horas hasta culminar las 96 horas en la cual termina el periodo seleccionado.

En ambos casos se prepararon tres muestras de solución de mercurocromo en concentraciones de: 2%, 1% y 0.5 % de pureza y tratadas con infusión de *Cordia lutea*. Se realizó el test de *Allium cepa* sobre las muestras de solución de mercurocromo tratadas y sin tratar y sobre sus diluciones acuosas 5:20, 5:30 y 5:40. Como medio de control se utilizó agua obtenida del sistema de agua potable de la zona cuya calidad se considera apta para el consumo humano y totalmente inofensivo.

Los ensayos y el control se llevaron a cabo por triplicado. Como parámetro de evaluación se utilizó la elongación de las raíces desarrolladas durante 96 horas a partir del momento de la puesta en contacto de los bulbos con los distintos medios de crecimiento. Durante el período de crecimiento de las raíces el ambiente de trabajo (laboratorio) estuvo iluminado con luz natural indirecta y la temperatura se mantuvo en el rango de los 21 –25°C

6.3.1.2.3 Evaluación del efecto protector de la “flor de overo”

Se seleccionaron las flores de *Cordia lutea Lam* intactas, en buen estado, libres de deterioro y de contaminación microbiana. La planta completa de *Cordia lutea Lam*. Fueron lavados a chorro de agua. Luego la muestra vegetal fue presecada a temperatura ambiente y a la sombra por un periodo de 48 horas. Terminado este periodo, se acondicionó el material botánico en sobres de papel kraft para luego ser sometida a secado final en la estufa a 37 ° C hasta peso constante.

En el laboratorio fueron seleccionadas las flores de "overo" en las mejores condiciones y almacenadas para posterior uso. Un total de 250 g flores completas excepto el cáliz fueron colocadas en 500 mL de agua potable a 100° C, la infusión se la dejó enfriar y reposar a temperatura ambiente por 12 horas.

Para iniciar la prueba toxicológica Se sembraron bulbos de cebolla en los vasos de plástico con las soluciones de mercurocromo correspondiente; hasta obtener las longitudes de las raicillas adecuadas, este bioensayo se realiza por triplicado y se mantiene las 96 horas establecidas al inicio y se renueva durante este periodo las soluciones a evaluar empleando los vasos plásticos transparentes.

Una vez transcurridas las 96 horas que consta el periodo de prueba se observa las raicillas desarrolladas de diferente tamaño, se cortan todas a nivel del disco caulinar y se miden con mucho cuidado utilizando calibre digital de precisión milimétrica con aproximación al 0.1 mm. Se anotaron los resultados.

6.3.1.3 Fundamento del método

Según Díaz, Ronco, & Pica Granados, (2004) cuando un bulbo de la variedad de cebolla *Allium sp.* Se rehidrata se produce una estimulación del crecimiento de las células, lo cual permite la elongación de las raíces de la

planta. Sin embargo, cuando la hidratación se lleva a cabo en presencia de sustancias tóxicas, la división celular de los meristemos radiculares puede inhibirse, ya sea retardando el proceso de mitosis o destruyendo las células. Este tipo de alteraciones generalmente impide el crecimiento normal de la raíz, y por tanto su elongación. El efecto puede determinarse en forma indirecta, mediante la comparación de la elongación de las raíces de los bulbos expuestos al compuesto tóxico contra la de bulbos no expuestos. La cuantificación del efecto se realiza estableciendo el porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) de las raíces expuestas al tóxico respecto a la longitud promedio de las raíces del control.

6.4 Procesamiento y análisis de la investigación

6.4.1 Procesamiento

El procesamiento de los datos que se obtuvieron del presente bioensayo fueron procesados a través de:

Tablas de frecuencia y gráficos estadísticos.

6.4.2 Análisis

Los análisis de los resultados son presentados:

6.4.2.1 Mediana.

6.4.2.2 Promedio estándar.

Tanto el procesamiento como el análisis fueron procesados a través del programa informático EXCEL 2013.

7. RESULTADOS

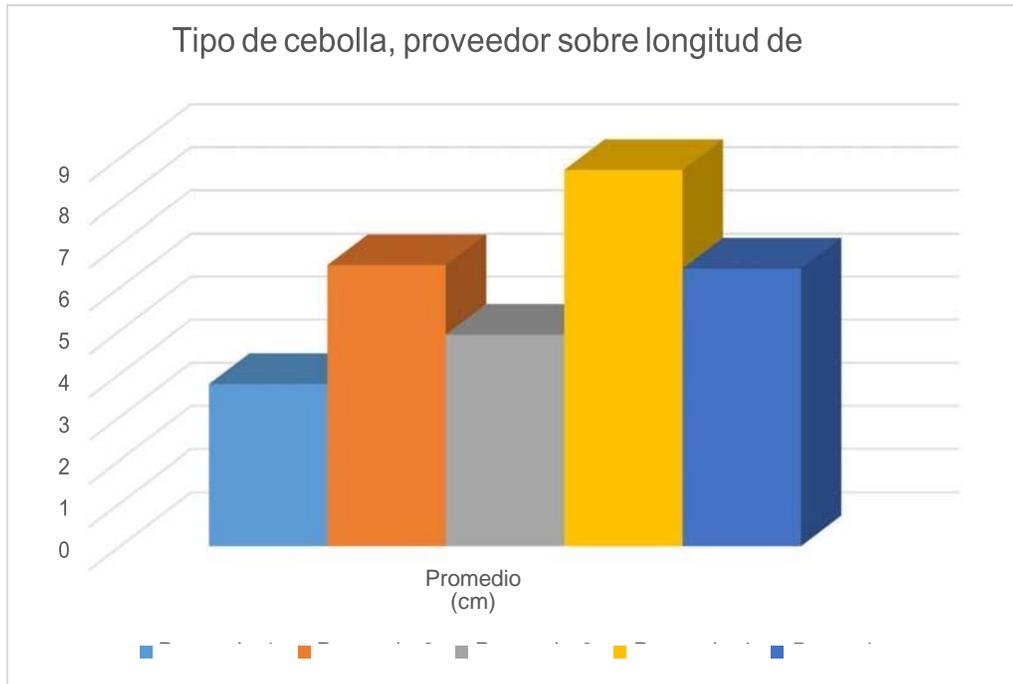
7.1 Resultados

El test de *Allium cepa*, es considerado uno de los más eficientes para la evaluación y monitoreo de la toxicidad de contaminantes el presente estudio usó este recurso que ha sido validado en muchos ensayos y a continuación presentamos las consideraciones y resultados del presente trabajo.

Tabla 1. Efecto del tipo de cebolla y proveedor sobre la longitud de las raicillas en 96 horas.

Proveedor	Tipo cebolla	Longitud de raíz (cm)	Promedio (cm)
Proveedor 1	Morada	0.8 - 9.7	3.76
Proveedor 2	Morada	1.1 - 10.3	6.52
Proveedor 3	Morada	1.0 - 8.7	4.9
Proveedor 4	Morada	2.1 - 14.1	8.72
Proveedor 5	Morada	1.5 - 11.8	6.44

Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo



Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo

Gráfico 1. Efecto del tipo de cebolla y proveedor sobre la longitud de las raicillas en 96 horas

Tabla 2. Efecto del tipo de agua sobre el crecimiento de las raicillas en 96 horas.

Tipo de agua	Longitud máxima de raíz (cm)
Agua potable	15.2
Agua destilada	12.3
Agua embotellada	12.7

Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo

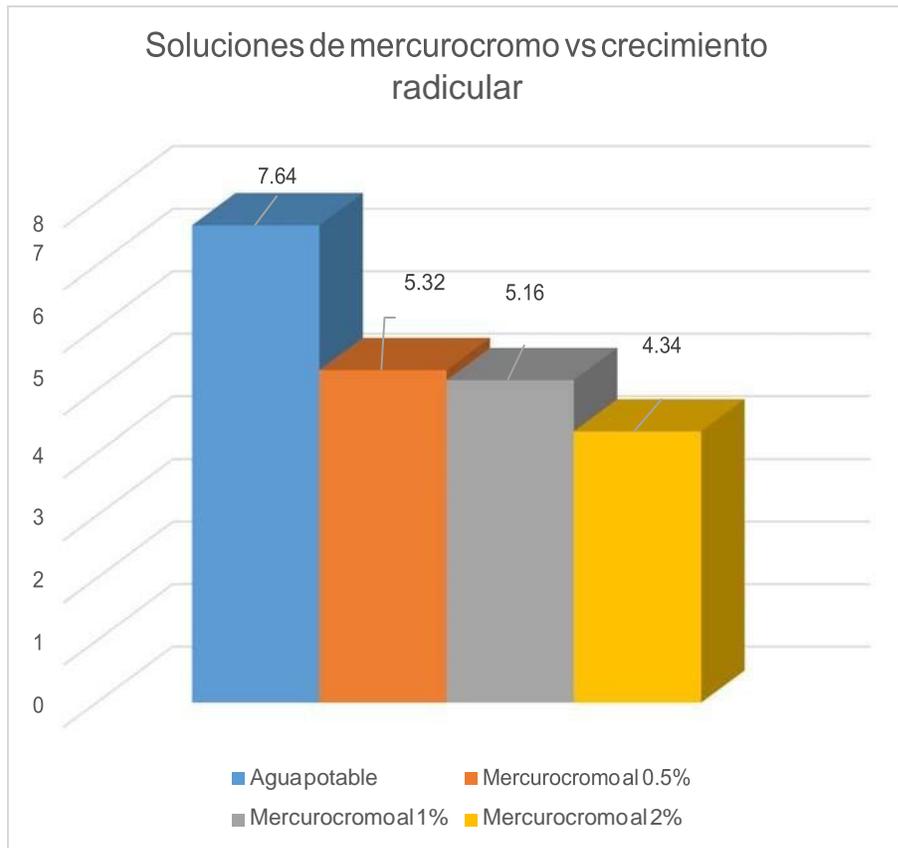


Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo
Gráfico 2. Efecto del tipo de agua sobre el crecimiento de las raicillas en 96 horas.

Tabla 3. Efecto de soluciones de mercurocromo sobre el crecimiento radicular en 96 horas.

Grupo	Soluciones aplicadas	Crecimiento radicular en cm		Promedio
		Mínimo	Máximo	
Control 0	Agua potable	2.1	5.1	7.64
Control 1	Mercurocromo al 0.5%	1.8	1.3	5.32
Control 2	Mercurocromo al 1%	1.1	.8	5.16
Control 3	Mercurocromo al 2%	1	.2	4.34

Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo



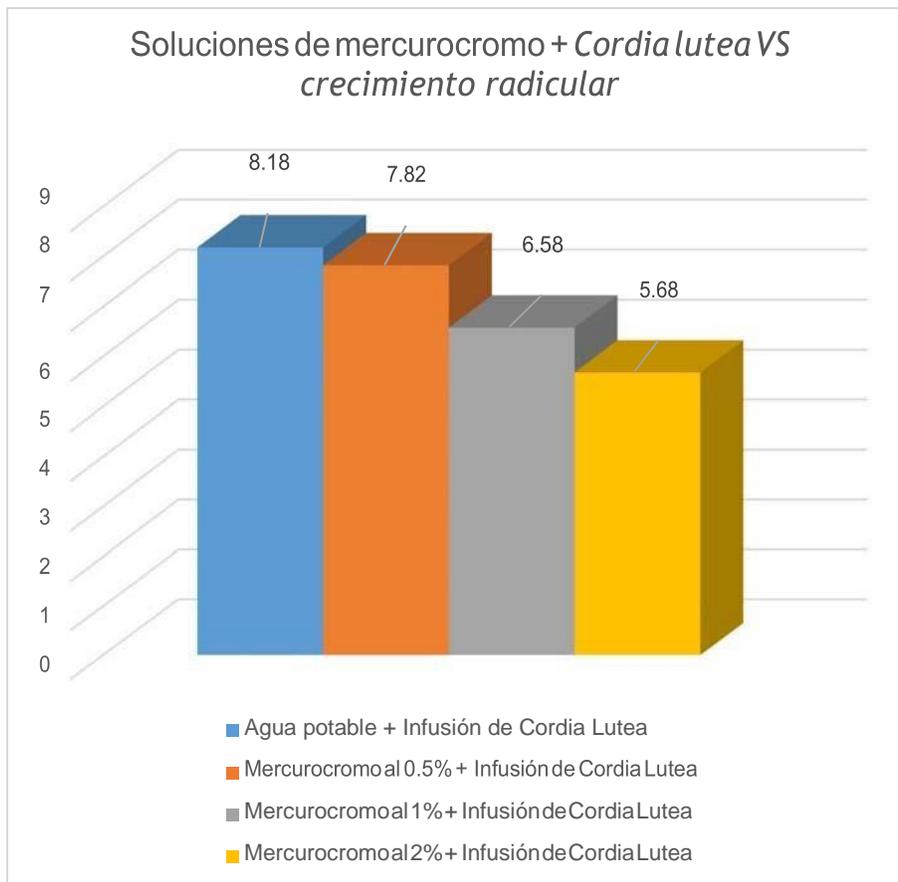
Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo

Gráfico 3. *Efecto de soluciones de mercurocromo sobre el crecimiento radicular en 96 horas.*

Tabla 4. Efecto de soluciones de mercurocromo + Infusión protectora de *Cordia lutea* sobre el crecimiento radicular en 96 horas.

Grupo aplicadas	Soluciones	Crecimiento radicular en cm		Promedio
		Mínimo	Máximo	
Problema 0	Agua potable + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	2.3	16.2	8.18
Problema 1	Mercurocromo al 0.5% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	2.2	15.1	7.82
Problema 2	Mercurocromo al 1% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	1.2	11.4	6.58
Problema 3	Mercurocromo al 2% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	0.9	10.1	5.68

Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo



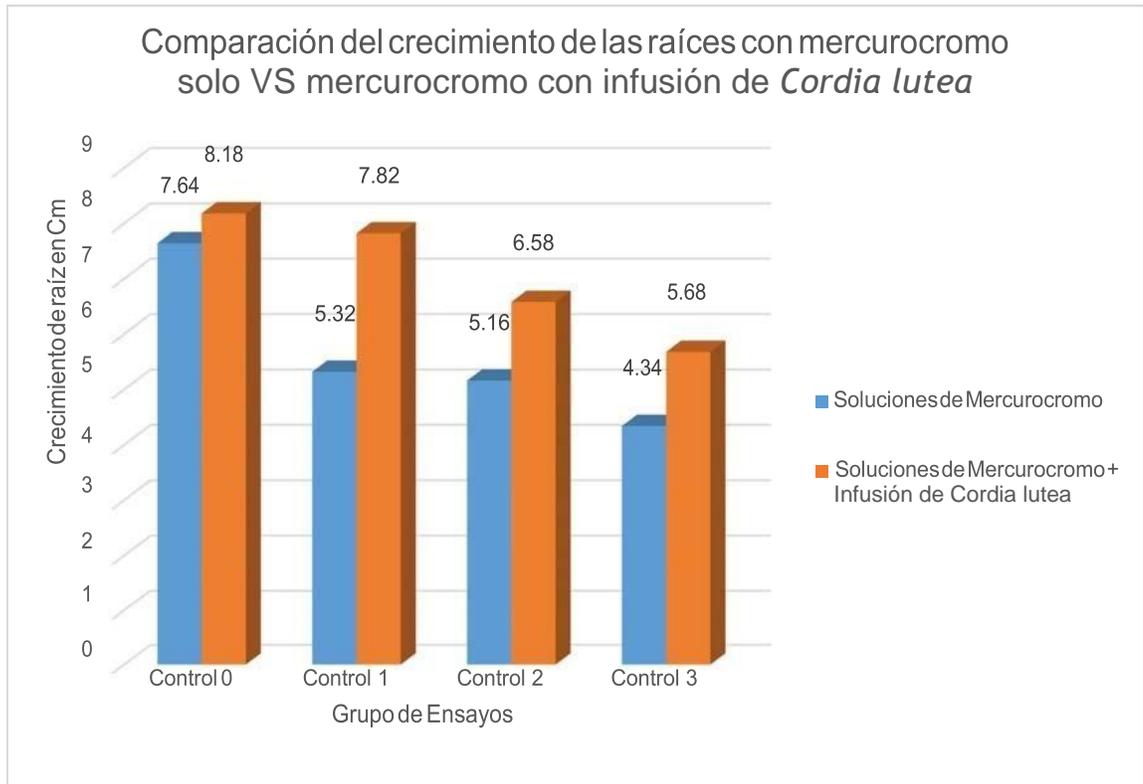
Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo

Gráfico 4. *Efecto de soluciones de mercurocromo + Infusión protectora de Cordia lutea sobre el crecimiento radicular en 96 horas*

Tabla 5. Cuadro comparativo del crecimiento de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de *Cordia lutea*.

Grupo	Soluciones aplicadas	Promedio
Control 0	Agua potable	7.64
Control 1	Mercurocromo al 0.5%	5.32
Control 2	Mercurocromo al 1%	5.16
Control 3	Mercurocromo al 2%	4.34
Grupo	Soluciones aplicadas	Promedio
Problema 0	Agua potable + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	8.18
Problema 1	Mercurocromo al 0.5% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	7.82
Problema 2	Mercurocromo al 1% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	6.58
Problema 3	Mercurocromo al 2% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	5.68

Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo



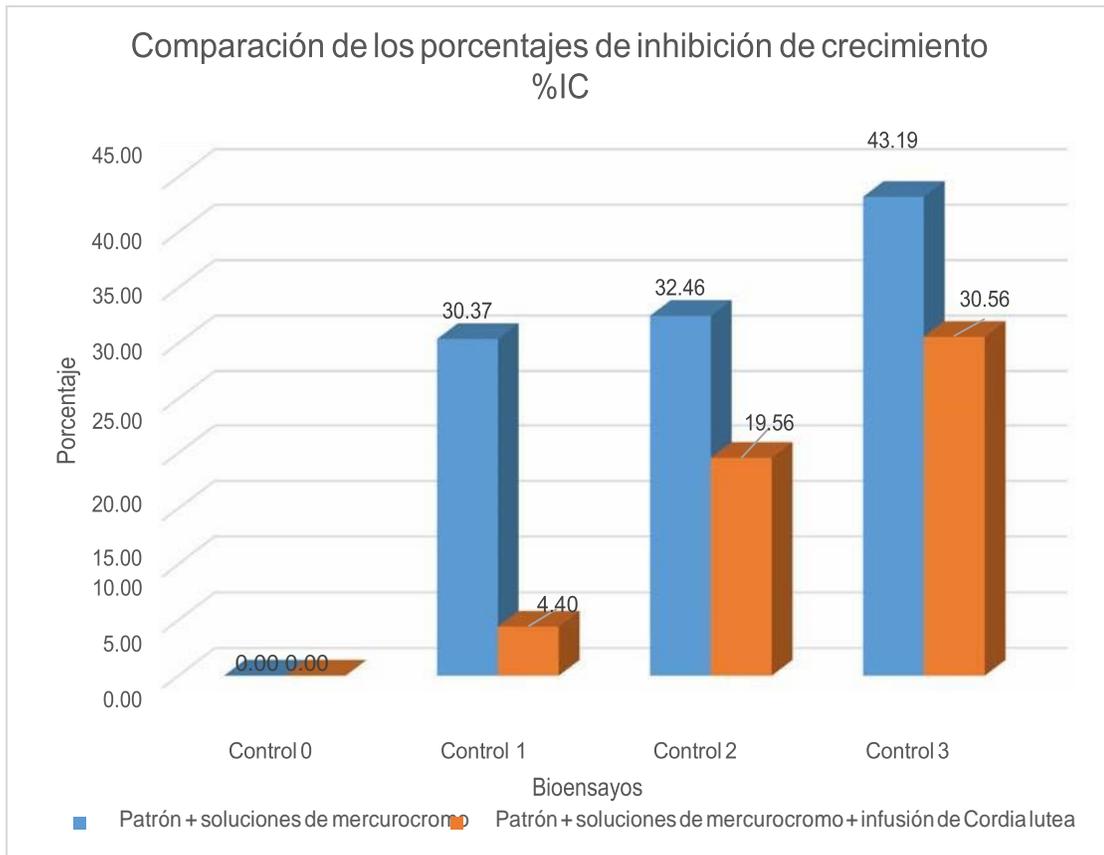
Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo

Gráfico 5. Gráfico comparativo del crecimiento de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de *Cordia lutea*

Tabla 6. Cuadro comparativo del porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de *Cordia lutea*

Grupo	Soluciones aplicadas	Promedio	%IC
Control 0	Agua potable	7.64	0.00
Control 1	Mercurocromo al 0.5%	5.32	30.37
Control 2	Mercurocromo al 1%	5.16	32.46
Control 3	Mercurocromo al 2%	4.34	43.19
Grupo	Soluciones aplicadas	Promedio	%IC
Problema 0	Agua potable + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	8.18	0.00
Problema 1	Mercurocromo al 0.5% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	7.82	4.40
Problema 2	Mercurocromo al 1% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	6.58	19.56
Problema 3	Mercurocromo al 2% + Infusión de <i>Cordia Lutea</i>	5.68	30.56

Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo



Fuente: Cálculos propios extraídos de las observaciones del ensayo

Gráfico 6. Gráfico comparativo del porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) de las raíces con mercurocromo solo VS mercurocromo con infusión de Cordia lutea

8. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Al trabajar con la toxicidad del mercurio como mercurocromo cuyo nombre real es merbromina un compuesto organomercurial de poco uso ya en la actualidad por considerarse tóxico; se usó este compuesto como un sustituto de las diversas sustancias que se encuentran en el medio ambiente y que tienen dentro de su composición mercurio elemental o mercurio orgánico (ambos mercurios son dañino para la salud). Se evaluó la toxicidad del mercurio mediante el test de *Allium cepa*, el cual ha resultado muy útil para la monitorización y el control de la genotoxicidad de contaminantes ambientales de diferente tipo. Se ha tratado de recrear las mismas condiciones de los diferentes ensayos que se han realizado en diversos trabajos de investigación.

En la tabla 1 se presenta la estandarización de una de las variables a considerar que es la relación que existe entre el tipo de especie de cebolla en relación al crecimiento radicular en un periodo determinado, como se observa solo uno de los proveedores del *Allium cepa* cumple con las características esperadas de desarrollo radicular, el cual es proveedor número 4 cuyas raíces tienen un rango de desarrollo que va desde los 2.1 cm hasta llegar a los 14.1 cm que es la mayor longitud esperada. Al calcular el promedio de este valor, observamos que tiene una media de 8.72 cm, lo cual es muy significativo considerando el resto de las pruebas. Es por ello que tomamos las cebollas del proveedor número 4 que nos asegura un crecimiento radicular adecuado.

Según Yupton, Zavala De La Cruz, (2013), Cuando un bulbo de cebolla se rehidrata se produce una estimulación en la división de las células, lo que produce la elongación en las raíces de las plantas. La población de células meristemáticas de cebolla se encuentran sujetas a un equilibrio dinámico estable, hallándose asincrónicamente distribuidas a través del ciclo (...) en las células meristemáticas presentes en los ápices radiculares de *Allium cepa* L. “cebolla” constituyen un modelo ideal para el estudio de los fenómenos celulares debido a que se encuentran en constante equilibrio proliferativo; de esta manera es como el número de células que se encuentran en una fase determinada es también constante y proporcional a la duración de la misma pero cuando se lleva a cabo en presencia de sustancias antimitóticas, citotóxicas o genotóxicas, altera su normal desarrollo e incluso

ocasionan daño a nivel cromosómico, ocasionando que la división celular de los meristemas radiculares pueda inhibirse, retardarse u ocasionar apoptosis.

La tabla 2 nos informa la manera de cómo elegir el agua que se pretende utilizar en los ensayo con el test de *Allium cepa* para de esta forma mantener el control del bioensayo en todo momento; como se observa en los datos el agua óptima a utilizar para el test de *Allium cepa* es el agua potable, puesto que la longitud máxima que alcanzo la raíz bajo estas condiciones fue de 15.2 cm, en condiciones normales. Probablemente por sus características de composición de minerales y diferentes iones como cloruros, nitratos, amonio, calcio, magnesio, fosfato, etc.

En la tabla 3 se evalúa el efecto de las soluciones de mercurocromo sobre el crecimiento radicular, considerando un periodo de tiempo de 96 horas. Este compuesto está catalogado dentro de los órganomercuriales como un bactericida y bacteriostático y como antiséptico de uso común para heridas menores; su mecanismo de acción radica en que los iones del mercurio inhiben las enzimas que contienen los grupos sulfhidrilos y estos iones pueden combinarse con restos de aminoácidos y otros compuestos químicos importantes inhibiéndolos; su uso se encuentra disminuido en la actualidad debido a las múltiples reacciones adversas que han sido reportadas.

En la tabla 3 al enfrentar al mercurocromo en concentraciones de 0.5, 1, y 2% se observó que a concentraciones bajas de mercurocromo ya exhiben propiedades tóxicas en menor proporción, que se pueden visualizar mejor cuando vamos aumentando de concentración del mercurocromo hasta llegar al 2% en las que sí se puede observar una marcada disminución del crecimiento de las raicillas del *Allium cepa* llegando alcanzar inclusive una disminución de más del 50% de longitud. Esto se puede visualizar mejor si comparamos la solución patrón que solamente contiene agua potable se observa que las raíces desarrollan hasta un máximo de 15.1 cm en contraste con la longitud de las raicillas enfrentadas al mercurocromo en un 2% que la mayor de ellas tiene 7.2 cm y la raíz que casi no tuvo desarrollo fue de 1 cm respectivamente; esto se debe a que el mercurio interfiere en diferentes procesos bioquímicos del vegetal inhibiendo el crecimiento global de las células.

Según refiere Ramírez, (2008) los efectos tóxicos del mercurio, inorgánico y orgánico, son debidos a que en su forma iónica no establece enlaces químicos (...) el mercurio es tóxico, porque precipita las proteínas sintetizadas por la célula. En estado iónico, se fija a los grupos celulares ricos en radicales -SH, altera varios sistemas metabólicos y enzimáticos de la célula y su pared e inhibe la síntesis de proteínas en la mitocondria, afectando su función energética.

En la tabla 4 se puede revisar el efecto de las soluciones de mercurocromo mezcladas con la infusión de *Cordia lutea* (Flor de overo) sobre el crecimiento radicular a las 96 horas; se debe de recordar que la flor de overo posee diferentes tipos de flavonoides dentro de su composición de los metabolitos secundarios que tienen por naturaleza efectos antioxidantes, pero en esta oportunidad lo evaluamos frente a la actividad tóxica del mercurio. El crecimiento promedio de la muestra problema 0 que contiene el patrón de referencia es una mezcla de agua potable con infusión recién preparada de *Cordia lutea* en esta muestra podemos observar que el crecimiento promedio alcanza hasta 8.18 cm con un rango que fluctúa desde 2.3 cm hasta 16.2 cm, es decir un máximo desarrollo radicular.

Al someter la muestra problema de mercurocromo al 05% con la infusión recién preparada de *Cordia lutea* pudimos observar que tanto los rangos como el promedio de crecimiento disminuyó ligeramente, es decir 2.2 cm hasta 15.1 cm de rango y 7.82 cm de promedio, lo que nos indica una pequeña acción protectora de la infusión de *Cordia lutea* que todavía podría confundirse con la muestra patrón. Sin embargo cuando revisamos la mezcla de mercurocromo al 2% con la infusión de *Cordia lutea* como sustancia protectora observamos que el desarrollo radicular se mantiene de manera ligeramente disminuida pero esta vez sí es visible el efecto protector de los flavonoides que según Zumarán & Vásquez Villacampa, (2015) el contenido de flavonoides es de 1.3% que es un valor elevado en comparación a otros resultados obtenidos de otras especies vegetales. Existen otros metabolitos secundarios también, extraídos de la especie *Cordia lutea* puesto que la solución del mercurocromo al 2% solo, tiene un efecto negativo marcado en el desarrollo radicular llegando inclusive a disminuir su desarrollo en un 50% mientras que cuando usamos la infusión en mención la disminución del crecimiento solo puede llegar a un 37% aproximadamente, lo que nos indica que si existe una función protectora de la

infusión de *Cordia lutea*.

En la tabla número 5 establecemos un cuadro comparativo del crecimiento de las raíces tratadas con la solución de mercurocromo solo en comparación con las raíces tratadas con mercurocromo mezcladas con la infusión de *Cordia lutea* como agente protector de la toxicidad del mercurio, como observamos en la muestra de control 1 que tiene un desarrollo promedio de 5.32 cm frente a la muestra problema 1 que muestra un desarrollo radicular promedio de 7.82 cm es decir se puede observar que la infusión de *Cordia lutea* está ejerciendo un efecto protector frente a la agresión tóxica del mercurio representado por las soluciones del mercurocromo; eso no es todo si nos vamos al otro extremo del rango y comparamos el grupo control 3 que tiene un desarrollo promedio radicular de 4.34 cm frente al grupo problema que se encuentra protegido con la infusión de *Cordia lutea* tiene un desarrollo promedio radicular de 5.68 cm lo cual mantiene la tendencia de protección por parte de nuestra infusión en estudio. En la tabla número 6 que exhibe un cuadro comparativo del porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) de las raíces con mercurocromo solo enfrentado con la solución del mercurocromo mezclado con el agente protector de infusión de *Cordia lutea*,

Según Díaz, Ronco, & Pica Granados, (2004) “el porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) se obtiene mediante la siguiente fórmula: $(\text{Longitud del control} - \text{longitud de la muestra}) \times 100 / \text{longitud del control}$ ”, al aplicar esta fórmula obtenemos resultados bastante significativos como el %IC del grupo control 3 que contiene mercurocromo al 2% tiene una %IC de 43.19 mientras que el grupo problema 3 tiene un %IC de 30.56 es decir un 12.63 puntos porcentuales menos lo cual es bastante significativo y nos indica que el efecto protector de la infusión de *Cordia lutea* es muy importante.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1 Conclusiones

9.1.1 El compuesto orgánico – mercuríco conocido como mercurocromo o también llamado merbromina posee un efecto tóxico directo sobre las células meristemáticas de *Allium cepa*, lo cual también se demostró la sensibilidad óptima del Test de *Allium cepa*.

9.1.2 Existen en el mercado algunas formulaciones que contienen en su composición el mercurio orgánico a dosis más elevadas que las usadas en estos ensayos como por ejemplo el famoso Merthiolate en cuya composición tiene como principio activo el tiosalicilato mercurial, lo cual se han reportado diversas reacciones adversas.

9.1.3 La infusión de *Cordia lutea* tiene efecto citoprotector en células meristemáticas de *Allium cepa*.

9.2 Recomendaciones

Seguir investigando las diversas formas farmacéuticas que en su composición química contengan mercurio orgánico e inorgánico puesto que son fuentes de contaminación muy peligrosas

Mayor fuerza en la investigación de plantas medicinales puesto que la zona norte del Perú es rica en especies vegetales con un alto poder curativo y que aún están por conocer. Incentivar el mejorar el estudio de flor de overo para una correcta dosificación de los flavonoides que contiene.

Iniciar charlas informativas a las empresas que trabajan con metales pesados cuyos trabajadores están expuestos a presentar citotoxicidad ya que algunas veces no cuentan con las medidas de bioseguridad adecuados para protegerse de estas sustancias.

10. AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que han hecho posible mi realización profesional.

En primer lugar a Dios por la sabiduría que me brinda, a mis padres que constituyen el apoyo para concretar este objetivo.

A mi familia, a mi esposa y mi hijo que son el motivo y la fuerza que me impulsan para alcanzar mis metas, a mi asesor miembros del jurado, y a todos que de una y otra manera contribuyeron para la culminación y concretación de este sueño hecho realidad.

11. Referencias Bibliográficas

- Amador, L. R., Gonzales Martinez, F. Martinez Hernandez, L. Vergara, W. Celedon Suarez, J. (2015). Niveles de metales pesados en muestras biológicas y su importancia en la salud. *Revista Nacional de Odontología*, 85 - 98.
- Berrocal, A., Blas, R., Flores, J., & Siles, M. (2013). Evaluación del potencial mutagénico de biocidas (vertimec y pentacloro) sobre cebolla. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17 - 27.
- Caballero, G. Patiño, A. (2007). *Evaluación de la actividad protectora de aceites esenciales de la flora colombiana contra los efectos genotóxicos del cadmio sobre raíces de Allium cepa*. Cartagena Colombia: Universidad de Cartagena.
- Calabuig, G. (2005). *Medicina legal y toxicología*. Barcelona España: Masson SA.
- Camean, A. (1995). *Toxicología Avanzada*. Madrid, España: Ediciones Díaz Santos SA.
- Cañizares Villanueva, R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 131-143.
- Cartaya, O. Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 5 - 14.
- Casanova, E. A. Ruiz Reyes, S. Gavidia Valencia, J. G. Cosavalente Burgos, K. Curo Vallejos, Y. Valdiviezo Campos, J. . . . Cuéllar Cuéllar, A. (2018). New Source of Rutin from the Flowers of *Cordia lutea* (Boraginaceae). *Annual Research & Review in Biology*, 1-7.
- Cuenca, P. Ramirez, V. (2004). Mutagénesis ambiental y el uso de biomarcadores para predecir el riesgo de cáncer. *Revista de Biología Tropical*, 585-590.
- Díaz, B. Ronco, A. Pica Granados, Y. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y

aplicaciones. *IDRC*.

Fiskesjö, G. (2014). The Allium test as a standart in enviromental monitoring. En G. Nordberg, B. Fowler , & M. Nordberg, *Handbook of toxicology of metals* (pág. 567). London: Elsevier.

Fuentes, I. M. Reyes Gil, R. (2003). Mercurio y salud en la odontología. *Revista Saúde Pública*, 266-72.

Gaioli, M. Amoedo, D. gonzales , D. (2012). Impacto del mercurio sobre la salud humana y el ambiente. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 259 - 264.

Guerrero, M. d. (2008). *Estudio del efecto de las propiedades quelantes de los flavonoides sobre su capacidad antioxidante total*. Santiago de querétaro México: Universidad Autónoma de Querétaro.

JECFA. (2004). *Methylmercury. In: Safety evaluation of certain food additives and contaminants*. Genova: WHO Technical Report Series 922.

Smith, K. R., Corvalán, C. F., & Kjellstrom, T. (1999). How much global ill health is attributable to environmental factors?. *Epidemiology-Baltimore*, 10(5), 573-584.

León, J. M. (2011). *Medicinal Plants of Peru*. Trujillo - Perú: Pacific Institute SAC.

Llontop, L. F. Díaz Vargas, C. (2014). Efecto citoreparador de Aloe vera L. “sábila” en tejidos embrionarios de Allium cepa L. “cebolla” con daño cromosómico inducido por amoxicilina. *ACC CIETNA Para el cuidado de la salud*, 1 - 10.

Marcos, F. V. (2005). La contaminación ambiental como factor determinante de la salud. *Revista Especializada en Salud Pública*, 117 - 127.

Méndez, J. P., Gónzales Ramírez, C., Román Gutierrez, A., & Prieto García, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* , 34.

Ospina, A. P. (2009). *Evaluación del efecto protector del aceite esencial de Lippia alba*

sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de Allium cepa. Cartagena de Indias: Sistema Universitario Estatal Del Caribe Colombiano.

Paredes, T. M., Molina Paredes, J., & Casassa Padron, A. (2006). Proceso mitótico en células radicales de *Psidium* spp. tolerantes, susceptibles y resistentes a *Meloidogyne incognita* en el estado Zulia, Venezuela. *Centro de Unvestigación de Biología*, 1-12.

Peñaloza, M., Camargo, M., & Palacio, J. (2003). Genotoxicidad del cloruro de mercurio en dos especies ícticas. *Actualización en biología*, 105 - 111.

Plengue, F. O. (2010). Mercurio y salud en Madre de Dios. *Actga Médica peruana*, 310-314.

Plengue, F. O., Huamán Guerrero, M., & Grández Castillo, G. (2009). Intoxicación por mercurio en la region de Madre de Dios: un problema de salud pública. *Revista de la Facultad de Medicina Humana URP*, 45-52.

Quintana, R. V., Gómez Arroyo, S., Castillo Cadena, J., & Sanchez Alarcón, J. (2014). Genotoxicidad de Plaguicidas: Bioensayos a corto plazo. En M. L. Hernández, E. Sanchez Salinas, J. L. Folch Mallol, A. Olvera Velona, & E. Dantan Gonzales, *Los Plaguicidas en México: Aspectos Generales, toxicológicos y ambientales* (págs. 73-96). México: Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Morelos.

Ramírez, A. (2008). Intoxicación ocupacional por mercurio. *Anales de Facultad de Medicina*, 46-51.

Repetto, M. (1997). *Toxicología Fundamental*. Madrid , España: Ediciones Diaz de Santos SA.

Trisak, S., Doumgdee, P., & Rode, B. (1990). Binding of zinc and cadmium to human serum albumin. *International Journal of Biochemistry*, 977-981.

Trueba, G. P. (2003). Los flavonoides: Antioxidantes o prooxidantes. *Centro de*

Investigaciones Biomédicas, 48-57.

Yupton, C. C., & Zavala De La Cruz, F. (2013). Determinación del índice mitótico de meristemos radiculares de *Allium cepa* expuestas al extracto etanólico de *Erythroxylum coca* a diferentes concentraciones y tiempos de exposición. *Sagasteguiana*, 29-38.

Zumarán, L. M., & Vásquez Villacampa, K. P. (2015). *Estudio farmacognóstico y cuantificación de flavonoides totales de las flores de Cordia lútea (flor de overo) proveniente de Cormot distrito de Compín provincia de Gran Chimú región La Libertad*. Trujillo Perú: Universidad Nacional de Trujillo.

12. Anexos

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA BIOLÓGICA



SOLUCIONES DE MERCUROCROMO AL 0.5%, 1% Y 2%



**SIEMBRA DE LA MUESTRA BIOLÓGICA CON LAS
SOLUCIONES TOXICAS SIN TRATAR,
TRATADAS Y PATRON**



PREPARACIÓN DE LA INFUSIÓN DE LA FLOR DE OVERO



DESPUES DE 96 HORAS



PATRÓN



SOLUCIÓN TRATADA



SOLUCIÓN SIN TRATAR