

UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
“FRANKLIN ROOSEVELT”
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA



**“Efecto tóxico de AINEs en meristemas radiculares
de *Allium cepa*”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

TESISTAS:

Bach. HUAMANCAYO PARIONA Wendy Rita

Bach. PERALES SALOME Patricia Barbarita

HUANCAYO – PERÚ

2018

ASESORA:

Q.F. DIANA ANDAMAYO FLORES

.....

A mi madre y familiares Quienes con su apoyo, dedicación y paciencia me motivaron a culminar mi carrera, contribuyendo a mi formación personal y profesional.

Wendy

A mi familia por su apoyo incondicional para la culminación de mi carrera profesional y el hacerlos sentirse orgullosos de esta persona que tanto los ama y a todos los que colaboraron en la realización de nuestra investigación.

Patricia

Agradecimiento

A Dios por haberme inspirado realizar mi trabajo y llegar a esta etapa, por permitirme ser constante, paciente para lograr mis objetivos.

A la Dra. Diana Andamayo Flores, Directora Académica de la Escuela Académica Profesional de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Privada Franklin Roosevelt.

A los profesionales que ayudaron a la ejecución y orientación de este trabajo: Q.F. Julio Miguel Oscanoa Lagunas y al Biólogo Jorge Acislo Veliz.

ÍNDICE

CAPITULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Descripción del problema.....	4
1.3. Formulación del problema.....	6
1.3.1. Problema general.....	6
1.4. Objetivo de la investigación.....	7
1.4.1. Objetivo general.....	7
1.4.2. Objetivos específicos.....	8
1.5. Justificación de la investigación.....	8
CAPITULO II.....	10
MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. Antecedentes.....	10
2.1.1. Internacionales.....	10
2.1.2. Nacionales.....	13
2.1.3. Bases teóricas de la investigación.....	15
2.1.4. Marco conceptual.....	20
2.2. Hipótesis.....	23
2.3. Variables.....	23
CAPITULO III.....	24
METODOLOGÍA.....	24
3.1. Método de investigación.....	24
3.2. Tipo y nivel de investigación.....	25
3.3. Diseño de la investigación.....	25
3.4. Población de estudio.....	25
3.5. Muestra.....	25
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	25
3.7. Técnica de procesamiento de datos.....	25
CAPÍTULO IV.....	27
RESULTADOS.....	27

CAPÍTULO V	37
DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES	44
RECOMENDACIONES.....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXOS.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Trabajos de investigación utilizando Allium cepa, según el Registro Nacional de Trabajos de investigación (CONCYTEC)	28
Tabla 2: Trabajos de investigación utilizando Allium cepa, según el buscador google académico.	30
Tabla 3: Valores hallados para determinar el Índice mitótico e índice de fases (Grupo control y AINEs)	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Porcentaje de inhibición de Allium cepa a diferentes concentraciones de diclofenaco	31
Figura 2: Porcentaje de inhibición de Allium cepa a diferentes concentraciones de ibuprofeno	32
Figura 3: Porcentaje de inhibición de Allium cepa a diferentes concentraciones de naproxeno	32
Figura 4: Tabla comparativa del crecimiento de Allium cepa entre el grupo control y las diferentes concentraciones de diclofenaco	33
Figura 5: Tabla comparativa del crecimiento de Allium cepa entre el grupo control y las diferentes concentraciones de ibuprofeno.....	34
Figura 6: Tabla comparativa del crecimiento de Allium cepa entre el grupo control y las diferentes concentraciones de naproxeno.....	35

RESUMEN

Los antiinflamatorios son un grupo de medicamentos que son muy consumidos ya sea por prescripción médica o por una automedicación, con la finalidad de aliviar algunos dolores y molestias, estos medicamentos en la mayoría de los casos puede ocasionar cierto tipo de problemas en las personas que los consumen, pero también al ser eliminados inadecuadamente puede ingresar al ambiente, donde se encuentran especies vegetales como *Allium cepa* (cebolla), material biológico de nuestro trabajo.

Teniendo en cuenta que el diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno, son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) de mayor consumo en los establecimientos farmacéuticos nos propusimos como objetivo general: Evaluar la toxicidad de los AINEs a diferentes concentraciones por medio de ensayos observados en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

Para ello abordamos una metodología del tipo experimental, con tres replicas aplicadas a *Allium cepa*, utilizando un grupo control negativo y cinco concentraciones diferentes de cada uno de los medicamentos seleccionados para este estudio.

Los resultados demuestran que los AINEs, aun encontrándose a concentraciones muy diluidas, tienen un efecto toxico inhibiendo el crecimiento de los meristemas de *Allium cepa*, siendo los porcentajes más altos de inhibición en diclofenaco a una concentración de $2,4 \times 10^{-4}$ mg/mL = 85,71 %; ibuprofeno a una concentración de 4,0 mg/mL = 94,28 % y de naproxeno a una concentración de 100 mg/mL = 97,71 %.

Así mismo la observación microscópica permitió evidenciar que existen aberraciones cromosómicas dentro del proceso de cada una de las fases de la mitosis en los grupos experimentales a las 72 horas, comparadas con el grupo control.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Últimamente existe una creciente preocupación por los efectos que los medicamentos consumidos y los restos de medicamentos no utilizados producen en el ambiente.

El motivo es la confirmación de la presencia de trazas de sustancias procedentes de los medicamentos en aguas superficiales y subterráneas, incluidos en los seres vivos que los habitan, los suelos, los residuos sólidos y sobre todo en las aguas residuales.

A esto se suma los impactos ambientales producidas por las propias industrias farmacéuticas y establecimientos farmacéuticos, así como los procedentes de los medicamentos utilizados en veterinaria.

Sin embargo existe poca información científica sobre los riesgos sanitarios para los hombres y el ambiente debido a la exposición a los restos de las sustancias medicamentosas, que pueden ingresar en nuestros alimentos de manera indirecta por el consumo de animales y vegetales que contengan residuos de medicamentos.

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son medicamentos muy populares por sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Se encuentran entre los medicamentos prescritos con mayor frecuencia en todo el mundo¹.

Cada vez que una persona o paciente que va al baño luego de tomar algún medicamento, elimina a través de su orina entre el 50 y el 90 por ciento del contenido de ese mismo medicamento. Esto puede ser aún más grave si se arrojan al excusado los medicamentos vencidos o que ya no necesitan.

Este tipo de contaminación viene preocupando a expertos a nivel global. Organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas (ONU) y las agencias reguladoras de medicamentos en EE. UU: Food and Drug Administration (FDA) y Europa: Agencia Europea de Medicamentos (EMA), entre otros, ya alertan de este problema sanitario².

1.1. Planteamiento del problema.

El consumo de medicamentos, cada vez más diversos, ha aumentado en los últimos años. Estos productos, si llegan a la naturaleza, dañan la flora y la fauna y contaminan ríos y océanos en todo el mundo. Los

¹ Mendoza Urrutia Luis Antonio, Salvatierra Laytén Gustavo, Frisancho Velarde Oscar. Perfil del consumidor de antiinflamatorios no esteroideos en Chiclayo y Cajamarca, Perú. Acta méd. peruana [Internet]. 2008 Oct [citado 2018 Ene 30]; 25(4): 216-219. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172008000400006&lng=es

² Alex Fernández M. Tirar medicamentos daña el medio ambiente. Consumer [Internet]. 2014. [citado el 30 de enero 2018]; Medioambiente urbano. Disponible en: http://www.consumer.es/web/es/medio_ambiente/urbano/2014/11/17/220970.php

primeros estudios científicos comenzaron hace unos 40 años y, desde entonces, son cada vez más numerosos. Uno de los más recientes se publicaba en un especial de la revista: *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. Sus autores señalan que los fármacos vertidos en el medio ambiente pueden ser una "causa oculta de la crisis de la biodiversidad global"³.

Alberto Fernández de la revista *Consumer* de España, señala además las posibles consecuencias del vertimiento de los medicamentos al ambiente, tales como:

Feminización de los machos: Los estrógenos de las píldoras anticonceptivas han tenido este efecto en diversas especies de peces y anfibios.

Extinción de aves carroñeras: El diclofenaco, utilizado para dolencias del ganado, ha supuesto la casi desaparición de buitres en la India. En España se han detectado problemas en buitres y quebrantahuesos tras ingerir restos de ovino con sustancias antiparasitarias.

Daños en órganos internos: El antiinflamatorio flunixin causa lesiones en codornices y la muerte en grullas siberianas.

Problemas alimenticios: Las aves que ingieren el antidepresivo Prozac reducen su alimentación en invierno y, a la vez, sus posibilidades de supervivencia.

Isariebel Quesada Peñate y colaboradores (2009)³, refiere: Los productos farmacéuticos son compuestos complejos ampliamente

³ Quesada Peñate, Isariebel, Jáuregui Haza, Ulises Javier, Wilhelm, Anne-Marie, Delmas, Henri, Contaminación de las aguas con productos farmacéuticos. Estrategias para enfrentar la problemática. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas* [en línea] 2009, 40 (Septiembre-Diciembre) : [Fecha de consulta: 30 de enero de 2018] Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181221662005>> ISSN 0253-5688

utilizados en todo el planeta. Miles de moléculas activas diferentes se usan actualmente en el mundo para combatir o prevenir enfermedades, con cientos de nuevos productos que se sintetizan cada año para reemplazar otros ya obsoletos.

El primer estudio sobre la contaminación por productos farmacéuticos tuvo lugar en una planta de tratamiento de residuos de Kansas City en 1976. Los resultados fueron publicados y luego ignorados por 15 años ⁴.

En 1992, investigadores alemanes que trabajaban en la búsqueda de herbicidas en agua, encontraron el ácido clofíbico. Ese mismo año, estudios en Alemania, Dinamarca y Suecia hallaron este compuesto en ríos, lagos y en el Mar del Norte. A partir de los resultados de este trabajo europeo, a prestar atención al tema de los medicamentos en el medio ambiente ⁵.

1.2. Descripción del problema.

Los fármacos han sido encontrados en aguas superficiales y subterráneas e incluso en el agua potable. La contaminación proviene no solo de las excreciones, con las que una parte importante del fármaco es eliminado del cuerpo sin metabolizarse, sino que proviene también de la fabricación y disposición inadecuada de los desechos de estos productos.

Científicos alemanes⁶ reportaron que sea cual sea el cuerpo de agua escogido pueden encontrarse entre 30 y 60 productos farmacéuticos.

⁴ Hignite C and Azarnoff DL. Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and Salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sci.* 1977;20:337-341.

⁵ Raloff J. Drugged Waters. *Sci News.* 1998;153:187-189.

⁶ Buser HR and Muller MD. Occurrence of the pharmaceutical drug clofibric acid and the herbicide mecoprop in various swiss lakes and in the North Sea. *Env Sci Techn.* 1998;32:188-192.

Busser y Miller (1998)⁷ refieren, La concentración de estos productos en el agua es del orden de las partes por billón, comparable con la que se encuentra en los pesticidas.

Lamentablemente, los medicamentos son diseñados para que posean determinadas características, por ejemplo, aproximadamente el 30 % de ellos son lipofílicos, que significa que se disuelven en grasa, pero no en agua. Esta característica les permite pasar a través de las membranas de la célula y actuar dentro de ellas.

Esto significa también que una vez que han entrado en los cuerpos de agua, entran a la cadena alimentaria.

Por otro lado, los medicamentos se diseñan para que sean persistentes, que significa que pueden mantener su estructura química un tiempo suficientemente grande como para ejercer su trabajo terapéutico, por lo tanto, una vez que entran en los cuerpos de agua persisten en ellos.

Incluso, si la concentración de los productos farmacéuticos en aguas residuales, superficiales y subterráneas es baja, los investigadores se preguntan cuál es el efecto a largo plazo de una mezcla diluida de pesticidas, antibióticos, hormonas, analgésicos, tranquilizantes y productos de la quimioterapia. Por supuesto, no existe respuesta todavía para esta pregunta, pues se deben tener en cuenta las múltiples interacciones que pueden ocurrir en una mezcla de compuestos químicos tan compleja.

Frente a ello surge la imperiosa necesidad de evaluar la toxicidad de tres AINEs a diferentes concentraciones, en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

⁷ Castillo, G. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. (Ed) México: 2004. IMTA. 188 pp.

1.3. Formulación del problema.

El presente trabajo tuvo como objetivo abordar el efecto de diferentes concentraciones de AINEs, ya que suponemos que en la actualidad la contaminación de las aguas se debe a este tipo de productos farmacéuticos, los cuales pueden provenir de efluentes de instalaciones hospitalarias y también de la industria farmacéutica, pues en ella también se genera residuos.

La gestión inadecuada de las aguas residuales urbanas, industriales y agrícolas conlleva que el agua que beben miles de personas en nuestra ciudad se vea peligrosamente contaminada o polucionada químicamente.

Todos los organismos vivos están expuestos constantemente a elementos que por sus propiedades físicas, químicas o biológicas, al ser ingeridos, inhalados, aplicados tópicamente o inyectados, son capaces de provocar alteraciones orgánicas, funcionales y aun la muerte. Tal exposición puede ser inadvertida, accidental o incluso inevitable o intencional. Algunos de estos elementos son inocuos, pero varios de ellos pueden provocar reacciones biológicas de naturaleza farmacológica o tóxica. A menudo, estas reacciones dependen de la conversión de las sustancias absorbidas en un metabolito activo, lo que puede provocar diversos problemas de salud.

1.3.1. Problema general.

El presente trabajo tiene como objetivo abordar el efecto de diferentes concentraciones de AINEs, ya que suponemos que en la actualidad la contaminación de las aguas se debe a este tipo de productos farmacéuticos, los cuales pueden provenir de efluentes de instalaciones hospitalarias y también de la industria farmacéutica, pues en ella también se genera residuos.

La gestión inadecuada de las aguas residuales urbanas, industriales y agrícolas conlleva que el agua que beben miles de personas en nuestra ciudad se vea peligrosamente contaminada o polucionada químicamente.

Todos los organismos vivos están expuestos constantemente a elementos que por sus propiedades físicas, químicas o biológicas, al ser ingeridos, inhalados, aplicados tópicamente o inyectados, son capaces de provocar alteraciones orgánicas, funcionales y aun la muerte. Tal exposición puede ser inadvertida, accidental o incluso inevitable o intencional. Algunos de estos elementos son inocuos, pero varios de ellos pueden provocar reacciones biológicas de naturaleza farmacológica o tóxica. A menudo, estas reacciones dependen de la conversión de las sustancias absorbidas en un metabolito activo, lo que puede provocar diversos problemas de salud.

Es por eso que con este estudio nos preguntamos:

¿Los AINEs a diferentes concentraciones tienen un efecto toxico en el crecimiento radicular de *Allium cepa*?

1.4. Objetivo de la investigación.

1.4.1. Objetivo general.

Evaluar la toxicidad de los AINEs a diferentes concentraciones por medio de ensayos observados en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

1.4.2. Objetivos específicos.

1. Proponer al *Allium cepa* como bioindicador ambiental frente a la acción de los AINEs.
2. Determinar el porcentaje de inhibición en el crecimiento de las radículas de *Allium cepa* a diferentes concentraciones de AINEs.
3. Determinar el índice mitótico a diferentes concentraciones de los AINEs en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

1.5. Justificación de la investigación.

SOCIAL

Los medicamentos del tipo AINEs tienen un consumo elevado en nuestra ciudad de Huancayo y en algunos casos estos son eliminados de manera inadecuada afectando al ambiente, específicamente a los suelos y agua, este efecto puede trasladarse también hacia los seres vivos si llegan a consumir vegetales como la cebolla (material biológico para este estudio) donde puede haberse incluido el principio activo de este tipo de medicamentos.

METODOLÓGICA

En este trabajo se aplicaron métodos y técnicas de revisión y análisis documental, sobre los bioindicadores ambientales, el efecto que tienen los AINEs al ser vertidos directamente e indirectamente al ambiente; también se determinó la toxicidad aguda, mediante la determinación del porcentaje de inhibición y finalmente se evaluó la citotoxicidad mediante la determinación del índice mitótico en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

Tanto el porcentaje de inhibición como la determinación del índice mitótico, son técnicas que vienen siendo utilizados en otros países desarrollados; los mismos que permitieron establecer comparaciones entre los grupos controles que se desarrollaron en condiciones de hidratación, con agua natural, para la estimulación del crecimiento de las raíces de la cebolla y los grupos experimentales que fueron las hidrataciones a los bulbos de las cebollas con diferentes concentraciones de diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno.

CIENTÍFICA

Si bien existen antecedentes de éxito en la aplicación de las técnicas anteriormente detalladas, estas no han sido aplicadas en nuestro medio, por lo que creemos que daremos un aporte al campo de la toxicología aplicadas al cuidado del ambiente.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO.

2.1. Antecedentes.

2.1.1. Internacionales.

Gabriela Castillo (México, 2004), publica un libro denominado: Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. En ella explica el fundamento de la técnica a ser utilizada en nuestro trabajo, indicando:

Cuando un bulbo 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

meristemas radicales 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 cebollas expuestas al tóxico con las de cebollas no expuestas, luego de un periodo de 72 h de prueba. La cuantificación del efecto se realiza estableciendo el porcentaje de inhibición del crecimiento de las raíces respecto a la longitud promedio de las raíces del control.

Nancy Andrioli y colaboradores⁸ (Argentina, 2006). Realizan un trabajo de investigación, evaluando la toxicidad y genotoxicidad del metronidazol en *Allium cepa*, en ella refieren que este medicamento es un compuesto de uso frecuente como antiparasitario y bactericida. Los estudios tanto *in vivo* como *in vitro* sobre la genotoxicidad del metronidazol exhiben resultados contradictorios.

Dado que hasta el momento, este medicamento no había sido evaluado en modelos vegetales, por ellos se buscó caracterizar el discutido efecto del metronidazol al aplicar el test de *Allium cepa*, en un modelo de sensibilidad demostrada para evaluar tanto toxicidad como genotoxicidad. El análisis fue realizado sobre el crecimiento de las raíces y sobre las células meristemáticas del ápice.

⁸ Andrioli, NB, Wulff, AF, Mudry, MD. *Allium cepa* como biomonitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol. *Theoria* [Internet]. 2006;15(2):9-16. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=29915202>.

Los resultados evidenciaron que la toxicidad manifiesta sobre el crecimiento de la raíz para las concentraciones 250 y 500 ug/ml no está asociada a la inhibición del metronidazol sobre las células meristemáticas no afectan significativamente el ciclo celular y que involucrarían otros mecanismos asociados al crecimiento de la raíz.

Marina Torres⁹ (Cuba, 2003), refiere que: El creciente desarrollo industrial y urbano ha traído consigo la aparición de una cantidad apreciable de sustancias químicas tóxicas, lo cual afecta tanto la salud humana como la de los ecosistemas en países desarrollados y en vías de desarrollo.

Recientemente se han instrumentado bioensayos rápidos con el empleo de plantas como organismos de prueba, los que funcionan como buenas herramientas de pesquisa inicial. Se señalan las ventajas que tienen las plantas para ser incorporadas en baterías de ensayo para medir alarma de peligro ambiental. Se destaca la importancia del empleo de bioensayos con plantas en la detección y control de los contaminantes tóxicos ambientales.

Además indica que: Como parte integral del ecosistema, las plantas superiores son ampliamente utilizadas por ser organismos eucarióticos, y por lo tanto más comparables a la mayoría de las especies de la flora y la fauna superiores y constituyen una eficiente herramienta de trabajo para medir alarma de peligro ambiental, además de poseer las siguientes ventajas:

⁹ Torres Rodríguez Marina Teresa. Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. Rev Cubana Hig Epidemiol [Internet]. 2003 Dic [citado 2018 Ene 30]; 41(2-3): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032003000200009&lng=es.

- Las plantas son más sensibles a estrés ambiental que otros sistemas de ensayos disponibles.
- Fácil manipulación y almacenaje
- Bajo costo.
- Buena correlación con otros sistemas de pruebas.

2.1.2. Nacionales.

Raúl Beltrán y Katty Gonza ¹⁰ (UNT, 2017), indican que en Perú, se desconocen los niveles de citotóxicos y genotóxicos de las aguas de los ríos, así como los efectos que estarían ocasionando en los seres vivos pues no se ha sistematizado un método para evaluar la toxicidad del agua. Por ello su investigación se orienta a estudiar los niveles de citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche ubicados en la Región La Libertad, usando el bioindicador ambiental *Vicia faba L.*

Además indican que La evaluación de la toxicidad de las aguas de los ríos es importante porque complementado con el análisis físico, químico y biológico proporcionará una información integral de la calidad de las aguas de ríos, para propiciar y asegurar el uso sostenible, responsable, racional y ético del recurso natural en armonía con su entorno. Por tales razones, el objetivo del estudio fue determinar los niveles de citotoxicidad y genotoxicidad de las aguas de los ríos Jequetepeque y Moche usando como bioindicador ambiental el haba.

¹⁰ Beltrán, Raúl, Katty Gonza. Citotoxicidad y Genotoxicidad De Las Aguas De Los Ríos Jequetepeque y Moche Mediante El Bioindicador Ambiental *Vicia Faba L.* Universidad Nacional de Trujillo, 2017.

Christian Paredes ¹¹ (UNALM, 2016), refiere que el Programa de las Naciones Unidas para el Ambiente (PNUMA), supone como criterio para la evaluación de las sustancias, no sólo la exposición humana o los efectos indeseables de las sustancias sobre la salud, sino también consideran el potencial de las sustancias para causar daño a largo plazo en los organismos vivos en general, en los ecosistemas y en los ámbitos regional y global.

La determinación instrumental química de elementos y compuestos tóxicos propuesta por diversos organismos de protección ambiental internacional suele ser muy costosa; además no da más que una referencia de medición puntual. Por tal motivo, muchas instituciones en todo el mundo, como La Agencia de Protección del Medio Ambiente es una agencia del gobierno federal de Estados Unidos (US EPA) vienen desarrollando hace muchos años nuevas estrategias de monitoreo ambiental para establecer el grado de contaminación en el medio ambiente empleando organismos biológicos. Así mismo, se han establecido centros de investigación en otras partes del mundo como Canadá, China, India, Japón y distintos países en Europa (Alemania, Irlanda, Reino Unido, Francia, Italia, España, Inglaterra), pero también se han desarrollado iniciativas en países latinoamericanos como en Brasil, Argentina, Chile y Venezuela, quienes cuentan con laboratorios especializados en líneas de ecotoxicología referenciales en anfibios, cladóceros, bivalvos, entre otros.

¹¹ Paredes Espinal, Christian Edgardo. Riesgo Ecológico Del Sulfato De Bario. Universidad Nacional Agraria La Molina, 2016.

Karen Fajardo ¹² (UNT, 2012) en su tesis para optar el título de biólogo refiere que el dicromato de potasio al ser un compuesto hexavalente, es mutagénico lo cual implica que es un causante directo de las modificaciones en los pares de bases de DNA, por ello realiza un diseño experimental, teniendo un control negativo que viene a ser la germinación de *Allium cepa* en agua durante 32 horas; además que el control positivo que fue el dicromato de potasio (0,25 mg/L) con exposición de radículas de cebolla por 16 horas.

Concluyen indicando que el dicromato de potasio a la concentración de 0,25 mg/L durante 16 horas ocasiona una disminución en los valores de índice mitóticos, metafásico, anafásico, telofásico y un incremento en el índice profásico.

El extracto etanólico (70°) seco al 20 % de semillas de *Lupinus mutabilis* (chocho) a 300 mg ejerce un mayor efecto protector frente a la citotoxicidad y genotoxicidad del dicromato de potasio.

2.1.3. Bases teóricas de la investigación.

Presencia de Medicamentos en agua para consumo humano

La presencia de medicamentos en los efluentes de plantas de tratamiento ha sido confirmada en trabajos realizados en Alemania, Holanda, Francia, Grecia, Canadá, Brasil, Australia,

¹² Fajardo Fernández, Karen Judith. Efecto protector del extracto etanólico de *Lupinus Mutabilis* sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del dicromato de potasio en meristemos radiculares de *Allium Cepa*. Universidad Nacional de Trujillo, 2012.

Estados Unidos, España, Reino Unido, Suiza, entre otros países¹³.

Medicamentos como la carbamazepina se han encontrado con frecuencia en muestras de aguas residuales municipales y superficiales.

Investigaciones ejecutadas en muestras de afluentes y efluentes de diferentes plantas de tratamiento municipales han mostrado que no se elimina significativamente (menos del 10 %) durante el tratamiento.

Los citostáticos son frecuentemente usados en la quimioterapia del cáncer. Debido a la alta potencialidad farmacológica, tales compuestos frecuentemente presentan propiedades carcinogénicas, mutagénicas o embriotóxicas. Los estudios en diferentes países, han conllevado a la detección de diversos antibióticos en concentraciones de mg L⁻¹. Estas variaciones dependerán del origen, si son efluentes de hospitales, aguas residuales municipales, efluentes de plantas de tratamiento o aguas superficiales. La mayoría de los antibióticos no son eliminados durante los procesos de purificación, investigaciones al respecto indican que un número considerable de antibióticos no son biodegradables en el ambiente acuático

En los países con sistemas de atención médica de amplia cobertura se han detectado los medios de contraste de rayos X en los efluentes de residuos de los hospitales en cantidades

¹³ Ramos Alvariño Caridad. Medicamentos de consumo humano en el agua, propiedades físico-químicas. Rev Cubana Hig Epidemiol [Internet]. 2009 Ago [citado 2018 Ene 31] ; 47(2): . Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032009000200008&lng=es.

apreciables, los cuales contaminan las aguas¹⁴. Estos medios de contraste se les diseñan muy polares y persistentes, lo que provoca que después de unas horas de su aplicación, sean excretados sin metabolizar. Se ha confirmado la persistencia de estos compuestos durante el tratamiento a las aguas residuales, detectándose concentraciones, por ejemplo de iopromide, por encima de 20 mg L⁻¹. Así, el diatrizoato, el iopromido, el iopomidol y el ácido amidotrizoico se cuantificaron en concentraciones de mg L⁻¹.

Efectos tóxicos de los fármacos en el ambiente¹⁵

La revista Lasallista de Investigación refiere que los efectos aún no son comprendidos en su totalidad, sin embargo, muchos de estos modulan el sistema endocrino y el sistema inmune, indicando su potencialidad sobre la homeostasis de los organismos acuáticos.

Los modelos ecotoxicológicos utilizan microorganismos, especies ícticas, crustáceos, entre otros, pero estos no logran describir el efecto de los fármacos sobre las comunidades acuáticas.

Los ensayos de ecotoxicidad, aprobados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), son pruebas de toxicidad aguda; sin embargo, no se conocen los efectos crónicos de sub-trazas sobre la biota acuática. Inicialmente estas pruebas fueron implementados en Alemania

¹⁴ Heberer Th. Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data. *Toxicology Letters* 2002a;131:5-7.

¹⁵ Jiménez Cartagena, C. Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmacéuticos. *Revista Lasallista de Investigación* [Internet]. 2011;8(2):143-153. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69522607016>.

en la guía de la Unión Europea 92/18 EWG para fármacos veterinarios, y otras fueron propuestas por la Sociedad Escandinava de Toxicología Celular con el objetivo de describir potenciación y/o sinergia tóxica de fármacos. Por ejemplo, el verapamilo aumenta la susceptibilidad a otros fármacos, debido a que, se fija directamente al sitio activo de la proteína Pgp, por su parte la quinidina, las ciclosporinas y la progesterona inhiben la resistencia a multixenobióticos. Las pruebas de ecotoxicidad son de gran importancia para la descripción de los efectos tóxicos, expresados como concentración efectiva 50 (EC 50), y clasifican las sustancias como muy tóxicas para organismos acuáticos (<1 mg/L, evaluadas en *Daphnia magna*), tóxicas con valores cercanos a 10 mg/L, y nocivas para los organismos acuáticos con valores que oscilan entre 10-100 mg/L del principio activo.

Impacto del ingreso de AINEs al ambiente ¹⁶

Desde inicios de los años 90, las poblaciones endémicas de buitres orientales de dorso blanco (*Gyps bengalensis*), pico delgado (*Gyps tenuirostris*) y pico largo (*Gyps indicus*) del sur de Asia han disminuido vertiginosamente (más del 95%) y se prevé que los pocos ejemplares que quedan sigan desapareciendo a un ritmo que oscila entre el 15% y el 50% anual. Se ha constatado que el uso veterinario de diclofenaco ha llevado a un decremento importante en la población de buitres en el subcontinente indio, hasta de un 95% en ciertas áreas.

¹⁶ Moreno-Ortiz, VC, Martínez-Núñez, JM, Kravzov-Jinich, J, Pérez-Hernández, LA, Moreno-Bonett, C, Altagracia-Martínez, M. Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Internet]. 2013;44(4):17-29. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57930578003>

El mecanismo de la muerte es probablemente la insuficiencia renal, un conocido efecto adverso del diclofenaco. Los buitres comen restos de animales domésticos tratados veterinariamente con diclofenaco, y se envenenan debido al compuesto químico acumulado. Específicamente, se sabe que el diclofenaco provoca fallo renal en buitres asiáticos. Se sabe que algunas especies y algunas personas son sensibles a algunas sustancias adictivas, y se sospecha que no expresan algunos genes faltantes relacionados con enzimas específicas involucradas en la desintoxicación de dichas sustancias. Dado que los individuos mayores tienen una reducida expresión de todos los niveles de enzimas, el metabolismo de los ancianos podría aproximarse gradualmente al observado en los buitres, lo que los vuelve inesperadamente vulnerables e intolerantes al diclofenaco.

El diclofenaco es el responsable de la disminución y potencial extinción de los buitres Gyps en el Asia meridional y del sudoeste asiático. Varios estudios han demostrado que el diclofenaco es tóxico para las aves y se ha encontrado en cantidades suficientes en carroñas de reses en la India y es considerado como el principal causante de la disminución de dichas aves.

Como consecuencia de lo anterior, el uso y fabricación del diclofenaco fue prohibido en la India desde Mayo de 2006, así como en Nepal y en Pakistán durante el mismo año. En el 2008, en la India se incrementaron las restricciones sobre el uso veterinario del diclofenaco prohibiendo su fabricación, venta y distribución para fines veterinarios. A la fecha, se realizan investigaciones complementarias en India para evaluar

el consumo de diclofenaco para fines veterinarios y para tal efecto se investigan las ventas de las farmacias veterinarias encontrándose que, pese a la prohibición desde 2006, una tercera parte de las farmacias veterinarias en India aún continúan comercializando el diclofenaco.

2.1.4. Marco conceptual

AINEs ¹⁷

Son las siglas para Anti Inflamatorios No Esteroideos. Definición signada a un variado grupo de diferentes composiciones químicas de medicamentos antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos (antitérmico). Los AINE son drogas de acción rápida principalmente utilizados en reumatología, aunque existen otros antiinflamatorios.

En su inmensa mayoría inhiben las actividades de la ciclooxigenasa 1 (cox-1) presente en diversos tejidos y que media reacciones fisiológicas, y la ciclooxigenasa 2 (cox-2) presente en el tejido lesionado.

La inhibición de cox-2 media los efectos no deseados de la inflamación, pero la simultánea inhibición de cox-1 ocasiona efectos colaterales que son consecuencia de la disminución en la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos.

***Allium cepa* ¹⁸**

¹⁷ Barrientos, Ana, et al. "Empleo de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como coadyuvante en el tratamiento de la enfermedad periodontal." Acta odontológica venezolana 47.1 (2009): 249-258.

Allium cepa (nombre científico de la cebolla) es un organismo que ofrece un buen modelo experimental in vivo para evaluar la toxicidad y la genotoxicidad de sustancias y mezclas complejas.

Numerosas publicaciones informan los resultados obtenidos sobre sustancias analizadas utilizando *Allium cepa* como organismo de prueba.

Citotoxicidad

Se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a un daño que puede ser detectado. Diferentes autores han desarrollado baterías de pruebas in vitro para predecir los efectos tóxicos de drogas y compuestos químicos, utilizando como modelos experimentales cultivos primarios y órganos aislados como líneas celulares establecidas.

Los ensayos de citotoxicidad, son capaces de detectar mediante diferentes mecanismos celulares conocidos, los efectos adversos de interferencia con estructura y/o propiedades esenciales para la supervivencia celular, proliferación y/o funciones. Dentro de estos se encuentran la integridad de la membrana y del citoesqueleto, metabolismo, síntesis y degradación, liberación de constituyentes celulares o productos, regulación iónica y división celular.

¹⁸ Freyre, Sofía, Martín Estrada, and Harold Bolaños. "Estudio preliminar de la citotoxicidad y la genotoxicidad de un extracto de origen vegetal conocido como palmo rosado en células meristemáticas de *Allium cepa*." Memorias 5.12 (2009): 12-17.

Diclofenaco¹⁹

Es un medicamento inhibidor relativamente no selectivo de la ciclooxigenasa y miembro de la familia de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) indicado para reducir inflamaciones y como analgésico, pues reduce dolores causados por heridas menores y dolores tan intensos como los de la artritis.

Genotoxicidad

Capacidad para causar daño al material genético; el daño puede ser de tipo mutágeno o carcinógeno.

Ibuprofeno

Es un potente antiinflamatorio además de analgésico y antipirético. El efecto analgésico es central y periférico y difiere del mecanismo antiinflamatorio. Es un potente inhibidor de la enzima ciclooxigenasa y por lo tanto, un potente reductor de la síntesis de prostaglandinas.

Naproxeno²⁰

El naproxeno se indica en el tratamiento del dolor, para producir alivio del dolor leve o moderado, especialmente cuando también se desea una acción antiinflamatoria por ejemplo después de cirugía dental, obstétrica u ortopédica, y para el alivio del dolor de músculos esqueléticos debido a

¹⁹ Mormontoy Marcavillaca, Carmelin, Pastor Chambi, and Emerson William. "Elaboración y caracterización de diclofenaco sódico microencapsulado en microesferas biogredables de ácido poli (Láctico-co-clíclico) para uso parenteral y su efecto sobre edema plantar inducido por carragenina en ratas." (2013).

²⁰ Villanueva Ravanal, Fiorela Antonieta. "Eficacia Analgesica post operatoria de Paracetamol-Naproxeno Sodico y Paracetamol-Diclofenaco Sodico en Pacientes sometidos a exodoncias complejas." (2016).

lesiones atléticas en los tejidos blandos (distensiones o esguinces).

Toxicidad aguda ²¹

Efectos adversos que ocurren dentro de un período breve después de la administración de una dosis única de una sustancia química, o inmediatamente después de una exposición corta o continua, o de múltiples dosis durante 24 horas o menos.

2.2. Hipótesis

Los AINEs a diferentes concentraciones producen un efecto tóxico agudo en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

2.3. Variables

Variable independiente: Toxicidad aguda.

Variable dependiente: porcentaje de inhibición e índice mitótico.

²¹ Sánchez-Bain, Andrés, et al. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. CIID, Ottawa, ON, CA, 2004.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1. Método de investigación.

Deductivo²²: parte de una ley general construida a partir de la razón, va de lo general a lo particular, de la teoría a los datos.

Pues se tuvo en cuenta que los medicamentos al ser sustancias extrañas a los seres vivos y específicamente al *Allium cepa*, alterarían de alguna manera su crecimiento y replicación celular, por lo que se dedujo analizar el porcentaje de inhibición e índice mitótico respectivamente.

²² Tamayo, Mario. El proceso de la investigación científica. Editorial Limusa, 2004.

3.2. Tipo y nivel de investigación

Según su alcance la investigación es del tipo explicativa, pues tiene como propósito explicar las causas de la relación de las variables, las cuales han sido identificadas como la toxicidad aguda (variable independiente) y el porcentaje de inhibición e índice mitótico (variables dependientes).

3.3. Diseño de la investigación

Experimental, pues se aplicó un estímulo en el crecimiento radicular de *Allium cepa* con diferentes concentraciones de tres AINEs

3.4. Población de estudio

Bulbos de *Allium Cepa* L. de 20cm – 21cm de diámetro

3.5. Muestra

La muestra estuvo constituida por Meristemos germinados de *Allium cepa* L. de cada uno de los grupos controles y grupos experimentales.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Análisis documental para la recopilación de información sobre investigaciones realizadas en toxicología ambiental y Ecotoxicología en *Allium cepa*.

Ensayos de toxicidad aguda realizados en los laboratorios de la Universidad Privada de Huancayo.

3.7. Técnica de procesamiento de datos.

Medición ²³

Al término del periodo de exposición se registró la longitud promedio de las raíces, la cual se llevó a cabo con ayuda de una regla común con escala en milímetros.

Para obtener el porcentaje de efecto de inhibición se realizó la siguiente operación:

$$\% \text{ de inhibicion} = \frac{(\text{longitud del control} - \text{longitud de la muestra})}{\text{longitud del control}} \times 100$$

Con estos valores se construirá una gráfica de concentración en función del porcentaje de inhibición.

²³ Rios, Jose Luis; Gonzales Meza, Jimmy Roy. Incidencia de automedicación con antiinflamatorios no esteroideos en la población del distrito de Huancayo. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Privada de Huancayo, 2018.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Los resultados que se presentan fueron considerados de acuerdo a nuestros objetivos específicos planteados, siendo de la siguiente manera:

Proponer al *Allium cepa* como bioindicador ambiental frente a la acción de los AINEs.

Existe información científica que indica que *Allium cepa*, es un bioindicador utilizado frecuentemente en estudios realizados en otros países, teniendo en cuenta los buscadores del registro Nacional de Trabajos de Investigación (CONCYTEC) y el Google académico.

1. Proponer al *Allium cepa*

Tabla 1: Trabajos de investigación utilizando *Allium cepa*, según el Registro Nacional de Trabajos de investigación (CONCYTEC)

Nombre científico	<i>Allium cepa</i>	
Nombre vulgar	Cebolla	
Buscador	Registro Nacional de Trabajos de investigación (RENATI - CONCYTEC)	
Palabras utilizadas en la búsqueda	<i>Allium cepa</i> , toxicología.	
NRO.	NOMBRE DE LA INVESTIGACIÓN	FUENTE
1.	Efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso del pericarpio de caesalpinia spinosa "tara" en células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> l. var arequipeña	http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4491
2.	Efecto de tres concentraciones de extracto hidroalcohólico de citrus limón sobre el ciclo celular en meristemas radiculares de <i>Allium cepa</i> .	http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4353
3.	Efecto de tres concentraciones del jugo de <i>Morinda citrifolia</i> "noni" sobre la citotoxicidad del dicromato de potasio en meristemas radiculares de <i>Allium cepa</i> .	http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2977
4.	Efecto protector del extracto etanólico de <i>Annona muricata</i> sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del	http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2960

	sorbato de potasio en meristemos radiculares de <i>Allium cepa</i>	
5.	Cuantificación de alteraciones cromosómicas en meristemos radiculares de <i>Allium cepa</i> expuestos a extractos etanólico y acuoso de <i>Plantago major</i> .	http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4342
6.	Efecto protector de la savia de <i>Musa acuminata</i> "plátano" ante el daño por ciclofosfamida en células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> "cebolla"	http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9529
7.	Efecto protector del extracto etanólico de <i>Lupinus mutabilis</i> sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del dicromato de potasio en meristemos radiculares de <i>Allium cepa</i> .	http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4732

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2: Trabajos de investigación utilizando *Allium cepa*, según el buscador google académico.

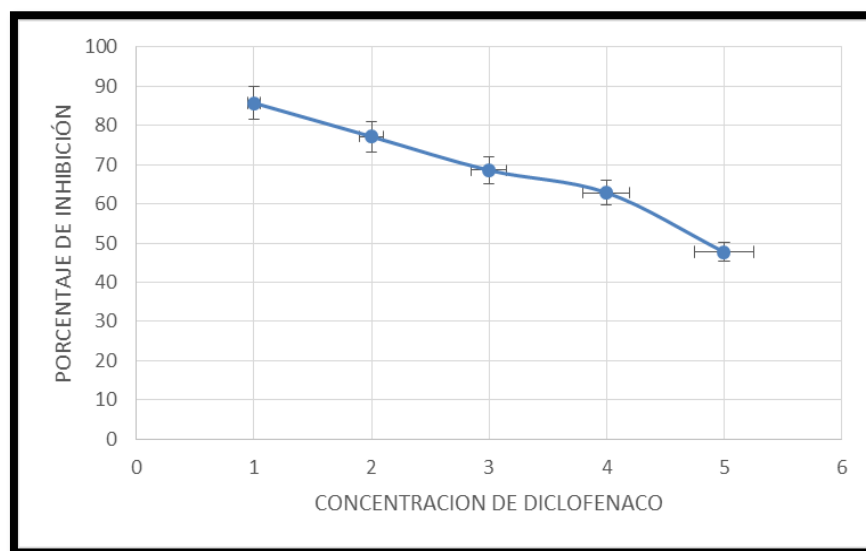
Nombre científico		<i>Allium cepa</i>
Nombre vulgar		Cebolla
Buscador		Google académico
Palabras utilizadas en la búsqueda		<i>Allium cepa</i> , toxicología.
NRO.	NOMBRE DE LA INVESTIGACION	FUENTE
1.	Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones	Sánchez-Bain, Andrés, et al. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. CIID, Ottawa, ON, CA, 2004.
2.	Genética toxicológica	Mudry, M., and A. Carballo. "Genética toxicológica." Seminarios1.5 (2006).
3.	Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales	Torres Rodríguez, Marina Teresa. "Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales." Revista Cubana de Higiene y Epidemiología 41.2-3 (2003): 0-0.
4.	Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas	Morales, Gabriela Castillo, ed. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Idrc, 2004.
5.	Ensayo de inhibición de la germinación y del alargamiento radicular en semillas de cebolla " <i>Allium cepa</i> " y soya " <i>Glycine max</i> ". 2008.	Uribe, R. "Ensayo de inhibición de la germinación y del alargamiento radicular en semillas de cebolla " <i>Allium cepa</i> " y soya " <i>Glycine max</i> ". 2008." Ramírez-Romero, P.; Mendoza-Cantú, A.(Comp.). Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: la experiencia en México. México: Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2008)
6.	Pruebas de ecotoxicidad para establecer el potencial genotóxico del hipoclorito de sodio, mediante bulbos de cebolla <i>Allium cepa</i> L y semillas de lechuga <i>Lactuca sativa</i> L como bioindicadores	Manrique, Ricardo Restrepo, Marlyn Catalina Ortiz Villamizar, and Diana Reyes Quesada. "Pruebas de ecotoxicidad para establecer el potencial genotóxico del hipoclorito de sodio, mediante bulbos de cebolla <i>Allium cepa</i> L y semillas de lechuga <i>Lactuca sativa</i> L como bioindicadores." ITECKNE 8.1 (2011).
7.	Efecto protector del aceite esencial de	Paola Vera, Antonia, et al. "Efecto protector del aceite esencial de <i>Lippia alba</i> (Mill.) NE:

	<i>Lippia alba</i> (Mill.) NE: Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de <i>Allium cepa</i> L.	Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de <i>Allium cepa</i> L." Revista Cubana de Plantas Medicinales 15.1 (2010): 0-0.
8.	Biorremediación de cromo VI de aguas residuales de curtiembres por <i>Pseudomonas sp</i> y su efecto sobre el ciclo celular de <i>Allium cepa</i> .	Otiniano García, Milly, et al. "Biorremediación de cromo VI de aguas residuales de curtiembres por <i>Pseudomonas sp</i> y su efecto sobre el ciclo celular de <i>Allium cepa</i> ." Rev. Med. Vallejiana 4.1 (2007)

Fuente: Elaboración propia

Determinar el porcentaje de inhibición en el crecimiento de las radículas de *Allium cepa* a diferentes concentraciones de AINEs.

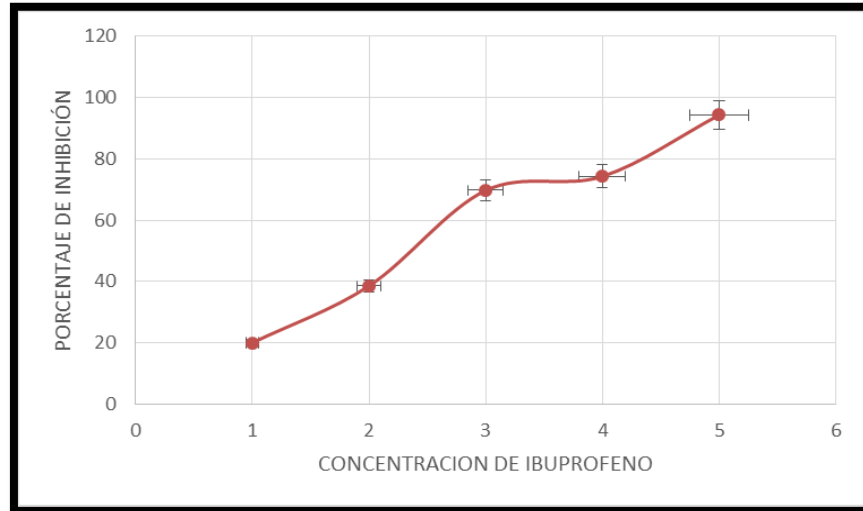
Figura 1: Porcentaje de inhibición de *Allium cepa* a diferentes concentraciones de diclofenaco



Fuente: Elaboración propia

La figura 01, nos muestra que a una concentración mayor de diclofenaco equivalente a $2,4 \times 10^{-4}$ mg/mL el porcentaje de inhibición será de 85,71 %, mientras que para una concentración inferior $2,8 \times 10^{-7}$ mg/mL el porcentaje de inhibición fue de 47,71 %, demostrando que la concentración es proporcional al porcentaje de inhibición.

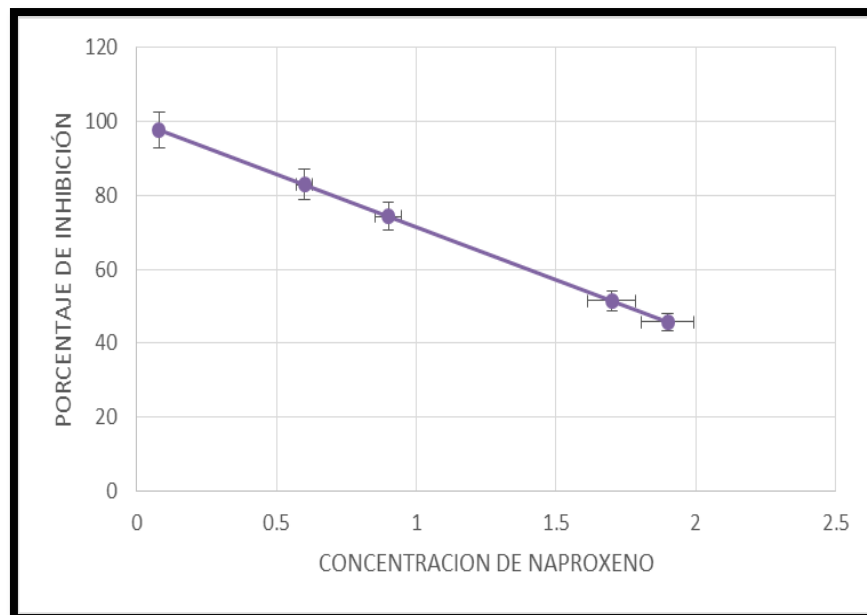
Figura 2: Porcentaje de inhibición de *Allium cepa* a diferentes concentraciones de ibuprofeno



Fuente: Elaboración propia

La figura 02, nos muestra que a una concentración menor de ibuprofeno igual a 0,05 mg/mL, habrá un porcentaje de inhibición igual a 20,0 %, mientras que para una concentración mayor del mismo medicamento equivalente a 4,0 mg/mL el porcentaje de inhibición fue 94,25 %, mostrando que la concentración es proporcional al porcentaje de inhibición.

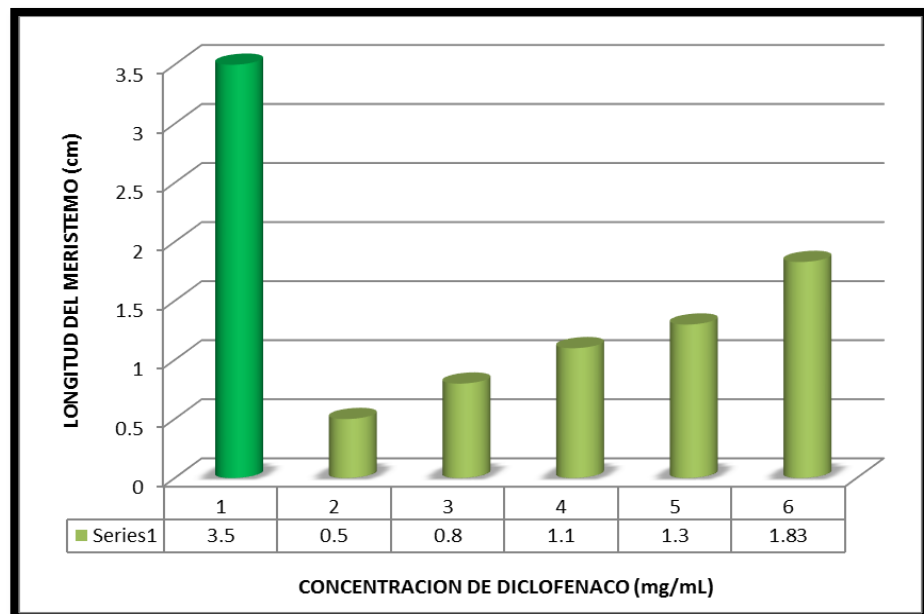
Figura 3: Porcentaje de inhibición de *Allium cepa* a diferentes concentraciones de naproxeno



Fuente: Elaboración propia

La figura 03, nos muestra que a una concentración superior de naproxeno equivalente a 100,0 mg/mL el porcentaje de inhibición será de 97,71 %, mientras que para una concentración menor igual a 0,5 mg/mL el porcentaje de inhibición fue de 45,71 %, demostrando que la concentración es proporcional al porcentaje de inhibición.

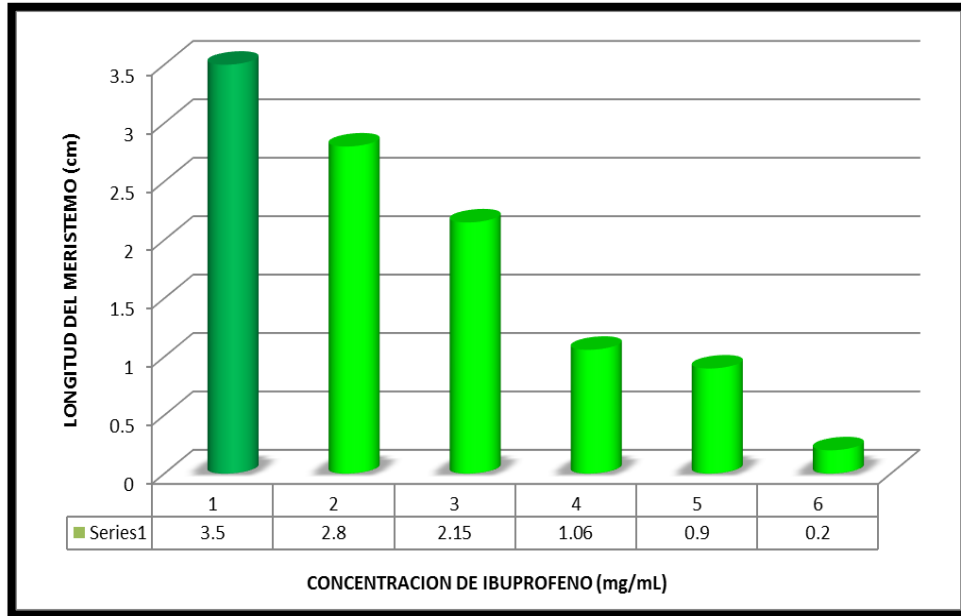
Figura 4: Tabla comparativa del crecimiento de Allium cepa entre el grupo control y las diferentes concentraciones de diclofenaco



Fuente: Elaboración propia

La figura 04, representa la comparación del crecimiento de los meristemas de Allium cepa del grupo control, que en promedio fue de 3,5 cm, siendo comparado con las diferentes concentraciones de diclofenaco, teniendo los siguientes resultados $2,8 \times 10^{-7}$ mg/mL se tuvo un crecimiento promedio de 1,83 cm; $5,4 \times 10^{-6}$ mg/mL con un crecimiento de 1,3 cm; $8,2 \times 10^{-5}$ mg/mL con un crecimiento de 1,1 cm; $1,25 \times 10^{-4}$ mg/mL con un crecimiento de 0,8 cm y a una concentración de $2,4 \times 10^{-4}$ mg/mL con un crecimiento de 0,5 cm.

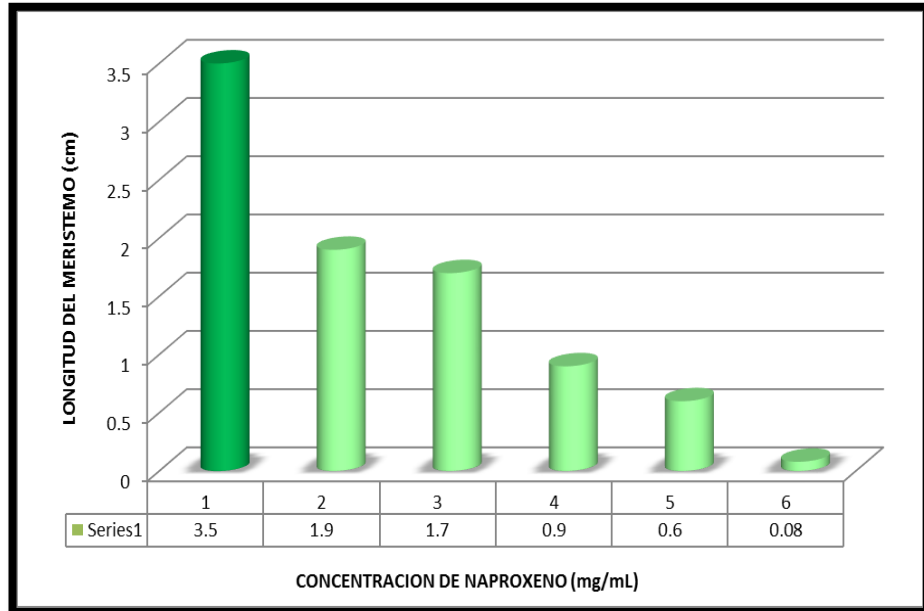
Figura 5: Tabla comparativa del crecimiento de *Allium cepa* entre el grupo control y las diferentes concentraciones de ibuprofeno



Fuente: Elaboración propia

La figura 05 explica, el crecimiento de los meristemas de *Allium cepa* del grupo control, que en promedio fue de 3,5 cm, siendo comparado con las diferentes concentraciones de ibuprofeno, teniendo los siguientes resultados a una concentración de 0,05 mg/mL con un crecimiento de 2,8 cm; 0,125 mg/mL con un crecimiento de 2,15 cm; 0,5 mg/mL con un crecimiento de 1,06 cm; 1,0 mg/mL con un crecimiento de 0,9 cm y a una concentración igual a 4,0 mg/mL se tuvo un crecimiento promedio de 0,2 cm.

Figura 6: Tabla comparativa del crecimiento de *Allium cepa* entre el grupo control y las diferentes concentraciones de naproxeno



Fuente: Elaboración propia

La figura 06 expone, el crecimiento de los meristemos de *Allium cepa* del grupo control, que en promedio fue de 3,5 cm, siendo comparado con las diferentes concentraciones de naproxeno, teniendo los siguientes resultados a una concentración de 0,5 mg/mL con un crecimiento de 1,9 cm; 1,0 mg/mL con un crecimiento de 1,7 cm; 10,0 mg/mL con un crecimiento de 0,9 cm; 25,0 mg/mL con un crecimiento de 0,6 cm y a una concentración igual a 100,0 mg/mL se tuvo un crecimiento promedio de 0,08 cm.

Determinar el índice mitótico a diferentes concentraciones de los AINEs en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

Se determinó teniendo en cuenta las observaciones microscópicas de las células de *Allium cepa*, así mismo se tuvo en cuenta las siguientes formulas

$$\text{Índice mitótico} = \frac{\text{Nro. de células en mitosis}}{\text{total de células meristemáticas}}$$

$$\text{Índice de fase} = \frac{\text{Nro. de células en fase mitótica concreta}}{\text{total de células en mitosis}}$$

Tabla 3: Valores hallados para determinar el Índice mitótico e índice de fases (Grupo control y AINEs)

	NRO DE CÉLULAS EN MITOSIS	TOTAL DE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS	INDICES MITÓTICO	NRO DE CELULAS OBSERVADAS					ÍNDICE DE FASE				
				TELOFASE	ANAFASE	METAFASE	PROFASE	INTERFASE	TELOFASE	ANAFASE	METAFASE	PROFASE	INTERFASE
CONTROL	217	289	0.75	28	32	39	47	71	0.129	0.147	0.179	0.216	0.327
DICLOFENACO 2,4 X 10 ⁻⁴ mg/mL	23	27	0.851	1	3	3	7	9	0.043	0.130	0.130	0.304	0.391
IBUPROFENO 4,0 mg/mL	48	48	1.0	5	9	11	10	13	0.104	0.187	0.229	0.208	0.270
NAPROXENO 1,00 mg/mL	55	79	0.696	1	11	9	15	19	0.181	0.2	0.163	0.272	0.345

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3, nos muestra los valores para la determinación del índice mitótico el cual fue hallado recolectando 10 radículas del grupo control y 10 radículas de diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno los cuales se encontraron a las siguientes concentraciones: 2,4 X 10⁻⁴, 4,0 y 1,0 mg/mL.

Es necesario mencionar que solo se realizaron observaciones microscópicas a las concentraciones mencionadas arriba, pues en esas concentraciones se observó mayor porcentaje de inhibición y menor elongación de las raíces.

El índice mitótico se obtuvo de la diferencia del número de células en mitosis entre el número total de células meristemáticas, mientras que el índice de cada una de las 5 fases fue determinado dividiendo el número de células en cada fase entre el número de células en proceso de mitosis.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Los resultados que se presentan en esta investigación han sido ejecutados teniendo en cuenta nuestros objetivos específicos, los cuales fueron:

Proponer al *Allium cepa* como bioindicador ambiental frente a la acción de los AINEs.

La intención de nuestro trabajo es proponer al *Allium cepa* como un bioindicador ambiental para indicar que los medicamentos al ser eliminados inadecuadamente, pueden producir cambios en la biota que puede encontrarse en los compartimentos terrestres y acuáticos.

Actualmente la legislación ambiental peruana indica que los estándares de calidad ambiental del agua (ECA) deben ser evaluados teniendo en cuenta

parámetros físicos como la temperatura, conductividad y características organolépticas; también parámetros químicos como la concentración de diversos minerales y parámetros microbiológicos como el recuento de bacterias coliformes.

Sin embargo esta normativa obvia el uso de los parámetros determinados mediante los resultados que nos alcanzan los ensayos sobre bioindicadores.

José Uribe y Jimmy Gonzales ²⁴ (2018) en una investigación realizada en nuestra Universidad indican que de una muestra de 400 personas que radican en el distrito de Huancayo el 46 % se automedican con este tipo de los AINEs.

Así mismo el trabajo realizado por Angélica Chávez y Fortunata Mallaopoma ²⁴ (2018), refieren que los medicamentos que más consumen en el distrito de Huancayo son: naproxeno, paracetamol, ibuprofeno y diclofenaco.

Estos dos trabajos nos demuestran que recientemente en la ciudad de Huancayo, el consumo de este tipo de medicamentos es muy creciente, por lo que se utilizó en el trabajo de investigación el diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno, pudiendo ser que estos medicamentos sean inadecuadamente eliminados al momento de la fecha de expiración lo que conllevaría a la contaminación de aguas residuales que se utiliza para el riego de los vegetales perjudicando a los seres vivos: plantas, insectos y animales.

Por ello suponemos también que así como se consume frecuentemente este tipo de medicamentos, también estos mismos se eliminaran al ambiente, perjudicando a los seres vivos: plantas, insectos y animales.

²⁴ Angélica Chávez y Fortunata Mallaopoma. Consumo de antiinflamatorios no esteroideos y su relación con alteraciones gastrointestinales en población adulta del distrito de Huancayo. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Privada de Huancayo, 2018.

Para proponer a *Allium cepa*, como bioindicador de la contaminación producida por los AINEs, también realizamos una recopilación de investigaciones donde ya se ha demostrado que esta especie vegetal puede predecir mediante la inhibición de sus meristemas el contacto con sustancias químicas frente al crecimiento normal de un grupo control.

Estos resultados fueron presentados en la tabla 01, donde a través del Registro Nacional de Trabajos de investigación (RENATI - CONCYTEC), pudimos encontrar que existen trabajos de investigación realizados en la Universidad Nacional de Trujillo, donde ya utilizan al *Allium cepa* para el ver efecto que tienen múltiples sustancias químicas.

Así tenemos el trabajo presentado por José Aybar (2015) que indica que los compuestos tánicos de la tara (*Caesalpinia spinosa*) a diferentes concentraciones de la tara, inhiben el crecimiento de los meristemas de las cebollas, al igual que nuestro trabajo ellos evalúan el efecto citotóxico y genotóxico, mediante la observación de 3000 células en el microscopio, nuestro trabajo observo un total de 443 células obtenidas de 10 meristemas apicales del grupo control y de cada uno de las concentraciones de los AINEs utilizados en nuestro experimento.

Arely Otiniano (2014) determina el efecto de extracto hidroalcohólico de las cáscaras de limón para lo cual induce al crecimiento de las raicillas de 2 a 3 cm. de longitud, nuestro trabajo utiliza un grupo control que tuvo un promedio de crecimiento de 3,5 cm., los cuales luego de una comparación con las diferentes concentraciones de diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno, estas últimas inhibieron su crecimiento tal como se muestra en las figuras 04, 05 y 06.

Yesenia Cabrera (2012), Jhajaira Araujo (2012) indican que el dicromato de potasio a una concentración de 0,25 mg/mL y el sorbato de potasio (1g/L), producen daño citotóxico en las células meristemáticas de las cebollas, por ello tratan de restablecer su replicación celular normal utilizando el zumo de

noni (*Morinda citrifolia*) y guanábana (*Annona muricata*) estas plantas tienen propiedades medicinales como antihistamínicas, antiinflamatorias y antibacterianas, las cuales podrían actuar dentro de la normalización de la replicación celular.

Es importante indicar el trabajo de investigación realizado se utiliza medicamentos que son frecuentemente utilizados en el tratamiento del dolor e inflamación, pero de la misma manera pueden tener algunos efectos deletéreos en las plantas, pues como se vio en los tres AINEs, estos inhibieron su crecimiento a concentraciones que usualmente no son de uso terapéutico en los humanos; resultados que concuerdan con datos de otras investigaciones.

Determinar el porcentaje de inhibición en el crecimiento de las radículas de *Allium cepa* a diferentes concentraciones de AINEs.

El porcentaje de inhibición es un parámetro que nos ayudó a determinar y comparar el crecimiento de los meristemas de nuestro grupo control y de las diferentes diluciones de diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno.

Esta técnica se viene utilizando recientemente en nuestro medio, así mismo Cinthia Espinoza y Rosa Martínez (2016) en el trabajo denominado: Evaluación de la toxicidad aguda producida por amoxicilina, dexametasona y diclofenaco, en *Lactuca Sativa* (lechuga), utilizan esta técnica que ya ha sido reportado en otras investigaciones.

Este porcentaje de inhibición resulta de la diferencia que existe entre el promedio de crecimiento del grupo control y de cada una de las concentraciones de los AINEs, dividida entre el promedio del grupo control, todo este resultado multiplicado por 100.

El resultado obtenido de la investigación con respecto al diclofenaco indica que a una concentración de $2,8 \times 10^{-7}$ mg/mL tuvo un crecimiento de 1,83 cm, el cual fue comparado con el crecimiento del grupo control que en promedio tuvo un crecimiento de 3,5 cm.

Si bien esta técnica también nos ayudaría a determinar la concentración letal media (CL50) realizando una proyección mediante el análisis probit, tal como lo hicieron Cinthia Espinoza y Rosa Martínez, en esta investigación realizada pretendemos encontrar esta concentración realizando una gráfica del porcentaje de inhibición versus la concentración cortando en 50 % e interpolándolo con la curva.

La revista mexicana de Ciencias Farmacéuticas, reporta el trabajo realizado por Moreno y colaboradores 16 donde indican el impacto que tienen los medicamentos en el ambiente los cuales pueden afectar el ecosistema tal como se evidenció con la muerte de buitres a causa del diclofenaco, medicamento que se encontró en el interior de estos animales, los cuales se supone que ingresaron al consumir animales domésticos que habían sido tratados con diclofenaco.

Teniendo como conclusión este medicamento a pesar de haber disminuido su concentración inicial de 75 mg/3 mL a concentraciones menores, causó la muerte de estas aves.

Luego de 72 horas el crecimiento del grupo control fue de 3,5 cm, siendo diferente al grupo control que presenta berrocal de 12,416 cm en su trabajo denominado Evaluación del potencial mutagénico de biocidas (vertimec y pentacloro) sobre cebolla.

Determinar el índice mitótico a diferentes concentraciones de los AINEs en el crecimiento radicular de *Allium cepa*.

El efecto que puede ocasionar los medicamentos en el proceso de replicación celular mediante la mitosis ya fue reportado por Nancy Andrioli y colaboradores 8, quienes evaluarón la genotoxicidad de un total de 9000 células observadas en muestras que también tuvieron un grupo control y expuestas a 250 y 500 µg/mL de metronidazol, en ella también estimaron el índice mitótico a las 72 horas siendo un valor de 7,47 y el nuestro tuvo un valor mucho menor igual a 0,75.

Tanto la citotoxicidad como la genotoxicidad pueden ser metodologías para evaluar la toxicidad de las aguas tal como lo demostraron Raúl Beltrán y Katty Gonza 10 de la Universidad Nacional de Trujillo, ellos al igual que nosotros suponen que los contaminantes que se puede encontrar en los fluidos biológicos pueden afectar a los seres vivos.

Los seres vivos y específicamente las plantas al tener contacto con las sustancias químicas pueden producir cierto tipo de modificaciones en el Acido Desoxirribonucleico (ADN), tal como indica Karen Fajardo 12 que refiere también que el dicromato de potasio tiene propiedades mutagénicas, sin embargo a diferencia de nuestro modelo Fajardo realiza la observación microscópica a las 16 horas.

Los resultados obtenidos en esta investigación sobre el índice mitótico están tabulados en la tabla nro. 03, donde el índice mitótico es el resultado de la división del total de células meristemáticas entre el número de células en proceso de mitosis, de la misma forma fue obtenido y comparado el grupo control con las concentraciones de diclofenaco $2,8 \times 10^{-4}$ mg/mL, ibuprofeno 4,0 mg/mL y naproxeno 100 mg/mL, cuyos resultados fueron: 0,75; 0,851; 1,0 y 0,696.

El trabajo realizado por Joselyne Quispe, José Saldaña, Tony Verde y Shirley Valderrama de la Universidad Nacional de Trujillo, refieren una formula expresada porcentualmente el cual, difiere de la investigación realizada; ellos verifican el efecto que tiene el sorbato de potasio un conservador de alimentos, concluyendo que esta sustancia química altera el material genético en las células meristemáticas de las raíces de la cebolla ocasionando, unión de cromosomas fragmentados, puentes anafásicos y formación de células binucleadas.

Con respecto a los resultados de los índices de las fases, estos fueron obtenidos de la división de cada una de las cinco fases: Telofase, anafase, metafase, profase e interfase entre el número de células en procesos de mitosis.

Los resultados de la investigación realizada suponen que los medicamentos a concentraciones diluidas no solo inhiben el crecimiento de la elongación de las raíces de la cebolla sino que también interfieren en el proceso de replicación celular.

CONCLUSIONES

1. Se evaluó la toxicidad del diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno a diferentes concentraciones.
2. El *Allium cepa*, es un bioindicador ambiental que puede predecir la contaminación que producen los AINEs, lo cual ha sido demostrado en similares investigaciones realizadas a nivel nacional e internacional.
3. El porcentaje de inhibición fue evidente siendo del diclofenaco a una concentración de $2,4 \times 10^{-4}$ mg/mL = 85,71 %; ibuprofeno a una concentración de 4,0 mg/mL = 94,28 % y de naproxeno a una concentración de 100 mg/mL = 97,71 %.
4. El índice mitótico fue observado en un total de 443 células meristemáticas, evidenciándose un mayor número de células en el grupo control (289) y en menor cantidad en las diluciones de diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno, así mismo se midió el índice de fases lo cual nos demostró que se inhibe el proceso de replicación celular frente al grupo control.

RECOMENDACIONES

1. Informar al Ministerio del ambiente los efectos que producen la eliminación inadecuada de los medicamentos en los seres vivos.
2. Realizar otros trabajos de investigación utilizando otro tipo de bioindicadores y otros medicamentos para comprobar el efecto que tienen estos.
3. Plantear experimentos con sustancias biológicas naturales que permitan el restablecimiento de la elongación de las radículas de *Allium cepa*.
4. Medir el índice mitótico y el índice de las fases en las demás concentraciones de los medicamentos analizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mendoza Urrutia Luis Antonio, Salvatierra Laytén Gustavo, Frisancho Velarde Oscar. Perfil del consumidor de antiinflamatorios no esteroideos en Chiclayo y Cajamarca, Perú. Acta méd. peruana [Internet]. 2008 Oct [citado 2018 Ene 30]; 25(4): 216-219. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172008000400006&lng=es.
2. Alex Fernández M. Tirar medicamentos daña el medio ambiente. Consumer [Internet]. 2014. [citado el 30 de enero 2018]; Medioambiente urbano. Disponible en: http://www.consumer.es/web/es/medio_ambiente/urbano/2014/11/17/220970.php
3. Quesada Peñate, Isariebel, Jáuregui Haza, Ulises Javier, Wilhelm, Anne-Marie, Delmas, Henri, Contaminación de las aguas con productos farmaceuticos. Estrategias para enfrentar la problemática. Revista CENIC. Ciencias Biológicas [en línea] 2009, 40 (Septiembre-Diciembre) : [Fecha de consulta: 30 de enero de 2018] Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181221662005>> ISSN 0253-5688

4. Hignite C and Azarnoff DL. Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobu-tyrate and Salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sci.* 1977;20:337-341.
5. Raloff J. Drugged Waters. *Sci News.* 1998;153:187-189.
6. Buser HR and Muller MD. Occurrence of the pharmaceutical drug clofibrac acid and the herbicide mecoprop in various swiss lakes and in the North Sea. *Env Sci Techn.* 1998;32:188-192.
7. Castillo, G. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. (Ed) México: 2004. IMTA. 188 pp.
8. Andrioli, NB, Wulff, AF, Mudry, MD. *Allium cepa* como biomonitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol. *Theoria* [Internet]. 2006;15(2):9-16. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=29915202>.
9. Torres Rodríguez Marina Teresa. Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. *Rev Cubana Hig Epidemiol* [Internet]. 2003 Dic [citado 2018 Ene 30]; 41(2-3): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032003000200009&lng=es.
10. Beltrán, Raúl, Katty Gonza. *Citotoxicidad y Genotoxicidad De Las Aguas De Los Ríos Jequetepeque y Moche Mediante El Bioindicador Ambiental Vicia Faba L.* Universidad Nacional de Trujillo, 2017.
11. Paredes Espinal, Christian Edgardo. *Riesgo Ecológico Del Sulfato De Bario.* Universidad Nacional Agraria La Molina, 2016.
12. Fajardo Fernández, Karen Judith. Efecto protector del extracto etanólico de *Lupinus Mutabilis* sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del dicromato de potasio en meristemas radiculares de *Allium Cepa*. Universidad Nacional de Trujillo, 2012.
13. Ramos Alvariño Caridad. Medicamentos de consumo humano en el agua, propiedades físico-químicas. *Rev Cubana Hig Epidemiol* [Internet]. 2009 Ago [citado 2018 Ene 31] ; 47(2): Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032009000200008&lng=es.

14. Heberer Th. Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data. *Toxicology Letters* 2002a;131:5-7.
15. Jiménez Cartagena, C. Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmaceuticos. *Revista Lasallista de Investigación* [Internet]. 2011;8(2):143-153. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69522607016>.
16. Moreno-Ortiz, VC, Martínez-Núñez, JM, Kravzov-Jinich, J, Pérez-Hernández, LA, Moreno-Bonett, C, Altagracia-Martínez, M. Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* [Internet]. 2013;44(4):17-29. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57930578003>
17. Barrientos, Ana, et al. "Empleo de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como coadyuvante en el tratamiento de la enfermedad periodontal." *Acta odontológica venezolana* 47.1 (2009): 249-258.
18. Freyre, Sofía, Martín Estrada, and Harold Bolaños. "Estudio preliminar de la citotoxicidad y la genotoxicidad de un extracto de origen vegetal conocido como palmo rosado en células meristemáticas de *Allium cepa*." *Memorias* 5.12 (2009): 12-17.
19. Mormontoy Marcavillaca, Carmelin, Pastor Chambi, and Emerson William. "Elaboración y caracterización de diclofenaco sódico microencapsulado en microesferas biogredables de ácido poli (Láctico-co-clícolico) para uso parenteral y su efecto sobre edema plantar inducido por carragenina en ratas." (2013).
20. Villanueva Ravanal, Fiorela Antonieta. "Eficacia Analgesica post operatoria de Paracetamol-Naproxeno Sodico y Paracetamol-Diclofenaco Sodico en Pacientes sometidos a exodoncias complejas." (2016).

21. Sánchez-Bain, Andrés, et al. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. CIID, Ottawa, ON, CA, 2004.
22. Tamayo, Mario. El proceso de la investigación científica. Editorial Limusa, 2004.
23. Rios, Jose Luis; Gonzales Meza, Jimmy Roy. Incidencia de automedicación con antiinflamatorios no esteroideos en la población del distrito de Huancayo. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Privada de Huancayo, 2018.
24. Angélica Chávez y Fortunata Mallaopoma. Consumo de antiinflamatorios no esteroideos y su relación con alteraciones gastrointestinales en población adulta del distrito de Huancayo. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Privada de Huancayo, 2018.

ANEXOS

ANEXO 1

Resultados de concentraciones y porcentajes de inhibiciones

	CONCENTRACION mg/mL	ELONGACIÓN DE RADÍCULA	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN
DICLOFENACO	$2,8 \times 10^{-7}$	1,83cm	47.7142857
	$5,4 \times 10^{-6}$	1,3cm	62.8571429
	$8,2 \times 10^{-5}$	1,1cm	68.5714286
	$1,25 \times 10^{-4}$	0,8cm	77.1428571
	$2,4 \times 10^{-4}$	0,5cm	85.7142857
IBUPROFENO	0,05	2.8cm	20
	0,125	2.15cm	38.5714286
	0,5	1.06cm	69.7142857
	1,0	0.9cm	74.2857143
	4,0	0.2cm	94.2857143
NAPROXENO	0,5	1.9cm	45.7142857
	1,0	1.7cm	51.4285714
	10,0	0.9cm	74.2857143
	25,0	0.6cm	82.8571429
	100,0	0.08cm	97.7142857

ANEXO 2



Realizando el
sembrado del
“*allium cepa*”
con los AINEs
a 5
concentraciones
diferentes



ANEXO 3



**Cortamos
las
radículas
del “*Allium
Cepa*”**



ANEXO 4



Realizando
la
coloración
con orceina
clorhídrica
para
observar el
proceso de
la mitosis
en células
del "*allium*
--

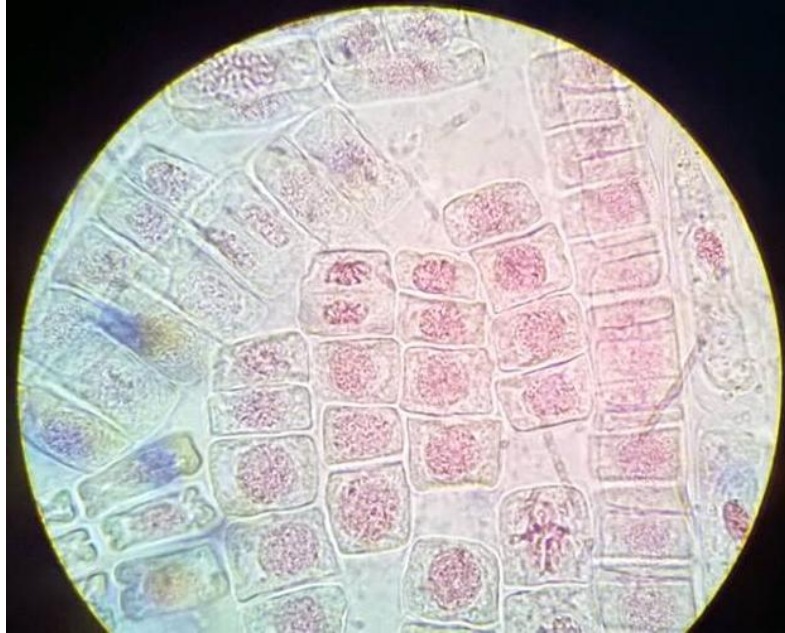


ANEXO 5



ANEXO 6

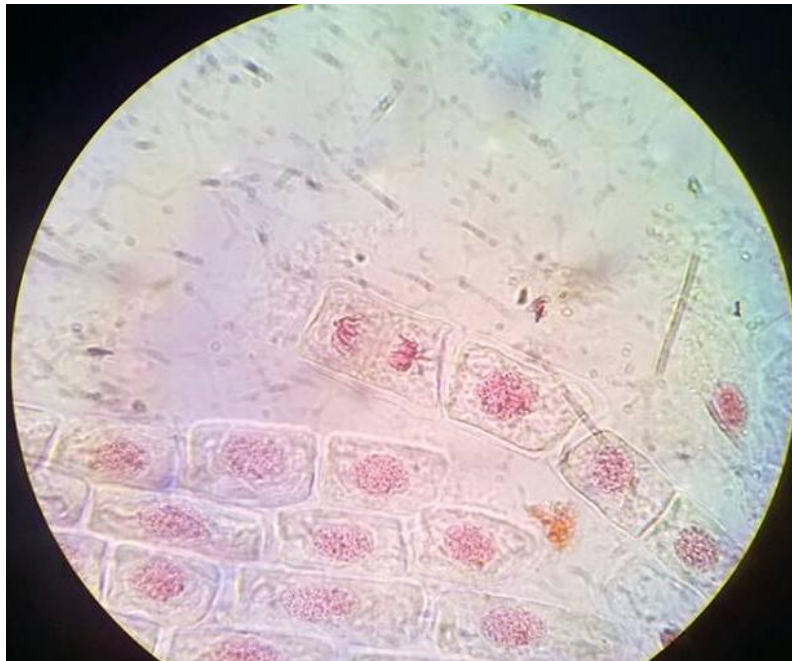
Observación microscópica (Grupo control)



Fuente: Elaboración propia

ANEXO 7

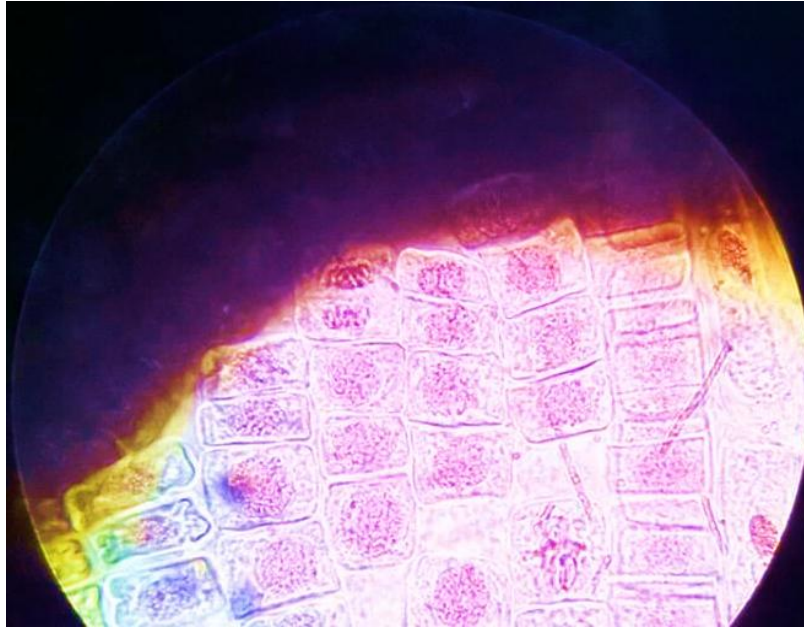
Observación microscópica (Diclofenaco $2,8 \times 10^{-4}$ mg/mL)



Fuente: Elaboración propia

ANEXO 8

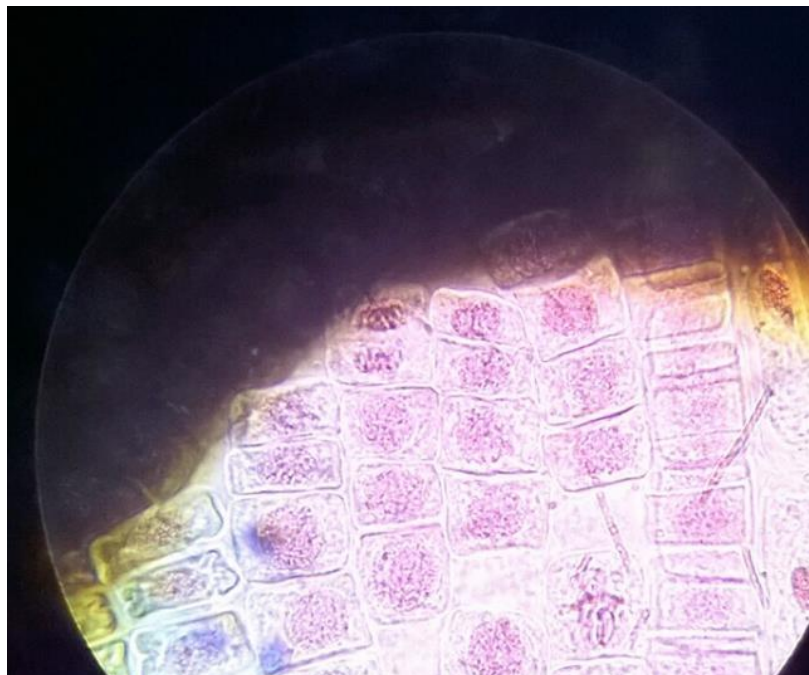
Observación microscópica (Ibuprofeno 4,0 mg/mL)



Fuente: *Elaboración propia*

ANEXO 9

Observación microscópica (Naproxeno 1,0 mg/mL)



Fuente: *Elaboración propia*