

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto genotóxico *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano. Ayacucho, 2019.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por el:

Bach. MEDINA HUAMÁN, Romel Alcides

Asesorado por: **Blgo. MIRANDA TOMASEVICH, Tomás Yuret**

Ayacucho-Perú

2022

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 493–2022-FCSA–UNSCH-D

BACHILLER: Romel Alcides MEDINA HUAMÁN

En la ciudad de Ayacucho siendo las cinco de la tarde del día doce de agosto de dos mil veintidós, se reunieron en el Auditorio de la FCSA los docentes miembros del jurado evaluador de sustentación, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado “EFECTO GENOTÓXICO *IN VITRO* DEL LÁTEX DE *Synadenium grantii* Hook “PLANTA DE LA VIDA” FRENTE A ADN GENÓMICO HUMANO. AYACUCHO, 2019”. Presentado por el bachiller Romel Alcides MEDINA HUAMÁN para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Los miembros del Jurado de Sustentación conformado por:

Presidente : Prof. Enrique J. Aguilar Felices

Miembros : Prof. Saturnino M. Tenorio Bautista
: Prof. Liselly E. Chauca Retamozo

Asesor : Prof. Tomás Y. Miranda Tomasevich

Secretaria Docente: Liselly E. Chauca Retamozo

Con el quorum de reglamento se dio por inicio la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por las recurrentes, y da algunas indicaciones a la sustentante.

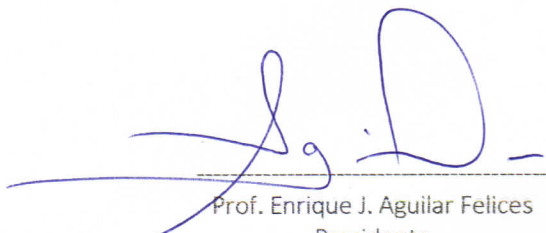
Da inicio la exposición el Bachiller: Romel Alcides MEDINA HUAMÁN, una vez concluida el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente da pase al asesor de tesis profesor Tomás Y. Miranda Tomasevich para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

El presidente invita a la sustentante abandonar el auditorio para que se pueda proceder con la calificación.

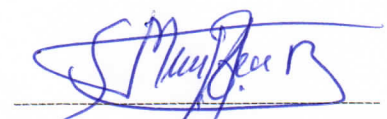
RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	P. FINAL
Prof. Enrique J. Aguilar Felices	16	16	16	16
Prof. Saturnino M. Tenorio Bautista	16	16	16	16
Prof. Liselly E. Chauca Retamozo	17	17	16	17
Prof. Tomás Y. Miranda Tomasevich	17	17	16	17
PROMEDIO FINAL:			17	

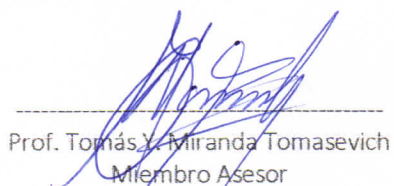
De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar al Bachiller **Romel Alcides MEDINA HUAMÁN**. Quien obtuvo la nota final de Diecisiete (17) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo las 19:00 del día, se da por concluido el presente acto académico virtual.




Prof. Enrique J. Aguilar Felices
Presidente



Prof. Saturnino M. Tenorio Bautista
Miembro



Prof. Tomás X. Miranda Tomasevich
Miembro Asesor



Prof. Liselly E. Chauca Retamozo
Miembro y secretaria Docente

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación es dedicado a mis padres, Simón Medina y Teófila Huamán por apostar en mi educación y formación profesional, gracias.

AGRADECIMIENTO

A mi alma mater, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, de formación profesional humanista con profundo sentido social, por acogerme en sus ambientes de conocimiento durante los cinco años de formación profesional.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Biológicas, que me permitieron desarrollar la ejecución de la presente investigación.

A la Facultad de la Ciencias de la Salud, sobre todo a los catedráticos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que permitieron una experiencia profesional, contribuyendo en mi formación con bases teóricas y prácticas.

A los Biólogos Miriam Moreno Hinojosa y Tomás Yuret Miranda Tomasevich, agradecer por su permanente acompañamiento y la oportunidad de ser mis asesores hasta la culminación de la Tesis.

A mis padres, por su apoyo incondicional y que fueron mi motor y motivo a seguir adelante con el proyecto para su realización.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
Resumen	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”	6
2.2.1.1. Clasificación taxonómica	6
2.2.1.2. Historia	7
2.2.1.3. Nombres vernaculares	7
2.2.1.4. Descripción botánica	7
2.2.1.5. Distribución geográfica	8
2.2.1.6. Usos en la medicina tradicional	8
2.2.1.7. Composición química	9
2.2.1.8. Estudios farmacológicos	9
2.2.2. Modelo tridimensional del ADN	9
2.2.2.1. Ácido desoxirribonucleico (ADN o DNA) genómico humano	11
2.2.3. Toxicidad y genotoxicidad	11
2.2.3.1. Toxicidad	11
2.2.3.2. Genotoxicidad.	11
2.2.4. Mecanismo de genotoxicidad	12
2.2.5. Evaluación genotóxica	13
2.2.6. Electroforesis en gel agarosa	14
2.2.7. Espectrofotometría	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Lugar de trabajo de investigación	16
3.2. Definición de población y muestra	16
3.2.1 3.2.1. Población.	16

3.2.2.	Muestra	16
3.2.3.	Material biológico	16
3.3.	Diseño metodológico para la recolección de datos	16
3.3.1.	Recolección e identificación de la muestra.	16
3.3.2.	Obtención del látex	17
3.3.3.	Tamizaje fitoquímico del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”.	17
3.3.4.	Obtención de ADN genómico humano	17
3.4.	Cuantificación de ADN genómico humano.	19
3.4.1.	Por espectrofotometría.	19
3.4.2.	Por electroforesis	19
3.5.	Ensayos de la genotoxicidad <i>in vitro</i> , “método Tomasevich”:	20
3.6.	Análisis de datos	22
IV.	RESULTADOS	23
V.	DISCUSIÓN	29
VI.	CONCLUSIONES	34
VII.	RECOMENDACIONES	35
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
	ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. “Preparación de diluciones de ADN a diferentes concentraciones para patrones de banda en electroforesis”.	20
Tabla 2. “Preparación de las mezclas para ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> de látex del <i>Synadenium grantii</i> Hook (planta de la vida) sobre ADN genómico humano”.	20
Tabla 3. “Preparación de soluciones para el volumen de carga en los pocillos del gel de agarosa con soluciones de digestión de ADN genómico con látex del <i>Synadenium grantii</i> Hook planta de la vida, para el ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> ”.	21
Tabla 4. “Valoración numérica de la genotoxicidad según la fragmentación del ADN por registro visual”.	21
Tabla 5. “Tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios presentes en el látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook (planta de la vida)”. Ayacucho, 2019.	23
Tabla 6. “Valores numéricos del ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook (planta de la vida) a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH”. Ayacucho 2019.	27
Tabla 7. “Características producidas en los ensayos para la identificación de los metabolitos secundarios”.	44
Tabla 8. “Efecto genotóxico <i>in vitro</i> del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook (planta de la vida) frente a ADN genómico humano, Ayacucho 2019”	53

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”	7
Figura 2. Estructura tridimensional del ácido desoxirribonucleico	10
Figura 3. “Registro fotográfico de electroforesis en gel de agarosa al 1% del ADN genómico humano y coloreado con bromuro de etidio. CIBMB-UNSCH. Ayacucho 2019”.	24
Figura 4. “Ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook (planta de la vida) a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH. Ayacucho 2019”.	25
Figura 5. “Reproducibilidad del ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i> del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook (planta de la vida) a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH. Ayacucho 2019”.	26
Figura 6. “Prueba de Kruskal-Wallis (H=16,69, GL=4, P=0.002); para determinar el grado de genotoxicidad <i>in vitro</i> del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook (planta de la vida) a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH. Ayacucho 2019”.	27

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”. Ayacucho, 2013.	42
Anexo 2. procesos del tamizaje fitoquímico y la evaluación de la genotoxicidad de <i>Synadenium grantii</i> Hook, a partir del látex.	43
Anexo 3. Características producidas en los ensayos para la identificación de los metabolitos secundarios	44
Anexo 4. Rama de planta de la vida para la obtención directa de látex	45
Anexo 5. Observación de la calidad y sanidad de la muestra / Obtención directa del látex de la planta de la vida	46
Anexo 6. Depositando el látex en tubo eppendorf estéril	47
Anexo 7. Ensayo de genotoxicidad del ADN frente a látex de planta de la vida	48
Anexo 8. Sembrado de las soluciones de digestión en gel de agarosa para electroforesis.	49
Anexo 9. Foto documentación e interpretación de los resultados de los ensayos de genotoxicidad de la planta de la vida frente al ADN humano	50
Anexo 10. Valores numéricos del ensayo genotóxico in vitro del látex de” <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH. Ayacucho 2019	51
Anexo 11. Prueba de Kruskal – Wallis para evaluar el grado de genotoxicidad de látex de” <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”, según la concentración de látex, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. Ayacucho, 2019	52
Anexo 12. Matriz de consistencia	53

Resumen

El *Synadenium grantii* Hook es un arbusto que presenta una gran variedad de propiedades curativas. Sus tallos y hojas, sirven para la preparación de tratamientos caseros. El objetivo planteado fue: determinar el efecto genotóxico *in vitro* en el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano e identificar los metabolitos secundarios presentes. Respecto a la obtención de muestras, fueron colectadas en el piso ecológico del distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, región de Ayacucho, e inmediatamente transportadas al Centro de Investigación en Biología Molecular y Bioinformática de la UNSCH, la recolección se realizó los meses abril a noviembre de 2020. Se utilizó el tallo de la planta para obtener el látex y realizar el tamizaje fitoquímico y ensayos de genotoxicidad a diferentes concentraciones, los que se expusieron sobre el ADN genómico humano; utilizando la electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio al 1% se realizó la estimación del daño genotóxico “*in vitro*” y fue determinado en radiación de luz ultra violeta, dentro del sistema de registrador de imágenes Biometra UVsolo TS. Los metabolitos secundarios identificados en látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, fueron alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos y quinonas en regular cantidad (+++), mientras que, lactonas y/o cumarinas se detectaron en poca cantidad (++)). El látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” a concentraciones de 5% fragmentó entre 5 a 40% del ADN, a concentración de 10% fragmentó entre el 20 a 40% del ADN, con 25% de látex fragmentó entre 40 a 95% del ADN, mientras que, a 50 y 100 % de látex, han fragmentado a más de 95% del ADN genómico humano. Se concluye que el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” presenta efecto genotóxico *in vitro* frente a ADN genómico humano.

Palabras clave: genotoxicidad, *Synadenium grantii* Hook, ADN, látex.

I. INTRODUCCIÓN

Desde su procedencia, el *Homo sapiens* y los recursos naturales han estado en íntima relación; por ello, las plantas han cobrado una importancia inexorable para el ser humano ya que son utilizados principalmente por su disponibilidad de sus recursos, para la curación o alivio de diversas enfermedades y lesiones de índole físico, también para la alimentación, en la industria del vestido y utensilios de uso doméstico y en la elaboración de materiales de construcción. Son un promedio de 50.000 especies de plantas, que son utilizados por el hombre en la medicina, y que significa el uso de al menos el 10% de las plantas que hay en el mundo. “Aunque sus múltiples usos nunca han dejado de estar a la vanguardia en el avance de la ciencia y la tecnología ayudó a que los principios activos contenidos en esas plantas sean sintetizados químicamente, haciéndolos disponibles en las farmacias a precios accesibles para el consumo de la población y en dosis adecuadas para cada tratamiento. Sin embargo, la preocupación cada vez es más común por los efectos secundarios de los medicamentos químicos y la ineficacia de algunos de ellos para su uso a largo plazo, por lo cual el uso de alternativas naturales o terapias complementarias ha recibido una atención creciente en los últimos años. Actualmente, según la OMS se estima que el 80% de la población mundial depende de la medicina tradicional para sus necesidades en la atención primaria de su salud”.¹

En la actualidad los complementos alimenticios vegetales, son de gran interés por sus capacidades de disminuir los factores de riesgo de las enfermedades; esto posibilita que las personas busquen lo “natural” porque consideran que está sin ningún tipo de compuestos químicos y por lo tanto es “seguro” para la salud; sin embargo, sabemos que muchos elementos reino Plantae contienen también toxinas que incluso pueden tener efectos genotóxicos, por lo que se debe replantear la premisa anterior, pues la integridad del ADN constituye un aspecto fundamental para la salud y el bienestar de la población.²

Para el uso de las plantas medicinales en el tratamiento de las enfermedades se necesita siempre que, se realicen pruebas o investigaciones al igual que se realiza con los productos sintéticos con el que se garantizará el producto final para su ingreso al mercado, donde seguirán siendo evaluadas a partir de los estudios de farmacovigilancia.³

Objetivo General:

- Determinar el efecto genotóxico *in vitro* en el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano.

Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”.
- Caracterizar el efecto de la genotoxicidad del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” mediante ensayos *in vitro* sobre el ADN genómico humano detectado mediante electroforesis.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Respecto a los antecedentes revisados, relacionados al tema de investigación de plantas con efectos genotóxicos, podemos citar:

Monroy y col¹, realizaron el estudio de citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas *in vitro* a glifosato. Mencionan que el glifosato es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, que se utiliza para eliminar malezas indeseables en las parcelas o en espacios de sembrío y plantaciones, también participa en la disminución de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en los vegetales, “al tener este comportamiento en los vegetales y no en los humanos es considerado de bajo riesgo para la salud de las personas, sin embargo, resultados de investigaciones reportan que algunos procesos celulares de animales son afectados, por lo que se puede convertir en factor de riesgo a nivel ambiental y de salud en las zonas donde se emplea el glifosato, el objetivo del trabajo de investigación fue evaluar la citotoxicidad y la genotoxicidad del glifosato en células humanas normales (GM38) y en células humanas de fibrosarcoma (HT1080), usando como metodología la citotoxicidad aguda y crónica determinaron al exponer las células en cultivo a diferentes concentraciones de glifosato, y se analizaron la viabilidad celular con cristal violeta y colorante de exclusión azul de tripano, respectivamente y en cambio la genotoxicidad determinaron por medio del ensayo del cometa y los datos lo analizaron usando la prueba de Dunnet”. Llegando a la conclusión que el mecanismo de acción del glifosato, a nivel celular también al igual que en las plantas, también afecta la estructura del ADN en otros tipos de células como son las de los mamíferos.

Gadano y col⁴, evaluaron la genotoxicidad de la planta medicinal *Chenopodium ambrosioides* L. *in vitro*, en el que mencionan que dicha hierba es utilizada medicina popular de América Latina como antihelmíntica. El objetivo de del trabajo fue evaluar el daño genético inducido por decocción e infusión de esta planta que

se analizaron en diferentes concentraciones (1, 10, 100, 1000 µg/mL), mediante la adición del extracto a cultivos de células de linfocitos humanos. Los puntos finales evaluados fueron aberraciones cromosómicas (AC), intercambios de cromátidas hermanas (SCE), cinética de proliferación celular (CPK) e índices mitóticos (MI). El análisis de la varianza de la medida repetida se utilizó para la evaluación estadística de los resultados. Los resultados mostraron un aumento estadístico en el porcentaje de células con AC y en la frecuencia de SCE cuando los cultivos se expusieron a ambas preparaciones de paico y una disminución en el MI de ambas preparaciones ensayadas, aunque no se observó ninguna modificación en los valores de CPK ni en la infusión ni en la decocción. A partir de estos resultados sugieren un posible efecto genotóxico de ambas preparaciones, probablemente debido a diferentes principios activos.

La carcinogénesis del potencial genotóxico de una sustancia determinada es un factor de riesgo primario que presentan efectos a largo plazo de daño reproductivo y enfermedades degenerativas. la respuesta genotóxica transitoria y permanente es evaluado por los biomarcadores que a través de métodos de referencia como el estudio de aberraciones cromosómicas y el estudio de la frecuencia de micronúcleos. Llegaron a la conclusión de la patogénesis del cáncer, se debe principalmente a una variabilidad amplia en la respuesta biológica interindividual frente a exposiciones similares a agentes genotóxicos en el que recomiendan valorar varios biomarcadores específicos para el intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos y de ensayo cometa, estos biomarcadores indican exposición a agentes mutagénicos específicos y que dan como respuesta eventos biológicos demostrado la causal de la patogénesis del cáncer, por lo cual Butinof y col⁵, evaluaron la exposición a plaguicidas mediante el Biomonitorio y su importancia en la vigilancia epidemiológica en agroaplicadores de Córdoba, Argentina. En el que observaron daño genotóxico considerable entre los agroaplicadores, dando soporte a la hipótesis causal acerca de la relación entre exposición a diferentes plaguicidas y enfermedades tipo cáncer. Para la determinación de la genotoxicidad en los agricultores expuestos al tóxico, utilizaron el ensayo cometa como métodos para hacer el análisis la media de la longitud del cometa de cada sujeto. Clasificaron las cometas visualmente empleando una escala arbitraria de cinco categorías de acuerdo al tamaño de ADN en la cola (%). El daño genotóxico del ADN lo representaron en porcentajes de células dañadas.

Quispe⁶, realizó trabajo de investigación del “látex y extracto hidroalcohólico de semilla de *Carica papaya* L. para probar el efecto genotóxico *in vitro* en el ADN genómico humano. La muestra se obtuvo del látex y las semillas de la planta pues luego de ciertos procedimientos llegaron a realizar el tamizaje fitoquímico y ensayos de genotoxicidad en diferentes concentraciones entrando en contacto con el ADN genómico de linfocito humano para la estimación del daño genotóxico *in vitro*, realizaron mediante la electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio al 1% y se visualizó en radiación de luz ultra violeta, dentro del sistema de registrador de imágenes BiometraUVsolo TS. Concluye que el látex y el extracto hidroalcohólico de semilla, presentan efecto genotóxico *in vitro* frente a ADN genómico humano”.

Montes⁷, realizó el trabajo de investigación “*in vitro*” del látex de plantas *Argemone mexicana* L. “cardo santo” y *Taraxacum officinale* “diente de león” para probar el efecto genotóxico ya que estas plantas medicinales son de uso dérmico. Concluye que el látex de dichas plantas, tienen propiedades genotóxicas sobre el ADN genómico humano, así mismo logró identificar alcaloides, compuestos fenólicos y taninos en gran cantidad en los metabolitos secundarios del látex. Además, observó y comprobó que el efecto genotóxico desde 10% al 100% de concentración del látex de *Argemone mexicana* L. “cardo santo” desde 10% al 100% de concentración, presentó un potente efecto genotóxico frente al ADN genómico humano, mientras que las concentraciones de 50% y 100% del látex de *Taraxacum officinale* “diente de león” también presentaron fragmentación del ADN”.

Nikoloff⁸, realizó los estudios de genotoxicidad de herbicidas de importancia agroeconómica en Argentina, “evaluaron los efectos citotóxicos mediante los ensayos colorimétricos de captación de Rojo Neutro y MTT (RN y MTT, respectivamente), el índice mitótico (IM), el análisis del índice de proliferación celular (IPC), el estudio de muerte celular programada o apoptosis y el índice de división nuclear (IDN). Publicaron los resultados de los estudios de mortalidad, genotoxicidad y citotoxicidad de algunas marcas de herbicida como el FLC, Twin Pack Gold® y Rainbow®, reportaron que FLC como un agente inductor de daño genotóxico y citotóxico y que debe ser tenido en cuenta como su clasificación, según los valores de toxicidad aguda CL50_{96h}, aquellos resultados fueron obtenidos mediante la exposición de larvas de *R. arenarum* frente a las herbicidas en que llegan a la conclusión y sugieren una correcta evaluación toxicológica de

FLC y de las formulaciones comerciales existentes del herbicida antes que continúen distribuyéndose masivamente en Argentina y en el mundo, así pues representan un factor de riesgo latente para los organismos expuestos, al ser humano”.

Quintana y Col⁹, realizaron estudios de látex *Croton lechleri* y del *Synadenium grantii* Hook para evaluar efecto cicatrizante en ratones albinos (*Mus musculus*). Por vía tópica, se aplicó el látex y después de 7 días de aplicación en diferentes concentraciones mediante un estudio en animales de experimentación llegaron a la conclusión que 25%, 50% y 75% de las concentraciones presentan el efecto cicatrizante en heridas producidas a ratones albinos (*Mus musculus*). La dosis ideal es de 75 % para el efecto cicatrizante con una efectividad del 95 % que ayudan en la mejoría del proceso de la cicatrización. Concluyeron que el efecto cicatrizante más eficiente fue el látex *Synadenium grantii* Hook al 75% respecto *Croton lechleri* al 100% en heridas producidas a ratones albinos (*Mus musculus*). Además, realizaron el tamizaje fitoquímico de ambas plantas en que encontraron fenoles, lactonas, flavonoides, azúcares reductores, saponinas, aminos, resinas y alcaloides.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”

2.2.1.1. Clasificación taxonómica

Para la identificación y su clasificación de la muestra vegetal se determinó “según el Sistema de Clasificación de Cronquist A., 1988 de la facultad de ciencias Biológicas de la Universidad de San Cristóbal de Huamanga, dirigida por la Blga. Aucasime”.^{2,10}

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub clase	:	Rosidae
Orden	:	Euphorbiales
Familia	:	Euphorbiaceae
Género	:	<i>Synadenium</i>
Especie	:	<i>Synadenium grantii</i>
N. v	:	“planta de la vida”

Fuente: Herbarium Humangenensis de la Facultad de Ciencias Biológicas, 2013. (Anexo 1)



Figura 1. *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”

2.2.1.2. Historia

La planta es conocido como “planta de la vida” o “lechero africano”, siendo la nomenclatura científica *Synadenium grantii* Hook, perteneciente al este de Sudáfrica. su nombre fue dado en honor a su descubridor el científico norteamericano Grant Hook. Madre Teresa de Calcuta curaba en la India milagrosamente la a sus fieles seguidores con el agua que se preparada de la “planta de la vida”.^{10,26}

2.2.1.3. Nombres vernaculares

“Lechero africano”, “planta de la vida”, “planta milagrosa”, “cura cáncer”, “cura todo”, “planta de la resurrección”, “planta de sanación”, “planta de la salvación”.²⁴

2.2.1.4. Descripción botánica

Son una familia de euforbiáceas que producen principalmente látex las plantas.

Es un arbusto suculento de 4-5 m de altura con más 8000 especies, con látex, tallos cilíndricos y hojas verdes inermes con marcas de agua carnosos al inicio, tornándose algo leñoso con el pasar del tiempo, con corteza escamosa y grisácea. Con hojas carnosas, de formas oblanceoladas a obovadas o espatuladas, alternas glabras, de 5-17 por 2-6 cm, de textura gruesa o algo suculenta, con base atenuada, de margen entero con ápice agudo u obtuso y con peciolo largo. Con inflorescencias en cimas axilares y con pedúnculos de 2,5-5 cm de longitud. Con brácteas enteras con involucro, mínimamente pubescentes de color rojo oscuro, generalmente bisexual. De flores estaminadas con cinco grupos opuestos a los lóbulos del involucro, carentes de pétalos y sépalos, formadas por un estambre. Con flores pistiladas con “sépalos muy reducidos y un ovario trilobular, pubescente; estilo bifido ausentes o presentes en el centro del ciatio. Con fruto trilobado y semillas”. Existe también una especie de forma “rubra”, con hojas color vino y los tallos rojizos tornándose más tarde rojo-bronceadas.^{3,10}

2.2.1.5. Distribución geográfica

Se encuentran ampliamente distribuidos en los continentes de América y África, crecen en las regiones tropicales, son originarias de Sudáfrica. A Sur América introdujeron viajeros de Europa y África, primero llegando a Brasil y luego Perú por el río Amazonas en el XX y así fue adaptándose y distribuyéndose en el resto del continente y el Perú, se cultiva a veces también por semillas y por esquejes generalmente, la planta requiere suelos drenados con climas muy suaves, ya que se hiela con facilidad en climas hostiles. Existen dos formas de plantas, una forma “rubra”, que tiene sus hojas y sus tallos de color vino y lo otro de color verde. En la actualidad tienen amplia distribución mundial y adoptan la forma de árboles, arbustos o hierbas, en nuestro país y la región, se emplean con fines industriales y medicinales.^{3,10}

2.2.1.6. Usos en la medicina tradicional

El látex de la planta es irritante y venenoso, esta especie es de origen africano y es muy tóxica. El látex de esta planta se utiliza para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas la diabetes mellitus, enfermedad de Hansen, tripanosomiasis, leucemia, reducción de verrugas, en el tratamiento de dolencias gástricas y así mismo en el tratamiento de varios tumores malignos. En la medicina popular, las personas usan su látex para tratar enfermedades neoplásicas y trastornos gástricos como úlceras pépticas y gastritis. Normalmente se prepara agregando dieciocho gotas de látex a 1 L de agua y por lo general, se conserva

en el refrigerador y se bebe tres veces durante el día. Cuando se eliminan las ramas y la corteza, la planta libera un látex blanco que es altamente irritante.^{11, 25}

2.2.1.7. Composición química

El examen fitoquímico de los principales grupos químicos de los metabolitos secundarios utilizando reacciones colorimétricas específicas por Wagner y Bladt, identificó terpenos, compuestos fenólicos (taninos hidrolizables y condensados, cumarinas y antraquinonas) y sustancias insaponificables en extracto de corteza cruda de *Synadenium grantii* Hook, mientras que en el látex solo se confirmó la presencia de terpenos.^{10,12}

Quintana, realizó el tamizaje fitoquímico del látex de la planta, identificando compuestos terpénicas, saponinas, carbohidratos, flavonoides, aminas, fenoles, quinonas, alcaloides, a través de la prueba cualitativa de identificación. Mientras tanto, Oré encontró en el extracto acuoso e hidroalcohólico, los metabolitos secundarios como: azúcares reductores, lactonas, fenoles flavonoides, saponinas, alcaloides, resinas y aminas.^{11, 24, 25.}

El *Synadenium grantii* Hook contiene alcaloides, glúcidos, diterpenos, triterpenos, lípidos, esteroides y flavonoides, mientras que el látex presenta ciertos grupos de productos químicos llamados bufadienolides con actividad como los otros glucósidos y que son muy similares en estructura a digoxin y digitoxin cardiaco, además de presenta phorbol que es un compuesto orgánico natural de la familia del tigliane de diterpenos, se utiliza como herramienta biomédica de la investigación en modelos de la carcinogénes.^{12,27}

2.2.1.8. Estudios farmacológicos

Los estudios farmacológicos de investigación realizados por Oré, “en extractos acuosos hidroalcohólicos de las hojas de *Synadenium grantii* Hook, llegaron a la conclusión que presenta actividad antihelmíntica expresada por parálisis muscular en las lombrices de tierra y lo cual conlleva a su muerte del mismo parasito. Además Quintana y Santamaría, determinaron en el látex del *Synadenium grantii* Hook el efecto cicatrizante en ratones albinos (*Mus musculus*)”.^{9, 25}

2.2.2. Modelo tridimensional del ADN

La estructura del ADN fue de modelo tridimensional fue elaborado Watson y Crick en 1953, estando de acuerdo con todos los datos disponibles en su estructura. El ADN son dos cadenas helicoidales enrolladas que forman una doble hélice dextrógira al alrededor del mismo eje. Las unidades alternas de desoxirribosas y grupos fosfato son los esqueletos hidrofílicos que se encuentran en la parte

externa de la doble hélice cargados negativamente y que están en contacto con el agua circundante. “En posición perpendicular con relación al eje longitudinal de la hélice las bases purínicas y pirimidínicas de ambas cadenas están apiladas en el interior de la doble hélice prácticamente planas situadas a muy corta distancia las unas de las otras, con sus estructuras en anillo hidrofóbicas. La doble hélice da lugar a la formación de un surco mayor y un surco menor en la relación espacial entre las dos cadenas. El dúplex de DNA o la doble hélice, se mantiene por dos tipos de fuerzas: interacciones por apilamiento de bases e enlaces de hidrógeno entre pares de bases complementarias”.^{9, 12}

Las dos hebras tienen orientación antiparalela; o sea que sus direcciones 5' → 3' son opuestas. La doble hélice de hebras tiene una orientación antiparalela o sea son opuestas que se sus direcciones van de 5' → 3' y 3' → 5'.

Las hebras tienen un registro preciso para el apareamiento regular de las hebras: G se aparea con C mediante tres enlaces de hidrógeno, A se aparea con T a través de dos enlaces de hidrógeno, (ver figura 2), este apareamiento de las bases con sus pares determina la forma, tamaño y la composición química de la estructura del ADN, también estos miles de enlaces de hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y de Van der Waals favorecen a mantener la estabilidad de la estructura de doble hélice del DNA.^{9,13}

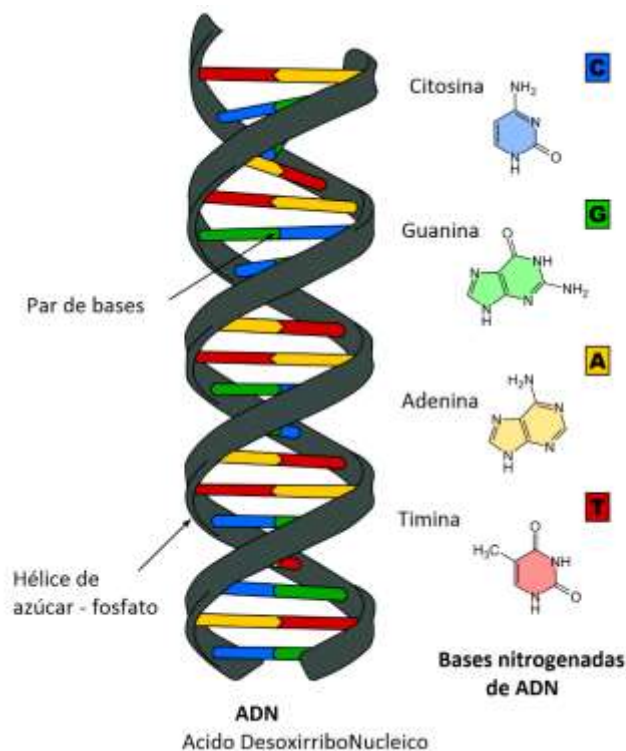


Figura 2. Estructura tridimensional del ácido desoxirribonucleico

2.2.2.1. Ácido desoxirribonucleico (ADN o DNA) genómico humano

EL DNA conocido también como el almacén de la información que tiene toda persona, es el elemento químico primordial del cromosoma y es el material que los genes necesitan para poder realizar sus funciones vitales. La estructura del DNA está constituida por dos largas cadenas de nucleótidos unidas entre sí por puentes de hidrogeno dando como resultado da una estructura en cadena de doble hélice de nucleótidos que forman una molécula de DNA.^{3, 14}

La estructura del DNA (polímero), son los nucleótidos (monómeros) y éstos están conformados por un grupo de compuestos fosfato, una base nitrogenada y una desoxirribosa, de los cuales existen cuatro bases: dos bases pirimídicas denominadas citosina (C) y timina (T) y dos bases purínicas denominadas adenina (A) y guanina (G), estas bases se aparean con las base complementarias (adenina con timina y guanina con citosina) y esto implica que el orden de una de las cadenas delimita automáticamente el orden de la otra, por eso se dice que las cadenas son complementarias.¹⁴

2.2.3 Toxicidad y genotoxicidad

2.2.3.1 Toxicidad

Capacidad de una sustancia química al entrar en contacto con él produce efectos perjudiciales sobre un ser vivo. La toxicidad es la producción de un efecto perjudicial al ser vivo a partir del contacto de una sustancia y Tóxico es aquella sustancia ya sea natural o artificial que tenga toxicidad.^{2,15}

2.2.3.2. Genotoxicidad.

La genotoxicidad hace referencia a cualquier tipo de daño causado sobre el material genético.

El cambio inducido en el ADN por la trasmisión y fijación

La mutación genética se da por cambios en el ADN por fijación y transmisión inducida, estos cambios cromosómicos que pueden ser cromosómicos numéricos o estructurales, son considerados como una condición importante en la inducción de defectos de carácter hereditarios (entre ellos las enfermedades genéticas humanas) y la aparición de procesos cancerígenos. La mutación genética se da por cambio inducido en el ADN a través de la fijación y trasmisión, cambios cromosómicos numérico o cromosómicos estructurales, considerado como un acontecimiento esencial en la inducción de defectos hereditario que estos incluyen a las enfermedades genéticas humanas y la aparición de procesos mutagénicos cancerígenos en las células. La salud se ve implicada en diversos procesos como

la toxicidad sobre el desarrollo y diversas enfermedades cutáneas, el envejecimiento, las hematológicas u óseas originadas por mutaciones somáticas y el fallo reproductivo. En la inducción de cambios genéticos las sustancias químicas tienen un posible papel sobre ellos, y estos son asociados a efectos hereditarios y procesos cancerígenos en el en humanos y esto conllevó al amplio número de ensayos para valorar el potencial genotóxico.¹⁶

Las propiedades físicas y químicas de los agentes genotóxicos no sólo les confieren la capacidad para interactuar con el ADN, sino que también les permiten reaccionar con el ARN, las proteínas y otras moléculas de naturaleza nucleofílica presentes en las células. Por consiguiente, además de los efectos genéticos, también pueden ocasionar efectos fisiológicos y tóxicos. Debido a esta variedad de posibles efectos, nos vamos a referir principalmente al riesgo comparativo o relativo, más que a la caracterización probabilística del riesgo de una enfermedad específica.¹⁷

2.2.4. Mecanismo de genotoxicidad

El mecanismo de las sustancias genotóxicas se da, al “unirse directamente al ADN o puede ser indirectamente a través de la afectación de las enzimas involucradas en la replicación del ADN, conllevando a mutaciones que pueden o no desembocar en un proceso canceroso”.^{15,18}

Los compuestos carcinógenos y mutágenos son “electrófilos de alta reacción, con mayor condición por el ADN como los derivados de compuestos orgánicos epóxidos, lactonas, nitrogenados o halogenados o compuestos inorgánicos de uranio, cromo, níquel, etc. Los genotóxicos pueden provocar mutaciones por cambios en algunos nucleótidos debidos a”:^{19, 20, 32.}

- “Sustituciones en las bases purinas por otras purinas”,
- “Sustituciones en las bases pirimidinas por otras pirimidinas o purinas por pirimidinas o viceversa”.
- “Sustitución de una base por un nucleótido inútil para la duplicación del ADN con una sustancia análoga originando”.
- “Alquilación de la molécula del ADN incorporando grupos químicos a las bases, mediante enlaces covalentes, formando lo que se conocen como aductos y la alteración química de las bases mediante oxidación, desaminación”.^{21,33}
- “Adición o deleción de bases interpretado como desfases, que estos van modificando la pauta de lectura”.

De igual manera, pueden generar aberraciones cromosómicas como:^{22,33}

- “Cambio en el número de cromosomas y las lesiones cromosómicas por delección, rotura, translocaciones y intercambio o reorganización del material cromosómico”.

Luego de la lesión generada en el ADN, la célula puede presentar tres procesos:

- Transmisión de la mutación por la replicación de nucleótidos alterados del ADN, esto puede generar un proceso canceroso o malformaciones congénitas en el recién nacido, con una mayor susceptibilidad de contraer ciertas enfermedades congénitas.³³
- Impedimento de la mutación a partir de la reparación del daño molecular de ADN.³⁴
- Muerte celular (apoptosis) e impedimento de la replicación.

En cuanto a los iniciadores del proceso de carcinogénesis dado por carcinógenos genotóxicos, comienzan “con una mutación en una sola célula pudiendo ser a nivel del metabolismo del xenobiótico, haciendo que una sustancia procancerígena se convierta en cancerígena; en la reparación del ADN impidiéndola o dificultándola o ya sea estimulando la proliferación celular. Este proceso se conoce como iniciación, generalmente suelen ser sustancias químicas, como los compuestos nitrosaminas, especies reactivas de oxígeno, alquilantes (mostazas nitrogenadas), aflatoxinas, productos de combustión, etc. El mecanismo de acción consiste en la formación de enlaces covalentes con el nitrógeno 7 de la guanina (aducto), produciéndose una mutación irreversible. Algunas características de ellos son”:^{32,34-36.}

- “Tienen una correlación estructura - actividad, el cual permite detectar mediante los ensayos experimentales”.
- “La mayoría se clasifican como procarcinógenos, aquí podemos encontrar hidrocarburos aromáticos policíclicos, aminas aromáticas, micotoxinas, etc. Su mecanismo consiste en una biotransformación para reaccionar con el ADN, la cual se puede producir tanto en la Fase I como en la Fase II del metabolismo”.
- “Activos a todas las dosis, no hay una dosis mínima umbral a partir de la cual se aprecie un efecto”.

2.2.5. Evaluación genotóxica

Consiste en la evaluación de mutaciones génicas, “aberraciones cromosómicas estructurales (cambios en la estructura), o numéricas (aneuploidías y alteraciones

al ADN (alquilación de bases, intercalamiento de bases, formación de aductos) o poliploidías por afecciones en los componentes del aparato mitótico o meiótico), a los mecanismos de reparación (incrementando la sensibilidad a los efectos de muchos mutágenos), a los eventos de recombinación mitótico, inducidos por cualquier agente genotóxico de sustancias químicas y radiaciones son estudiadas por la genética toxicológica, así como las consecuencias para la salud humana de la exposición a mutágenos”.^{7,37}

Los estudios genotóxicos persiguen como objetivo evidenciar el daño causado por el compuesto evaluado, a qué tipo o a qué nivel de organización del ADN opera, por ello se reconocen cuatro niveles: mutación génica (nivel I), mutación cromosómica (nivel II), daño primario del ADN (nivel III), transformaciones celulares (nivel IV), entre otras alteraciones, por lo cual “cualquiera de los ensayos y niveles de daño evaluados se deben emplear protocolos estandarizados validados internacionalmente, que tomen en consideración las dosis, el tipo de exposición y la vía de administración propuesta para el fármaco”.^{2,6,37}

Actualmente se puede identificar el daño genético o también conocer los compuestos genotóxicos a partir de diversas pruebas, a partir de microorganismos, *in vitro*, bioquímicas, animales *in vivo* células o con vegetales o con roedores para conocer el daño molecular.^{23,20}

2.2.6. Electroforesis en gel agarosa

Es una de las más utilizadas para analizar y caracterizar ácidos nucleicos de distintos orígenes, es una técnica que mediante la aplicación de un campo eléctrico permiten separar moléculas cargadas en función de su tamaño y forma, apartando las partículas coloidales tales como ácidos nucleicos o proteínas, de acuerdo a la carga eléctrica y a su tamaño. De esta forma las moléculas de ADN emigran de forma distinta en el gel de agarosa por electroforesis. De igual manera se puede calcular el tamaño del ADN utilizando los marcadores de peso molecular (fragmentos de DNA de tamaño conocido).^{21,23,39}

El principio básico de la electroforesis consiste en la migración o separación de las moléculas de acuerdo a su tamaño o peso molecular a través de un gel u otro tipo de matriz de naturaleza porosa, por acción de un campo eléctrico, para verificar el avance de la separación de las moléculas, estas deberán ser teñidas con diferentes colorantes en la matriz y pues establecer un patrón de fragmentos, estos procedimientos facilitan la visualización de las moléculas a manera de simples bandas las cuales serán posteriormente analizadas e interpretadas. en la

electroforesis horizontal generalmente se trabaja con ADN o ARN, mientras que en la electroforesis de tipo vertical, se analizan tanto moléculas de ADN como proteínas, por otro lado, existen otros métodos electroforéticos que presentan ciertas modificaciones, así como por ejemplo se tiene a la electroforesis bidimensional para un análisis más sofisticado de las proteínas y también se tiene electroforesis en campo pulsado, comúnmente usada para separar fragmentos muy grandes de ADN genómico. Es importante señalar de la asociación con otras técnicas tales como PCR e hibridación, brinda una gran ayuda en el campo de la salud. Gracias a esta técnica es posible visualizar las bandas de ARN o ADN de patógenos, visualizar una nueva proteína, mutaciones a nivel genético o detectar cambios, entre otros.²¹

2.2.7. Espectrofotometría

La espectrofotometría UV-visible, se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración, además es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se emplea el espectrofotómetro para hacer este tipo de medidas seleccionando la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.³¹

“La capacidad que tiene el ADN de absorber luz a una determinada longitud de onda ($\lambda = 260\text{nm}$) que permite el cálculo de la concentración de ácidos nucleicos de la muestra, si la densidad óptica (OD) es 1, corresponde a aproximadamente 50ug/ml de la cadena de ADN, entonces calculamos la concentración de ADN que tenemos en nuestras muestras, midiendo su absorbancia sin necesidad de una curva patrón”.^{6,24}

“El cálculo se da entre las lecturas a 260nm y 280nm para hacer un estimado de la pureza o evaluar la contaminación de la preparación del ADN. Esta relación debe estar entre los valores de 1,8 y 2,0. Si la muestra es pura; el primer método comúnmente usado para la cuantificación es la espectrofotometría. Las proteínas tienen un máximo de absorción a 280 (principalmente por residuos de triptófano), así la lectura muestra algún contaminante proteico”.^{6,24}

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de trabajo de investigación

El respectivo trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de la UNSCH: En los ambientes de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH se realizó la obtención del látex y tamizaje fitoquímico de la planta y luego a partir de ello se obtuvo el ADN genómico humano. Las pruebas para la determinación de la genotoxicidad se realizaron en el “Centro de Investigación en Biología Molecular y Bioinformática (CIBMB)” de la Facultad de Ciencias Biológicas, en los meses abril a noviembre de 2020.

3.2. Definición de población y muestra

3.2.1. Población. Plantas de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, que es parte de los diferentes pisos ecológicos del distrito de Ayacucho en la provincia de Huamanga de la región de Ayacucho, Perú.

3.2.2. Muestra

- Una planta de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”. Que se ha desarrollado en la ciudad universitaria – UNSCH, con buenas condiciones fenotípicas.

3.2.3. Material biológico

- “ADN genómico humano”.
- 20 mL de látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección e identificación de la muestra.

Respecto a la muestra, estas fueron recolectadas del jardín domiciliario cultivadas en la Urb. Los Artesanos, del distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, región Ayacucho, la obtención fue a tempranas horas del día y las que fueron transportadas al Laboratorio de Farmacognosia y Biología Molecular. Para la determinación taxonómica se utilizaron las plantas con flores, tallos y hojas, la

identificación se realizó en el “Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas” (Anexo 1)

3.3.2. Obtención del látex

Se realizó un corte transversal en el tallo y rama del espécimen “planta de la vida”, el látex derivado del corte fue almacenado en tubos eppendorf estériles de 2 mL, ubicándolos en caja térmica con refrigeración para los ensayos genotóxicos, mientras que para el tamizaje fitoquímico se recolectó en tubos de cristal.^{6,24}

3.3.3. Tamizaje fitoquímico del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”.

Se realizó la marcha fitoquímica al látex de la “planta de la vida” obtenidos del tallo y la vaina del espécimen en estudio, con ensayos con la finalidad de identificar los metabolitos secundarios presentes, como: “alcaloides, lactonas, cumarinas, flavonoides, quinonas, catequinas, saponinas, azúcares reductoras, taninos, fenoles, aminas, cardenólidos y resinas”⁶ (Anexo 3), “que se fundamentan en los cambios estructurales ocasionados en los metabolitos presentes, como desprendimiento de gas, aparición o desaparición de una coloración, dilución de un precipitado o formación”^{14,24} (ver Anexo 2)

3.3.4. Obtención de ADN genómico humano

La obtención del ADN genómico humano, se pudo lograr en el Laboratorio de Biología Molecular, se utilizó la bolsa colectora de sangre “cuádruple” fraccionada (para el desecho), conteniendo el paquete de glóbulos blancos; las mismas que se obtuvieron del Banco de Sangre del Hospital Regional de Ayacucho “Miguel Ángel Mariscal Llerena”, prosiguiendo con el siguiente protocolo descrito en Miranda.³⁹

Se contó con una unidad de bolsa colectora de sangre “cuádruple” fraccionada (para el desecho), conteniendo el paquete de glóbulos blancos; las mismas que se consiguieron en donación del Banco de Sangre del Hospital Regional de Ayacucho “Miguel Ángel Mariscal Llerena”, luego fueron trasladadas de inmediateamente al de Biología Molecular para obtención del ADN genómico humano, prosiguiendo con el siguiente protocolo descrito por Miranda.³⁹

1. “Se transfirió 1mL de sangre (paquete globular) a un tubo de centrifuga con tapa rosca y adicionó 9mL del tampón Tris - HCL 50 mM (pH 7,7) precalentado a 37 °C”.
2. “Se homogenizó e incubó a 37 °C por 30 minutos, se centrifugó a 2500 rpm por 10 minutos para sedimentar los linfocitos”.

3. "Se descartó el sobrenadante aspirándolo con una pipeta Pasteur dejando el botón celular del centrifugado en la parte inferior del tubo".
4. "Se repitió los procedimientos 2 y 3 (esta vez con 7 mL de tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7,7), hasta tener un preparado claro".
5. "Se Adicionó 1 mL de centrifugado, 9 mL de solución salina (NaCl al 0.85%) se homogenizó y centrifugó a 2500 rpm/ 10 minutos".
6. "Se aspiró y descartó el sobrenadante dejando solo el sedimento, se resuspendió el paquete celular en 0,5mL de la solución high TE, (Tris - HCl 50 mM, pH 8,0; EDTA 100 mM). Luego se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1,5mL".
7. "Se adicionó 0,5 mL de solución de lisis (Tris-HCl 10 mM, pH 8.0; EDTA 40 mM; SDS al 1%; NaCl 10 mM). precalentada a 50 °C".
8. "Se adicionó 75 µL de la solución de proteinasa K (20 mg/mL) e incubó por una hora y media a 53 °C".
9. "Se adicionó 750 µL de la solución cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), luego se homogenizó por inversión delicadamente durante 10 minutos".
10. "Se centrifugó en la microcentrífuga durante 10 minutos a 14 000 para separar las fases, luego se aspiró la fase superior acuosa que contiene el DNA y transferirla a un tubo nuevo de microcentrífuga de 2 mL".
11. "Se adicionó a ésta fase acuosa 750 µL de la solución de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) y se homogenizó por inversión durante 5 minutos. Se centrifugó en la microcentrífuga por 10 minutos a 14 000 rpm; luego se aspiró la fase acuosa que contiene el ADN y transfirió a un tubo nuevo de microcentrífuga de 2 mL".
12. "Se repitió el procedimiento 11 hasta obtener una fase acuosa completamente clara".
13. "Se agregó la solución de acetato de sodio 3M, pH 5.2. en cantidad igual a 1/10 del volumen de la fase acuosa".
14. "Se adicionó un volumen de 500 µL de alcohol isopropílico frío y dejó en refrigeración durante toda la noche. Luego se centrifugó a 14 000 rpm por 15 minutos".
15. "Se eliminó cuidadosamente el sobrenadante y enjuagó el sedimento con 1 mL de etanol al 70%".
16. "Se centrifugó por 10 minutos a 14 000 rpm, se eliminó el alcohol y dejó secar el sedimento a medio ambiente".

17. “Se resuspendió el sedimento con 40 μ L de la solución low TE (Tris HCl 50 mM, pH 8.0; EDTA 1 mM y se guardó en la nevera”.

3.4. Cuantificación de ADN genómico humano.

3.4.1. Por espectrofotometría.³⁹

Procedimiento:

1. “Se homogenizó lentamente las muestras de ADN, por diez veces, con la ayuda de una micropipeta de 100 μ L”.
2. “Se preparó el espectrofotómetro UV marca Eppendorf BioPhotometer plus, con la opción de cuantificar el ADN”.
3. “Para limpiar la superficie del adaptador donde se coloca la muestra, se depositó 10 μ L de agua bidestilada estéril, luego de un minuto, se retiró el agua utilizando papel tissue, para mejor limpieza se repitió este paso”.
4. “Nuevamente se depositó 10 μ L de agua bidestilada estéril sobre la superficie del adaptador, se colocó la tapa de factor 50 – Lp 0,2 mm y se presionó la opción BLANK (blanco) para calibrar y obtener cero de absorbancia (0.000 A°)”.
5. “Se retiró el agua utilizando papel tissue, luego se depositó 5 μ L de la muestra de ADN, se colocó la tapa de factor 50 – Lp 0,2 mm y se presiona la opción SAMPLE para ver el resultado de la cuantificación y pureza de ADN en la pantalla del equipo; luego se retiró la muestra con papel tissue”.
6. “Se repitió los pasos 4 y 5 para la cuantificación de cada muestra de ADN”.
7. “Terminada la cuantificación de ADN, se depositó 10 μ L de agua bidestilada estéril, sobre la superficie del adaptador, luego de un minuto, se secó con papel tissue y se apagó el equipo”.

3.4.2. Por electroforesis³⁹

Procedimiento:

1. “Para cada una de las muestras de ADN, se procedió a preparar volúmenes de carga para electroforesis en gel de agarosa al 1.0%” (ver tabla 1).
2. “Se cargó todo el contenido de las mezclas a cada uno de los pocillos del gel de agarosa al 1.0%, en su respectivo carril por cada muestra de ADN”.
3. “Luego se instaló la cámara de electroforesis a la fuente de poder y se dejó correr a 40 voltios por 40 minutos”.
4. “Se sumergió el gel de agarosa, en una fuente que contenía bromuro de etidio al 1%, durante veinte minutos y se realizó un enjuague suave con agua corriente; luego se visualizó por radiación en UV en el sistema de registrador

de imágenes marca Biometra UV solo TS. Adicionalmente se tomó fotografías con una cámara digital Canon 20x de 12,1 mega pixeles full HD, sobre un transiluminador UV marca Ultra Lum; en ambos casos para visualizar las bandas de ADN a diferentes concentraciones”.

Tabla 1. Preparación de diluciones de ADN a diferentes concentraciones para patrones de banda en electroforesis.

N° de carril en gel de agarosa	ADN stock (µL)	Buffer Loading 6X (µL)	Volumen de agua PCR (µL)	Volumen final de carga (µL)
1	4	1	7	12

3.5. Ensayos de la genotoxicidad *in vitro*, “método Tomasevich”:

Se desarrolló siguiendo el “método Tomasevich” propuesto por Miranda¹⁴; con las siguientes fases:

Fase I: Cuantificación y preparación de Stock de ADN genómico humano.

“El ADN genómico obtenido, fue cuantificado por espectrofotometría UV marca Eppendorf BioPhotometer plus; luego se preparó el stock a concentración de 1500 ng/µL en volumen final de 150 µL, para cada ensayo”.

Fase II: Prueba de genotoxicidad “*in vitro*” de ADN genómico humano.

“Se preparó las soluciones de látex a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100%, respectivamente con agua bidestilada estéril. Se acondicionó las soluciones para el ensayo de genotoxicidad *in vitro* de ADN genómico humano”, teniendo en cuenta lo siguiente:

Tabla 2. Preparación de las mezclas para ensayo de genotoxicidad *in vitro* de látex del *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” sobre ADN genómico humano.

Condiciones		Mezclas con látex para ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i>							
N° de tubo		1	2	3	4	5	6	7	8
							B	C	c/PK
Stock de ADN (1 500 ng/µL)	Volumen en µL	14	14	14	14	14	-	20	14
Látex de “planta de la vida”	Concentración (%)	5	10	25	50	100	100	-	100
	Volumen (µL)	6	6	6	6	6	20	-	6
Proteínasa K		-	-	-	-	-	-	-	3

Volumen total (μL)	20	20	20	20	20	20	20	23
Incubación en baño María a 37 °C	1 hora							

Fase III: Electroforesis para la detección de genotoxicidad

Preparación del “gel de agarosa a 1% y se dispuso en una cámara de electroforesis marca Biometra. Para el volumen de carga en los pocillos del gel de agarosa”, las cantidades utilizadas, se describen a continuación:

Tabla 3. Preparación de soluciones para el volumen de carga en los pocillos del gel de agarosa con soluciones de digestión de ADN genómico con látex del *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, para el ensayo de genotoxicidad *in vitro*.

Condiciones			Volúmenes de carga para ensayo de genotoxicidad <i>in vitro</i>								
Nº de carril del gel			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Muestra	Concen. (%)	Marcador molecular* 1kb	5	10	25	50	100	B	C	c/ PK	
	ADN- Látex	Volumen (μL)	5	8	8	8	8	8	8	8	8
Loading (μL)			2	2	2	2	2	2	2	2	2
Volumen total (μL)			7	10	10	10	10	10	10	10	10

*Marcador de tamaño molecular de 1Kb, marca England biolabs (1 kb PLUS TM DNA Ladder).

Seguidamente “se instaló la cámara de electroforesis a la fuente de poder y se programó el corrido a 40 voltios (V) durante 150 minutos”.

Fase IV: Radiación UV para la visualización de genotoxicidad.

Después “del tiempo de corrido electroforético, se sumergió el gel de agarosa en una fuente que contenía bromuro de etidio al 1% durante 20 minutos aproximadamente, se enjuagó con abundante agua corriente y luego realizó la lectura con radiación UV en el sistema de registrador de imágenes Biometra *UVsoloTS*, para visualizar las bandas y/o fragmentos de ADN productos de la genotoxicidad”.

Fase V: interpretación y clasificación del registro visual de genotoxicidad

“La escala de los valores numéricos correspondientes a los niveles de fragmentación del ADN como producto de la genotoxicidad, visualizados en el registro fotográfico, fueron basados en la clasificación del ensayo cometa propuesto por Speit (1995) y Collins (2004), en tesis de Larrea Poma”.

Tabla 4. Valoración numérica de la genotoxicidad según la fragmentación del ADN por registro visual.

Clase Valor numérico	Genotoxicidad
0	fragmentación de DNA < 5%
1	fragmentación de DNA entre 5 a 20%
2	fragmentación de DNA entre 20 a 40%
3	fragmentación de DNA entre 40 a 95%
4	fragmentación de DNA > 95%

Fuente: Larrea Poma M., 2007

Se ha realizado cuatro repeticiones de los ensayos de genotoxicidad, con las mismas condiciones en cada uno de los casos.

3.6. Análisis de datos

A partir de los resultados se utiliza la estadística descriptiva para poder presentar los resultados en tablas de una o dos, de igual manera se presentan los resultados en gráficos o fotografías. Se utilizó también el paquete estadístico SPSS versión 24 para identificar el daño genotóxico, para medir el porcentaje de fragmentación de más de dos muestras independientes se utilizó la prueba estadística de Kruskal-Wallis. Para determinar la significancia se tomó el valor de $p \leq 0,05$. Hernandez.²¹

IV. RESULTADOS

Tabla 5. “Tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios presentes en el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”. Ayacucho, 2019.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Alcaloides	Dragendorff	+++	Formación de precipitado
	Mayer	+++	Formación de precipitado
	Wagner	+++	Turbidez
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración amarilla
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde intenso
Quinonas	Borntrager	+++	Coloración roja
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	++	Precipitado naranja

Leyenda

- (-) : “Negativo”
- (+) : “Trazas”
- (++) : “Poco”
- (+++)
- (++++)

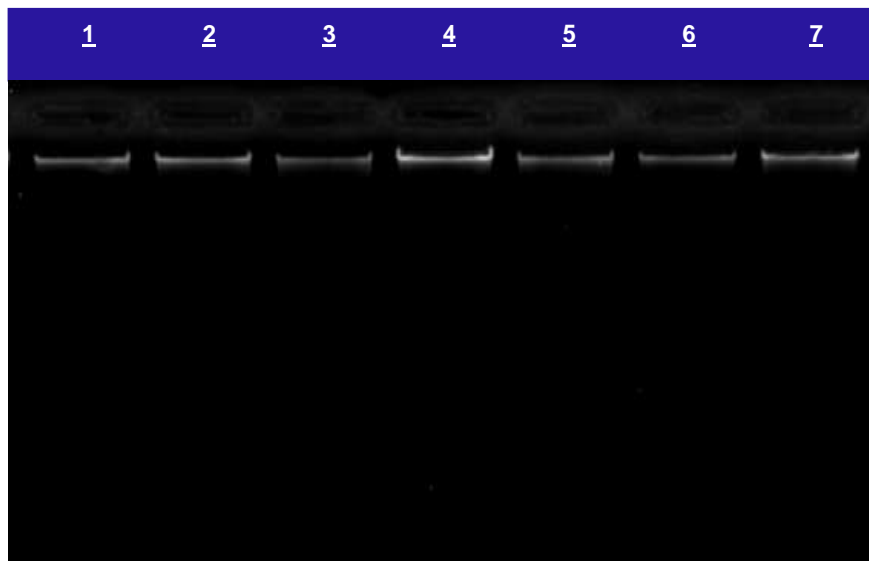


Figura 3. "Registro fotográfico de electroforesis en gel de agarosa al 1% del ADN genómico humano y coloreado con bromuro de etidio. CIBMB-UNSCH". Ayacucho 2019.

Leyenda:

"Volumen de carga: Muestra 4 μ L + loading 6X 1 μ L + 3 μ L agua PCR".

"Condiciones de electroforesis: 40 voltios durante una hora".

"Coloración de ADN: Bromuro de etidio al 1% durante diez minutos".

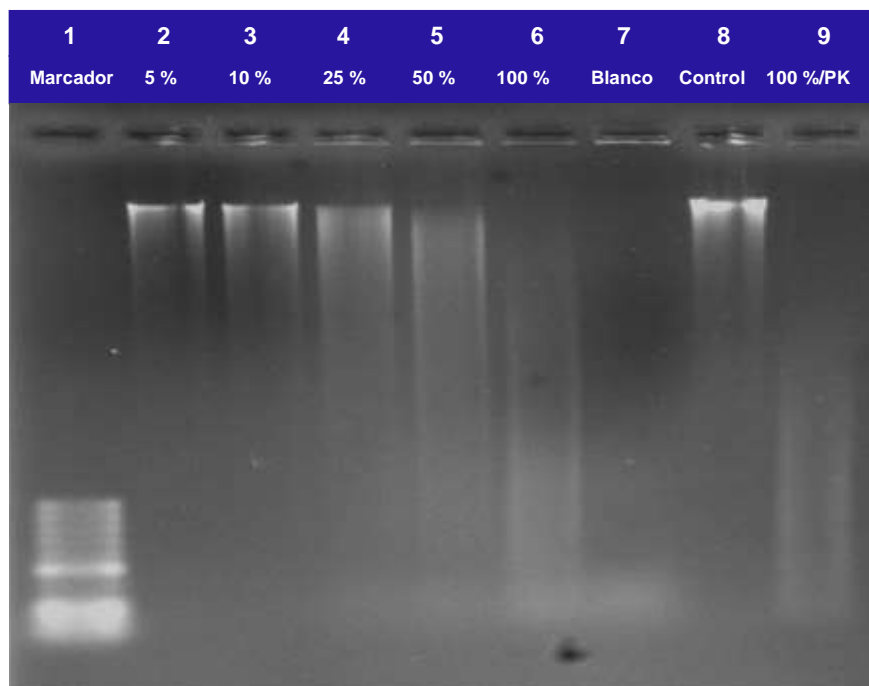


Figura 4: “Ensayo de genotoxicidad *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook” “planta de la vida” “a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH”. Ayacucho 2019.

Leyenda:

Carril Nº 1: Marcador de peso molecular

Carril Nº 2: Con 5%

Carril Nº 3: Con 10%

Carril Nº 4: Con 25%

Carril Nº 5: Con 50%

Carril Nº 6: Con 100%

Carril Nº 7: Látex puro (blanco)

Carril Nº 8: ADN puro (control)

Carril Nº 9: Con 100% de látex + proteinasa K

“Volumen de carga: Muestra (8 µL) + loading (1 µL) + agua PCR (1 µL) = 10 µL”.

“Condiciones de electroforesis: 30 voltios durante 3 horas”.

“Coloración de ADN: Bromuro de etidio al 1% durante 10 minutos”.

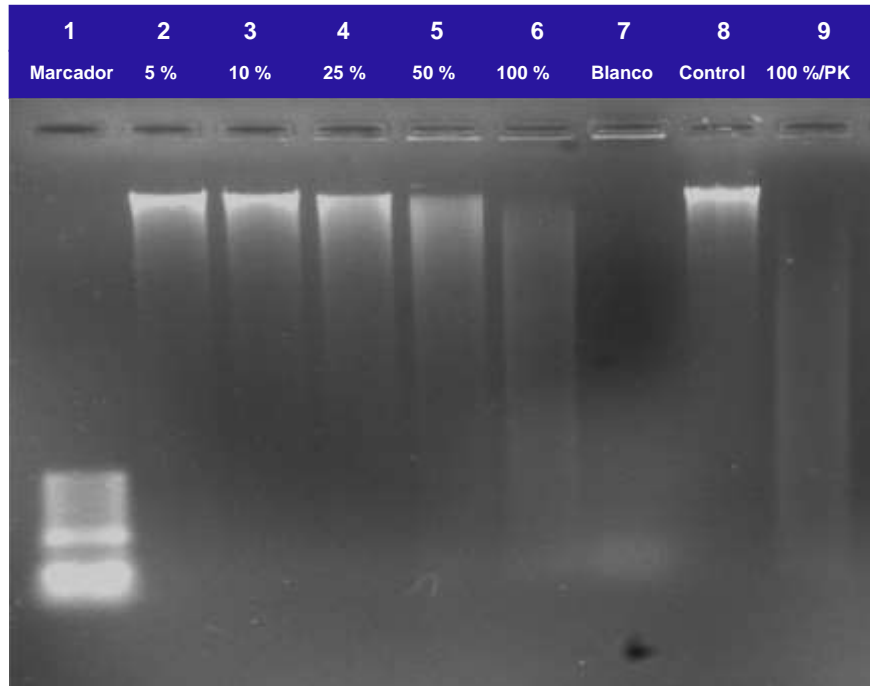


Figura 5: “Reproducibilidad del ensayo de genotoxicidad *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook” “planta de la vida” “a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH”. Ayacucho 2019.

Leyenda:

Carril Nº 1: Marcador de peso molecular

Carril Nº 2: Con 5%

Carril Nº 3: Con 10%

Carril Nº 4: Con 25%

Carril Nº 5: Con 50%

Carril Nº 6: Con 100%

Carril Nº 7: Látex puro (blanco)

Carril Nº 8: ADN puro (control)

Carril Nº 9: Con 100% de látex + proteinasa K

“Volumen de carga: Muestra (8 µL) + loading (1 µL) + agua PCR (1 µL) = 10 µL”.

“Condiciones de electroforesis: 30 voltios durante 3 horas”.

“Coloración de ADN: Bromuro de etidio al 1% durante 10 minutos”.

Tabla 6: “Valores numéricos del ensayo de genotoxicidad *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook” “planta de la vida” “a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH”. Ayacucho 2019.

Condiciones de la incubación		<i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”				
		Látex				
Temperatura °C	Tiempo Hora	Concentración en %.				
		5	10	25	50	100
37	1	2	2	3	4	4
		2	2	3	4	4
		1	2	3	4	4
		1	2	3	4	4

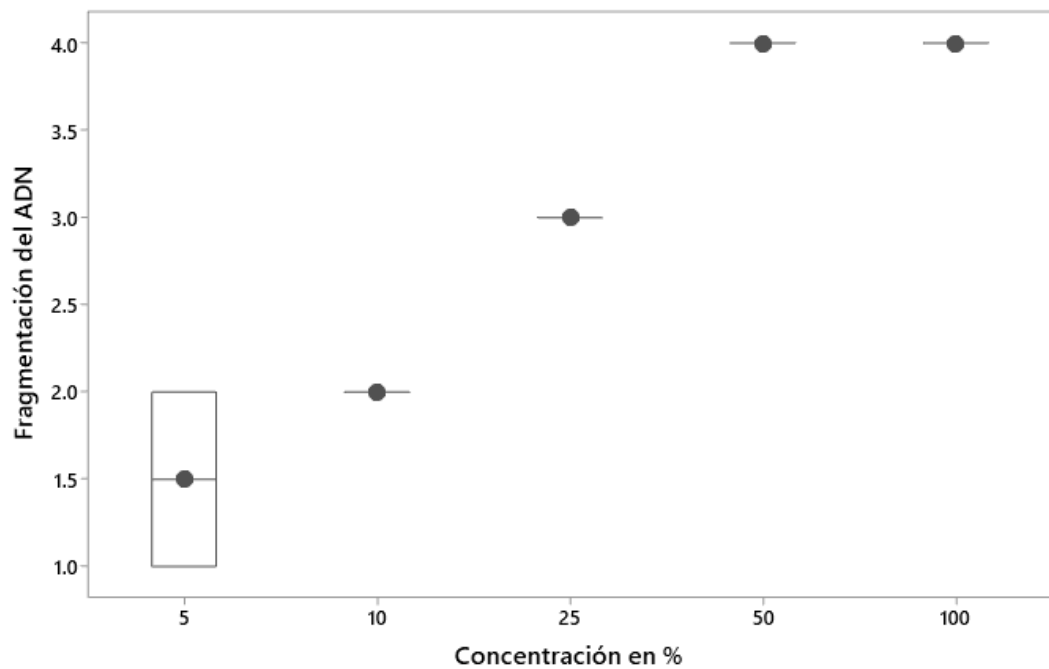


Figura 6. “Prueba de Kruskal-Wallis ($H=16,69$, $GL=4$, $P=0.002$); para determinar el grado de genotoxicidad *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook” “planta de la vida” “a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH”. Ayacucho 2019.

V. DISCUSIÓN

De acuerdo a los procedimientos realizados en la ejecución, los resultados a los que arribamos nos permiten determinar el efecto genotóxico “*in vitro*” del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”.

La tabla 5, reporta la identificación fitoquímica de los metabolitos secundarios en el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, resaltando la presencia de alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos y quinonas en regular cantidad (+++), mientras que, lactonas y/o cumarinas se detectaron en poca cantidad (++).

Nuestros datos coinciden con los reportes de otras investigaciones similares como el de Quispe⁶, que realizó el estudio sobre “efecto genotóxico *in vitro* de látex y extracto hidroalcohólico de semilla de *Carica papaya* L. frente a ADN genómico humano; en el látex logró identificar metabolitos secundarios como alcaloides y aminoácidos en abundantes concentraciones (+++), seguido de moderada concentración de lactonas y/o cumarinas (++) y leve presencia de saponinas (+); mientras que en extracto hidroalcohólico de la semilla identificó en abundantes concentraciones de fenoles y/o taninos y saponinas (+++); seguidos de alcaloides, azúcares reductores, aminoácidos, quinonas y glicósidos cardiotónicos (++); con leve concentración flavonoides, catequinas y triperpenosesteroides (+)”.

Similarmente, Montes⁷, evaluó el “efecto genotóxico *in vitro* del látex de plantas medicinales de uso dérmico *Argemone mexicana* L. (cardo santo) y *Taraxacum officinale* (diente de león), los metabolitos secundarios del látex detectado en *Argemone mexicana* L. (cardo santo) fueron: alcaloides, compuestos fenólicos y taninos en abundante cantidad, mientras que, el látex de *Taraxacum officinale* (diente de león) presentaron: compuestos fenólicos y taninos en abundante cantidad”.

Por tanto, los datos obtenidos en nuestro estudio, conducen a pensar que los alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos y las cumarinas, serían los principales responsables del efecto genotóxico de manera individual o colectiva en acción

sinérgica, puesto de manifiesto en el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, frente al ADN genómico humano.

La figura 3, corresponde al “registro fotográfico de la electroforesis en gel de agarosa al 1%, mostrando siete muestras de ADN genómico humano; la fluorescencia del bromuro de etidio nos indica la concentración y la integridad del ADN por la nitidez de las bandas, no se encuentran fragmentados; quedando todas las muestras idóneas para la realización de los ensayos de genotoxicidad” “*in vitro*”.

La imagen correspondiente a la figura 4, “pertenece al ensayo de genotoxicidad *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook (planta de la vida), frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora, observándose que, a concentraciones de 25, 50 y 100% (carriles 4, 5 y 6, respectivamente), el ADN ha sido fragmentado en su totalidad, contrastando con la banda de ADN del carril 8 que desempeña la función de control y comparado también con el carril 1, que corresponde al marcador de tamaño molecular. El carril 7 corresponde al blanco en el que no se observa ninguna banda de ADN, demostrando que, en el látex puro no hay presencia de ADN. Estos resultados, que revelan una potente actividad genotóxica del látex en estudio, nos conducen a repetir estos ensayos”.

La imagen 5, “pertenece a la fotografía de la reproducibilidad del ensayo de genotoxicidad *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook (planta de la vida) frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora, a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100% de látex, en los carriles 2, 3, 4, 5 y 6 respectivamente, observándose que las bandas de ADN va disminuyendo en tamaño e intensidad de refringencia a medida que se incrementa la concentración del látex, comparando a cada uno de ellos con la refringencia del ADN control del carril 8; por otro lado, el carril 7 que corresponde al blanco, látex puro, no muestra banda de ADN. El carril 9 corresponde al tratamiento del ADN con látex puro más proteinasa K, para confirmar el efecto genotóxico, visualizándose la degradación total del ADN demostrando de ésta manera que el efecto degradativo es por acción de los metabolitos secundarios y no por acción de enzimas nucleasas de la misma planta que podrían estar presentes en el látex, de ser así, éstas enzimas estarán degradadas por acción de la enzima proteinasa K. Igualmente, las bandas de ADN de todos los carriles, pueden ser comparados con las bandas del marcador de tamaño molecular que ha corrido en el carril 1”.

Nuestros resultados coinciden con el estudio realizado por Quispe⁶, que concluye que; “el látex y el extracto hidroalcohólico de semilla, presentan efecto genotóxico *in vitro* frente a ADN genómico humano, precisando que el látex de papaya desde 5% al 100% de concentración, presenta un potente efecto genotóxico frente al ADN genómico humano; mientras que, el extracto hidroalcohólico manifiesta una tendencia inversa, a mayor concentración del extracto la fragmentación del ADN es menor; y a menor concentración del extracto (5 mg/mL y 10 mg/mL), la fragmentación del ADN es mayor”.

La tabla 6, reporta los valores numéricos de cuatro repeticiones de ensayo de genotoxicidad *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook (planta de la vida) a “concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano incubado a 37°C durante una hora; en todos los casos se observa una tendencia muy similar, que ratifica primero la reproducibilidad del método con el que se ha realizado los ensayos y en segundo término el comportamiento del látex de la (planta de la vida) frente al ADN genómico humano. Por lo que, tomando como referencia lo expresado en la tabla 3 de la clasificación de los niveles de fragmentación del ADN por registro visual”, se observa que con látex a 5%, la fragmentación se presentó entre 5 a 20% y de 20 a 40% del ADN, a concentración de 10% de látex todos fragmentaron entre el 20 a 40% del ADN, con 25% de látex fragmentó entre 40 a 95% del ADN, mientras que, a 50 y 100 % de látex respectivamente, han fragmentado a más de 95% del ADN genómico humano.

Consecuentemente, tomando los datos de la tabla 6, para tener una inferencia se utilizó la prueba estadística de Kruskal – Wallis, haciendo la comparación del grado de fragmentación del ADN genómico humano tratado expresado en porcentaje (%) con la concentración del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” también presentado en porcentaje (%), mostrado en la figura 6. El porcentaje de fragmentación del ADN genómico humano tratado, revela el grado de genotoxicidad; formulándose como hipótesis nula (H_0) que todas las medianas son iguales, quiere decir que las diferentes concentraciones del látex, tienen el mismo efecto; y como hipótesis alterna (H_1) que al menos una mediana es diferente, es decir que al menos una concentración del látex tiene diferente efecto. Los resultados en la figura 6, reportan que para $GL=4$ y $H=16.69$, el valor de $P=0.002$; por tanto, se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 , porque P resultó menor que 0.05. En consecuencia, el grado de fragmentación el ADN genómico humano

tratado, depende de la concentración del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”; por otro lado, es preciso resaltar que las concentraciones de 100, 50 y 25 % del látex, no difieren significativamente en la fragmentación de ADN tratado.

Los datos del presente estudio, son semejantes a los reportados por Montes⁷, “que evaluó el efecto genotóxico *in vitro* del látex de plantas medicinales de uso dérmico *Argemone mexicana* L. (cardo santo) y *Taraxacum officinale* (diente de león) Comprobó que el efecto genotóxico del látex de *Argemone mexicana* L. (cardo santo) desde 10% al 100% de concentración, presentó un potente efecto genotóxico frente al ADN genómico humano, fragmentándolo en 100%, mientras que el látex de *Taraxacum officinale* (diente de león) muestra que las concentraciones de 50% y 100% de látex presentaron fragmentación ADN en 100% y las de 10% y 25%, manifestaron fragmentar el ADN genómico humano entre 40% a 95%, siendo esta la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$)”.

Nuestros resultados revelan que, el látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, presenta una potente actividad genotóxica “*in vitro*”, sumándose una propiedad fitoterapéuticas más de ésta planta de uso medicinal, cuyo efecto atribuimos a la actividad realizada por los metabolitos secundarios presentes en el látex de ésta planta, en este sentido, Quintana y Col²⁵, determinaron el efecto cicatrizante de látex del *Synadenium grantii* Hook y *Croton lechleri* en ratones albinos (*Mus musculus*). Comparando el efecto cicatrizante de ambos látex, demostraron que el látex *Synadenium grantii* Hook al 75% es más eficaz que *Croton lechleri* al 100 % en heridas producidas a ratones albinos (*Mus musculus*). Por otro lado, Monroy y col⁵, “realizaron el estudio de citotoxicidad y genotoxicidad en células expuestas *in vitro* a glifosato: células humanas normales (GM38) y células humanas de fibrosarcoma (HT1080); evidenciaron daño en el ADN después del tratamiento con glifosato en concentraciones de 4,0 a 6,5 mM para las células GM38 y de 4,75 a 5,75 mM para las células HT1080. Concluyeron que el mecanismo de acción del glifosato no se limita únicamente a las plantas, sino que puede alterar la estructura del ADN en otros tipos de células como son las de los mamíferos”.

Debemos entender que estos efectos no solo presentan las plantas, sino también otros compuestos químicos, En éste término, Nikoloff¹⁵, “realizó estudios de genotoxicidad de herbicidas de importancia agroeconómica en Argentina,

mediante la exposición de larvas de *R. arenarum* a Twin Pack Gold® y Rainbow®; presentaron evidencia concreta de que el herbicida FLC debe ser tenido en cuenta como un agente inductor de daño genotóxico y citotóxico”, Igualmente, Butinof y col⁴, “realizaron el Biomonitoreo en exposición a plaguicidas y su aporte en vigilancia epidemiológica en agroaplicadores en Córdoba, Argentina. Evidenciaron que los daños del ADN se expresaron como porcentaje de células dañadas, que incluye todas las células con cometa bajo, moderado, elevado y extremo. Además, utilizaron el índice de daño ponderado”.

Así mismo, Gadano y col³, evaluaron la genotoxicidad *in vitro* de la planta medicinal *Chenopodium ambrosioides* L. “paico”, el daño genético fue inducido por decocción e infusión de esta planta que se analizaron en diferentes concentraciones (1, 10, 100, 1000 µg/mL), mediante la adición del extracto a cultivos de células de linfocitos humanos. Los puntos finales evaluados fueron aberraciones cromosómicas (AC), intercambios de cromátidas hermanas (SCE), cinética de proliferación celular (CPK) e índices mitóticos (MI). Los resultados mostraron que una exposición a ambas preparaciones de paico generó una disminución en el índice mitótico.

En tal sentido; concluyendo, los efectos genotóxicos de la “planta de la vida” tiene que ver con un conjunto de metabolitos secundarios que son parte del látex de las plantas medicinales, en nuestro estudio de la *Synadenium grantii* “planta de la vida” los alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos, quinonas, lactonas y/o cumarinas. De igual manera la actividad genotóxica de la *Synadenium grantii* “planta de la vida”, no se da por efecto de las nucleasas, las nucleasas del látex fueron destruidas en el periodo de incubación por la enzima proteinasa K durante los ensayos realizados.

VI. CONCLUSIONES

- El látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” presenta efecto genotóxico *in vitro* sobre el ADN genómico humano.
- Los metabolitos secundarios identificados en látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, fueron alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos y quinonas en regular cantidad (+++), mientras que, lactonas y/o cumarinas se detectaron en poca cantidad (++) .
- El látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” a concentraciones de 5% fragmentó entre 5 a 40% del ADN, a concentración de 10% fragmentó entre el 20 a 40% del ADN, con 25% de látex fragmentó entre 40 a 95% del ADN, mientras que, a 50 y 100 % de látex, han fragmentado a más de 95% del ADN genómico humano.

VII. RECOMENDACIONES

- Ampliar estudios de genotoxicidad del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” con metabolitos secundarios fraccionados como alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos, quinonas y lactonas y/o cumarinas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Monroy C, Cortés A, Sicard D, Groot H. Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas *in vitro* a glifosato. [Revista en Internet]. 2005-09-01. [acceso 25 de junio de 2019]. Vol. 25(3). Disponible en:<https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1358>.
2. Marca Yupanqui P. Evaluación preliminar de la genotoxicidad *in vitro* del extracto etanólico y zumo de *Allium sativum* L. “ajo” frente a ADN de *Staphylococcus sp.* [Tesis de pregrado]. Ayacucho – Perú: Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga; 2017.
3. Docampo P, Cabrerizo S, Paladino N, Parreño M, Ruffolo V, Muttia O. Eritrodermia secundaria a planta productora de látex (*Synadenium grantii*). Arch Argent Pediatr. [Revista en Internet]. 2010. [acceso 27 de junio de 2019].108(6):126-129.Disponible en:<https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2010/v108n6a14.pdf>.
4. Gadano A, Gurni A, López P, Ferraro G, Carballo M. *In vitro* genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1966-[fecha de acceso 08 de junio de 2019]. Disponible en:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12020922>.
5. Butinof M, Fernández R, Lerda D, Lantieri M, Filippi L, Díaz M. Biomonitoring in exposure to pesticides and its contribution in epidemiological surveillance in agroapplicators in Córdoba, Argentina. ScienceDirect. [Revista en Internet]. 2019 mayo-junio. [acceso 22 de junio de 2019]. Vol. 33. Disponible en:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213911118300165#abs0005>.
6. Quispe Meza C. Efecto genotóxico *in vitro* de látex y extracto hidroalcohólico de semilla de *Carica papaya* L. “papaya” frente a ADN genómico humano. [Tesis de pregrado]. Ayacucho – Perú: Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga; 2016.
7. Montes Enciso M. Efecto genotóxico *in vitro* del látex de plantas medicinales de uso dérmico *Argemone mexicana* L. “cardo santo” y *Taraxacum officinale*

- “*diente de león*” [Tesis de pregrado]. Ayacucho – Perú: Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga; 2017.
8. Nikoloff Noelia. Genotoxicidad de herbicidas de importancia agroeconómica en Argentina [tesis doctoral]. Argentina: Universidad Nacional de la Plata; 2013.
 9. Quintana De La Cruz V., Santamaría Olivos C. Efecto cicatrizante del látex *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) en ratones albinos (*Mus musculus*). [Tesis de pregrado]. Lima – Perú: Universidad maría auxiliadora, 2019.
 10. Grandes G. *Synadenium Grantii Hook* la planta anti-cáncer [base de datos en Internet]. Ayacucho: Cenic salud; 2011-[fecha de acceso 27 de junio de 2019]. Disponible en: <https://cenicsalud.jimdo.com/cancer/curas-desarrolladas/remedio-synadenium-gh/>.
 11. Costa L, Pinto R, Minozzo B, Kozlowski J; Campos L; Silva R et al. Actividad antiulcerosa del látex *Synadenium grantii*. Revista Brasileira De Farmacognosia [revista en Internet] 2012 septiembre-octubre. [acceso 28 de junio de 2019]; 22(5). Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102695X2012005000050&script=sci_arttext&tlng=pt.
 12. Wagner H, Blatt S. Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas. 2ª ed. Berlín: Springer, 1996.
 13. Miranda, M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Cuba: Universidad de la Habana, 1996.
 14. Ayala Pérez E. Efecto genotóxico *in vitro* de plantas medicinales antibacterianas *Spartium junceum* L. “retama”, *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” y *Eucaliptus globulus* Labill “eucalipto”. [Tesis de pregrado]. Ayacucho – Perú: Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga; 2013.
 15. MirGlosario de términos Toxicológicos. Asociación Española de Toxicología (AETOX).
 16. Paz C, Creus A, Oriol C, Leone P. Genética Toxicológica y Carcinogénesis. Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2002.
 17. INS. Manual de Procedimientos de Electroforesis para Proteínas y ADN [base de datos en Internet]. Lima: INS; 2003- [fecha de acceso 10 de julio

- de 2019]. Disponible en:
https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/38.pdf
18. Padilla C, Diez J, Martínez E, Bárcena J, Concepción A. Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico. Campus Universitario de Rabanales [revista en Internet] 2010 agosto-noviembre. [acceso 16 de julio de 2019]; 17(1). Disponible en:
[https://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimicabiolmol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGARO SA.pdf](https://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimicabiolmol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGARO%20SA.pdf).
 19. Bello J, López A. Fundamentos de Ciencia Toxicológica. Madrid: Díaz de Santos; 2001.
 20. Lodish, Berk, Matsudaria, Káiser. Biología celular y molecular. 5^{ta} edición. Argentina: Médica panamericana. 2005
 21. Guzmán Cano A. Estudio del potencial genotóxico del E-5842, un fármaco experimentalmente antipsicótico con afinidad por el receptor sigma, y del mecanismo de inducción de eritrocitos micronucleados en ratón mediante hipotermia [tesis doctoral]. Barcelona: Balleterra, Universidad Autónoma de Barcelona; 2008.
 22. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. Quinta edición. Perú. Editorial Mc Graw Hill. 2010.
 23. Ataucusi Ore V. Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcoholico de hojas y tallos de *Clinopodium brevicalex* Epl. "urqu muña" frente a ADN genómico humano. [Tesis de pregrado]. Ayacucho – Perú: Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga; 2019.
 24. Lock O. Investigación Fotoquímica. 2^a ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994.
 25. Oré Martínez E. Actividad antihelmíntica *in vitro* del extracto acuoso e hidroalcohólicos de las hojas de *Synadenium grantii* Hook "planta de la Vida". [Tesis de pregrado]. Ayacucho – Perú: Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga, 2014.
 26. Capacidad anti *Candida albicans* de los extractos de hojas de *Synadenium grantii* Hook "lechero africano". ". [Tesis de pregrado]. Ayacucho – Perú: Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga, 2012.

27. Castillo Huanca R. Efecto hepatoprotector del látex de *Synadenium grantii* en *Oryctolagus cuniculus* sometidos a intoxicación por Paracetamol, Sullana - 2018[Tesis de pregrado]. Sullana – Perú: Universidad San Pedro Filial, 2018.
28. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Cuba: Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y alimentos, 2000.
29. Klaassen C, Watkins J, Casarett, Doull. Fundamentos de toxicología. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España; 2005.
30. Hernández, Moreno, Zaragoza, Porres. Tratado de medicina Farmacéutica. España: Médica panamericana, S.A. 2011.
31. Abril A, Bárcena A, Fernández E, Galván A, Jorrín J, Peinado J et al. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Universidad de Córdoba [revista en Internet] 2010 mayo-julio. [acceso 17 de julio de 2019]; 8(1). Disponible en: https://www.uco.es/dptos/bioquimicabiolmol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf.
32. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). Curso de Toxicología Ambiental. Bogotá (Colombia); 2011.
33. Carballo M. Centro de Análisis Programas Sanitaris (CAPS). Biomarcadores de genotoxicidad. Barcelona Universidad de Buenos Aires, 2011.
34. Klaassen C, Watkins J, Casarett, Doull. Fundamentos de toxicología. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, 2005.
35. Bello J, López A. Fundamentos de Ciencia Toxicológica. Madrid: Díaz de Santos; 2001.
36. Herrera F, De La Peña E. Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Evolución de mutagenicidad y genotoxicidad. Madrid, 2004.
37. Miranda T, Valer G. Protocolos de Biología Molecular. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga - Ayacucho: Editorial Multiservicios Infante EIRL; 2013.
38. Sanchez A, Fonseca G, capiro N, fernandez D. Propuesta de ruta crítica para la evaluación genotóxica de plantas medicinales en cuba. Revista cubana en farmacia. 34, 34-43.2000.

39. Ramírez M. Mutágenos, químicos, físicos y biológicos. Guadalajara.
Genética Ambiente y Salud. Universidad de Guadalajara; 2001

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica de *Synadenium grantii* Hook
"planta de la vida". Ayacucho, 2019.

CONSTANCIA

LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Romel Alcides, MEDINA HUAMÁN**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía el siguiente:

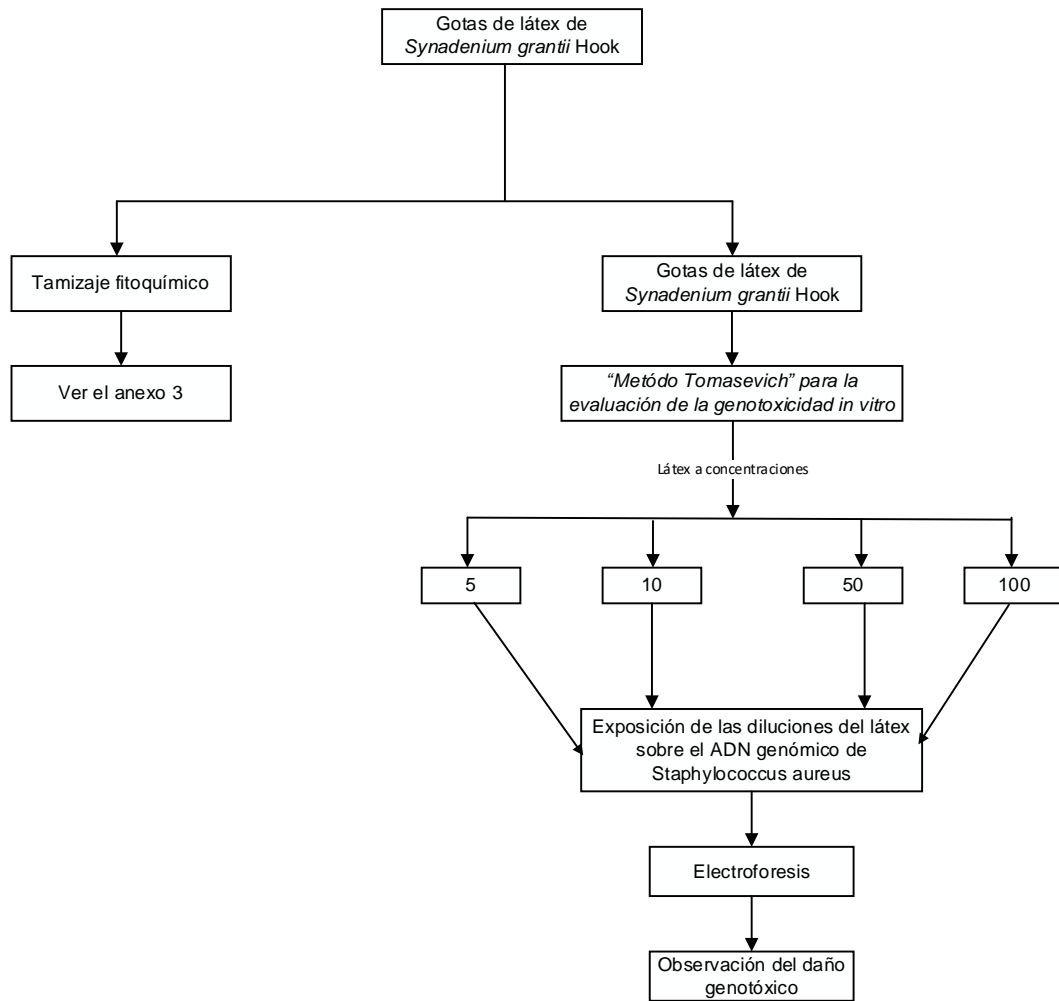
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	EUPHORBIALES
FAMILIA	:	EUPHORBIACEAE
GÉNERO	:	Sinadenium
ESPECIE	:	<i>Synadenium grantii</i> Hook.
N. V.	:	"planta de la vida."

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 17 de Julio del 2019


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2. procesos del tamizaje fitoquímico y la evaluación de la genotoxicidad de *Synadenium grantii* Hook, a partir del látex.



Anexo 3

Tabla 7. Características producidas en los ensayos para la identificación de los metabolitos secundarios.

Metabolitos Secundarios	Ensayos con Reactivos	Observación
Alcaloides	Dragendorff	Hay formación de precipitado en todas las reacciones.
	Mayer	
	Hager	
	Wagner	
Lactonas y Cumarinas	Baljet	Formación de una coloración roja.
Flavonoides	Shinoda	Hay coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo en la fase amílca.
Quinonas	Borntrager	Si es positivo la fase amoniaca es de color rojizo o rosada.
Catequinas	Catequinas	Coloración verde carmelita a luz UV, indica un ensayo positivo.
Saponinas	Espuma	Si es positivo hay formación de espuma en la superficie.
Azúcares reductoras	Benedict	Si es positivo hay formación de precipitado rojo ladrillo.
Taninos y Fenoles	Cloruro Férrico	Formación de una coloración negruzca.
Aminas (aminoácidos)	Ninhidrina	Hay coloración violeta.
Cardenólidos	Kedde	Coloración violácea.

Fuente: Miranda M., 2000

Anexo 4. Rama de la “planta de la vida” para la obtención directa de látex



Anexo 5. Observación de la calidad y sanidad de la muestra



Obtención directa del látex de la “planta de la vida”.



Anexo 6. Depositando el látex en tubo eppendorf estéril



Microcentrifugación en preparación de las diluciones de látex



Anexo 7. Ensayo de genotoxicidad del látex de la “planta de la vida” frente al ADN genómico humano.



Preparación de la muestra con el buffer de corrido para electroforesis



Anexo 8. Sembrado de las soluciones de digestión en gel de agarosa para electroforesis.



Corrido de electroforesis a 40 voltios durante tres horas.



Anexo 9. Foto documentación e interpretación de los resultados de los ensayos de genotoxicidad de la “planta de la vida” frente al ADN humano.



Anexo 10. Valores numéricos del ensayo genotóxico *in vitro* del látex de” *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 %, respectivamente, frente a ADN genómico humano incubado a 37°C durante una hora. CIBMB-UNSCH. Ayacucho 2019

Condiciones de la incubación		<i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”				
		Látex				
Temperatura °C	Tiempo Hora	Concentración en %.				
		5	10	25	50	100
37	1	2	2	3	4	4
		2	2	3	4	4
		1	2	3	4	4
		1	2	3	4	4

Cuatro repeticiones.

Anexo 11. Prueba de Kruskal – Wallis para evaluar el grado de genotoxicidad de látex de” *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida”, según la concentración de látex, frente a ADN genómico humano, incubado a 37°C durante una hora. Ayacucho, 2019.

Prueba

Hipótesis nula H₀: Todas las medianas son iguales
 Hipótesis alterna H₁: Al menos una mediana es diferente

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	4	16.69	0.002

Variable	Concentración en %	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Fragmentación del ADN	5	4	1.5	0.58	1.5	16.69	0.001
Fragmentación del ADN	10	4	2	0	2		
Fragmentación del ADN	25	4	3	0	3		
Fragmentación del ADN	50	4	4	0	4		
Fragmentación del ADN	100	4	4	0	4		

Trat.	Medianas	Ranks
100	4	16.5 A
50	4	16.5 A
25	3	10.5 A B
10	2	5.5 B
5	1.5	3.5 B

Las concentraciones de 100, 50 y 25 no difieren significativamente en la fragmentación de ADN, (ver Figura 6).

Anexo 12. Matriz de consistencia

Tabla 8. Efecto genotóxico *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano, Ayacucho 2019.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Efecto genotóxico <i>in vitro</i> del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano. Ayacucho, 2019.	¿Tendrá efecto genotóxico <i>in vitro</i> el látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el efecto genotóxico <i>in vitro</i> en el látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” Caracterizar el efecto de la genotóxicidad del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” mediante ensayos <i>in vitro</i> sobre el ADN genómico humano detectado mediante electroforesis. 	El látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” de uso anticancerígeno o presenta efecto genotóxico <i>in vitro</i> , frente a ADN genómico humano.	<p>Variable Independiente: Látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”</p> <p>Indicador: Concentración porcentual (%) del látex. 5%, 10%, 50% y 100%</p> <p>Variable Dependiente: Efecto genotóxico frente a ADN genómico humano.</p> <p>Indicador: Grado de fragmentación del Ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico humano. Escala de valoración numérica: 0, 1, 2, 3 y 4.</p>	<p>Clasificación taxonómica Ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist A., 1988</p> <p>Descripción Botánica es un arbusto suculento de 4-5 m de altura, con los tallos cilíndricos, verdes, inermes, con marcas de las hojas, carnosos al principio, tornándose algo leñosos con el tiempo, con látex; corteza grisácea, escamosa.²</p> <p>Hábitat y Distribución Es una planta originaria de Sudáfrica, que fueron traídos por viajeros de Europa y África en tradujeron en Sur América llegando a Brasil, luego Perú por el río Amazonas en el XX y así fue adaptándose y distribuyéndose en el resto del continente y en el Perú.⁸</p> <p>Composición Química, Según las reacciones colorimétricas específicas por Wagner y Bladt, 1996 demostró la presencia de terpenos, compuestos fenólicos (taninos hidrolizables y condensados, cumarinas y antraquinonas) y sustancias insaponificables en extracto de corteza cruda de <i>Synadenium grantii</i>, mientras que en el látex solo se confirmó la presencia de terpenos.^{9,10}</p> <p>Usos tradicionales En la medicina popular, las personas usan su látex para tratar enfermedades neoplásicas y trastornos gástricos como úlceras pépticas y gastritis.⁹</p> <p>Genotoxicidad hace referencia a cualquier tipo de daño causado sobre el material genético.¹⁹</p> <p>Electroforesis en Gel Espectrometría</p>	<p>Tipo de Investigación. Básico- Experimental.</p> <p>Régimen de Investigación. Libre</p> <p>La población estará constituida por todas las plantas de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida”, que crece en los diferentes pisos ecológicos del distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga de la región de Ayacucho, Perú.</p> <p>La muestra una planta de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” en buenas condiciones fenotípicas.</p> <p>Diseño de investigación: Corresponde a un estudio de transaccional experimental (transversal - experimental), pues que los datos se tomaran en un determinado momento y una sola vez.</p> <p>Diseño metodológico: Para la evaluación del efecto de genotoxicidad <i>in vitro</i> del látex de <i>Synadenium grantii</i> Hook “planta de la vida” se realizará siguiendo la metodología propuesto por Miranda¹⁴; que consta de V fases:</p> <p>Análisis de Datos: El daño genotóxico se evaluará mediante el paquete estadístico SPSS, se utilizará la prueba de Kruskal-Wallis para medir el porcentaje de fragmentación de más de dos muestras independientes, es decir concentraciones del látex en estudio. El valor de $p \leq 0,05$, se considerará como el nivel estadísticamente significativo.</p>

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUDESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICADOCENTES INSTRUCTORES
DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD PRIMERA INSTANCIA DE TRABAJO DE TESIS

El suscrito docente – instructor responsable de operativizar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de tesis de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica designado por Resolución Decanal N° 0331 – 2022 – UNSCH – FCSA/D de fecha 03 de junio de 2022, deja constancia que el trabajo de tesis titulado: **“Efecto genotóxico *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano. Ayacucho, 2019”**


Autor: Bach. Romel Alcides MEDINA HUAMÁN

Asesor: Profesor Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH

Ha sido sometido al análisis del sistema antiplagio TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **23 % de Índice de Similitud**.

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga es procedente conceder **la Constancia de Originalidad en Primera Instancia**.

Ayacucho, 18 de julio de 2022

Firmado
digitalmente por
 Mg Enrique Javier
AGUILAR FELICES
Fecha: 2022.07.18
10:45:47 -05'00'

Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES
Docente – Instructor



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(09-2022-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, Directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Efecto genotóxico in vitro del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano. Ayacucho, 2019.

Presentado por el **Bach. MEDINA HUAMÁN, Romel Alcides**

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **23% índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 25 de julio del 2022



Firmado
digitalmente por
MARICELA LÓPEZ
SIERRALTA

Fecha: 2022.07.25
14:24:50 -05'00'

Mg. Maricela López Sierralta
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Efecto genotóxico in vitro del látex de *Synadenium grantii* Hook “planta de la vida” frente a ADN genómico humano.

Ayacucho, 2019

por Romel Alcides Medina Huamán

Fecha de entrega: 18-jul-2022 10:29a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1872199182

Nombre del archivo: Borrador_de_tesis_original.pdf (2.24M)

Total de palabras: 13587

Total de caracteres: 71461

Efecto genotóxico in vitro del látex de *Synadenium grantii* Hook "planta de la vida" frente a ADN genómico humano.

Ayacucho, 2019

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%

INDICE DE SIMILITUD

22%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	11%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	3%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	gacetasanitaria.org Fuente de Internet	1%
5	medicandomendigando.blogspot.com Fuente de Internet	1%
6	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	www.researchgate.net Fuente de Internet	1%
8	Guzmán Cano, Antonio. "Estudio del potencial genotóxico del E-5842, un fármaco"	1%

experimental antipsicótico con afinidad por el receptor sigma, y del mecanismo de inducción de eritrocitos micronucleados en ratón mediante hipotermia", Bellaterra : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2009

Fuente de Internet

9

slideplayer.es

Fuente de Internet

1 %

10

vsip.info

Fuente de Internet

<1 %

11

ri.ues.edu.sv

Fuente de Internet

<1 %

12

docshare.tips

Fuente de Internet

<1 %

13

1library.co

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo