

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

UNIDAD DE POSGRADO

**Efecto Preventivo del extracto etanólico de las hojas de
Annona muricata L. (Guanábana) sobre el síndrome
metabólico inducido en ratas**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias de la Salud

AUTOR

Christian Manuel Palomino Flores

ASESOR

Jorge Luis Arroyo Acevedo

Lima – Perú

2016



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIDAD DE POST GRADO
SECCIÓN DOCTORAL



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR


En la ciudad de Lima, a los veinte días, del mes de Setiembre del año dos mil dieciséis, siendo las **11.00am.**, ante el Jurado de Sustentación, bajo la Presidencia del **Dr. SERGIO GERARDO RONCEROS MEDRANO**, y los Miembros del mismo, los Doctores:

| | |
|---|-------------------|
| DR. SERGIO GERARDO RONCEROS MEDRANO | PRESIDENTE |
| DRA. RUDI AMALIA LOLI PONCE | MIEMBRO |
| DRA. ÁNGELA ROCÍO CORNEJO VALDIVIA DE ESPEJO | MIEMBRO |
| DR. CÉSAR HUGO GUZMÁN VARGAS | MIEMBRO |
| DR. JORGE LUIS ARROYO ACEVEDO | ASESOR |

El postulante al Grado de Doctor en **Ciencias de la Salud**, Magíster en **Farmacología** con mención en **Farmacología Experimental**, Don **Christian Manuel Palomino Flores**, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su Tesis titulada: **Efecto Preventivo del extracto etanólico de las hojas de Annona muricata L.(guanábana) sobre el síndrome metabólico inducido en ratas**, para optar el Grado Académico de Doctor.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, después de la cual obtuvo la siguiente calificación **B Muy Bueno 18** a continuación el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad de Medicina, proponga que se le otorgue al Magister el Grado Académico de **Doctor en Ciencias de la Salud**.

Se expide la presente Acta en tres originales y siendo las 12.00 m. horas se da por concluido el acto académico de sustentación.


DRA. **RUDI AMALIA LOLI PONCE**
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


DRA. **ÁNGELA ROCÍO CORNEJO VALDIVIA DE ESPEJO**
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


DR. **CÉSAR HUGO GUZMÁN VARGAS**
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


DR. **JORGE LUIS ARROYO ACEVEDO**
ASESOR DE LA TESIS DE SUSTENTACIÓN


DR. **SERGIO GERARDO RONCEROS MEDRANO**
PRESIDENTE DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

TJFRS/tsg

DEDICATORIA

A DIOS por sobre todas las cosas

Que a lo largo de mi vida puso retos y ángeles en mi camino que me ayudaron a formar mi carácter y salir adelante.

Por cada día de vida y salud que me das para seguir mejorando y alcanzar las metas trazadas con dedicación, disciplina y mucha fe en ti.

No nos debemos conformar a las maneras del mundo, sino debemos renovar nuestra mente para poder comprobar cuál es la buena voluntad de Dios, agradable y perfecta. (Romanos 12:2).

A mi madre

Por todo su amor, cariño y ejemplo que me otorga día a día, el cual me ha servido a no claudicar ante las diferentes dificultades que se presentan a lo largo de mi vida.

Por su ser una persona que siempre me inspira hacer lo correcto en la vida y ser agradecido por todo lo que Dios nos da.

Gracias Mama por todo tu ayuda y sé que siempre estarás para orientarme.

A mi compañera de toda la vida

Por darme su apoyo, ánimos y mostrarme siempre lo positivo de la vida para alcanzar metas profesionales y personales. Además, darme la mayor ilusión de formar una nueva vida y hacerme sentir más vivo.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento muy especial e impagable al **DOCTOR JORGE LUIS ARROYO ACEVEDO** por ser todo un ejemplo a seguir en lo personal y profesional, el haberme otorgado tiempo y orientación para culminar el trabajo de investigación.

Por sus palabras de motivación que me han sido útiles para seguir avanzando y aceptar los reveses de la existencia pero solo para tomar impulso y proseguir hacia adelante.

Agradecer a todo ***el personal del laboratorio y amigos*** que estuvieron involucrados y brindaron su apoyo para alcanzar esta meta.

ABREVIATURAS

| | |
|-----------------------|--|
| DPP-4 | Dipeptidil peptidasa IV |
| EEA muricata L | Extracto Etanólico de Hojas de Annona |
| GIP | Polipéptido insulino-trópico |
| GLP-1 | Péptido similar al glucagon 1 |
| HDL-c | Lipoproteína de alta densidad |
| LDL-c | Lipoproteína de baja densidad |
| GLUT | Transportador de glucosa |
| PAD | Presión arterial diastólica |
| PAD | Presión arterial sistólica |
| PAM | Presión arterial media |
| PEPCK | Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa |
| PPAR peroxisomales | Receptor activado por proliferadores |
| PPAR α | Proliferador del peroxisoma activado tipo alfa |
| PPAR γ | Proliferador del peroxisoma activado tipo gama |
| SGLT | Transportador de sodio glucosa |
| SREBP-1c | Reguladores de esteroles unidos a proteína-1c |
| TBARS | Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico |
| TG | Triglicéridos |
| VLDL-c | Lipoproteína de muy baja densidad |

INDICE GENERAL

| | |
|---|-----------|
| SUBCARATULA..... | I |
| DEDICATORIA | II |
| AGRADECIMIENTOS | III |
| ABREVIATURAS..... | V |
| LISTA DE CUADROS | VI |
| LISTA DE FIGURAS | VII |
| RESUMEN | IX |
| ABSTRACT..... | X |
| RESUMO..... | XI |
| | |
| CAPITULO 1: INTRODUCCION..... | 1 |
| 1.1 SITUACIÓN PROBLEMÁTICA..... | 1 |
| 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA..... | 2 |
| 1.3 JUSTIFICACIÓN TEÓRICA | 2 |
| 1.4 JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA | 5 |
| 1.5 OBJETIVOS | 5 |
| 1.5.1 Objetivo General..... | 5 |
| 1.5.2 Objetivo Específicos | 6 |
| CAPITULO 2: MARCO TEORICO | 7 |
| 2.1 MARCO FILOSÓFICO O EPISTEMOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN | 7 |
| 2.2 ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN | 7 |
| 2.3 BASES TEÓRICAS | 9 |
| 2.3.1 Síndrome Metabólico..... | 9 |
| 2.3.2 Fisiopatología | 11 |
| 2.3.3 Tratamiento | 12 |
| 2.3.4 <i>Annona muricata</i> L (<i>Guanábana</i>) | 13 |
| 2.3.5 Hipótesis nula | 14 |
| 2.3.6 Hipótesis alterna..... | 14 |
| CAPITULO 3: METODOLOGIA | 15 |
| 3.1 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN..... | 15 |
| 3.2 UNIDAD DE ANÁLISIS..... | 15 |
| 3.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO | 15 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 3.4 | TAMAÑO DE MUESTRA | 15 |
| 3.5 | SELECCIÓN DE MUESTRA | 15 |
| 3.6 | TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS | 16 |
| 3.6.1 | <i>Materiales para la administración</i> | 16 |
| 3.6.2 | <i>Equipos</i> | 16 |
| 3.7 | MÉTODOS | 16 |
| 3.7.1 | <i>Preparación del extracto etanólico de hojas de Annona muricata L</i> | 16 |
| 3.7.2 | <i>Análisis fitoquímicos preliminar</i> | 17 |
| 3.7.3 | <i>Determinación de saponinas</i> | 17 |
| 3.7.4 | <i>Determinación de flavonoides</i> | 17 |
| 3.7.5 | <i>Determinación de taninos</i> | 17 |
| 3.7.6 | <i>Determinación de alcaloides</i> | 18 |
| 3.7.7 | <i>Determinación de glicósidos</i> | 18 |
| 3.7.8 | <i>Inducción del Síndrome Metabólico</i> | 18 |
| 3.7.9 | <i>Evaluación temporal del peso corporal</i> | 19 |
| 3.7.10 | <i>Evaluación de la glicemia</i> | 19 |
| 3.7.11 | <i>Evaluación de los niveles de presión arterial</i> | 20 |
| 3.7.12 | <i>Evaluación del Perfil Lipídico</i> | 20 |
| 3.7.13 | <i>Consideraciones éticas</i> | 20 |
| 3.8 | ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LA INFORMACIÓN | 21 |
| CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION | | 22 |
| 4.1 | RESULTADOS DEL PESO CORPORAL | 22 |
| 4.2 | RESULTADO DE LOS NIVELES DE GLICEMIA Y HEMOGLOBINA GLICOSILADA | 23 |
| 4.3 | RESULTADO DE LOS NIVELES DE LOS NIVELES DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA, DIASTÓLICA Y MEDIA | 25 |
| 4.4 | RESULTADO DE LOS NIVELES DE COLESTEROL, LDL, VLDL, TRIGLICÉRIDOS Y HDL 28 | |
| 4.5 | ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 33 |
| 4.6 | PRUEBAS DE HIPÓTESIS | 38 |
| 4.7 | PRESENTACIÓN DE RESULTADOS | 38 |
| CONCLUSIONES | | 39 |
| RECOMENDACIONES | | 40 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | | 41 |
| ANEXOS | | 47 |

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico del Síndrome Metabólico (pag 10).

Tabla 2. Factores que participan en la fisiopatología de la resistencia a la insulina en los diferentes componentes del síndrome metabólico (pag 12).

Tabla 3. Diseño experimental de la inducción del Síndrome Metabólico y los tratamientos (pag 19).

Tabla 4. Comparación del peso corporal semana cero versus semana 13 (pag 48).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comparación del peso corporal semana cero versus semana 13 (pag 22).

Figura 2. Niveles de glicemia en ratas con inducción de síndrome metabólico (pag 23).

Figura 3. Niveles de hemoglobina glicosilada en ratas con inducción de síndrome metabólico (pag 24).

Figura 4. Niveles de presión arterial sistólica en ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 25).

Figura 5. Niveles de presión arterial diastólica en ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 26).

Figura 6. Niveles de presión arterial media en ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 27).

Figura 7. Niveles de colesterol en las ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 28).

Figura 8. Niveles de LDL en las ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 29).

Figura 9. Niveles de VLDL en las ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 30).

Figura 10. Niveles de TRI en las ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 31).

Figura 11. Niveles de HDL en las ratas con inducción del síndrome metabólico (pag 32).

Figura 12. Disminución del peso corporal a la semana 7 y semana 13 (pag 49).

Figura 13. Disminución porcentual del peso corporal en los roedores en la semana 13 (pag 50).

Figura 14. Disminución porcentual de la HBA1c en roedores (pag 50).

Figura 15. Disminución porcentual del colesterol en roedores (pag 51).

Figura 16. Disminución porcentual de triglicéridos en roedores (pag 51).

Figura 17. Disminución porcentual de VLDL en roedores (pag 52).

Figura 18. Disminución porcentual de LDL en roedores (pag 52).

Figura 19. Disminución porcentual de HDL en roedores (pag 53).

Figura 20. Disminución porcentual de presión arterial sistólica en roedores (pag 53).

Figura 21. Disminución porcentual de presión arterial diastólica en roedores (pag 54).

Figura 22. Disminución porcentual de presión arterial media en roedores (pag 54).

RESUMEN

Introducción: *Annona muricata* L. (Guanábana), planta medicinal con diversos beneficios terapéuticos. **Objetivos:** Evaluar el efecto preventivo del extracto etanólico de hojas de guanábana (EEA) administrado en ratas con síndrome metabólico. **Diseño:** Experimental, Pre-clínico, “*In vivo*”. **Lugar:** Laboratorio de Farmacología Experimental, Facultad de Medicina Humana-UNMSM, Lima, Perú. **Material biológico:** Hojas de guanábana, ratas machos de 2 meses, cepa Holtzmann de 175 ± 25 g. **Intervenciones:** La mezcla de colesterol 200mg/kg y fructosa 1000 mg/día (CF) indujo la patología concomitantemente se administró (EEA) por un periodo de 90 días. Noventa animales fueron divididos en nueve grupos: 1) normal (SSF 2mL/kg); 2) EEA 200mg/kg; 3) CF 200mg/kg; 4-6) CF + EEA 50, 100 y 200mg/kg respectivamente; 7) CF + atorvastatina 20mg/kg; 8) CF + enalapril 20mg/kg; 9) CF + enalapril 20mg/kg + atorvastatina 20mg/kg. **Principales medidas de resultado:** peso corporal (g), niveles de glicemia (mg/dL), presión arterial (mmHg) y colesterol (mg/dL). **Resultados:** Hubo mejor disminución del peso corporal en 10.2%; glicemia y HbA1c en 21.5% en ambas a 200mg/kg ($p < 0.0001$); disminuyó la presión sistólica (35.7%), diastólica (34.9%) y media (37%) a 100mg/kg ($p < 0.0001$); el colesterol bajo (35.4%) y el HDL aumento (28.7%) ambos con 100mg/kg ($p < 0.0001$). **Conclusiones:** El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) mostro el efecto preventivo del síndrome metabólico inducido en ratas por colesterol más fructosa.

Palabras clave: *Annona muricata*, guanábana, diabetes, hipertensión, colesterol, fructosa, síndrome metabólico.

ABSTRACT

Introduction: *Annona muricata* L (Soursop) is a medicinal plant that is attributed many therapeutic benefits. **Objective:** To evaluate preventive effect of ethanolic extract from leaves of soursop (EEA) administered in rats with metabolic syndrome. **Design:** Experimental, Pre-clinic, “*In vivo*”. **Setting:** Laboratory of Experimental Pharmacology, Faculty of Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. **Biological Material:** Soursop leaves, male rats of two months, Holtzman strain of $175 \pm 25\text{g}$. **Interventions:** The mixture cholesterol 200 mg/kg and fructose 1000mg/day (CF) induced pathology was co-administered (EEA) for 90 days. Ninety animals were divided into nine groups: 1) normal (SSF 2 mL / kg); 2) EEA 200mg / kg; 3) CF 200mg/kg; 4-6) CF + EEA 50, 100 y 200mg/kg respectively; 7) CF + atorvastatin 20 mg / kg; 8) CF + enalapril 20mg / kg; 9) CF + enalapril 20mg / kg + atorvastatin 20 mg/kg. **Main outcome measures:** body weight (g), glycemic levels (mg/dL), blood pressure (mmHg) and cholesterol (mg/dL). **Results:** There was better decrease of body weight in 10.2%; blood glucose and HbA1c in 21.5% both 200 mg / kg ($p < 0.0001$); decreased systolic blood pressure (35.7%), diastolic (34.9%) and medium (37%) to 100 mg/kg ($p < 0.0001$); low cholesterol (35.4%) and; increase HDL (28.7%) both with 100mg/kg ($p < 0.0001$). **Conclusions:** The ethanolic extract of the leaves of *A. muricata* L (soursop) showed the preventive effect in rats developing the metabolic syndrome in rats induced by fructose more cholesterol.

Keywords: *Annona muricata*, soursop, diabetes, hypertension, cholesterol, fructose, metabolic syndrome.

RESUMO

Introdução: *Annona muricata* L. (Guanabano) é uma planta medicinal que ter diversos benefícios terapêutico. **Objetivos:** Avaliar o efeito preventivo do extrato etanólico de folhas da guanabano (EEA) administrado em ratos com síndrome metabólica. **Desenho:** Experimental, Pre-clínica, “*In vivo*”. **Lugar:** Laboratório de Farmacología Experimental, Faculdade de Medicina Humana, Universidade Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. **Material biológico:** Folhas do guanabano e ratos machos de dois meses de idade, linhagem Holtzmann de 175 ± 25 g. **Intervenções:** A mistura de colesterol 200mg/kg e frutose 1000mg/día (CF) causou patologia foi coadministrada (EEA) por 90 dias. Noventa animais foram divididos em nove grupos: 1) normal (SSF 2mL/kg); 2) EEA 200mg/kg; 3) CF 200mg/kg ;4-6) CF + EEA 50, 100 y 200mg/kg respectivamente; 7) CF + atorvastatina 20mg/kg; 8) CF + enalapril 20mg/kg; 9) CF + enalapril 20mg/kg + atorvastatina 20mg/kg. **Principais medidas de resultados:** peso corporal (g), níveis de glicemia (mg/dL), pressão arterial (mmHg) e colesterol (mg/dL). **Resultados:** Houve uma melhor redução do peso corporal em 10,2%; glicemia e HbA1c em 21,5% ambos a 200 mg/kg ($p < 0,0001$); diminuição da pressão sistólica (35,7%), diastólica (34,9%) e médio (37%) a 100mg/kg ($p < 0,0001$); redução do colesterol (35,4%) a 100 mg/kg ($p < 0,0001$); aumento do HDL (28,7%), ambos com 100 mg/kg ($p < 0,0001$). **Conclusões:** O extrato etanólico de folhas da *A. muricata* L (guanabano) mostrou efeito preventivo del síndrome metabólico induzido em ratos por colesterol mais frutose.

Palavras-chave: *Annona muricata*, guanabano, diabetes, hipertensão, colesterol, frutose, síndrome metabólico.

CAPITULO 1: INTRODUCCION

1.1 Situación Problemática

El síndrome metabólico (SM) ha sido reconocido hace más de 80 años y ha recibido diversas denominaciones a través del tiempo. De ninguna manera se trata de una única enfermedad, sino fundamentalmente de una asociación de problemas que por sí solos generan un riesgo para la salud y que en su conjunto se potencializan; o simplemente, una relación de factores que se relacionan estadísticamente. (Pajuelo J y Sánchez J, 2007).

El síndrome metabólico se caracteriza por la presencia de alteraciones como la resistencia a la insulina, que se manifiesta por hiperinsulinismo y por su asociación con obesidad, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y dislipidemia. La presencia de este síndrome se relaciona con incremento en el riesgo de aparición de enfermedades cardiocerebrovasculares y consecuente aumento de la mortalidad. (Barrera M, Pinilla A, Cortés E, Mora G y Rodríguez M, 2008; Comós JB y Murillo M, 2011).

Un estudio realizado en el Perú, departamento de Lambayeque usó los parámetros clínicos de la National Cholesterol Education Program ATP III (Adult Treatment Panel), encontrando 28,3% de síndrome metabólico en mayores de 30 años de edad, 29,9% en el género femenino y en el masculino 23,1%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. En Lima Metropolitana, en una población, de 30 a 92 años se encontró prevalencia del síndrome metabólico del 16,3% en el género femenino y 10% en el masculino. Asimismo, en mujeres adultas con sobrepeso y

obesidad, se determinó una prevalencia de 28% y 30%, respectivamente (Pajuelo J y Sánchez J, 2007).

Las hojas y brotes tiernos de *Annona muricata* (guanábana) son usados por algunas comunidades como anticancerígenos, antiespasmódicos, sedativos, antimaláricos, vasodilatadores y antidiabéticos; y los estudios experimentales han demostrado la eficacia hipoglicemiante al utilizar el extracto etanólico de las hojas en ratas diabéticas inducidas por aloxano, sin afectar el hígado y riñón. (Arroyo J, Martínez J, Ronceros G, Palomino R, Villarreal A, Bonilla P, Palomino C y col, 2009).

Teniendo en cuenta los riesgos que presentan las personas con síndrome metabólico y los fármacos utilizados a la fecha; es necesario contar con productos naturales que ayuden en la profilaxis o el tratamiento de esta patología. Por lo tanto, la búsqueda de nuevos fármacos utilizando como fuente biológica los extractos de plantas, es un campo de plena vigencia sobre todo teniendo en cuenta las riquezas naturales de nuestro país.

1.2 Formulación del Problema

¿La administración vía oral del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana) posee efecto preventivo en el síndrome metabólico inducido en ratas?

1.3 Justificación Teórica

Recientes estudios de la *Annona muricata* L. han evidenciado muchos de sus usos tradicionales y han demostrado que diversas partes de la planta contienen acetogeninas, que son las responsables de los muchos beneficios terapéuticos. A la fecha aproximadamente 82 acetogeninas han sido cuantificadas de diez diferentes grupos de *A. muricata*. Las

acetogeninas de la Annonaceae son aparentemente una serie de policétidos derivados de ácidos grasos que poseen anillos tetrahidrofurano y metilado y lactona (algunas veces se reordena a una metil cetolactona) con varios grupos hidroxil, acetoxil y/o cetoxil a lo largo de la cadena de hidrocarbano. Las acetogeninas exhiben una amplia variedad de actividad biológica (citotóxica, antitumoral, antiviral, antimicrobiana, inmunosupresiva, utilizadas para el crecimiento de los animales y pesticida). Las hojas de *Annona muricata* L. contienen alcaloides a los cuales se les atribuye propiedades antitumorales y antioxidantes, entre los tipos de alcaloides como reticulina, coreximine, coclarine, anomurina, annomuricin E, annomuricin C, muricatocin C, gigantetroneina y muricapentocin. Los aceites esenciales de las hojas contienen β -caryophyllene, δ -cadinene, epi- α -cadinol and α -cadinol. (Lim T, 2012).

Baskar R, Rajeswari V & Kumar TS, 2007, realizaron un estudio demostrando que los extractos de *A. muricata* posee una potente actividad antioxidante comparado con las hojas de *A. squamosa* y *A. reticulata*, lo que sugiere que actúa eliminando o barriendo los radicales libres. El extracto etanólico de hojas de *A. muricata* a 500ug/ml mostraron una actividad de barrido con respecto al radical catiónico ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotizolina-6-sulfonato)) del 90.5%, radical hidroxilo 85.5% y óxido nítrico 72.60%. Sin embargo, el extracto mostró solo una actividad moderada al inhibir la peroxidación lipídica.

Adewole S & Caxton-Martins E, 2006, demostraron el efecto hipoglucemiante del extracto de hojas de *A. muricata* en ratas diabéticas, al disminuir los niveles de glucosa, óxido nítrico y malondialdehyde (MDA). Además, el tratamiento con extracto de *A. muricata* aumentó significativamente la actividad de las enzimas antioxidantes, protegió las células pancreáticas y aumentó los niveles de insulina. También se demostró que el extracto de *A. muricata* presentó efecto protector del

tejido hepático en roedores al que se les administró estreptozotocina (STZ), el posible mecanismo es la disminución de la peroxidación de lípidos porque indirectamente produce un incremento de la producción de insulina, aumento de endógenos antioxidantes. También, se evidenció en los roedores disminución de glucosa, sustancias tiobarbitúricas ácidas (TBARS), triglicéridos (TG), colesterol total (CT) y lipoproteínas de baja densidad (LDL). (Adewole SO & Ojewole JAO, 2009).

Chukwuemeka R, Daniel U, Angeline G, Karen T, Garsha McCalla, Raymond O; et al, 2012, demostraron el efecto hipotensor del extracto acuoso de hojas de *A. muricata* en ratas Sprague-Dawley normotensas y en los anillos aórticos de los animales estudiados. Los efectos del extracto acuoso de hojas de *A. muricata* fue evaluado después que los roedores se les administro atropina, propanolol, mepiramina, inhibidor de la sintasa del óxido nítrico y N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME). Los resultados mostraron el efecto hipotensor de la *A. muricata* el cual puede ser atribuido a los compuestos alcaloides presente en las hojas de la planta y al bloqueo de los canales de Ca²⁺.

La evidencia científica pre-clínica ha demostrado que las hojas de *Annona muricata* L. posee actividad hipoglucemiante, hipotensora, antitumoral, antioxidante, antiviral y pesticida pero hasta la fecha no se ha estudiado la efecto protector de la *A. muricata* en la patología del Síndrome Metabólico. Por lo tanto, el presente estudio tiene la finalidad de demostrar el efecto preventivo del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L en ratas con síndrome metabólico inducido por fructosa más colesterol.

1.4 Justificación Práctica

La necesidad de contar con nuevas alternativas farmacológicas proveniente de los extractos de plantas es de continua investigación para generar evidencia científica de sus posibles efectos terapéuticos o profilácticos.

Los medicamentos actualmente disponibles para tratar cada uno de los componentes del Síndrome Metabólico producen efectos adversos que obligan a la discontinuación del tratamiento o algunos de ellos se han retirado de la comercialización debido a las reacciones adversas serias. (Ramon Laporte J, Rosser L y Montserrat B, 2009).

Por este motivo, el desarrollo de esta investigación es utilizar las hojas de *Annona muricata* L (guanábana) y demostrar su efecto preventivo en ratas con síndrome metabólico y de esta manera validar sus efectos farmacológicos.

Finalmente, proponer su uso como planta medicinal, de tal manera que podrá constituirse en una fuente potencial para su cultivo y extracción con fines comerciales.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo General

- Determinar el efecto preventivo del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas inducidas con síndrome metabólico por fructosa más colesterol.

1.5.2 **Objetivo Específicos**

- Evaluar los cambios de peso corporal al administrar por vía oral durante tres meses el extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas con síndrome metabólico por fructosa más colesterol.
- Evaluar los niveles de glicemia y hemoglobina glicosilada A1c al administrar por vía oral durante tres meses el extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas con síndrome metabólico por fructosa más colesterol.
- Evaluar los niveles de la presión arterial sistólica, diastólica y media al administrar por vía oral durante tres meses el extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas con síndrome metabólico por fructosa más colesterol.
- Evaluar los niveles de colesterol, LDL, VLDL, triglicéridos y HDL al administrar por vía oral durante tres meses el extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas con síndrome metabólico por fructosa más colesterol.

CAPITULO 2: MARCO TEORICO

2.1 Marco Filosófico o Epistemológico de la investigación

La epistemología, como teoría del conocimiento, resulta necesaria e imprescindible en la Tesis de Posgrado porque se sustenta -a su vez- en la base filosófica necesaria para la defensa del paradigma que se propone, teniendo en cuenta que los paradigmas son conjuntos de conocimientos y creencias que forman una teoría hegemónica en determinado periodo histórico. El paradigma está constituido por supuestos teóricos, leyes y técnicas de aplicación que deberán adoptar los investigadores dentro de una comunidad científica. Por tanto, cada nuevo paradigma aporta respuestas a los enigmas que no podían resolverse con el paradigma anterior, además de otorgarle el sustento académico a toda tesis. Por ello se debe resaltar las posibles interrelaciones entre la epistemología y el método científico generalmente empleado en el desarrollo de las investigaciones en este nivel académico. (Elena C, Nubia B y Yailin R, 2012).

2.2 Antecedentes de investigación

- Chukwuemeka, et al, 2012, en su estudio titulado “Posible mecanismo de acción del efecto hipotensor de la *Annona muricata* (soursop) en ratas Sprague-Dawley normotensas”, el objetivo de investigar el posible mecanismo de acción del efecto hipotensivo del extracto acuoso de hojas de *A. muricata* (EAM) en ratas Sprague-Dawley normotensas; el EAM fue administrado vía intravenosa a dosis de 9.17-48.5mg/kg la presión arterial media y el ritmo cardíaco fueron registrados invasivamente en ratas Sprague-Dawley anestesiadas. Las respuestas contráctiles de los anillos aórticos al extracto (0.5-4.0mg/ml) fueron estudiada usando técnicas de baño de órganos estándares; concluyendo

que el efecto hipotensor de *A. muricata* se debe a un mecanismo periférico mediado por el antagonismo de Ca^{+2} y no a través de las vías muscarínicas, histaminérgicas, adrenérgicas y óxido nítrico.

- Arroyo J, Martínez J, Ronceros G, Palomino R, Villarreal A, Bonilla P y col.,. 2009, realizaron el estudio titulado “Efecto hipoglicemiante coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida”. El objetivo del estudio fue determinar la eficacia y seguridad de capsulas de extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana) más glibenclamida para un mejor control de los niveles comparado con la administración de glibenclamida sola, en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. En el estudio se enrolaron un total de 60 pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo2 del Hospital I, EsSalud, ciudad de Tingo María, Departamento de Huánuco. La conclusión fue que el uso de las cápsulas conteniendo extracto etanólico de *Annona muricata* L más glibenclamida durante 30 días produjo una mayor disminución de los niveles de glicemia en diabéticos tipo 2.
- Adewole SO and et al., realizaron el estudio titulado “Efecto protector del extracto acuoso de hojas de *Annona muricata* Linn (Annonaceae) en el perfil lipídico y estrés oxidativo en hepatocitos de ratas diabéticas tratadas con estreptozotocina”. El objetivo fue investigar el efecto hipoglicémico, hipolipemiante y propiedades antioxidante del extracto acuoso de hojas de *A. muricata* (EAM) en ratas que recibieron estreptozotocina (STZ). Las ratas fueron divididas en 4 grupos: grupo A (solo recibió agua destilada), grupo B (tratadas con STZ), grupo C (STZ + EAM) y grupo D (EAM). El EAM fue administrado vía oral a dosis de 100mg/kg en los grupos C y D. La conclusión fue que los grupos C y D tratados con EAM mostraron una disminución significativa ($p < 0.05$) en los niveles de

glucosa, especies reactivas de oxígeno, colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y sustancias reactivas a ácido tiobarbitúrico (TBARS). Además, EAM tiene un efecto protector en tejido hepático sometido a STZ, posiblemente por disminución de lípido peroxidación y aumentando indirectamente la producción de insulina y antioxidantes endógenos.

- Palomino C; 2007; realizo el estudio titulado “Efecto del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana) sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. El objetivo del estudio fue demostrar el efecto hipoglicemiante del extracto etanólico de hojas de *A. muricata* (EEA) en ratas. Los animales fueron divididos en 5 grupos: Grupo A (ratas diabéticas), Grupo B (ratas diabéticas+recibieron 200mg/kg de EEA), grupo C (ratas diabéticas+ recibieron 400mg/kg de EEA), grupo D (ratas diabéticas + recibieron 600mg/kg de EEA) y grupo E (ratas diabéticas+ 5mg/kg de glibenclamida). La conclusión mostro que los animales que recibieron dosis de 200mg/kg EEAM tuvo un mejor efecto hipoglicemiante.

2.3 Bases teóricas

2.3.1 *Síndrome Metabólico*

El síndrome metabólico se define por una combinación de tres o más de los siguientes criterios: (a) circunferencia abdominal > 102 cm para los hombres y 88 cm para las mujeres, (b) la hipertensión, (c) la hiperglucemia y (d) dislipidemia (concentraciones elevadas de triglicéridos y niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en la sangre). La patología está directamente relacionado con el aumento del riesgo de diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. (ElKhoury C, Cuda B, Luhovyy C & Anderson G, 2012).

El término síndrome metabólico es el más común y ha sido definido por diferentes grupos como la Organización Mundial de la Salud en 1998, el Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR) en 1999, la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AAEC) en 2002 y el Panel de expertos en detección, evaluación y tratamiento del colesterol alto en adultos (Adult Treatment Panel III - ATP III) en 2001.

En 2005, la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés), definió los criterios del síndrome metabólico (Tabla 1). La IDF considera que la definición de síndrome metabólico persigue un objetivo útil al identificar a las personas con riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2, tanto en la población general como en el contexto clínico. (Alberti KGMM, Zimmet P & Shaw J, 2006).

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico del Síndrome Metabólico.

| |
|---|
| Obesidad Central |
| Aumento de triglicéridos o tratamiento previo (triglicéridos $\geq 150\text{mg/dL}$ o 1.7mmol/L) |
| Disminución del colesterol HDL o tratamiento previo ($<40\text{mg/dL}$ o 1.03mmol/L en hombres; $<50\text{mg/dL}$ o 1.29mmol/L en mujeres) |
| Aumento de la presión arterial (sistólica ≥ 130 y/o diastólica $\geq 85\text{mmHg}$) |
| Aumento de la glucosa en ayunas $\geq 100\text{mg/dL}$ o 5.6mmol/L |

Fuente. Federación Internacional de Diabetes (2005).

La causa de estos problemas está dada por la combinación de factores genéticos y socioambientales relacionados a los cambios en los estilos de vida, especialmente la sobrealimentación y la inactividad física. Sin embargo, hay que considerar que algunos individuos están genéticamente predispuestos a padecerla. El incremento del síndrome metabólico va asociado a la expansión de la epidemia mundial de

diabetes tipo 2 y de enfermedades cardiovasculares, según datos recientes de la Federación Internacional de Diabetes (FID). Las personas con síndrome metabólico (20 a 25% de la población mundial), tienen una probabilidad tres veces mayor de sufrir un ataque cardíaco o un accidente cerebro vascular y dos veces más de morir por estas causas, que las personas que no lo padecen. (Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al, 2002).

Un rasgo fundamental del síndrome metabólico es la obesidad central que representa la acumulación de grasa visceral y periférica.

2.3.2 Fisiopatología

Son diversos los mecanismos fisiopatológicos con la participación de factores genéticos y ambientales (Tabla 2) que explican el desarrollo de resistencia a la insulina en un individuo. La hiperinsulinemia compensatoria, resultante de la resistencia a la insulina es considerada como un posible factor de riesgo para el desarrollo de hipertensión arterial, diabetes tipo 2, dislipidemia, obesidad, disfunción endotelial y aterosclerosis a través de mecanismos interrelacionados. (González A, Alexánder E, Alvarado R, Becerra A, Camacho J, Carmona F. y col, 2002).

Tabla 2. Factores que participan en la fisiopatología de la resistencia a la insulina en los diferentes componentes del síndrome metabólico

| FACTORES GENÉTICOS | COMPONENTE | FACTORES AMBIENTALES | FACTORES AMBIENTALES |
|---|-----------------------|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Receptor de leptina • Receptor del gen humano B-adrenérgico • Gen ahorrador • Gen receptor PPAR α • Genes de Lipasa (LPL, HSL) • Otros | Obesidad | <ul style="list-style-type: none"> • Estilo de vida • dieta hipercalórica • Inactividad física • Aspectos psicológicos | <ul style="list-style-type: none"> • Metabólicos • Ácidos grasos no esterificados • Hiperinsulinemia • FNT α • Neuropeptido Y • leptina • Angiotensina |
| <ul style="list-style-type: none"> • Gen sintasa del óxido nítrico endotelial • Genes de la ECA • Genes de los receptores de angiotensina • Otros | Hipertensión arterial | <ul style="list-style-type: none"> • Estilo de vida • consumo de sal • Inactividad física • Sedentarismo • Obesidad | <ul style="list-style-type: none"> • METABÓLICOS • Hiperinsulinemia • Otros |
| <ul style="list-style-type: none"> • Gen del IRS-1 • Gen glucógeno sintasa • Receptor de glucógeno • Gen glut 4 • Otros | Diabetes tipo 2 | <ul style="list-style-type: none"> • Estilo de vida • Dieta hipercalórica • Inactividad física • Sedentarismo | <ul style="list-style-type: none"> • METABÓLICOS • Glucotoxicidad • Lipotoxicidad • Hiperinsulinemia • Otros |
| <ul style="list-style-type: none"> • Gen apolipo-proteína E • Gen expresión de proteínas ligadoras de ácidos grasos • Gen variante de la lipoproteínlipasa (Asn 291 SER) • Gen expresión Apo C III • Gen receptor PPAR α | Dislipidemia | <ul style="list-style-type: none"> • Estilo de vida • Dieta alta en grasa • Inactividad física • Sedentarismo | <ul style="list-style-type: none"> • METABÓLICOS • Hormonales • Lipemia posprandial (triacilglicerol) • Hiperinsulinemia • Otros |

Fuente. Datos Gonzales y col (2002).

2.3.3 *Tratamiento*

El manejo clínico del Síndrome Metabólico implica la modificación de factores de riesgo para prevenir o retrasar el inicio de las enfermedades cardiovasculares y el retraso del inicio de la diabetes mellitus tipo 2. El tratamiento y la prevención del SM está basado en el manejo de componentes individuales. Esto por definición requiere múltiples “*targets*” y diversas estrategias que se deben aplicar simultáneamente. Cada componente del SM puede ser mejorado por estilos de vida saludable. (Eckel R, Grundy S & Zimmet P, 2010). La modificación del estilo de vida es el tratamiento de primera línea, esto incluye (pérdida de peso, aumento de la actividad física, dieta saludable y dejar de fumar). Si los cambios en el estilo de vida no son suficientes, los medicamentos deben ser empleados tratar y controlar los factores de riesgo tales como

la presión arterial, aumento de triglicéridos, aumento de glucosa y aumento del colesterol bueno o HDL. (National Institute Health; 2012).

2.3.4 *Annona muricata* L (*Guanábana*)

Annona muricata L. pertenece a la familia Annonaceae y se conoce en América con los nombres populares de guanábana o graviola y sursop en idioma inglés. Sus sinónimos son: *A. bonplandiana* Kunth, *A. cearensis* Barb. Rodr., *A. macrocarpa* Wercklé, *A. muricata* var. *borinquensis* Morales y *Guanabanus muricatus* M. (Morón F, Morón D y Nodarse M, 2010).

La guanábana (*Annona muricata* L.) es una planta cuyo centro de origen es la parte tropical de Sudamérica pero ha sido introducida en muchos países. Crece óptimamente hasta los 1000m.s.n.m y es considerada la planta más tropical, pues no resiste el frío. Sus usos medicinales son variados, las hojas y brotes tiernos son usados como anticancerígenos, la corteza como antibacteriano y antiulceroso, las hojas como antiespasmódicos, sedativo, antimalárico, antidiabético y vasodilatador. (Barriga R; 1994; Rutter R; 1990).

En los Andes peruanos, las hojas de guanábana se usan para el catarro y la semilla machacada es usada para eliminar los parásitos. En la selva peruana las raíces, corteza y hojas se usan para la diabetes y como un sedante y antiespasmódico. Las tribus de Guyana utilizan las hojas y/o corteza de guanábana como sedante y tónico del corazón. En el Amazonas brasileño, una infusión de hojas se usa para problemas de hígado y el aceite de fruta es mezclado con aceite de aceituna y usado externamente para la neuralgia, dolor reumático y artritis. En Jamaica, Haití y la India Occidental, el jugo de fruta y/o fruta se usa para la fiebre, los parásitos, diarrea y la corteza o las hojas se usan como antiespasmódico, sedante y para condiciones nerviosas, también para la

gripe, asma, astenia, hipertensión y parásitos. (Soumya P, Choudary KA, Lopamudra D, Avijeet J. 2009 & Aida S, Hector L, Herminia P, Norberto M. 2003).

2.3.5 Hipótesis nula

La administración oral del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L “Guanábana” en ratas con síndrome metabólico inducido por fructosa más colesterol no posee efecto preventivo sobre el síndrome metabólico.

2.3.6 Hipótesis alterna

La administración oral del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L “Guanábana” en ratas con síndrome metabólico inducido por fructosa más colesterol posee efecto preventivo sobre el síndrome metabólico.

CAPITULO 3: METODOLOGIA

3.1 Tipo y diseño de investigación

El presente trabajo es un estudio de investigación experimental debido a que se manipularon deliberadamente las variables independientes para analizar las consecuencias que la manipulación tiene sobre las variables dependientes. (Hernández R; 2010). El diseño es experimental, pre-clínico e “*In vivo*”

3.2 Unidad de análisis

Rata macho de cepa Holtzmann de 02 meses con un peso de 150 – 200 gramos

3.3 Población de estudio

Ratas machos de cepa Holtzmann obtenidos de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Molina.

3.4 Tamaño de muestra

Se seleccionaron 90 ratas machos de cepa Holtzmann. La cantidad de roedores está basado en artículos previo y estudio piloto.

3.5 Selección de muestra

Animal de experimentación: Rata macho, cepa Holtzmann de 02 meses con un peso de 150 – 200 gramos.

Muestra vegetal: extracto etanólico de las hojas de *A. muricata* L (Guanábana), las iniciales de la muestra vegetal (EEA).

3.6 Técnica de recolección de datos

3.6.1 *Materiales para la administración*

- Enalapril 20mg/kg(Enantesil®, Laboratorios Naturales y Genéricos S.A:C),
- Atorvastatina 200mg/kg (Lipitor®, Pfizer)

3.6.2 *Equipos*

- Balanza analítica Ohaus, modelo Adventurer™, (rango de 65g a 210g; escala de 0.1mg)
- Molino de cuchillo Willey , modelo de cuchillas de corte vertical
- Equipo de medición de presión arterial Panlab, modelo LE5002 Letica.

3.7 Métodos

Los datos de cambios de peso corporal, presión arterial, glucosa, colesterol total, triglicérido, LDL, VLDL y HDL se recopilaban en cuaderno de apuntes. La investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacología Experimental de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

3.7.1 *Preparación del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L*

Las de hojas de *Annona muricata* L (guanábana) fueron obtenidas del caserío de San José Bajo, Distrito de Santiago de Cao, Provincia de Ascope, Departamento de La Libertad, Perú, durante los meses de junio-julio del 2014. La identificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La muestra vegetal (planta completa) fue estudiada y clasificada según el sistema de Cronquist (Cronquist, A., 1988).

Para la preparación del extracto etanólico, las hojas de *A. muricata* primero fueron secadas luego sometidas a molienda en un molino eléctrico se pesó 1k y se llevó a maceración alcohólica al 95%, siete días

de maceración, posteriormente se filtró y se concentró a 30°C, hasta obtener un residuo seco a peso constante (extracto etanólico).

3.7.2 *Análisis fitoquímicos preliminar*

La detección de los metabolitos secundarios, se realizó mediante pruebas fitoquímicas de caracterización según los siguientes métodos y procedimientos para observar presencia de saponinas, flavanoides, taninos, alcaloides y glicósidos, los que serán expresados (Lock De Ugaz O, 1988).

3.7.3 *Determinación de saponinas*

Prueba de espuma.- a una solución metanólica-acuosa de la muestra, se somete a una agitación vigorosa durante 30 segundos. La presencia de la saponina es indicada por la formación de una espuma persistente durante 3 minutos.

3.7.4 *Determinación de flavonoides*

Reactivo de Shinoda.- en un tubo de ensayo se coloca 0.5ml de muestra con 1 limadura de magnesio pequeña con un gotero se añaden 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado.

Se observa intenso burbujeo y coloración naranja, de color intenso luego de 10 minutos.

Reactivo de Cloruro férrico.- a 0.5ml de la muestra se agregan 3 gotas del reactivo, instantáneamente la solución toma un color verde oscuro casi negro, lo que indicaría la presencia de compuestos fenólicos y taninos.

3.7.5 *Determinación de taninos*

Con gelatina.- a 0.5 mL de muestra se agregan 3 gotas de reactivo, en un principio se forma una sustancia en forma de nube en la solución,

luego de centrifugar queda en el fondo un precipitado color blanco. Esto confirma la presencia de taninos.

3.7.6 *Determinación de alcaloides*

Reactivo de Dragendorff.- a 0.5mL de muestra agregar unas cuantas gotas de este reactivo a una solución acida del alcaloide se observa la aparición de un precipitado que va del naranja al rojo.

Reactivo de Mayer.- a 0.5mL de muestra agregar un exceso de reactivo a una solución acidulada del alcaloide se observa la aparición de un precipitado de blanco a crema.

3.7.7 *Determinación de glicósidos*

A 0.5mL de muestra someter a la reacción de Molish (alfa-naftol + ácido sulfúrico) formación de un anillo violáceo al centro.

3.7.8 *Inducción del Síndrome Metabólico*

La inducción del Síndrome Metabólico se realizó según el método de (Ferreira de Moura R, Ribeiro C, Aparecida de Oliveira J, Stevanato E & Rostom de Mello M. 2009 y Arroyo J, Rojas J y Chenguayen J, 2004. El modelo de inducción consistió en noventa roedores, de los nueve grupos(n=10), siete recibieron la combinación de 1mL de fructosa al 60% más colesterol 95% en dosis de 200mg/kg/vía oral de peso corporal. La tabla Nro 3 muestra que los grupos 4, 5 y 6 recibieron vía oral (EEA) más el inductor del síndrome metabólico. El inductor de la patología, como los tratamientos fueron administrados concomitantemente por un periodo de 90 días. Se describe el diseño de experimentación y tratamiento:

Tabla Nro 3 Diseño experimental de la inducción del Síndrome Metabólico y los tratamientos

| Grupo | Tratamiento | Dosis | Nro |
|--------------|--|-----------------|------------|
| 1 | Suero fisiológico | 2mL/kg | 10 |
| 2 | EEA | 200mg/kg | 10 |
| 3 | fructosa+ colesterol 95% | 200mg/kg | 10 |
| 4 | fructosa+ colesterol 95%+ EEA | 50mg/kg | 10 |
| 5 | fructosa+ colesterol 95%+ EEA | 100mg/kg | 10 |
| 6 | fructosa+ colesterol 95%+ EEA | 200mg/kg | 10 |
| 7 | fructosa+ colesterol 95%+ atorvastatina | 20mg/kg | 10 |
| 8 | fructosa+ colesterol 95%+ captopril | 20mg/kg | 10 |
| 9 | fructosa+ colesterol 95%+ atorvastatina+captopril | 20mg/kg+20mg/kg | 10 |

Se registró el peso de las ratas antes de empezar el experimento. Se formaron 9 grupos, cada grupo de 10 ratas, dos de los grupos será el blanco, al que no se le administrará fructosa más colesterol.

3.7.9 Evaluación temporal del peso corporal

Semanalmente (cada viernes) se procedió a pesar los animales en una balanza sensible al gramo. Los datos de peso corporal fueron registrados en un cuaderno de apunte.

3.7.10 Evaluación de la glicemia

Parte de la muestra de sangre obtenida anteriormente, fue destinada para el dosaje de los niveles de glicemia y hemoglobina glicosilada (HbA1c) en el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional Dos de Mayo. Se extrajo muestra de sangre vía intracardiaca de los animales en estudio, luego se cuantifico el nivel de glicemia en el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional Dos de Mayo.

3.7.11 Evaluación de los niveles de presión arterial

Las mediciones de presión arterial se realizaron en un ambiente libre de ruidos que pudiera perturbar la tranquilidad de los roedores, primero los animales fueron sometidos a un proceso previo de vasodilatación mediante calentamiento a 32°C durante 30 minutos colocados en el cepo sin trauma dejando expuesto la cola del animal y utilizando el equipo de medición electrónico modelo LE5002 Letica, se midió la presión sanguínea de los animales de experimentación. La medición de la presión arterial se realizó quincenalmente, se registrarán datos de presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y presión arterial media (PAM). (Pereira L, Bezerra D & Mandarim-de-Lacerda C, 2004).

3.7.12 Evaluación del Perfil Lipídico

Mensualmente se procedió a realizar la toma de muestra de sangre para la medición del perfil lipídico. Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico a una dosis de 30mg/kg por vía intraperitoneal para poder hacer la extracción de 3mL de sangre por punción cardíaca.

El colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) fueron cuantificados en el Laboratorio Clínico del Hospital Nacional Dos de Mayo.

3.7.13 Consideraciones éticas

En el curso de una investigación en la que se experimenta con animales, muchos de ellos sufren dolor, angustia, etc. Para mitigar los dolores severos, si el animal sufriese mucho o quedase inhabilitado, los comités que están a cargo de la vigilancia del manejo de los animales, han

establecido que los mismos deberán ser sacrificados. A esto se le llama eutanasia. (Arroyo J, Rojas J y Chenguayen J, 2004).

3.8 Análisis e interpretación de la información

Los datos obtenidos fueron analizados con el software SPSS 15.0. Para la comparación de grupos se utilizó el análisis de varianza (ANOVA). Los datos son presentados en valores medios \pm error estándar, porcentajes, teniendo en cuenta un intervalo de confianza del 95%. Se realizó la comparación de medias a través de la prueba múltiple de Tukey. Para determinar la normalidad de los datos se aplicara la bondad de ajuste de Kolmogorv-Smirnov. Los hallazgos son considerados estadísticamente significativos utilizando el valor $p < 0.05$.

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Resultados del peso corporal

La figura 1 muestra la comparación de la evolución del peso corporal de los roedores desde la semana cero (P-0) a la semana trece (P-13), los que recibieron fructosa más colesterol y el tratamiento de fructosa más colesterol más *A. muricata* L presenta una disminución del 10.2% con la dosis de 100mg/kg ($p < 0.0001$). Todos los roedores presentaban un peso basal (normopesos).

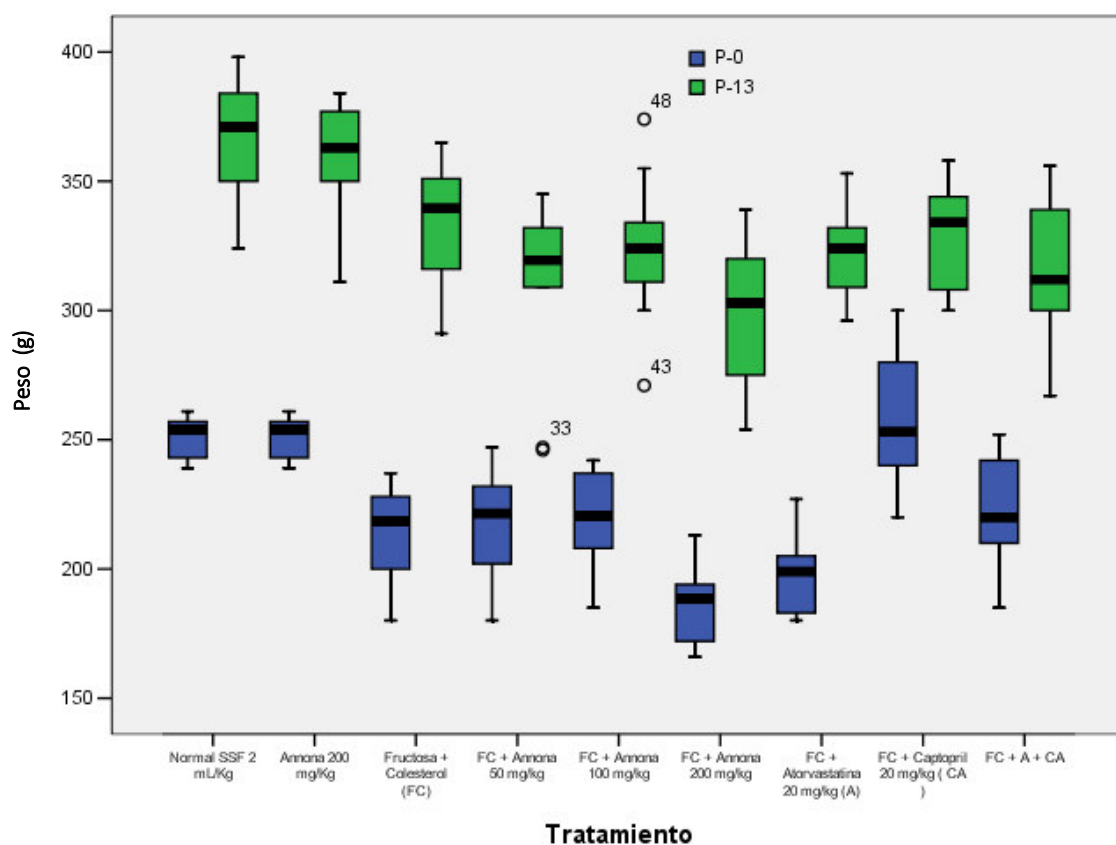


Figura 1. Comparación del peso corporal semana cero versus semana 13. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

4.2 Resultado de los niveles de glicemia y hemoglobina glicosilada

Los niveles de glucosa y hemoglobina glicosilada en los animales que recibieron inducción de síndrome metabólico de fructosa más colesterol, se observó una disminución de 21.5% ambos con dosis de 200mg/kg ($p < 0.0001$), acercándose a los valores de atorvastatina 24% y atorvastatina más enalapril 20.7% (figuras 2 y 3).

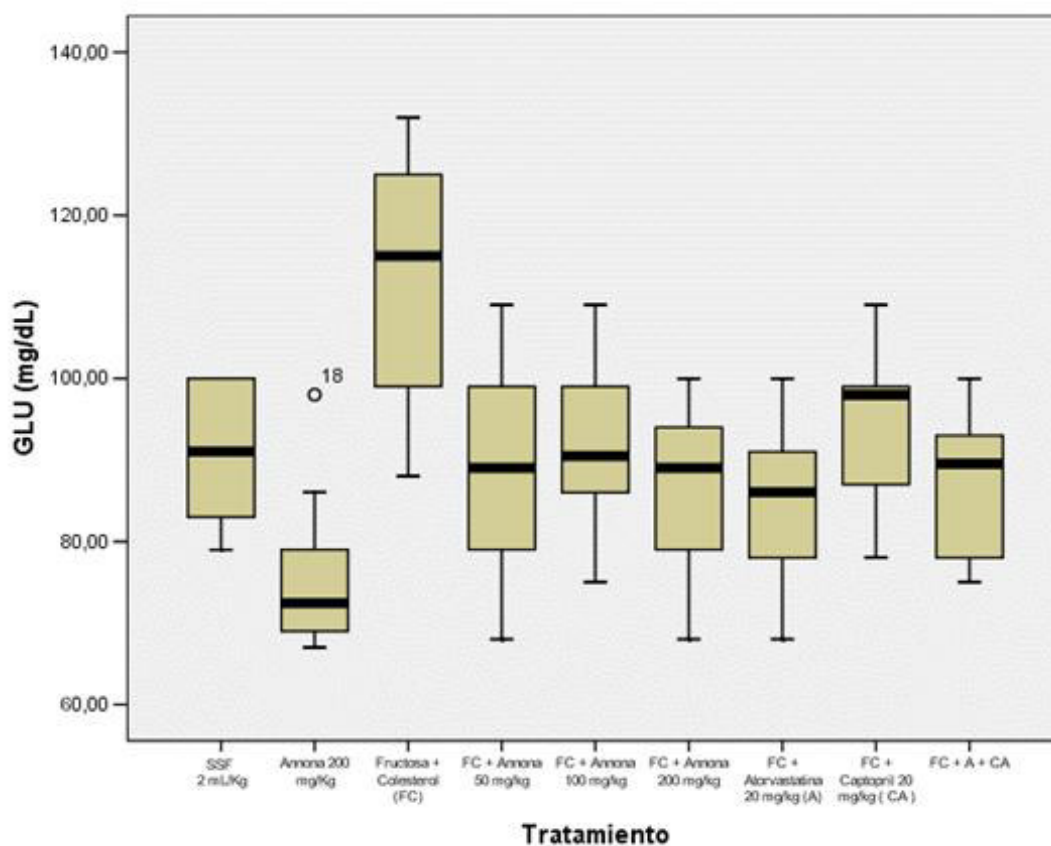


Figura 2. Niveles de glicemia en ratas con inducción de síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 200mg/kg $P < 0.0001$

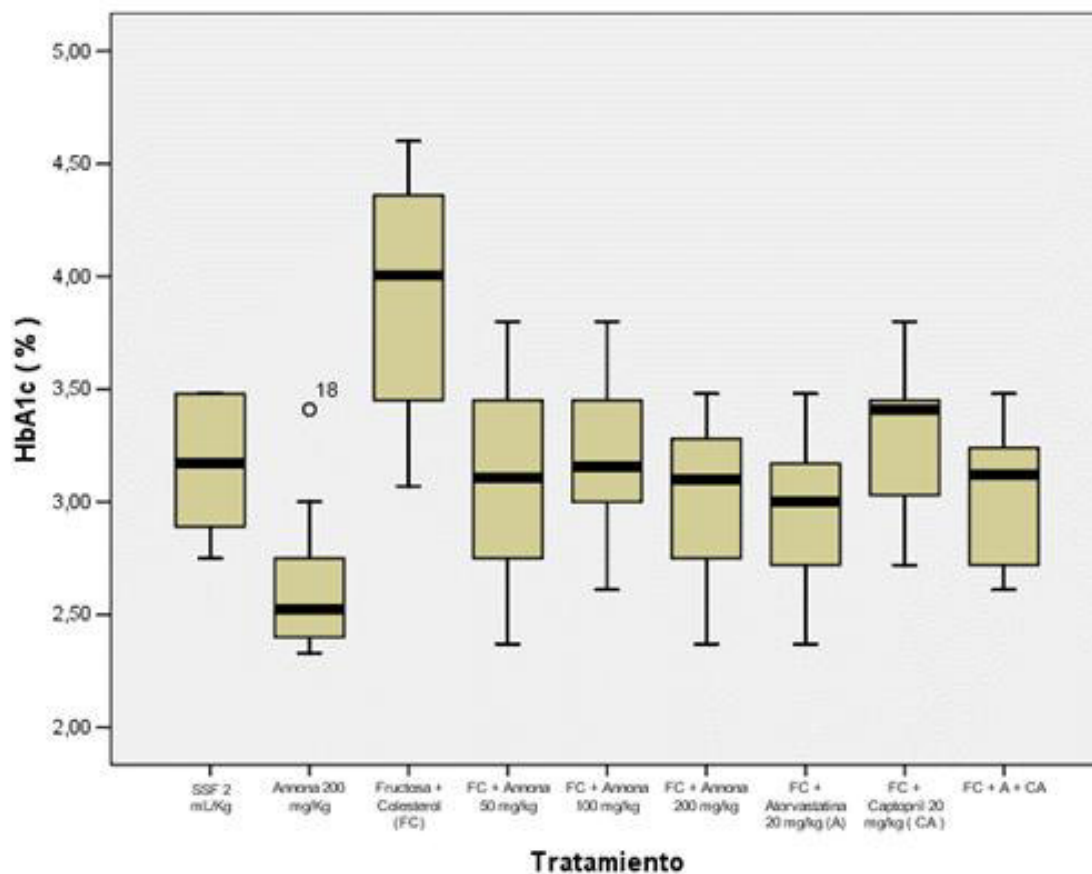


Figura 3. Niveles de hemoglobina glicosilada en ratas con inducción de síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 200mg/kg $P < 0.0001$

4.3 Resultado de los niveles de los niveles de la presión arterial sistólica, diastólica y media

Los niveles de presión arterial sistólica, diastólica y media se encuentran aumentados en los animales que se les indujo el síndrome metabólico, la dosis que logro una mejor disminución de los niveles de presión arterial (PAS, PAD y PAM) fue de 100mg/kg ($p < 0.0001$), con porcentajes de 35.7%, 34.9% y 37% respectivamente. (figuras 4 ,5 y 6).

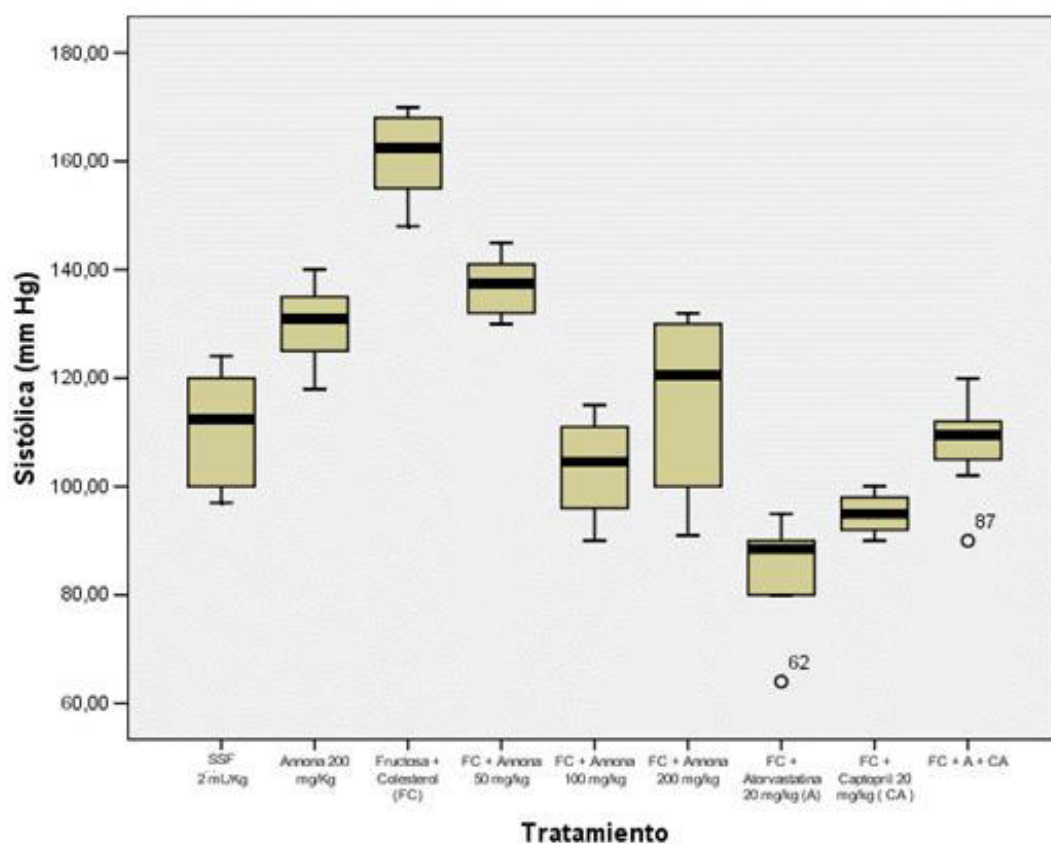


Figura 4. Niveles de presión arterial sistólica en ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

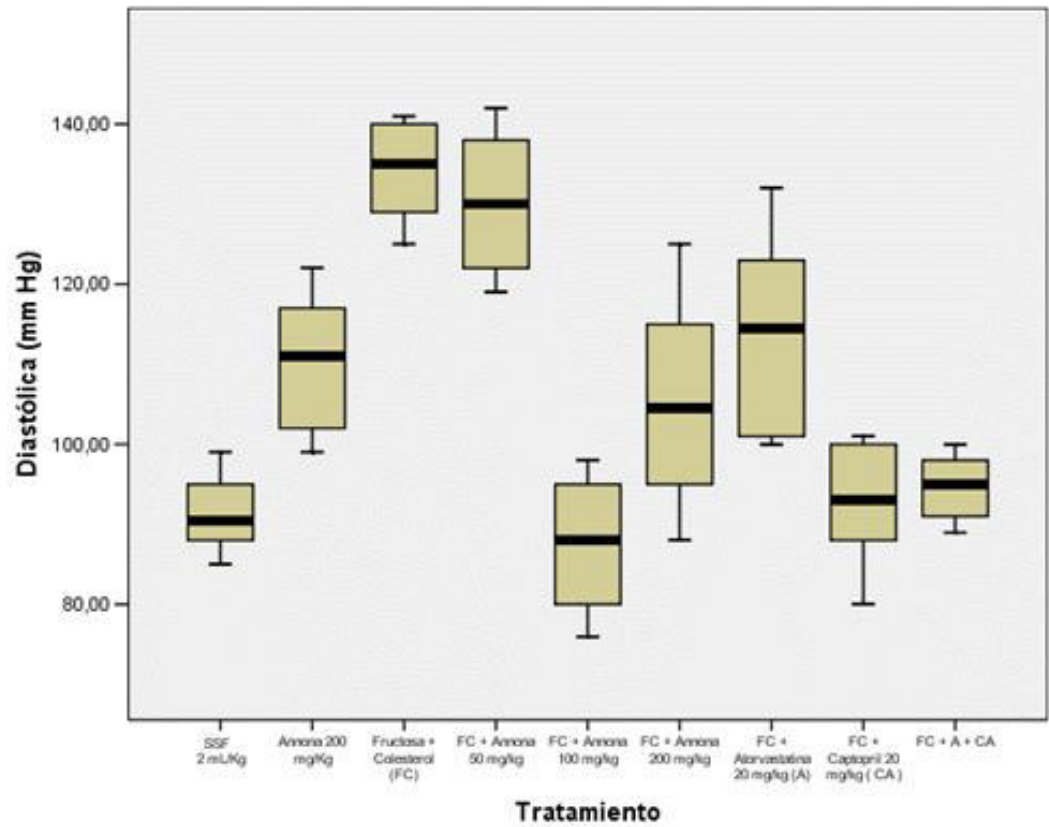


Figura 5. Niveles de presión arterial diastólica en ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

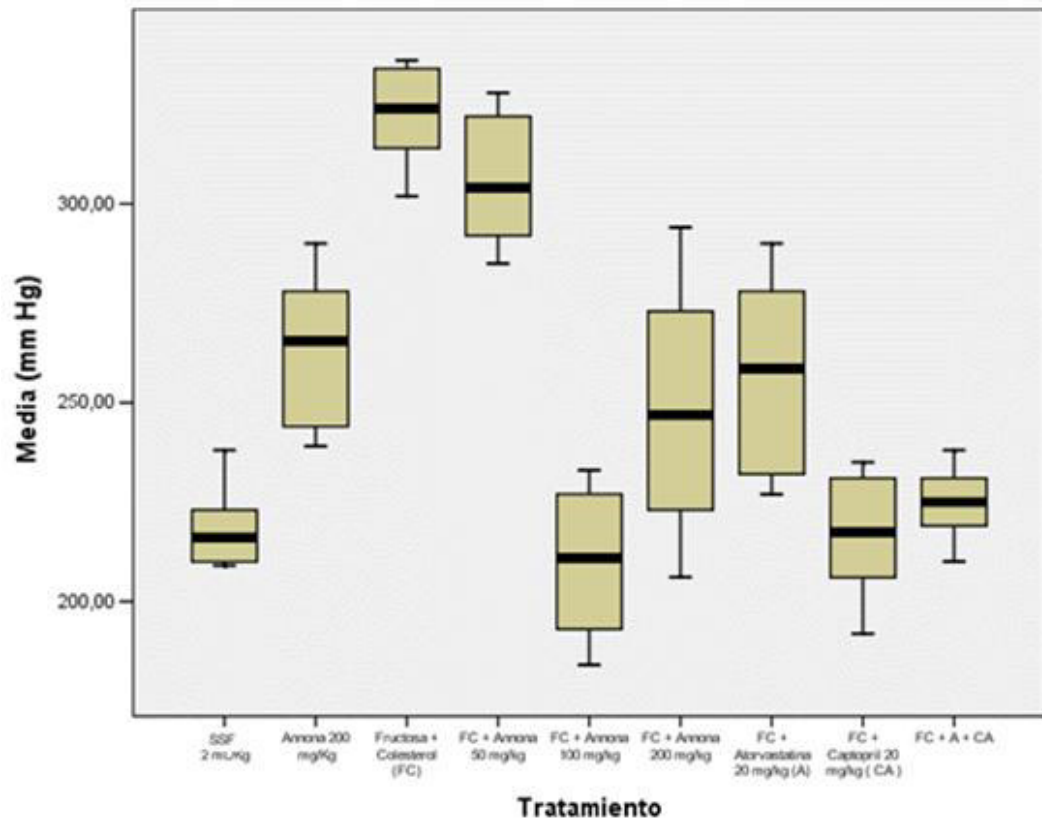


Figura 6. Niveles de presión arterial media en ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

4.4 Resultado de los niveles de colesterol, LDL, VLDL, triglicéridos y HDL

Los animales con inducción del síndrome metabólico muestran un aumento del colesterol (CT), lipoproteína de baja densidad (LDL-c), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL-c) y triglicéridos (TG), los grupos que recibieron tratamiento de fructosa más colesterol más *A. muricata* L. lograron disminución de los parámetros descritos con dosis de 100mg/kg ($p < 0.0001$) y 200mg/kg ($p < 0.0001$) y 50mg/kg ($p < 0.0001$). Asimismo, los grupos que recibieron tratamiento presentaron aumento de la lipoproteína de alta densidad (HDL-c) con dosis de 50mg/kg ($p < 0.0001$). (figuras 7, 8, 9, 10 y 11).

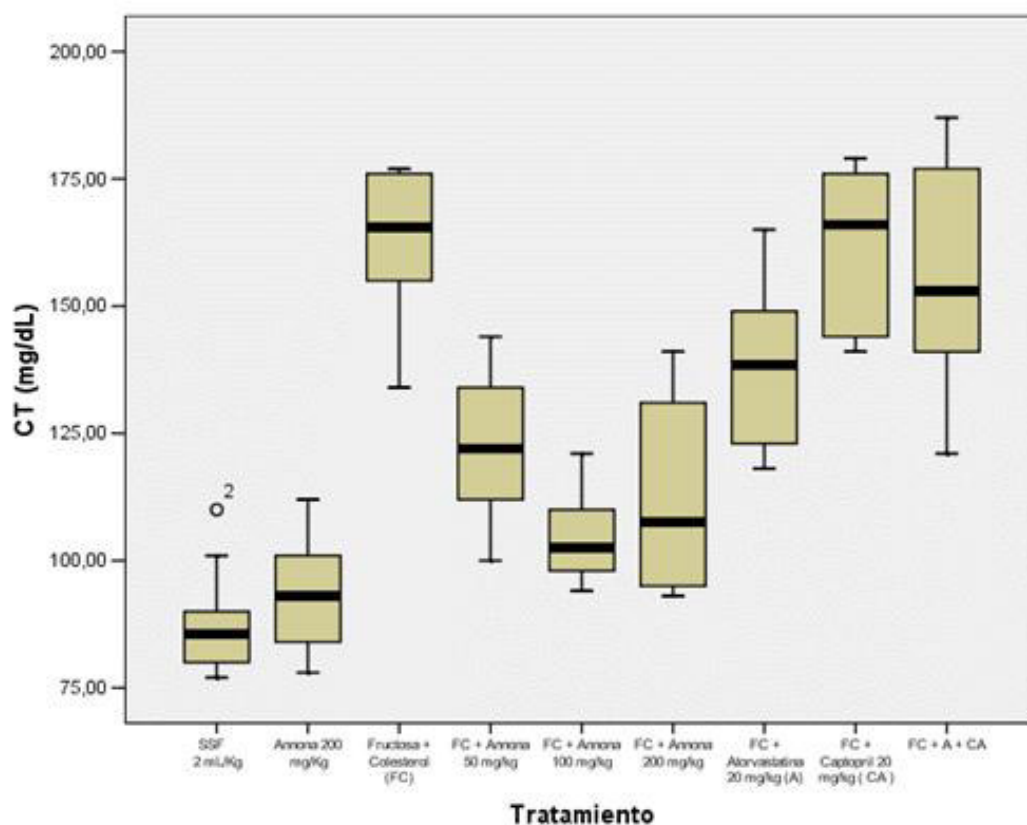


Figura 7. Niveles de colesterol en las ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 200mg/kg y 100mg/kg $P < 0.0001$

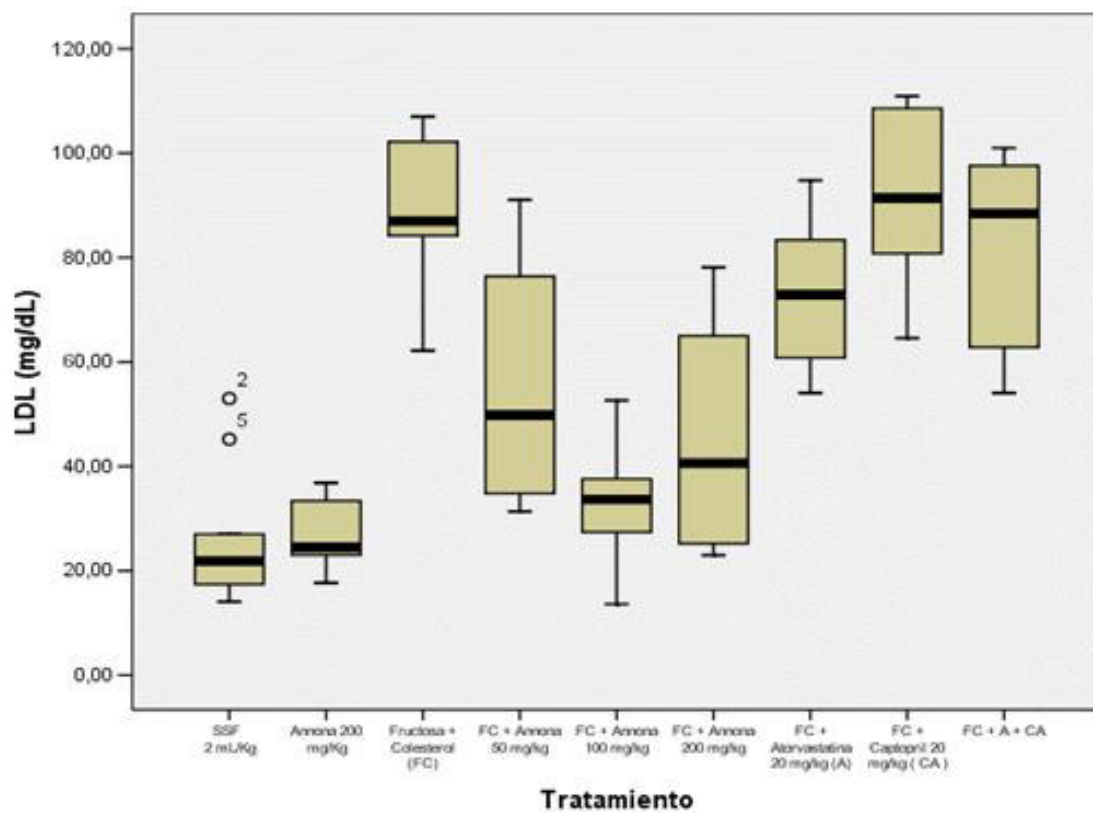


Figura 8. Niveles de LDL en las ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 200mg/kg y 100mg/kg $P < 0.0001$

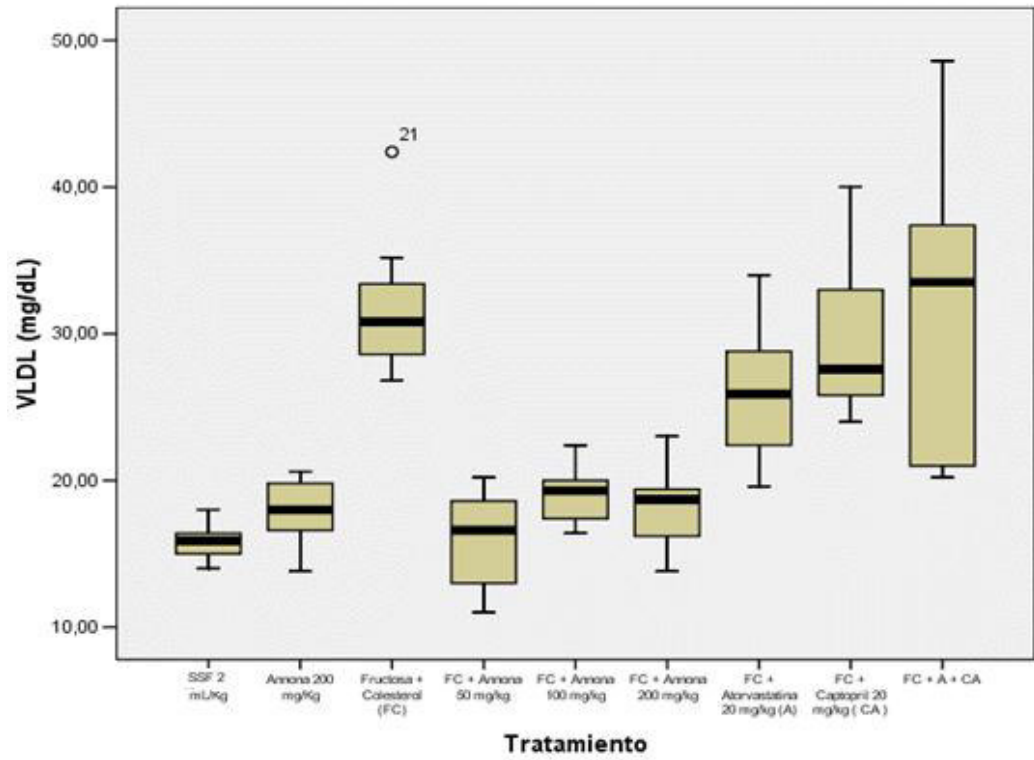


Figura 9. Niveles de VLDL en las ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 200mg/kg y 100mg/kg $P < 0.0001$

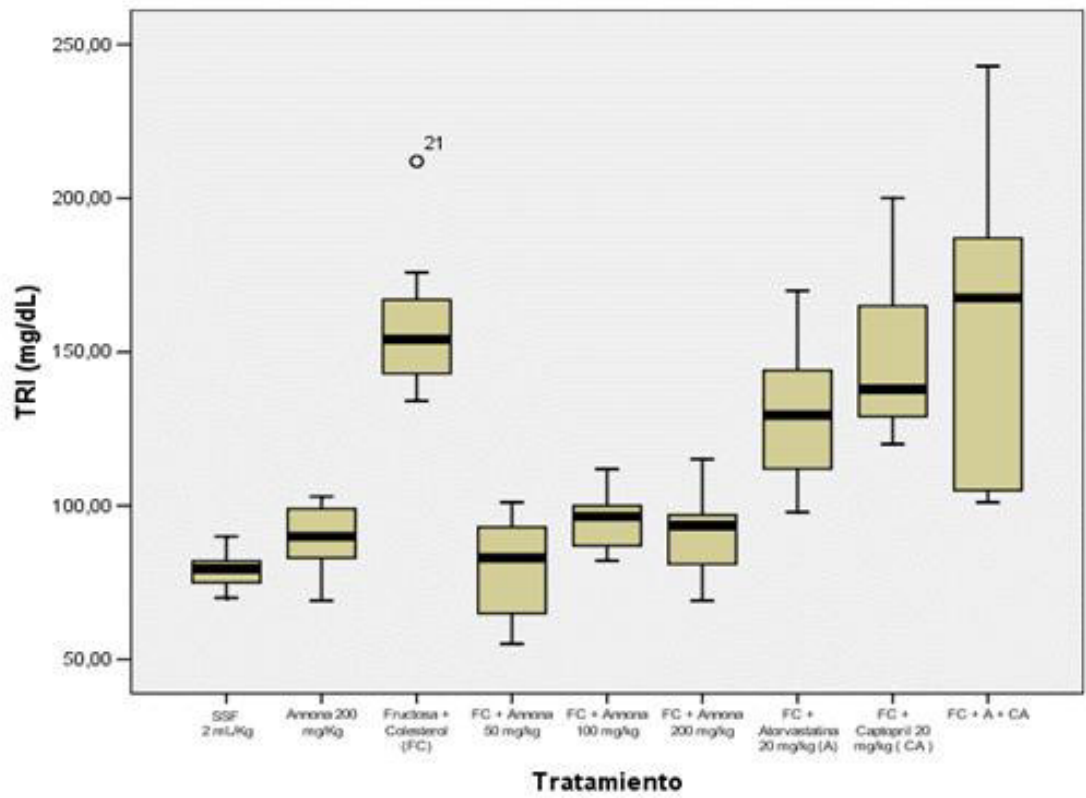


Figura 10. Niveles de TRI en las ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 200mg/kg y 100mg/kg $P < 0.0001$

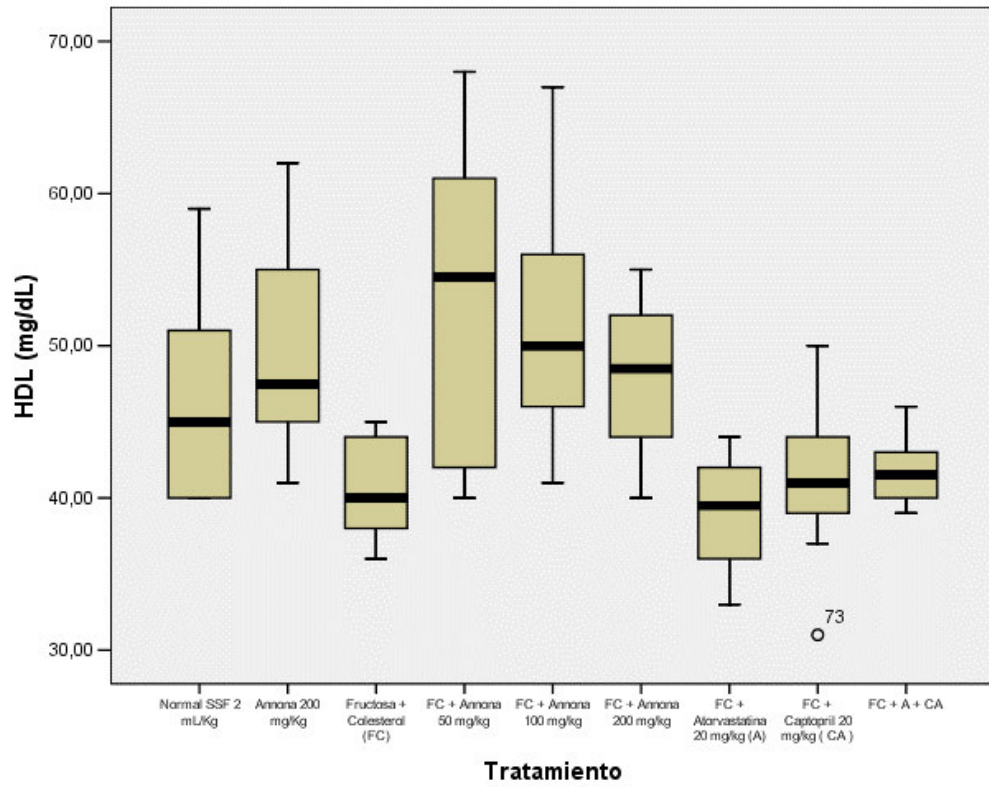


Figura 11. Niveles de HDL en las ratas con inducción del síndrome metabólico. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 50mg/kg $P < 0.0001$

4.5 Análisis, Interpretación y Discusión de Resultados

El presente estudio demostró el efecto preventivo del tratamiento del extracto etanólico de hojas de *A. muricata* L. en ratas con síndrome metabólico. Los hallazgos han demostrado una disminución del peso corporal, disminución de los niveles de glucosa, disminución de los niveles de presión arterial y disminución de los niveles de colesterol.

La inducción de la patología se realizó según el método de Ferreira de Moura R, modificado por Arroyo J. El mecanismo por el cual se produce el síndrome metabólico es debido que la ingesta de fructosa altera el metabolismo de glucosa a nivel hepático y la captación de glucosa generando una lipogénesis hepática y síntesis de triglicéridos. Las complicaciones desarrolladas por dietas ricas en grasa se parecen al SM desarrollado en humano que incluye aumento de peso, aumento de la presión arterial, esteatosis hepática, hiperglucemia e intolerancia de la glucosa. (Ferreira de Moura R et al., 2008; Arroyo J and Braulio C).

El peso corporal se ha visto disminuido en 10.2% al utilizar extracto etanólico de *A. muricata* en dosis de 200mg/ de kg, $p < 0.0001$ (figura 1 y tabla 4); El estudio fitoquímico preliminar ha revelado la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, compuestos fenólicos y glicósidos, quienes podrían estar jugando un rol en el peso corporal (Palomino, C 2007). Además, podría estar relacionado a la presencia compuestos flavonoides triglicósidos como: la quercetina 3-O- α -rhamnosyl-(1-6)- β -sophoroside, ácido gálico, epicatechin, kaempferol 3-O-rutinoside, quercetina 3-O-glucosida y kaempferol. (Nawwar M, et al, 2012) Diversos estudios evidenciaron que animales que recibieron quercetina produjo una disminución del peso corporal, disminución de la acumulación de grasa a nivel hepático e intestinal así como también mejoro la hiperglicemia, hiperinsulinemia y la dislipidemia después que

recibieron una dieta con alto contenido calórico, colesterol y sucrosa los cuales desarrollaron obesidad y síndrome metabólico. (Nabani S et al, 2015).

La quercetina actúa mejorando la concentración de adipopectina, es conocido que los niveles de esta sustancia son inversamente proporcionales al índice de masa corporal (IMC) y el porcentaje de grasa corporal. Por otro lado, la quercetina en el hígado previene la disminución de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa 1 (Gpx1) y el proliferador del peroxisoma activado tipo alfa (PPAR α), que está implicado en la beta oxidación de los ácidos grasos, reduce la acumulación de grasa y mejora la expresión de otros genes que regula el metabolismo de lípidos, transporte mitocondrial y el metabolismo de glucosa. Además, quercetina induce la expresión del factor de transcripción PPAR γ que regula la acumulación de grasa a nivel hepático, el factor de transcripción de elementos reguladores de esteroil unido a proteína-1c (SREBP-1c) y del fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) que regula la gluconeogénesis. (Inoue M et al, 2005; Sekiya M et al, 2008; Jung Ch et al., 2013). Al presente no se ha encontrado estudios relacionados con las hojas de *A. muricata* L relacionado a la disminución del peso corporal en animales.

En la figura 2 y 3 se observa una mejor disminución de los niveles de glucosa y hemoglobina glicosilada en animales que recibieron el extracto etanólico de *A. muricata* L a dosis de 200mg/kg ($p < 0.0001$). El efecto hipoglucémico se explica por la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides. (Arroyo J y col., 2004; Palomino C, 2007). Diversos estudios han demostrado que los flavonoides actúan como sensibilizadores de la insulina activando los receptores de proliferador peroxisoma tipo gamma (PPAR γ) o en la cascada de transducción de señal de insulina que es activado por el receptor de insulina tirosin kinasa, como potenciadores de las incretinas, moduladores de la absorción de carbohidratos en el

intestino y en el metabolismo de transporte de carbohidratos. (Wilcox L, et al., 2001). Se ha evidenciado que las flavonas, flavononas e isoflavonas tales como 7 hidroxibenzopirano-4-ol es la clave farmacológica, debido a que actúan como sensibilizadores de la insulina y mejorando la captación de glucosa. (Matin A et al., 2009).

Los flavonoides potencian la acción de las incretinas y actúan como agonistas del receptor GLP-1; se sabe que las incretinas son hormonas peptídicas intestinales que son rápidamente secretadas en respuesta a la comida. Las dos principales incretinas son el polipéptido insulínico (GIP) y el péptido similar al glucagón 1 (GLP-1). Las incretinas forman parte de un sistema endógeno que participa en la regulación fisiológica de la homeostasis de la glucosa. Si las concentraciones de glucosa son normales o elevadas, el GLP-1 y el GIP aumentan la síntesis y liberación de insulina de las células β pancreáticas mediante vías de señalización intracelulares en las que interviene el AMP cíclico (Koole C et al., 2010; Wootten D et al., 2011).

Los flavonoides (luteolina, miricetina y quercetina) podrían también actuar a través de muchos "targets" tales como: glucocinasa (GK), glucosa-6-fosfato (G6P), fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBP), fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK), transportador de glucosa (GUT), fosforilasa glicógeno (GP) y transportador de sodio glucosa (SGLT) que regulan el metabolismo de la glucosa. (Prince P & Kamalakkannan N., 2006; Ho L, Kulkarni S & Lee JC, 2011)

Un estudio previo en ratas aloxanizadas donde se administró extracto etanólico de hojas de *A. muricata* L. a dosis de 200mg/kg se observó una reducción del 26.83% de la glicemia a las 72 h (Palomino C, 2007); mencionándose que a la fecha no se han encontrado trabajos de investigación relacionados.

Los datos obtenidos de la presente investigación revelan que el extracto etanólico de hojas de *A. muricata* L. disminuyó los niveles de presión arterial sistólica, diastólica y media a dosis de 100mg/kg ($p < 0.0001$), figura (4, 5 y 6). El efecto posiblemente se deba a los compuestos alcaloides presente en las hojas de la planta. Los alcaloides como isoquinolina, coreximina y anomurina han demostrado su efecto depresor en la presión arterial. Los aceites esenciales como β cariofileno, δ cadineno, epi- α -cadinol y α -cadinol en la guanábana se ha descrito que poseen actividad vasodilatadora e hipotensora. (Kossouh C, et al., 2007).

Un estudio farmacológico *In vitro* e *In vivo* realizado con el extracto acuoso de las hojas de *A. muricata* L. mostro un efecto hipotensor, pero no se detalla un porcentaje de la disminución de la presión arterial; pero se explica el posible mecanismo hipotensor, pudiendo ser a través del bloqueo de canales de calcio y este efecto antagonista del canal de Ca^{+2} fue demostrado por la habilidad de relajar los canales de K^{+} los cuales inducen contracción. Otros estudios demostraron que los flavonoides contenidos en las plantas estarían disminuyendo la presión arterial, citando el caso de la quercetina quien ejercería el efecto reduciendo el estrés oxidativo, así como también, por medio de sus metabolitos (siendo el principal quercetina-3-O-glucurónido) al inhibir la contracción vascular. (Chukwuemeka R et al., 2012).

Los datos obtenidos de la presente investigación revelan que el extracto etanólico de hojas de *A. muricata* L. disminuyó los niveles de colesterol (CT), lipoproteína de baja densidad (LDL-c), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL-c) y triglicéridos (TG), a dosis de 100mg y 200mg/kg ($p < 0.0001$), figura (7, 8, 9, 10) y aumento los niveles de lipoproteína de alta densidad HDL a dosis de 50mg/kg ($p < 0.001$) (figura 11).

La actividad hipolipemiente, se explica con lo reportado por Duchnowicz P et al., 2012, quienes realizaron un estudio *in vitro* para evaluar el efecto hipolipidémico y antioxidante de cuatro polifenoles en muestras de sangre de pacientes con hipercolesterolemia: quercetina, ácido ferúlico, ácido hidroxicinámico y cianidin 3-glucósido, los resultados mostraron que la quercetina y cianidin 3-glucósido redujeron las concentraciones de colesterol en un 75% (a una concentración de 10u/ml) y 69% (a una concentración de 100u/ml). Además, un estudio realizado por Furuyashiki T et al., 2004, demostraron que los flavonoides como las catequinas encontrados en la guanábana y el té actuarían suprimiendo la diferenciación de adipocitos a través de la regulación de los PPAR γ , del factor de transcripción unido a proteína alfa y transportador de glucosa. Asimismo, un estudio realizado por Verma P et al., 2012, evidencio que la presencia de polifenoles y diversos flavonoides están implicados en el metabolismo del colesterol que actuarían como la enzima reductasa HMG-CoA, lecitina colesterol acil transferasa, colesterol 7 alfa hidroxilasa e inhibidores del acil CoA-colesterol-O acil transferesa (ACAT).

Goldwasser J et al., 2010, encontró que el flavonoide naringenina del pomelo normaliza los lípidos en diabetes e hipercolesterolemia mediante la activación de peroxisoma proliferador activado del receptor (PPAR). Asimismo, la activación de las vías PPAR han sido propuestas por sus acciones antidiabéticas e hipolipemiantes de las isoflavonas vistas en la soya.

El presente estudio ha demostrado que el extracto etanólico de las hojas de *A. muricata* L presenta un efecto preventivo de síndrome metabólico al disminuir el peso corporal, niveles de glucosa, presión arterial y colesterol y aumento de los niveles de HDL. Por lo tanto, la evidencia generada de la investigación formula que las hojas de guanábana podría ser utilizado como tratamiento coadyuvante en la enfermedad estudiada.

4.6 Pruebas de hipótesis

En la presente investigación se ha utilizado el análisis de varianza (ANOVA) con la finalidad de hacer un análisis de comparación de grupo de los tratamientos administrados y así poder aceptar o rechazar la hipótesis nula o alterna. El resultado obtenido permite rechazar la hipótesis nula.

4.7 Presentación de Resultados

La presentación de resultados se encuentra en los Anexos

CONCLUSIONES

1. Se ha demostrado disminución del peso corporal dosis independiente al administrar extracto etanólico de *A. muricata* L en ratas con inducción del síndrome metabólico.
2. El extracto etanólico de *A. muricata* L a 200mg/kg mostro una mejor disminución de los niveles de glucosa y de HbA1c en ratas con inducción del síndrome metabólico.
3. La disminución de los niveles de presión arterial sistólica, diastólica y media se logró a 100mg/kg *cuando* se administró por vía oral el extracto etanólico de *A. muricata* L en ratas con inducción del síndrome metabólico.
4. Se ha evidenciado que el extracto etanólico de *A. muricata* L redujo los niveles de colesterol, LDL, VLDL, triglicéridos con dosis de 100mg y 200mg/kg e incremento las concentraciones de HDL a dosis de 50mg/kg.
5. El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) es preventivo del síndrome metabólico inducido en ratas por colesterol más fructosa.

RECOMENDACIONES

1. Profundizar la investigación realizando un ensayo clínico para comprobar la eficacia y seguridad en sujetos.
2. Desarrollar una fórmula farmacéutica del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L para realizar estudios clínicos iniciales que validen su potencial efecto en el síndrome metabólico.
3. Realizar estudios fármaco-económicos de productos naturales y medicamentos indicados para el tratamiento de síndrome metabólico para implementarlos dentro una terapia preventiva.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Arroyo J, Martínez J, Ronceros G, Palomino R, Villarreal A, Bonilla P y col. (2009). Efecto hipoglicémico coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclámda. *Anales de la Facultad de Medicina*, 70(3), pp. 163 – 167.

Adewole SO, & Caxton-Martins EA. (2006). Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic B-cells of Streptozotocin-treated diabetic rats. *Afr J Biomed Res*, (9), pp.173–187.

Adewole SO & Ojewole JAO. (2009). Protective effects of *Annona Muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 6(1), pp.30–41.

Arroyo J y Cisneros B. (2012). Modelos de Experimentales de Investigación Farmacológica. Perú: Ediciones ASDIMOR S.A.C.

Arthur F, Woode E, Terlabi E & Larbie C. (2011). Evaluation of acute and subchronic toxicity of *Annona Muricata* (Linn.) aqueous extract in animals. *Euro. J. Exp. Bio*, 1(4), pp. 115-124.

Alberti K, Zimmet P & Shaw J. (2006). Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med*, 23, pp.469–480.

Arroyo J, Rojas J y Chenguayen J. (2004). Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. Lima-Perú: Editor Publicaciones ASDIMOR.

Arango G. (2008). Alcaloides y compuestos nitrogenados. Recuperado de: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/alcaloides.pdf>.

Arroyo J, Rojas J, Ruez E, Ronceros G, Bonilla P, Li E. (2004). Influencia de los compuestos fenólicos y triterpenoides de *Annona muricata* más *Krameria lappacea* sobre el proceso inflamatorio crónico a nivel preclínico y clínico. *An Fac Med*, 65(1):36.

Barrera M, Pinilla A, Cortés E, Mora G y Rodríguez M. (2008). Síndrome metabólico: una mirada interdisciplinaria. *Revista colombiana de cardiología*, 15(3), pp.111 – 126.

Baskar R, Rajeswari V & Kumar TS. (2007). In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species. *Indian J Exp Biol*, 45(5), pp.480–485.

Barriga R. (1994). "Plantas Útiles de la Amazonia Peruana". Iquitos: Editor CONCYTEC.

Chukwuemeka R, Daniel U, Angeline G, Karen T, Garsha McCalla, Raymond O; et al. (2012). Possible mechanisms of action of the hypotensive effect of *Annona muricata* (soursop) in normotensive Sprague–Dawley rats. *Pharmaceutical Biology*, pp.1744-5116.

Coello E, Blanco N y Reyes Y (2012). Los paradigmas cuantitativos y cualitativos en el conocimiento de las ciencias médicas con enfoque filosófico-epistemológico. *Edumecentro*, 4(2), pp. 137-46

Comos J, Murillo M. Obesidad y síndrome metabólico. (2011). *Protoc diagn ter pediatr*, 1, pp. 228 - 235.

Cronquist, A. (1988). The evolution and classification of flowering plants. 2^a edition. New York Botanical Garden, Bronx.

Duchnowicz P, Bronced M, Podsedek A, Koter Michalak M. (2012). Hypolipidemic and antioxidant effects of hydroxycinnamic acids, quercetin and cyaniding 3-glucoside in hypercholesterolemic erythrocytes (in vitro Stuy). *Eur J Nutr*, 51(4),435-43.

Eckel R, Grundy S & Zimmet P (2010). The metabolic syndrome. *The Lancet*, 375, pp 1415-1428.

ElKhoury C, Cuda B, Luhovyy C & Anderson G. (2012). Beta Glucan: Health Benefits in Obesity and Metabolic Syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 851362, pp. 1 – 28.

Ferreira de Moura R, Ribeiro C, Aparecida de Oliveira J, Stevanato E & Rostom de Mello M. (2009). Metabolic syndrome

signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *British Journal of Nutrition*, 101, pp. 1178 – 1184.

Furuyashiki T, Nagayasu H, Aoki Y, Bessho H, Hashimoto T, Kanazawa K, et al. (2004). Tea catechin suppresses adiposity differentiation accompanied by down regulation of PPAR γ 2 and C/EBP α in 3T3-L1 cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 68(11), 2353-9.

Ford ES, Li C, Zhao G, Pearson WS & Mokdad AH. (2008). Prevalence of the metabolic syndrome among US adolescents using the definition from the international diabetes federation. *Diabetes Care*, 31, pp. 587–589.

Gupta A, Gupta R, Sarna M, Rastogi S, Gupta VP, Kothari K (2003) Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and insulin resistance syndrome in an urban Indian population. *Diabetes Res Clin Pract*, 61, pp.69–76.

González A, Alexánder E, Alvarado R, Becerra A, Camacho J, Carmona F. y col. (2002). Consenso Mexicano sobre el Tratamiento Integral del Síndrome Metabólico. *Rev Mex Cardiol*, 13 (1), pp. 4-30.

Goldwasser J, Cohen P, Yang E, Balaguer P, Yarmush M, Nahmias Y. (2010). Transcriptional regulation of human and rat hepatic lipid metabolism by regulation flavonoid naringenina: role of PPAR α , PPAR γ and LXR α . *Plos One*, 5(8): e1233.

Hamizah S, Fezah O, Tan K, Tor Y & Tan C. (2012). Chemopreventive Potential of *Annona Muricata* L Leaves on Chemically-Induced Skin Papillomagenesis in Mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13, pp. 2533 – 2539.

Hernández R. (2010). Metodología de la Investigación. México: Editor Mc Graw – Hill Interamericana.

Ho L, Kulkarni S & Lee JC (2011). Development of sodium dependent glucose co-transporter 2 inhibitors as potential anti diabetic therapeutics. *Curr Top Med Chem*, 11(12), 1476-512.

Inoue M, Ohtake T, Motomura W, Takahashi N, Hosoki Y, Miyoshi S, et al. (2005). Increased expression of PPAR γ in high fat diet

induced liver steatosis in mice. *Biochem Biophys Res Commun*; 336(1), 251-222.

Jung Ch, Cho I, Ahn J, Jeon T & Ha T. (2013). Quercetin reduces high-fat diet induced fat accumulation in the liver by regulation lipid metabolism genes. *Phytother*, 27(1), 139-43.

Jung U, Lee M, Park Y, Kang M, Choi M. (2006) Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose regulation enzyme mRNA level type 2 diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol*, 38(7):1134-45.

Kaur N & Gupta A. (2002). Applications of inulin and oligofructose health and nutrition. *J Biosci*, (27), pp. 703-714.

Krentz A & Bailey C. (2005) Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drug*, 65(3):385-411.

Koole C, Wootten D, Simms J, Valant C, Sridhar R, Woodman Ol, et al. (2010). Allosteric ligands of the glucagon like peptide 1 receptor (GLP-1R) differentially modulate endogenous and exogenous peptide responses in a pathway selective manner: implications for drug screening. *Mol Pharmacol*, 78(3): 456-65.

Kossouh C, Moudachirou M, Adjakide V, Chalcat J, Figueredo G. (2007). Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. leaves from Benin. *J Essen Oil Res*, 19, 307-309.

Lim T (2012). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. Springer, 978-90, pp.481-8661.

Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. (2002). The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*, 288, pp.2709–2716

Lock De Ugaz O. (1988). *Investigación Fitoquímica – Métodos en el estudio de Productos Naturales*. Lima: Editor Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.

Metabolic Syndrome. (2012). National Institute Health from USA. Recuperado de: <http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms/>

Morón F, Morón D y Nodarse M. (2010). Valoración de la evidencia científica para recomendar *Annona muricata* L.

(guanábana) como tratamiento o prevención del cáncer. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(3), pp. 169-181.

Matin A, Gavande N, Kim M, Yang NX, Salam NK, Hanrahan J, et al. (2009). 7-Hydroxy-benzopyran-4-one derivatives: a novel pharmacophore of peroxisome proliferator activated receptor α and γ (PPAR α and γ) dual agonist. *J Med Chem*, 52 (21): 6835-50.

Nawwar M, Ayoub M, Hussein S, Hashim A, El-Sharawy R, Wende K, et al. (2012). Flavonol triglycoside and investigation of the antioxidant and cell stimulating activities of *Annona muricata* linn. *Arch Pharm*. 35, 761-767.

Nabani S, Russo G, Daglia M & Nabavi M. (2015). Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat! *Food Chem*. 179, 305-310.

Oviedo V, García M, Díaz C, Marder M, Costa M, Rincón J, et al. (2009). Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm*, 38 (1), pp. 105-120.

Palomino C. (2007). Efecto del extracto etanólico de hojas *Annona muricata* L. ("guanábana") sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. Tesis de maestría, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.

Pereira L, Bezerra D & Mandarim-de-Lacerda C. (2004). Aortic wall remodeling in rats with nitric oxide deficiency treated by enalapril or verapamil. *Pathology Research and Practice*, 200, pp.211-217.

Pajuelo J y Sánchez J. (2007). El Síndrome metabólico en adultos, en el Perú. *Anales de la Facultad de Medicina*, 68(1), pp.38 – 46.

Prince P & Kamalakkannan N. (2006). Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes. *J Biochem Mol Toxicol*, 20(2):96-102.

Quispe A, Zavala D, Posso M, Rojas J and Vaisberg A. (2007). Efecto citotóxico de *Annona muricata* (guanábana) en cultivo de

líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar. *Sociedad Científica de San Fernando*, 12, pp.19-21.

Ramon J, Rosser L y Montserrat B. (2009). Actualización en Farmacológica. *Fundación Institut Catalá de Farmacología*, 6, pp. 9-14.

Rutter RA. (1990). "Catálogo de Plantas Útiles de la Amazonia Peruana". Lima: Editor CONCYTEC.

Syahida M, Maskat M, Suri Y, Mamot S & Hadijah H. (2012). Soursop (*Anona muricata* L.): Blood hematology and serum biochemistry of Sprague-Dawley rats. *International Food Research Journal*, 19 (3), pp. 955 – 959.

Soumya P, Choudary KA, Lopamudra D, Avijeet J. (2009). Plants in traditional Medicinal System-Future Source of New Drugs. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical*, 1(1):1-23

Solis A, Luna H, Perez H, Manjarrez N. (2003). Evaluation of guanabana (*Annona muricata*) seed meals as a source of (S)-oxynitrilase. *Tetrahedron: Asymmetry*, 14: 2351-2353.

Sekiya M, Hiraishi A, Touyama M, Sakamoto K. (2008). Oxidative stress induced lipid accumulation via SREBP1c activation in HepG2 cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 375(4), 602-7.

Tadera K, Minami Y, Takamaysu K, Matsuoka T.(2006) Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol*, 52(2):149-53.

Wilcox L, Borrdale N, Dreu L, Huff M. (2001). Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. *J Lipid Res*, 42(5), 725-34.

Wootten D, Simms J, Koole C, Woodman OI, Summers R, Christopoulos A, et al. (2011). Modulation of the glucagon like peptide-1 receptor signaling by naturally occurring and synthetic flavonoids. *J Pharmacol Exp Ther*, 336(2), 540-50.

Verma P, Deshpande S, Kamtham N, Vaidya L. (2012). Hypolipidemic and antihyperlipidemic effects from an aqueous extract of *Pachyptera hymenaea* (DC) leaves in rats. *Food Chem*, 132(3), 1251-7

ANEXOS

Tabla 4. Comparación del peso corporal semana cero versus semana 13

| Semana | Tratamiento | Media | Desviación estandar | Porcentaje Variación | Intervalo de confianza al 95% | | Minimo | Maximo |
|--------|---------------------------------|--------|---------------------|----------------------|-------------------------------|------------|--------|--------|
| P-0 | Normal SSF 2 mL/Kg | 210.3 | 2.477678125 | 0.0 | 245.895103 | 257.104897 | 239 | 261 |
| | Annona 200 mg/Kg | 214.2 | 2.477678125 | 0.0 | 245.895103 | 257.104897 | 239 | 261 |
| | Fructosa + Colesterol (FC) | 215.3 | 5.627413063 | 0.0 | 202.569907 | 228.030093 | 180 | 237 |
| | FC + Annona 50 mg/kg | 218.2 | 6.373207809 | -1.3 | 203.782802 | 232.617198 | 180 | 247 |
| | FC + Annona 100 mg/kg | 219.4 | 5.983681513 | -1.9 | 205.863972 | 232.936028 | 185 | 242 |
| | FC + Annona 200 mg/kg | 185.9 | 4.450842617 | 13.7 | 175.831494 | 195.968506 | 166 | 213 |
| | FC + Atorvastatina 20 mg/kg (A) | 199.3 | 4.993440141 | 7.4 | 188.004054 | 210.595946 | 180 | 227 |
| | FC + Enalapril 20 mg/kg (E) | 258.1 | 8.145141701 | -19.9 | 239.674409 | 276.525591 | 220 | 300 |
| | FC + A + E | 223.4 | 6.605048574 | -3.8 | 208.458342 | 238.341658 | 185 | 252 |
| P-13 | Normal SSF 2 mL/Kg | 310.4 | 7.577745194 | 0.0 | 348.857949 | 383.142051 | 324 | 398 |
| | Annona 200 mg/Kg | 320 | 7.516574279 | 0.0 | 340.896328 | 374.903672 | 311 | 384 |
| | Fructosa + Colesterol (FC) | 332.6 | 7.783458243 | 0.0 | 314.992594 | 350.207406 | 291 | 365 |
| | FC + Annona 50 mg/kg | 320 | 11.14894116 | 6.8 | 284.879343 | 335.320657 | 246 | 345 |
| | FC + Annona 100 mg/kg | 324 | 9.025888691 | 2.6 | 303.582021 | 344.417979 | 271 | 374 |
| | FC + Annona 200 mg/kg | 298.70 | 8.189491912 | 10.2 | 280.174082 | 317.225918 | 254 | 339 |
| | FC + Atorvastatina 20 mg/kg (A) | 321.50 | 5.762426187 | 3.3 | 308.464486 | 334.535514 | 296 | 353 |
| | FC + Enalapril 20 mg/kg (E) | 329.10 | 6.778151174 | 1.1 | 313.766757 | 344.433243 | 300 | 358 |
| | FC + A + E | 313.60 | 8.938307073 | 5.7 | 293.380145 | 333.819855 | 267 | 356 |

Cada grupo con n=10 y p<0.000

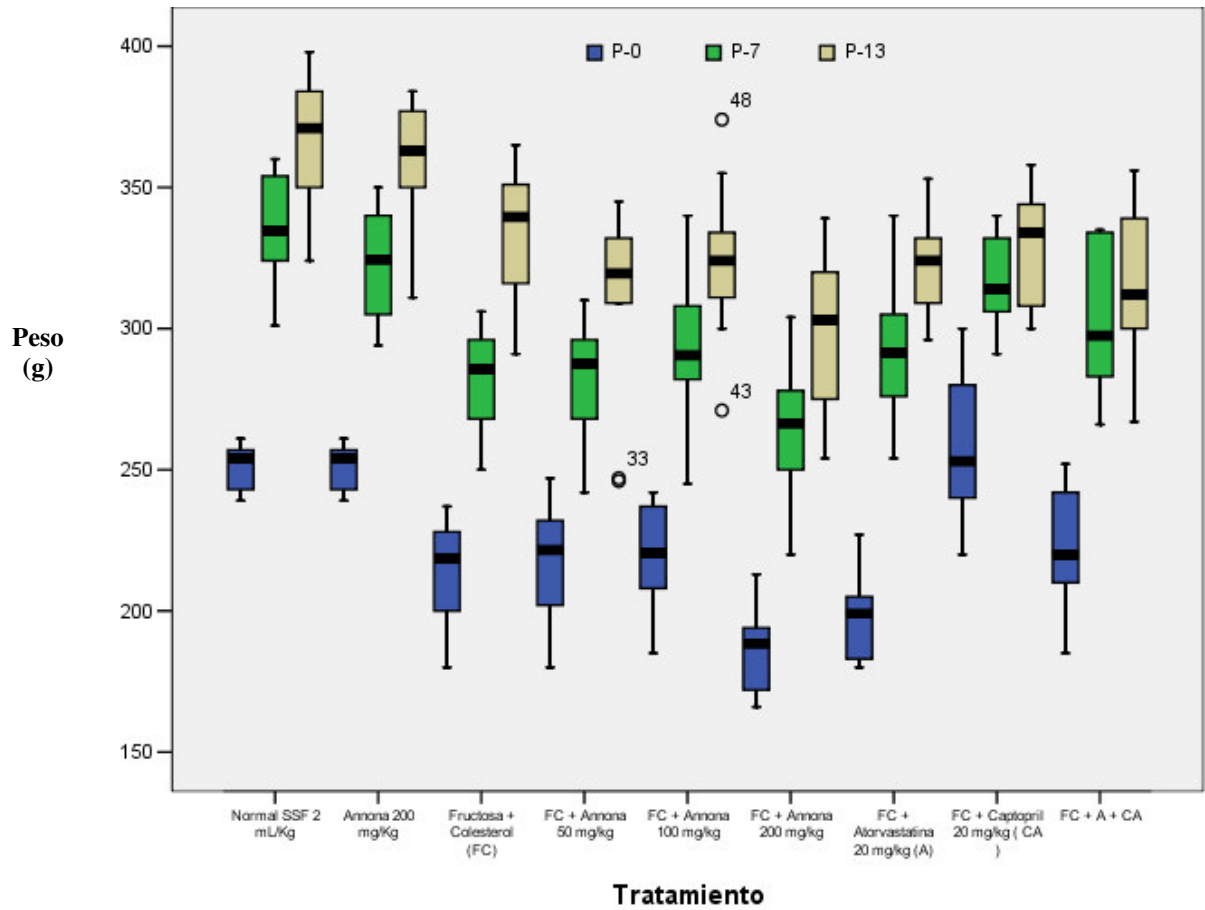


Figura 12. Disminución del peso corporal a la semana 7 y semana 13. Análisis estadístico con ANOVA. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

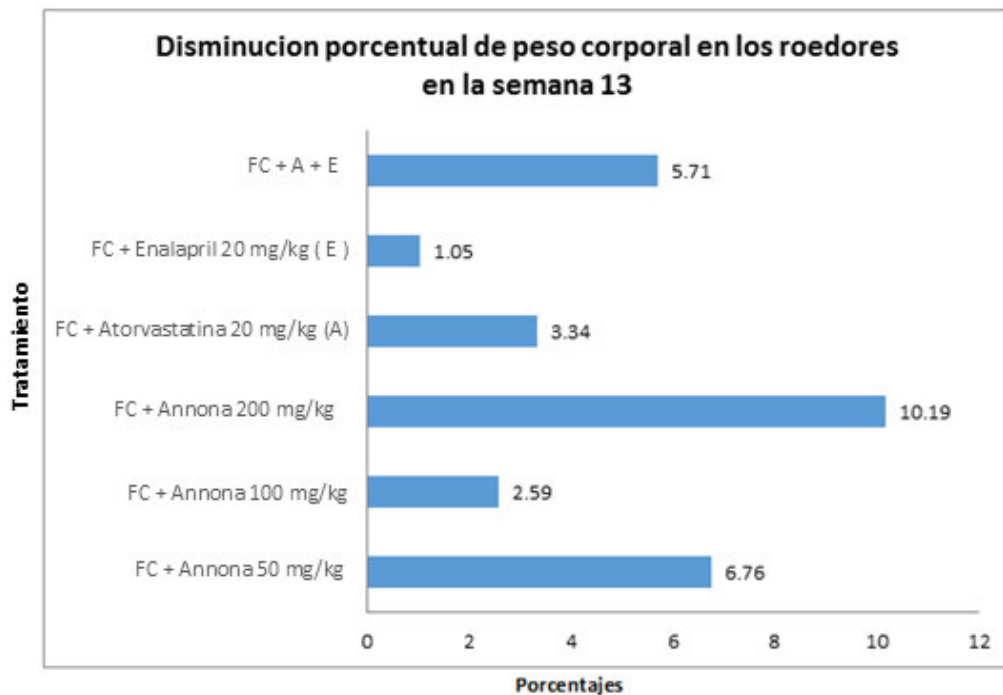


Figura 13. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

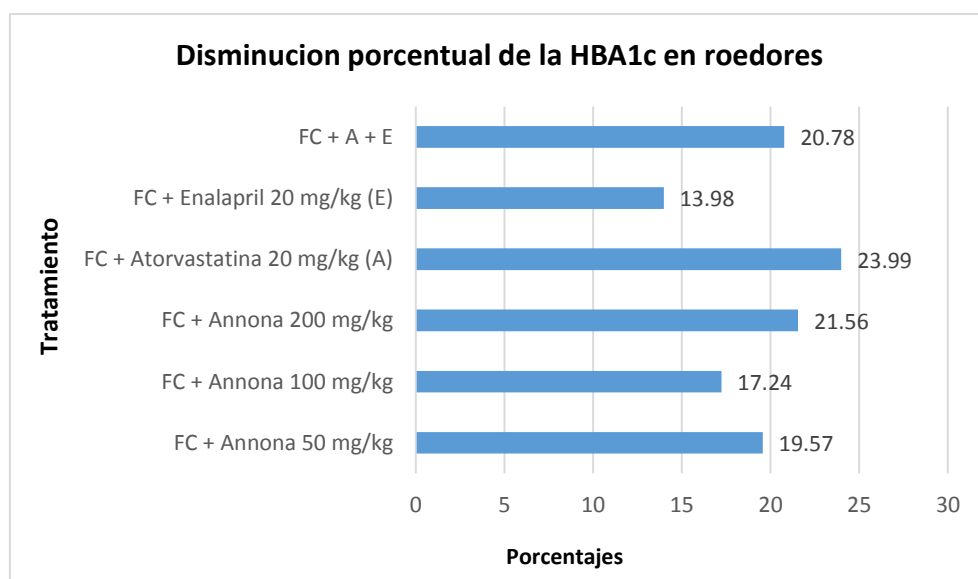


Figura 14. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 200mg/kg $P < 0.0001$

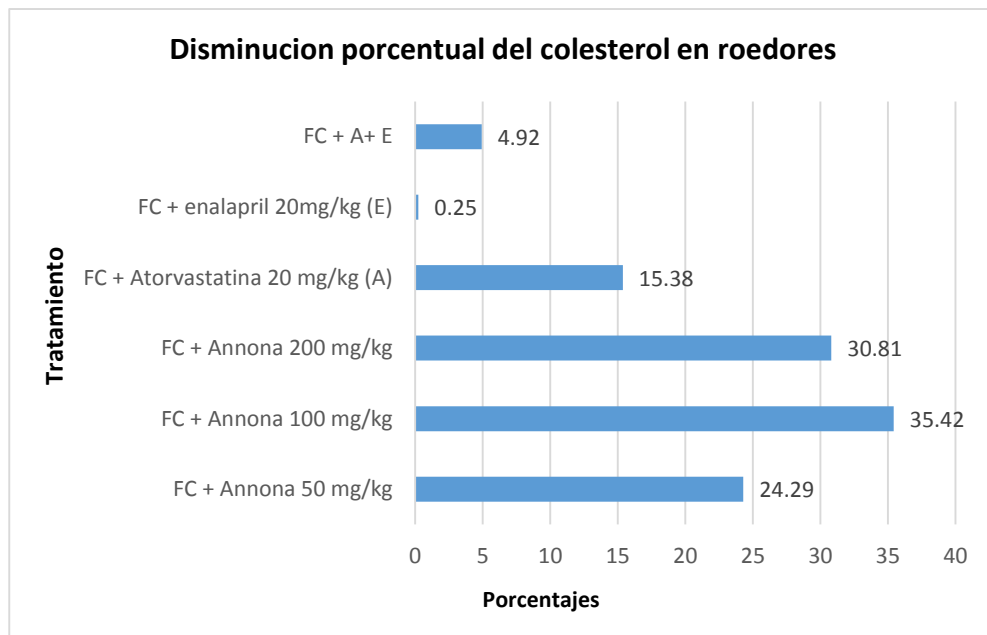


Figura 15. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg y 200mg/kg $P < 0.0001$

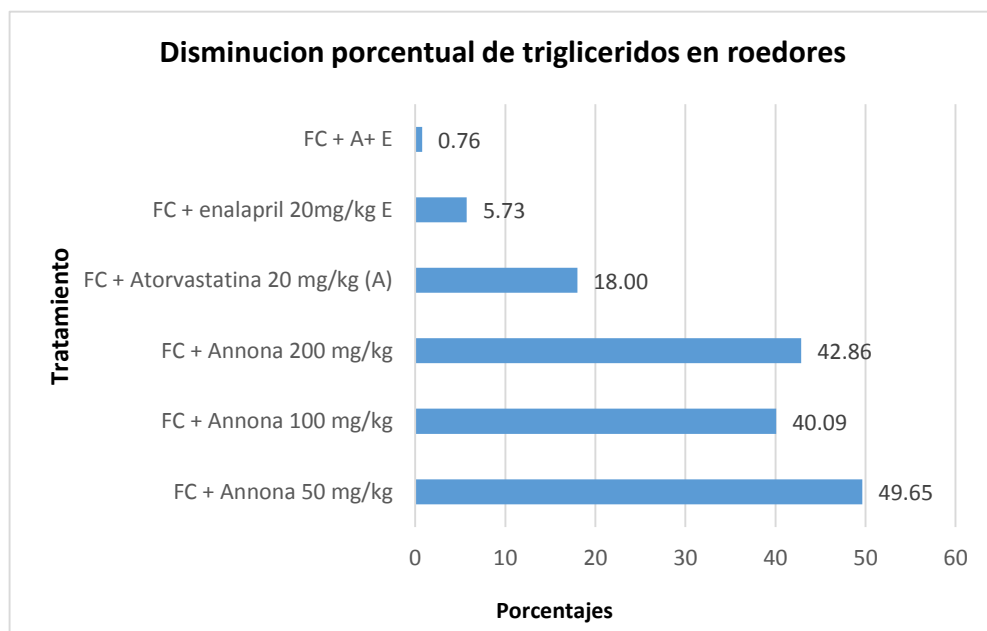


Figura 16. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg y 200mg/kg $P < 0.0001$

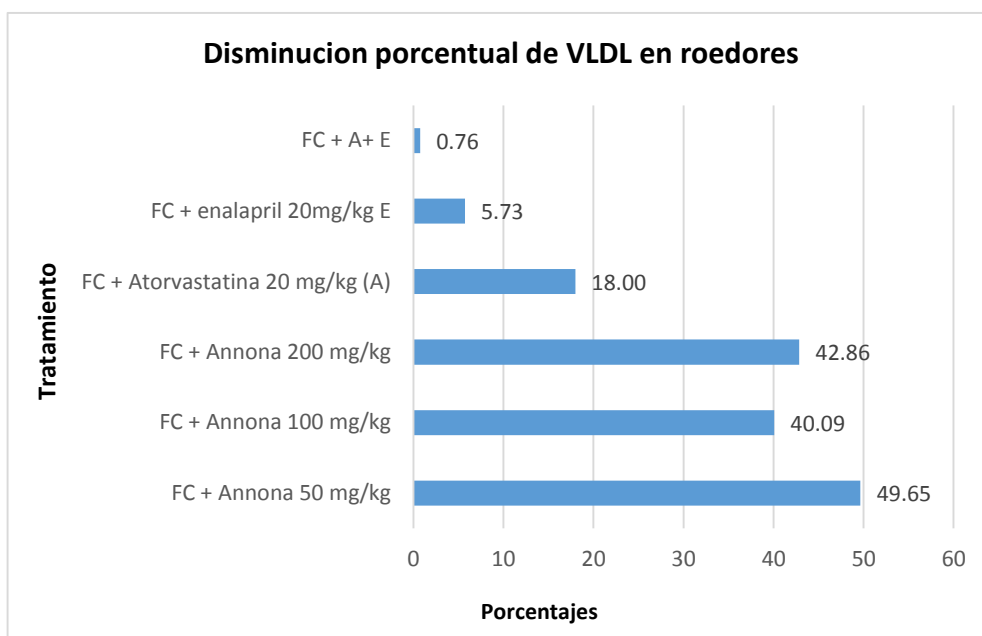


Figura 17. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg y 200mg/kg $P < 0.0001$

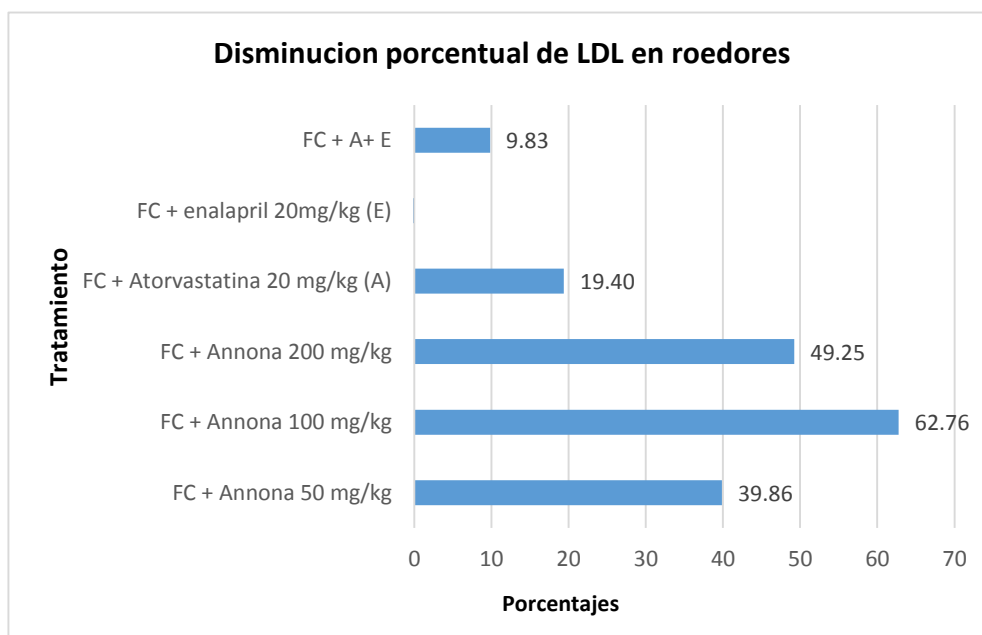


Figura 18. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg y 200mg/kg $P < 0.0001$

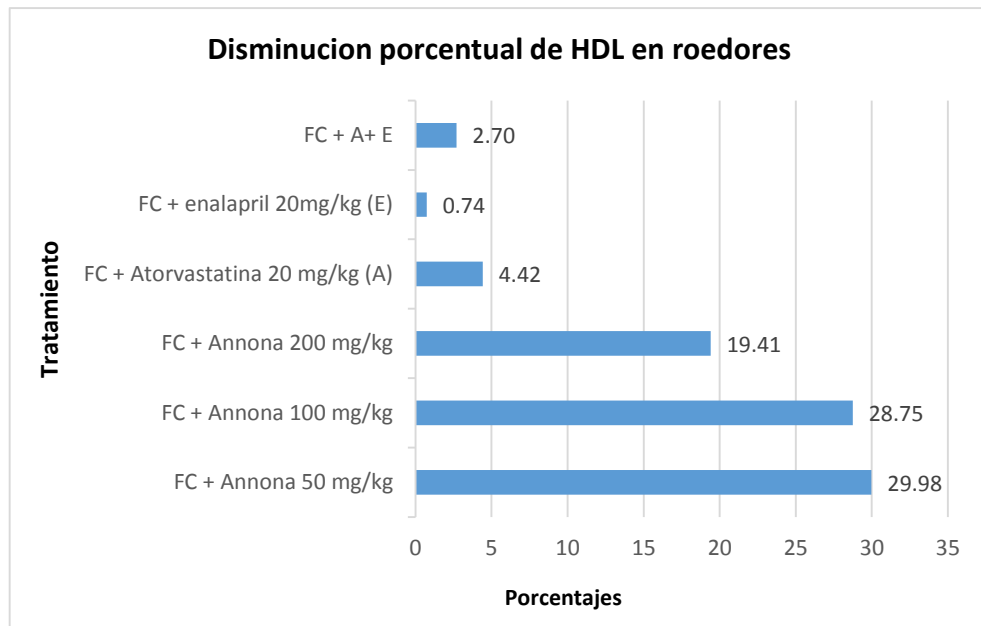


Figura 19. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \cdot 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 50mg/kg $P < 0.0001$

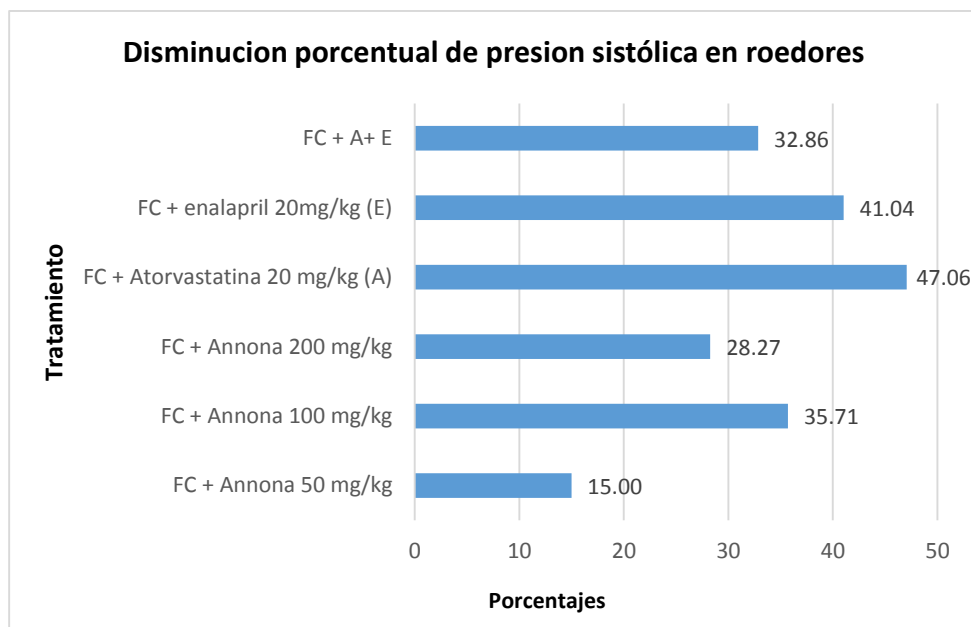


Figura 20. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \cdot 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

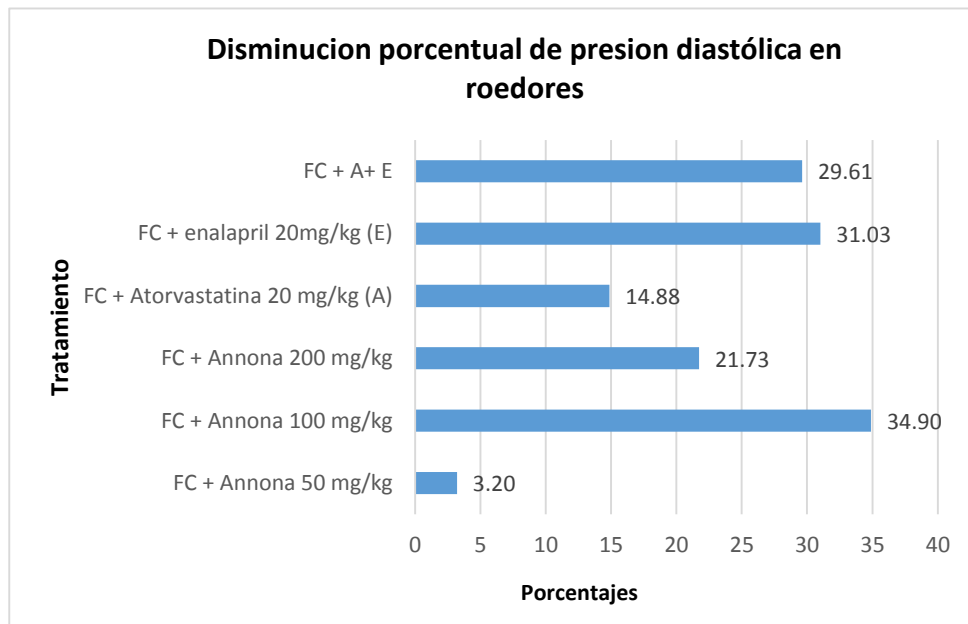


Figura 21. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$

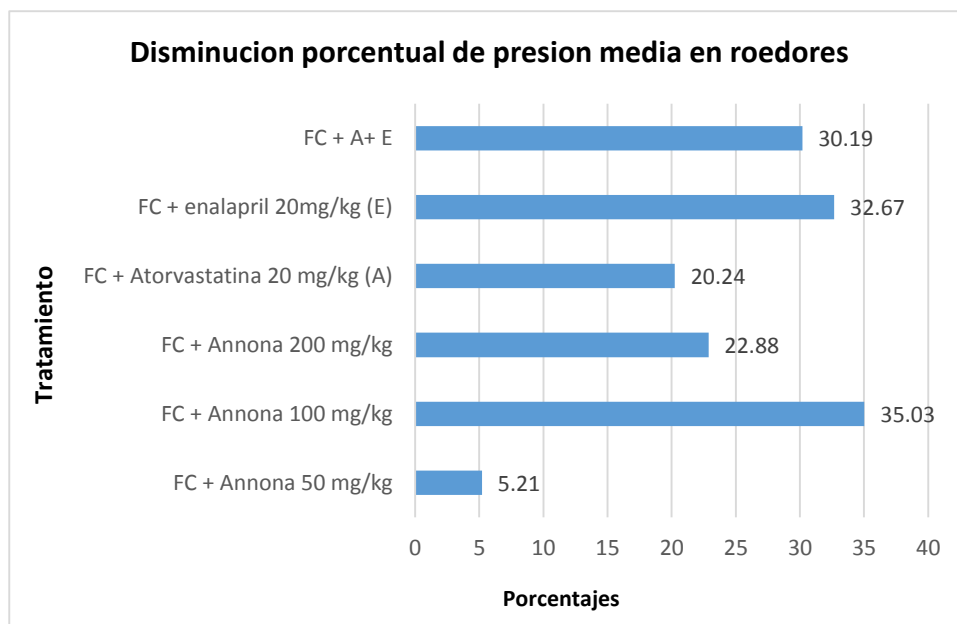


Figura 22. Fórmula para la obtención del valor porcentual: $((\text{concentración-tratamiento})/\text{concentración}) \times 100$. Donde: A=atorvastatina y E=enalapril. Dosis de 100mg/kg $P < 0.0001$