

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“INFLUENCIA DEL CONSUMO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANÁBANA (*Annona muricata*  
L.) SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO EN RATAS  
HIPERLIPIDÉMICAS”**

**Presentada por:**

**KAREN VERÓNICA AYALA HUAMÁN**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO  
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

**Lima - Perú**

**2024**

18%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://www.rpmi.pe">www.rpmi.pe</a> Fuente de Internet	1%
2	<a href="http://www.scielo.cl">www.scielo.cl</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://rev.aetox.es">rev.aetox.es</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://www.revistas.unitru.edu.pe">www.revistas.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="http://renati.sunedu.gob.pe">renati.sunedu.gob.pe</a> Fuente de Internet	1%
7	<a href="http://repositorio.uoosevelt.edu.pe">repositorio.uoosevelt.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="http://dbs.deusto.es">dbs.deusto.es</a> Fuente de Internet	1%
9	<a href="http://repositorio.unsa.edu.pe">repositorio.unsa.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“INFLUENCIA DEL CONSUMO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANÁBANA (*Annona muricata*  
L.) SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO EN RATAS  
HIPERLIPIDÉMICAS”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**KAREN VERÓNICA AYALA HUAMÁN**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Ph.D. Carlos Vílchez Perales  
**PRESIDENTE**

Dra. María Elena Villanueva Espinoza  
**ASESOR**

M.Cs. Jorge Louis Rodríguez Quispe  
**CO-ASESOR**

Ph.D. Mariano Echevarría Rojas  
**MIEMBRO**

Ph.D. Nataly Bernuy Osorio  
**MIEMBRO**

## DEDICATORIA

*A Dios, principal guía en mi vida, quien con su inmenso amor me permite culminar y cumplir cada uno de mis metas y sueños.*

*A Mirian y Victoria, por ser los pilares de mi vida, por su apoyo incondicional, por acompañarme y apoyarme a cumplir mis sueños, por su inmenso amor y la confianza que siempre depositan en mí.*

*A Luis, la persona que Dios puso en mi camino para ser mi gran apoyo en cada momento de mi vida, por sus palabras de aliento y compañía durante todo el desarrollo de la tesis.*

*A mi hermana, Leslie, por su apoyo constante e incondicional, y a quien agradezco por siempre estar presente en cada logro de mi vida.*

*A cada integrante de mi hermosa familia por ser parte de mi vida y por siempre apoyarme y acompañarme en cada triunfo que he tenido a lo largo del camino.*

## AGRADECIMIENTOS

*Agradecer principalmente a Dios y a todos los integrantes de mi familia, por acompañarme en cada paso de mi vida y por su inmenso apoyo, para realizar cada uno de los proyectos que me he propuesto hasta su culminación.*

*A la Universidad Agraria La Molina, al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación (FONDECYT), al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) y a su programa nacional de becas, por la oportunidad brindada, subvención durante todo el desarrollo de la maestría y brindarme una formación integral y profesional.*

*A mis asesores, Dra. María Elena Villanueva Espinoza y Mg. Jorge Louis Rodríguez Quispe, por su paciencia, apoyo y entrega, por ser grandes guías que me permitieron iniciar y culminar con éxito esta investigación.*

*A los miembros del jurado de la presente tesis Ph.D. Carlos Vilchez Perales, Ph.D. Mariano Echevarría Rojas y Dra. Nataly Bernuy Osorio, por sus enseñanzas y facilidades brindadas para llevar a cabo tanto el examen de grado como la sustentación de tesis.*

# ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1. Perfil lipídico .....	3
2.2. Hiperlipidemia .....	4
2.2.1. Epidemiología .....	4
2.2.2. Tratamiento de hiperlipidemias.....	7
Dietético.....	8
Farmacológico .....	9
Efectos adversos de las estatinas .....	9
2.3. Guanábana.....	10
2.3.1. Generalidades .....	10
2.3.2. Compuestos bioactivos en las hojas de guanábana .....	12
2.4. Compuestos bioactivos sobre hiperlipidemias.....	15
2.4.1. Quercetina .....	16
2.5. Prueba de toxicidad y seguridad en hojas de guanábana.....	18
2.6. Glutamato monosódico (GMS).....	18
2.6.1. Efecto de GMS en animales de experimentación.....	19
2.6.2. Efectos de GMS sobre perfil lipídico en animales de experimentación .....	19
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
3.1. Lugar de ejecución.....	22
3.2. Animales de experimentación.....	22
3.3. Materia prima.....	22
3.4. Materiales, equipos y reactivos.....	23
3.5. Inducción a hiperlipidemia .....	23
3.6. Obtención del extracto etanólico de hojas de guanábana .....	24

3.7. Tratamientos .....	24
3.8. Determinación de peso, ganancia de peso y consumo de alimento .....	25
3.9. Determinación del perfil lipídico .....	25
3.10. Análisis estadístico.....	26
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>27</b>
4.1 Peso corporal, ganancia de peso y consumo de alimento .....	27
4.1.1. Peso corporal (g) al inicio y al finalizar la administración de tratamientos .....	27
4.1.2. Ganancia de peso tras la administración del tratamiento .....	29
4.1.3. Consumo de alimento.....	30
4.2. Inducción a hiperlipidemia con GMS .....	31
4.3. Efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana sobre el perfil lipídico .....	31
4.3.1. Efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana y fármaco hipolipemiante sobre los lípidos séricos.....	32
4.3.2. Efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana y fármaco hipolipemiante sobre las lipoproteínas séricas .....	34
4.4. Comparación del efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana y el fármaco hipolipemiante.....	39
4.5. Índice de riesgo coronario.....	42
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>45</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>46</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>58</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Peso corporal, ganancia de peso y consumo de alimento de ratas inducidas a hiperlipidemia y tratadas con extracto etanólico de hojas de guanábana en diferentes dosis .....	27
Tabla 2: Perfil lipídico tras la administración de tratamientos en ratas inducidas a hiperlipidemia.....	31
Tabla 3: Índice de riesgo coronario en ratas con hiperlipidemia inducida tras la administración de tratamientos .....	42



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Peso inicial y final de ratas inducidas a hiperlipidemia tratadas con extracto etanólico de hojas de guanábana en diferentes dosis .....	28
Figura 2. Niveles de lípidos séricos tras la administración de tratamientos en ratas con hiperlipidemia inducida.....	32
Figura 3. Niveles de lipoproteínas séricas tras la administración de tratamientos en ratas con hiperlipidemia inducida.....	35
Figura 4. Índice de riesgo coronario tras la administración de tratamientos en ratas con hiperlipidemia inducida.....	43

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Composición de la dieta estándar para ratas .....	58
Anexo 2. Caracterización del extracto etanólico de hojas de guanábana .....	59
Anexo 3. Curva estándar de flavonoides .....	62
Anexo 4. Peso corporal al inicio y final de la administración de tratamientos .....	63
Anexo 5. Perfil lipídico tras la administración de tratamientos .....	64
Anexo 6. Determinación de COL, TG, c-LDL, c-HDL .....	65
Anexo 7. Fotografías .....	69
Anexo 8. Constancia de uso de bioterio .....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACC/AHA	Colegio Americano de Cardiología/ Asociación Americana del Corazón (por sus siglas en inglés)
ADA	Asociación Americana de Diabetes (por sus siglas en inglés)
AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios
CENAN	Centro Nacional de Alimentación y Nutrición
c-HDL	Colesterol de lipoproteínas de alta densidad
c-LDL	Colesterol de lipoproteínas de baja densidad
COL	Colesterol total
c-VLDL	Colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad
DGA	Directrices dietéticas para americanos (por sus siglas en inglés)
ECV	Enfermedades cardiovasculares
GMS	Glutamato monosódico
HMG- CoAR	3-Hidroxil-3-metil-glutaril Coenzima A reductasa
IAM	Infarto agudo al miocardio
INS	Instituto Nacional de Salud
LCAT	Lecitin Colesterol Acil Transferasa
LDLR	Receptores de lipoproteínas de baja densidad
LP	Lipoproteínas
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAHO	Asociación Panamericana de la Salud (por sus siglas en inglés)
PCSK9	Proteína convertasa subtilisina / kexina tipo 9
SREBP-1c	Proteína de unión a elementos reguladores de esteroides-1c (por sus siglas en inglés)
TG	Triglicéridos
VLDLR	Receptores de lipoproteína de muy baja densidad

## RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo y están relacionadas directamente con hiperlipidemia. Se ha reportado que plantas con alto contenido de flavonoides, pueden ser utilizadas para la prevención y tratamiento de hiperlipidemia y aterosclerosis, por su actividad antioxidante. Estos compuestos bioactivos presentes en las hojas de guanábana podrían tener un impacto importante en el tratamiento de la hiperlipidemia. Así, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana (*Annona muricata L.*) sobre el perfil lipídico en *Rattus norvegicus* con hiperlipidemia inducida experimentalmente. Para ello, se distribuyeron aleatoriamente 35 ratas en cinco tratamientos, con excepción del control negativo (T0), los cuatro tratamientos restantes fueron inducidos a hiperlipidemia con glutamato monosódico (GMS) 8mg/ g de peso y recibieron los siguientes tratamientos, (T1) control positivo; (T2) y (T3) dos dosis diferentes del extracto etanólico de hojas de guanábana 250 mg/Kg/día y 500 mg/Kg/día respectivamente, y (T4) atorvastatina 1.1 mg/Kg/día como control farmacológico. Durante el ensayo se registró peso vivo inicial y final, ganancia de peso y consumo de alimento. Luego de 30 días, se procedió a medir el perfil lipídico y los resultados obtenidos fueron sometidos a ANOVA bajo un DCA y la prueba de comparación de medias se calculó mediante Duncan, usando el software estadístico SAS 9.0. Los resultados mostraron que los tratamientos influyeron ( $p < 0.05$ ) en peso final, ganancia de peso y consumo de alimento. Además, el extracto etanólico de hojas de guanábana disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) los niveles de COL, TG, c-VLDL, c-LDL y el índice de riesgo coronario e incrementó niveles de c-HDL, siendo la dosis de 500 mg/Kg que presentó mayor efecto en comparación con el fármaco comercial evaluado. En conclusión, el extracto etanólico de hojas de guanábana presenta efecto hipolipemiente en ratas con hiperlipidemia inducida experimentalmente.

**Palabras clave:** hiperlipidemia, extracto etanólico, guanábana, flavonoides, antioxidante, perfil lipídico.

## ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide and are directly related to hyperlipidemia. It has been reported that plants with a high content of flavonoids can be used for the prevention and treatment of hyperlipidemia and atherosclerosis, due to their antioxidant activity. These bioactive compounds into soursop leaves could have an important impact in the treatment of hyperlipidemia. Thus, the objective of this research was to determine if the ethanolic extract of soursop leaves (*Annona muricata L.*) has an effect on the lipid profile in *Rattus norvegicus* with experimentally induced hyperlipidemia. For this, 35 rats were randomly distributed into five treatments. With the exception of the negative control (T0), the other four treatments were induced to hyperlipidemia with 8mg/g of weight monosodium glutamate (MSG) and received the following treatments, (T1) positive control; (T2) and (T3) two different doses of the ethanolic extract of soursop leaves 250 mg/Kg/day and 500 mg/Kg/day respectively and (T4) atorvastatin 1.1 mg/Kg/day as pharmacological control. During the trial, initial and final live weight, weight gain and feed intake were recorded. After 30 days, the lipid profile was measured and the results obtained were subjected to ANOVA under a DCA and the comparison of means was calculated through Duncan's test, using the SAS 9.0 statistical software. The results showed that final live weight, weight gain and feed intake were influenced by the dietary treatments. Also, the ethanolic extract of soursop leaves significantly decreased ( $p < 0.05$ ) the levels of COL, TG, c-VLDL, c-LDL, coronary risk index and increased the levels of c-HDL, being the dose of 500 mg/Kg the one that presented the greatest effect on comparison to the commercial drug evaluated. In conclusion, the ethanolic extract of soursop leaves has a hypolipidemic effect in rats with experimentally induced hyperlipidemia..

**Keywords:** hyperlipidemia, ethanolic extract, soursop, flavonoids, antioxidant, lipid profile.

## I. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años la población ha venido cambiando sus gustos y preferencias hacia su alimentación, lo cual ha llevado a incrementar el consumo energético, generando dietas altamente calóricas compuestas por exceso de azúcares, colesterol y grasas, además de llevar una vida sedentaria, estos cambios en los estilos dietarios y de vida de la población mundial parecen ser responsables del incremento observado de enfermedades metabólicas como son las hiperlipidemias (Ritter 2001). Las hiperlipidemias son un conjunto de enfermedades caracterizadas por la alteración de los niveles de lípidos sanguíneos, denotándose un exceso del colesterol total (COL), triglicéridos (TG), colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) y así mismo la disminución del colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL).

Estas hiperlipidemias son un factor de riesgo para presentar aterosclerosis y son causantes de enfermedades cardiovasculares. Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en el mundo (OMS 2017) y están relacionadas directamente con las hiperlipidemias. Las hiperlipidemias, por su elevada prevalencia, aumentan el riesgo de morbilidad y muerte súbita, y se convierten en un problema de salud en el mundo y en nuestro país por los graves daños que provocan en los pacientes afectados. Esto ha conducido al desarrollo de fármacos que disminuyan la concentración plasmática de lípidos, estos hipolipemiantes comerciales utilizados para el tratamiento de esta patología en cantidades superiores a las permitidas o por tiempo prolongado podrían generar efectos secundarios en el organismo o incluso resistencia al tratamiento farmacológico no logrando alcanzar valores deseables.

Como consecuencia cada vez la población peruana utiliza e incorpora alternativas naturales que permitan prevenir o curar el desarrollo de estos trastornos metabólicos, de modo que sea posible revertir o reducir el progreso de ellos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) apoya el uso de las plantas medicinales en la cura de diversas enfermedades que afectan al hombre. La *Annona muricata L.* (guanábana) podría ser una alternativa debido a que se

evidenció que plantas con alto contenido de flavonoides pueden ser utilizadas para la prevención y tratamiento de la hiperlipidemia, por su actividad antioxidante (Unnikrishnan *et al.* 2014, Kobori 2014, Torres 2017), debido a que el flavonoide, quercetina, inhibe la oxidación de c-LDL, además disminuye la presión arterial, el COL e incrementa c-HDL. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana sobre el perfil lipídico en ratas Albinas Wistar hiperlipidémicas.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. PERFIL LIPÍDICO

Conjunto de marcadores bioquímicos que engloba al contenido de lípidos o lipoproteínas en sangre, tales como COL, TG, c-HDL y c-LDL (Freire *et al.* 2013). Se usa para evaluar, junto con otros signos y síntomas, el riesgo de una hiperlipidemia y sus complicaciones como un infarto o una apoplejía provocada por obstrucción de los vasos sanguíneos debido a ateromas o placas de colesterol, es decir para valorar el riesgo cardiovascular de una persona e instituir así un régimen de prevención y tratamiento.

El COL corresponde a la suma del colesterol presente en cada tipo de lipoproteína, donde el c-HDL comprende entre el 20-30 por ciento del colesterol total sérico y cuyos niveles están inversamente correlacionados con el riesgo de ECV y cualquier reducción en su nivel se acompaña de un aumento en dicho riesgo; el c-LDL, por lo general, representa el 60-70 por ciento del total del colesterol sérico, se ha reportado una relación causal entre un c-LDL aumentado y el desarrollo de la enfermedad cardíaca coronaria. La concentración de c-LDL ha sido establecida como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de aterosclerosis y, por ende, para la enfermedad cardiovascular. Los estudios epidemiológicos incriminan a los altos valores de c-LDL como aterogénicos, a raíz de ello, el nivel de c-LDL se convirtió en el blanco del tratamiento de las dislipidemias tradicionales (Carvajal 2019).

Los valores normales de perfil lipídico en humanos son COL <200mg/dl; TG <150mg/dl; c-LDL < 100mg/dl y c-HDL  $\geq$  40 mg/dl en varones o  $\geq$  50 mg/dl en mujeres (MINSAL 2017, MINSAL 2018).

Mientras los valores medios generales normales de perfil lipídico en ratas albinas (*Rattus norvegicus*) para todas las edades y sexo son COL 113.99  $\pm$ 2,18 mg/dl; TG 76,13  $\pm$ 2,38 mg/dl; c-LDL 49,64 $\pm$ 1,82 mg/dl; c-VLDL 15,22 $\pm$ 0,48 mg/dl y c-HDL 49,14 $\pm$  1,05 mg/dl (Ihedioha *et al.* 2013).



## **2.2. HIPERLIPIDEMIA**

La hiperlipidemia, hiperlipemia o dislipidemia es aquella condición en la que se elevan las concentraciones plasmáticas de los lípidos (colesterol, triglicéridos o ambos), o se presentan alteraciones en los componentes de las lipoproteínas circulantes, a un nivel que significa un riesgo para la salud y que tiene como consecuencia una mayor predisposición a padecer ECV (Mezarina 2015, MINSAL 2018).

Además, es un término genérico para denominar cualquier situación clínica en la cual existan concentraciones anormales de: COL, c-HDL, c-LDL o TG (MINSAL 2017).

Las hiperlipidemias son una serie de diversas condiciones patológicas cuyo único elemento común es una alteración del metabolismo de los lípidos, incluyendo la sobreproducción o deficiencia de lipoproteínas (LP) (Hernández 2021).

Las hiperlipidemias (dislipidemias) aumentan el riesgo de aterosclerosis ya que favorecen el depósito de lípidos en las paredes arteriales, con la aparición de placas de ateromas, en los párpados (xantelasma) y en la piel con la formación de xantomas. El aumento excesivo de TG incrementa las probabilidades de pancreatitis aguda. El colesterol suele acumularse a lo largo de las paredes arteriales causando enfermedades como la aterosclerosis, suele transcurrir sin síntomas durante años hasta que ocurre la trombosis, causa fundamental de las enfermedades coronarias, infarto agudo al miocardio (IAM) y muerte súbita (Rojas y Calderón 2014).

### **2.2.1. Epidemiología**

La dislipidemia ha sido claramente identificada como un importante factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares, que son la primera causa de muerte en los países desarrollados y en vías de desarrollo tal como lo reporta el Colegio Americano de Cardiología/ Asociación Americana del corazón (ACC/AHA 2020). La Organización Mundial de la Salud informó que la dislipidemia está significativamente asociada con más de la mitad de los casos globales de cardiopatía isquémica.

A nivel global, OMS (2017) reportó que la prevalencia de hipercolesterolemia fue de 39 por ciento en personas mayores de 25 años. Por ejemplo, Europa presentó un 54 por ciento de hipercolesterolemia en ambos sexos, mientras que las regiones del sureste de Asia y África reportaron cifras de 29 por ciento y 22 por ciento, respectivamente. Asimismo, los resultados

de una encuesta aplicada en 8 países mostraron que el 9 por ciento de individuos en Tailandia y 53 por ciento en Estados Unidos fueron personas con diagnóstico de hipercolesterolemia (Roth *et al.* 2011). Además, en el caso de la población adulta española con hipercolesterolemia sólo el 23,7 por ciento estaría tratado y el 13,2 por ciento controlado; mientras que en los estadounidenses sólo el 48,1 por ciento recibió tratamiento y el 33,2 por ciento tuvo su c-LDL controlado (Urtaran *et al.* 2017). Sin tratamiento, las dislipidemias son un pilar para desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles (Roth *et al.* 2011). En un estudio realizado por Najafipour *et al.* (2016) encontraron que la prevalencia global de dislipidemia no diagnosticada fue de 16,8 por ciento y de dislipidemia diagnosticada de 13,2 por ciento, lo que estuvo significativamente influenciado por la edad avanzada, la ansiedad, la obesidad y los antecedentes familiares de dislipidemia. Por lo que la prevalencia de dislipidemia no diagnosticada fue mayor que la dislipidemia diagnosticada. Estas estadísticas muestran desafíos en la educación en salud, tamizaje y control del perfil lipídico en la población.

En el caso del Perú, la prevalencia de hipercolesterolemia se presenta casi en la quinta parte (19,6 por ciento) de la población peruana; mientras que altos niveles de triglicéridos y c-LDL afectan aproximadamente al 15 por ciento y 13 por ciento respectivamente (PAHO 2012). La mayor prevalencia de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia se observó en la costa y en la selva respectivamente (CENAN 2006). Los departamentos que presentaron aumentos de la tasa de mortalidad para riesgo coronario mayor del 40 por ciento fueron Tumbes, Amazonas, Cajamarca, Piura y Pasco, mientras que Lima presentó un 29.5 por ciento (INS 2012), considerando la distribución geográfica, el alto riesgo cardiovascular se incrementa más en la costa, que en sierra o selva; y son las ciudades que han tenido mayor desarrollo económico y urbanístico donde el riesgo cardiovascular se incrementa marcadamente (Ruiz *et al.* 2012).

Asimismo, un estudio realizado por la Sociedad Peruana de Cardiología (2013) reveló que desde el año del 2006 al 2013, la hipercolesterolemia aumentó tanto a nivel nacional de 10 a 13,8 por ciento, así como a nivel de las regiones costa (12,6 a 17,6 por ciento), sierra (7,6 a 11 por ciento) y selva (9,4 a 10,9 por ciento), además siendo esta prevalencia mayor en mujeres que en hombres (Segura *et al.* 2013). Dicha situación de mayor prevalencia en mujeres podría ser explicada porque generalmente son personas adultas, donde la mitad de las mujeres tienen 40 años o más y, probablemente, la mayoría se encuentre en la etapa de

la menopausia, que se caracteriza la disminución de los estrógenos, por otro lado, la obesidad abdominal y sobrepeso es mayor en mujeres incrementando el riesgo de dislipidemias (Gómez y Tarqui 2017).

El estudio realizado por Cárdenas *et al.* (2009), reveló que la prevalencia de hipertrigliceridemia de la población estudiada sin considerar el género, aumentó considerablemente de valor a medida que incrementa la edad. Se observa que la prevalencia de TG elevados es mayor en poblaciones no pobres, situación que decrece a medida que el nivel de pobreza aumenta, siendo estas prevalencias significativamente diferentes en los niveles de pobreza. Así mismo, los habitantes de Lima Metropolitana presentaron mayor prevalencia de TG elevados.

Las cifras para el adulto mayor están incrementando, así lo demuestra un estudio realizado por el INEI donde el 30,7 por ciento de adultos mayores, que reside en Lima Metropolitana, padece de colesterol alto; mientras que la población adulta mayor residente en la Sierra se ve afectada en un 9,4 por ciento (INEI, 2013). Así mismo, un estudio realizado en niños obesos evidenció que la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia estuvo aumentada en un 32.6 por ciento y 55.6 por ciento respectivamente y el 26.1 tuvo dislipidemia mixta (De la Cruz 2015).

En el estudio realizado por Paredes y Bernabé (2018) evidenciaron la asociación entre ser beneficiario (persona de escasos recursos y, por ende, en riesgo de salud) de un programa de asistencia alimentaria y ciertos patrones de dislipidemias. Encontraron que los beneficiarios del programa Comedor Popular estuvieron asociados a más del doble de probabilidad de presentar c-LDL elevado. De otro lado, los beneficiarios del Programa Vaso de Leche, presentaron c-HDL bajo, pero redujeron la probabilidad de presentar hipertrigliceridemia. Por otro lado, este estudio confirma que la dislipidemia más frecuente en el contexto peruano es c-HDL bajo, presente en más del 50 por ciento de la población peruana por encima de 20 años de edad. De acuerdo con este estudio, la asociación encontrada podría ser debida a la baja calidad de la dieta consumida por los beneficiarios, especialmente en el caso de Comedores Populares (ej. bajo consumo de frutas, verduras y granos) comparada con los que no son beneficiarios. El Vaso de Leche tiene una ración de alimentos ya definida basada en los valores nutricionales mínimos de macro y micronutrientes. El componente mayoritario de la ración son insumos como harina de quinua, kiwicha, haba, maca, cebada,

avena, arroz y soya, incluidos por ser alimentos de alto valor nutricional y con menor costo (aproximadamente 207 Kcal con 12-15 por ciento de proteínas y 20-25 por ciento de grasas). En ese sentido, el presente trabajo deja como precedente el posible impacto que puede tener ser beneficiario de algunos de los programas de asistencia alimentaria sobre el perfil lipídico, asociándolos a elevación del c-LDL y disminución del c-HDL.

Nery *et al.* (2013) concluyeron que las dislipidemias son un factor de riesgo que con el tiempo puede llegar a desarrollar enfermedades cardiovasculares. Así, el riesgo de un ataque al corazón es tres veces superior en casos de hipercolesterolemia si se compara con un perfil lipídico normal.

Por otra parte, la OMS ha pronosticado que para el 2030, las enfermedades cardiovasculares seguirán siendo las principales causas de muerte y afectarán a aproximadamente 23,6 millones de personas en todo el mundo (OMS 2017).

Por ende, el principal motivo para tratar la hiperlipidemia es disminuir el riesgo de la patología cardiovascular, es fundamental tratar a los pacientes que tienen elevación de lípidos sanguíneos.

### **2.2.2. Tratamiento de hiperlipidemias**

Está demostrado cómo la reducción de las hiperlipidemias disminuye la incidencia y la mortalidad por cardiopatía isquémica y enfermedades cardiovasculares (ECV) en general, tanto en prevención primaria como secundaria (Urtaran *et al.* 2017). La OMS afirma que una reducción del 10 por ciento en el colesterol sérico en hombres de 40 años daría como resultado una reducción del 50 por ciento de las ECV en 5 años. La misma reducción del colesterol sérico para hombres de 70 años puede resultar en una reducción promedio del 20 por ciento de padecer una ECV en los próximos 5 años. Por ejemplo, en Irlanda, una reducción del 30 por ciento en la tasa de mortalidad por ECV ha sido atribuida a una reducción del 4,6 por ciento de la media poblacional de colesterol total. Asimismo, en Finlandia, la mitad de la disminución de la mortalidad por cardiopatía isquémica se ha imputado a la reducción del nivel de colesterol en la población. En este sentido la OMS (2017) identifica el control de los niveles de colesterol, como parte del enfoque del riesgo cardiovascular total para la prevención de ECV, como una de las prioridades de salud pública.

## Dietético

La orientación dietética para lograr la salud cardiovascular debe seguir centrándose en adoptar un patrón dietético saludable, tal como lo recomiendan las directrices dietéticas para los americanos (DGA 2015) del 2015 al 2020 y las pautas actuales de ACC/AHA. Para lograr patrones dietéticos saludables, se recomienda a los consumidores seguir un patrón dietético caracterizado por frutas, verduras, cereales integrales, productos lácteos bajos en grasa o sin grasa, fuentes de proteínas magras, frutos secos, semillas y aceites vegetales dentro de un requerimiento calórico apropiado. Estos patrones tienen una relación relativamente alta de ácidos grasos poliinsaturados a ácidos grasos saturados y son bajos en colesterol, lo que se logra minimizando la ingesta de las principales fuentes de grasas saturadas e incluyendo aceites vegetales. La elección de fuentes de proteínas de origen vegetal limitará la ingesta de colesterol. Dado el contenido relativamente alto de colesterol en las yemas de huevo, sigue siendo recomendable limitar la ingesta a los niveles actuales. Las personas sanas pueden incluir hasta un huevo entero o su equivalente al día. Una porción de camarones de 3 onzas equivale aproximadamente a un huevo entero. Los camarones y otros mariscos se pueden incorporar a un patrón dietético saludable para el corazón cuando se combinan con otras fuentes de proteínas magras o de origen vegetal. Existen advertencias para los siguientes subgrupos:

- Los vegetarianos (ovo-lacto) que no consumen alimentos que contienen colesterol a base de carne pueden incluir moderadamente más lácteos y huevos en sus dietas.
- Los pacientes con dislipidemia, particularmente aquellos con diabetes mellitus o con riesgo de insuficiencia cardíaca, deben tener precaución al consumir alimentos ricos en colesterol.
- Para pacientes adultos mayores normocolesterolémicos, dados los beneficios nutricionales y la conveniencia de los huevos, el consumo de hasta dos huevos por día es aceptable dentro del contexto de un patrón dietético saludable para el corazón (Carson *et al.* 2020).

Además, los adultos deben realizar actividad física aeróbica de moderada a intensa de 3 a 4 veces por semana durante al menos 40 minutos (Eckel *et al.* 2014).

## **Farmacológico**

Además de un estilo de vida saludable para el corazón (que debe fomentarse en todos los pacientes a lo largo de su vida), las estatinas son la base del control de los lípidos.

El tratamiento de primera línea para la dislipidemia son las estatinas que inhiben la 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoAR). Estos medicamentos reducen el c-LDL, aumentan los niveles de c-HDL y disminuyen los niveles de TG. Los estudios han mostrado que son el mejor tipo de medicina para reducir el c-LDL (ACC/AHA 2020).

La terapia con estatinas se divide en 3 categorías de intensidad:

De alta intensidad, con el objetivo de al menos una reducción del 50 por ciento en c-LDL.

Ejemplos: Atorvastatina 40–80 mg al día y Rosuvastatina 20-40 mg al día.

Intensidad moderada, con el objetivo de una reducción del 30 al 49 por ciento en c-LDL.

Ejemplos: Atorvastatina 10–20 mg; Fluvastatina 80 mg al día; Lovastatina 40–80 mg; Pitavastatina 1–4 mg al día; Pravastatina 40–80 mg al día; Rosuvastatina 5–10 mg; Simvastatina 20-40 mg al día.

De baja intensidad, con el objetivo de una reducción de c-LDL de menos del 30 por ciento.

Ejemplos: Fluvastatina 20–40 mg al día; Lovastatina 20 mg al día; Pravastatina 10-20 mg al día; Simvastatina 10 mg al día.

Si un paciente de 20 a 75 años tiene niveles de c-LDL de 190 mg/dl o más, la terapia con estatinas de alta intensidad debe iniciarse de inmediato para reducir el c-LDL en al menos un 50 por ciento.

## **Efectos adversos de las estatinas**

Las nuevas directrices también abordan los temores de los pacientes y los médicos sobre los efectos adversos de las estatinas. Recomiendan específicamente que la discusión de riesgo médico-paciente también revise los posibles eventos adversos y cómo se pueden manejar.

Las guías recomiendan revisar el beneficio clínico neto de las estatinas y comparar el potencial de reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica con el riesgo de efectos secundarios asociados con las estatinas e interacciones farmacológicas. Los efectos adversos observados incluyen mialgias, elevación de la creatina quinasa y transaminasas (Kohli *et al.* 2014). Los síntomas musculares son los efectos adversos más

comunes relacionados con las estatinas. Además, las estatinas aumentan ligeramente el riesgo de diabetes mellitus en pacientes con prediabetes (ADA 2009). Sin embargo, las guías establecen claramente que no se debe suspender la terapia por este motivo, ya que las ventajas de las estatinas son mucho mayores que el riesgo de diabetes mellitus (Crandall *et al.* 2017).

## **2.3. GUANÁBANA**

### **2.3.1. Generalidades**

La guanábana (*Annona muricata L.*) es una especie frutícola perteneciente a la familia de las *Annonaceas*. Crece óptimamente entre los 0- 1,000 msnm. Es considerada la más tropical de las anonas, pues no resiste el frío. El árbol de esta especie se encuentra bastante distribuido en la región tropical y subtropical de América Latina, en áreas tropicales del Caribe (principalmente en Bermuda, Bahamas, Cuba, República Dominicana, Granada, Puerto Rico), en el sureste de China, Vietnam, Australia, Nueva Zelanda, algunas islas del Pacífico y África occidental, el árbol puede llegar a medir de 5 a 10m. Es la anonácea cuyos requerimientos de clima es el más tropical, cálido y húmedo, característico de altitudes menores de 1.000 msnm (Flores 2016). Es así que en Perú su cultivo se realiza en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali y parte de Cajamarca, y bajo riego en la costa, en Trujillo, Lambayeque, La Libertad, Junín, Ica y Lima cuyos climas son tropicales; con una exportación que se ha incrementado en los últimos años (Vergara *et al.* 2018, Leiva *et al.* 2018).

De acuerdo a Jordan (2019) la clasificación taxonómica de la planta es:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Magnoliales*

Familia: *Annonaceae*

Género: *Annona*

Especie: *Annona muricata L.*

La literatura reporta que las frutas, entre ellas la guanábana, aportan nutrientes de vital importancia para la salud humana. Todas las partes de la planta de guanábana han sido usadas en la medicina natural, incluyendo cortezas, hojas, raíces y frutos, la parte que contiene la mayor concentración de principios activos es la hoja (Coria-Téllez *et al.* 2018). Estudios previos han demostrado que la guanábana contiene cierto tipo de compuestos bioactivos conocidos como acetogeninas de anonáceas, las cuales se han encontrado también en otras plantas de esta familia, siendo la hoja su fuente principal (Correa *et al.* 2012).

Agu y Okolie (2017) indican que las hojas de guanábana tienen una capacidad antioxidante muy potente en comparación con las otras partes de la planta. Esto puede estar asociado a fitoquímicos como fenoles, flavonoides, alcaloides y lípidos esenciales, etc. En la evaluación fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de guanábana se han encontrado muchos componentes fitoquímicos. Además, el contenido de lípidos fue mayor en la hoja lo que indica la presencia de una gran cantidad de aceites esenciales.

Dentro de las propiedades que se atribuyen a esta planta se encuentra que: actúa como antibacteriano, antimicrobiano, anticancerígeno, antiparasitario, antitumoral, antiespasmódico, antiinflamatorio, nematocida, estomáquico, astringente, citotóxico, febrífugo, hipotensor, insecticida, pesticida, sedativo, vasodilatador, para combatir el cáncer, anti-diurético, inmunoestimulador, anti-diabético, antihistamínico, vermífugo y anti-acné (Gavamukulya *et al.* 2014, Omoja *et al.* 2014, Cuello *et al.* 2017).

Guanábana es una de las plantas para terapias naturales contra el cáncer más exitosa que está ganando popularidad en tiempos recientes, debido a las acetogeninas que presentan toxicidad selectiva para las células tumorales incluso en dosis traza. Se ha demostrado que los productos químicos y las acetogeninas en la guanábana muestran fuertes propiedades anticancerosas, antitumorales y antivirales también (Chun *et al.* 2018).

En la tabla de composición de alimentos (CENAN 2017) se reportan los siguientes valores nutritivos para 100 g de la parte comestible de la “guanábana”: 44 calorías; 84 g agua; 0.9g proteína; 0.2g grasa; 14.3g carbohidratos totales; 3.3g fibra dietaria; 38 mg Ca; 43mg P; 0.10 mg Zn; 0,70 mg Fe; 0.05mg tiamina; 0.06 mg riboflavina; 1,69 mg niacina; 19 mg vitamina C.



### 2.3.2. Compuestos bioactivos en las hojas de guanábana

Toda la planta es un reservorio de compuestos bioactivos, pero los órganos donde la probabilidad de encontrar el contenido máximo de compuestos bioactivos son hojas y semillas (Bhardwaj *et al.* 2020).

En el estudio realizado por Dilrukshi *et al.* (2020) al analizar diferentes partes de 6 especies de la familia *Annona*, las cuales fueron *Annona cherimoya* Mill. (Chirimoya), *Annona muricata* L. (Guanábana), *Annona reticulata* L. (Chirimoya), *Annona squamosa* L. (manzanas roja y verde de azúcar) y *Annona glabra* L. (manzana de estanque), sobre compuestos bioactivos, se encontró el contenido fenólico total, contenido de flavonoides totales y capacidad antioxidante total fue significativamente mayor en hojas de guanábana. Se reportaron comparativamente contenidos fenólicos totales más altos en raíces, hojas y corteza, mientras que las semillas y la muestra de fruta de *Annona* mostraron el contenido más bajo. Hubo una mayor capacidad antioxidante y contenido total de flavonoides en extractos de hojas de guanábana seguidos de manzana de azúcar roja, manzana de estanque, manzana de azúcar verde, y con menor contenido, chirimoya; además Dilrukshi y colaboradores indican que los antioxidantes presentes pueden ser probablemente debidos a la gran cantidad de metabolitos secundarios presentes en frutos no maduros, más que en frutos maduros.

De acuerdo con el estudio de Omoja *et al.* (2014) la guanábana presenta doscientos doce compuestos bioactivos, siendo los compuestos predominantes las acetogeninas, seguidos de alcaloides, fenoles y otros compuestos. Además, las hojas y semillas son las partes más estudiadas de la planta, probablemente debido a que son las más utilizadas tradicionalmente.

Las acetogeninas (ACG) son productos naturales y se consideran los principales compuestos bioactivos de la familia *Annonaceae*. Se han encontrado más de 50 acetogeninas con diferentes actividades biológicas presentes en frutos, corteza y hojas, de ellas se han identificado 21 acetogeninas citotóxicas en las hojas (Leiva *et al.* 2018).

Annonacina fue la más abundante acetogenina reportada, tanto en hojas y frutos de guanábana, pero también se ha reportado en las semillas y raíces. Algunos estudios han demostrado que las acetogeninas son más citotóxicas que los alcaloides y la rotenona, un

compuesto citotóxico sintético. Estudios mostraron que las acetogeninas producen la inhibición de la fosforilación oxidativa en la membrana mitocondrial. Otro mecanismo celular interferido también por las acetogeninas es el sistema de la ubiquinona (Coria-Téllez *et al.* 2018).

Los alcaloides son metabolitos secundarios de bajo peso que contienen nitrógeno, clasificados de acuerdo con el anillo de carbono-nitrógeno como isoquinolina, piridina, indol, piperidina y pirrol. Se encuentran en estado libre o como glicósidos o formando sales con ácidos orgánicos (Ávalos y Pérez 2009). Sintetizados a partir de la lisina, tirosina y triptófano, otros como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina. Aproximadamente el 46 por ciento del total de alcaloides se concentra en las hojas, y solo el 3,5 por ciento notificados en raíces y semillas. Los alcaloides más abundantes en la guanábana son reticulina y coreximine, donde las hojas contienen la mayor concentración de alcaloides. Los alcaloides reportados en la guanábana son principalmente del tipo isoquinolina, aporfina y protoberberina, los cuales son eficaces contra enfermedades infecciosas y parasitarias causadas por protozoos, microbios y especies de hongos. Además de las propiedades farmacológicas antes mencionadas, los estudios *in vitro* han demostrado la afinidad de los alcaloides con los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (un tipo de receptores de serotonina), lo que da como resultado la biosíntesis de dopamina. Esta acción confirma el efecto antidepresivo y las actividades biológicas de tipo inmunoestimulante de los alcaloides (Bhardwaj *et al.* 2020).

Los terpenos y fenilpropenos son dos componentes de una mezcla compleja de aceites esenciales. El análisis de varias partes de las plantas de *Annona*, principalmente hojas, ha demostrado la presencia de varios aceites, y los derivados de sesquiterpenos se encuentran entre los principales aceites esenciales. Los aceites volátiles de varias especies de *Annona* son eficaces contra fiebres intermitentes, úlceras y reumatismo. También presentan actividades antileishmaniales, tripanocidas, antimicrobianas, antitumorales y antioxidantes (Costa *et al.* 2013).

Treinta y siete compuestos fenólicos están presentes en la guanábana. Los compuestos fenólicos importantes encontrados en hojas de guanábana incluyen quercetina y ácido gálico. Los compuestos fenólicos son considerados como los principales fitoquímicos responsables de la actividad antioxidante (Coria-Téllez *et al.* 2018) y se encuentran frecuentemente como

glicósidos. Son relativamente polares y pueden ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro, que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica al 1 por ciento de cloruro férrico (Foy *et al.* 2005).

Se ha reportado la presencia de flavonoides triglicósidos tales como quercetina 3-O- $\alpha$ -rhamnosyl-(1-6)- $\beta$ -sophorósido, ácido gálico, epicatequina, canferol 3-O-rutinoside, quercetina 3-O-glucósida y canferol, los cuales se encuentran presentes en las hojas de guanábana. Estos polifenoles son importantes antioxidantes que protegen a c-LDL del daño oxidativo y su acción como antioxidante está relacionada no solo con su estructura química sino también con su localización en la partícula. Pueden actuar como potentes inhibidores de la oxidación de las c-LDL por varios mecanismos. Como antioxidantes propiamente tales, actuando como atrapadores de radicales libres. Por sus propiedades de solubilidad pueden localizarse sobre la superficie de c-LDL, disminuyendo el consumo de los antioxidantes propios de c-LDL como es la vitamina E y los carotenoides y en algunos casos regenerando vitamina E oxidada en la partícula de c-LDL por su capacidad de unir, activar o proteger enzimas específicas en el organismo (Pérez 2003). Por ejemplo, los flavonoides preservan la actividad de paraoxonasa, enzima asociada a la c-HDL, que puede hidrolizar y regenerar lípidos oxidados en c-LDL. Los flavonoides actúan frente a las enfermedades cardiovasculares neutralizando los radicales libres y aumentando la resistencia del c-LDL a oxidarse. Los flavonoides pueden unirse a diferentes polímeros biológicos, tales como enzimas, ADN y transportadores de hormonas. Esto ayuda a eliminar los radicales libres y a reducir la oxidación de las grasas. Por ende, se reducen la probabilidad de acumular placas de ateromas en las paredes arteriales (Zapata *et al.* 2013).

De manera general, los flavonoides actúan en el cuerpo humano sobre estas áreas: Sistema circulatorio (disminuyen la presión sanguínea, son cardiotónicos, mejoran la circulación en general, evitan la formación de trombos y ayudan a reparar los capilares rotos); depurativos (estimulan las funciones del hígado y el riñón; ayudan a depurar los metales pesados como el plomo y el aluminio y algunas sustancias tóxicas de la alimentación industrial, aditivos, etc.); antioxidantes (al reducir el efecto de los radicales libres, los flavonoides actúan contra el cáncer y protegen de los rayos UV); Colesterol (regulan el colesterol y la concentración de triglicéridos); otros (tienen propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antimicrobianas) (Bhardwaj *et al.* 2020).

Los flavonoides se encuentran presentes en todas las familias de plantas. Existen una serie de factores que condicionan el contenido en quercetina en las mismas, entre ellos se encuentran: la localización en el vegetal, generalmente las mayores concentraciones están en las partes externas; la época del año en la que se desarrolla la planta, los vegetales que crecen mayoritariamente en verano contienen más cantidad de flavonoides, aunque esto no sucede en todos los tipos vegetales; la cantidad de luz y el clima del lugar donde se cultiva la planta, la producción de flavonoides se encuentra estrechamente relacionada con la respuesta a la exposición a la luz, por lo que en los países con más horas de sol las plantas tienen mayor contenido. También influye la temperatura, los climas cálidos favorecen la síntesis de quercetina; el grado de madurez del fruto, a mayor madurez mayor contenido; el proceso de preparación y procesado del alimento. Además, como la mayor concentración de quercetina se encuentra en la parte externa, ésta se elimina cuando se pela la fruta o verdura (Vicente-Vicente *et al.* 2013).

Dado que las hojas de guanábana contienen 21 acetogeninas de las más de 50 acetogeninas reportadas en toda la planta (Leiva *et al.* 2018), además de presentar el 46 por ciento de alcaloides en hojas mientras que sólo 3.5 por ciento en raíces y semillas, en la hoja se presenta la mayor concentración de alcaloides (Bhardwaj *et al.* 2020). Los compuestos fenólicos importantes encontrados en hojas de guanábana incluyen quercetina y ácido gálico responsables de la actividad antioxidante (Coria-Téllez *et al.* 2018), por todo ello se reconoce que en la hoja presenta la mayor concentración de compuestos bioactivos.

#### **2.4. COMPUESTOS BIOACTIVOS SOBRE HIPERLIPIDEMIAS**

Se ha reportado que el efecto hipolipemiente de los flavonoides se debe a sus propiedades anti-radicales libres, quelación de iones metálicos transitorios, inhibición de oxidasas, estimulación de enzimas, prevención de la agregación plaquetaria y de protección de las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (Unnikrishnan *et al.* 2014).

Los flavonoides tienen efecto hipolipemiente al inhibir a la HMG-CoAR, también aumentan la excreción fecal de ácidos biliares, en relación con el aumento de la actividad de la Lecitin Colesterol Acil Transferasa (LCAT), implicada con el transporte de colesterol desde los tejidos extrahepáticos hasta el hígado para su degradación (Torres 2017). Previenen la peroxidación lipídica, inhibir la NADPH del sistema citocromo P-450 en microsomas

hepáticos. Este efecto pudiera impedir el metabolismo de una gran diversidad de xenobióticos que emplean esta vía para generar radicales libres (Kobori 2014).

El efecto hipolipemiante atribuido a la presencia de flavonoides, podría deberse a diversos mecanismos: eliminación de radicales libres, reposición del suministro limitado de antioxidantes tales como el alfa tocoferol y quelación divalente de metales de transición prooxidantes tales como el hierro y cobre, por lo tanto, previniendo la formación de radicales libres. Asimismo, la presencia de quercetina y glicósidos de quercetina han mostrado que protegen contra la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (Unnikrishnan *et al.* 2014) Otros estudios realizados con el flavonoide naringina han demostrado que normaliza los lípidos en diabetes e hipercolesterolemia a través de los receptores activados por proliferadores de peroxisoma (PPARs) tales como: PPAR  $\alpha$ , PPAR  $\gamma$  y el receptor hepático X alfa (Goldwasser *et al.* 2010).

#### **2.4.1. Quercetina**

El flavonoide quercitina, es el principal flavonoide que inhibe la oxidación y la citotoxicidad de c-LDL (Unnikrishnan *et al.* 2014). La quercetina, tiene la capacidad de reducir el riesgo cardiovascular, disminuye COL, la presión arterial, e incrementa el c-HDL (Arias 2015).

El estrés oxidativo puede inducir a la acumulación de grasa originando resistencia de insulina. Mientras que la quercetina actúa mejorando el estrés oxidativo y la expresión de PPAR $\alpha$  en el hígado además se provocó una menor expresión del gen de proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides-1c (SREBP-1c), originando una disminución de la síntesis de grasa en el hígado y causando una disminución en la concentración plasmática de triglicéridos (Kobori 2014). La menor expresión de gen SREBP-1c, causa una disminución en la actividad de las enzimas, HMG CoAR y acetil-Coenzima A acetiltransferasa (ACAT), enzimas que regulan la síntesis de colesterol y catalizan su esterificación. Al haber una menor expresión de este gen, a nivel de intestino, va a producirse disminución en la absorción de colesterol de la dieta, disminución en la producción de c-VLDL en hígado y aumento de la excreción biliar de colesterol; y a nivel de células de la pared arterial disminución en la acumulación de esteres de colesterol. La quercetina también provocó una mayor expresión del gen ABCA 1 que codifica para una proteína transportadora principalmente de colesterol y fosfolípidos a través de membranas (Ha *et al.* 2015).

Se ha observado en diversos estudios en animales con obesidad y síndrome metabólico por una dieta con alto contenido calórico, y que después recibieron quercetina presentaron una disminución del peso corporal, disminución de la acumulación de grasa a nivel hepático e intestinal, así como también mejoró la hiperglicemia, hiperinsulinemia y dislipidemia (Meydani y Hasan 2010, Henagan *et al.* 2015).

Se ha demostrado que el flavonoide vegetal, quercetina, inhibe la secreción de la proproteína convertasa subtilisina / kexina tipo 9 (PCSK9), estimula la expresión de receptores de c-LDL (LDLR) y mejora la captación de c-LDL. La quercetina, también conocida como isoquercetina o isoquercitrina, es el flavonol más abundante en el reino vegetal. Talirevic y Jelena (2012) indican que la quercetina regula la expresión de PCSK9, una endoproteínasa que, una vez secretada, se convierte en una proteína escolta para LDLR, dirigiéndolo desde la membrana plasmática hacia los lisosomas para su degradación. LDLR media la captación de c-LDL circulante en las células; al degradar el receptor, PCSK9 se opone a esta captación. El hígado es el principal órgano de producción de LDLR y PCSK9; por tanto, juega un papel central en la regulación del colesterol plasmático. Los estudios en ratones han demostrado que cuanto mayor es la actividad de PCSK9 secretada por el hígado, menor es la captación hepática de c-LDL, mayor es su nivel circulante y viceversa. El c-LDL circulante alto es aterogénico; y el c-LDL circulante bajo es ateroprotector. La administración de quercetina puede atenuar la dislipidemia. Quercetina inhibe PCSK9, mientras que mayor secreción y expresión de LDLR es estimulada en la superficie celular, lo que resulta en una mayor captación de c-LDL exógeno. El nivel de c-LDL se redujo al 44 por ciento mediante la suplementación de quercetina en dosis bajas, pero se lograron mayores reducciones en dosis altas superando el 55 por ciento. Quercetina no solo reduce el nivel de ARNm de PCSK9, sino que también bloquea la secreción de su proteína mientras se elevan los niveles de ARNm y proteínas de LDLR. En general, estos resultados sugirieron que la suplementación de quercetina redujo la secreción de PCSK9, permitiendo más LDLR en la superficie de los hepatocitos (Mbikay *et al.* 2018).

En la investigación de Wang *et al.* (2020) al administrar quercetina, se produjo un aumento de Apo A (ubicada en superficie de c-HDL) y disminución Apo B (en superficie de c-LDL). Lo que ocasionó una reducción de niveles de COL y c-LDL. Asimismo, Mezarina (2015) manifestó la importancia de los polifenoles en el flujo de salida del colesterol de los macrófagos peritoneales de ratones. Esto se produjo debido al rol del PPAR $\gamma$  en la expresión

de LXR (Liver X Receptor) quienes protegen a las células de una sobrecarga de colesterol mediante la activación de su transporte reverso y estimulando su conversión en ácidos biliares en el hígado. Este mecanismo es posible gracias a la activación de la ACBA1 y ABCG1 que son transportadores que intervienen en la formación de la c-HDL. Este mecanismo explicaría el ligero incremento de c-HDL que se presentó en los grupos tratados.

## **2.5. PRUEBA DE TOXICIDAD Y SEGURIDAD EN HOJAS DE GUANÁBANA**

Los resultados de toxicidad oral aguda del extracto etanólico de hojas de guanábana mostraron que la dosis letal media (DL50) del extracto etanólico fue de 3750 mg.kg<sup>-1</sup>, la cual fue clasificada como clase de baja toxicidad (Gbaguidi *et al.* 2017). Mientras que en el estudio realizado por Souza *et al.* (2018) informaron que la DL50 del extracto de hoja de guanábana es de 1091,7 mg/Kg y observaron un efecto supresor sobre el sistema nervioso central debido a su interacción con los sistemas GABAérgico y monoaminérgico. Cahyawati (2020) reporta que al administrar dicho extracto no causó efectos negativos en el hígado, riñones, corazón y estómago. Así mismo, los parámetros hematológicos como son: alanina aminotransferasa (ALT), aspartato transaminasa (AST), fosfatasa alcalina (ALP), urea y albúmina no se vieron afectados, mientras que los niveles de creatinina aumentaron con una dosis de 2500 mg/Kg/día. Por otro lado, Cahyawati (2020) reportó efectos negativos en la función uterina, al administrar una dosis de 1000 mg/Kg, donde se empezó a encontrar un aumento del peso uterino.

## **2.6. GLUTAMATO MONOSÓDICO (GMS)**

Es una sal del aminoácido no esencial glutamato, utilizado como aditivo alimentario debido a sus propiedades como potenciador de sabor. Aunque algunos organismos reguladores de la inocuidad en alimentos han considerado que el GMS no es completamente dañino, varios estudios en animales han puesto en duda la seguridad de su consumo ya que más allá de sus efectos potenciadores de sabor en los alimentos, el GMS ha sido asociado con varias formas de toxicidad en varios órganos, relacionándolo principalmente con la obesidad, trastornos metabólicos, alteraciones en órganos reproductores, entre otros (Sierra 2020).

### **2.6.1. Efecto de GMS en animales de experimentación**

En la investigación de Sani et al (2015) indicaron que glutamato monosódico puede infiltrarse y causar un efecto nocivo en el núcleo arqueado del cerebro, lo que interrumpe la cascada de señalización hipotalámica de la acción de la leptina, lo que puede provocar hiperfagia. Así mismo, el daño en el núcleo arqueado del hipotálamo, ocasiona además disfunción neuroendocrina, el bloqueo de la acción de la leptina e insulina con aumento de las resistencias de estas señalizaciones, y finalmente en una hiperinsulinemia provocada por esta disminución de la respuesta de leptina gracias al daño que provoca el GMS en el núcleo arqueado. Kondro *et al.* (2013) señalaron que cuando existe este consumo de glutamato y debido a que no es un aminoácido esencial es que se produce un aumento en los niveles extracelulares, provocando la sobreexcitación de los receptores de glutamato y aumento de la expresión de receptores encargados del metabolismo de glucosa y lípidos debido al estado inflamatorio que GMS induce. De la misma manera Hermanussen *et al.* (2006) indican que es posible que altos contenidos del aminoácido glutamato, en forma de GMS incluidos en la dieta puedan alterar blancos hipotalámicos para la señalización de la leptina, hormona involucrada en el metabolismo de los lípidos. Así mismo, Fuentealba y Rojas (2020) mencionaron que GMS produce lesiones en el núcleo arqueado del hipotálamo disminuyendo la saciedad. Sierra (2020) También reportó que ratones que recibieron una inyección de GMS a dosis de 2 mg /g, desarrollaron hiperglicemia, insulina plasmática elevada y colesterol y triglicéridos aumentados cuando se compararon con sus respectivos controles, y a nivel histológico, el páncreas presentó un patrón de hipertrofia celular en los islotes, lesión compatible con diabetes mellitus.

### **2.6.2. Efectos de GMS sobre perfil lipídico en animales de experimentación**

Se ha observado niveles elevados de COL, TG, c-LDL y c-VLDL en comparación con el control, mientras que una disminución significativa en los niveles de c-HDL tras la ingestión de GMS, reportándose hiperlipidemia tras la ingesta de 4 mg/g a más de GMS (Singh *et al.* 2011), ello debido al hecho de que la administración de GMS produce elevación en la concentración de glutamina en el torrente sanguíneo. Dado que glutamato favorece la lipogénesis al convertirse en glutamina, debido a que la glutamina inhibe la producción de



cuerpos cetónicos lo que a su vez inhibe la oxidación de ácidos grasos y por ello, se observó aumento de los lípidos totales en suero.

El aumento del colesterol plasmático total fue reportado por Cárdenas (2019) tras la administración de GMS debido al incremento de la actividad de la HMG-CoAR conjuntamente con una posible reducción de LDLR. Mientras Ruíz (2017) reportó que el aumento de COL se correlaciona positivamente con la PCSK9, dado que la actividad aumentada de PCSK9 trae como consecuencia la disminución en el número de LDLR, además el aumento de los niveles extracelulares de colesterol, lo cual, a su vez, se acompaña de incremento en la expresión de HMG-CoAR por la menor disponibilidad intracelular, por tanto, hay mayor síntesis. Estos dos mecanismos, captación disminuida y producción aumentada, son los responsables de la hipercolesterolemia en los casos en los que hay menor cantidad de LDLR.

Así mismo, Sani *et al.* (2015) y Thomas *et al.* (2009) encontraron aumento en los niveles de TG y c-VLDL por el hecho de que la ingesta dietética en exceso a las necesidades del cuerpo producida por hiperfagia especialmente de carbohidratos, conduce a su conversión hepática en TG, que luego se envasa en c-VLDL para exportar a los distintos tejidos y por lo tanto, aumenta el metabolismo de los lípidos hepáticos, lo que es indicativo del hecho de que el metabolismo de los carbohidratos se desplaza hacia la lipogénesis.

Por otro lado, Sharma *et al.* (2014) explican que GMS tiene la capacidad de generar saturación en los sistemas de homeostasis de los radicales libres, este fenómeno explicaría parcialmente los efectos metabólicos a largo plazo, incluyendo la obesidad y dislipidemia. De la misma manera Singh *et al.* (2011) indican que la administración de GMS aumentó el estrés oxidativo y, por lo tanto, podría inducir la oxidación de c-LDL. Después de la modificación oxidativa, las partículas de c-LDL se incorporan rápidamente a los macrófagos. La carga posterior con ésteres de colesterilo forma las denominadas células espumosas, las cuales a su vez originan estrías grasas en las arterias, que podrían ser responsables del inicio de la aterosclerosis.

De acuerdo a las investigaciones de Contini *et al.* (2017) y Mezarina (2015), indican que el mecanismo por el cual GMS induciría a una elevación del perfil lipídico puede estar relacionado a que la administración de GMS origina hiperleptinemia por daño en el núcleo

arqueado del hipotálamo y se reporta una relación entre el incremento de leptina y los niveles de COL y TG, tras un tratamiento con GMS, además indujo obesidad e hiperinsulinemia que fue acompañada con resistencia a la insulina y dislipidemia.

En el estudio de Xia *et al.* (2021) y Shi *et al.* (2021) indicaron que la elevación de c-LDL puede deberse a un aumento de PCSK9 lo cual ocasiona la disminución de LDLR, incluido el receptor de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLR). PCSK9 es una proteasa que promueve la degradación del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR). El c-LDL plasmático se elimina principalmente a través de la vía LDLR, por ello, cuando los niveles de PCSK9 son altos, aumenta la degradación del LDLR esto da como resultado niveles bajos de LDLR en la superficie celular y mayores niveles de c-LDL circulante (Seidah *et al.* 2014). Por otro lado, concentraciones elevadas de c-LDL se asocian a concentraciones elevadas de Apo B y se asocian a un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) (Ruíz 2017).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

La etapa experimental del presente trabajo se realizó en las instalaciones del bioterio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María.

#### **3.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

Se utilizaron 35 ratas albinas Wistar macho (*Rattus norvegicus*), las cuales fueron adquiridas del Bioterio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María. Las ratas fueron distribuidas al azar en cinco (5) tratamientos con siete (7) repeticiones por tratamiento.

Los animales fueron mantenidos en jaulas individuales con comedero y bebedero, así como una bandeja para recolectar sus excretas y desperdicios.

Se respetaron los procedimientos y protocolos de ética para el manejo de animales de laboratorio establecidos según la Ley Peruana N° 30407-2016 de la Protección y bienestar a los animales vertebrados domésticos o silvestres mantenidos en cautiverio.

Los primeros 7 días todos los animales de experimentación fueron expuestos a un tiempo de acondicionamiento a una temperatura de 23-25°C, a 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad continuamente. A cada rata se le proporcionó alimento balanceado y agua *ad libitum*.

#### **3.3. MATERIA PRIMA**

- El polvo de hojas de guanábana se obtuvo de la Planta de San Juan de Lurigancho: Av. Los Álamos N° 518, San Juan de Lurigancho, Lima- Perú.
- Dieta estándar comercial para ratas elaborada por la Planta piloto de alimentos balanceados de la UNALM, cuya composición se describe en el Anexo 1.

### **3.4. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS**

Entre los materiales utilizados tenemos: batería para animales de experimentación con jaulas individuales, comederos, bebedores, jeringas, agujas, cánula de acero inoxidable, envases, tubos colectores de suero; asimismo, se utilizó artículos de limpieza como jabón líquido, desinfectantes, papel toalla, etc. Además, implementos de seguridad utilizados por el investigador como guardapolvo, guantes de nitrilo desechables, mascarilla y los formatos de registro correspondientes para las mediciones de animales de experimentación.

Los materiales de laboratorio necesarios para el experimento fueron: envase estéril de vidrio ámbar, tubos de ensayo, agitador de vidrio, vasos de precipitación graduados, embudo büchner de porcelana, matraz de Erlenmeyer, fiolas, probetas graduadas, gradillas de metal, embudos, soporte universal, pipetas (1, 5 y 10ml), etc.

Los equipos utilizados fueron: balanza analítica Acculab ALC-210 de 210 g precisión 0.0001g, balanza analítica Boeco BAS31 de 220g precisión de 0.0001g, balanza digital Ohaus Scout Pro de 200 g precisión 0.01g, rotavapor marca Büchi R-205, espectrofotómetro Genesys 150 UV-Vis, refrigeradora LG, analizador de química clínica Mindray Bs-200E, etc.

Los reactivos necesarios para realizar el ensayo fueron: etanol al 96 por ciento, agua destilada, metanol, etanol, butanol, cloroformo, éter de petróleo, tricloruro de aluminio, limadura de Magnesio, ácido clorhídrico al 37 por ciento, cloruro férrico, reactivo de gelatina, hidróxido de sodio al 5 por ciento, reactivo de Dragendörff, ácido acético, anhídrido acético, ácido sulfúrico, pentobarbital sódico.

### **3.5. INDUCCIÓN A HIPERLIPIDEMIA**

Se administraron 8 mg/g de GMS a través de una cánula de acero inoxidable con el objetivo de inducir a hiperlipidemia (Cárdenas 2019). Todos los tratamientos recibieron GMS a excepción del grupo control negativo (T0).

### **3.6. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANÁBANA**

Se pesaron 500g y se llevaron a maceración alcohólica en una solución etanólica de 96 por ciento, con lo cual se extrajeron los metabolitos, por siete días con agitación constante y protegidos de la luz. Posteriormente se filtró y se llevó el extracto filtrado al rotavapor, equipo que es utilizado para la evaporación del solvente y se concentró a 30°C, hasta obtener un residuo seco a peso constante (Palomino 2007).

Asimismo, se realizó la caracterización del extracto etanólico de hojas de guanábana a través del ensayo de solubilidad, la presencia de compuestos bioactivos mediante el análisis fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales (Anexo 2 y 3).

### **3.7. TRATAMIENTOS**

Los animales de experimentación fueron asignados al azar en cinco tratamientos, considerando siete repeticiones por tratamiento. En esta fase los animales recibieron durante 30 días uno de los siguientes tratamientos mediante una cánula de acero inoxidable:

T0: agua como placebo (control negativo)

T1: GMS (control positivo)

T2: GMS + 250 mg/Kg/día extracto etanólico de hojas de guanábana

T3: GMS + 500 mg/Kg/día extracto etanólico de hojas de guanábana

T4: GMS + 1.1 mg/Kg/día de atorvastatina como control farmacológico.

Se determinó la dosis de 1.1 mg/kg de atorvastatina como control farmacológico dado que para una persona con peso promedio de 70 kg se recomienda el consumo de 80 mg por día, una tableta, entonces se deduce que, para un kilogramo la dosis será de 1.1 mg/Kg/día.

La dosis del extracto etanólico de hojas de guanábana (*Annona muricata L*) se determinó usando como referencia el estudio de Verma *et al* (2011) cuyo objetivo fue evaluar el efecto hipolipidémico de las hojas de chirimoya (*Annona cherimola*).

Finalizado el periodo del tratamiento experimental, todos los animales fueron sometidos a ayuno por 12 horas para la obtención de muestras de sangre previa anestesia.

### **3.8. DETERMINACIÓN DE PESO, GANANCIA DE PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO**

Se evaluó el peso corporal de los animales una vez por semana durante todo el experimento dado que la dosis administrada para los diferentes tratamientos fue en función de su peso vivo, siendo el siguiente procedimiento, a cada animal se colocó en un frasco liviano (previamente tarado en la balanza) con el objetivo de evaluar el peso en gramos (g) evitando que el animal se mueva constantemente y asegurando que la balanza mantenga una posición fija. La ganancia de peso se obtuvo calculando la diferencia entre el peso al finalizar el experimento y el peso inicial (Anexo 4).

El consumo de alimento, expresado en gramos, se calculó de manera indirecta mediante la diferencia entre el alimento suministrado diariamente y el residuo del mismo durante toda la fase experimental; para ello se pesaron diariamente los residuos de cada comedero.

### **3.9. DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO**

Se midió al finalizar el estudio, los animales de experimentación fueron anestesiados con pentobarbital sódico a una dosis de 30 mg/Kg para poder hacer la extracción de 3 mL de sangre del seno retro-orbital en viales esterilizados y rotulados. Los parámetros medidos fueron: Colesterol total (COL), triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) para ello se utilizó el método enzimático utilizando el analizador de química clínica Mindray Bs-200E (Ver Anexo 5 y 6).

La cuantificación de c-VLDL se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$c\text{-VLDL (mg/dl)} = \frac{\text{Triglicéridos totales}}{5}$$

5

### 3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se usó el Diseño Completo al Azar con 5 tratamientos y 7 repeticiones. Los datos obtenidos fueron procesados mediante el análisis de varianza aplicando el procedimiento ANOVA del programa SAS 9.0. Para la comparación de medias se utilizó la Prueba de Duncan, a un nivel de significancia del 5 por ciento. Previamente se realizó la validación de supuestos, es decir la Prueba de Normalidad con el Método de Anderson Darling y la Prueba de Homogeneidad de Varianzas con el Test de Bartlett ( $p > 0.05$ ).

El modelo aditivo lineal aplicado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Es la respuesta observada bajo el  $i$ -ésimo tratamiento

$\mu$  = Efecto de la media general del tratamiento

$T_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento ( $i = 1, 2, 3 \dots k$  tratamiento)

$e_{ij}$  = Efecto del error experimental en el  $i$ -ésimo tratamiento.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 PESO CORPORAL, GANANCIA DE PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO

Los resultados obtenidos en cuanto a peso vivo al iniciar y finalizar el experimento se muestran en la **Tabla 1**, cada valor corresponde al promedio de siete unidades experimentales de cada tratamiento, en cuanto al peso vivo inicial no presentaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ). Sin embargo, si hubo diferencias significativas en peso final, ganancia de peso y consumo de alimento.

**Tabla 1: Peso corporal, ganancia de peso y consumo de alimento de ratas inducidas a hiperlipidemia y tratadas con extracto etanólico de hojas de guanábana en diferentes dosis**

Mediciones	Tratamiento (T)				
	T0	T1	T2	T3	T4
Peso vivo inicial, g	328.7 <sup>a</sup>	331.6 <sup>a</sup>	333.9 <sup>a</sup>	329.7 <sup>a</sup>	329.3 <sup>a</sup>
Peso vivo final, g	370.4 <sup>b</sup>	383.9 <sup>a</sup>	371.9 <sup>b</sup>	359.3 <sup>c</sup>	372.1 <sup>b</sup>
Ganancia de peso, g	41.7 <sup>b</sup>	52.3 <sup>a</sup>	38.0 <sup>b</sup>	29.6 <sup>c</sup>	42.9 <sup>b</sup>
Consumo de alimento, g	25.8 <sup>b</sup>	28.5 <sup>a</sup>	25.4 <sup>b</sup>	21.4 <sup>c</sup>	25.9 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup> Letras distintas como superíndices dentro de una fila indican diferencias significativas ( $p<0.05$ ). \*T0: Control negativo; T1: Control positivo (GMS); T2: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (250 mg/kg); T3: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (500 mg/kg); T4: GMS + Atorvastatina

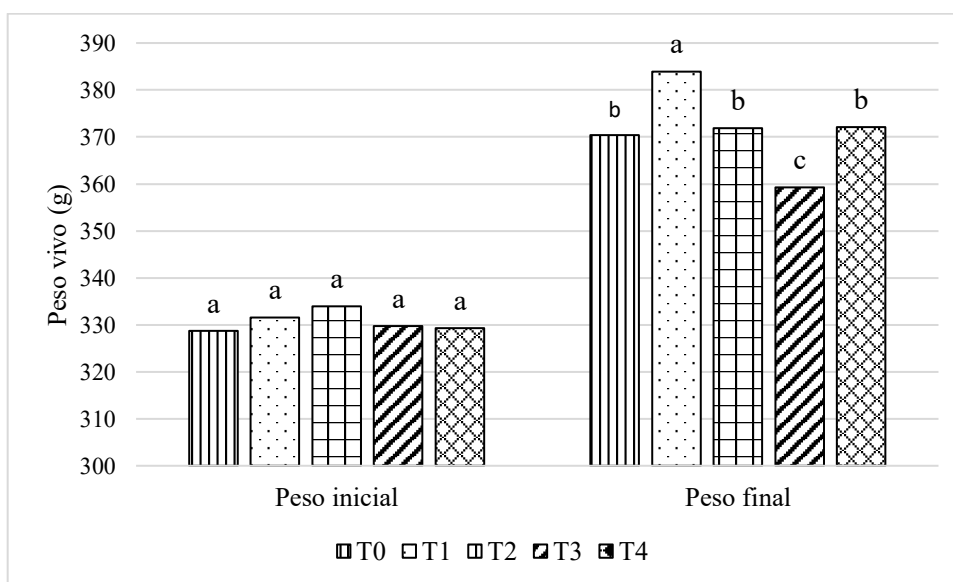
#### 4.1.1. Peso corporal (g) al inicio y al finalizar la administración de tratamientos

Como se puede observar en la Figura 1, los pesos corporales al iniciar el tratamiento fueron similares no habiendo diferencia estadísticamente significativa indicando que todos los grupos empezaron con un peso similar, señalando que la muestra utilizada era homogénea.



En cuanto a peso corporal al finalizar la investigación, el T1 (control positivo) fue el que presentó mayor peso corporal y fue estadísticamente significativo ( $p > 0.05$ ) en comparación a los demás tratamientos.

El consumo de GMS influyó en el peso de animales experimentales en el T1 (control positivo) evidenciando un mayor peso (383.9 g). Dicho aumento de peso también se observó en el estudio de Sani *et al.* (2015), al administrar GMS en dosis a partir de 4 a más mg/g de peso corporal. Asimismo, se ha reportado un aumento de peso corporal después de la ingesta de GMS en animales en los estudios de Hermanussen *et al.* (2006) y Fuentealba y Rojas (2020), quienes propusieron que dicho aumento de peso podría deberse a que el GMS interrumpe la cascada de señalización de la leptina, disminuyendo la saciedad, provocando hiperfagia, aumento del apetito, provocando un elevado consumo de alimentos y desbalance energético favoreciendo al sobrepeso u obesidad. Arteaga (2012) demostró que la ingesta de GMS a una concentración del 20 por ciento en ratas, incrementó el peso en un 20 por ciento, mientras que en el estudio de Alarcón (2019), incrementó 11.92 por ciento en el peso respecto al grupo control al administrar 0.8 por ciento de GMS; en el presente estudio hubo aumento de 4 por ciento respecto al grupo control negativo, probablemente esta diferencia se deba a la dosis brindada que ocasionó notables diferencias porcentuales.



**Figura 1. Peso inicial y final de ratas inducidas a hiperlipidemia tratadas con extracto etanólico de hojas de guanábana en diferentes dosis**

*a, b, c:* Barras con letra distinta indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

\*T0: Control negativo; T1: Control positivo (GMS); T2: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (250 mg/kg); T3: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (500 mg/kg); T4: GMS + Atorvastatina

Por otro lado, el peso final en los animales experimentales tras la ingesta del extracto etanólico de hojas de guanábana fue menor asociado a una menor ganancia de peso en su dosis de 500 mg/Kg.

En diversos estudios se ha corroborado dicho resultado, como lo reportado por Meydani y Hasan (2010), quienes observaron menores ganancias de peso en animales con obesidad, disminución de grasa a nivel hepático e intestinal, mejora en la hiperglicemia e hiperinsulinemia, al consumir flavonoides entre ellos la quercetina, se asoció a un menor aumento de peso. Asimismo, Henagan *et al.* (2015) tras la ingesta de extracto de cebolla roja (cuyo principal componente bioactivo es la quercetina) en animales experimentales dio como resultado menores ganancias de peso, estos efectos persistieron a lo largo del estudio y confirman que la quercetina es eficaz para atenuar el aumento de peso inducido e incluso señalan que puede ser el principal componente bioactivo para mejorar el peso corporal. Además, indican que flavonoles como la quercetina podrían inhibir la lipasa pancreática resultando en baja absorción de grasa. También se podría atribuir disminución en la ganancia de peso gracias a las propiedades antiinflamatorias de los flavonoides contenidos en las hojas de guanábana, y una mejor regulación en la ingesta de alimentos, así como lo indica Pajares (2019) en su investigación. Los flavonoides tienen actividad antioxidante pudiendo proteger al organismo de los efectos que causa GMS, ayudando a neutralizar radicales libres, manteniendo niveles adecuados de leptina, regulando el apetito, inhibiendo la adipogénesis, favoreciendo la lipólisis, pudiendo ayudar en el control de peso y prevención de obesidad. Si bien la dosis logró reducción en el peso final, para corroborar este postulado sería necesario realizar estudios complementarios con mayor tiempo de duración. Por otro lado, se podría atribuir menores ganancias de peso dado que hubo menor ingesta de alimento en el grupo que recibió las mayores dosis del extracto etanólico de hojas de guanábana.

Mientras que la dosis de 250 mg/Kg de extracto etanólico de hojas de guanábana no fue diferente al grupo que no recibió ninguna intervención (control negativo), ello indica que dosis bajas de extracto no ejercen efecto en disminución de ganancia de peso.

#### **4.1.2. Ganancia de peso tras la administración del tratamiento**

Con respecto a la ganancia de peso se obtuvo diferencia significativa, es así que el T1 presentó mayor ganancia de peso, tal como, lo reporta Sani *et al.* (2015) y Kondro *et al.* (2013). Mientras que, la menor ganancia de peso se dio en el tratamiento que recibió la mayor dosis del extracto etanólico de hojas de guanábana y fue estadísticamente

significativa. Estos datos obtenidos se respaldan por los estudios ya mencionados como son Meydani y Hasan (2010) y Henagan *et al.* (2015) donde se observaron menores ganancia de peso.

#### **4.1.3. Consumo de alimento**

El grupo control positivo mostró mayor consumo alimentario con un promedio de 28.5 gramos, que es superior al grupo control negativo, esto equivale a un aumento del consumo de alimento del 10 por ciento respecto al T0 (control negativo). Arteaga (2012) demostró que la ingesta de GMS en ratas aumentó la ingesta de alimento en un 38 por ciento. Mientras que, en el estudio de Alarcón (2019) incrementó el consumo de alimento en promedio 5.1 por ciento en comparación con el grupo control. Se indica que, la ingesta de alimentos que contienen grandes cantidades de GMS despierta un enorme apetito incrementando la voracidad en un 40 por ciento en ratas estudiadas. El aumento del apetito y el aumento del consumo de alimento como resultado de la administración de GMS podría explicarse debido a que altos contenidos de glutamato incluidos en la dieta pueden causar daño en el núcleo arqueado del cerebro, lo que interrumpe la cascada de señalización hipotalámica de la acción de la leptina, disminuyendo la saciedad y puede provocar hiperfagia tal como lo reportan Fuentealba y Rojas (2020), Sani *et al.* (2015) y Hermanussen *et al.* (2006).

Asimismo, se observó menor ingesta de alimentos con el extracto etanólico de hojas de guanábana en la dosis de 500 mg/Kg siendo estadísticamente significativa. Se ha reportado en el estudio de Arroyo *et al.* (2009) tras la ingesta de extracto etanólico de hojas de guanábana para determinar su efecto hipoglicemiante que la reducción en el consumo de alimento, es atribuible a los flavonoides que estarían favoreciendo la presencia del inhibidor dipeptidil peptidasa IV. Como se sabe la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) es una enzima que degrada a la hormona incretina. El principal y predominante tipo de incretina es el GLP-1, que estimula la secreción de insulina, suprime la liberación de glucagón, enlentece el vaciamiento gástrico, mejora la sensibilidad a la insulina, y reduce el consumo de alimentos.

## 4.2. INDUCCIÓN A HIPERLIPIDEMIA CON GMS

Se observó que el consumo de 8mg/g de GMS influyó de forma significativa en la alteración del perfil lipídico en ratas albinas Wistar *Rattus norvegicus* (**Tabla 2**), es así que los valores de COL, TG, c-LDL, c-VLDL y c-HDL, se encuentran fuera de los valores límite para ratas albinas según lo reportado por Ihedioha et al. (2013). Al finalizar el estudio, se observó el incremento de COL, TG, c-LDL y c-VLDL en el T1 (control positivo), lo cual estaría incrementando el riesgo cardiovascular. El resultado de esta inducción, coincide con lo reportado por otros investigadores en estudios realizados tanto a nivel nacional como internacional, confirmando la efectividad del modelo hiperlipemiente (Cárdenas 2019, Contini *et al.* 2017).

**Tabla 2: Perfil lipídico tras la administración de tratamientos en ratas inducidas a hiperlipidemia**

Mediciones	Tratamiento (T)				
	T0	T1	T2	T3	T4
COL, mg/dl	92.0 <sup>b</sup>	117.3 <sup>a</sup>	92.9 <sup>b</sup>	85.3 <sup>c</sup>	93.1 <sup>b</sup>
TG, mg/dl	76.7 <sup>b</sup>	98.9 <sup>a</sup>	80.0 <sup>b</sup>	62.6 <sup>c</sup>	83.1 <sup>b</sup>
c-LDL, mg/dl	27.6 <sup>c</sup>	57.3 <sup>a</sup>	27.7 <sup>c</sup>	16.1 <sup>d</sup>	34.6 <sup>b</sup>
c-HDL, mg/dl	49.1 <sup>b</sup>	40.1 <sup>c</sup>	49.0 <sup>b</sup>	56.6 <sup>a</sup>	42.0 <sup>c</sup>
c-VLDL, mg/dl	15.3 <sup>b</sup>	19.9 <sup>a</sup>	16.1 <sup>b</sup>	12.6 <sup>c</sup>	16.6 <sup>b</sup>

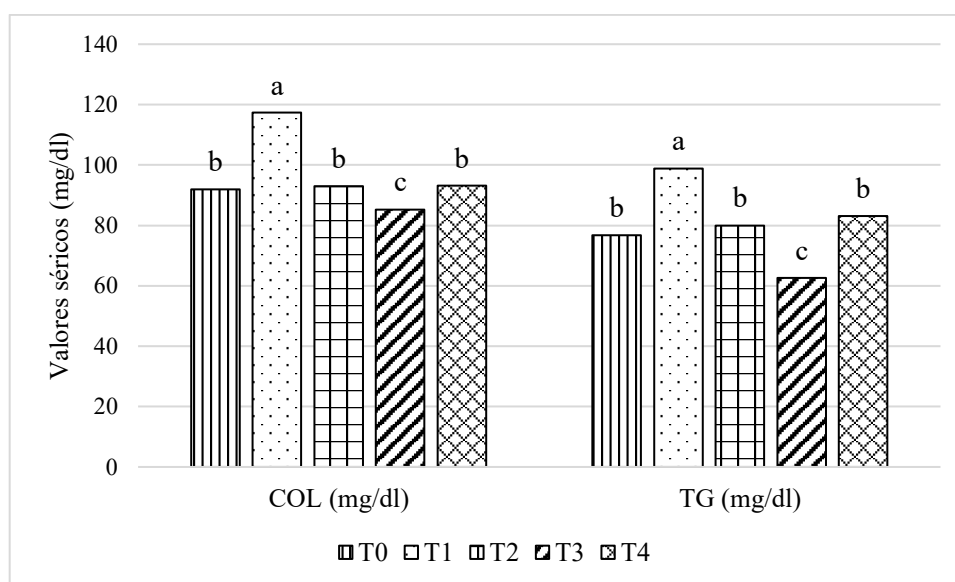
<sup>a, b, c, d</sup> Letras distintas como superíndices dentro de una fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). \*T0: Control negativo; T1: Control positivo (GMS); T2: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (250 mg/kg); T3: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (500 mg/kg); T4: GMS + Atorvastatina

## 4.3. EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANÁBANA SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO

La **Tabla 2** muestra los niveles de COL, TG, c-LDL, c-VLDL y c-HDL reportados en los animales de experimentación luego de la administración de los tratamientos.

#### 4.3.1. Efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana y fármaco hipolipemiante sobre los lípidos séricos

En la **Figura 2** se evidencia que los tratamientos T0, T2, T4 presentan menores niveles de concentración de COL, no habiendo diferencia significativa entre ellas, pero fueron significativos en comparación al grupo T3 ( $p < 0.05$ ). Dado ello, el consumo de extracto de hojas de guanábana influyó de forma significativa en la reducción de COL sérico. Se pudo apreciar una disminución de 21 y 27 por ciento de dicho parámetro respecto al control positivo, luego del consumo de 250 y 500 mg/Kg EE hojas de guanábana, respectivamente. De todos los tratamientos, fue la dosis de 500 mg/Kg la que presentó un menor valor de COL, llegando a 85.3 mg/dl, mientras que con el tratamiento donde se incluyó el fármaco atorvastatina se obtuvo 93.1 mg/dl, estos se encuentran dentro de los valores normales para ratas, el cual es de 80.33-109.72 mg/dl, de acuerdo a lo reportado por Ihedioha *et al.* (2013), es así que se observó mayor efecto con el extracto etanólico de hojas de guanábana.



**Figura 2. Niveles de lípidos séricos tras la administración de tratamientos en ratas con hiperlipidemia inducida**

*a, b, c:* Barras con letra distinta indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

\*T0: Control negativo; T1: Control positivo (GMS); T2: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (250 mg/kg); T3: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (500 mg/kg); T4: GMS + Atorvastatina

Una hipótesis del mecanismo de la disminución de la hipercolesterolemia por el extracto etanólico de hojas de guanábana, es debido a que los flavonoides son capaces de reducir la síntesis de colesterol hepático al inhibir la enzima HMG-CoAR en hígado (Piña 2016),

dando como resultado una menor concentración en el colesterol hepático contribuyendo simultáneamente con un incremento en la excreción de colesterol fecal, relacionado al aumento de la actividad de la LCAT, implicada con el transporte de colesterol desde los tejidos extra hepáticos hasta el hígado para su degradación (Torres 2017). De la misma manera Ha *et al.* (2015) reportaron que la disminución de COL se debe a que en el intestino disminuye absorción COL y aumenta su excreción biliar.

Por otro lado, otro posible mecanismo que produce la reducción de colesterol es explicado por Ruíz (2017), quien demostró que la inactivación de PCSK9 reduce los niveles de colesterol en plasma principalmente al aumentar la expresión de la proteína LDLR en el hígado y acelerar la eliminación del colesterol circulante. PCSK9 una proteína cuya función es inactivar los receptores para c-LDL en los hepatocitos. Al inhibir esa proteína se protegen los receptores, que pueden entonces no sólo cumplir su función de captura de c-LDL, sino recircular varios cientos de veces.

El tratamiento convencional para pacientes con dislipidemias es el uso de estatinas. En el presente estudio la reducción de los niveles de COL por el fármaco hipolipemiante, atorvastatina, se debe a que inhibe la HMG-CoAR, bloqueando la conversión de ésta en mevalonato, un paso decisivo temprano en la biosíntesis del colesterol hepático, reduciendo las concentraciones plasmáticas de COL y de las lipoproteínas. Al reducir la producción de colesterol intracelular en el hígado, aumentan la actividad del receptor LDL hepático y facilitan la depuración de c-LDL de la circulación (ACC/AHA 2020). Atorvastatina ha demostrado reducir las concentraciones de COL de 20 a 46 por ciento (AEMPS 2020), es así que en el presente estudio se logró reducir el COL en un porcentaje de 21 por ciento, similar a lo reportado.

Para la variable TG hubo diferencia significativa entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) donde el valor más bajo se obtuvo en el tratamiento con T3 (500mg/kg del extracto etanólico de hojas de guanábana) cuyos valores alcanzaron 62.6 mg/dl, los que se encuentran dentro de los valores óptimos que son de 60.43- 92.67 mg/dl (Ihedioha *et al.* 2013). En cuanto al T0, T2 y T4 no presentaron diferencias significativas entre ellos. Se puede manifestar que probablemente los componentes de las hojas de guanábana regulan la lipoproteína lipasa o apoproteína CII para disminuir los niveles de triglicéridos (Pajares 2019). De acuerdo al estudio de Ha *et al.* (2015) la menor expresión del gen SREBP-1c, originó disminución en

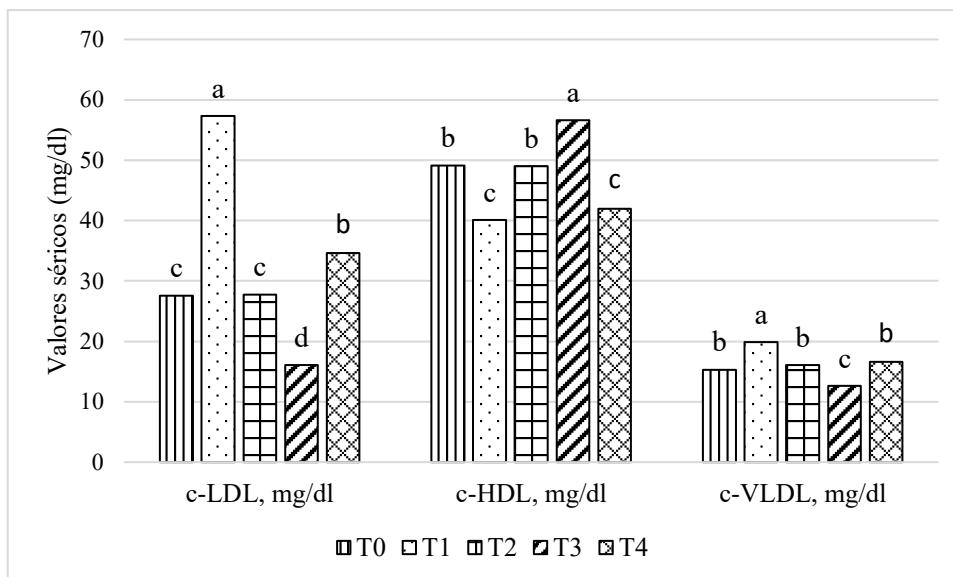
la síntesis de grasa en el hígado y disminución en la concentración plasmática de triglicéridos.

En el estudio de Jeong *et al.* (2012) el flavonoide quercetina, tuvo un efecto beneficioso sobre el perfil de lípidos plasmáticos en ratones, mejoró la hipertrigliceridemia a través de la expresión del receptor activado por el proliferador de peroxisoma  $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ) y disminuyó la expresión de SREBP-1c en el hígado, lo que resultó en una disminución de la síntesis de triglicéridos. La quercetina actúa mejorando el estrés oxidativo y la expresión de PPAR $\alpha$  en el hígado asimismo reduce la síntesis de triglicéridos y la actividad acetil-CoA carboxilasa (ACC) en hepatocitos, estos son los posibles mecanismos que contribuyen al efecto hipotrigliceridémico de la quercetina.

En el caso del fármaco hipolipemiente, atorvastatina, también se observó efecto en TG logrando una reducción de ellos (ACC/AHA 2020). La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS 2020) indica que se observó reducción de triglicéridos entre un 14 a 33 por ciento mientras que López *et al.* indicaron una reducción del 7 al 30 por ciento. En el presente estudio se logró una reducción de 16 por ciento, similar a lo reportado.

#### **4.3.2. Efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana y fármaco hipolipemiente sobre las lipoproteínas séricas**

La lipoproteína de baja densidad (c-LDL) está directamente implicada en la iniciación y progresión de la enfermedad cardiovascular, por otra parte, la reducción del c-LDL reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular. En el presente estudio, el consumo 500 mg /kg de extracto etanólico de hojas de guanábana disminuyó de forma significativa los niveles de c-LDL, respecto al control positivo (T1). En lo que respecta a T0 y T2 disminuyeron significativamente en comparación con T4 ( $p < 0.05$ ) (**Figura 3**).



**Figura 3. Niveles de lipoproteínas séricas tras la administración de tratamientos en ratas con hiperlipidemia inducida**

*a, b, c:* Barras con letra distinta indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

\*T0: Control negativo; T1: Control positivo (GMS); T2: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (250 mg/kg); T3: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (500 mg/kg); T4: GMS + Atorvastatina

La reducción de c-LDL por la administración del extracto etanólico de hojas de guanábana disminuyó posiblemente por un incremento en la cantidad de receptores de LDL hepáticos que ayuden a captar más c-LDL circulante en sangre, por una disminución del retorno de colesterol al hígado, ocasionado por la unión de la sustancia a los ácidos biliares o a través de una inhibición de la síntesis intracelular de colesterol. Se ha reportado en numerosos estudios que los compuestos polifenólicos, flavonoides, poseen efecto hipolipidémico, que incluyen dentro de sus efectos fisiológicos, una acción antioxidante y preventiva de las enfermedades cardíacas coronarias (Arbayza 2007).

Se puede atribuir la reducción de los niveles de c-LDL a la actividad antioxidante de los polifenoles presentes en las hojas de guanábana que protegen a las c-LDL del daño oxidativo, es decir, inhibe la oxidación y la citotoxicidad de las c-LDL, actuando como atrapadores de radicales libres (Unnikrishnan *et al.* 2014). Por sus propiedades de solubilidad pueden localizarse sobre la superficie de c-LDL, disminuyendo el consumo de los antioxidantes propios de las c-LDL. Los flavonoides pueden unirse a diferentes polímeros biológicos, tales como enzimas, ADN y transportadores de hormonas. Esto ayuda a eliminar los radicales libres y a reducir la oxidación de las grasas. Por ende, se reduce la probabilidad de acumular placas de ateromas en las paredes arteriales. Por otro lado, la quercetina es un flavonoide



antioxidante bien documentado es así que en el estudio de Wei *et al.* (2018) encontraron que la quercetina reduce la expresión hepática de PCSK9, aumenta la expresión de LDLR y estimula la captación de c-LDL en los hepatocitos humanos (Adorni *et al.* 2017). Por tanto, la reducción de la expresión hepática de PCSK9 origina menores niveles de c-LDL.

En el tratamiento T3, grupo que recibió 500mg/kg del extracto etanólico de hojas de guanábana, se logró una reducción del 72 por ciento de c-LDL, lo cual podría ser beneficioso en pacientes con dislipidemia severa, hipercolesterolemia familiar o hipercolesterolémicos que no pueden tolerar las estatinas e inclusive para aquellos pacientes que a pesar de recibir tratamiento máximo con estatinas no logran alcanzar valores objetivo de c-LDL. Ello debido que las estatinas logran reducciones de hasta 50 por ciento a pesar de duplicar la dosis. De esta manera el poder alcanzar la meta del c-LDL en estos pacientes se reduce el riesgo cardiovascular y se logra el objetivo final del tratamiento de la dislipidemia, que es aumentar el tiempo de calidad de vida del paciente al reducir las complicaciones de la aterosclerosis (Díaz y De León 2013). Esta mayor reducción de los niveles de c-LDL por la ingesta del extracto etanólico de hojas de guanábana podría justificarse debido a que gracias al contenido de flavonoides, entre ellos el flavonol, quercetina, es que permite niveles bajos de PCSK9, donde el complejo [LDLR≡ c-LDL] ingresa a las células a través de vesículas, y cuando se internalizan, el pH ácido de endosomas causa la disociación de estas, mientras que el c-LDL se dirige a los lisosomas para su degradación, el LDLR retorna a la superficie celular. Dicho mecanismo conduce a niveles altos de LDLR en la superficie celular, porque, el LDLR puede reciclarse de nuevo a la superficie después de la entrega de partículas de c-LDL a endosomas ácidos (Seidah *et al.* 2014). La actividad del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR) en el hígado es el principal determinante de las concentraciones plasmáticas de c-LDL.

Es así que la inhibición de PCSK9 reduce la degradación del LDLR siendo beneficioso para regular el metabolismo del colesterol y prevenir las ECV. Los inhibidores de PCSK9 han surgido como tratamientos para pacientes dislipidémicos, particularmente en aquellos que son intolerantes a las estatinas o tienen dislipidemia severa y se puede recetar como un complemento a la terapia con estatinas en personas con hipercolesterolemia grave que no han alcanzado objetivos deseables de c-LDL (Lin *et al.* 2018). Dado que los inhibidores de PCSK9 podrían mejorar las terapias dislipidémicas actuales, en condiciones experimentales la administración del extracto etanólico de hojas de guanábana podría ser una alternativa.

Inhibidores de PCSK9 logran reducciones de c-LDL en niveles superiores al 50 por ciento (ACC/AHA). La ACC/AHA (2020) explica que los flavonoides, son inhibidores de PCSK9, al inhibir el marcaje de los receptores de LDL para su degradación, lo que prolonga la actividad del receptor de LDL en la membrana celular, es así que se podría recomendar en casos de hiperlipidemia, porque reducen el c-LDL entre un 50 a 60 por ciento. Las intervenciones dirigidas a PCSK9 pueden conducir a una reducción significativa del c-LDL plasmático y, posiblemente, del riesgo cardiovascular (Lin *et al.* 2018).

De acuerdo a López *et al.* (2013) el efecto de atorvastatina en los lípidos es disminuir el c-LDL en 18-50 por ciento, mientras que, según la AEMPS (2020) reportó reducciones en las concentraciones de c-LDL 41-65 por ciento con máximas dosis, es importante mencionar que la terapia con estatinas disminuye las concentraciones de c-LDL y aumenta los niveles de PCSK9. La tasa de aumento en los niveles de PCSK9 varía dependiendo de la dosis de estatinas y la duración del tratamiento (Caresky *et al.* 2008). La elevación en los niveles de PCSK9 disminuye aún más el número de receptores de LDL, reduciendo así la eficacia de las estatinas. Esta puede explicar por qué la mayor parte de la reducción de c-LDL se logra con la dosis inicial de una estatina determinada y por qué duplicar la dosis de la estatina solo reduce modestamente las concentraciones de c-LDL. Caresky *et al.* demostraron que la atorvastatina reduce significativamente el nivel de c-LDL en un 42 por ciento debido al aumento de los niveles de PCSK9, esta podría ser una explicación de que en el presente estudio se logró reducir un 40 por ciento, similar a lo reportado en los estudios mencionados.

Para la variable c-HDL no hubo diferencia significativa entre el grupo T1(control positivo) y T4 (fármaco atorvastatina). En cuanto al fármaco hipolipemiente atorvastatina (T4) presentó bajos valores de c-HDL al igual que el T1 (control positivo) no llegando alcanzar los valores normales para ratas. Por otro lado, la ingesta del extracto etanólico de hojas de guanábana a diferentes dosis (250 y 500 mg/kg respectivamente) influye de manera significativa en la elevación de c-HDL, siendo la dosis de 500 mg/kg la que presentó mayor valor de c-HDL. Además, el extracto etanólico a una dosis de 250 mg/kg alcanzó los valores normales de c-HDL al igual que el T0 (control negativo). Se pudo apreciar un aumento de 22 y 41 por ciento de dicho parámetro respecto al control positivo, luego de la administración de 250 y 500 mg/kg de extracto etanólico de hojas de guanábana, respectivamente. El incremento de c-HDL podría estar explicado por la movilización de colesterol de tejidos

extrahepáticos al hígado donde es metabolizado, gracias al efecto de los flavonoides, tal como se demostró en los estudios de Arbayza (2007) y de Majithiya *et al.* (2004). En el estudio de Ha *et al.* (2015) se observó mayor expresión del gen ABCA 1, cuya función es transportar principalmente colesterol y fosfolípidos a través de membranas, así como la formación de c-HDL. La expresión de apo AI y apo AII y de transportadores de colesterol, es asociada con un aumento del c-HDL y el transporte reverso de colesterol. Por otro lado, el aumento de la actividad de la lipasa hepática (LH) se asocia a niveles plasmáticos más bajos de c-HDL, tal como se manifestó en el T1. Mientras que, la reducción de la lipasa hepática, ocasiona mayor actividad de la LCAT y por consiguiente el incremento de lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) en sangre. El posible mecanismo de acción por el cual estos alimentos con contenido de flavonoides podrían incrementar el contenido de c-HDL en sangre residiría en que los flavonoides están ligados a la reducción de la oxidación de c-LDL, debido a sus funciones antioxidantes y funciones antiinflamatorias, logrando en consecuencia un posible incremento del colesterol antagónico, en este caso del c-HDL y consecuentemente una disminución en la probabilidad de sufrir enfermedades cardiovasculares. Se afirma que por cada incremento de 1 mg/dl de c-HDL puede producirse un descenso de hasta un 3 por ciento en la incidencia de riesgo cardiovascular (Ha *et al.* 2015).

Respecto a atorvastatina se ha reportado aumentos variables en el c-HDL. Es así que en el estudio de López *et al.* (2013) se observó aumento del 5 al 15 por ciento c-HDL, en el presente estudio se obtuvo un aumento del 5 por ciento en los niveles de c-HDL.

De todos los tratamientos, para la variable c-VLDL fue el T3 (12.6 mg/dl) el que presentó el valor más bajo, este valor llegó a ubicarse dentro de los valores límite para ratas, el cual es de 12.08 -18.53 mg/ dl, de acuerdo a lo reportado por Ihedioha *et al.* (2013). En los tratamientos T0, T2 y T4 no hubo diferencia significativa entre ellos. Los resultados anteriores sugieren que el extracto etanólico de hojas de guanábana es capaz de restaurar, al menos parcialmente, el catabolismo de  $\beta$ -lipoproteínas. El mecanismo fundamental de esta actividad, se ha hipotetizado en muchos trabajos con otras plantas, a través de la restauración del catabolismo de c-VLDL debido a un estímulo incrementado de la actividad lipolítica de la lipoproteína lipasa del plasma (Arbayza 2007).

Por otro lado, una mayor absorción y oxidación de los ácidos grasos celulares, junto a una producción más baja de ácidos grasos libres y TG, genera la disminución de la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad (c-VLDL). Mariños y Calderón (2014) indican que la síntesis y secreción de c-VLDL, lipoproteína rica en triglicéridos, está estrechamente relacionada con la síntesis de colesterol y la actividad HMG-CoAR. Así, se ha demostrado que disminución de la secreción de c-VLDL se acompaña de la disminución en la actividad HMG-CoAR.

Las estatinas también inhiben la secreción de c-VLDL a través de una mayor degradación de apoB a través de su conocida capacidad para regular al alza la transcripción del gen del receptor de LDL, pero con tratamiento crónico de atorvastatina, no disminuye su tasa de secreción de apoB, de hecho, hay un aumento paradójico en la secreción de apoB (Twisk *et al.* 2000). De acuerdo a López *et al.* (2013), la administración de atorvastatina produce una disminución de un 10-30 por ciento de c-VLDL, es así que en el presente estudio se obtuvo una reducción del 16 por ciento.

#### **4.4. COMPARACIÓN DEL EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANÁBANA Y EL FÁRMACO HIPOLIPEMIANTE**

La dosis de 250 mg del extracto etanólico de hojas de guanábana y atorvastatina presentaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de c-LDL y c-HDL. La atorvastatina aumentó valores c-HDL, pero no fue significativo, por el contrario, tuvo valores similares al T1 (control positivo). Sólo hubo un aumento del 5 por ciento cuyos resultados coinciden con lo reportado por López *et al.* (2013) de 5-15 por ciento. Por otro lado, no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en COL, TG y c-VLDL.

Como se esperaba la atorvastatina disminuyó significativamente los niveles circulantes de COL y c-LDL, los cuales son los blancos principales sobre los que actúa. En la presente investigación se observó una disminución del 20 por ciento de COL y del 40 por ciento en los niveles de c-LDL.

Dentro del grupo de las estatinas, la atorvastatina, es la más administrada en todo el mundo tiene diversos estudios que comprueban su efectividad con las ECV (Jiménez y Herrera

2017), además de ayudar a la reducción del colesterol plasmático hasta un 50 por ciento (Echeverry y Melgarejo 2016).

Conocer los beneficios de las plantas naturales con fines terapéuticos como una alternativa en el tratamiento de las enfermedades y afecciones causadas por dislipidemia no ha perdido su valor en el mundo entero, por el contrario hay muchos investigadores que buscan implementar la medicina tradicional con estudios científicos para así aprovechar los metabolitos secundarios de las plantas y ayudar a todas las personas en el mundo los cuales muchos de ellos tienen difícil acceso a los hospitales en zonas alejadas, el alto costo económico, reacciones adversas, la resistencia a los tratamientos farmacológicos, etc. Los resultados de la presente investigación podrían ser beneficioso para la población en general, como también para que los productores, quienes puedan dar un valor medicinal a su cosecha, especialmente en los departamentos donde se cultiva tal planta como es el caso de Loreto, San Martín, Ucayali, Cajamarca, Trujillo, Lambayeque, la Libertad, Junín, Ica y Lima. Además de aportar bases científicas que contribuyen a futuras investigaciones relacionadas con el tema del uso eficaz y seguro de las hojas de guanábana. Hay muchas plantas que requieren nuestra atención que no han sido estudiadas por completo y se ignoran su actividad terapéutica principal y no debemos olvidarlas. Debido a los efectos secundarios de los fármacos y la tendencia social hacia las medicinas a base de hierbas, está justificado proponer nuevos remedios a base de hierbas para la prevención de enfermedades cardiovasculares (Ghasemiyampour *et al.* 2017).

Las hojas de guanábana puede ser una opción para el tratamiento de dislipidemia dado que disminuyó significativamente COL, TG, c-LDL y c-VLDL e inclusive incrementó c-HDL. La explicación a ello, es la capacidad antioxidante de los componentes bioactivos encontrados en mayor proporción como son los compuestos fenólicos y flavonoides (tipo antocianidinas, antraquinonas) reportados en la identificación cualitativa del análisis fitoquímico (Anexo 2), además el contenido de flavonoides en el extracto etanólico de hojas de guanábana fue de 1.55 mg quercetina / g (Anexo 2), es así que, mediante estos análisis se determinó la presencia de flavonoides, ya que según la literatura es el compuesto bioactivo que tiene como efecto mejorar el perfil lipídico en hiperlipidemia. Los flavonoides tienen un papel importante al mejorar el perfil de lípidos en suero y probablemente mejorar la degradación de c-LDL (Piña 2016). El efecto hipolipemiante de los flavonoides es debido a sus propiedades antioxidantes, quelar iones metálicos transitorios, inhiben oxidasas,

estimulan enzimas, prevenir la agregación plaquetaria y de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (Unnikrishnan *et al.* 2014). El flavonoide quercetina, es el principal flavonoide que inhibe la oxidación y la citotoxicidad de las c-LDL (Unnikrishnan *et al.* 2014). La quercetina tiene la capacidad de reducir el riesgo cardiovascular, disminuir la presión arterial, el colesterol total e incrementando el c-HDL (Arias 2015). Además, cuando existe una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres, el potencial antioxidante disminuye, lo que induce estrés oxidativo. El estrés oxidativo puede agravar el aumento de la oxidación de las lipoproteínas, la activación de señales proinflamatorias y la inactivación de enzimas antiaterogénicas, prostaciclina sintasa y óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). La quercetina es un potente antioxidante al eliminar directamente ROS y radicales libres. Además, la quercetina también activa la función de las enzimas antioxidantes. Quercetina, este flavonol, podría revertir la expresión de genes desregulados implicados en la función hepática del metabolismo de lípidos (Wang *et al.* 2020).

En el estudio realizado por Rojas y Calderón (2014) al brindar extracto alcohólico de hojas de hinojo se observó reducciones de COL, TG, c-LDL, c-VLDL y aumentó c-HDL, ello debido a la alta cantidad de flavonoides como quercetina, indican que la quercetina produce una disminución en la presión arterial (efecto antihipertensor) administrado por vía oral, tienen efectos antitrombótico a través de la vasodilatación y las propiedades antiplaquetarias. La dosis de 500mg/Kg del extracto etanólico ocasionó la mayor reducción de COL, TG, c-LDL y c-VLDL y mayor aumentó de c-HDL, indicándose mayor efecto en contraste con el fármaco hipolipemiente.

También se observó reducciones significativas en los niveles de COL, TG, c-LDL y un aumento considerable en c-HDL tras la administración del extracto de hojas de chirimoya en dosis de 250 y 500 mg/Kg en ratas hiperlipidémicas inducidas experimentalmente, asimismo se redujeron significativamente índices coronarios de c-LDL/c-HDL y TG/ c-HDL dependiente a la dosis administrada, evidenciándose un mayor efecto con la mayor dosis, demostrándose así el efecto hipolipemiente (Verma *et al.* 2011). Cabe resaltar que se obtuvieron resultados similares con el presente estudio, donde se observó una elevación del c-HDL en 23 y 39 por ciento con las dosis de 250 y 500 mg/Kg respectivamente del extracto de hojas de chirimoya mientras que en la presente investigación fue ligeramente mayor con la administración de extracto etanólico de hojas de guanábana se encontró incremento de 22

y 41 por ciento en los niveles de c-HDL, resulta importante tener mayores valores en c-HDL dado que existe una relación inversa entre el nivel de c-HDL y la enfermedad coronaria, por el contrario, el aumento de c-LDL aumenta el riesgo de desarrollar aterosclerosis.

Por ende, el principal motivo de tratar la hiperlipidemia es disminuir el riesgo de la patología cardiovascular, por ello, es fundamental tratar a los pacientes que tienen elevación de lipoproteínas c-LDL.

#### 4.5. ÍNDICE DE RIESGO CORONARIO

Con los valores del perfil lipídico de los 5 grupos de estudio se halló el índice COL/c-HDL, c-LDL/c-HDL y TG/c-HDL como se observa en la **Tabla 3**, los cuales son usados como marcadores de riesgo cardiovascular, son mejores predictores de ECV que los parámetros lipídicos. Cuanto mayor sea el índice, la aparición potencial de aterosclerosis y la prevalencia de enfermedades cardiovasculares también es mayor (Nailis *et al.* 2017). Al analizar estos valores se observó que la administración de glutamato monosódico ocasionó un mayor cociente de lípidos y lipoproteínas llegando a 2.93, 1.43 y 2.47, COL/c-HDL, c-LDL/c-HDL y TG/c-HDL, respectivamente, siendo significativo en cada uno de ellos.

**Tabla 3: Índice de riesgo coronario en ratas con hiperlipidemia inducida tras la administración de tratamientos**

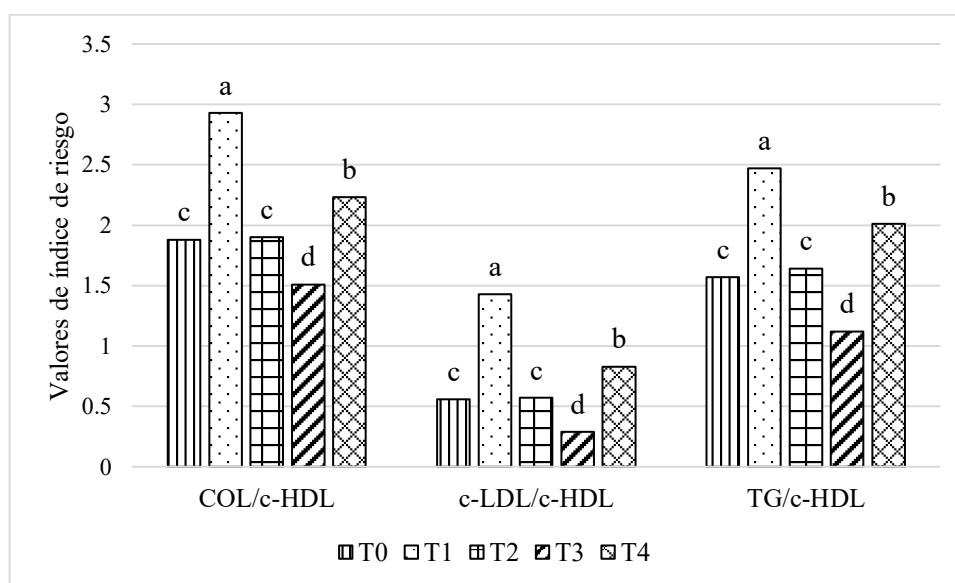
ÍNDICE	Tratamiento (T)				
	T0	T1	T2	T3	T4
COL/c-HDL	1.88 <sup>c</sup>	2.93 <sup>a</sup>	1.90 <sup>c</sup>	1.51 <sup>d</sup>	2.23 <sup>b</sup>
c-LDL/c-HDL	0.56 <sup>c</sup>	1.43 <sup>a</sup>	0.57 <sup>c</sup>	0.29 <sup>d</sup>	0.83 <sup>b</sup>
TG/c-HDL	1.57 <sup>c</sup>	2.47 <sup>a</sup>	1.64 <sup>c</sup>	1.12 <sup>d</sup>	2.01 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras distintas como superíndices dentro de una fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). \*T0: Control negativo; T1: Control positivo (GMS); T2: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (250 mg/kg); T3: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (500 mg/kg); T4: GMS + Atorvastatina

La administración del extracto etanólico de hojas de guanábana redujo el índice de riesgo de cardiopatía coronaria, dependiente de la dosis, principalmente mediante el aumento del nivel de c-HDL. Dado que c-HDL ejerce parte de su efecto antiaterogénico al contrarrestar la oxidación de c-LDL, también que c-HDL promueve la vía inversa de transporte de colesterol, en la que c-HDL induce una salida de exceso de colesterol celular acumulado e

impide la generación de una c-LDL oxidativo. Además, c-HDL inhibe la oxidación de c-LDL por transición iones metálicos, sino que también previene la formación de hidroperóxidos de lípidos mediada por 12-lipoxigenasa (Nailis *et al.* 2017). Con respecto a la administración de 500 mg/Kg del extracto etanólico de las hojas de guanábana logró una mayor una reducción en los tres parámetros con una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) al compararlo con el control positivo indicándonos menor riesgo cardiovascular tal como se observa en la **Figura 4**.

El índice de riesgo coronario se vio afectado por el contenido de c-HDL. A mayor nivel de c-HDL menor será el valor del índice de riesgo coronario, por lo que el riesgo de aterosclerosis será menor, indicando su prometedor potencial protector contra las enfermedades cardiovasculares.



**Figura 4. Índice de riesgo coronario tras la administración de tratamientos en ratas con hiperlipidemia inducida**

*a,b,c* : Barras con letra distinta indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

\*T0: Control negativo; T1: Control positivo (GMS); T2: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (250 mg/kg); T3: GMS + extracto etanólico de hojas de guanábana (500 mg/kg); T4: GMS + Atorvastatina

La **Tabla 2** mostró que el nivel de c-HDL en ratas que recibieron GMS durante 30 días es más bajo (40.1 mg/dl) y causa el mayor índice aterogénico. Por lo tanto, se debe hacer un esfuerzo para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares mediante la regulación del colesterol, uno de ellos podría ser haciendo el uso de hojas de guanábana. Se esperaría que



las hojas de guanábana desempeñen un papel antiaterogénico a través de la inhibición de la oxidación de c-LDL, así como la elevación del c-HDL.

Cárdenas (2019) en un tratamiento de 4 semanas con GMS aumentó COL, TG y c-LDL y respecto a los cocientes lipoproteicos (CT/c-HDL, c-LDL/c-HDL y TG/c-HDL) se encontraron mayores valores en el tratamiento que recibió GMS siendo significativo en c-LDL/c-HDL en comparación con los demás tratamientos.

En el estudio realizado por Yokozawa *et al.*(2006), encontraron que el índice COL/c-HDL en ratas normales es de 1.6, dicho valor es similar a lo reportado en la presente investigación, el cual fue de 1.9.

Por otro lado, los niveles de COL y c-LDL se correlacionan positivamente con el índice de riesgo coronario, mientras que los niveles de c-HDL se correlacionaron negativamente. La **Tabla 2** muestra que las ratas que recibieron la mayor dosis del extracto etanólico de hojas de guanábana tuvo el COL más bajo (85.3 mg/dl) y c-HDL más alto (56.6 mg/dl), por lo que el índice se redujo significativamente indicando que el riesgo de aterosclerosis es menor.

El c-LDL también es el objetivo principal de la terapia de reducción del riesgo de cardiopatía coronaria. Además, las elevaciones en los niveles de c-VLDL e c-IDL también son factores de riesgo de ECV, reducir el colesterol sérico y c-LDL puede reducir significativamente los eventos de riesgo cardiovascular. Cuando hay exceso de c-LDL en la sangre, se deposita en las paredes de los vasos sanguíneos y se convierte en un componente importante de la placa aterosclerótica. Por lo tanto, la concentración de c-LDL en suero debe utilizarse como base para iniciar y controlar el tratamiento de pacientes con niveles elevados de colesterol en sangre y el proceso patológico podría ser revertido reduciendo el nivel de c-LDL en suero.

La administración de extracto etanólico de hojas de guanábana inhibió la oxidación de c-LDL, que es un paso clave en la progresión aterosclerótica debido a la actividad antioxidante endógena elevada. Los animales tratados con atorvastatina, no mostraron diferencia significativa con el control negativo (T0), tal como se aprecia en la **Figura 4**. Los resultados citados en líneas previas están relacionados a los compuestos bioactivos presentes en las hojas de guanábana el cual presenta polifenoles entre ellos los flavonoides.

## V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se llevó a cabo el presente estudio en ratas albinas Wistar hiperlipidémicas se concluye:

1. El peso corporal, ganancia de peso y consumo de alimento fue afectado significativamente con la dosis de 500 mg/kg de extracto etanólico de hojas de guanábana.
2. La administración de 250 mg/kg de extracto etanólico de hojas de guanábana presentó un efecto similar al fármaco utilizado en el tratamiento convencional para pacientes con dislipidemias, a excepción de valores c-HDL.
3. La administración de 500 mg/kg de extracto etanólico de hojas de guanábana mostró mayor disminución en los niveles de TG, COL, c-LDL y c-VLDL, así como reducir significativamente el índice de riesgo de cardiopatía coronaria, además de incrementar los niveles de c-HDL en comparación con los demás tratamientos.

## **VI. RECOMENDACIONES**

De acuerdo con los resultados obtenidos se recomienda:

1. Continuar los estudios evaluando la actividad hipolipemiante del extracto etanólico de hojas de guanábana a mayores dosis que las administradas y con un periodo de tiempo mayor.
2. Estudiar el tejido hepático a nivel histopatológico para evaluar el papel de los metabolitos secundarios contenidos sobre la deposición de lípidos a este nivel.
3. Realizar la medición de enzimas involucradas en el metabolismo de grasa, así como la expresión de factores de transcripción adipogénicos como PPAR  $\gamma$  y SREBP.
4. Evaluar el efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana sobre la saciedad realizando análisis de leptina, grelina u otros reguladores de la saciedad en el hipotálamo.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACC/AHA (American College of Cardiology/ American Heart Association). 2020. ACC/AHA lipid guidelines: Personalized care to prevent cardiovascular disease. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 87 (4): 231-239
- ADA (American diabetes association). 2009 Todo acerca del colesterol. ADA Guía de la diabetes.6: 342-345.
- Adorni, MP; Cipollari, E; Favari, E; Zanotti, I; Zimetti, F; Corsini, A; Ricci, C; Bernini, F y Ferri N. 2017. Inhibitory effect of PCSK9 on Abca1 protein expression and cholesterol efflux in macrophages, *Atherosclerosis* 256: 1–6.
- AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios). 2020. Ficha Técnica Atorvastatina (en línea). Consultado 7 dic. 2020. Disponible en [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/76541/FT\\_76541.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/76541/FT_76541.pdf)
- Agu, K Y Okolie, P. 2017. Proximate composition, phytochemical analysis, and in vitro antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop). *Food Sci Nutr* 5 (5): 1029–1036.
- Alarcón, EJ. 2019. Efecto de la ingesta diaria de una dieta con glutamato monosódico sobre el consumo alimentario y el peso en ratas de experimentación. Tesis para optar el grado de Mg. en Docencia e Investigación en Salud. UNMSM. Lima –Perú.
- Alonso, J. 2004. Tratado de fitofármacos y nutracéuticos. Rosario - Argentina, Corpus. 641- 646, 927-930,1037-1041p.
- Arbayza, JD. 2007. Evaluación de la actividad antioxidante del extracto acuoso de hojas de *Sambucus peruviana* (Saúco) en la hipercolesterolemia inducida y su influencia en la lesión aterosclerótica en ratas. Tesis doctoral. Trujillo –Perú.
- Arias, N. 2015. Efectos de la combinación de biomoléculas presentes en los alimentos, ácido linoleico conjugado, resveratrol y quercetina, sobre la acumulación de grasa corporal. Tesis doctoral. Vitoria-Gasteiz, España, Universidad del País Vasco. 115p.

- Arroyo, J; Martínez, J; Ronceros, G; Palomino, R; Villareal, A; Bonilla, P; Palomino C; Quino, M. 2009. Efecto hipoglicémico coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. Anales de la facultad de medicina 70(3): 163- 167.
- Arteaga, ME. 2012. Efectos de la dieta alta en glutamato monosódico sobre el peso corporal, la preferencia de sabores y el aprendizaje contextual en ratas. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales, México.
- Ávalos, A y Pérez-Urria, E. 2009. Metabolismo secundario de planta. Reduca (Biología) Serie Fisiología Vegetal 2 (3): 119-145.
- Bhardwaj, R; Pareek, S; Sagar, NA; Vyas, N. 2020. Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts: Bioactive Compounds of *Annona*. Series in Phytochemistry. Maharashtra, India, Springer Nature Switzerland AG. 37-62p.
- Cahyawati, P. 2020. Efek farmakologi dan toksik sirsak (*Annona muricata*): A mini-review. Biomedika, 12(2), 107-116.
- Cárdenas, AJ. 2019. Efecto hipolipidémico de la ingesta de *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre la hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas. Tesis Lic. Lima, Perú. 24-31p.
- Cárdenas, H; Sánchez, J; Roldán, L; Mendoza, F. 2009. Prevalencia del síndrome metabólico en personas a partir de 20 años de edad. Perú, 2005. Rev Esp Salud Pública; 83(2).
- Caresky, HE; Davis, RA; Alborn, WE; Troutt, JS; Cao, G y Konrad, RJ. 2008. Atorvastatin increases human serum levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, J. Lipid Res. 49 (2): 394–398.
- Carson, J; Lichtenstein, A; Anderson, C; Appel, L; Kris-Etherton, P; Meyer, K; Petersen, K; Polonsky, T; *et al.* 2020. Dietary Cholesterol and Cardiovascular Risk: A Science Advisory from the American Heart Association. Circulation. 141: e39–e53.
- Carvajal, C. 2019. Lípidos, lipoproteínas y aterogénesis. San José, Costa Rica. Editorial Nacional de Salud y Seguridad Social. 20-35p.
- CENAN (Centro nacional de alimentación y nutrición). 2006. Encuesta nacional de indicadores nutricionales, bioquímicos, socioeconómicos y culturales relacionados con las enfermedades crónico-degenerativas. Lima, Perú.

- CENAN. 2017. Tabla de composición de alimentos (en línea). Consultado 5 jul. 2021. Disponible en [https://issuu.com/ins\\_cenan/docs/tablas-peruanas-2017](https://issuu.com/ins_cenan/docs/tablas-peruanas-2017)
- Chun, SC; Xiaomin, S; Anthonydhason, V; Jung, H; Belachew, ST; Gopal, J; Paul, D. 2018. Enhanced Harnessing of the Graviola Bioactive Components Using a Neoteric Sonication Cum Microwave Coadjuvant Extraction Protocol. *Appl. Sci.* 8 (232): 1-10
- Colina, AC. 2016. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* (J.E. Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco). Tesis Ing. Químico. Lima, Perú. 96p.
- Contini, M; Millen, N; Benmelej, A; *et al.* 2017. Evaluación del estado nutricional y metabolismo hepático en ratas macho expuestas crónicamente a la ingesta de glutamato monosódico. *FABICIB.* 21: 38-54.
- Coria-Téllez, AV; Montalvo-González, E; Yahia, EM; Obledo-Vázquez, EN. 2018. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry* 11(5): 662-691.
- Correa, J; Ortiz, D; Larrahondo, J; Sánchez, M; Pachon, H. 2012. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(2): 111–26.
- Costa, EV; Dutra, LM; Salvador, MJ; Ribeiro, LH; Gadelha, FR; Carvalho, JE. 2013. Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmannii* (*Annonaceae*), and their antitumor and trypanocidal activities. *Nat Prod Res* 27:997–1001.
- Crandall, JP; Mather, K; Rajpathak, SN; Goldberg, R; Watson, K; Foo, S; Ratner, R; Barret-Connor, E; Temprosa, M. 2017. Statin use and risk of developing diabetes: results from the Diabetes Prevention Program (DPP). *BMJ Open Diabetes Research and Care* 5: e000438.
- Cuello, M; Jaramillo, G; Canchingre, E; Pérez, J; Castro, C; Cabrera, O. 2017. Determinación de componentes nutricionales presentes en las hojas secas de *Annona muricata* L. (Guanábana). *Revista Cumbres.* 3(1): 09 – 28.

- De la Cruz, C. 2015. Obesidad como factor de riesgo para Dislipidemia en niños. Tesis de Médico cirujano. Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Medicina, Trujillo.
- DGA (Dietary Guidelines for Americans). 2015. Dietary Guidelines for Americans 2015-2020 (en línea). Consultado 20 dic 2020. Disponible en: [https://health.gov/sites/default/files/2019-09/2015-2020\\_Dietary\\_Guidelines.pdf](https://health.gov/sites/default/files/2019-09/2015-2020_Dietary_Guidelines.pdf)
- Díaz, L. y De León, A. 2013. Guía de Tratamiento Farmacológico de Dislipidemias para el primer nivel de atención. Revista Mexicana Cardiología 24 (S1): 23-37
- Dilrukshi, MK; Dharmadasa, RM; Abeysinghe, DC. 2020. Selection of Superior Quality *Annona* Species by Means of Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity. World Journal of Agricultural Research. 8 (2): 39-44.
- Echeverry, D y Melgarejo, E. 2016. Hipercolesterolemia familiar: artículo de revisión. Revista Colombiana de Cardiología, 23, 1-14.
- Eckel, RH; Jakicic, JM; Ard, JD; De Jesus, JM, Houston, N; HubbarD, VS, *et al.* 2014. AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines 2013. Journal of American College of Cardiology. 01;63(25 Suppl B):2960-84.
- Flores, A. 2016. Estabilización fisicoquímica del extracto acuoso de hojas de guanábana (*Annona muricata*). Tesis Magister. Veracruz, México. Universidad Veracruzana. 15-21p
- Foy, E; Mac, D; Cuyos, M; Gueñas, R. 2005 Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. Biotempo. 1(5): 31-36.
- Freire, R; Moura, M; Soares, A; Rodrigues, D; Parente, A; Coelho, M. 2013. Análisis del perfil lipídico en una población de estudiantes universitarios. Rev. Latino-Am Enfermagem. 21(5):1-9.
- Fuentealba, F; Rojas, T.2020. Cambios morfofuncionales de riñón e hígado en obesidad por acción del glutamato monosódico: El potencial peligro del glutamato monosódico en la dieta. Tesis Lic. Talca, Chile. Universidad de Talca. 10-12p.
- Gavamukulya, Y; Abou-Elella, F; Wamunyokoli, F; El-Shemy, HA. 2014. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). Asian Pac. J. Trop. Dis. 7, S355–S363.

- Gbaguidi, BA, Anjou, ES, Koutchiko, A, Dahouenon-Ahoussi, E, Sezan, A. y Dominique, S. 2017. Toxicidad fitoquímica y aguda del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* (L.) de Benin en ratas albinas experimentales. IJCS. 5(6): 39-4.
- Ghasemiyanpour, M; Rasekh, H y Mojab, F. 2017. Estudiaron el Efecto antihiperlipidémico del extracto de etanol de *Allium ampeloprasum* en ratas. Research Journal of Pharmacognosy (RJP) 4 (Suplemento): 26. Disponible en: <http://rjpharmacognosy.ir>
- Goldwasser, J; Cohen, PY; Yang, E; Balaguer, P; Yarmush, ML; Nahmias, Y. 2010. Transcriptional regulation of human and rat hepatic lipid metabolism by the grapefruit flavonoid naringenin: Role of PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and LXR $\alpha$ . Plos one 5(8): e12399.
- Gómez, G y Tarqui, C. 2017. Prevalencia de sobrepeso, obesidad y dislipidemia en trabajadores de salud del nivel primario. Revista Internacional de Ciencias de la Salud 14 (2): 141-148.
- Ha, W; Ying, T; Kim, K. 2015. The effects of black garlic (*Allium sativum*) extracts on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. Nutr Res Pract. 9 (1):30-36.
- Henagan, TM; Cefalu, WT; Ribnicky, DM; Noland, RC; Dunville, K; Campbell, WW. 2015. In vivo effects of dietary quercetin and quercetin-rich red onion extract on skeletal muscle mitochondria, metabolism, and insulin sensitivity. Genes Nutr 10(1):451.
- Hermanussen, M; García, A; Sunder, M; Voigt, M; Salazar, V; Tresguerres, J. 2006. Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite. European Journal of Clinical Nutrition, 60(1), 25-31.
- Hernández, CA. 2021. Dislipidemia como factor de riesgo cardiovascular en pacientes ambulatorios de la clínica PROVIDA – 2017. Tesis Lic. Universidad Nacional Federico Villareal. Lima, Perú
- Ihedioha, J; Noel-Uneke, O; Ihedioha, T. 2013. Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes. Comparative Clinical Pathology 22(1):93-99.
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). 2013. Perú: Situación de Salud de la Población Adulta Mayor, 2012. Lima: Instituto Nacional de Estadística e Informática.



- INS (Instituto Nacional de Salud). 2012. Morbilidad y mortalidad de las principales enfermedades no transmisibles. Lima.
- Jeong, S; Kang, M; Choi, H; Kim, J and Kim, J. 2012. Quercetin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia and improves antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice. *Nutrition Research and practice* 6(3): 201-207.
- Jiménez, RC y Herrera, CI. 2017. Estudio exploratorio de reacciones adversas por estatinas reportados al programa distrital de farmacovigilancia Bogotá D.C. 2008-2016. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales – U.D.C.A
- Jordan, OB. 2019. Microencapsulación de extracto de hojas de guanábana (*Annona muricata L.*). Tesis Ph. D. Lima, Perú, UNALM. 3p
- Kobori, M. 2014. Chapter 14 - Dietary Quercetin and other Polyphenols: Attenuation of obesity. In: *Polyphenols in human health and disease*. San Diego: Academic Press 163–75.
- Kohli P, Whelton SP, Hsu S, *et al.* 2014. Clinician’s guide to the updated ABCs of cardiovascular disease prevention. *J Am Heart Assoc* 3(5): e001098.
- Kondro, M; Mykhalchyshyn, G; Bodnar, P; Kobylak, N; Falalyeyeva, T. 2013. Metabolic profile and morpho-functional state of the liver in rats with glutamate-induced obesity. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 26(4):379-81.
- Leiva, E; Gayoso, G; Chang, L. 2018. *Annona muricata* “guanábana” (*Annonaceae*) una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. *Arnaldoa* 25 (1): 127 – 140.
- Lin, X; Xiao, L; Tang, Z; Jiang, Z y Liu, M. 2018. Role of PCSK9 in lipid metabolism and atherosclerosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 104: 36–44.
- López, MJ; Morales, PK; Durán, LR; Velasco, M; Ruiz, GM; Arriola, MA; O’She, GJ; González JF. 2013. Guía de Tratamiento Farmacológico de Dislipidemias para el primer nivel de atención. *Revista mexicana de cardiología*, 24(3), 103-129.
- Majithiya, JB; Parmar, AN, and Balaraman, R. 2004. Research Setter. Effect of Curcumin on triton WR1339 induced hypocholesterolemia in mice. *Indian J. Pharmacol.*, 36 (6):381-384.
- Mariños, K y Calderón, A. 2014. Effect of the hydroalcoholic extract of *Foeniculum vulgare* Mill. "fennel" on *Rattus var. albinus* dyslipidemic. *Sagasteguiana* 2(2): 139 – 144.

- Mbikay, M; Mayne, J; Sirois, F; Fedoryak, O; Raymond, A; Noad, J; Chrétien, M. 2018. Mice Fed a High-Cholesterol Diet Supplemented with Quercetin-3-Glucoside Show Attenuated Hyperlipidemia and Hyperinsulinemia Associated with Differential Regulation of PCSK9 and LDLR in their Liver and Pancreas. *Molecular Nutrition and Food Research* 62(9): 1700729.
- Meydani, M y Hasan, ST. 2010. Dietary Polyphenols and Obesity. *Nutrients*. 2(7):737–51.
- Mezarina, L. 2015. Efecto hipolipidémico de la cáscara pulverizada de vitis vinífera variedad *pinot noir* (uva borgoña) en ratas con hiperlipemia inducida. Tesis para optar el título de Lic. en Nutrición. Lima – Perú.
- MINSAL (Ministerio de Salud). 2017. Guía Técnica: Guía de práctica clínica para diagnóstico, manejo y control de dislipidemia, complicaciones renales y oculares en personas con diabetes mellitus tipo 2 R.M. N° 039-2017/MINSA. Lima-Perú. 1ra ed.
- MINSAL (Ministerio de Salud de Chile). 2018. Orientación técnica dislipidemias (en línea). Consultado 30 ene. 2021. Disponible en: <http://soched.cl/guias/Dislipidemias-MINSAL-Chile-2018.pdf>
- Nailis, N; Indah, K; Dyah, AP and Maulidina N. 2017. Analysis of lipid profile and atherogenic index in hyperlipidemic rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) that given the methanolic extract of Parijoto (*Medinilla speciosa*)". *International Biology Conference. AIP Conf. Proc.* 1854, 020031-1–020031-8.
- Najafipour, H; Shokoohi, M; Yousefzadeh, G; Sarvar-Azimzadeh, B; Moshtaghi-Kashanian, G; Bagheri, MM; Mirzazadeh, A. 2016. Prevalence of dyslipidemia and its association with other coronary artery disease risk factors among urban population in Southeast of Iran: results of the Kerman coronary artery disease risk factors study (KERCADRS). *Journal of diabetes and metabolic disorders*, 15:49.
- Nery, MW; Martelli, CM; Silveira, EA; De Sousa, CA; Falco, M de O; De Castro, A de C; Esper, JT; Souza, LC; Turchi, MD. 2013. Cardiovascular risk assessment: a comparison of the Framingham, PROCAM, and DAD equations in HIV-infected persons. *Scientific World Journal* 2013:969281.
- Omoja, VU; Ihedioha, TE; Eke, GI; Peter-Ajuzie, IK; Okezie, SE. 2014. Evaluation of the acute toxicity, phytochemical constituents and antiulcer properties of methanolic leaf extract of *Annona muricata* in mice. *J Intercult Ethnopharmacol*, 3(1): 37-43.

- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2017. Enfermedades cardiovasculares (en línea, sitio web). Consultado 15 de jun. 2019. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- OMS. 2017. Global Health Observatory (GHO) data. Raised cholesterol. (en línea). Consultado 15 feb 2021. Disponible en: [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/cholesterol\\_text/en/2016](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol_text/en/2016).
- PAHO (Panamerican Health Organization). 2012. Health in the Americas: Peru. Washington DC, US: PAHO.
- Pajares, E. 2019. Efecto hipolipemiante del extracto liofilizado combinado de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y berenjena (*Solanum melongena*) en ratas inducidas a hiperlipemia con t Cárdenasriton x-100. Tesis de Lic. en Nutrición y dietética. Universidad Católica Sedes Sapientiae. Lima- Perú.
- Palomino, CM. 2007. Efecto del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata L* (guanábana) sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. Tesis Magister en Farmacología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
- Paredes, J y Bernabé, A. 2018. Asociación entre la participación en programas de asistencia alimentaria y patrones del perfil lipídico en Perú. Revista chilena de nutrición 45(2): 135-143.
- Pérez, G. 2003. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev Cubana Investigación Biomédica 22:48-57.
- Pineda, JE; López, A; Virgen, CA, Martínez, AG and Valdés, EH. 2021. Compuestos fenólicos y su efecto en las dislipidemias en seres humanos: Una revisión sistemática. Revista chilena de nutrición 48(2): 276-285.
- Piña, RM. 2016. Efecto del tratamiento con atorvastatina y licopeno en un modelo de hígado graso no alcohólico inducido con una dieta alta en grasa y colesterol en ratas Sprague Dawley (en línea). Consultado 10 dic 2021. Disponible en <http://ring.uaq.mx/bitstream/123456789/950/1/RI007277.pdf>
- Rengifo, DR. 2018. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del Extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum Schubert*. Rev Soc Quím Perú. 84(2):175-182.
- Ritter, F. 2001. Vademécum clínico del diagnóstico al Tratamiento., 9a ed. Buenos Aires, Argentina, Ateneo. 165p.

- Rojas, KM y Calderón, MA. 2014. Extracto del hidroalcohólico de hojas y tallos de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en las concentraciones de 250 mg y 500 mg para cada uno y aplicado en un periodo de 15 días el cual redujo significativamente los niveles de perfil lipídico. *Sagasteguiana* 2(2): 139 - 144.
- Roth, GA; Fihn, SD; Mokdad, AH; Aekplakorn, W; Hasegawa, T; Lim, SS. 2011. High total serum cholesterol, medication coverage and therapeutic control: an analysis of national health examination survey data from eight countries. *Bull World Health Organ* 89: 92-101.
- Ruíz, AJ. 2017. PCSK-9: papel en las hipercolesterolemias y anticuerpos monoclonales específicos inhibitorios. *Revista Colombiana de Cardiología* 24 (2): 4-12.
- Ruiz, E; Segura, L.; Agusti, R. 2012. Uso del score de Framingham como indicador de los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares en la población peruana. *38(3):* 1-19.
- Salinas, D. 2011. Inhibición del tránsito intestinal por el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) en ratones., *Revista Peruana de Ciencia e investigación*. Lima- Perú. 14 (11): Pp. 9-13.
- Sani, MM; Bello, AB; Adam, AA; Abubakar, H; Ahmad, S; Muhammad, MG. 2015. The effects of oral monosodium glutamate consumption on lipid profile of experimental rats. *International Journal of Ethnomedicine and Pharmacognosy* 2(1):6-12.
- Segura, L; Agusti, R; Ruiz, E. 2013. Factores de Riesgo de las Enfermedades Cardiovasculares en el Perú II. Estudio TORNASOL II comparado con TORNASOL I después de cinco años. *Revista Peruana de Cardiología* 39(1):5-59.
- Seidah, NG; Awan, ZA; Chrétien, M y Mbikay, M. 2014. LDL cholesterol PCSK 9: A Key Modulator of Cardiovascular Health. *Circulation Research* 114 (6): 1022-1036.
- Sharma, A; Wongkam, C; Prgasongwattana, V; Boonate, P; Thanan, R; Reungjui, S; *et al.* 2014. Proteomic analysis of kidney in rats chronically exposed to monosodium glutamate. *PLoS One*. 9(12).

- Shi, J; Li, X; Zhang, W; Niu, Y; Lin, N; Zhang, H; Ning, G; Fan, J; Qin, L; Su, Q y Yang, Z. 2021. Circulating Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Levels and Cardiometabolic Risk Factors: A Population-Based Cohort Study. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 8:1-10.
- Sierra, CA. 2020. Efectos de la separación materna sobre el consumo de glutamato monosódico y la memoria espacial en ratas macho. Tesis Magister. Bogotá, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 17p.
- Singh, K; Sharma, J; Kaur, A; and Ahluwalia, P. 2011. Alteration upon Oral Ingestion of Monosodium Glutamate in Various Lipid and Lipoprotein Fractions in Serum of Adult Male Rat. *Journal Life Science*. 3(1): 17-21.
- Sociedad Peruana de Cardiología. 2013. Factores de Riesgo de las Enfermedades Cardiovasculares en el Perú II. Estudio TORNASOL II comparado con TORNASOL I después de cinco años. *Revista Peruana de Cardiología*; 39(1):5-59.
- Souza, DO; Dos Santos Sales, V; De Souza Rodríguez, CK; De Oliveira, LR; Lemos, ICS; Delmondes, GA; Monteiro, AB; Do Nascimento, E.P; *et al.* 2018. Phytochemical Analysis and Central Effects of *Annona Muricata Linnaeus*: Possible Involvement of the Gabaergic and Monoaminergic Systems. *Iran J Pharm Res*.17(4):1306-1317.
- Talirevic, E and Jelena, S. 2012. Quercetin in the treatment of dyslipidemia. *Med Arh*.66(2):87-8.
- Thomas, M; Sujatha, K; George, S. 2009. Protective effect of *Piper longum Linn* on monosodium glutamate induced oxidative stress in Rats. *Indian Journal exp. bio*. 47 (3):186-192.
- Torres, E. 2017. Efecto hipoglicemiante, hipolipemiante y antiaterogénico del extracto etanólico de las hojas de *Luma chequen* (Molina.) A. Gray “rayan castilla” en ratas dislipidemicas. Tesis doctoral en Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú. UNMSM 45p.
- Twisk, J; Gillian-Daniel, DL; Tebon, A; Wang, L; Barrett, PH and Attie, AD. 2000. The role of the LDL receptor in apolipoprotein B secretion. *Journal of Clinical Investigation* 105(4): 521–532.
- Unnikrishnan, MK; Veerapur, V; Nayak, Y; Mudgal, PP; Mathew, G. 2014. Chapter 13 - Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of the Flavonoids. In: *Polyphenols in Human Health and Disease*. San Diego: Academic Press 143-149.

- Urtaran, M; Nuño, R; Isla, L; Mata, P; Legiona, I. 2017. Hipercolesterolemia: Una llamada a la acción. Bilbao, España, Deusto. 8p.
- Velázquez, R y Casse, C. 2020. Antiproliferative properties of ethanolic and aqueous graviola leaf extracts on tongue squamous cell carcinoma-25. Journal of Medical Care Research and Review. 3(8): 749-755.
- Vergara, A; Páucar, K; Morales, C; Castro, O; Pizarro, S; Díaz, J. 2018. Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión. Revista sociedad química del Perú 84(1):119-131.
- Verma, A; Kumar, K; Shekar, R; Kumar, K; Rani, R. 2011. Pharmacological Screening of *Annona cherimola* for Antihyperlipidemic Potential. Journal of Basic and Clinical Pharmacy. 2(2): 63-69.
- Vicente-Vicente, L; Prieto, M; Morales, AI. 2013. Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. Rev. Toxicol. 30: 171-181.
- Vit, P; Santiago, B; Pérez-Pérez, EM. 2014. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona Muricata* L. Caracas, Venezuela. Interciencia. 39 (5): 350-353.
- Wang, M; Mao, Y; Wang, B; Wang, S; Lu, H; Ying, L and Li, Y. 2020. Quercetin Improving Lipid Metabolism by Regulating Lipid Metabolism Pathway of Ileum Mucosa in Broilers. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 1:17.
- Wei, X; Meng, X; Yuan, Y; Shen, F; Li, C y Yang, J. 2018. Quercetin exerts cardiovascular protective effects in LPS-induced dysfunction in vivo by regulating inflammatory cytokine expression, NF-kappaB phosphorylation, and caspase activity. Mol Cell Biochem 446(1-2):43-52.
- Xia, X; Peng, Z; Gu, H; Wang, M; Wang, G and Zhang, D. 2021. Regulation of PCSK9 Expression and Function: Mechanisms and Therapeutic Implications. Front Cardiovasc Med. 8:764038.
- Yokozawa, T; Cho, EJ; Sasaki, S; Satoh, A; Okamoto, T and Sei, Y. 2006. The Protective Role of Chinese Prescription Kangen-karyu Extract on Diet-Induced Hypercholesterolemia in Rats. Biological & Pharmaceutical Bulletin 29(4):760-765.
- Zapata, K; Cortes, F; Rojano, B. 2013. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*Psidium araca*). Inf. tecnol. 24(5): 103-112.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1. Composición de la dieta estándar para ratas

<b>PPAB-UNALM</b>	<b>Porcentaje (por ciento)</b>
Materia seca	88.33
Proteína	20.00
Fibra	3.47
Grasa	7.48
Lisina	1.05
Metionina	0.51
Met-cys	0.86
Arginina	1.18
Treonina	0.77
Triptófano	0.28
Glicina	0.86
Gli-Ser	1.86
Histidina	0.52
Leucina	1.72
Isoleucina	0.84
Fenilalanina	0.97
Phe-Tyr	1.82
Valina	0.97
Fosf. Total	0.50
Fosf. Disponible	0.20
Calcio	0.60
Sodio	0.08
Ácido linoleico	3.70

Fuente: Planta Piloto de Alimentos Balanceados (s.f.)

## Anexo 2. Caracterización del extracto etanólico de hojas de guanábana

### Ensayo de solubilidad

Se utilizaron solventes de menor a mayor polaridad, siendo estos: éter de petróleo, cloroformo, butanol, etanol, metanol y agua destilada. Es así que de manera secuencial se etiquetaron y ordenaron los tubos de ensayo con los nombres de los solventes de diferente polaridad. Posteriormente, se introdujo a cada tubo de ensayo 20 mg del extracto etanólico del polvo de hojas de guanábana además a cada tubo se añadió 1mL de solvente. Se agitó cada tubo de ensayo y se procedió a observar los resultados de solubilidad por un tiempo máximo de 10 minutos (Rengifo 2018).

Fueron expresados: -: Insoluble, +: Poco soluble, ++: Soluble, +++: Muy soluble

De esta manera se determinó que el extracto etanólico del polvo de hojas de guanábana presentó mayor afinidad a solventes polares como son el etanol y metanol. Por otro lado, es insoluble en disolventes no polares como en este caso es el éter de petróleo.

Solución	Resultado	
	Intensidad	Indica
1. Agua destilada	+	Poco soluble
2. Etanol	+++	Altamente soluble
3. Metanol	++	Moderadamente soluble
4. Butanol	+	Poco soluble
5. Cloroformo	+	Moderadamente soluble
6. Éter de petróleo	-	Insoluble

Es así que se comprueba que los flavonoides al ser polares son solubles en solventes de la misma polaridad en este caso es más soluble en etanol. De acuerdo a Velázquez y Cassé (2020) al realizar la comparación entre la bioactividad de extractos etanólicos y extractos acuosos de hojas de guanábana, se muestra que extracto etanólico es 4 veces más activo que extracto acuoso, para explicar tal resultado, se planteó la hipótesis de que el alcohol etanólico solubiliza una variedad más amplia de fitocompuestos que el agua, algunos de los cuales, como las acetogeninas y flavonoides. Así mismo, Vit et al. (2014) reportaron mayores cantidades de flavonoides y polifenoles cuando se usa etanol como solvente.



## Análisis fitoquímico

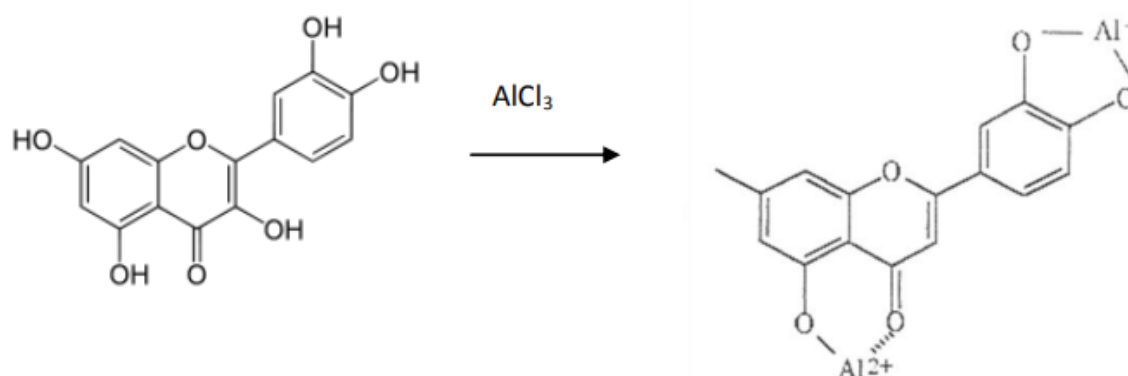
Método cualitativo para la detección de metabolitos secundarios como son flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas, entre otros. Se utilizó 1 mg del extracto etanólico de hojas de guanábana y se adicionaron solventes orgánicos de diferentes polaridades y de acuerdo a la aparición de alguna coloración, turbidez o precipitado se determinó su presencia. Fueron expresados de la siguiente manera: Poca cantidad (+), Regular cantidad (++), Abundante cantidad (+++) (Colina 2016).

METABOLITOS SECUNDARIOS		RESULTADOS
Compuestos fenólicos	+++	Aumentada presencia
Flavonoides	+++	Aumentada presencia
Antocianidinas	+++	Aumentada presencia
Antraquinonas	+++	Aumentada presencia
Taninos	++	Moderada presencia
Quinonas	+++	Aumentada presencia
Alcaloides	++	Moderada presencia
Esteroides y triterpenos	-	Ausencia
Saponinas	-	Ausencia

Se realizó la identificación cualitativa de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de guanábana donde se evidenció mayor proporción de alcaloides, taninos, compuestos fenólicos y flavonoides (tipo antocianidinas, antraquinonas). De esta manera al realizar el análisis fitoquímico se corrobora cualitativamente la presencia de flavonoides, ya que según la literatura es el compuesto bioactivo que tiene como efecto mejorar el perfil lipídico en hiperlipidemia. Dado que los flavonoides, al presentar un gran número de grupos hidroxilo, son considerados metabolitos polares, debido a ello son solubles en solventes de la misma polaridad como es el etanol, es por ello que se muestran abundantes en extractos alcohólicos. En el caso de saponinas, esteroides y triterpenos, se observó poca presencia debido a su carácter apolar. Estos resultados concuerdan con lo reportado en las especies de la familia de las *Annonaceas* a la cual pertenece *Annona muricata* L. (Alonso 2004). Asimismo, Salinas (2011) encontró mayor presencia de flavonoides (tipo antocianidinas, antraquinonas), alcaloides, taninos. Por su parte, Palomino (2007) también encontró ausencia de saponinas en el extracto etanólico de hojas de guanábana.

## Determinación de flavonoides

El contenido de flavonoides se determinó con el método de tricloruro de aluminio, utilizando como estándar la quercetina. La reacción de cloruro de aluminio, se la utiliza para la determinación de los flavonoides totales, se fundamenta en la formación de complejos estables en el C4 y con los grupos hidroxilos del C3 y C5 de flavonas y flavonoles. Se mide en longitudes de ondas y absorbancia altas, impidiendo la interferencia de otras sustancias fenólicas, el método es exacto lo que proporciona pequeñas desviaciones, a diferencias de otras pruebas.



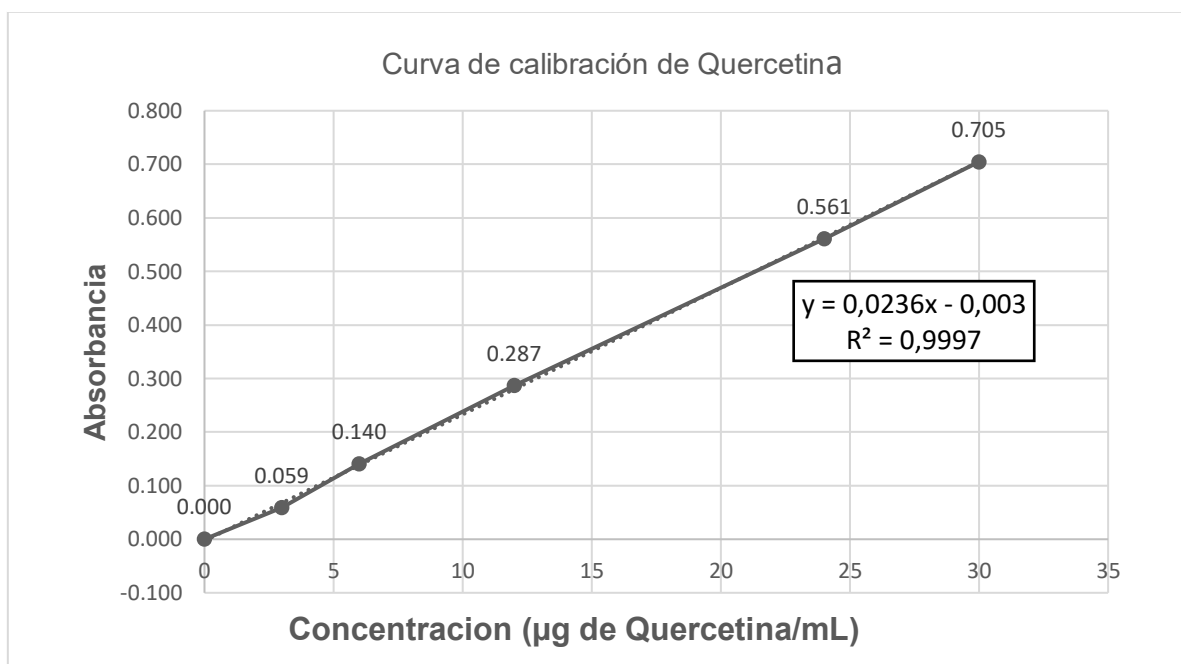
Para la determinación del contenido de flavonoides a cada 100  $\mu\text{L}$  de muestra diluida en una solución de etanol 96°, se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de tricloruro de aluminio y 800  $\mu\text{L}$  de agua, se homogenizó y se dejó reposar por unos 30 minutos en oscuridad. Luego, se procedió a la lectura de la absorbancia a 420 nm con el espectofotómetro Genesys 150 UV-Vis. El contenido de flavonoides se estimó a partir de una curva estándar elaborada con una solución de quercetina como patrón (Anexo 4). Los resultados fueron expresados como mg de quercetina por gramo de muestra.

Dada la importancia del contenido de flavonoides por su poder antioxidante en hiperlipidemia, al estar relacionados a brindar un mejor perfil lipídico, fue necesario determinar su presencia cuantitativamente es así que en el extracto etanólico se reportaron 1,55 mg de quercetina por gramo de muestra.

## Cuantificación de flavonoides totales

DETERMINACIÓN	CONCENTRACION
FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO QUERCETINA ( mg quercetina / g muestra)	1.55

### Anexo 3. Curva estándar de flavonoides



#### Anexo 4. Peso corporal al inicio y final de la administración de tratamientos

TRAT	PESO INICIAL	PESO FINAL	GANANCIA DE PESO
T0	330	371	41
T0	337	380	43
T0	315	353	38
T0	331	368	37
T0	318	365	47
T0	326	374	48
T0	344	382	38
T1	332	386	54
T1	317	368	51
T1	340	390	50
T1	320	379	59
T1	328	382	54
T1	350	394	44
T1	334	388	54
T2	336	374	38
T2	326	361	35
T2	338	377	39
T2	329	369	40
T2	347	380	33
T2	332	367	35
T2	329	375	46
T3	328	364	36
T3	317	345	28
T3	341	372	31
T3	335	368	33
T3	322	346	24
T3	336	359	23
T3	329	361	32
T4	333	375	42
T4	309	354	45
T4	339	382	43
T4	325	374	49
T4	345	386	41
T4	320	368	48
T4	334	366	32

## Anexo 5. Perfil lipídico tras la administración de tratamientos

### SERVICIOS MEDICOS GENERALES Y ESPECIALIZADOS

DR. LEONARDO CHIRINOS RAMOS

Atención: Lunes a sábado 7:00 am a 7:00 pm

Av. Goyeneche 211- Cercado Tel.235622

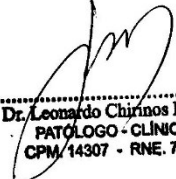
CMP. 14307 - RNE 7578



SOLICITANTE : KAREN VERONICA AYALA HUAMAN  
MUESTRA : SANGRE DE RATA  
N° DE MUESTRAS : 35  
CANTIDAD RECIBIDA : 3 ml  
FECHA DE ENTREGA : 01-04-2020  
ANÁLISIS REALIZADOS : PERFIL LIPÍDICO

N°	COLESTEROL (mg/dl)	TRIGLICÉRIDOS (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	VLDL (mg/dl)
1	95	85	32	46	17
2	125	112	61	42	22
3	96	83	28	51	17
4	91	57	15	65	11
5	95	86	37	41	17
6	86	70	27	45	14
7	113	95	55	39	19
8	84	78	25	43	16
9	83	64	14	56	13
10	106	83	38	51	17
11	94	65	30	51	13
12	116	89	55	43	18
13	90	88	24	48	18
14	79	60	16	51	12
15	87	92	32	37	18
16	90	80	26	48	16
17	117	98	57	40	20
18	93	76	31	47	15
19	90	52	21	59	10
20	85	77	30	40	15
21	87	72	24	49	14
22	109	91	55	36	18
23	87	79	23	48	16
24	82	69	14	54	14
25	91	88	34	39	18
26	101	81	29	56	16
27	120	108	59	39	22
28	99	84	30	52	17
29	88	73	18	55	15
30	100	80	41	43	16
31	91	84	25	49	17
32	121	99	59	42	20
33	101	72	33	54	14
34	84	63	15	56	13
35	88	76	30	43	15

Método enzimático: Analizador de química clínica Mindray Bs-200E

  
Dr. Leonardo Chirinos Ramos  
PATÓLOGO - CLÍNICO  
CPM/14307 - RNE. 7578

# Anexo 6. Determinación de COL, TG, c-LDL, c-HDL



## Stanbio LiquiColor® Colesterol (Trinder), Proced. No. 1010 Para la determinación de Colesterol Total y HDL en suero ó plasma

### Resúmen y Principio

El método enzimático para colesterol fue introducido en 1973 por Flegg<sup>1</sup> y Richmond<sup>2</sup>, utilizando colesterol oxidada de origen bacteriano seguida de saponificación química de los ésteres del colesterol. Roeschli<sup>3</sup> modificó esta técnica y Allan y Co<sup>4</sup> publicó los primeros ensayos enzimáticos completos combinando el colesterol oxidasa y el colesterol esterasa. Este método se basa en el de Allan y utiliza estas enzimas en combinación con el reactivo peroxidasa/fenol-4-antipirina, de Trinder<sup>4</sup>.

La colesterol esterasa (CE) hidroliza a los ésteres del colesterol para dar colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre así producido más el colesterol preformado se oxidan en presencia de la colesterol oxidasa (COX) para dar colesteno-4,3-cetona y peróxido de hidrógeno. Un cromógeno quinonamina, con absorción máxima a 500 nm, se produce cuando el fenol se acopla oxidativamente con 4-aminofenazona en presencia de peroxidasa (POD) con peróxido de hidrógeno. La intensidad final del color rojo es proporcional a la concentración total del colesterol. El Factor Aclarador Lipemico (LCF) es una mezcla de aditivos especialmente diseñados por Stanbio integrados dentro del reactivo de colesterol para ayudar a minimizar las interferencias debidas a la Lipemia.

Esteres del colesterol  $\xrightarrow{CE}$  > Colesterol + Ácidos Grasos

Colesterol + O<sub>2</sub>  $\xrightarrow{COX}$  > Colesten-4,3-cetona + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-Aminofenazona + Fenol

$\xrightarrow{POD}$

H<sub>2</sub>O + O-Quinonaminina colorante

Una técnica para lipoproteínas de alta densidad HDL, como el colesterol que utiliza el reactivo de precipitación HDL Stanbio, se adquiere por separado.

### Reactivos

**Solestar Enzimático, líquido, Ref. No. 1011**

El reactivo contiene los siguientes ingredientes activos a esta concentración.

4-aminofenazona	0.25 mmol/L
Fenol	25.0 mmol/L
Peroxidasa	> 5.0 U/ml
Colesterol Esterasas	> 0.15 U/ml
Colesterol Oxidasa	> 0.1 U/ml

**Estándar de Colesterol (200 mg/dL), Ref. No. 1012**

Solución acuosa de colesterol en buffer, con estabilizadores, surfactantes y preservativos.

**Precauciones: Para uso de diagnóstico in vitro.**

**Preparación de Reactivos:** El reactivo y el estándar están listos para usarse.

**Estabilidad y almacenamiento del Reactivo:** El reactivo y el estándar conservados a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez abierto, evite su contaminación. Con el tiempo el reactivo puede tomar un leve color rosado que no afecta los resultados. Descartar el reactivo si la absorbancia contra blanco de agua es superior a 0.3 D.O. a 500 nm. Lleve el reactivo y el estándar a temperatura ambiente antes de usalos.

### Materiales Requeridos Pero No Incluidos

Espectrofotómetro para absorbancias a 500 nm  
Pipetas para medir 0.01 y 1.0 mL (Ensayo de colesterol total)  
Celdillas  
Tubos de Ensayo  
Cromómetro  
Agitador (tipo Vortex)  
Centrífuga  
Baño a temperatura constante o Parrilla, 37°C (opcional)

### Recolección y Preparación de la Muestra<sup>6</sup>

La muestra de sangre debe extraerse con ayuno de 12 hrs. Puede ser suero o plasma coagulado con EDTA como anticoagulante, evite la hemólisis.

**Estabilidad de la Muestra:** El colesterol total y el colesterol HDL se reportan estables cinco días a 2-8°C. Mayor estabilidad alcanzan a -20°C por tres meses para el "total" y 7-14 días para el HDL. De ser posible la muestra debe separarse y analizarse el mismo día de su extracción.

**Substancias Interferentes:** Los anticoagulantes como fluoruros y oxalatos dan valores bajos falsos. La prueba no se interfiere con valores de hemoglobina hasta de 200 mg/dL o por bilirrubina hasta de 10 mg/dL. Sin embargo muestras muy ictericas y hemolizadas se pueden corregir usando un blanco de suero o plasma (consulte la sección de "resultados").

### Analizador Automatizado

**Parámetros:**

Longitud de onda	500 nm
Tipo de reacción	Punto final
Dirección de la reacción	Incremento
Temperatura de la reacción	37°C
Relación muestra/reactivo	1:100
Tiempo de equilibrio	3 segundos
Tiempo de lectura	300 segundos
Tiempo lag	300 segundos
Absorbancia límite del blanco	0.300
Máxima absorbancia	2.000 A
Estándar	200 mg/dL
Valor normal bajo	120 mg/dL
Valor normal alto	310 mg/dL
Linealidad	750 mg/dL

Estos parámetros son para usarse en el programador del analizador automático para Colesterol. Consulte el manual del instrumento para instrucciones.

### Procedimiento Manual

1. Pipete en las celdillas las siguientes volúmenes (mL) y mezcle bien.

Reactivo	Reactivo Blanco (RB)	Estándar (S)	Muestra (U)
1.0	—	1.0	1.0
—	—	0.01	—
—	—	—	0.01

**NOTA:** Los volúmenes pueden incrementarse proporcionalmente si el espectrofotómetro requiere de mas de 1.0 mL.

2. Incube todas las celdillas a 37°C por 5 minutos o por 10 minutos a temperatura ambiente.

3. Lea S y U contra RB a 500 nm antes de 60 minutos.

**Control de Calidad:** Se recomienda en cada ensayo incluir sueros control comerciales o un pool de sueros previamente analizado y dividido en alícuotas congeladas.

### Resultado

Los valores se derivan de la siguiente ecuación:

$$\text{Colesterol total sérico (mg/dL)} = \frac{AU}{AS} \times 200$$

Donde Au y As son las absorbancias de la muestra y del estándar respectivamente y 200 es la concentración del estándar (mg/dL). Cuando se requiera de un blanco de suero (muestra icterica o hemolizada) incluya otro tubo como SB (punto 1, sección "procedimiento"). Añada 1.0 mL de solución salina, 0.01 mL de suero, mezcle por inversión, transfiera a celdillas y lea la absorbancia (Abs) contra agua destilada a 500 nm. Use estos valores para corregir los de la muestra como sigue:

Colesterol total sérico (mg/dL) =  $\frac{AU - Asb}{As} \times 200$

**NOTA:** Las muestras con valores de colesterol mayores de 750 mg/dL se diluyen tres veces (1:2) con solución salina normal (cloruro de sodio, 8.5 g/L), se repite el ensayo y el resultado se multiplica por 3.

### Valores Esperados<sup>7</sup>

Los datos recientemente presentados muestran "rangos normales" de acuerdo a la edad para colesterol total. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios rangos de valores esperados en vista de que existen diferencias entre instrumentos, laboratorios y población local.

COLESTEROL TOTAL	mg/dL
Cordón	45-100
Recien Nacido	53-135
Infante	70-175
Niños	120-210
Adultos	140-310
Idént para Adultos	140-200

### RIESGO DEL CHD (HDL COMO % DEL TOTAL)

Riesgo	Hombre	Mujer
Peligroso	< 7	< 12
Alto	7-15	12-18
Promedio	15-25	18-27
Abajo del Promedio	25-37	
Proteccion Probable	> 37	> 40

### HDL CHOLESTEROL

Edad	Hombre	Mujer
0-14	30-65	30-65
15-19	30-65	30-70
20-29	30-70	30-75
30-39	30-70	30-80
> 40	30-70	30-85
Media	45	55

— Negros: Approx. 10 mg/dL mas alto

### Características

**Reproducibilidad:** Se realizó un estudio sobre un suero control (media = 128 mg/dL) y un suero de pacientes (media = 567 mg/dL) el cual consistio en una serie de 5 ensayos durante 5 días consecutivos. El coeficiente de variación (CV) del intersayo fue de 2.5% y 1.0% y el intrasayo (de día a día) 3.5% y 2.9% respectivamente.

**Correlación:** La determinación del colesterol por el procedimiento aquí descrito (V) y por el método de Boehringer-Mannheim "Monotest Colesterol BM(C)" (X) en 66 sueros (variación = 125-550 mg/dL) dió un coeficiente de correlación de 0.991 y una pendiente y = 1.04 x - 9.3.

**Linealidad:** Cuando se realiza como dice el método es lineal de 0 a 750 mg/dL.

### Referencias

- Flegg HM, Ann Clin Biochem 10:79, 1973.
  - Richmond W, Clin Chem 19:1330, 1973.
  - Roeschli P et al, Z Klin Chem, Klin Biochem 12:226, 1974.
  - Allan CC et al, Jn Chem 20:470, 1974.
  - Trinder P, Ann Clin Biochem 6:24, 1969.
  - Finley PR et al, Clin Chem 24:931, 1978.
  - Stein EA, in Textbook of Clinical Chemistry, NW Tisz, Ed. W.B. Saunders Philadelphia, 1986, pp. 879-886, 1818, 1829.
- Manufactured By:  
Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006 USA  
Ph: (830) 249-0772 • Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com  
http://www.stanbio.com  
DN: RBR:1010CE:01 • Last Revision: 01/04 • Procedure No. 1010



## Stanbio LiquiColor® Triglicéridos Proced. No. 2200

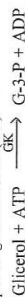
Para la determinación colorimétrica cuantitativa enzimática de Triglicéridos en suero ó plasma

### Agente de Diagnóstico

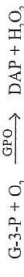
### Resumen y Principio

Para establecer el diagnóstico de hiperlipoproteinemia primaria o secundaria, es muy útil la cuantificación de triglicéridos en conjunto con otros lípidos. También es útil para dar seguimiento a la diabetes mellitus, nefrosis, obstrucción biliar y varias anomalías metabólicas que resultan de trastornos endocrinos.<sup>1, 2, 3</sup>

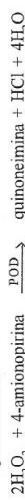
1. El glicero y los ácidos grasos se forman en una primera etapa por la acción de la lipasa sobre los triglicéridos.
2. El glicero se fosforila por la adenosin-5-fosfato (ATP) para producir glicero-3-fosfato (G-3-P) y adenosin 5-difosfato (ADP) para producir glicero-3-fosfato (G-3-P) y adenosin 5-difosfato (ADP) en una reacción catalizada por la glicero-3-fosforilasa (GK).



3. La G-3-P es oxidada por la glicero-3-fosforilasa oxidasa (GPO) produciendo deshidroacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno.



4. Los peróxidos reaccionan con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol bajo la influencia catalítica de la peroxidasa (POD) para formar quinoneimina.



El factor aclarador lipemico (LCF) es una mezcla de aditivos especialmente diseñado por Stanbio integrados dentro del reactivo de triglicéridos para ayudar a minimizar las interferencias debidas a la lipemia.

### Reactivos

#### Triglicéridos Reactivo LiquiColor® Cat. No. 2201

El reactivo contiene lo siguiente:

4-aminoantipirina	0.5 mmol/L
4-clorofenol	4.0 mmol/L
ATP	2.0 mmol/L
Lipasas	> 4.0 U/mL
Glicero-3-fosforilasa	> 0.4 U/mL
Glicero-3-fosforilasa oxidasa	> 1.5 U/mL
Peroxidasa	> 2.0 U/mL
Solución buffer (pH 6.7 ± 0.1)	50 mmol/L

#### Estándar Triglicéridos (200 mg/dL) Cat. No. 2103

Contiene glicero (20.8 mg/dL), equivalente a 200 mg/dL de trioleína más estabilizador y preservativo.

**Precauciones:** Para uso de diagnóstico *in vitro*.

El reactivo y el estándar contienen azida de sodio como conservador. Puede reaccionar con cobre o plomo formando azidas metálicas explosivas.

Para desecharlo enjuague con mucha agua para prevenir su formación.

**Preparación del Reactivo:** El reactivo y el estándar están listos para usarse.

**Estabilidad y Almacenamiento del Reactivo:** El reactivo y el estándar conservados a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez abierto, evite su contaminación. Ponga el reactivo y el estándar a temperatura ambiente antes de usar.

## Materiales Requeridos Pero No Incluido

Espectrofotómetro para leer absorbancia de 500 nm (492-530 nm)  
Parrilla o baño de agua a 37°C (opcional)  
Celdillas  
Mixer (tipo Vortex)  
Cronómetro

## Recolección y Preparación de la Muestra

**Estabilidad de la Muestra:** La heparina y el EDTA son los anticoagulantes de elección. No deben usarse fluoruros ni oxalatos. Separar inmediatamente el suero o el plasma. Los triglicéridos son estables por 10 días según reportes, a 2-8°C. No deje las muestras a temperatura ambiente (15-30°C) ya que los fosfolípidos pueden hidrolizarse liberando glicero libre, falseando los resultados a niveles altos de triglicéridos.

**Sustancias Interferentes:** Para la recolección de sangre no debe usarse material que contenga glicirina (glicero), tales como los que llevan un tapón lubricado. Valores altos de bilirrubina o muestra hemolizada, darán valores altos falsos. Varias drogas y otras sustancias afectan la determinación de los triglicéridos.

La interferencia de muestras ictericas o muy hemolizadas puede corregirse usando un blanco de suero o plasma (consulte la sección de resultados).

## Analizador Automatizado

### Parámetros:

Longitud de onda	500 nm
Tipo de reacción	Punto final
Dirección de la reacción	Crecente
Temperatura de reacción	37°C
Relación de muestrareactivo	1:100
Tiempo de equilibrio	3 segundos
Tiempo de lectura	4 segundos
Tiempo lag	300 segundos
Absorbancia limite del blanco	0.500A
Máxima absorbancia	2.000 A
Estándar	200 mg/dL
Valor normal bajo	30 mg/dL
Valor normal alto	150 mg/dL
Linealidad	1000 mg/dL

Estos parámetros deben considerarse al programar el analizador automático de triglicéridos. Consulte su manual para instrucciones de programación.

## Procedimiento Manual

1. Pipetea en celdillas los siguientes volúmenes (mL) y mezcle bien:

	Reactivo Blanco (RB)	Estándar (S)	Muestra (U)
Reactivo	1.0	1.0	1.0
Estándar	—	0.01	—
Muestra	—	—	0.01

**NOTA:** Los volúmenes pueden incrementarse si el instrumento requiere más de 1.0 mL.

2. Incube todas las celdillas por 5 minutos a 37°C, o a temperatura ambiente por 10 minutos.

3. Lea S y U contra RB a 500 nm antes de 60 minutos.

**Control de Calidad:** En suero normal y anormal con niveles de triglicéridos terminados por este método deberán incluirse con cada serie de ensayos.

## Resultado

Los valores se derivan de la siguiente ecuación:

$$\text{Triglicéridos séricos (mg/dL)} = \frac{\text{Au} - \text{Ab}}{\text{As}} \times 200$$

Donde Au y As son los valores de absorbancia de la muestra y del estándar respectivamente, 200 es la concentración del estándar (mg/dL).

Cuando se requiera un blanco (retórico o hemolizado), identifique otro tubo SB. Añada 1.0 mL de sol. salina "normal", 0.01 mL de suero y mezcle bien por inversión, transfiera a celdillas y lea la absorbancia (Abs) contra agua destilada a 500 nm. Use estos valores para corregir los desconocidos como sigue:

$$\text{Triglicéridos séricos (mg/dL)} = \frac{\text{Au} - \text{Abs}}{\text{As}} \times 200$$

**NOTA:** Las muestras con valores de triglicéridos mayores a 1000 mg/dL deben diluirse 5 veces (1+4) con solución salina normal (cloruro de sodio 8.5 g/L). El análisis se repite y el resultado se multiplica por 5.

## Valores Esperados<sup>4</sup>

30-150 mg/dL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propias valores ya que existen diferencias en los instrumentos, laboratorios, y en la población local.

## Características<sup>5</sup>

**Reproducibilidad:** Se realizó un estudio en un suero control (media = 57 mg/dL) y en un pool de pacientes (media = 327 mg/dL), realizándose 10 determinaciones en 5 días consecutivos. El coeficiente de variación (CV) intrasayo fue de 1.18% y 0.88% y el intrasayo de 1.96% y 0.88% respectivamente.

**Correlación:** La determinación de triglicéridos por éste método (y) y por el GPO de Boehringer Mannheim (x) en sueros (rango 47 a 950 mg/dL) mostraron un coeficiente de correlación (r) de 0.999 y una pendiente de y = 1.029 x 7.46.

**Linealidad:** El método es lineal hasta 1000 mg/dL.

## Referencias

1. Fredrickson DS, Levy RI, Less RS: New Engl J Med 276:34, 1967.
2. Dreyer RL: IN Fundamentals of Clinical Chemistry, NW Tietz, Ed. WB Saunders, Philadelphia, 1970, p 329
3. Wahlefeld AW: IN Methods of Enzymatic Analysis, Vol. 5, HU Bergmeyer, Ed. Academic Press, New York, 1974, pp 1831-1835.
4. Scheletter G, Nussel E: Arbeitsmed Sozialmed Praventimed 10:25, 1975.
5. Stanbio Laboratory data.

STANBIO LABORATORY, LP DECLINA TODAS LAS GARANTIAS EXPRESADAS EN VOLUCRADAS EN LA NEGOCIABILIDAD Y PROPIEDAD CONCERNIENTE A ESTE PRODUCTO, QUE NO ESTEN EXPRESAMENTE ETALADAS EN LA INFORMACION CONTENIDA EN EL EMPAQUE O SINO HAY UN ACUERDO ESCRITO ENTRE EL COMPRADOR Y EL VENDEDOR DE ESTE PRODUCTO.

STANBIO LABORATORY, LP SOSTIENE QUE ESTE PRODUCTO CUMPLE CON LA INFORMACION CONTENIDA EN ESTE INSERTO. EL COMPRADOR DEBE DETERMINAR LA CONFORMIDAD DEL PRODUCTO PARA SU USO PARTICULAR. JESELO SOLO DE ACUERDO A LAS INSTRUCCIONES DE LA ETIQUETA.

Para asistencia tecnica llame: 800-531-5555 • (830) 249-0772  
Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com

http://www.stanbio.com

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006

DN: RBR:2200 CE:EN:00-M • Ultima Revisión: 09/05 • Prosed No. 2200

## Stanbio LDL Colesterol Directo LiquiColor® Procedimiento No. 0710

### Uso

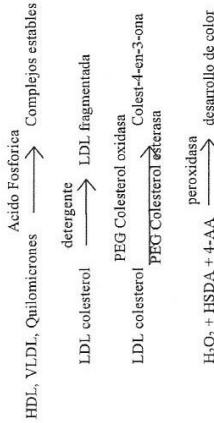
Para la determinación cuantitativa de lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) en suero o plasma en procedimientos manuales y/o automáticos

### Resumen y Principio

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas que contienen cantidades variables de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. Los fosfolípidos, el colesterol libre y las proteínas constituyen la superficie externa de la partícula lipoproteína, mientras que su base contiene un mayor proporción de colesterol esterificado y triglicéridos. Estas partículas solubilizan y transportan el colesterol en el torrente sanguíneo. La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Estas clases son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) y lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins). Numerosos estudios clínicos han demostrado que las diferentes clases de lipoproteínas tienen distintos y variados efectos en el riesgo de enfermedad coronaria. Estos estudios señalan al LDL colesterol como el factor clave en la patogénesis de la aterosclerosis y la enfermedad cardíaca coronaria (ECC), mientras que el HDL colesterol es considerado como factor protector. Puede ocurrir un aumento en el LDL colesterol, aún con concentraciones normales de colesterol, asociado a un incremento en el riesgo de ECC.

### Fundamentos del Método

Las HDL, VLDL y quilomicrones son selectivamente fragmentadas por detergentes y luego sometidas a la cuantificación mediante la reacción con enzimas modificadas con PEG y un cromógeno como se muestra en el esquema:



### Reactivos

**Reactivo 1, LDL LiquiColor® Buffer, Ref. No. 0711**  
Sulfato de magnesio 2.5 mmol/L, HDAOS 0.8 g/L y buffer pH 7.0 ± 0.1, estabilizadores, detergentes y preservativos.

**Reactivo 2, LDL LiquiColor® Enzima, Ref. No. 0712**  
Colesterol oxidasa >5 KU/L, Colesterol esterasa >0.8 KU/L, peroxidasa >15 KU/L, 4-AA 0.5 mmol/L y buffer, pH 7.0 ± 0.1, surfactantes y preservativos.

### Precauciones:

Para uso de diagnóstico in vitro.  
Precauciones normales se deben practicar en el manejo de reactivos de laboratorio. No se debe pipetear con la boca. Reactivo contiene azida de sodio cual puede ser tóxico si es ingerido. Azida de sodio también se puede reaccionar con plomera de plomo y, sobre para formar metales de azida altamente explosivos. Referirse a la hoja de datos de material de seguridad para información actualizada sobre riesgo, peligro y seguridad. Disponga de reactivos usados o expirados según a los requisitos de su laboratorio y gobierno.

### Preparación del Reactivo:

Los reactivos vienen listos para usar.

**Calibrador:** Reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en la etiqueta. Tape el vial y deje en reposo por 5 minutos. Ayude a la disolución rotando el vial suavemente, evitando la formación de espuma. No agite.

**Almacenamiento y Estabilidad de los Reactivos:** Los reactivos son estable hasta la fecha de caducidad si son almacenados correctamente a 2-8°C. Una vez reconstituido, el Calibrador es estable 21 días en refrigerador (2-8°C) o 1 mes congelado (-20°C), evitando descongelar y volver a congelar.

### Recolección y Almacenamiento de la Muestra

Toda muestra usada en esta prueba debe ser considerada potencialmente infecciosa. Precauciones universales aplicadas a su facilidad deben ser usadas para el manejo y disposición de materiales durante y después de realizar la prueba. Suero o plasma heparinizado o con EDTA, no hemolizado se deben usar. Anticoagulantes complejos como citratos deben ser evitados. La LDL colesterol en suero es estable hasta 7 días a ser almacenado de 2-8°C y hasta 1 mes almacenado de -20°C.

**Substancias Interferentes:** Anticoagulantes complejos como citratos deben ser evitados. Una serie de drogas y otras substancias también afectan los valores de LDL colesterol.

### Material Proporcionalizado

Reactivos de lipoproteínas de baja densidad (LDL Colesterol)

### Materiales Requeridos Pero No Proporcionados

Analizador Automático • HDL/LDL Calibrador • Pipetas exactas

### Procedimiento de Analizador Automatizado

Contacte al Departamento de Servicio al Cliente de Stanbio para obtener aplicaciones para analizadores automatizados.

### Parámetros para Analizadores Automáticos

Longitud de onda primaria	600 nm
Longitud de onda secundaria (biométrica)	700 nm
Tipo de reacción	..... tónica de 2 puntos
Dirección de la reacción	..... aumenta
Temperatura de reacción	..... 37°C
Volumen de muestra o calibrador	..... 3 µL
Volumen de Reactivo 1	..... 300 µL
Volumen de Reactivo 2	..... 100 µL
Tiempo de retardo con Reactivo 1	..... 300 segundos
Tiempo de retardo con Reactivo 2	..... 300 segundos
Tiempo de lectura	..... 10-20 segundos
Absorbancia de Blanco	..... < 0.350 D.O.
Límite de Absorbancia	..... 2.500 D.O.
Linealidad	..... 400 mg/dL

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

**Calibración:** El Calibrador debe procesarse junto con las muestras y en la misma forma que éstas. Las concentraciones del Calibrador se encuentran alrededor de los niveles de decisión médica y son variables lote a lote (ver título en la etiqueta). Ingrese el valor de concentración del calibrador cada vez que se cambia de lote.

**Control de Calidad:** Se recomienda el uso de los controles de Stanbio Ser-T-Fy-1, Normal Control Serum, Ref. No. G427-86, y Ser-T-Fy-11 Abnormal Control Serum, Ref. No. G428-86, para verificar exactitud y precisión. Controles de otras marcas disponibles comercialmente, que contienen valores de LDL probados por este método también son aceptables. La actividad de LDL determinado en estos materiales deben caer entre los rangos indicados por los controles. Dos niveles (normal/anormal) de los controles deben ser analizados cada día de probar.

### Valores Esperados

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de LDL colesterol en relación al riesgo de contraer enfermedad cardíaca coronaria (ECC):

**Riesgo bajo o nulo** (sujetos normales): valores de LDL colesterol menores de 100 mg/dL.

**Riesgo moderado a elevado** (individuos con probabilidad de contraer ECC): valores entre 130 y 189 mg/dL.

**Riesgo muy elevado** (individuos sospechosos de padecer ECC): valores de LDL colesterol  $\geq 190$  mg/dL.

### Características

**Precisión:** Se analizaron 20 pruebas de suero control diarios.

Within Day	Media (mg/dL)	SD	%CV
Nivel Bajo	50	0.28	0.56
Nivel Normal	99	0.43	0.44

Day to Day	Media (mg/dL)	SD	%CV
Nivel Normal	97	1.29	1.33
Nivel Alto	137	1.82	1.40
Nivel Alto	204	2.90	1.43

**Correlación:** Se analizaron un total de 62 sueros por el método descrito y por el procedimiento de Abell-Kendall. Los análisis estadísticos revelaron un coeficiente de correlación (r) de 0.9969.

**Linealidad:** Hasta 400 mg/dL.

### Referencias

- Coto A.M. Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia. Hospital practice; 23; Suppl. 14 (1988).
- Cross J.R. et al. Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J Lipid Res. 26:566 (1985).
- Caselli W.P. et al. Cholesterol and other lipids in coronary heart disease. Circulation. 55: 767 (1977).
- Farr D.P., Russ E.M., Eder H.A. Protein lipid relationships in human plasma. Am. J. Med. 11: 480 (1951).
- Corder T. et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. Am. J. Med. 62: 297 (1977).
- Williams P., Robinson D., Baly A. High density lipoprotein and coronary risk factor. Lancet. 1: 72 (1979).
- Kamel W.B., Caselli W.P., Gordon T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease: New perspectives based on the Framingham study. Am. Heart J. 90: 85 (1975).
- National Institutes of Health publication No. 93-3095, September 1993.
- Wanick G., Russell, Wood Peter D. National Cholesterol Education Program. Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol. Executive Summary. Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1995.
- Yong D.S. Effectiveness of Diagnostic Clinical Laboratory Tests. 3rd ed. AACC Press, Washington DC, 1993: 104-110.
- NH publication No. 01-3670, Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) May 2001.
- Stanbio Laboratory data.

STANBIO LABORATORY DECLINA TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESADAS E INVOLUCRADAS EN LA NEGOCIABILIDAD Y PROPIEDAD CONCERNIENTE A ESTE PRODUCTO QUE NO ESTÉN EXPRESAMENTE DETALLADAS EN LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN EL EMPAQUE O SI NO HAY UN ACUERDO ESCRITO ENTRE EL COMPRADOR Y EL VENDEDOR DE ESTE PRODUCTO.

STANBIO LABORATORY SOSTIENE QUE ESTE PRODUCTO CUMPLE CON LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE INSERTO. EL COMPRADOR DEBE DETERMINAR LA CONFORMIDAD DEL PRODUCTO PARA SU USO PARTICULAR. USELO SOLO DE ACUERDO A LAS INSTRUCCIONES DE LA ETIQUETA.

Fabricado por:

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006

Para asistencia técnica llame: 1-800-531-5555 • (830) 249-0772

Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com

http://www.stanbio.com

DN: RBR.0710S.DV.00 • Última Revisión: 03/08 • Procedimiento No. 0710



## Stanbio HDL Colesterol Directo LiquiColor® Procedimiento No. 0590

### Uso

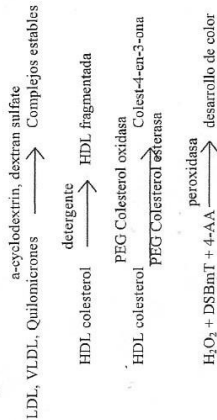
Para la determinación cuantitativa de lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins) en suero o plasma en procedimientos manuales y/o automáticos

### Resúmenes y Principio

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas que contienen cantidades variables de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. Los fosfolípidos, el colesterol libre y las proteínas constituyen la superficie externa de la partícula lipoproteína, mientras que su base consiste en mayor proporción colesterol esterificado y triglicéridos. Estas partículas solubilizan y transportan el colesterol en el torrente sanguíneo. La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Estas clases son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) y lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins). Numerosos estudios clínicos han demostrado que las diferentes clases de lipoproteínas tienen distintos y variados efectos en el riesgo de enfermedad coronaria. La función principal de las HDL en el metabolismo lipídico es la captación y transporte de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado en un proceso conocido como transporte reverso de colesterol (mecanismo cardioprotector). El HDL-colesterol bajo, está asociado con un alto riesgo de enfermedad cardíaca. Por este motivo la determinación de HDL-colesterol es una herramienta útil en la identificación de individuos de alto riesgo.

### Fundamentos del Método

Las LDL, VLDL, y quilomicrones son selectivamente fragmentadas por a-cyclodextrin y dextran sulfato y luego sométidas a la cuantificación mediante la reacción con enzimas modificados con PEG y un cromógeno como se muestra en el esquema reaccional:



### Reactivos

#### Reactivo 1. HDL LiquiColor® Buffer. Ref. No. 0591

Solución de a-cyclodextrin 0.5 mmol/L, cloruro de magnesio 2.0 mmol/L, dextran sulfato 0.5 g/L, HSDA 0.3 g/L y buffer pH 7.0 ± 0.1 y preservativos.

#### Reactivo 2. HDL LiquiColor® Enzima. Ref. No. 0592

PEG-colesterol oxidasa >5 KU/L, PEG-colesterol esterasa >0.8 KU/L, peroxidasa >15 KU/L, 4-AA 0.5 mmol/L y buffer, pH 7.0 ± 0.1, surfactante y preservativos.

### Precauciones:

Para uso de diagnóstico in vitro.  
Precauciones normales se deben practicar en el manejo de reactivos de laboratorio. No se debe pipetear con la boca. Reactivo contiene azida de sodio que puede ser tóxico si es ingerido. Azida de sodio también se puede reaccionar con plomo y cobre para formar metales de azida altamente explosivos. Refiérase a la hoja de datos de material de seguridad para información actualizada sobre riesgo, peligro y seguridad. Disponga de reactivos usados o expirados según a los requisitos de su laboratorio y gobierno.

### Preparación del Reactivo:

Los reactivos vienen listos para usar. Calibrador: Reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en la etiqueta. Tape el vial y deje en reposo por 5 minutos. Ayuda a la disolución rotando el vial suavemente, evitando la formación de espuma. No agite.

### Almacenamiento y Estabilidad de los Reactivos:

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad a ser almacenados correctamente a 2-8°C. Una vez reconstituido, el Calibrador es estable 21 días en refrigerador (2-8°C) o 1 mes congelado (-20°C), evitando descongelar y volver a congelar.

### Recolección y Almacenamiento de la Muestra

Toda muestra usada con esta prueba debe ser considerada potencialmente infecciosa. Precauciones universales aplicadas a su facilidad deben ser usadas para el manejo y disposición de materiales durante y después de realizar la prueba. Suero o plasma heparinizado o con EDTA, no hemolizado se deben usar. Anticoagulantes complejos como citratos deben ser evitados. La HDL-colesterol en suero es estable hasta 7 días a ser almacenado de 2-8°C y hasta 1 mes almacenado de -20°C.

**Substancias Interferentes:** Anticoagulantes complejos como citratos deben ser evitados. Una serie de drogas y otras sustancias también afectan los valores de HDL-colesterol.

### Material Proporcionado

Reactivos de lipoproteínas de alta densidad (HDL, Colesterol)

### Materiales Requeridos Pero No Proporcionados

Analizador Automático • HDL/LDL Calibrador • Pipetas estrictas

### Procedimiento de Analizador Automatizado

Contacte al Departamento de Servicio al Cliente de Stanbio para obtener aplicaciones para analizadores automatizados.

### Parámetros para Analizadores Automáticos

Longitud de onda primaria	600 nm
Longitud de onda secundaria (bicométrica)	700 nm
Dirección de la reacción	..... aumenta
Temperatura de reacción	37°C
Volumen de muestra o calibrador	3 µL
Volumen de Reactivo 1	300 µL
Volumen de Reactivo 2	100 µL
Tiempo de retardo con Reactivo 1	300 segundos
Tiempo de retardo con Reactivo 2	300 segundos
Tiempo de lectura	10-20 segundos
Absorbancia de Blanco	<0.350 D.O.
Límite de Absorbancia	2.500 D.O.
Linealidad	150 mg/dL

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador in uso.

**Calibración:** El Calibrador debe procesarse junto con las muestras y en la misma forma que éstas. Las concentraciones del Calibrador se encuentran alfabético de los niveles de decisión médica y son variables lote a lote (ver título en la etiqueta). Ingrese el valor de concentración del calibrador cada vez que se cambia de lote.

**Control de Calidad:** Se recomienda el uso de los controles de Stanbio Ser-T-Fy® I, Normal Control Serum, Ref. No. G427-86, y Ser-T-Fy® II Abnormal Control Serum, Ref. No. G428-86, para verificar exactitud y precisión. Controles de otras marcas disponibles comercialmente, que contienen valores de HDL probados por este método también son aceptables. La actividad de HDL determinada en estos materiales deben caer entre los rangos indicados por los controles. Dos niveles (normal/anormal) de los controles deben ser analizados cada día de probar.

### Valores Esperados

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de HDL-colesterol: 35 - 60 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. No obstante, valores mayores de 35 mg/dL se consideran

recomendables y los que se encuentren por encima de 60 mg/dL se han considerado como protectores. Por el contrario, valores de HDL-colesterol por debajo de 35 mg/dL se consideran como índice significativo de riesgo de enfermedad cardíaca coronaria.

Hombres: 30 - 70 mg/dL  
Mujeres: 30 - 85 mg/dL

### Características

Característico: Se analizaron 20 pmebas de suero control diurnos.

Within Day	Media (mg/dL)	SD	%CV
Nivel Bajo	38	0.9	2.2
Nivel Normal	68	1.0	1.5
Nivel Alto	85	1.2	1.4

Day to Day	Media (mg/dL)	SD	%CV
Nivel Bajo	37	0.8	2.2
Nivel Normal	66	1.5	1.6
Nivel Alto	84	2.3	1.9

**Correlación:** Se analizaron un total de 30 sueros por el método descrito y por el procedimiento de Abel-Kendall. Los análisis estadísticos revelaron un coeficiente de correlación (r) de 0.989.

**Linealidad:** De 2 a 150 mg/dL.

### Referencias

1. Coto AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia. Hospital practice, 23: Suppl. 1-4 (1988).
2. Crane JR, et al. Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J Lipid Res. 26:566 (1985).
3. Casali WP, et al. Cholesterol and other lipids in coronary heart disease. Circulation. 55:767 (1977).
4. Bar DP, Russ EM, Elder HA. Protein lipoprotein lipase in human plasma. Am J Med. 11:480 (1951).
5. Gordon T, et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. Am J Med. 62:707 (1977).
6. Williams P, Robinson D, Daly A. High density lipoprotein and coronary risk factor. Lancet. 1:72 (1979).
7. Karad WR, Casali WP, Gordon T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New prospective based on the Framingham study. American Med. 90:85 (1979).
8. National Institutes on Health publication No. 93-3095, September 1993.
9. Weisick G, Russell, Wood P, et al. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol. Executive Summary. Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1995.
10. Grundy SM, et al. Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). JAMA. 1993; 269:23, 3015-3023.
11. Young DS. Effectiveness of Clinical Laboratory Task, 3rd ed. AACCP Press, Washington DC, 1990, 2-104 pp. 2-106.
12. Tetz NW. Clinical Chemistry Laboratory Tests. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, p. 256.

STANBIO LABORATORY. REGULA TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESADAS E INCLUIDAS EN LA NEGOCIABILIDAD Y PROPIEDAD CONERENTE A ESTE PRODUCTO QUE NO ESTEN EXPRESAMENTE DETALLADAS EN LA INFORMACION CONTENIDA EN EL EMPAQUE O SI NO HAY UN ACUERDO ESCRITO ENTRE EL COMPRADOR Y EL VENDEDOR DE ESTE PRODUCTO.

STANBIO LABORATORY. SOSTIENE QUE ESTE PRODUCTO CUMPLE CON LA INFORMACION CONTENIDA EN ESTE INSERTO. EL COMPRADOR DEBE DETERMINAR LA CONFORMIDAD DEL PRODUCTO PARA SU USO PARTICULAR. USE SOLO DE ACUERDO A LAS INSTRUCCIONES DE LA ETIQUETA.

Fabricado por:

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006

Para asistencia técnica llame: 1-800-531-5535 • (830) 249-0772

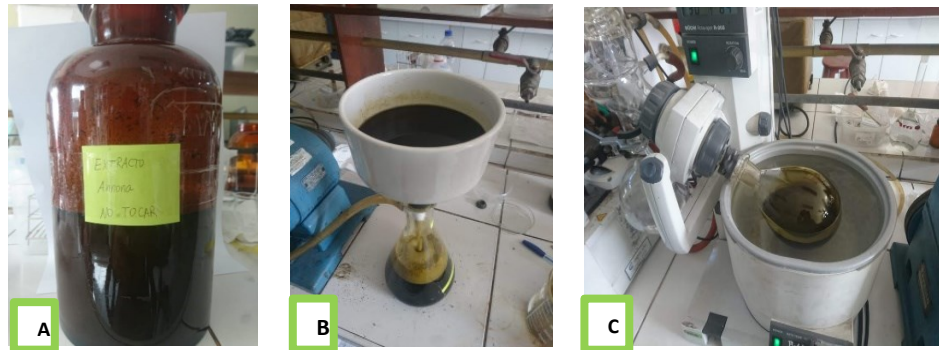
Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com

http://www.stanbio.com

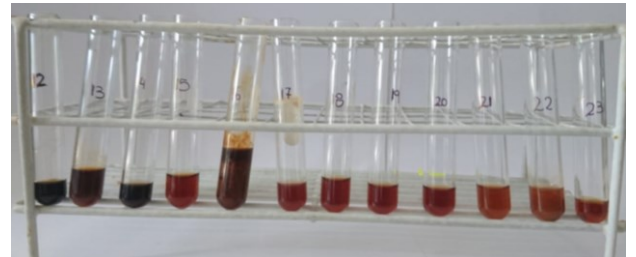
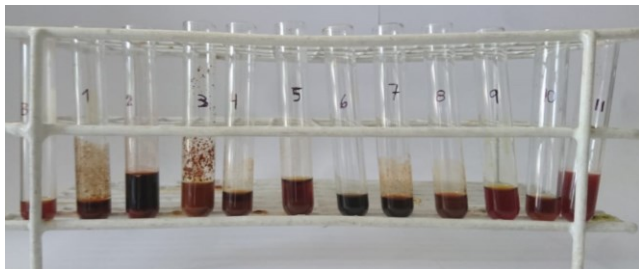
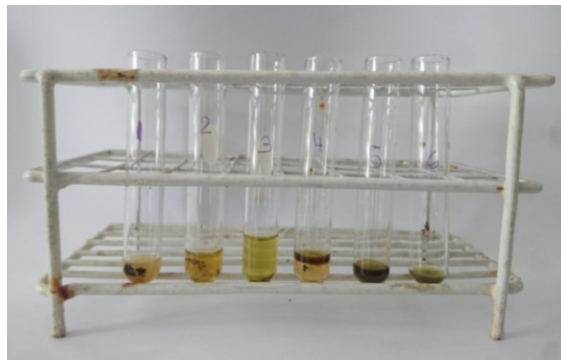
DN: RBR.05908.DV.00 • Última Revisión: 03/08 • Procedimiento No. 0590

## Anexo 7. Fotografías

### Obtención del extracto etanólico de hojas de guanábana



### Caracterización de las hojas de guanábana



### Fotografías del ambiente y administración del tratamiento



## Anexo 8. Constancia de uso de bioterio



Universidad Católica  
de Santa María

### CONSTANCIA

**Expediente N°:** E-088648

**Salida N°:** 20200003-V

La que suscribe, directora de la Coordinación de Laboratorios y Gabinetes de la Universidad Católica de Santa María

HACE CONSTAR que, el(la) señor(ita):

**KAREN VERÓNICA AYALA HUAMÁN**

Ha hecho uso del bioterio y animales de experimentación para elaboración de la tesis:

**"INFLUENCIA DEL CONSUMO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE GUANÁBANA (ANONA MURICATA L.) SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO EN RATAS HIPERLIPIDEMICAS.**

Se expide la presente a solicitud del interesado (a)

AREQUIPA, viernes, 23 de Octubre de 2020

**Dra. Jesús María Zambrano Salas de Calle**  
Directora de la Coordinación de Laboratorios y  
Gabinetes

Campus central: Urb. San José s/n Umacollo, Arequipa - Perú  
(+51) 054 - 382038  
ucsm@ucsm.edu.pe  
www.ucsm.edu.pe

