

**Efecto del extracto de *Annona muricata*  
(Annonaceae) “guanábana” en *Rattus norvegicus*  
*albinus* “ratas” tratadas con paracetamol**

**Effect of the extract of *Annona muricata*  
(Annonaceae) “guanabana” in *Rattus*  
*norvegicus albinus* “rats” treated with  
paracetamol**

***José Ernesto Manuel Hidalgo Rodríguez***

Programa de Estudio de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ  
[jemhidalgor@gmail.com](mailto:jemhidalgor@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0002-6595-0037>

***Cynthia Catheryne Ramos Otiniano***

Programa de Estudio de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ  
[cynthiaramosotiniano@gmail.com](mailto:cynthiaramosotiniano@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0003-1739-634X>

***Pedro Bernardo Lezama Asencio***

Departamento de Ciencias, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, PERÚ  
[plezamaa@gmail.com](mailto:plezamaa@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0002-8594-0346>

## Resumen

Los microorganismos benéficos tienden a promover el crecimiento y desarrollo de *Carica papaya* en diferentes niveles. El presente trabajo tiene el objetivo de evaluar el efecto de la inoculación de los hongos benéficos *Rhizophagus irregularis* y *Trichoderma viride* en *Carica papaya* en condiciones de invernadero hasta los 28 días. Se utilizaron plántulas de *C. papaya* obtenidas por micropropagación, luego de su aclimatación. De manera aleatoria, cada plántula recibió un tratamiento con aproximadamente 500 esporas *R. irregularis* y  $5 \times 10^7$  esporas de *T. viride*. Las plántulas fueron cultivadas en condiciones de invernadero, con riego a capacidad de campo con una solución NPK de mantenimiento 15-15-15 por 28 días. Los resultados demuestran que los tratamientos con *R. irregularis* y la coinoculación con *R. irregularis* y *T. viride* promovieron el crecimiento vegetativo de plántulas de papaya incrementando la longitud de tallo, diámetro de tallo, número de hojas y área foliar. El tratamiento con *T. viride* no ocasionó diferencias significativas. Se concluye que el uso de organismos benéficos como *R. irregularis* y *T. viride* permite incrementar los parámetros de crecimiento de *C. papaya* en los primeros días de cultivo en condiciones de invernadero.

**Palabras clave:** *Rhizophagus irregularis*, *Trichoderma viride*, micorrizas, *Carica papaya*.

## Abstract

Beneficial microorganisms tend to promote growth and development of *Carica papaya* at different levels. The objective of this study was to evaluate the effect of *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma viride* on *C. papaya* growth under greenhouse conditions for 28 days. *C. papaya* plantlets obtained through micropropagation were used after acclimation. Each plantlet received a treatment with 500 *R. irregularis* spores and/or  $5 \times 10^7$  *T. viride* spores randomly. The plants were cultured under greenhouse conditions and watered with an 15-15-15 NPK solution for 28 days. The results demonstrate that the treatments with *R. irregularis* and the coinoculation with *R. irregularis* and *T. viride* promoted the vegetative growth of papaya plants by increasing shoot length, shoot diameter, number of leaves and leaf area. Treatment with *T. viride* did not induce significant changes. It is concluded that the use of beneficial microorganisms such as *R. irregularis* and *T. viride* increases the growth parameters of *C. papaya* in the first days of culture under greenhouse conditions.

**Keywords:** *Rhizophagus irregularis*, *Trichoderma viride*, mycorrhiza, *Carica papaya*.

**Citación:** Hidalgo, J.; C. Ramos & P. Lezama. 2023. Efecto del extracto de *Annona muricata* (Annonaceae) “guanábana” en *Rattus norvegicus albinus* “ratas” tratadas con paracetamol. *Arnaldoa* 30 (2): 209-220 doi:<http://doi.org/10.22497/arnaldoa.302.30208>

## Introducción

El hígado es el principal órgano relacionado con la desintoxicación de xenobióticos. Por lo cual, la alta cantidad de xenobióticos ocasiona daños estructurales y funcionales, estando relacionado con hepatotoxicidad (Fu *et al.*, 2018). Entre los agentes que ocasionan hepatotoxicidad se encuentra el paracetamol, responsable de la mitad de casos de fallo hepático en los Estados Unidos (Rotundo & Pysopopulos, 2020). El metabolismo del paracetamol a

nivel hepático se realiza a nivel microsomal por el citocromo P450 2E1 (CYP2E1), produciendo especies reactivas de oxígeno y disfunción mitocondrial por producción de N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI) (Jaeschke *et al.*, 2012). El NAPQI se conjuga con glutatión produciendo metabolitos menos tóxicos. Mientras que la actividad de glutatión peroxidasa se reduce hasta el 60% en presencia de paracetamol. Ante niveles crecientes de paracetamol, el NAPQI produce reducción del glutatión e incremento peroxinitritos

y de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Ramachandran & Jaeschke, 2018).

Los EROs pueden ser reducidos por la actividad de diferentes compuestos incluyendo los flavonoides, compuestos que presentan un núcleo flavano compuesto por dos anillos bencénicos unidos a un anillo pirano heterocíclico con alta capacidad antioxidante por presencia de grupos reductore (Speisky et al., 2016). Se han descrito más de 8000 antioxidantes presentes en el reino vegetal (Pietta et al., 2000). Entre estas plantas se encuentra *A. muricata*, que según Arroyo et al. (2005) y Quispe et al. (2006), puede eliminar selectivamente a las células que presentan daño oxidativo por la presencia de sustancias alcaloideas y polifenoles teniendo actividad anticancerígena para el estómago y el pulmón (Arroyo et al., 2009), hipoglicemiante, antiespasmódica, sedativa, antimalárica y vasodilatadora (Quispe et al., 2007). A pesar de haber pruebas de la actividad benéfica de esta planta, se requieren más estudios, por lo cual el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del extracto de *Annona muricata* “guanábana” en *Rattus norvegicus albinus* “ratas” tratadas con paracetamol.

## Material y métodos

### Material biológico

Se trabajó con 9 individuos machos adultos de *R. norvegicus albinus* con un peso promedio de  $340 \pm 100$  g de peso corporal, las cuales fueron mantenidas en cuarentena por 15 días para adaptarlas a las condiciones de laboratorio, siendo alimentadas ese tiempo con purina y agua a libre disposición. Luego fueron distribuidas de una manera aleatoria en tres grupos de tres cada uno y se les aplicó los tratamientos por vía oral, diariamente durante 5 días.

### Material botánico

Las hojas fueron extraídas del árbol de *A. muricata* (Annonaceae) “guanábana” del Jardín Botánico de la Universidad Nacional de Trujillo, de donde se colectaron muestras sanas y sin rastro de haber recibido daño mecánico. Las hojas fueron lavadas con abundante agua de caño para eliminar las impurezas y luego enjuagadas con agua destilada, posteriormente fueron cortadas en trozos pequeños para facilitar la extracción de flavonoides.

### Obtención del extracto

Se emplearon 261.5 gramos de hojas de *A. muricata* en etanol al 96%, las hojas se dejaron en maceración durante 7 días. Cumplido el tiempo, el macerado se trató con reflujo continuo durante 2 horas para una extracción más eficiente, tras lo cual se filtró, obteniéndose el extracto etanólico, que fue expuesto a concentración por pervaporación durante 2 días para obtener el concentrado, tras la pervaporación, se obtuvieron 15,68 gr. de concentrado, el que finalmente se disolvió en agua al 15%, tras lo cual se administró a las ratas con su bebida. El flujo de trabajo para la obtención del material botánico y preparación del extracto se muestra en la Fig. 1.



Fig. 1. Flujo de trabajo para la obtención del extracto etanólico de *A. muricata*.

**Aplicación de tratamientos**

Las ratas fueron dispuestas en un Diseño Completamente Aleatorizado. Los tratamientos fueron administrados vía oral durante 5 día a cada grupo. Se tuvieron 3 tratamientos, detallados a continuación (Cuadro 1):

- T1 (Control): Constituido por 03 ratas tratadas con alimentación normal y con agua destilada.

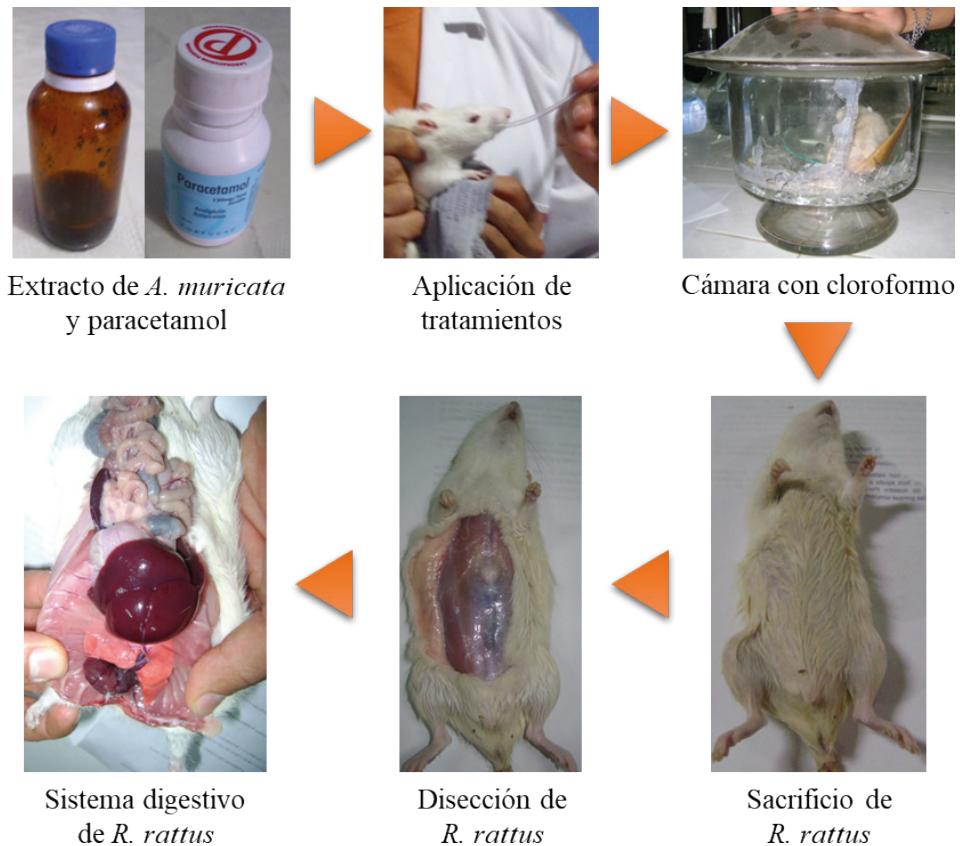
- T2 (Paracetamol): Constituido por 03 ratas tratadas con alimentación normal y con paracetamol en una dosis de 200 mg/día.

- T3 (*A. muricata*+Paracetamol): Constituido por 03 ratas tratadas con 4,5 g de extracto hidroalcohólico de guanábana/kg de peso corporal y con paracetamol en una dosis de 200 mg/día.

**Cuadro 1:** Distribución de los tratamientos y repeticiones para el estudio.

<b>T1:</b> Nada (control negativo)			<b>T2:</b> Paracetamol (control positivo)			<b>T3:</b> <i>A. muricata</i> + Paracetamol		
r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3

El detalle de la aplicación de tratamientos y obtención del tejido hepático se muestra en la Fig. 2.



**Fig. 2.** Aplicación de tratamientos y obtención de tejido hepático de *R. norvegicus albinus*.



### **Análisis cualitativo del hígado**

Transcurrido el tiempo de tratamiento, los animales fueron sacrificados diseccionados para evaluar el peso del animal y del hígado, el conteo del número de lóbulos, la forma, presencia de cuerpos grasos y color de las heces.

### **Procesamiento de datos**

Los datos fueron evaluados para observar su normalidad y la homocedasticidad, tras lo cual se realizó el análisis de varianza (ANVA) y la prueba de comparación de medias Tukey HSD para los datos cuantitativos.

## **Resultados**

Todos los hígados evaluados mostraron 7 lóbulos, con ausencia de esteatosis a nivel tisular. Con respecto a los resultados de las pruebas de normalidad y la homocedasticidad se muestran en el Anexo 1, mientras que los resultados del ANVA se muestran en el Anexo 2.

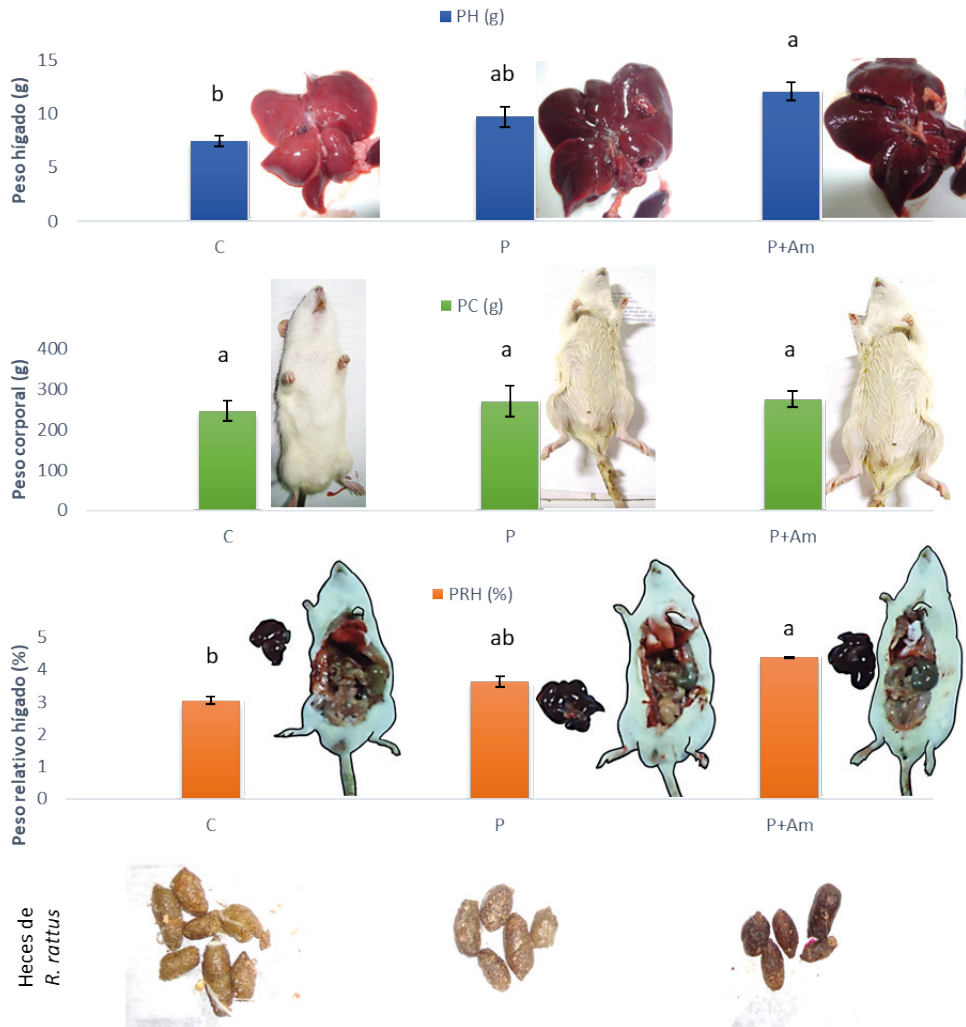
Los resultados y la prueba de comparación de medias múltiple de Tukey son mostrados en la Fig. 3. Las ratas del grupo control mostraron un valor de peso corporal (PC) promedio de 246, 7g, siendo estadísticamente similar a los grupos tratados con paracetamol y paracetamol+A. *muricata* (270 y 275 g, respectivamente).

En relación al peso del hígado (PH), se observó que el grupo control mostró un peso promedio de 7,5g, siendo estadísticamente similar al grupo tratado con P, cuyo hígado mostró un promedio de 9,7g. Pero mostrando diferencias con el grupo P+Am (12, 0g).

De manera similar, cuando se midió el peso relativo del hígado (PRH), se encontró que el PRH tuvo un valor de 3,0, que fue estadísticamente similar al grupo tratado

con paracetamol (3,6). En contraste, en las ratas tratados con P+Am, el valor de PRH fue 4,4.

Por otra parte, las heces mostraron coloración diferente, siendo las del grupo control de color marrón claro. En tanto, las heces de las ratas tratadas con paracetamol fueron de color marrón. Por último, las heces de las ratas del grupo P+Am tuvieron un color marrón oscuro.



**Fig. 3.** Resultados del efecto del extracto de *A. muricata* sobre diferentes parámetros hepático. Las barras de color representan los promedios. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey HSD ( $p < 0,05$ ). Las líneas verticales en cada barra representan el error estándar.

## Discusión

Los resultados arrojados, mostraron un aumento en relación con la aplicación de paracetamol y del extracto de guanábana en los animales tratados. El incremento en el peso del hígado es denominado hepatomegalia, una condición que está relacionada con daño hepático, y que está asociada con toxicidad causada por dosis elevadas de xenobióticos (Brushan & Apte, 2019). Teniendo en cuenta que la hepatomegalia es una manifestación clínica propia de la intoxicación por paracetamol (Torres, 2002), los resultados encontrados en el presente estudio concuerdan parcialmente con Selemá & Martínez (1999) y Rodríguez *et al.* (2001), quienes hallaron en su ensayo variaciones en los pesos relativos del hígado de ratas tratadas con tetracloruro de carbono y con el flavonoide astibilina. En este estudio, el grupo al que se le aplicó solo el compuesto hepatotóxico, mostró mayor incremento en peso relativo del hígado. Estos resultados difieren de los observados en el presente estudio, en el que el mayor peso relativo del hígado fue hallado en el grupo al que se le aplicó el extracto con efecto hepatoprotector. Las diferencias encontradas pueden deberse a la naturaleza química del extracto de *A. muricata*. En efecto, a pesar de que este extracto presenta altas cantidades de flavonoides, no fue capaz de disminuir el incremento de peso relativo del hígado en las ratas tratadas, por el contrario, lo incrementó.

Estos resultados contrastan a su vez con los encontrados por Troncoso & Guija (2007), quienes utilizaron paracetamol como sustancia hepatotóxica y perejil como hepatoprotector, encontrando mayor peso relativo del hígado en el grupo control, al que no se le aplicó ninguna de las sustancias

del estudio. Además, se observó una disminución de los pesos relativos tanto en el grupo al que se aplicó paracetamol, como en aquel al que le fue aplicado el extracto de perejil, mientras que en el tercer grupo, se observó una disminución más acentuada, en el peso relativo del hígado de los animales. Sin embargo, ninguna de las variaciones encontradas en los pesos totales del individuo y de los órganos en estudio, fue significativa. De esta manera Troncoso & Guija (2007) demostraron que el extracto de perejil puede disminuir los efectos hepatotóxicos del paracetamol. Sin embargo, no se explica la razón de haber hallado mayor peso de hígado y mayor peso relativo de hígado en el grupo tratado con el extracto de *A. muricata*, lo cual señala un nivel de hepatotoxicidad, probablemente inducida por la dosis del extracto empleada.

Con respecto al color de las heces, también se observaron diferencias según los tratamientos. Este parámetro está relacionado con el metabolismo hepático, puesto que este color se relaciona con la cantidad de bilirrubina, pigmento producido por la degradación de la hemoglobina, principalmente en el hígado, y cuya eliminación del organismo como estercobilina, promueve la coloración típica marrón de las heces (Cerrillo *et al.*, 2005). El aumento de bilirrubina según Cerrillo *et al.* (2005) está relacionado con las hepatopatías durante la gestación, por lo que este aumento, produciría una coloración más oscura en las heces de los grupos tratados. Es así que el resultado encontrado en el presente estudio, coincide con esta descripción, al observarse mayor intensidad de coloración en el grupo tratado con paracetamol. Sin embargo, esta vez también se observó una mayor intensidad, incluso mayor que la producida por el paracetamol, en las heces de las ratas



que fueron tratadas además con el extracto hidroalcohólico de *A. muricata*.

Con respecto al número de lóbulos hepáticos, no se observó variación alguna, presentando todos los animales sus 7 lóbulos. La forma del hígado, fue en todos los casos, compacta y no se observó presencia de cuerpos grasos en los hígados de cada grupo. Resultado esperado, teniendo en cuenta que la literatura revisada no revela resultados resaltantes sobre estas características.

De esta manera, se tiene que a pesar de contar con una gran cantidad de flavonoides efectivos como antioxidantes y con actividad anticancerígena (Arroyo *et al.*, 2005; Quispe *et al.*, 2007) y antidiabética (Arroyo *et al.*, 2009), y que fueron además determinados en la marcha fitoquímica realizada; estos flavonoides, no constituirían un rol preponderante como hepatoprotector frente al daño hepático producido por el fármaco paracetamol. Quedan pendientes, sin embargo, los análisis cuantitativos enzimáticos de transaminasas, compuestos como el malondialdehído, y el examen histológico, que son determinantes para determinar el daño hepático en animales sometidos a estudios de efectos hepatoprotectores de extractos de plantas (Troncoso & Guija, 2007).

### Conclusiones

El extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* ocasionó variaciones hepáticas en individuos machos adultos de *Rattus norvegicus albinus* tratados con paracetamol, incluyendo mayor peso de hígado, mayor peso relativo de hígado y coloración más oscura de heces.

La aplicación de paracetamol, indujo incremento en el peso relativo del hígado y coloración de heces más oscura,

característicos de la hepatotoxicidad.

El mayor peso relativo del hígado y la coloración más oscura de las heces de las ratas, podrían significar un efecto hepatotóxico del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* sobre "ratas albinas".

### Literatura citada

- Arroyo, J.; M. Prashad; Y. Vásquez; E. Li & G. Tomás.** 2005. Actividad citotóxica de *Annona muricata* y *Krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 22(4): 247-253.
- Arroyo, J.; J. Martínez & G. Ronceros.** 2009. Efecto hipoglucemiante coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. ("guanábana"), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. *Rev An Fac Med.* 70(3): 163-167.
- Bhushan, B. & U. Apte.** 2019. Liver Regeneration after Acetaminophen Hepatotoxicity: Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *The American journal of pathology*, 189(4), 719–729. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.12.006>
- Cerrillo, M.; G. Argüello & S. Avilés.** 2005. Colestasis gravídica: etiología clínica, diagnóstico y tratamiento. *Ar Med.* 01(05): 1-16.
- Fu, X.; J. Sluka; S. Clendenon; K. Dunn; Z. Wang; J. Klaunig & J. Glazier.** 2018. Modeling of xenobiotic transport and metabolism in virtual hepatic lobule models. *PLoS One.* 13(9):e0198060. doi: 10.1371/journal.pone.0198060.
- Jaeschke, H.; M. R. McGill & A. Ramachandran.** 2012. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab Rev.* 44:88–106.
- Pietta, P.** 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63:1035–1042. doi: 10.1021/np9904509.
- Quispe, A.; D. Zavala; M. Posso; J. Rojas & A. Vaisberg.** 2007. Efecto citotóxico de *Annona muricata* (guanabana) en cultivo de líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar. *CIMEL.* 12(1): 19-22
- Quispe, A.; D. Zavala; J. Rojas; M. Posso & A. Vaisberg.** 2006. Efecto citotóxico selectivo in vitro de muricin H (acetogenina de *Annona muricata*) en cultivos celulares de cáncer de pulmón. *Rev Peru*

Med Exp Salud Pública. 23(4): 265-69.

**Ramachandran, A. & H. Jaeschke.** 2018. Oxidative Stress and Acute Hepatic Injury. *Curr Opin Toxicol.* 7:17–21.

**Rodríguez, G. *et al.*** 2001. Actividad Hepatoprotectora de las Tinturas de 2 Especies Vegetales del Género HYPERICUM. *Rev Cub Med Mil.* 30(4): 241-244.

**Rotundo, L. & N. Pyrsopoulos.** 2020. Liver injury induced by paracetamol and challenges associated with intentional and unintentional use. *World J Hepatol.* 27;12(4):125-136. doi: 10.4254/wjh.v12.i4.125.

**Selema, G. & J. Martínez.** 1999. Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide Astibilina frente a un modelo animal tratado con Tetracloruro de Carbono. *Rev Cubana Plant Med.* 1(4): 36-39.

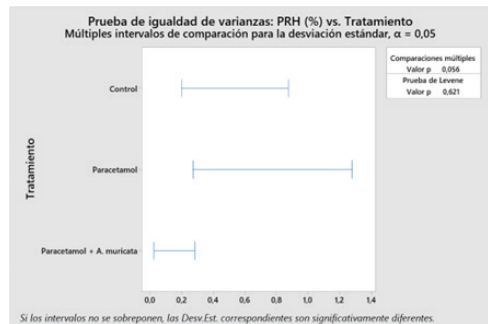
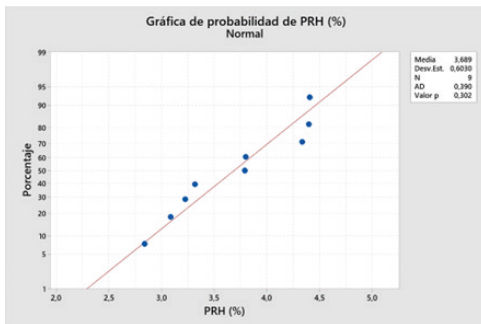
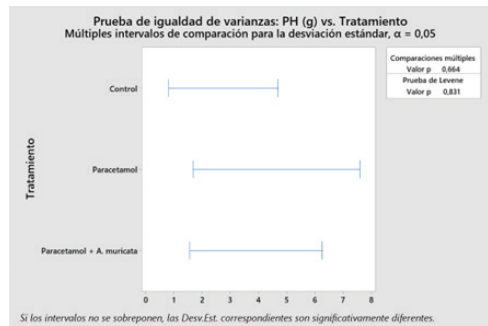
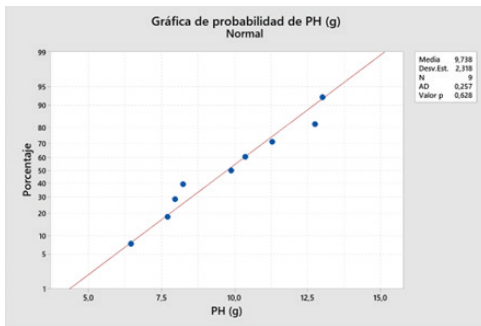
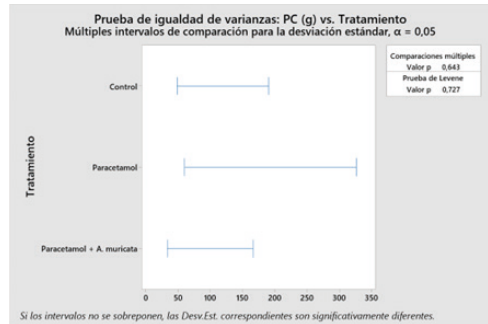
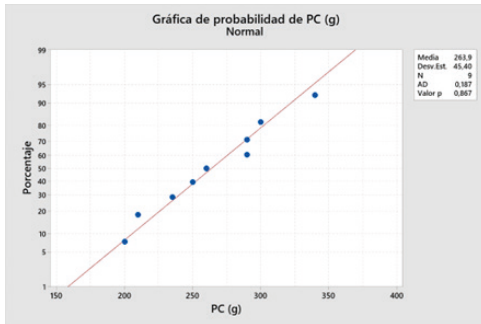
**Speisky, H.; J. Fuentes; E. Dorta & C. López-Alarcón.** 2016. Chapter 1, Polyphenols: Sources and main characteristics. In: Cuevas-Valenzuela J., Vergara-Salinas J.R., Pérez-Correa J.R., editors. *Advances in Technologies for Producing Food-Relevant Polyphenols.* 1st ed. CRC Press Taylor & Francis; Abingdon, UK. 1–32.

**Torres, L.** 2002. Tratado de cuidados críticos y emergencias. 1° ed. Madrid. Editorial Arán. 1467-1468.

**Troncoso, L. & E. Guija.** 2007. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* ("perejil") en "ratas", con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *An Fac Med Lima.* 68(4): 333-343.

## Anexos

### Anexo 1: Pruebas de normalidad y homocedasticidad encontradas según tratamientos



**Anexo 2:** ANVA de los parámetros evaluados

**Análisis de Varianza Peso Corporal**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento	2	1372	686,1	0,27	0,771
Error	6	15117	2519,4		
Total	8	16489			

**Análisis de Varianza Peso Hígado**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	2	31,47	15,734	8,20	0,019
Error	6	11,51	1,919		
Total	8	42,98			

**Análisis de Varianza Peso Relativo Hígado**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	2	2,6769	1,33845	34,62	0,001
Error	6	0,2319	0,03866		
Total	8	2,9088			