

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**TESIS**

**EFFECTO CITOPROTECTOR DE EXTRACTO ALCOHOLICO DE *Annona muricata L.*, FRENTE A LA TOXICIDAD INDUCIDA CON DEXAMETASONA EN BIOENSAYOS CON *Vicia faba L.***

**PRESENTADA POR:**

Bach. WALTHER RODRIGO FLORES ACHAHUI

**PARA OPTAR AL TÍTULO  
PROFESIONAL DE BIÓLOGO**

**ASESORA:**

Dra. JULIA GRISELDA MUÑOZ DURÁN

**CUSCO – PERÚ**

2025

# INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: EFECTO  
CITOPROTECTOR DE EXTRACTO ALCOHOLICO DE Annona  
muricata L., FRENTE A LA TOXICIDAD INDUCIDA  
CON DEXAMETASONA EN BIENSAYOS con Vicia faba L.

Presentado por: WALTER RODRIGO FLORES ACHAHUI DNI N° 71624910  
presentado por: ..... DNI N°: .....  
Para optar el título profesional/grado académico de BIÓLOGO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	<input type="checkbox"/>
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	<input type="checkbox"/>

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 09 de Julio de 2025



Firma

Post firma JULIA GRISELDA MUÑOZ DURAN

Nro. de DNI 23822964

ORCID del Asesor 0000-0001-9988-4827

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: 27259:472633366

# TESIS RODRIGO FLORES.pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

---

## Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:472633366

Fecha de entrega

8 jul 2025, 8:02 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

8 jul 2025, 8:05 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

TESIS RODRIGO FLORES.pdf

Tamaño de archivo

3.0 MB

146 Páginas

29.290 Palabras

163.990 Caracteres

# 9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

## Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

## Fuentes principales

- 7%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 6%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

A mis padres por el apoyo incondicional

a mis hermanos y sobrinas

a mi asesora y a mi

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero agradecer a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, a la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología, por ser cuna de la educación Universitaria de la Región del Cusco, por la calidad de educación que brindan.

A mi asesora la Dra. Julia Griselda Muñiz Duran por haberme guiado en este camino de realización de un buen profesional, enriqueciendo mi formación académica y personal durante mi vida Universitaria y más aún durante la realización de este trabajo de investigación, por la confianza, sabiduría, recomendaciones, comprensión y paciencia que tuvo y tiene, con el ejemplo que brinda al ser una excelente profesional, estoy infinitamente agradecido por todo ello, al igual que el resto de profesores que tuve como estudiante de esta casa de estudios.

A mis papas Betty Achahui Almanza y José Carmelo Flores Morales por su amor incondicional, comprensión y apoyo inquebrantable en los momentos difíciles, por ser mi soporte durante toda mi vida, y comprensión durante el desarrollo de esta investigación, la infinita paciencia y apoyo que me brindan.

A mis hermanos Anthony, Yojhan Albert y mi única Hermana Zulema por el ejemplo que me brindan como buenos profesionales y buenas personas.

A mis sobrinas Ariana y Raziel por estar presentes en mi vida, mis mascotas Kenay y Nino que son una linda compañía.

A mis amigas y amigos por estar siempre a mi lado, motivándome y brindándome momentos de distracción cuando más los necesitaba.

## INDICE GENERAL

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>III</b>
<b>INDICE GENERAL .....</b>	<b>IV</b>
<b>INDICE DE TABLAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>IIIX</b>
<b>INDICE DE ANEXOS.....</b>	<b>XI</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>XII</b>
<b>INTRODUCCION .....</b>	<b>XIVIV</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>XVI</b>
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>XVIIIVIII</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>XX</b>
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>XX</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>XX</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>XXI</b>
<b>VARIABLES .....</b>	<b>XXII</b>
Variables Dependientes (Dep) .....	XXII
Variables Independientes (Ind).....	XXII
<b>OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....</b>	<b>XXIIII</b>
<b>I.    MARCO TEORICO .....</b>	<b>1</b>
1.1.    Antecedentes de Investigación.....	1
1.1.1 Antecedentes Internacionales: .....	1
1.1.2 Antecedentes Nacionales: .....	2
1.1.3 Antecedentes Locales: .....	4

GENERALIDADES .....	5
1.2 Base Teórica.....	5
1.2.1 Dexametasona .....	5
1.2.2 Toxicología .....	10
1.2.3 Annona muricata L. ....	14
1.2.3 Bioensayos .....	21
<b>II. MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>24</b>
2.1. Materiales.....	24
2.1.1. Área de Procedencia de las Muestras.....	24
2.1.2. Área de Estudio.....	24
2.1.3. Material Biológico.....	24
2.1.4. Materiales de Laboratorios.....	24
2.2. Métodos.....	27
2.2.1. Flujograma de la investigación .....	27
2.2.2. Diseño Experimental .....	27
2.2.3. Muestreo de hojas de Annona muricata L.....	28
2.2.4. Determinación Botánica de Annona muricata L. ....	30
2.2.5. Obtención de Extracto Alcohólico de Annona muricata L. ....	30
2.2.6. Marcha Fitoquímica de Annona muricata L. ....	31
2.2.7. Determinación del efecto citotóxico de dexametasona y el efecto citoprotector del extracto alcohólico de Annona muricata L. inducido al daño tóxico por dexametasona en Vicia faba L.....	32
2.2.8. Análisis de los Datos .....	40

<b>III. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>41</b>
3.1 De la marcha Fitoquímica.....	41
3.2 Del Efecto cito y genotóxico de la Dexametasona .....	43
3.2.1 Efecto citotóxico de dexametasona al 0.1% en Bioensayo de Vicia faba L. 43	
3.2.2. Efecto genotóxico de dexametasona al 0.1% en bioensayos de Vicia faba L. .....	46
3.3. Del efecto citoprotector del extracto alcohólico a 70° de las hojas de <i>Annona muricata L.</i> seco al 20% en concentración de 0.25%, 0.5% y 1% frente al daño citotóxico y genotóxico inducido por dexametasona al 0.1% en meristemos radiculares de <i>Vicia faba L.</i> con un Bioensayo se obtuvo los siguientes resultados: .....	49
3.3.1. Evaluación del Indicé Mitótico. ....	50
3.3.2. Evaluación de Indicé Profasico.....	56
3.3.3. Evaluación del Indicé Metafásico. ....	60
3.3.4. Evaluación del Indicé Anafásico. ....	65
3.3.5. Evaluación del Indicé Telofasico.....	70
3.3.6. Evaluación del Indicé de Puentes Anafásicos.....	76
3.3.7. Evaluación de la frecuencia de Micronúcleos. ....	81
3.3.8. Evaluación de la Frecuencia de Células Binucleadas. ....	87
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>92</b>
<b>RECOMENDACIONES. ....</b>	<b>94</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>95</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>106</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Operacionalización de Variables .....	XXIII
<b>Tabla 2</b> Niveles de Toxicidad para la frecuencia de Micronúcleos, expresado en porcentaje (FMN%) .....	13
<b>Tabla 3</b> Niveles de toxicidad para la frecuencia de células Binucleadas expresado en porcentaje (FBN%) .....	14
<b>Tabla 4</b> Marcha Fitoquímica .....	32
<b>Tabla 5</b> Diseño experimental .....	34
<b>Tabla 6</b> Resultado de marcha fitoquímica del extracto alcohólico al 70° de hojas de <i>Annona muricata</i> L. seco al 20% .....	41
<b>Tabla 7</b> Genotoxicidad de dexametasona al 0.1% y control en Bioensayos de <i>Vicia faba</i> L. ....	44
<b>Tabla 8</b> Porcentajes y desviación estándar de Índice Mitótico e Índice de Fases de los valores obtenidos en los 8 tratamientos evaluados en <i>Vicia Faba</i> L. ....	49
<b>Tabla 9</b> Análisis de varianza aplicado al Índice Mitótico .....	53
<b>Tabla 10</b> Test de Duncan aplicada para el Índice Mitótico .....	54
<b>Tabla 11</b> Análisis de varianza aplicado para el Índice Profasico .....	58
<b>Tabla 12</b> Test de Duncan aplicado para el Índice Profasico .....	59
<b>Tabla 13</b> Análisis de varianza aplicado para el Índice Metafasico .....	62
<b>Tabla 14</b> Test de Duncan aplicado para el Índice Metafasico .....	63
<b>Tabla 15</b> Analisis de varianza aplicado para el Índice Anafasico .....	67
<b>Tabla 16</b> Test de Duncan aplicada para el Índice Anafasico .....	68
<b>Tabla 17</b> Análisis de varianza aplicada para el Índice Telofasico .....	72
<b>Tabla 18</b> Test de Duncan aplicada para el Índice Telofasico .....	73
<b>Tabla 20</b> Porcentajes y desviación estándar de índice de Puentes Anafasicos .....	77
<b>Tabla 21</b> Análisis de varianza aplicada para el Índice de Puentes Anafasicos .....	79
<b>Tabla 22</b> Test de Duncan aplicada para el Índice de Puentes Anafasicos .....	80
<b>Tabla 23</b> Frecuencia de Micronúcleos y Células Binucleadas en todos los tratamientos, promedios y desviación estándar más su nivel de toxicidad .....	82
<b>Tabla 24</b> Análisis de varianza aplicada para la Frecuencia de Micronúcleos .....	84
<b>Tabla 25</b> Test de Duncan aplicada para la Frecuencia de Micronúcleos .....	85

<b>Tabla 26</b> <i>Análisis de varianza aplicada para la Frecuencia de Células Binucleadas</i> .....	88
<b>Tabla 27</b> <i>Test de Duncan aplicada para la Frecuencia de Células Binucleadas</i> .....	89
<b>Tabla 28</b> <i>Base de datos del Índice Mitótico , Índice de fases e Índice de Puentes Anafásicos; y de Frecuencia de Micronúcleos y Frecuencia de Células Binucleadas de los tratamientos : Control negativo (agua destilada) y control positivo dexametasona al 0.1%. .....</i>	113
<b>Tabla 29</b> <i>Base de datos del Índice Mitótico, Índice de Fases e Índice de Puentes Anafásicos; y de Frecuencia de Micronúcleos y Frecuencia de Células Binucleadas de los tratamientos: 0.25%, 0.5% y 1% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de Annona muricata L.....</i>	114
<b>Tabla 30</b> <i>Base de datos del Índice Mitótico, de fases, Puentes Anafásicos; y de Frecuencia de Micronúcleos y Células Binucleadas de los tratamientos: 0.25%, 0.5% y 1% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas secas de Annona muricata L. al 20% + dexametasona al 0.1%.....</i>	115

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Punto de recolección de Hojas de <i>Annona muricata</i> L. zona boscosa de Árboles frutales de Guanabana.....	29
<b>Figura 2</b> Efecto de la Dexametasona al 0.1% en fases del ciclo celular.....	43
<b>Figura 3</b> Efecto citotóxico de Dexametasona al 0.1% y control en bioensayos de <i>Vicia faba</i> L.	45
<b>Figura 4</b> Genotoxicidad de Dexametasona al 0.1% en Bioensayos de <i>Vicia faba</i> L.....	46
<b>Figura 5</b> Efectos Genotóxico de la Dexametasona al 0.1% en parámetros como: Puentes Anafasicos, Micronúcleos y Células Binucleadas .....	48
<b>Figura 6</b> Índice Mitótico en Células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> L.....	50
<b>Figura 7</b> Test de Duncan aplicada para el Índice Mitótico para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos.....	55
<b>Figura 8</b> Índice Profasico de células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> L.....	56
<b>Figura 9</b> Test de Duncan aplicada para el Índice Profasico para identificar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos.....	59
<b>Figura 10</b> Índice Metafasico de células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> L. ....	60
<b>Figura 11</b> Test de Duncan aplicada para el Índice Metafasico para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos.....	64
<b>Figura 12</b> Índice Anafasico de células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> L. ....	65
<b>Figura 13</b> Test de Duncan aplicado para el Índice Anafasico para indicar diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos.....	69
<b>Figura 14</b> Índice Telofasico de células meristemáticas de <i>Vicia faba</i> L. ....	70
<b>Figura 15</b> Test de Duncan para el Índice Telofasico para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos .....	74
<b>Figura 16</b> Efecto citoprotector del extracto alcohólico al 70° de <i>Annona muricata</i> L. seco al 20% frente al daño inducido por Dexametasona en fases del ciclo celular .....	75
<b>Figura 17</b> Comparación de Índice Mitótico y de fases de los 8 tratamientos .....	76
<b>Figura 18</b> Índice de Puentes Anafasicos en meristemas radiculares de <i>Vicia faba</i> L. en división celular .....	78
<b>Figura 19</b> Test de Duncan para el Índice de Puentes Anafasicos para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos.....	81

<b>Figura 20</b> <i>Frecuencia de Micronúcleos presentes en todos los tratamientos en división de células meristemáticas de Vicia faba L.</i> .....	83
<b>Figura 21</b> <i>Test de Duncan para la Frecuencia de Micronúcleos para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos</i> .....	86
<b>Figura 22</b> <i>Frecuencia de Células Binucleadas presentes en todos los tratamientos en división de células meristemáticas de Vicia faba L</i> .....	87
<b>Figura 23</b> <i>Test de Duncan para la Frecuencia de Células Binucleadas para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos</i> .....	90
<b>Figura 24</b> <i>Efecto citoprotector del extracto alcohólico al 70° de hojas de Annona muricata L seco al 20% frente al daño genotóxico inducido por dexametasona en parámetros como: Puentes Anfisicos, Mirconucleos y Celulas Binucleadas</i> .....	91

## INDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1:</b> Árbol de <i>Annona muricata L.</i> (Guanábana), recolección de sus hojas .....	107
<b>ANEXO 2:</b> Punto de Geolocalización del punto de recolección de hojas de <i>Annona muricata L.</i> .....	108
<b>ANEXO 3:</b> Procedimiento de extracción mediante la técnica de maceración .....	109
<b>ANEXO 4:</b> Procedimiento de preparación del reactivo orceína acética al 2% .....	110
<b>ANEXO 5:</b> Procedimiento de germinación y elongación radicular de <i>Vicia faba L.</i> y exposición en los diferentes tratamientos.....	111
<b>ANEXO 6:</b> Procedimiento de tinción de las raicillas mediante la técnica de Tjio y Levans, y observación. ....	112
<b>ANEXO 7:</b> Promedio de las tres repeticiones y promedio general de los 8 tratamientos en los diferentes índices y frecuencias. ....	113
<b>ANEXO 8:</b> Tablas de análisis de varianza de los diferentes índices y frecuencias de los 8 tratamientos.....	116
<b>ANEXO 9:</b> Carta de información sobre permiso de recolección de <i>Annona muricata L.</i> emitido por el SERFOR. ....	121
<b>ANEXO 10:</b> Certificado de identificación de la especie <i>Annona muricata L.</i> por parte del Herbario VARGAS-CUZ.....	122
<b>ANEXO 11:</b> Resultados de la marcha fitoquímica del extracto alcohólico a 70° de hojas al 20% de <i>Annona muricata L.</i> por parte del laboratorio de cromatografía y espectrometría de la facultada de Ciencias de la UNSAAC.....	123

## RESUMEN

La dexametasona es un glucocorticoide sintético ampliamente utilizado en medicina por sus potentes propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras. Sin embargo, diversos estudios han evidenciado su capacidad de inducir daño citotóxico y genotóxico a nivel celular, generando preocupación respecto a su uso prolongado. Frente a ello, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto citoprotector del extracto alcohólico a 70° de hojas secas de *Annona muricata* L. al 20%, frente a la toxicidad inducida por dexametasona en bioensayos con *Vicia faba* L., planta reconocida por su utilidad en ensayos de citotoxicidad y genotoxicidad debido a la sensibilidad de sus meristemas radiculares.

Se diseñaron ocho tratamientos: T1 (control negativo – agua destilada), T2 (control positivo – dexametasona al 0.1%), T3 a T5 (extracto de *A. muricata* al 0.25%, 0.5% y 1%), y T6 a T8 (las mismas concentraciones del extracto combinadas con dexametasona al 0.1%). La evaluación se basó en el índice mitótico (IM), los índices de fases mitóticas (profásico, metafásico, anafásico, telofásico), la frecuencia de micronúcleos (FMN), la frecuencia de células binucleadas (FBN) y el índice de puentes anafásicos (IPA). Se aplicaron análisis estadísticos mediante ANOVA y prueba de Duncan para la comparación de medias.

Los resultados mostraron que la dexametasona al 0.1% redujo significativamente el índice mitótico (11.57%) frente al control (24.62%), incrementó la frecuencia de puentes anafásicos (27.03%) y elevó la presencia de micronúcleos y células binucleadas, situándose en un nivel de toxicidad moderado. Por otro lado, el extracto de *A. muricata* en las concentraciones evaluadas no evidenció genotoxicidad significativa, y las concentraciones de 0.25% y 0.5% incluso mostraron niveles de citotoxicidad mínimos.

En los tratamientos combinados (T6, T7 y T8), se observó un aumento en el IM respecto al tratamiento con dexametasona sola, alcanzando valores cercanos al control, como en T7 (21.99%), lo que indica un efecto protector. Asimismo, las frecuencias de micronúcleos y células binucleadas disminuyeron hasta niveles mínimos o nulos en comparación con el tratamiento con dexametasona sola, demostrando el efecto citoprotector del extracto vegetal.

En conclusión, se comprobó que el extracto alcohólico de hojas secas de *Annona muricata* L. presenta un efecto citoprotector significativo frente al daño inducido por dexametasona al 0.1% en *Vicia faba* L., sin presentar por sí mismo genotoxicidad relevante. Estos hallazgos respaldan su potencial uso como agente terapéutico complementario o preventivo frente a la toxicidad celular inducida por medicamentos glucocorticoides, abriendo nuevas posibilidades para el desarrollo de alternativas naturales seguras en el campo de la toxicología experimental y la farmacología vegetal.

**Palabras clave:** *Annona muricata* L., dexametasona, citoprotección, genotoxicidad, *Vicia faba*, bioensayo, índice mitótico, micronúcleos, acetogeninas.

## INTRODUCCION

En la medicina contemporánea, los glucocorticoides como la dexametasona constituyen una de las clases de medicamentos más utilizadas debido a sus potentes efectos antiinflamatorios, inmunosupresores y antialérgicos. Sin embargo, en las últimas décadas, el uso indiscriminado y muchas veces prolongado de estos fármacos ha generado una creciente preocupación en la comunidad científica y médica por los efectos adversos asociados a su consumo, entre los que destacan la inmunosupresión, osteoporosis, hipertensión, hiperglucemia, así como daño celular y genético (Damin & Dadic, 2021; Repetto Jiménez, 2018). Esta situación se ha agravado recientemente debido a su empleo masivo durante la pandemia de COVID-19, donde su administración sin control médico adecuado evidenció consecuencias clínicas importantes.

Desde la perspectiva celular, la toxicidad inducida por glucocorticoides como la dexametasona se ha relacionado con la teoría del estrés oxidativo, la cual sostiene que estos compuestos favorecen la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) que superan la capacidad antioxidante del organismo, generando peroxidación lipídica, daño al ADN, disfunción mitocondrial y muerte celular programada (apoptosis) (Zhao et al., 2016). Este desequilibrio redox puede comprometer la integridad de las células en rápida división, especialmente las meristemáticas, lo que convierte a modelos como *Vicia faba* L. en herramientas sensibles y eficaces para evaluar este tipo de daño.

Frente a este panorama, surge la teoría citoprotectora basada en la capacidad de los compuestos naturales, especialmente los metabolitos secundarios presentes en las plantas, para contrarrestar el estrés oxidativo mediante la neutralización de radicales libres, la activación de enzimas antioxidantes y la protección de las estructuras celulares (Giannuzzi, 2018). En este contexto, diversas investigaciones han reportado que el extracto de *Annona muricata* L. posee

compuestos bioactivos como acetogeninas, flavonoides, alcaloides, saponinas y compuestos fenólicos que le confieren propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiproliferativas y antitumorales (Moghadamtousi et al., 2015; Adewole & Ojewole, 2009).

Además, el uso de *Annona muricata L.* en la medicina tradicional está ampliamente documentado, siendo empleada en el tratamiento de dolencias como infecciones, inflamaciones, hipertensión, diabetes y como coadyuvante en terapias contra el cáncer (Gavamukulya et al., 2014). Estudios fitoquímicos recientes han confirmado la presencia de metabolitos que respaldan sus aplicaciones ancestrales, posicionando a esta planta como una candidata potencial para la investigación de sus efectos protectores frente a agentes tóxicos.

En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto citoprotector del extracto alcohólico de *Annona muricata L.* frente a la toxicidad inducida por dexametasona en bioensayos con *Vicia faba L.*, mediante el análisis de indicadores de citotoxicidad y genotoxicidad como el índice mitótico, frecuencia de micronúcleos, puentes anafásicos y células binucleadas. Este estudio pretende contribuir al desarrollo de alternativas naturales que puedan mitigar los daños celulares generados por fármacos de uso clínico frecuente, promoviendo el uso responsable de productos fitoterapéuticos con respaldo científico.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de glucocorticoides como la dexametasona, aunque clínicamente eficaz, continúa generando preocupación debido a sus efectos adversos a nivel celular, especialmente cuando su administración no es debidamente controlada. Una de las principales complicaciones asociadas es el daño oxidativo, que puede afectar procesos fundamentales como la división celular y la integridad genética.

Actualmente, existe un creciente interés por identificar agentes naturales capaces de contrarrestar estos efectos adversos. Dentro de este enfoque, *Annona muricata L.* ha sido reconocida por su potencial farmacológico, atribuible a la presencia de metabolitos secundarios con propiedades antioxidantes y citoprotectoras. Aunque investigaciones internacionales han reportado beneficios relevantes de esta planta, en el ámbito local y regional no se dispone de estudios suficientes que evalúen de manera sistemática su capacidad para proteger las células frente al daño inducido por fármacos como la dexametasona.

Particularmente, en el contexto peruano y en la región andina, la validación científica del uso tradicional de *Annona muricata L.* es limitada y poco documentada en cuanto a su efecto citoprotector en modelos celulares experimentales. Este vacío dificulta la incorporación de evidencia regional sobre su eficacia, lo que reduce las posibilidades de aprovechar sus propiedades de manera segura y respaldada científicamente.

Asimismo, son escasos los estudios que utilicen modelos sensibles como *Vicia faba L.* para evaluar el posible efecto protector de extractos vegetales frente a la toxicidad inducida por glucocorticoides. Este modelo, ampliamente reconocido por su eficacia para evidenciar

alteraciones cromosómicas y mitóticas, representa una oportunidad importante para generar datos relevantes y aplicables a nuestro contexto.

Frente a esta falta de información local y regional, surge la necesidad de realizar investigaciones que aporten evidencia directa sobre el potencial efecto citoprotector del extracto alcohólico de *Annona muricata L.* frente al daño celular inducido por la dexametasona, contribuyendo así al conocimiento científico y a la revalorización de la medicina tradicional con base experimental sólida.

Se plantea el siguiente problema objeto de investigación (POI)

¿El extracto alcohólico de *Annona muricata L.* tendrá efecto citoprotector frente a la toxicidad inducida con dexametasona en bioensayos con *Vicia faba L.*?

Se plantea como interrogantes complementarias:

¿Cuál es el efecto citotóxico y genotóxico de la dexametasona en bioensayos con *Vicia faba L.*?

¿Cuáles son las características fitoquímicas que presentan el extracto alcohólico a 70° de hojas de *Annona muricata L.* seco al 20%?

## JUSTIFICACIÓN

El uso frecuente de glucocorticoides como la dexametasona continúa generando preocupación debido a sus efectos secundarios a nivel celular y tisular, especialmente por su capacidad de inducir toxicidad y daño genético en condiciones de administración prolongada o inadecuada. Esta problemática, cada vez más evidente a nivel clínico y social, resalta la necesidad de identificar alternativas complementarias que puedan proteger las células frente a estos efectos adversos.

El presente estudio es relevante porque aborda un vacío de investigación en el ámbito local y regional sobre el efecto citoprotector del extracto alcohólico de hojas de *Annona muricata* L. frente a la toxicidad inducida por dexametasona. A pesar del conocimiento tradicional sobre los beneficios de esta planta, especialmente en las comunidades peruanas y andinas, no existen estudios experimentales locales que validen su capacidad protectora a nivel celular frente al estrés oxidativo generado por glucocorticoides.

Desde el punto de vista biológico, este trabajo aporta al campo de la biología celular, ya que permitirá evaluar los efectos de un agente natural sobre parámetros fundamentales como el índice mitótico y la estabilidad cromosómica en células en división. Estos datos contribuirán a comprender los posibles mecanismos de acción del extracto sobre el ciclo celular y la reparación del daño genético, lo que resulta esencial para ampliar el conocimiento sobre las interacciones entre compuestos bioactivos y procesos celulares básicos.

En el campo de la **farmacología**, el estudio proporcionará información relevante sobre el potencial uso fitoterapéutico del extracto de *Annona muricata* L. como coadyuvante en tratamientos que involucran glucocorticoides, aportando a la búsqueda de agentes naturales

que puedan reducir la citotoxicidad sin interferir con los efectos terapéuticos de estos medicamentos. Además, los resultados pueden servir como base para futuras investigaciones preclínicas sobre la seguridad y eficacia de extractos vegetales en combinación con fármacos sintéticos.

En el ámbito de la toxicología experimental, esta investigación contribuirá al desarrollo de modelos alternativos de evaluación de citotoxicidad y genotoxicidad mediante bioensayos en *Vicia faba* L., una herramienta reconocida por su sensibilidad y fiabilidad para estudiar alteraciones mitóticas y genéticas. La aplicación de este modelo en el contexto de productos naturales permitirá obtener resultados extrapolables a otros sistemas biológicos y reforzar el uso de metodologías accesibles y efectivas para la evaluación toxicológica.

Desde una perspectiva social y aplicada, este estudio permitirá revalorizar el conocimiento tradicional, fomentar la fitoterapia basada en evidencia científica y promover el uso responsable de los recursos vegetales locales como alternativas accesibles y sostenibles para la protección de la salud

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto citoprotector del extracto alcohólico a 70° de hojas de *Annona muricata L.* al 20%, frente a la toxicidad inducida con dexametasona en bioensayos con *Vicia faba L.*

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las características fitoquímicas del extracto alcohólico a 70° de hojas de *Annona muricata L.* seco al 20%
- Evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de la dexametasona a concentración de 0.1% mediante bioensayos de *Vicia faba L.*
- Evaluar el efecto citoprotector mediante los índices de citotoxicidad y genotoxicidad sobre las diferentes concentraciones (0.25, 0.5 y 1%) del extracto alcohólico a 70° de hojas de *Annona muricata L.* al 20% frente al daño inducido por dexametasona.

## **HIPÓTESIS**

El extracto alcohólico de 70° de hojas secas de *Annona muricata L.* peso seco al 20% tiene efecto citoprotector frente a la toxicidad inducida por dexametasona 0.1% en bioensayos con *Vicia faba L.*

## VARIABLES

### Variables Dependientes (Dep)

- Efecto citotóxico
- Efecto genotóxico
- Efecto citoprotector

### Variables Independientes (Ind)

- Dexametasona (0.1%)
- Extracto alcohólico de *Annona muricata L.* (0.25, 0.5 & 1%)

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

**Tabla 1**

*Operacionalización de Variables*

<b>Variables</b>	<b>Tipo</b>	<b>Definición</b>	<b>Indicador</b>
<b>EAAM</b>	Ind.	será extraído mediante el método de maceracion.	Concentración (0.25, 0.5 & 1%)
<b>Dexametasona</b>	Ind.	Es un medicamento glucocorticoideo. Se utiliza en medicina para tratar una variedad de condiciones médicas debido a sus propiedades antiinflamatorias, inmunosupresoras y otras propiedades farmacológicas. (PUBCHEM. 2024)	Concentración (0.1%)
<b>Efecto citoprotector</b>	Dep.	se refiere a la capacidad de una sustancia para proteger las células de daños causados por agentes nocivos, como radicales libres, toxinas o estrés oxidativo, ayudando a mantener su viabilidad y funcionalidad. (Repetto, 2009)	Los índices Mitóticos y de Fases, y Frecuencia de Micronúcleos y Células binucleadas e índice de puentes Anafasicos
<b>Citotoxicidad</b>	Dep.	Es un concepto clave en toxicología, farmacología y biología celular, utilizado para evaluar los efectos nocivos de compuestos químicos, fármacos, extractos naturales o agentes biológicos en células vivas. (Giannuzzi, L. 2018)	Lo ensayos citológicos (Indice Mitotico y de fases)
<b>Genotoxicidad</b>	Dep.	Se refiere al potencial de una sustancia para dañar el material genético (ADN) de las células, lo que puede llevar a mutaciones, cáncer o muerte celular. (Damin & Dadic; 2021)	Frecuencia de Micronucleos y células binucleadas y ensayo de puentes Anafasicos

Nota: Independiente (Ind), Dependiente (Dep), Extracto alcohólico a 70° de hojas de *Annona muricata* L.al 20%(EAAM) y dexametasona (DEX)

## I. MARCO TEORICO

### 1.1. Antecedentes de Investigación

#### 1.1.1 Antecedentes Internacionales:

Nik Mat Daud, NNN, Ya'akob, H., y Mohamad Rosdi, MN en el 2016, investigaron en la Universidad tecnológica de Malaysia sobre *Annona muricata L.* utilizando técnicas de análisis espectral, incluyendo HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia), NMR (resonancia magnética nuclear) y FT-IR (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier), para identificar los compuestos bioactivos presentes en el extracto de guanábana. realizaron un estudio de citotoxicidad para evaluar los efectos del extracto en líneas celulares normales y cancerosa, Los resultados del análisis fitoquímico revelaron la presencia de compuestos como alcaloides, terpenoides, flavonoides, cumarinas y acetogeninas annonáceas, que son conocidos por sus propiedades antioxidantes y anticancerígenas. El estudio de citotoxicidad mostró que el extracto de guanábana tiene efectos significativos en la inhibición del crecimiento celular en líneas cancerosas, indicando su potencial terapéutico, indican que *Annona muricata L.* es una fuente prometedora de compuestos bioactivos que pueden tener aplicaciones en la medicina, especialmente en el tratamiento de enfermedades como el cáncer.

Vera et al., en el 2010, investigaron el potencial medicinal de la planta *Lippia alba* (Mill.) reconocida por su variedad de propiedades terapéuticas como: antiespasmódicas, carminativas, digestivas, diuréticas, expectorantes, laxantes, sedantes, somníferas, sudoríficas, etc. El objetivo fue evaluar el efecto protector del aceite esencial de los tallos y hojas frescas de *L. alba* que fue extraído de estos, frente a la toxicidad del mercurocromo en las raíces de *Allium cepa* (cebolla). a concentraciones de 10, 250 y 500  $\mu\text{M}$  observando efectos tóxicos en las células meristemáticas de

*A. cepa*. Sin embargo, cuando se aplicó el aceite esencial a una concentración de 100  $\mu$ M, se evidenció un efecto protector, con baja cantidad de aberraciones cromosómicas, así como en el incremento de longitud y peso de las raíces expuestas a mercurocromo en concentraciones de 10 y 500  $\mu$ M. Los resultados indicaron que el aceite esencial de *L. alba* tuvo un efecto protector al reducir los cambios morfológicos y cromosómicos.

### **1.1.2 Antecedentes Nacionales:**

Araujo en el 2012 en la Universidad de Trujillo evaluó el efecto protector del extracto etanolico a 70° al 20% de hojas de *Annona muricata*. en diversas concentraciones frente al daño citotóxico y genotóxico causado por el sorbato de potasio. que es un conservante alimenticio, en concentraciones de 100mg, 200mg y:400mg del extracto como agente protector frente a 1g/L del Sorbato de Potasio, se realizó en células meristemáticas de *Allium cepa*, los resultados muestran que a 200mg de presento una disminución del índice mitótico 9.27% y mayor incremento en el índice profasico 78.75% y formaciones de puentes anafasicos, observaron que a 100mg de *Annona muricata L.* tiene efecto protector.

Auccatoma en el 2019 evaluó en la Universidad Nacional de Huamanga, el Efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata L* frente a lesiones gástricas inducidas por indometacina en cobayos, se confirmó la presencia de metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, cumarinas, saponinas, alcaloides, azúcares reductores, catequinas y quinonas mediante tamizaje fitoquímico, administro dosis de 20, 40 y 80 mg/kg del extracto, y omeprazol 10 mg/kg , Los resultados demostraron que a dosis de 40 y 80 mg/kg se logró una inhibición significativa de la formación de úlceras (71,43 % y 85,71 % respectivamente) con  $p = 0,001$ , mientras que el omeprazol alcanzó una inhibición del 76,19 %. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de *A. muricata L.* es efectivo como agente citoprotector.

Beltrán & Beltrán en el 2016, evaluaron en la Universidad de Trujillo el efecto del extracto alcohólico de *Annona cherimola* ("chirimoya") de la pulpa de la fruta, en bioensayos de *Vicia faba* L. expuesto a diferentes concentraciones: 0.1%, 90.3% y 0.5%, de tartrazina y extracto alcohólico de *Annona cherimola* al 5% se observó un índice mitótico (IM) de  $19,2 \pm 2,0$  en las células tratadas con el extracto, lo que indicó una regulación significativa del ciclo celular alterado previamente por la tartrazina. Estos resultados sugieren que el extracto de chirimoya podría tener componentes que coadyuban en los mecanismos de recuperación celular.

Cumpa & Zavala en el 2018 evaluaron en Trujillo el efecto citotóxico del extracto alcohólico de hojas de *Erythroxylum coca* mediante el bioensayo de *Allium cepa* mediante su índice mitótico de sus meristemas radiculares, establecieron seis sistemas de prueba, dos para su control sin extracto y cuatro con diferentes concentraciones de extracto etanólico: 10 µg/ml, 100 µg /ml durante 12 horas y 100 µg /ml durante 24 horas. Los resultados observados fueron que no se evidenciaron diferencias significativas en el índice mitótico entre las diferentes concentraciones de extracto etanólico de *E. coca* y el grupo de control. Por lo tanto, se concluye que las concentraciones de 10 µg /ml, 100 µg /ml durante 12 horas y 100 µg /ml durante 24 horas de extracto etanólico de *E. coca* no producen efectos citotóxicos en las líneas celulares de *A. cepa*.

Gonzales et al., en el 2020 investigaron en Trujillo y Chachapoyas el efecto citotóxico y genotóxico de la dexametasona e ibuprofeno en bioensayos de *Allium cepa*, tomaron 30 raicillas entre 2 a 3 cm y se dividieron en tres grupos: tratamiento 1: control (agua destilada), Tratamiento 2 (dexametasona 0,1%) y Tratamiento 3 (ibuprofeno 0,1%) Después de 14 horas se realizaron pruebas de coloración para evaluar los efectos, Se encontró que las raicillas tratadas con dexametasona presentaron aberraciones cromosómicas, mientras que las tratadas con ibuprofeno

mostraron daños cromosómicos y sin aberraciones. Se concluye que el ibuprofeno y dexametasona a una dosis de 0,1% tuvieron un efecto citotóxico y genotóxico en las radículas de cebolla.

Gonzales et al., 2021 evaluaron en Trujillo el efecto reparador de un extracto proteico y vitamínico (tónico INTI) en *Allium cepa L.* que había sufrido daño cromosómico por la exposición a penicilina benzatínica. Los resultados del estudio demostraron que las raíces de *A. cepa L.* que habían sido tratadas con penicilina benzatínica 1% presentaban trastornos cromosómicos tales como fragmentaciones, puentes, otros trastornos y sin trastornos, mientras que el grupo tratado con penicilina benzatínica 1% y el extracto demostró una reducción proporcional en las aberraciones cromosómicas, incluyendo puentes, fragmentaciones, otros trastornos y sin trastornos. El extracto utilizado en el estudio demostró tener un efecto reparador significativo a una dosis de 10 mL, lo que indica que puede ser beneficioso en la reparación de daños cromosómicos.

Guevara en el 2015 en la Universidad Nacional de Trujillo Evaluó el efecto reparador del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en meristemos de *Vicia faba L.* mediante el índice mitótico, se expuso el colorante tartrazina a 0.1%, 0.3% y 0.5%, se observó que el testigo positivo con tartrazina al 0.5% induce un IM de 36.8%, con el agente reparador se generó un IM de 19.4%, por lo cual los demás grupos experimentales presentaron un IM de 21.0%, 25.2% y 31.2%, respectivamente, lo cual se observó el efecto reparador del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en su IM en bioensayo de *Vicia faba* inducido a tartrazina, todo esto concluye que es posible la presencia de compuestos en el extracto que podrían estar involucrados en la reparación de determinados procesos celulares.

### ***1.1.3 Antecedentes Locales:***

No se encontraron investigaciones relacionadas a este tema

## **GENERALIDADES**

### **1.2 Base Teórica**

#### ***1.2.1 Dexametasona***

Los glucocorticoides son medicamentos esenciales con propiedades antiinflamatorias y descongestionantes (Manson, et.al, 2009)

Para la década de 1960, los rápidos progresos en la síntesis química de glucocorticoides llevaron inicialmente a la producción de cortisona sintética, seguidos de hidrocortisona, fluorhidrocortisona, prednisona, prednisolona, triamcinolona, metilprednisolona y, finalmente, Dexametasona, siendo esta última reconocida como el glucocorticoide más potente (Black & Grodzinsky, 2019).

los corticosteroides se han utilizado en una variedad de enfermedades, como: autoinmunes, reacciones alérgicas y cáncer, con el objetivo de mejorar el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes (Pinheiro; 2023). La importancia de los corticosteroides orales (glucocorticoides y mineralocorticoides) se evidencia por su amplia aplicación; por ejemplo, aproximadamente el 0,9% de todos los adultos han usado corticosteroides orales. Desafortunadamente, la terapia con glucocorticoides provoca efectos secundarios sistémicos graves, especialmente cuando se usa de forma crónica o en dosis altas, lo que reduce significativamente la esperanza y calidad de vida, además de aumentar los costos de atención médica. Los efectos adversos incluyen una mayor sensibilidad al ácido gástrico, depresión de las glándulas suprarrenales, inmunosupresión, hipertensión, trastornos psicológicos, síndrome de Cushing exógeno con piel fina y frágil, osteoporosis, atrofia muscular, aumento de peso y diabetes inducida por esteroides (Bordag, et al, 2015).

**1.2.1.1 Nombre de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, por sus siglas en inglés: International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)**

(8*S*, 9*R*, 10*S*, 11*S*, 13*S*, 14*S*, 16*R*, 17*R*)-9-fluoro-11,17-dihidroxi-17-(2-hidroxiacetil)-10,13,16-trimetil-6,7,8,11,12,14,15,16-octahidrociclopenta[*a*]fenantren-3-ona (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2024).

**1.2.1.2 Farmacodinamica y Bioquímica**

Los corticosteroides se unen al receptor de glucocorticoides, bloqueando las señales inflamatorias y favoreciendo las señales que reducen la inflamación. son un grupo de sustancias que afectan el metabolismo de los carbohidratos, influyendo en procesos como la gluconeogénesis, el depósito de glucógeno hepático y elevando los niveles de azúcar en la sangre. Además, inhiben la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y poseen una notable acción antiinflamatoria. también juegan un papel en el metabolismo de las grasas y las proteínas, mantienen la presión arterial, alteran la respuesta del tejido conectivo a las lesiones, reducen el número de linfocitos circulantes y afectan el funcionamiento del sistema nervioso central. (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2024).

La duración de la acción de la dexametasona varía según la vía de administración, este medicamento tiene un amplio rango de dosificación terapéutica, ya que los pacientes pueden necesitar dosis que superan lo que el cuerpo produce naturalmente (Johnson, López & Kelley, 2023).

**1.2.1.3 Mecanismo de Acción**

La dexametasona imita la acción de las hormonas corticosteroides producidas de manera natural por las glándulas suprarrenales en el cuerpo, que influye en el eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal este eje regula muchas funciones del cuerpo, generando varios efectos. En

comparación con otros esteroides exógenos como la hidrocortisona, la dexametasona es relativamente potente lo que significa que se necesita una dosis más baja para obtener los mismos efectos antiinflamatorios y tiene una acción prolongada, con una actividad mineralocorticoide mínima lo que indica que este medicamento tiene poca actividad en el balance de fluidos y sales a diferencia de otros esteroides. Los efectos secundarios de la dexametasona son similares a los de otros corticosteroides y se presentan con mayor frecuencia con el uso prolongado y en dosis más altas (Ferreira, 2015).

A corto plazo, los corticosteroides reducen la permeabilidad y la dilatación de los capilares, así como la migración de leucocitos hacia los sitios inflamados lo que indica la reducción de hinchazón y enrojecimiento asociados a la inflamación. La unión de estos compuestos al receptor de glucocorticoides provoca cambios en la expresión de genes al inactivar o activa lo que lleva efectos a lo largo de horas o días. Los corticosteroides actúan en la separación de neutrófilos e inhiben la apoptosis, así como la actividad de la fosfolipasa A2 enzima responsable de iniciar la producción de sustancias antiinflamatorias derivadas del ácido araquidónico como prostaglandinas y los leucotrienos que contribuyen en la inflamación, además, inhiben factores de transcripción inflamatorios como NF-Kappa B y estimula a genes antiinflamatorios como la interleucina-10 aumentando la producción. En dosis bajas, los corticosteroides tienen efectos antiinflamatorios, mientras que en dosis altas actúan como inmunosupresores. El uso prolongado de dosis altas puede llevar a la unión de los corticosteroides al receptor de mineralocorticoides, provocando elevación de los niveles de sodio y reducción de los niveles de potasio (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2024)

Los glucocorticoides pueden suprimir la inflamación mediante diversas rutas. Se unen a proteínas receptoras específicas dentro de las células de los tejidos objetivo, modificando la

expresión de genes que responden a estos corticosteroides. En el citoplasma, los receptores de glucocorticoides se combinan con esteroides para formar complejos hormonales que se trasladan al núcleo celular. Una vez allí, estos complejos se adhieren a secuencias de ADN específicas y modifican su expresión. Esto puede inducir la transcripción de ARNm, lo que lleva a la producción de nuevas proteínas, como la lipocortina, que inhibe la enzima PLA2 y, por consiguiente, bloquea la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y el factor activador de plaquetas (PAF).

Los corticosteroides atraviesan las membranas celulares y se unen a receptores en el citoplasma, formando complejos que se trasladan al núcleo, donde activan la transcripción de ARN mensajero (ARNm). Esto conduce a la producción de enzimas que inhiben la inflamación. Sus efectos antiinflamatorios tópicos incluyen la supresión del edema, la acumulación de fibrina, la dilatación capilar, la migración y actividad de los fagocitos, así como la inhibición de la formación de nuevos vasos sanguíneos, la deposición de colágeno y la formación de queloides. En general, las acciones de los corticosteroides tópicos son catabólicas. (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2024).

#### **1.2.1.4 Usos clínicos**

la dexametasona tiene una gran variedad de usos, está indicada para el tratamiento de diversas afecciones médicas. En alergias graves, se utiliza para manejar urticaria, urticaria postransfusional, edema laríngeo y rinitis alérgica. También es efectiva en enfermedades respiratorias como asma y neumonía. En dermatopatías, trata pénfigo, dermatitis seborreica y exfoliativa, psoriasis grave, dermatitis de contacto, eritema multiforme y el Síndrome de Stevens-Johnson. Además, es utilizada en enfermedades reumatológicas, incluyendo dermatomiositis sistémica, polimiositis, lupus eritematoso sistémico, arteritis temporal, artritis juvenil, osteoartritis y artritis psoriásica. En el ámbito gastrointestinal, En hematopatías, se indica para anemia

hemolítica, eritroblastopenia y anemia congénita hipoplásica, y en nefropatías para el síndrome nefrótico y proteinuria. También es utilizada como tratamiento auxiliar en infecciones pulmonares como la tuberculosis infecciosa y para manejar la hipercalcemia secundaria a tratamientos oncológicos. La dexametasona se aplica en el tratamiento de leucemias, especialmente la leucemia linfocítica aguda, y en oftalmopatías, para conjuntivitis alérgica, herpes zóster oftálmico, iritis, queratitis y uveítis (Ferreira, 2015), además en endocrinología en el diagnóstico del síndrome de Cushing y para tratar náuseas y vómitos, también se recomendó el uso para pacientes con Covid-19 en estado grave (Johnson, Lopez & Kelley, 2023; Tortosa, Balaciano, Carrasco, Cháves, García, Montero & Sanguine; 2020).

#### **1.2.1.5 Efectos secundarios y contraindicaciones**

Los corticoides sistémicos son medicamentos muy efectivos tanto para reducir la inflamación como para suprimir la respuesta inmune. La mayoría de las investigaciones que analizaron los factores asociados con la frecuencia de efectos adversos relacionados con los corticosteroides encontraron que la dosis, la edad, el género, la duración del tratamiento, el historial previo de tratamientos, el hábito de fumar y los niveles de colesterol son determinantes clave del riesgo (Manson, Brown, Cerulli, & Vidaurre, 2009)

Durante su administración, es crucial realizar un seguimiento regular de varios parámetros de salud, incluyendo los niveles de glucosa en sangre, el perfil lipídico, electrolitos, peso corporal, presión arterial, temperatura corporal, la vista y la densidad ósea. Los efectos secundarios de estos medicamentos tienden a incrementarse con dosis más elevadas, tratamientos más largos y administraciones más frecuentes. Después de un uso prolongado, la interrupción de los corticoides debe hacerse de manera gradual para evitar la insuficiencia suprarrenal (Botargues, Enz & Musso, 2011).

La terapia con glucocorticoides puede ocasionar efectos secundarios sistémicos graves, especialmente cuando se administra crónicamente o en dosis elevadas. Estos efectos secundarios pueden tener un impacto significativo en la calidad de vida, la esperanza de vida y los costos de atención médica. Entre los efectos adversos se incluyen desde aumento de la sensibilidad al ácido estomacal hasta depresión de las glándulas suprarrenales, inmunosupresión, hipertensión, trastornos psicológicos, síndrome de Cushing exógeno con piel delgada y frágil, osteoporosis, atrofia muscular, aumento de peso y diabetes inducida por esteroides (Bordag, N., Klie, S., Jürch et al., 2015)

Los corticosteroides, aunque ampliamente utilizados en medicina, son una “espada de doble filo”: pueden ser altamente beneficiosos si se usan correctamente, pero también provocar efectos adversos graves si se administran en dosis inadecuadas o durante períodos prolongados (Yasir, Goyal & Sonthalia, 2023).

#### **1.2.1.6. Toxicidad**

Diversos estudios que emplean condrocitos humanos saludables han demostrado que incluso dosis bajas de Dexametasona pueden causar muerte celular y disminuir la proliferación celular, lo que indica posibles efectos secundarios citotóxicos y catabólicos. No obstante, los efectos observados de Dexametasona varían considerablemente según la dosis, el modelo utilizado, la duración del tratamiento y el contexto (Black & Grodzinsky, 2019)

#### ***1.2.2 Toxicología***

la toxicología se define como la ciencia que estudia los efectos adversos de sustancias químicas, agentes biológicos y factores físicos en los organismos vivos. Esta disciplina se centra en comprender cómo estos agentes pueden provocar daños en la salud y el ambiente, así como en

establecer métodos para prevenir, diagnosticar y tratar intoxicaciones. La toxicología aborda aspectos como la naturaleza de los tóxicos, los mecanismos de acción, la evaluación de riesgos y la regulación de sustancias peligrosas (Repetto y Repetto; 2009), se define como la ciencia que estudia los efectos nocivos de los agentes químicos en los organismos vivos, analizando tanto los mecanismos de acción como las consecuencias de la exposición a estos agentes. Esta disciplina aborda la evaluación del riesgo tóxico, la identificación de sustancias peligrosas y el desarrollo de estrategias para prevenir y tratar intoxicaciones (Giannuzzi; 2018)

### **1.2.2.1 citotoxicidad**

Se refiere al daño que pueden causar ciertos agentes químicos o físicos a las células, llevando a la muerte celular o a alteraciones en su funcionamiento. Esta puede manifestarse a través de diferentes mecanismos, como la inhibición de la síntesis de proteínas, la inducción de estrés oxidativo, o la perturbación de las membranas celulares, lo que puede resultar en la apoptosis celular (Repetto y Repetto; 2009).

La citotoxicidad se evalúa mediante diferentes parámetros que miden la viabilidad celular, la proliferación, la morfología celular, y el estrés oxidativo, entre otros. Esta evaluación es fundamental para comprender cómo las sustancias tóxicas pueden afectar la salud celular y contribuir a efectos adversos en el organismo (Damin & Dadic; 2021).

### **1.2.2.2 Genotoxicidad**

Es la capacidad que tiene una sustancia química para dañar el material genético (ADN) de las células, lo que puede resultar en mutaciones, inestabilidad cromosómica y, potencialmente, en el desarrollo de cáncer. La genotoxicidad puede manifestarse a través de diversas formas de daño al ADN, incluidas roturas de hebra simple o doble, adición de grupos químicos al ADN, y errores en la replicación del material genético, la evaluación de la genotoxicidad es fundamental en la

toxicología, ya que el daño al ADN puede tener repercusiones a largo plazo en la salud de los organismos y en la transmisión de efectos adversos a las generaciones futuras (Giannuzzi; 2018).

La genotoxicidad se calcula mediante 2 técnicas:

- **Micronúcleos:** se definen como estructuras nucleares adicionales que se forman en el citoplasma de las células durante la división celular. Estas estructuras son el resultado de fragmentos de cromosomas o cromosomas enteros que no se incorporan correctamente al núcleo principal durante la mitosis o la meiosis. La presencia de micronúcleos es un indicador de daño genético y puede estar asociada con diversos factores, incluidos agentes químicos, radiación y condiciones patológicas, son utilizados como biomarcadores en estudios de genotoxicidad, ya que su formación sugiere que ha habido un daño en el ADN, lo que puede aumentar el riesgo de desarrollo de cáncer y otras enfermedades relacionadas con la inestabilidad genética (Damin & Dadic; 2021).

Mediante la tabla 2 se podrá clasificar el nivel de toxicidad del fármaco estudiado.

**Tabla 2**

*Niveles de Toxicidad para la frecuencia de Micronúcleos, expresado en porcentaje (FMN%)*

FMN (%)	Nivel de Toxicidad	Descripción	Referencia
< 0.5%	mínima o nula	Valores normales observados en controles negativos; no hay genotoxicidad significativa.	Izzotti, A., Rosano, C., & La Maestra, S. (2023).
0.5% - 1%	Leve	Aumento leve en la frecuencia de micronúcleos; posible exposición a agentes tóxicos leves.	Fernandes, T. C., & Marin-Morales, M. A. (2007).
1% - 2%	moderada	Incremento significativo en la frecuencia de micronúcleos; indica genotoxicidad moderada.	Iqbal, M. (2016).
2% - 3%	Alta	Alta frecuencia de micronúcleos; exposición a agentes genotóxicos fuertes o concentración elevada de tóxicos.	Izzotti, A., Rosano, C., & La Maestra, S. (2023).
> 3%	severa	Frecuencias muy elevadas de micronúcleos; genotoxicidad severa y daño cromosómico importante.	Iqbal, M. (2016).

- **Células Binucleadas:** se definen como células que presentan dos núcleos en su citoplasma. Esta condición puede surgir de varios mecanismos, como la fusión de células individuales, la división celular fallida (mitosis) que no logra completar la citocinesis, o la respuesta a condiciones patológicas o estresantes, la presencia de células binucleadas puede ser un indicador de alteraciones en el ciclo celular y se asocia a procesos de daño genético o a la exposición a agentes tóxicos. En estudios de toxicología, el conteo de células binucleadas se utiliza como un parámetro para evaluar la genotoxicidad y la efectividad de ciertos tratamientos en la mitigación de daños en las células (Damin & Dadic; 2021).

Mediante la tabla 3 se podrá clasificar el nivel de toxicidad del fármaco estudiado.

**Tabla 3**

*Niveles de toxicidad para la frecuencia de células Binucleadas expresado en porcentaje (FBN%)*

<b>FBN (%)</b>	<b>Nivel de Toxicidad</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencia</b>
<b>&lt; 0.1%</b>	mínima o nula	Valores normales observados en controles negativos, sin evidencia de genotoxicidad.	Izzotti, A., Rosano, C., & La Maestra, S. (2023).
<b>0.1% - 0.5%</b>	Leve	Aumento leve en la frecuencia de células binucleadas; exposición a tóxicos leves.	Cenkci, S., Korkmaz, M., & Kalkan, Y. (2010).
<b>0.5% - 1%</b>	Moderada	Incremento moderado en células binucleadas; indicativo de daño genotóxico moderado.	Iqbal, M. (2016)
<b>1% - 2%</b>	Alta	Frecuencia elevada de células binucleadas; daño significativo en el proceso de división celular.	Cenkci, S., Korkmaz, M., & Kalkan, Y. (2010).
<b>&gt; 2%</b>	Severa	Valores extremadamente altos de células binucleadas; señal de disfunción severa en la división celular.	Iqbal, M. (2016).

### ***1.2.3 Annona muricata L.***

Conocido como guanábana, soursop, graviola, es un árbol frutal originaria de América Central y se encuentra ampliamente distribuida por el sudeste asiático, América del Sur y las selvas tropicales de África. Esta planta crece mejor a altitudes inferiores a 1200 metros sobre el nivel del mar, con temperaturas de entre 25 y 28 °C, humedad relativa del 60% al 80%, C y con más de 1500 mm de precipitación anual. Es una planta perenne que florece y produce frutos casi todo el año. Sus hojas son obovadas, oblatas y acuminadas, con una superficie superior de color verde oscuro, gruesa y brillante. El fruto es verde, de forma acorazonada, con una piel suave y espinosa que encierra una pulpa jugosa, aromática y ácida (Mutakin, et al., 2022).

Su clasificación taxonómica se presenta de la siguiente manera:

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Género: *Annona*

Especie: *Annona muricata* L. (*Royal Botanic Gardens, Kew, 2025*)

#### **1.2.2.1 Usos tradicionales**

Los estudios etnobotánicos han indicado que *A. muricata* se utiliza para tratar infecciones bacterianas y fúngicas, y posee actividades antihelmínticas, antihipertensivas, antiinflamatorias y anticancerígenas. Además, se emplea como analgésico y para tratar fiebre, enfermedades respiratorias y de la piel, diabetes, y parásitos internos y externos. En varios países tropicales del África subsahariana, como Uganda, se utilizan todas las partes de la planta para tratar la malaria, dolores de estómago, infecciones parasitarias, diabetes y cáncer. Las semillas son usadas como tratamientos antihelmínticos y antiparasitarios, mientras que las hojas, corteza y raíces tienen efectos antiinflamatorios, antihipertensivos, sedantes, antidiabéticos, relajantes del músculo liso y antiespasmódicos. Las hojas son utilizadas mediante infusiones para tratar cistitis, diabetes, dolores de cabeza, hipertensión, insomnio y problemas hepáticos, y como agentes antidisentéricos, antiinflamatorios y antiespasmódicos. Las hojas cocidas se aplican tópicamente para tratar abscesos. En países africanos tropicales como Nigeria, las hojas se usan tradicionalmente para tratar enfermedades de la piel. En América del Sur, el jugo del fruto de *A. muricata* se usa para tratar enfermedades cardíacas y hepáticas, y tiene efectos antidiarreicos y antiparasitarios. La pulpa

del fruto se emplea para aumentar la producción de leche materna después del parto y tratar el reumatismo, el dolor artrítico, la fiebre, la neuralgia, la disentería, las enfermedades cardíacas y hepáticas, y las erupciones cutáneas, además de tener propiedades antidiarreicas, antimaláricas, antiparasitarias y antihelmínticas (Mutakin, et al., 2022).

### **1.2.2.2 Propiedades Fitoquímicas**

Los compuestos predominantes en *A. muricata L.* incluyen acetogeninas, alcaloides, flavonoides, aceites esenciales, vitaminas, carotenoides, amidas y ciclopeptidos. Asimismo, la planta contiene minerales como potasio (K), calcio (Ca), sodio (Na), cobre (Cu), hierro (Fe) y magnesio (Mg). Entre estos compuestos, las acetogeninas son las más abundantes en *A. muricata L.* Estas son derivados de ácidos grasos de cadena larga presentes ampliamente en la familia Annonaceae y se sintetizan a través de la vía de los poliquétidos. Las acetogeninas presentan una cadena alifática larga de 35-38 carbonos unida a un anillo de  $\gamma$ -lactona, con un grupo metilo  $\beta$ -insaturado en el extremo y tetrahidrofurano (THF) a lo largo de la cadena hidrocarbonada. Los alcaloides más abundantes en *A. muricata L.* son la reticulina y la coreximina, siendo los tipos más comunes las isoquinolinas, aporfinas y protoberberinas. En cuanto a los flavonoides, el más común es la quercetina, aunque en el extracto de hojas, el flavonoide más abundante es la rutina, seguido de la quercetina y el kaempferol (Mutakin et al., 2022).

### **1.2.2.3 Propiedades Fitoquímicas de la Hoja de *Annona muricata L.***

Contiene compuestos como:

#### **1.3.2.1.1. Alcaloides:**

Son compuestos orgánicos que se caracterizan por su naturaleza alcalina y por la presencia de átomos de nitrógeno con efectos fisiológicos en el organismo humano y otros seres vivos poseen la capacidad para afectar el sistema nervioso central, estos poseen actividad antiinflamatorias,

analgésicos y antimicrobianos, son los metabolitos secundarios más abundantes de la familia Annonaceae también muestran afinidad por ciertos receptores dopaminérgicos, los cuales están vinculados a trastornos del comportamiento significativos como: enfermedad de Huntington esquizofrenia, la enfermedad de Parkinson y el trastorno por déficit de atención e hiperactividad, presentan una actividad dopaminérgica indirecta, ya que son capaces de inhibir la recaptación de dopamina lo que significa que estos compuestos aumentan los niveles de dopamina en el cerebro al bloquear su reabsorción en las neuronas (Cortez et al., 2014).

Entre los alcaloides que se encuentran en hojas de *Annona muricata L.* se encuentran Coreximine, Swainsonine, Liriodenine, y (S)-narcorydine se destacan por sus propiedades citotóxicas, ya que se ha comprobado que inducen apoptosis en células cancerosas. Annonaine también muestra actividad antiproliferativa. Anomuricine, Anomurine, y Annonamine son conocidos por sus efectos antioxidantes y neuroprotectores, mientras que Casuarine, (R)-O,O-dimethylcoclaurine, (R)-4'O-methylcoclaurine, N-methylcoclaurine, y Stepharine poseen propiedades antiinflamatorias y analgésicas, contribuyendo al alivio del dolor. Compuestos como Isoboldine, Reticuline, y Xylopine tienen actividad antioxidante, mientras que Isolaureline y N-methylcoclaurine muestran efectos antimicrobianos. Finalmente, los compuestos de tipo pirrolidina, como DMDP (2,5-Dihydroxymethyl-3,4-dihydroxypyrrolidine) que es un inhibidor de Glucosidasa I, actividad antiviral y nematocida, Deoxymannojirimycin que ayuda a controlar los niveles de glucosa en sangre y Deoxynojirimycin que posee actividades antihipertriglicéridémicas, antivirales y antiobesidad (Mutakin et al., 2022).

#### **1.3.2.1.2. Acetogeninas:**

Estructuralmente, se distinguen por tener una cadena alifática de 32 o 34 átomos de carbono, una  $\gamma$ -lactona terminal y diversas funciones oxigenadas, entre las cuales se incluyen uno

o varios anillos tetrahidrofuránicos. Las acetogeninas (ACG) de las *Annonáceas* se derivan biogénicamente de ácidos grasos y poseen largas cadenas de carbono con una  $\gamma$ -lactona terminal y anillos tetrahidrofuránicos distribuidos a lo largo de la cadena. Estas moléculas son exclusivas de la familia de las *Annonácea* (Cortés et al., 2014).

Las acetogeninas son metabolitos secundarios bioactivos presentes exclusivamente en varios géneros de la familia *Annonaceae*. Estas se reconocen como los compuestos bioactivos más importantes en la familia *Annonaceae* (Gavamukulya, Wamunyokoli, El-Shemy; 2017) Estos compuestos son una clase singular de derivados de ácidos grasos de cadena larga que exhiben potentes efectos anticancerígenos, pesticidas y otros efectos biológicos tanto in vivo como in vitro. La mayoría de las acetogeninas anonáceas tienen un núcleo de uno o dos anillos de tetrahidrofurano (THF) y un anillo terminal de  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturada (LR) (Barrachina et al., 2007).

Las acetogeninas de las *Annonáceas* son compuestos citotóxicos con propiedades antitumorales, plaguicidas, antimaláricas, antihelmínticas, antivíricas y antimicrobianas. (Cortés, et al., 2014), Diversos estudios han revelado que las acetogeninas presentan una citotoxicidad superior a la de los alcaloides y la rotenona, un compuesto citotóxico sintético. Las acetogeninas y los alcaloides son objeto de intensas investigaciones debido a la controversia sobre su potencial terapéutico frente a su efecto neurotóxico (Gavamukulya, Wamunyokoli & El-Shemy; 2017).

Se encuentran acetogeninas como: Annocatalin, Annokatin, Annonacin con potencial citotóxico, mientras que Annocatacin, Annomontacin y Corossolone se destaca por su citotoxicidad y potencial anticancerígeno, al igual que Annomuricin, Goniothalamicin y Annonacin A, una variante de annonacina con propiedades anticancerígenas, Montanacin se considera prometedora en estudios anticancerígenos Annonacinone demuestra actividad en células

tumorales. Corosolin es un potente inhibidor del complejo I mitocondrial, Gigantecin también muestra actividad antitumoral, y Gigantetronenin exhibe actividad citotóxica en diversas líneas celulares, mientras que Montanacin E es citotóxica y tiene potencial anticancerígeno. Montanacin H y Muricatocin A muestra alta actividad citotóxica en estudios de cáncer, siendo similar Muricatocin B, que también combate células tumorales. Muricatocin C con propiedades anticancerígenas, mientras que Solamin induce apoptosis en células cancerosas, Montanacin D, y Annomuricin B evidenciando el potencial terapéutico de estos compuestos (Mutakin, et al., 2022).

#### **1.3.2.1.3. Flavonoides:**

Los flavonoides se encuentran en una gran variedad de plantas y son conocidos por ser los pigmentos que dan color a las hojas, especialmente en otoño. Se encuentran en abundancia en semillas, cítricos, aceite de oliva, té y vino tinto. Estos compuestos de bajo peso molecular tienen una estructura de tres anillos con diversas sustituciones (Middleton, Kandaswami & Theoharides, 2000).

Los flavonoides pueden actuar como prooxidantes en dosis muy altas, la mayoría de las investigaciones han demostrado que tienen efectos antiinflamatorios, antivirales y antialérgicos, además de desempeñar un papel protector en enfermedades cardíacas, cáncer y diversas patologías (Martínez, Et al, 2002), tienen efectos en la quimioprevención del cáncer y la quimioterapia (Ren, Qiao, Wang, Zhu & Zhang, 2003).

Entre ellos se encuentran, Apigenin-6-C-glucoside, Argentinine, Gallocatechin, Genistein, Quercetin, Quercetin-3-O-glucoside, Robinetin, y Tangeretin son reconocidos por sus efectos antioxidantes y su capacidad para combatir el estrés oxidativo, promoviendo así la salud celular y cardiovascular. Adicionalmente, Daidzein, Glycitein, y Kaempferol son flavonoides isoflavonoides que también presentan propiedades antioxidantes y efectos en la regulación

hormonal, con un potencial en el tratamiento de enfermedades hormonales y en la prevención del cáncer. Epicatechin se destaca por su capacidad para reducir el estrés oxidativo y mejorar la salud cardiovascular, mientras que Isoferulic acid y Homoorientin son reconocidos por sus propiedades neuroprotectoras y protección contra el daño celular. Finalmente, Rutin que se caracteriza por su capacidad para mejorar la circulación, actuando como antioxidante y antiviral, lo que resalta la diversidad de funciones que estos flavonoides pueden desempeñar en la salud humana (Mutakin et al., 2022).

#### **1.3.2.1.4. Taninos**

El ácido galico es un tanino fenólico que ha mostrado propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Se ha relacionado con la capacidad de proteger las células del daño oxidativo y de reducir la inflamación en diversas condiciones patológicas (Mutakin et al., 2022).

#### **1.3.2.1.5. Vitaminas**

Las vitaminas desempeñan un papel crucial en la salud humana y presentan diversas propiedades antioxidantes que contribuyen a la defensa inmunitaria y a la protección celular. La *Vitamina C (Ácido Ascórbico)* es un potente antioxidante que ayuda a combatir el estrés oxidativo y refuerza el sistema inmunológico, mientras que la *Vitamina A (Retinol)* es esencial para la salud ocular y la función inmune, también actuando como antioxidante, la *Vitamina E (Tocoferoles)* protege las células del daño causado por los radicales libres, estas vitaminas no solo son fundamentales para el funcionamiento óptimo del sistema inmune, sino que también juegan un papel protector en la prevención de diversas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Mutakin et al., 2022).

#### **1.3.2.1.6. megastigmare**

Es un tipo de compuesto químico perteneciente a la familia de los sesquiterpenos, derivados del metabolismo de los carotenoides en plantas. Es un compuesto volátil que contribuye al aroma de frutas, flores y algunas especies vegetales como el té y el tabaco. Los derivados del megastigmane, como las megastigmatrienonas, son conocidos por sus propiedades aromáticas, proporcionando notas afrutadas y florales.

Los triterpenos, como Annoionol A, Annoionol B, y Annoionol C, poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, y actividad antitumoral, En particular, *Annoionol B* destaca por su potencial antimicrobiano y citotóxico. Además, Annoionoside, un glucósido, muestra propiedades antimicrobianas y antioxidantes, por último, N-p-coumaroyl tyramine es una amina que también presenta actividad antiinflamatoria y propiedades antioxidantes, contribuyendo a la reducción de la inflamación y al combate del estrés oxidativo. Estos compuestos destacan por su multifuncionalidad y su potencial aplicación en la medicina (Mutakin et al., 2022).

#### **1.2.3 Bioensayos**

Los bioensayos o ensayos *in vitro* son técnicas realizadas especialmente con organismos sensibles bajo condiciones controladas de un laboratorio, incluyendo cultivos celulares, bacterias, hongos, insectos, plantas y hasta organismos más pequeños, como helmintos o artrópodos. Estas técnicas son utilizadas en diversas áreas de la ciencia para evaluar las reacciones de los organismos frente a la presencia controlada de efectos físicos o sustancias, lo que puede incluir efectos beneficiosos, negativos o incluso toxicidad y muerte. Estos permiten describir los eventos implicados en fenómenos específicos, facilitando la identificación de la eficacia de diversas sustancias y la estandarización de su uso antes de realizar pruebas en vertebrados *in vivo*. Además,

han adquirido importancia debido a las crecientes restricciones en la experimentación con animales de laboratorio y de compañía (Ávila, Mancilla, González, Sandoval, & Torres 2019).

Un bioensayo es un experimento que evalúa la concentración o el efecto de una sustancia sobre organismos vivos. Se utiliza para medir la actividad de productos químicos como medicamentos, pesticidas y contaminantes, y puede ser cuantitativo o cualitativo. Estos son esenciales para identificar y cuantificar el impacto de sustancias químicas en la salud de los organismos y en el medio ambiente, al asociar la respuesta de un organismo individual con la de una población, se asume que las respuestas tóxicas observadas en individuos reflejarán efectos similares a niveles más altos de organización biológica. Esto implica que las reacciones tóxicas detectadas en pruebas a nivel celular o subcelular pueden predecir cambios en la salud general de la población (Carriquiriborde; 2021).

### **1.2.3.1 Bioensayos con *Vicia faba L***

Diferentes plantas pueden servir como modelos para evaluar sustancias bioactivas que tienen diversas actividades sobre otras especies vegetales. Los estudios de alelopatía (fenómeno ecológico en el que las plantas producen y liberan sustancias químicas como aleloquímicos que afectan el crecimiento, desarrollo y comportamiento de otras plantas y organismos) se enfocan en estas interacciones (Avila et al, 2019) el bioensayo de genotoxicidad de semillas de *Vicia faba L*. permiten conocer el nivel de efecto que tienen los agentes xenobióticos con los cuales se someterán para lo cual se necesita la previa germinación y desarrollo sin ningún tipo de alteración en un medio controlado, por el tamaño de las semillas, el rápido crecimiento, sensibilidad a agentes tóxicos y por ser un excelente biomarcador que la hace un gran bioensayo (Costa, et al; 2019).

### 1.2.3.2 Posición taxonómica de *Vicia faba* L

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Vicia*

Especie: *Vicia faba* L. (NCBI, 2025)

## II. MATERIALES Y METODOS

### 2.1. Materiales

#### 2.1.1. Área de Procedencia de las Muestras

- Semillas de *Vicia faba L.* variedad peruanita. Procedente de INIA- Cusco
- *Annona Muricata L.*
  - ✓ Las hojas de *Annona muricata L.* fueron recolectadas en el distrito de Huayopata, provincia de La Convención, región Cusco, Perú.

#### 2.1.2. Área de Estudio.

La presente investigación se realizó bajo condiciones controladas de laboratorio, en el ambiente (C-273) laboratorio de Biología Molecular, de la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

#### 2.1.3. Material Biológico

- Semillas de *Vicia faba L.* variedad peruanita
- Hojas de *Annona muricata L.*

#### 2.1.4. Materiales de Laboratorios

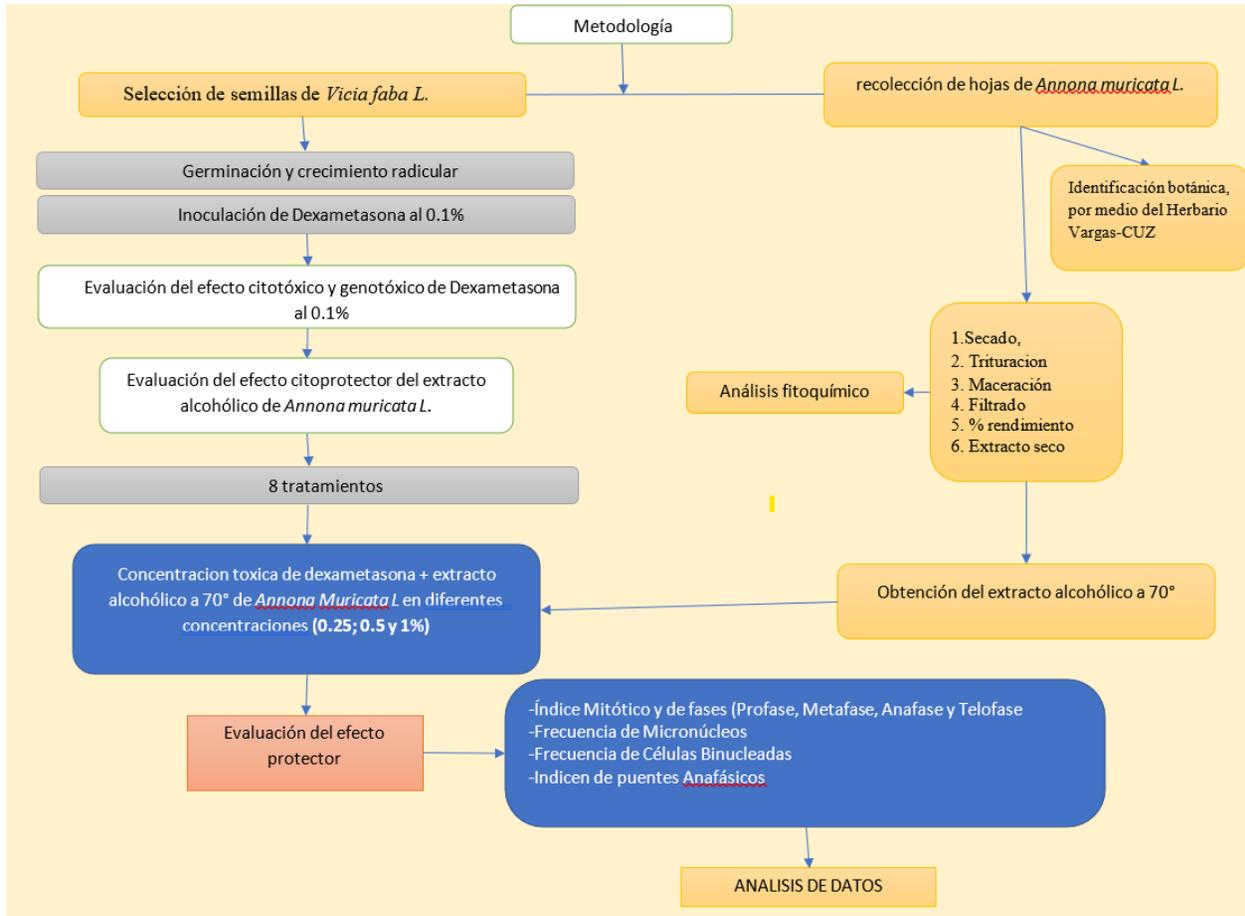
- Equipos
  - Balanza Analítica (h.w. Cassel S.A)
  - Microscopio Óptico (Zeiss)
  - Autoclave (P Selecta)
  - Destilador (G.F.L, cossodo)

- Horno (Binder)
- Baño María (Memmert)
- Rotavapor (RS lab)
- Fuente de Poder o alimentación
- Refrigeradora (LG)
- Equipo fotográfico (Xiaomi 10)
- Reactivos:
  - Orceinaacética clorhidrica al 2%
    - Marca: Spectrum Chemical MFG Corp.
  - Carnoy
    - ✓ Etanol absoluto (MERK)
    - ✓ Ácido acético glacial al 100%(MERK)
- Materiales de Vidrio
  - ✓ Laminas porta y cubre objetos
  - ✓ Mortero
  - ✓ Placas Petri
  - ✓ Varilla de vidrio
  - ✓ Matraz de 1000ml, 500ml, 100ml, 50ml
  - ✓ pipetas graduadas (de 10, 5, 1ml)
  - ✓ luna de reloj
  - ✓ botellas esmeriladas de 1Lt.
- Otros.
  - ✓ Cronometro
  - ✓ Termómetro
  - ✓ Papel toalla
  - ✓ Plumón marcador

- ✓ Espátulas
- ✓ Guantes
- ✓ Mascarilla
- ✓ lapiceros
- Agente Xenobiótico
  - ✓ Dexametasona
    - ✓ Marca: Farmaindustria S.A.
    - ✓ Registro sanitario N°EN-05307
    - ✓ Presentación de 4mg.
    - ✓ Características químicas
      - Nombre de la IUPAC: (8 S, 9 R, 10 S, 11 S, 13 S, 14 S, 16 R, 17 R)-9-fluoro-11,17-dihidroxi-17-(2-hidroxiacetil)-10,13,16-trimetil-6,7,8,11,12,14,15,16-octahidrociclopenta[a]fenantren-3-ona
      - Peso molecular: 392,5 g/mol
      - Punto de fusión: 504 a 507 °F
      - Solubilidad en agua: 89 mg/L (a 25 °C)
      - Color y forma: polvo cristalino de color blanco a prácticamente blanco

## 2.2. Métodos

### 2.2.1. Flujograma de la investigación



### 2.2.2. Diseño Experimental

La presente investigación es de tipo experimental, ya que se manipularon de forma controlada las variables independientes (tratamientos con extracto alcohólico de *Annona muricata* L., dexametasona y combinaciones de ambos) para observar su efecto sobre variables dependientes como el índice mitótico, la frecuencia de micronúcleos, células binucleadas y puentes anafásicos en células meristemáticas de *Vicia faba* L.

El enfoque de la investigación es cuantitativo, pues se recopilieron datos numéricos a través de conteos microscópicos, los cuales fueron procesados estadísticamente para establecer diferencias significativas entre tratamientos mediante análisis de varianza (ANOVA), prueba de comparaciones múltiples de Duncan, dependiendo del caso.

El nivel de la investigación es explicativo, ya que busca determinar si el extracto alcohólico de *Annona muricata L.* posee un efecto citoprotector frente a los daños inducidos por la dexametasona, estableciendo así una posible relación de causa y efecto entre los tratamientos aplicados y las alteraciones celulares observadas.

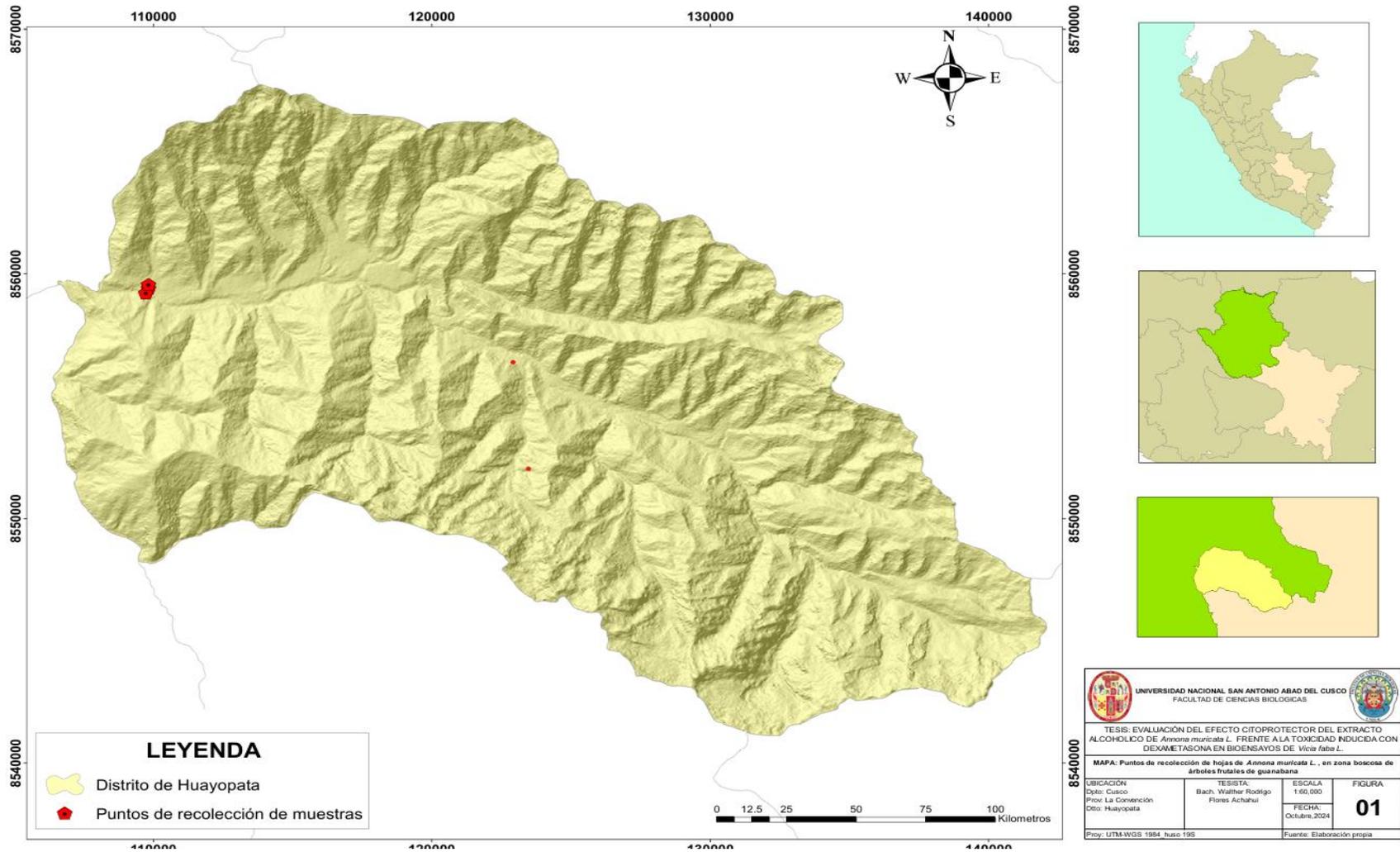
Respecto al diseño experimental, se empleó un diseño completamente aleatorizado con grupos independientes, en el cual se asignaron ocho tratamientos a grupos experimentales distintos, manteniendo el control de las condiciones experimentales (tiempo de exposición, tipo de muestra, número de observaciones por tratamiento). Este diseño permitió comparar los efectos entre los grupos tratados y los grupos control, a fin de evaluar el efecto protector del extracto frente al agente tóxico.

### ***2.2.3. Muestreo de hojas de Annona muricata L.***

Se recolecto hojas maduras de *Annona muricata L.* con información de Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR), que según de acuerdo a la Ley N°29763, Ley Forestal y de Fauna silvestre y su reglamentos, el SERFOR otorga autorizaciones de investigación científica en caso que estas involucren recursos forestales y de fauna silvestre, en ese sentido al ser la *Annona muricata L.* una especie de frutal cultivada no identificada como recurso forestal silvestre, no requiere permiso de colecta (Anexo 9), para lo cual se recolecto aproximadamente 2 kg. en el distrito de Huayopata, de la provincia de La Convención, región Cusco.

**Figura 1**

*Punto de recolección de Hojas de Annona muricata L. zona boscosa de Árboles frutales de Guanabana*



#### **2.2.4. Determinación Botánica de *Annona muricata* L.**

La identificación botánica de la especie se realizó en el Herbario Vargas CUZ-UNSAAC, para lo cual se preparó muestras de ramas de *Annona muricata* L. en prensa botánica, de lo recolectado, preparado de acuerdo a lo indicado por el herbario Anexo (10).

#### **2.2.5. Obtención de Extracto Alcohólico de *Annona muricata* L.**

Se realizó mediante la técnica de maceración, la maceración es un método convencional de extracción que posee características muy resaltantes como: ser un proceso sencillo, económico, de tiempo reducido, adecuada para plantas y compuestos sensibles al calor, etc. (Tambun, Alexander & Ginting; 2021) El proceso de extracción por este método se realizó sumergiendo la muestra en el solvente de extracción. Que fue el etanol a 70° y un rotavapor para la evaporación del solvente de extracción (Azwanida; 2015).

Se pesó 2 Kg de peso fresco aproximadamente de hojas de *Annona muricata* L. en una balanza para luego secarlas en horno a una temperatura de 40°C por 72 horas, luego se procedió a triturar en mortero o moledora de semillas hasta obtener un polvo fino para luego colocarlo en un recipiente con etanol a 70° por 14 días y recubrir por completo el polvo fino de las hojas en un recipiente de frascos color ámbar, al cumplirse el tiempo determinado se procedió a filtrar el macerado por el papel filtro Watman N°40 y remover suavemente con una cucharilla hasta obtener todo excedente de las hojas molidas, el filtrado se realizó dos veces, posteriormente se llevó al rotavapor o evaporador rotatorio por 24 horas hasta obtener una melcocha libre del solvente ya que se estuvo evaporando y finalmente se llevó al horno a 45°C hasta obtener el extracto seco. Esto se almaceno en un frasco ámbar en la refrigeradora hasta su posterior uso en el análisis fitoquímico y en el ensayo del efecto citoprotector de este extracto (Villar de Fresno, 1999)

### ***2.2.6. Marcha Fitoquímica de Annona muricata L.***

Se realizó mediante el método a la gota y Solubilidad en diferentes solventes, en instalaciones de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. En el laboratorio de cromatografía y espectrofotometría, perteneciente a la Facultad de Ciencias de la UNSAAC.

El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios, el extracto seco obtenido se diluyó en agua destilada a una concentración de 2 mg en 20 mL, con el fin de llevar a cabo reacciones de coloración y precipitación para la identificación de metabolitos secundarios.

**Tabla 4***Marcha Fitoquímica*

<b>Compuesto a identificar</b>	<b>Reactivo o prueba aplicada</b>	<b>Procedimiento resumido</b>	<b>Resultado positivo esperado</b>
<b>Alcaloides</b>	Reactivo de Dragendorff o Mayer (Sofowora, 1993)	Añadir 2-3 gotas al extracto en tubo de ensayo	Precipitado blanco o anaranjado
<b>Flavonoides</b>	Prueba de Shinoda (Harborne, 1998)	Añadir magnesio y gotas de HCl concentrado	Color rojo o anaranjado
<b>Taninos</b>	Cloruro férrico FeCl <sub>3</sub> (Trease & Evans, 2002)	Añadir 2-3 gotas de FeCl <sub>3</sub> al 1%	Color verde oscuro o azul intenso
<b>Saponinas</b>	Prueba de espuma (Sofowora, 1993)	Agitar vigorosamente 5 mL del extracto con agua destilada	Formación de espuma estable ( $\geq 15$ min)
<b>Terpenos / Esteroides</b>	Liebermann-Burchard (Harborne, 1998)	Mezclar con ácido acético anhidro y H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado en las paredes del tubo	Color verde (terpenos) o violeta (esteroides)
<b>Quinonas</b>	Hidróxido de sodio NaOH (Trease & Evans, 2002)	Mezclar extracto con NaOH al 1%	Color rojo o rojo ladrillo
<b>Fenoles</b>	Cloruro férrico FeCl <sub>3</sub> (Trease & Evans, 2002)	Agregar 3 gotas al extracto	Color azul o verde intenso

**2.2.7. Determinación del efecto citotóxico de dexametasona y el efecto citoprotector del extracto alcohólico de *Annona muricata L.* inducido al daño toxico por dexametasona en *Vicia faba L.***

✓ Preparación de materiales y reactivos

- Semillas: Se seleccionaron semillas viables de *Vicia faba L.*, descartando aquellas con daños visibles o malformaciones.
- Extracto alcohólico de *A. muricata L.*: Preparado a partir de hojas secas pulverizadas, maceradas en etanol al 70% (v/v) por 72 horas, con agitación ocasional.

Posteriormente se filtró y concentró con rotavapor hasta obtener un extracto seco, que se reconstituyó en agua destilada para obtener concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1% (p/v).

- Solución de dexametasona: Se preparó una solución de dexametasona al 0.1% (p/v) usando dexametasona de grado farmacéutico disuelta en agua destilada estéril

✓ Germinación y elongación radicular

- Las semillas fueron remojadas en agua destilada durante 24 horas para favorecer la imbibición.
- Posteriormente se colocaron en placas Petri para su germinación con papel toalla húmedo, cubiertas para evitar deshidratación.
- Las semillas se mantuvieron a temperatura ambiente (20–25°C) en oscuridad parcial hasta alcanzar raíces de 1–2 cm de longitud (aproximadamente 3–5 días)
- Para luego ser expuestas en los diferentes tratamientos en vasos precipitados de 10ml.

✓ Diseño experimental de los Tratamientos

**Tabla 5**

*Diseño experimental*

<b>T1</b>	Control (agua destilada) Durante 16 horas	Control
<b>T2</b>	Dexametasona 0.1% Durante 16 horas	DEX(p/v)
<b>T3</b>	Extracto alcohólico a 70° de hojas secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%. (0.25%) Durante 16 horas	EAAm 0.25%(p/v)
<b>T4</b>	Extracto alcohólico a 70° de hojas secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%. (0.5%) Durante 16 horas	EAAm 0.5%(p/v)
<b>T5</b>	Extracto alcohólico a 70° de hojas secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%. (1%) Durante 16 horas	EAAm 1%(p/v)
<b>T6</b>	Extracto alcohólico a 70° de hojas secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%. (0.25%) Durante 16 horas + Dexametasona 0.1% Durante 16 horas	EAAm 0.25%(p/v) + DEX
<b>T7</b>	Extracto alcohólico a 70° de hojas secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%. (0.5%) Durante 16 horas + Dexametasona 0.1% Durante 16 horas	EAAm 0.5%(p/v) + DEX
<b>T8</b>	Extracto alcohólico a 70° de hojas secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%. (1%) Durante 16 horas + Dexametasona 0.1% Durante 16 horas	EAAm 1%(p/v) + DEX

Finalizado los tiempos de exposición de los tratamientos se procedió a seleccionar 3 plántulas por tratamiento y se procedió a seccionar 3 raicillas de cada una de estas. Las raicillas disectadas fueron lavadas con agua destilada tres veces para su posterior preparación citológico, coloración y observación, para así evaluar el número de Micronúcleos, células Binucleadas, Puentes Anafásicos, células en interfase, profase, metafase, anafase y telofase y poder hallar el índice mitótico, Índice de Fases (Profase, Metafase, Anafase y Telofase), Índice de Puentes Anafásicos y frecuencia de Micronúcleos y células Binucleadas.

#### **2.2.7.1. Obtención de los preparados citológicos.**

Al finalizar los experimentos de cada uno de los tratamientos bajo el tiempo requerido, se procedió a cortar los extremos radiculares aproximadamente de 3- 5cm de una raicilla de cada plántula seleccionada, Con ayuda de un bisturí y tijeras, se preservó en frascos con Carnoy debidamente rotulados y tapados de forma hermética con una cantidad de 20ml para cada tratamiento y así conseguir la fijación del tejido ya que es especialmente eficaz en la preservación de ácidos nucleicos por su eficacia en la conservación de núcleos, cromatina y que no continúe la división celular ni desarrollo de las raicillas, luego teñir y después se procedió a la preparación citológica para los ensayos correspondientes.

Se procedió a lavar tres veces con agua destilada los extremos radiculares para así quitar todo rastro de Carnoy para comenzar su tinción (Tjio & Levan, 1950).

#### **2.2.7.2. Coloración, montaje y observación**

Para la tinción con Orceína acética al 2% se tuvo que preparar este reactivo (Anexo 4). Los extremos radiculares ya lavados 3 veces con agua destilada se sometieron a la coloración por un periodo de 30 minutos como: Se colocaron las raicillas en las lunas de reloj donde se cubrieron por completo con el colorante Orceína acética al 2% para luego someterlos a la llama del mechero

hasta que hayan emitido el primer vapor blanco comprobando al someter las lunas en el dorso de la mano, esto se realizó en intervalos de 5 minutos por 3 veces, finalmente se dejó reposar las muestras en el colorante por 15 minutos (Tjio & Levan, 1950).

Posteriormente, los meristemos radiculares coloreadas fueron cortados aproximadamente de 0.5mm a 1mm, luego fueran colocadas sobre la lámina de portaobjetos debidamente rotulado, se añadió una gota de colorante sobre el extremo radicular y sobre este se colocó la lámina de cubreobjetos, con la ayuda de un lápiz, se efectuó suavemente algunos golpeteos sobre el cubreobjetos para dispersar las células de la muestra. Finalmente, se aplicó la técnica de "Squash", por cada tratamiento se prepararon 4 láminas y se observaron 40 campos por lamina, todo esto por triplicado

Se procedió a examinar las muestras montadas al azar bajo el microscopio óptico utilizando un objetivo de 100X con ayuda del aceite de inmersión para conseguir un gran aumento de 1000X para continuar con el conteo respectivo de las células que se encuentren las diferentes fases de la división celular y presencia de anomalías cromosómicas (Tjio & Levan, 1950; Sharma & Sharma, 1965).

#### **2.2.7.3.Determinación del Índice Mitótico e Índice de Fases.**

El índice mitótico (IM) es una medida que se utiliza en estudios de citogenética y biología celular para evaluar el grado de proliferación celular en un tejido o muestra biológica. Este índice indica la proporción de células que se encuentran en proceso de mitosis en un momento dado y es un indicador útil para analizar la actividad celular en condiciones normales o patológicas, como el cáncer (Fenech, 2000)

Para el Índice Mitótico (IM) y el Índice de Fases (Profase, Metafase, Anafase y Telofase) se examinó alrededor de 40 campos por cada tratamiento, con aproximadamente 500 células observadas en cada una de ellas, esto se realizó por triplicado por cada tratamiento.

Se efectuó el conteo de todas las células observadas que se encontraron en las distintas fases de la mitosis, que incluyen la interfase, profase, metafase, anafase y telofase,

Se calculó el porcentaje del índice mitótico e índice de fases, con las siguientes fórmulas:

La fórmula para determinar el índice mitótico (IM) e índice de fases (IF) es:

$$IM = \frac{NCM}{NTC} \times 100$$

$$IF = \frac{NCFM}{NCM} \times 100$$

Donde:

- IM: Índice Mitótico
- NCM: Número de células en mitosis
- NTC: Número total de células meristemáticas.
- IF: Índice de Fases (Profase (IP), Metafase (IM), Anafase (IA) y Telofase (IT))
- NCFM: Número de Células en Fase de Mitosis

#### **2.2.7.4. Determinación del Índice de Puentes Anafásicos**

Los puentes anafásicos son anomalías cromosómicas que ocurren durante anafase de la mitosis, cuando las cromátidas hermanas no se separan correctamente hacia los polos opuestos de la célula. Este error se traduce en la formación de una estructura similar a un "puente" entre los polos de la célula. Los puentes anafásicos se observan como filamentos de cromatina que conectan

a las cromátidas que deberían haber sido separadas completamente (Nielsen, Hansen & Hertz; 2014).

Se llevó a cabo el conteo de 40 campos de las 4 láminas, lo que dio como resultado un total de 2000 células observadas aproximadamente para cada tratamiento y esto por triplicado para cada repetición

Se halló el Índice de Puentes Anafásicos mediante la siguiente fórmula:

$$PA = \frac{NPA}{NTCA} * 100$$

- PA: Índice de Puentes Anafásicos
- NPA: Numero de puentes Anafásicos
- NTCA: Número total de células en Anafase

#### **2.2.7.5.Determinación de Micronúcleos (MN);**

Los ensayos de micronúcleos han surgido como uno de los enfoques preferidos para evaluar el daño en los cromosomas. Estos ensayos permiten una medición precisa tanto de la pérdida de fragmentos cromosómicos como de la rotura de los cromosomas. Esto se debe a que los micronúcleos se manifiestan exclusivamente en células que han completado la división nuclear. (Fenech, 2000).

Se tomó en cuenta los Protocolos obtenidos de (Beltrán & Beltrán, 2016; Fenech, 2000;) tanto para el Test de Micronúcleos como del Índice Mitótico (Tjio & Levan 1950), con algunas modificaciones.

Se llevó a cabo el conteo de 40 campos de las 4 láminas, lo que dio como resultado un total de 2000 células observadas aproximadamente para cada tratamiento esto por triplicado para cada tratamiento

Para la identificación de los micronúcleos, se tomaron en cuenta los criterios de selección según (Zalacain, Sierrasesúmaga & Patiño;2005)

Se reportó la frecuencia de micronúcleos mediante la siguiente formula:

$$FMN = \left( \frac{NCM}{NTC} \right) * 100$$

Donde:

- FMN: Frecuencia de Células con Micronúcleos
- NCM: Número de Células con Micronúcleos
- NTC: Número Total de Células

#### **2.2.7.6.Determinación de Células Binucleadas (BN)**

Las células binucleadas son células que contienen dos núcleos dentro de un mismo citoplasma. Esta condición generalmente ocurre debido a una división celular incompleta o defectuosa durante la citocinesis, el proceso final de la mitosis en el que el citoplasma de la célula madre se divide para formar dos células hijas. Cuando la citocinesis no se completa correctamente, las células pueden terminar binucleadas en lugar de dividirse en dos células individuales (Fenech, 2007)

Se reporta la frecuencia de células binucleadas mediante la siguiente formula:

$$FBN = \left( \frac{NCB}{NTC} \right) * 100$$

Donde:

- FBN: frecuencia de células Binucleadas
- NCB: número de células binucleadas
- NTC: número total de Células

### ***2.2.8. Análisis de los Datos***

Los resultados se colocaron en tablas y gráficos de Excel de todos los campos observados y conteos realizados en todos los tratamientos, para lo cual se calculó los promedios más o menos la desviación estándar de cada tratamiento de las tres repeticiones, para calcular sus índices y frecuencias. se procedió a realizar el análisis de varianza o ANOVA y así se identificó que las medias de los tratamientos presentaron diferencias significativas. Lo cual indicó que al menos existe un grupo o tratamiento que es significativamente diferente a los demás, lo que procedió a realizar una prueba post hoc para identificar específicamente cuál o cuáles son los tratamientos presenten una diferencia significativa entre sus medias, para esto se realizó la prueba de contraste de medias de Dunncan que se usó para realizar las comparaciones múltiples entre todos los tratamientos y determinar cuál de estos presentaron diferencias significativas entre si con un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ). Todo el análisis se realizó mediante el uso del paquete estadístico SPSS versión 29.0 (Araujo, 2012).

### III. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1 De la marcha Fitoquímica

Los resultados obtenidos de la marcha fitoquímica del extracto alcohólico a 70° de hojas de *Annona muricata* L seco al 20%. se detallan a continuación en la tabla 6.

**Tabla 6**

*Resultado de marcha fitoquímica del extracto alcohólico al 70° de hojas de Annona muricata L. seco al 20%*

Compuesto Evaluado	Resultado
Compuestos Fenólicos	+++ (Abundante)
Flavonoides	+++ (Abundante)
Alcaloides	– (Ausente)
Triterpenos y Esteroides	+++ (Abundante)
Saponinas	– (Ausente)
Taninos	– (Ausente)
Quinonas	– (Ausente)

Nota:

- +++: Abundante
- ++: Poco
- +: Muy poco
- -: Ausente

Los resultados muestran abundante presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, y triterpenos/esteroides en el extracto alcohólico de hojas de *Annona muricata* L. estos metabolitos secundarios son conocidos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas, lo que respalda el uso tradicional de esta planta en la medicina natural. (Gavamukulya, Wamunyokoli, El-Shemy; 2017) Por otro lado, compuestos como los alcaloides, saponinas, taninos, y quinonas estuvieron ausentes en las pruebas realizadas, aun cuando la

bibliografía reporta la presencia de estos metabolitos, los resultados obtenidos podrían deberse a las evaluaciones cualitativas realizadas o también pueden no estar completamente presentes en el extracto alcohólico de *Annona muricata L.* debido a su limitada solubilidad en alcohol.

Los taninos son más solubles en agua que en alcohol por sus numerosos grupos hidroxilo, que forman enlaces de hidrógeno con solventes polares. Aunque pueden disolverse parcialmente en alcohol, la extracción es más eficiente con mezclas acuosas o acetona (Haslam, 1998). Esto explica su presencia limitada en extractos alcohólicos de plantas como *Annona muricata L.*

Las quinonas, debido a su estructura aromática y grupos carbonilo, requieren solventes más apolares como éter o cloroformo para una mejor extracción. Aunque pueden disolverse parcialmente en alcohol, su solubilidad es mayor en otros disolventes, lo que limita su presencia en extractos alcohólicos (Bentley, 2006).

Los alcaloides, compuestos nitrogenados, son más solubles en soluciones ácidas que en alcohol. Aunque algunos se disuelven en alcohol, su extracción es más eficiente en medios acidificados, lo que puede reducir su presencia en extractos alcohólicos (Dewick, 2009).

Las saponinas son muy solubles en agua más que en alcohol debido a su naturaleza anfipática, aunque pueden disolverse parcialmente en alcohol, los solventes acuosos y alcalinos son más eficientes para su extracción, lo que limita su presencia en extractos alcohólicos (Hostettmann & Marston, 2005).

Aucattoma Cruz (2019) confirmó la presencia de metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, cumarinas, saponinas, alcaloides, azúcares reductores, catequinas y quinonas en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Annona muricata L.*, a diferencia del presente trabajo que

presenta ciertos metabolitos como: compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos y esteroides debido al extracto alcohólico utilizado a diferencia del otro que fue un extracto hidrosoluble.

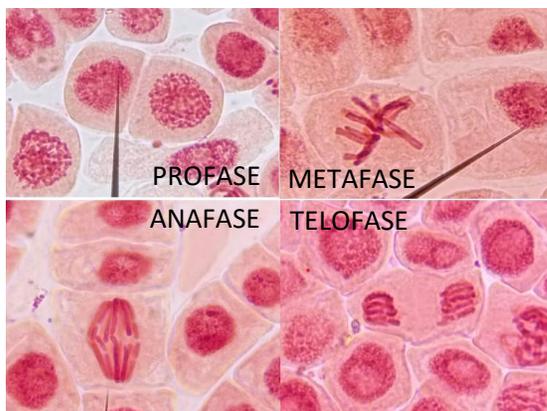
### 3.2 Del Efecto cito y genotóxico de la Dexametasona

#### 3.2.1 Efecto citotóxico de dexametasona al 0.1% en Bioensayo de *Vicia faba L.*

La figura 3 y tabla 5 muestran una comparación entre los índices mitóticos e índice de fases (profásico, metafásico, anafásico, telofásico) en dos tratamientos distintos: Tratamiento 1 (control) y Tratamiento 2 (Dexametasona al 0.1%).

#### Figura 2

*Efecto de la Dexametasona al 0.1% en fases del ciclo celular*



Nota: micro figuras de las diferentes fases de división celular a 1000X de aumento.

En la figura 2 se presenta 4 micro figuras unidas de las 4 fases (profase, metafase, anafase y telofase) de la división celular en el tratamiento con dexametasona al 0.1% a un objetivo de 100X con ayuda de aceite de inmersión.

**Tabla 7**

*Genotoxicidad de dexametasona al 0.1% y control en Bioensayos de Vicia faba L.*

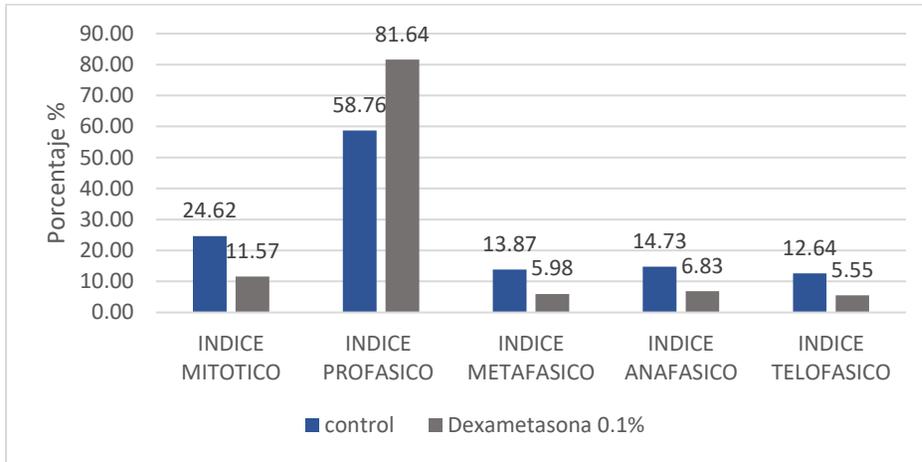
	<b>IM</b>	<b>IP</b>	<b>IMe</b>	<b>IA</b>	<b>IT</b>	<b>PA</b>	<b>MN</b>	<b>BN</b>
<b>T1</b>	24.62	58.76	13.87	14.73	12.64	0.00	0.00	0.00
<b>T2</b>	11.57	81.64	5.98	6.83	5.55	27.03	1.07	0.77

Nota: el promedio de T1: Control por 16 horas; T2: Dexametasona al 0.1% por 16 horas; IM: índice mitótico; IP: índice profásico; IMe: índice metafásico; IA: índice anafásico; IT: índice telofásico; IPA: índice de puentes anafásicos; MN: frecuencia de micronúcleos; BN: frecuencia de células binucleadas

La tabla 7 presenta los promedios de las 3 repeticiones de estos tratamientos sobre los índices de las fases y frecuencias del tratamiento control y el tratamiento con dexametasona a 0.1% demostrando la diferencia significativa de los valores en todos estos, existiendo un efecto diferencial con lo cual se afirma el daño causado por la dexametasona. Existiendo una disminución de los índices (Mitótico, Metafase, Anafase y Telofase) y un incremento del Índice Profásico e incremento de aberraciones como el Índice de puentes Anafásicos, frecuencias de Micronúcleos y células binucleadas por parte de la Dexametasona al 0.1%.

### Figura 3

*Efecto citotóxico de Dexametasona al 0.1% y control en bioensayos de Vicia faba L*



Nota: T1: Control por 16 horas; T2: Dexametasona al 0.1% por 16 horas; IM: índice mitotico; IP: indice profasico; IMe:índice metafasico; IA:índice anafasico; IT:índice telofasico;

Se observa que el tratamiento con dexametasona (T2) disminuye el índice mitótico (IM) a 11.57% en comparación con el control (T1) que es del 24.62%, lo que indica una reducción en la tasa de división celular provocando un efecto citotóxico, Simultáneamente, el índice profásico (IP) se incrementa significativamente en T2 (81.64%) frente al control (58.76%), lo que demuestra que la dexametasona bloquea la progresión celular en la profase, impidiendo que las células avancen hacia las etapas posteriores del ciclo mitótico.

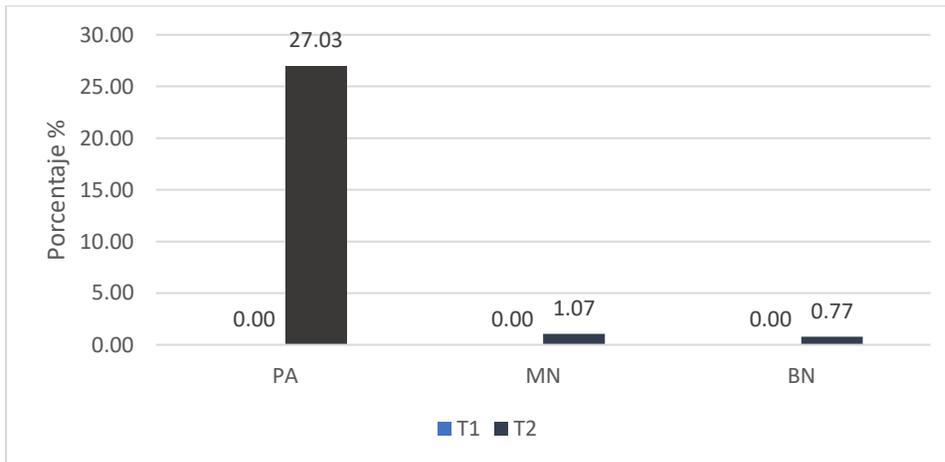
Las fases de los índices metafásicos, anafásico y telofásico en el tratamiento 2 son menores con 5.98%, 6.83% y 5.55%, respectivamente, en comparación con el tratamiento control (13.87%, 14.73% y 12.64%) mostrando un efecto diferencial entre estos, este descenso indica una interferencia en las fases más avanzadas de la mitosis evidenciándose el efecto citotóxico en este tratamiento.

Los resultados de Gonzales, Chotón, & Chico; 2020 sobre los efectos de la dexametasona revelaron un impacto citotóxico y genotóxico significativo en radículas de *Allium cepa L.* lo que provocó aberraciones cromosómicas, específicamente puentes cromosómicos (3.7%) y la formación de yemas nucleares, proyecciones o invaginaciones del nucleo (2.1%), mientras que el 84.2% de las células no presentaron alteraciones. Estos hallazgos sugieren que la dexametasona inhibe fuertemente la mitosis, lo que demuestra su alto nivel de citotoxicidad al reducir el coeficiente mitótico a 6.7%, comparado con el 9.9% del grupo control.

### 3.2.2. Efecto genotóxico de dexametasona al 0.1% en bioensayos de *Vicia faba L.*

**Figura 4**

*Genotoxicidad de Dexametasona al 0.1% en Bioensayos de Vicia faba L.*



Nota: T1: Control por 16 horas; T2: Dexametasona al 0.1% por 16 horas; IPA: índice de puentes anafásicos; MN: frecuencia de micronúcleos; BN: frecuencia de células binucleadas

Se observa en la tabla 7 y figura 4 los aumentos significativos en los puentes anafásicos (27.03% en tratamiento 2 frente a 0% en el tratamiento 1), lo que es un claro indicador de daño cromosómico, en el tratamiento T2 se detecta un leve aumento de micronúcleos (1.07%) y células Binucleada considerándose para los dos como un nivel de toxicidad moderado con lo cual se afirma el efecto genotóxico de dexametasona en comparación con los valores prácticamente nulos en el

control (0.00%) tanto para Micronúcleos y células Binucleadas, como un nivel de toxicidad mínimo o nulo sin presencia de daño genotóxico.

La dexametasona por ser un corticosteroide y evidenciando el daño genotóxico, se relaciona principalmente con la generación de estrés oxidativo, que produce especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de causar daños en el ADN, como rupturas en la doble cadena y mutaciones. Este fármaco también interfiere en los mecanismos de reparación del ADN, particularmente en la vía de reparación por escisión de nucleótidos (NER), dificultando la corrección de los daños oxidativos en el genoma. Además, la dexametasona puede alterar el ciclo celular, deteniendo la replicación en fases críticas y favoreciendo la aparición de alteraciones cromosómicas, como la formación de micronúcleos, lo que aumenta el riesgo de mutaciones permanentes en las células. Estos mecanismos han sido observados tanto en estudios en células humanas como en modelos animales, indicando una implicación significativa de la dexametasona en el daño genético. (Mutankim et al, 2022).

La dexametasona a la concentración de 0.1% es genotóxico al presentar toxicidad moderada para los micronúcleos y células binucleadas.

## Figura 5

*Efectos Genotóxico de la Dexametasona al 0.1% en parámetros como: Puentes Anafásicos, Micronúcleos y Células Binucleadas*



Nota: 3 microfotografías a 1000X de aumento de aberraciones cromosómicas (PA, MN y CB)

**3.3. Del efecto citoprotector del extracto alcohólico a 70° de las hojas de *Annona muricata L.* seco al 20% en concentración de 0.25%, 0.5% y 1% frente al daño citotóxico y genotóxico inducido por dexametasona al 0.1% en meristemos radiculares de *Vicia faba L.* con un Bioensayo se obtuvo los siguientes resultados:**

**Tabla 8**

*Porcentajes y desviación estándar de Índice Mitótico e Índice de Fases de los valores obtenidos en los 8 tratamientos evaluados en Vicia Faba L.*

	<b>INDICE MITOTICO</b>	<b>INDICE PROFASICO</b>	<b>INDICE METAFASICO</b>	<b>INDICE ANAFASICO</b>	<b>INDICE TELOFASICO</b>
<b>T1</b>	24.62±0.33	58.76±0.55	13.87±0.38	14.73±0.34	12.64±0.23
<b>T2</b>	11.57±0.42	81.64±0.52	5.98±0.24	6.83±0.22	5.55±0.31
<b>T3</b>	24.72±0.27	59.47±0.26	13.45±0.58	14.75±0.24	12.33±0.06
<b>T4</b>	22.61±0.37	63.17±1.86	12.23±0.57	13.12±0.98	11.48±0.37
<b>T5</b>	17.82±0.86	69.38±2.99	9.97±1.50	11.55±1.43	9.10±0.50
<b>T6</b>	24.18±0.28	59.78±0.26	13.35±0.51	14.69±0.21	12.18±0.31
<b>T7</b>	21.99±0.49	64.49±1.66	11.91±0.75	12.64±0.84	10.96±0.31
<b>T8</b>	16.75±1.52	70.58±2.22	9.24±1.02	11.32±1.06	8.86±0.53

Nota: el promedio y la desviación estándar de todos los tratamientos empleados:

T1: Control.

T2: Control positivo, Dexametasona al 0.1%.

T3: 0.25% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.*

T4: 0.5% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.*

T5: 1% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.*

T6: 0.25% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.*+ 0.1% de dexametasona.

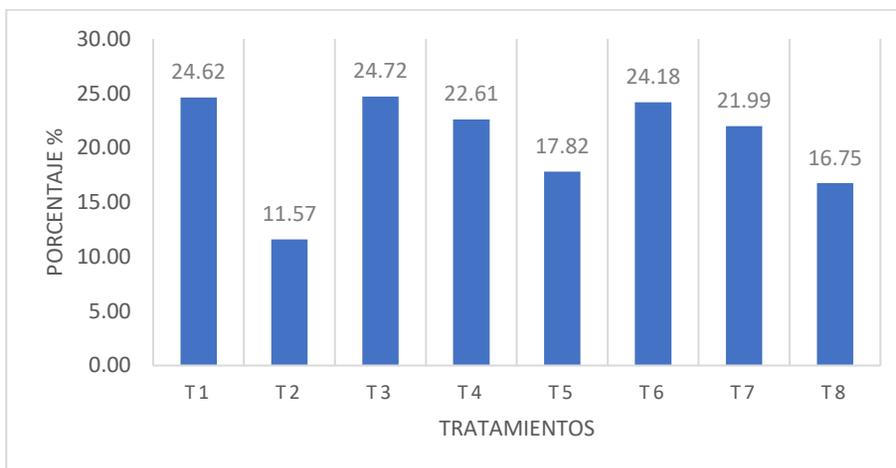
T7: 0.5% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.*+ 0.1% de dexametasona.

T8: 1% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.* +0.1% de dexametasona.

### 3.3.1. Evaluación del Índice Mitótico.

**Figura 6**

*Índice Mitótico en Células meristemáticas de Vicia faba L.*



Nota: esta figura muestra el promedio todos los tratamientos empleados:

T1: Control

T2: Dexametasona al 0.1%;

T3: 0.25% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.* (EAAM 0.25%)

T4: 0.5% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.* (EAAM 0.5%)

T5: 1% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.* (EAAM 1%)

T6: 0.25% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.* + 0.1% de dexametasona. (EAAM 0.25%+Dex 0.1%)

T7: 0.5% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.* + 0.1% de dexametasona. (EAAM 0.5%+Dex 0.1%)

T8: 1% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L.* + 0.1% de dexametasona. (EAAM 1.0%+Dex 0.1%)

La figura 6 y tabla 8 muestran el porcentaje del índice mitótico (IM) para los ocho tratamientos (T1 a T8). Los valores del IM fluctúan entre un mínimo de 11.57% (T2) y un máximo de 24.62% (T3), el T1 (Control) presenta un valor relativamente alto de IM, cuyo valor es 24.62% con un alto porcentaje de células en división en este tratamiento, el T2 (Dexametasona al 0.1%): Presenta el menor IM con 11.57%, demostrando el daño cito y genotóxico de la dexametasona al 0.1% que reduce el número de células en división, lo cual se debe porque este estaría actuando al

inducir el bloqueo del ciclo celular, específicamente en el periodo G1, como inducir a la apoptosis celular (Guan, Chen, Zhan, & Lu, 2018). lo que reduce el número total de células en división.

La reducción de la señalización celular, como la de AKT (proteína quinasa activada por la fosforilación que juega un papel clave en la señalización de muchas funciones celulares, como la supervivencia celular, el crecimiento, el metabolismo y la proliferación.)/mTOR estas son cruciales para controlar la supervivencia y proliferación celular (Omolekan, Chamcheu, Buerger, Huang; 2024), y al inhibir estas vías están asociadas con enfermedades como el cáncer, diabetes y trastornos alimenticios, la dexametasona disminuye la capacidad de las células para progresar a través del ciclo celular, reduciendo el número de células en mitosis (Chrysis, Zaman, Chagin, Takigawa |1 & Sävendahl, 2005)

Los glucocorticoides inducen la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) como subproducto del metabolismo celular. En células vegetales, el estrés oxidativo provocado por la acumulación de especies reactivas de Oxígeno (ROS) lo que genera estrés oxidativo en las células, puede alterar la homeostasis celular y causar daño a las proteínas, lípidos y ADN, El daño oxidativo puede activar mecanismos de control celular, como las vías de apoptosis y por ende el efecto genotóxico del medicamento que interfiere en el proceso de división celular. (Bhat, Sharma, & Anis; 2007) lo cual demostraría que el IM sea bajo, en comparación con otros trabajos en citotoxicidad y genotoxicidad no existe una diferencia relevante con los resultados obtenidos (Araujo, 2012), el T3 (Extracto a 0.25%): presenta un ligero incremento poco significativo de su IM al 24.62%, superando incluso el tratamiento control, lo que indica un potencial efecto citoprotector o estimulador de la división celular del extracto, podría ser por efecto de las acetogeninas, que son componentes bioactivos que se encuentran principalmente en la familia de las *Annonaceae* , por su potente actividad anticancerígena, inhibiendo el complejo I de la cadena

de transporte de electrones en las mitocondrias lo que impide la producción de energía en las células tumorales, también los tetrahidrofuranos y sus derivados, especialmente en compuestos naturales como las acetogeninas, flavonoides, etc. juegan un papel importante en la citoprotección gracias a sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y neuroprotectoras. Estos compuestos protegen las células del daño oxidativo y de la apoptosis inducida, T4 (Extracto a 0.5%); El IM es 22.61%, manteniéndose relativamente alto muy similar al T3 y el control, el T5 (Extracto a 1%) su IM baja a 17.82%, lo que indica una disminución en la actividad mitótica conforme aumenta la concentración de *Annona muricata L.* presenta un posible efecto tóxico o inhibidor en concentraciones más altas del extracto pero que no es estadísticamente significativo, T6 (Extracto a 0.25% + Dexametasona 0.1%): El IM aumenta a 24.18% concluyendo que el extracto en esta concentración es capaz de contrarrestar el efecto inhibidor de la dexametasona y promover la división celular sin alteración por efecto del medicamento, T7 (Extracto a 0.5% + Dexametasona 0.1%): El IM es 21.99%, evidenciando el efecto citoprotector del extracto a esta concentración, el T8 (Extracto a 1%+ Dexametasona 0.1%): presenta un IM que disminuye a 16.75%, demostrando que a la concentración más alta el extracto en combinación con dexametasona no es tan efectiva para estimular la división celular y podría estar mostrando un efecto de inhibición celular en combinación, pero aun así se mantiene alejado del T2 que es la dexametasona sola presentando una diferencia significativa, evidenciando que el extracto presenta el efecto citoprotector frente al medicamento.

Araujo en el 2012, en su trabajo con extracto etílico de *Annona muricata L.*, presenta que en su concentración de 100mg del extracto presento un IM 12.95% y en el otro caso de 100mg + el sorbato de potasio presentó IM de 12.05% manteniéndose cercana a su control 13.75%, evidenciando el efecto citoprotector, y muestra también que las concentraciones más altas del

extracto. presenta una disminución de sus Índices Mitóticos y de fases al igual que la presente investigación, mostrando un efecto citoprotector mayor para su concentración más baja.

**Tabla 9**

*Análisis de varianza aplicado al Índice Mitótico*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	468.205	7	66.886	138.940	<.001
Dentro de grupos	7.702	16	.481		
Total	475.908	23			

El análisis de varianza muestra que se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula debido a que el p valor es 0.001 ( $p < 0.05$ ) lo cual significa que existe diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para el índice mitótico.

En la tabla 9 muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA) aplicado al índice mitótico, donde descompone en dos componentes: un componente entre grupos y el componente dentro de los grupos. El F valor es igual a 138.940 cociente de media cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de los grupos, Un valor de F alto indica que la variabilidad entre los grupos es mucho mayor que la variabilidad dentro de los grupos, sugiriendo que existen diferencias significativas entre los grupos de Índice Mitótico de los tratamientos. Ya que también en el P-valor es inferior a 0.05, siendo 0.001. para un nivel de confianza de 95.0%

**Tabla 10***Test de Duncan aplicada para el Índice Mitótico*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T2	3	11.5710			
T8	3		16.7452		
T5	3		17.8161		
T7	3			21.9887	
T4	3			22.6146	
T6	3				24.1782
T1	3				24.6245
T3	3				24.7212
Sig.		1.000	.077	.286	.378

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

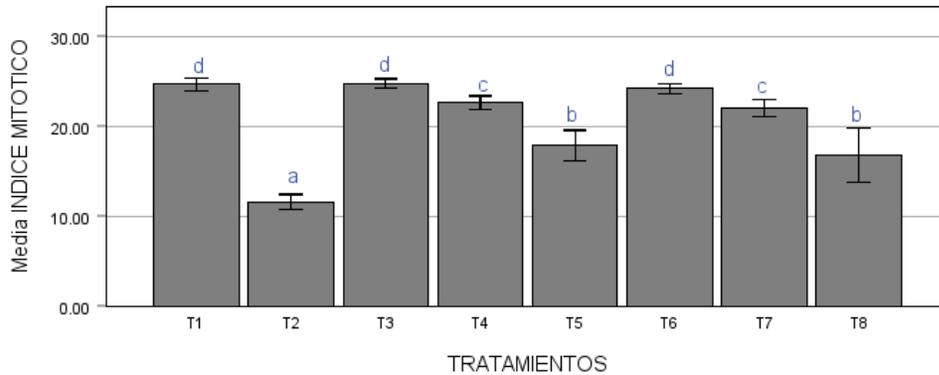
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

Se procedió a realizar el test de Duncan para la comparación múltiple de medias de los tratamientos.

En la tabla 10 presenta la comparación múltiple de las medias con el objetivo de identificar las medias que difieren significativamente entre sí. Por tal se presenta 4 subconjuntos, La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí

## Figura 7

*Test de Duncan aplicada para el Índice Mitótico para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneas entre los tratamientos*

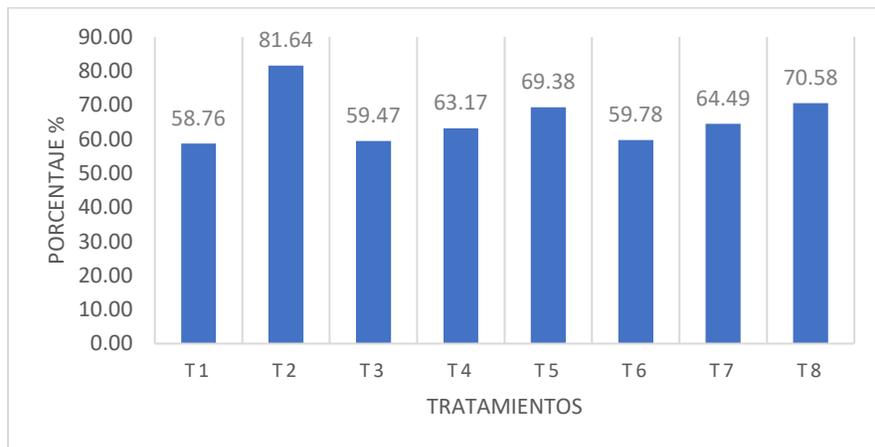


La figura 7 muestra la media del índice mitótico (IM) para diferentes tratamientos (T1-T8) con barras de error que representan  $\pm$  desviaciones estándar (SD). Cada barra está etiquetada con letras ("a", "b", "c", "d"), para comparar las medias de los tratamientos. Las letras diferentes indican que las medias son significativamente distintas entre sí ( $p < 0.05$ ). T1, T3 y T6 tienen las medias más altas del IM, con valores alrededor de 25-30, y comparten la letra "d". Esto indica que no hay diferencias significativas entre estos tratamientos, pero sí respecto a los otros tratamientos. T4 y T7 tienen medias menores que T1, T3 y T6, pero son significativamente mayores que T5 y T8, compartiendo la letra "c". T5 y T8 comparten la letra "b", indicando que sus medias son significativamente menores que las de T1, T3, T4, T6 y T7. T2 tiene la media más baja del IM, con un valor cercano a 10, y está marcado con la letra "a", lo que significa que es significativamente diferente de todos los demás tratamientos.

### 3.3.2. Evaluación de Índice Profásico.

**Figura 8**

*Índice Profásico de células meristemáticas de Vicia faba L.*



Nota: promedios de todos los tratamientos empleados: T1: Control/agua destilada; T2: Dexametasona al 0.1%; T3: EAAM 0.25%; T4: EAAM 0.5%; T5: EAAM 1%; T6: EAAM 0.25%+Dex 0.1%; T7: EAAM 0.5%+Dex 0.1%; T8: EAAM 1.0%+Dex 0.1%

La figura 8 y tabla 8 muestra el Índice Profásico (porcentaje de células en profase IP) para los ocho tratamientos (T1 a T8).

El tratamiento T1 (Control): posee un IP de 58.76% de células en profase, lo que indica un nivel elevado de actividad mitótica en este tratamiento mostrando normalidad, el tratamiento T2 (Dexametasona al 0.1%): presenta el mayor IP con un 81.64%, lo que sugiere una acumulación de células en profase, posiblemente debido a un bloqueo en la progresión del ciclo celular, la dexametasona podría estar causando un bloqueo o retraso en la progresión del ciclo celular específicamente en la Profase, porque puede inducir un arresto en la fase G2/M del ciclo celular, al detectar alteraciones en el ciclo, ya que el arresto en esta etapa permite corregir estos daños antes de la mitosis (Zhou & Elledge; 2000) lo que provoca un acumulamiento de células en esta fase y no avanzan a las fases posteriores, también podría interferir con la formación y el

funcionamiento del huso mitótico, una estructura crucial para la separación de las cromátidas durante la mitosis (anafase). Si el huso mitótico no se forma correctamente o su dinámica está alterada, en algunas condiciones, la dexametasona puede inducir apoptosis en células en división, especialmente en la fase G2/M. Las células que logran entrar en profase pueden estar en un estado estresado y no avanzar correctamente, lo que también podría contribuir a un aumento del IP. (Barnes, 1998; Rieder & Maiato, 2004), así reporta también Araujo en el 2012 con el mismo extracto, en *Allium sepa L.* como un bioensayo presentando un mayor IP para su tratamiento de sorbato de potasio.

El tratamiento T3 (Extracto a 0.25%); su IP es 59.47%, con valores similares al control, el tratamiento T4 (Extracto a 0.5%); presenta un aumento moderado de su IP a 63.17%, observando que esta concentración del extracto podría estar estimulando la profase de la mitosis, el tratamiento T5 (Extracto a 1%), el IP aumenta a 69.38%, lo que sugiere una acumulación de células en profase, comparando con el tratamiento T2 no tan pronunciado, esto indica un posible efecto inhibitor en las fases posteriores de la mitosis a concentraciones más altas del extracto, el tratamiento T6 (Extracto a 0.25% + dexametasona 0.1%): presenta una disminución del IP a 59.78% en comparación con el control 58.76%, evidenciando que la combinación de extracto con dexametasona disminuye la acumulación de células en profase observada en T2, sugiriendo un posible efecto citoprotector del extracto contra el bloqueo del ciclo celular inducido por la dexametasona, el tratamiento T7 (Extracto a 0.5%+ Dexametasona 0.1%): El IP se mantiene en 64.49%, lo que muestra un efecto similar a T4 y en comparación con la dexametasona presenta un efecto protector ya que un IP es menor al T2, lo que sugiere un equilibrio entre la progresión mitótica y el efecto de la dexametasona y T8 (Extracto a 1%+ Dexametasona 0.1%): El IP de 70.58%, en comparación con el tratamiento T5 no presenta una diferencia pero si con el

tratamiento 2 dexametasona 81.64% evidenciando que en el tratamiento 8 su IP no llega a alcanzar el IP a la dexametasona ya que es de 81.64%. mostrando el efecto protector que presenta el extracto.

**Tabla 11**

*Análisis de varianza aplicado para el Índice Profasico*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1262.518	7	180.360	67.353	<.001
Dentro de grupos	42.845	16	2.678		
Total	1305.363	23			

la tabla 11 presenta los resultados para el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el índice Profasico, El análisis divide los resultados en dos partes: un componente que muestra las diferencias entre los grupos y otro que representa las variaciones dentro de los grupos. El F valor es igual a 67.353 cociente de media cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de los grupos, Un valor de F alto indica que la variabilidad entre los grupos es mucho mayor que la variabilidad dentro de los grupos, demostrando que existen diferencias significativas entre los grupos de Índice Profasico de los tratamientos. Ya que también en el P-valor es inferior a 0.05 ( $p < 0.05$ ) siendo 0.001. para un nivel de confianza de 95.0%, se rechaza la hipótesis alterna ( $H_0$ ) y se acepta la hipótesis alterna ( $H_1$ ) lo que indica que existe n diferencias significativas entre las medias de los tratamientos.

Para identificar cuáles medias son significativamente distintas entre sí, es necesario realizar una prueba Post-Hoc

**Tabla 12**

*Test de Duncan aplicado para el Índice Profasico*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T1	3	58.7554			
T3	3	59.4718			
T6	3	59.7845			
T4	3		63.1710		
T7	3		64.4856		
T5	3			69.3771	
T8	3			70.5824	
T2	3				81.6356
Sig.		.477	.340	.380	1.000

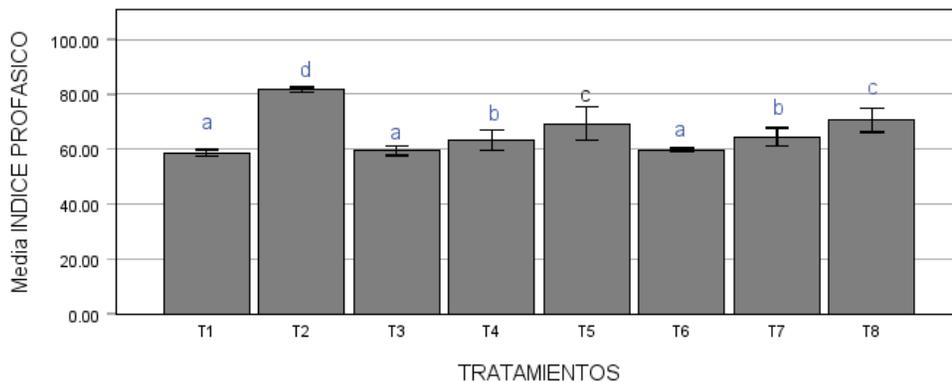
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

la tabla 12 presenta una comparación múltiple que permite identificar las medias que son significativamente diferentes entre sí. Por lo cual presenta 4 subconjuntos homogéneos para el Índice Profasico, La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí.

**Figura 9**

*Test de Duncan aplicada para el Índice Profasico para identificar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneas entre los tratamientos*

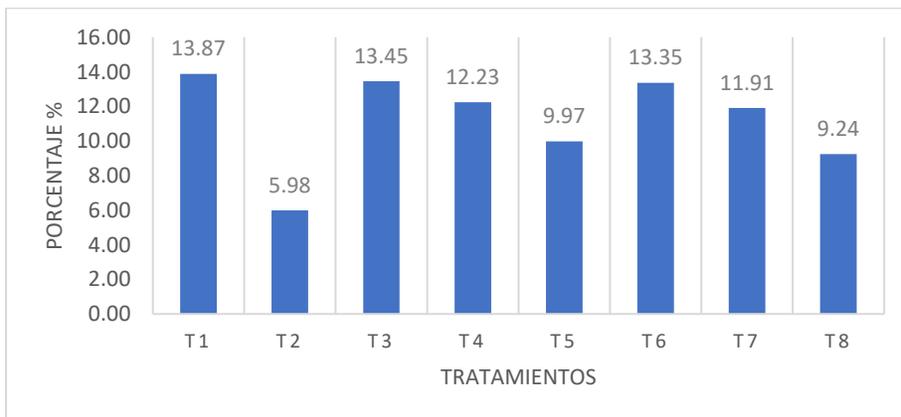


La figura 9 muestra la media del índice Profasico (IP) para los diferentes tratamientos (T1-T8) con barras de error que representan  $\pm$  desviaciones estándar (SD). Cada barra está etiquetada con letras ("a", "b", "c", "d"), para comparar las medias de los tratamientos. Las letras diferentes indican que las medias son significativamente distintas entre sí ( $p < 0.05$ ). los tratamientos: T1, T3 y T6 tienen las medias del IP, con valores alrededor de 58-60, y comparten la letra "a". Esto indica que no hay diferencias significativas entre estos tratamientos, pero sí respecto a los otros tratamientos. T4 y T7 que tienen medias mayores que los tratamientos T1, T3 y T6, pero son significativamente menores que T5, T8 y T2, compartiendo la letra "b". los tratamientos T5 y T8 comparten la letra "c", indicando que sus medias son significativamente mayores que las de los tratamientos: T1, T3, T4, T6 y T7 pero inferior al tratamiento T2; T2 tiene la media más alta del IP, con un valor medio de 81.6356, y está marcado con la letra "d", lo que indica que es significativamente diferente de todos los demás tratamientos

### 3.3.3. Evaluación del Índice Metafásico.

**Figura 10**

*Índice Metafasico de células meristemáticas de Vicia faba L.*



Nota: promedios de todos los tratamientos empleados: T1: Control; T2: Dexametasona al 0.1%; T3: EAAM 0.25%; T4: EAAM 0.5%; T5: EAAM 1%; T6: EAAM 0.25%+Dex 0.1%; T7: EAAM 0.5%+Dex 0.1%; T8: EAAM 1.0%+Dex 0.1%

La figura 10 y tabla 8 presentan el Índice Metafásico (porcentaje de células en metafase IMe) para ocho tratamientos (T1 a T8).

En el tratamiento T1 (Control): se observa un 13.87% de células en metafase, que deben a un buen flujo del ciclo celular en este tratamiento, sin intervención de sustancias que afecten la mitosis, el tratamiento T2 (Dexametasona a 0.1%): presenta el valor más bajo, con solo 5.98% de células en metafase. Esto puede indicar un bloqueo en la fase profásica, impidiendo que las células progresen hasta la metafase, lo que podría ser resultado de la interferencia de la dexametasona en la progresión mitótica, debido probablemente que muchas células quedan detenidas en fases anteriores (como la profase, lo que se refleja que su índice Profásico sea elevado) o en la fase G2/M inhiben la corrección de daños ocasionados (Zhou & Elledge; 2000), lo que reduce el número de células en metafase, el tratamiento T3 (Extracto a 0.25%): El IMe es de 13.45%, cercano al del control, lo que indica que el extracto en esta concentración no afecta en el avance hacia la metafase, el tratamiento T4 (Extracto a 0.5%): disminuye ligeramente a 12.23%, lo que indica que a esta concentración el extracto tiene un impacto leve en la progresión mitótica, pero sigue permitiendo la transición a la metafase en la mayoría de las células, el tratamiento T5 (Extracto a 1%): Presenta 9.97%, lo que demuestra que a concentraciones más altas, el extracto puede comenzar a tener un efecto inhibitorio en la progresión mitótica, T6 (Extracto a 0.25%+ Dexametasona 0.1%): El índice es de 13.35%, valor que indica el efecto citoprotector del extracto frente a la dexametasona ya que contrarresta el bloqueo observado en T2, permitiendo que más células lleguen a la metafase, en el tratamiento T7 (Extracto a 0.5%+ Dexametasona 0.1%): es de 11.91%, lo que muestra un efecto moderado de la combinación sobre la progresión del ciclo celular y T8 (Extracto a 1% + Dexametasona 0.1%): El IMe es de 9.24% siendo mayor al T2 y similar al T5, lo que indica que a esta concentración se presenta una inhibición de la transición a la metafase

pero el extracto posee el efecto citoprotector en comparación con el tratamiento 2, sin embargo, a concentraciones más altas del extracto se observa una reducción en el índice metafásico, lo que podría deberse a un efecto citotóxico o al estrés oxidativo, lo cual puede inhibir el correcto ensamblaje del huso mitótico y la alineación de los cromosomas,(Mutakin, et al; 2022) y en los tratamientos T6, T7 y T8 La combinación del extracto con dexametasona parece mitigar en cierta medida el efecto inhibitor de la dexametasona sola (T2). En los tratamientos combinados, se observa un aumento en el porcentaje de células en metafase, lo que muestra que el extracto está protegiendo a las células del bloqueo inducido por la dexametasona, favoreciendo la progresión a la metafase.

**Tabla 13**

*Análisis de varianza aplicado para el Índice Metafasico*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	152.960	7	21.851	35.070	<.001
Dentro de grupos	9.969	16	.623		
Total	162.929	23			

El análisis de varianza para el Índice Metafasico permitió rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ): porque el valor p es 0.001, ya que es menor ( $p < 0.05$ ) que afirma que las medias de los tratamientos son iguales, aceptando la hipótesis alterna que existe una diferencia significativa entre las medias de los tratamientos, esto indica que existen diferencias significativas en el índice Metafasico entre las medias de los diferentes tratamientos.

La tabla 13 representa los resultados del análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el índice Metafasico, se realizó una comparación múltiple con el objetivo de identificar las medias que presentan diferencias significativas entre ellas. El F valor es igual a 35.070 cociente de media

cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de los grupos, Un valor de F alto indica que es mucho mayor la variabilidad entre los grupos que dentro de los grupos, evidenciando que existe diferencias significativas entre los grupos de Índice Metafasico de los tratamientos, ya que también en el P-valor es inferior a 0.05, para un nivel de confianza de 95.0%

Para identificar las medias que son significativamente distintas entre sí, es necesario realizar una prueba Post-Hoc,

**Tabla 14**

*Test de Duncan aplicado para el Índice Metafasico*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
T2	3	5.9783				
T8	3		9.2369			
T5	3		9.9732			
T7	3			11.9066		
T4	3			12.2290	12.2290	
T6	3				13.3522	13.3522
T3	3				13.4503	13.4503
T1	3					13.8698
Sig.		1.000	.270	.624	.090	.458

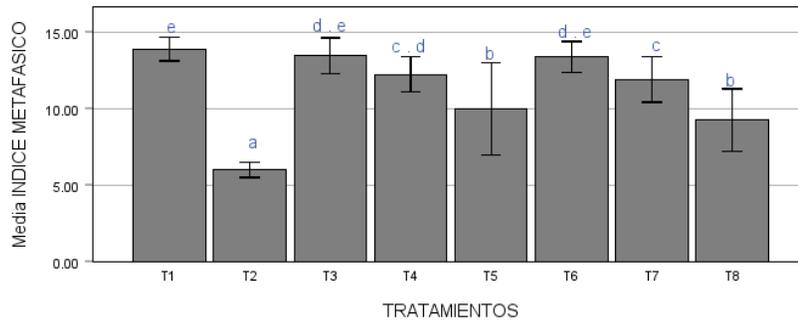
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

la tabla 14 muestra que las medias son comparadas entre si mediante la comparación múltiple para determinar si son significativamente diferentes de las otras. Por lo cual presenta 5 subconjuntos homogéneos para el Índice Metafasico, La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí.

## Figura 11

*Test de Duncan aplicada para el Índice Metafásico para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos*



La figura 11 muestra la media del Índice Metafásico para diferentes tratamientos (T1 a T8) con barras de error representando  $\pm 2$  desviaciones estándar. Se utilizan letras (a, b, c, d, e) para indicar diferencias estadísticas significativas según la prueba de comparación múltiple

El tratamiento T1 tiene la media más alta del índice metafásico, alrededor de 15, y está etiquetado con la letra "e". Esto indica que T1 es significativamente diferente de la mayoría de los otros tratamientos, excepto T3 y T4, que comparten la letra "e" y "d", T2 tiene la media más baja, cerca de 5, y está marcado con la letra "a". Esto significa que T2 es significativamente diferente de todos los demás tratamientos, T3 y T4 tienen medias más altas que T5, T6, T7, y T8 pero más bajas que T1. T3 comparte las letras "c" y "d", indicando que no es significativamente diferente de T4 o T5.

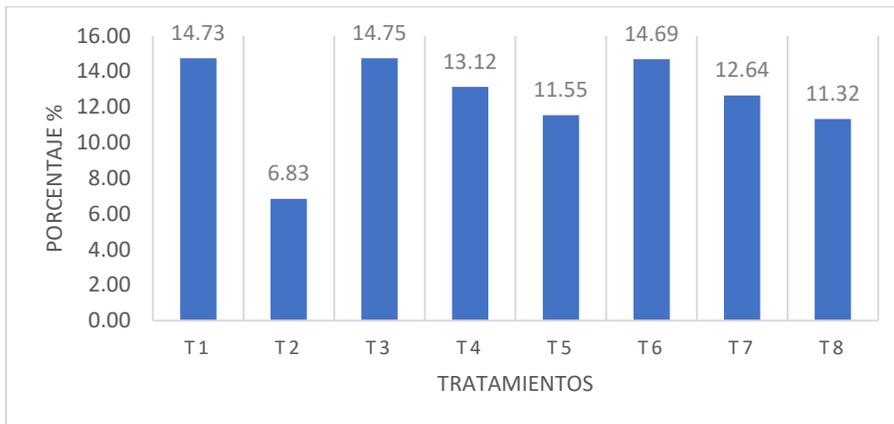
El tratamiento T4 comparte las letras "d" y "e", indicando que no es significativamente diferente de T3 o T1. T5, T6, y T7 tienen medias similares, alrededor de 10-12.5, y comparten la letra "c" y "b" con T8, indicando que no son significativamente diferentes entre sí pero sí de T1 y T2. T8 tiene una media más baja, similar a la de T2 pero algo mayor, y está etiquetado con "b". Es

significativamente diferente de T1, T3, y T4. Los resultados sugieren que hay una variabilidad significativa en cómo cada tratamiento afecta el índice metafásico, reflejando diferencias en su impacto en la célula durante la mitosis. Esto es crucial para entender los efectos específicos de cada tratamiento y para guiar decisiones futuras sobre su uso o modificación.

### 3.3.4. Evaluación del Índice Anafásico.

**Figura 12**

*Índice Anafásico de células meristemáticas de Vicia faba L.*



Nota: promedios de todos los tratamientos empleados: T1: Control; T2: Dexametasona al 0.1%; T3: EAAM 0.25%; T4: EAAM 0.5%; T5: EAAM 1%; T6: EAAM 0.25%+Dex 0.1%; T7: EAAM 0.5%+Dex 0.1%; T8: EAAM 1.0%+Dex 0.1%

La figura 12 y tabla 8 presenta el Índice Anafásico (porcentaje de células en Anafase, IA) para ocho tratamientos (T1 a T8).

En el tratamiento T1 (Control): Se observa un 14.73% de células en Anafase, lo que demuestra un buen flujo del ciclo celular en este tratamiento, sin intervención de sustancias que afecten significativamente la mitosis, en el tratamiento T2 (Dexametasona al 0.1%) presenta el valor más bajo, con solo 6.83% de células en Anafase, por la presencia de la dexametasona ya que interfiere en la transición de metafase a anafase, probablemente debido a la inhibición del factor

promotor de la mitosis debido a que puede afectar la función del complejo promotor de Anafase, impidiendo su capacidad para promover la degradación de ciclina B (inactivación del factor promotor de mitosis) y securina, proteína que inhibe la separasa enzima que corta las coesinas que mantienen las cromátidas unidas durante la metafase, permitiendo su separación durante la anafase,( Hu, Jin, Cao & Liu, 2022) Durante la anafase, los microtúbulos del huso mitótico se acortan, lo que permite separar las cromátidas hermanas que estaban previamente unidas por el centrómero.(Biology Dictionary, n.d.), algunos tratamientos pueden afectar la dinámica de los microtúbulos, inhibiendo su formación o interfiriendo en su estabilidad. Esto puede causar una incorrecta segregación de las cromatidas, aumentando el tiempo que las células permanecen en metafase o bloqueando el proceso de anafase. Esto puede causar un bloqueo en la transición de la metafase al anafase, aumento en el tiempo de metafase con la apoptosis especialmente si el complejo promotor de anafase está comprometido. En el tratamiento T3 (Extracto a 0.25%): El IA es de 14.75%, cercano e inclusive mayor al del control, lo que indica que el extracto en esta concentración no afecta negativamente el avance hacia la Anafase, el tratamiento T4 (Extracto a 0.5%) es de 13.12%, lo que indica que a esta concentración el extracto tiene un impacto leve en la progresión mitótica, pero sigue permitiendo la transición a la anafase en la mayoría de las células, T5 (Extracto a 1%): es de 11.55%, lo que evidencia que a concentraciones más altas, el extracto puede comenzar a tener un efecto inhibitorio en la progresión mitótica, el tratamiento T6 (Extracto a 0.25%+ Dexametasona 0.1%): El IA es 14.69%, valor que indica que la combinación del extracto con dexametasona contrarresta el bloqueo observado en tratamiento T2 que es de dexametasona y en comparación con este presenta un efecto citoprotector frente a la dexametasona, permitiendo que más células lleguen a la anafase, el tratamiento T7 (Extracto a 0.5%+ Dexametasona 0.1%): es 12.64%, lo que sugiere un efecto moderado de la combinación sobre la progresión del ciclo

celular y el tratamiento T8 (Extracto a 1% + Dexametasona 0.1%): El IA es 11.32%, lo que indica que a esta concentración la combinación tiene un efecto más fuerte en la inhibición de la transición a la anafase, Los tratamientos T4, T5, T7 y T8 muestran IA moderados. Estos tratamientos podrían estar promoviendo la progresión del ciclo celular, pero con menos eficiencia que los tratamientos con altos índices. Este comportamiento permite una activación parcial de las vías reguladoras del ciclo celular, o la presencia de efectos citotóxicos menores que ralentizan la división celular sin bloquearla completamente.

**Tabla 15**

*Analisis de varianza aplicado para el Indice Anafasico*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	148.875	7	21.268	33.343	<.001
Dentro de grupos	10.206	16	.638		
Total	159.081	23			

El análisis de varianza permitió rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ) dado que el valor p es 0.001 ( $p < 0.05$ ) se rechaza la hipótesis nula que propone que todas las medias de los tratamientos son iguales. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa, que indica la existencia de diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para el índice Anafasico de ellas

La tabla 15 presenta resultados para el análisis de varianza (ANOVA) aplicado al índice Anafasico, El análisis se divide en dos partes: un componente que refleja las diferencias entre los grupos y otro que captura las variaciones dentro de los grupos. El F valor es igual a 33.343 cociente de media cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de los grupos, Un valor alto de F indica que la variabilidad entre los grupos es considerablemente mayor que la variabilidad dentro

de los grupos, lo que sugiere la presencia de diferencias significativas entre los grupos del Índice Anafásico en los diferentes tratamientos. Además, con un nivel de confianza del 95%

Para identificar las que medias son significativamente distintas entre sí, es necesario realizar una prueba Post-Hoc, como es el test de Duncan para la comparación múltiple de medias de los diferentes tratamientos.

**Tabla 16**

*Test de Duncan aplicada para el Índice Anafásico*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T2	3	6.8337			
T8	3		11.3247		
T5	3		11.5489		
T7	3		12.6429	12.6429	
T4	3			13.1249	
T6	3				14.6876
T1	3				14.7347
T3	3				14.7489
Sig.		1.000	.072	.470	.930

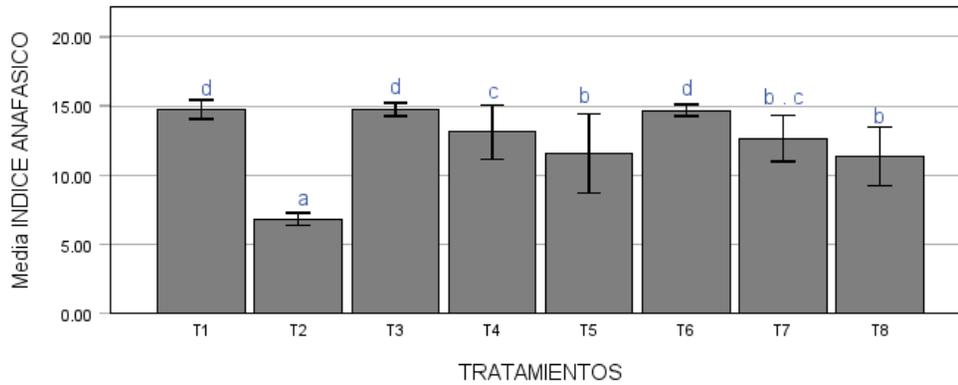
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

La tabla 16 indica la comparación múltiple de medias para determinar que son significativamente diferentes entre sí. Por lo cual presenta 4 subconjuntos homogéneos para el Índice Anafásico, La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí.

### Figura 13

*Test de Duncan aplicado para el Índice Anafásico para indicar diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos*



La figura 13 de barras muestra la media del Índice Anafásico (porcentaje de células en anafase) para diferentes tratamientos (T1 a T8), con barras de error que indican la desviación estándar ( $\pm$  SD). Además, las letras sobre cada barra (a, b, c, d) indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos

T1 tiene la media más elevada del IA, alrededor de 16%, y está etiquetado con la letra "d". Esto indica que T1 es significativamente diferente de la mayoría de los otros tratamientos, excepto T3 y T4, el T2 tiene la media cercana a 6 la más baja, y está marcado con la letra "a". Esto significa que T2 es significativamente diferente de todos los demás tratamientos, los T5 y T8 comparten la letra "b" lo que sugiere que no son significativamente diferentes entre sí pero lo son de los tratamientos con "d", el T4 tiene la letra "c", lo que indica que su valor es intermedio entre los tratamientos "b" y "d" y es significativamente diferente de los dos grupos. El T7 comparte la letra "b" con T5 y T8, lo que significa que no hay diferencias significativas entre estos tratamientos,

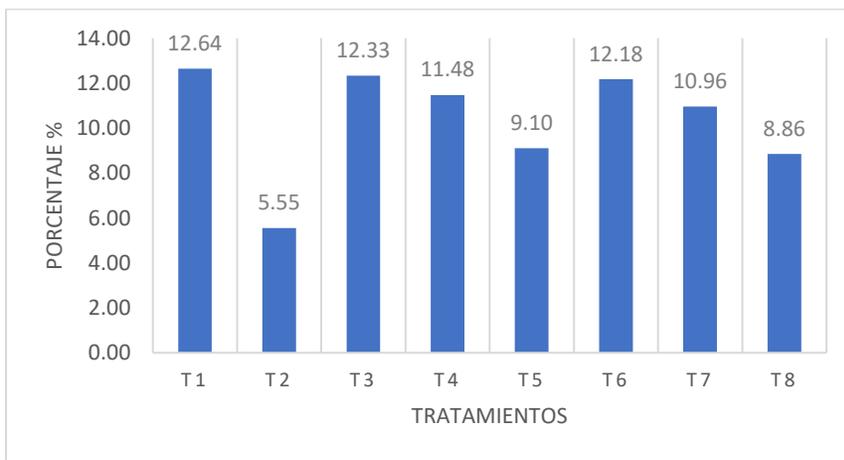
También tiene la letra “c”, lo que lo agrupa con T4, indicando que T7 no es estadísticamente diferente de T4.

El análisis estadístico permite afirmar que los tratamientos T1, T3 y T6 son los que generan el mayor IA demostrando que el extracto a la concentración más baja presenta efecto protector frente al daño del toxico.

### 3.3.5. Evaluación del Índice Telofásico.

**Figura 14**

*Índice Telofásico de células meristemáticas de Vicia faba L.*



Nota: promedio de todos los tratamientos empleados: T1: Control; T2: Dexametasona al 0.1%; T3: EAAm 0.25%; T4: EAAm 0.5%; T5: EAAm 1%; T6: EAAm 0.25%+Dex 0.1%; T7: EAAm 0.5%+Dex 0.1%; T8: EAAm 1.0%+Dex 0.1%

La figura 14 y la tabla 8 presentan el Índice Telofásico (porcentaje de células en Telofase IT) para ocho tratamientos (T1 a T8)

En el tratamiento T1 (Control): Se observa un IT de 12.64%, reflejando un nivel elevado de actividad mitótica mostrando normalidad, el tratamiento T2 (Dexametasona al 0.1%): presenta un IT de 5.55% el más bajo, lo que sugiere una disminución notable de células en la fase de telofase,

posiblemente por lo ya mencionado que causa la dexametasona en la división celular en comparación con el tratamiento T1, el tratamiento T3 (Extracto a 0.25%); su IT de 12.33%, similar al control, lo que sugiere un efecto leve de mitosis sin interferir en esta, el tratamiento T4 (Extracto a 0.5%); con un IT de 11.48%, lo que indica que esta concentración del extracto podría estar induciendo un bloqueo de la mitosis, el tratamiento T5 (Extracto a 1%): El IT de 9.10%, presentando una disminución de células en telofase, aunque no tan pronunciado como en T2. Esto podría indicar un posible efecto inhibidor en las fases posteriores de la mitosis a concentraciones más altas del extracto, el tratamiento T6 (Extracto a 0.25%+ Dexametasona 0.1%): con un IT de 12.18%, que comparando con los tratamientos T3 y T1 evidencian que la combinación de extracto con dexametasona no disminuye la acumulación de células en telofase observada en el tratamiento T2, sugiriendo el efecto citoprotector del extracto contra el bloqueo del ciclo celular inducido por la dexametasona, el tratamiento T7 (Extracto a 0.5%+ Dexametasona 0.1%): El IT se mantiene en 10.96%, lo que muestra un efecto similar a tratamiento T4, lo que sugiere un equilibrio entre la progresión mitótica y el efecto de la dexametasona y tratamiento T8 (Extracto a 1%+ Dexametasona 0.1%): El IT es de 8.86% siendo uno de los valores más bajos a excepción pero comparado con el tratamiento T2, se presenta un IT muy por encima de dexametasona lo que podría sugerir que pese a que existe una disminución a estas concentraciones aún se presenta un efecto citoprotector ya que sus IT están muy por encima de 5.55% que es de dexametasona.

**Tabla 17***Análisis de varianza aplicada para el Índice Telofásico*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	122.813	7	17.545	143.740	<.001
Dentro de grupos	1.953	16	.122		
Total	124.766	23			

El análisis de varianza para el Índice Telofásico mostro que se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ): ya que el valor p es menor que 0.05 ( $p < 0.05$ ) siendo 0.001. Esto demuestra la presencia de diferencias significativas en el índice Telofásico entre las medias de los diferentes tratamientos ya que se puede rechazar la hipótesis nula que sostiene que todas las medias de los tratamientos son iguales. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa, que establece que hay diferencias significativas entre las medias de los tratamientos

La tabla 17 presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) aplicado al Índice Telofásico, el cual se descompone en dos componentes: uno que representa las diferencias entre grupos y otro que refleja las variaciones dentro de los grupos. El valor de F calculado es 143.740, que se obtiene al dividir la media cuadrática entre grupos entre la media cuadrática dentro de los grupos. Un valor alto de F indica que la variabilidad entre los grupos es considerablemente mayor que la variabilidad dentro de ellos, lo que sugiere la existencia de diferencias significativas entre los grupos del Índice Telofásico en los tratamientos. con un nivel de confianza del 95%.

Para identificar las medias que son significativamente distintas entre sí, es necesario realizar una prueba Post-Hoc, que en este caso es el test de Duncan.

**Tabla 18***Test de Duncan aplicada para el Índice Telofásico*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T2	3	5.5524			
T8	3		8.8560		
T5	3		9.1008		
T7	3			10.9649	
T4	3			11.4751	
T6	3				12.1758
T3	3				12.3291
T1	3				12.6401
Sig.		1.000	.403	.093	.142

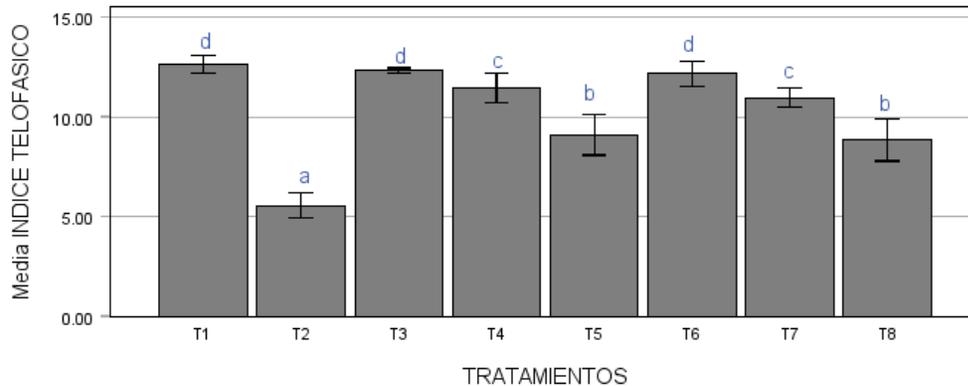
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

En la tabla 18 se presenta la comparación múltiple con el fin de identificar cuáles medias difieren significativamente entre sí. Por lo cual presenta 4 subconjuntos homogéneos para el Índice Telofásico, La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí.

## Figura 15

*Test de Duncan para el Índice Telofásico para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneas entre los tratamientos*



La figura 15 de barras muestra las medias del Índice Telofásico (porcentaje de células en Telofase) para diferentes tratamientos (T1 a T8), con barras de error que indican la desviación estándar ( $\pm$  SD) además, las letras sobre cada barra (a, b, c, d) indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos

El tratamiento T1 tiene la media más elevada del IT, alrededor de 12.5%, y está etiquetado con la letra "d". Esto indica que T1 es significativamente diferente de la mayoría de los otros tratamientos, excepto T3 y T4, el T2 tiene la media cercana a 5.5 la más baja, y está marcado con la letra "a". Esto significa que T2 es significativamente diferente de todos los demás tratamientos, los T5 y T8 comparten la letra "b" lo que demuestra que no son significativamente diferentes entre sí, pero lo son de los tratamientos con "d", el T4 y T7 tiene la letra "c", lo que indica que su valor es intermedio entre los tratamientos "b" y "d" y es significativamente diferente de los dos grupos.

**Figura 16**

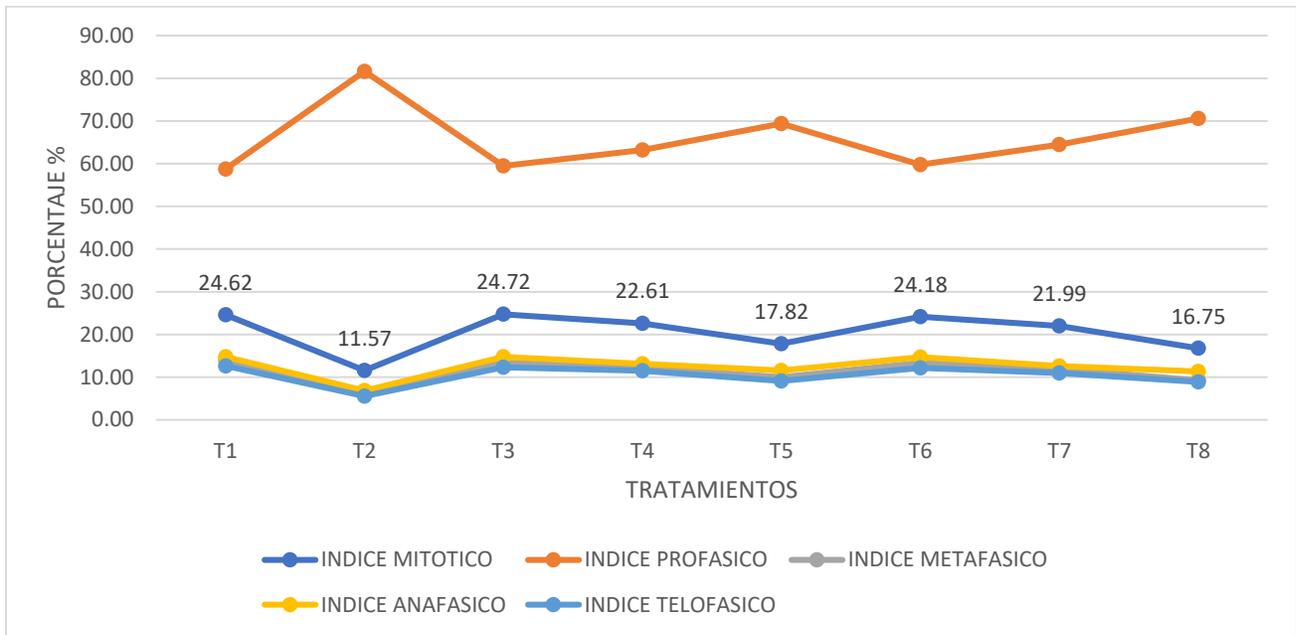
*Efecto citoprotector del extracto alcohólico al 70° de Annona muricata L. seco al 20% frente al daño inducido por Dexametasona en fases del ciclo celular*



Nota; microfotografías del efecto protector en las diferentes fases del extracto alcohólico de *Annona muricata L.*

**Figura 17**

*Comparación de Índice Mitótico y de fases de los 8 tratamientos*



Nota: el promedio de todos los tratamientos empleados:

T1: Control.

T2: Control positivo, Dexametasona al 0.1%

T3: 0.25% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L*

T4: 0.5% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L*

T5: 1% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L*

T6: 0.25% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L* + 0.1% de dexametasona

T7: 0.5% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L* + 0.1% de dexametasona

T8: 1% de Extracto alcohólico (70°) de hojas secas al 20% de *Annona muricata L* + 0.1% de dexametasona

La figura 17 muestra que el Índice Profásico es el más elevado con un pico en el tratamiento T2 que es el control, los Índices (Metafásico y Anafásico) son muy similares y el Índice Telofásico es el menor.

### 3.3.6. Evaluación del Índice de Puentes Anafásicos

Los bioensayos con *Vicia faba L.* son especialmente valorados por su sensibilidad a los agentes mutagénicos y su capacidad para proporcionar respuestas que reflejan las reacciones de las células mamíferas frente a daños genéticos, Esta sensibilidad permite detectar efectos tóxicos

de compuestos en el medio ambiente, lo que resulta crucial para la evaluación de la genotoxicidad. La aplicación de estos bioensayos en la evaluación de la genotoxicidad es fundamental para el monitoreo de la salud ambiental y la protección de la salud pública. Los estudios han demostrado que *Vicia faba* no solo es un modelo eficaz para la detección de daños genéticos (Iqbal, 2016; de Souza et al., 2016; Costa et al., 2021)

los parámetros de genotoxicidad son esenciales para evaluar el daño al material genético causado por agentes químicos, físicos o biológicos. Estos parámetros incluyen la inducción de micronúcleos, células binucleadas, aberraciones cromosómicas, y la formación de aductos de ADN, entre otros. Los micronúcleos son fragmentos de cromosomas que no se integran en las células hijas durante la división celular, y su presencia indica daños en el ADN. Las aberraciones cromosómicas pueden manifestarse como roturas de cromosomas o fusiones, reflejando la inestabilidad genética inducida por exposiciones a agentes genotóxicos. La evaluación de estos parámetros se lleva a cabo a través de diversos ensayos in vitro e in vivo, que ayudan a determinar el potencial de un compuesto para causar mutaciones o cáncer (Bolognesi et al., 2006; ICH, 2012)

**Tabla 19**

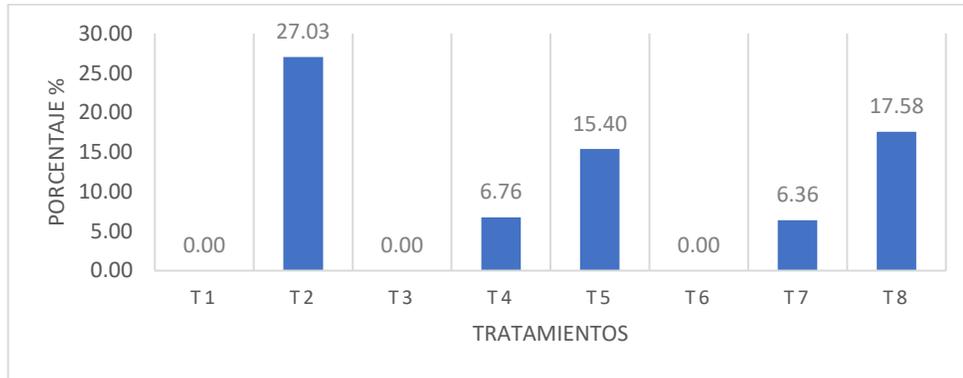
*Porcentajes y desviación estándar de índice de Puentes Anafasicos*

	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>
<b>IPA</b>	0.0±0	27.03±2.23	0.0±0	6.76±1.25	15.40±3.74	0.0±0	6.36±1.26	17.58±1.33

Nota: esta tabla muestra el promedio y desviación estándar de todos los tratamientos empleados: T1: Control; T2: Dexametasona al 0.1%; T3: EAAM 0.25%; T4: EAAM 0.5%; T5: EAAM 1%; T6: EAAM 0.25%+Dex 0.1%; T7: EAAM 0.5%+Dex 0.1%; T8: EAAM 1.0%+Dex 0.1%

## Figura 18

*Índice de Puentes Anafásicos en meristemos radiculares de Vicia faba L. en división celular*



La figura 18 y tabla 20, muestran el Índice de puentes Anafásico se encontró el tratamiento T2 con 27.03% IPA con una diferencia con relación a lo que reporta Araujo en el 2012 con 22.41% para sorbato de potasio al 1g/L, y en los tratamientos con extractos alcohólicos de hojas de *Annona muricata L.* como el tratamiento T3, resultado 0% a comparación de los tratamientos T4 y T5 se obtuvieron 6.76% y 15.40% respectivamente esto indicaría un efecto, en los extremos de los telómeros del ADN, se produce una adhesión que puede hacer que los cromosomas se peguen entre sí, lo que a su vez genera figuras mitóticas anormales, como los puentes anafásicos. Este fenómeno ocurre debido al acortamiento de los telómeros, lo que provoca que los cromosomas no se separen correctamente durante la mitosis, llevando a problemas en la distribución del material genético (Maciejowski, Li, Bosco, Campbell & de Lange, 2015) posiblemente sea por ruptura de cromosomas dicentricos ya que estos a menudo resultan de estos cromosomas, al intentar separarse durante la Anafase, los dos centrómeros tiran en direcciones opuestas, formando el puente entre los dos polos; por la fusión de los telómeros por la pérdida de la función como la disfunción de la telomerasa, puede llevar a que los extremos de los cromosomas se fusionen entre si resultando cromosomas dicentricos, por las fallas en el punto de control celular. (Murnane, 2010). y el efecto

de los que fueron expuestos a el extracto y a dexametasona los tratamientos T7, y T8 con 6.26% y 17.58% respectivamente, para este último se presenta un ligero incremento lo que se explicaría por un posible daño generado por la combinación del extracto a esta alta concentración con la dexametasona, Para el caso del tratamiento T3 y T6 donde es 0% podría ser que en esa concentración no produce efectos deletéreos o por la acción protectora de las acetogeninas como menciona (Araujo, 2012).

**Tabla 20**

*Análisis de varianza aplicada para el Índice de Puentes Anafásicos*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2082.937	7	297.562	99.808	<.001
Dentro de grupos	47.701	16	2.981		
Total	2130.639	23			

La Tabla 21 muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para el índice de puentes anafásicos, desglosándose en dos componentes: uno que representa la variación entre grupos y otro que refleja la variación dentro de los grupos. Se obtuvo un valor de F de 99.808, calculado como el cociente entre la media cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de los grupos. Un valor elevado de F significa que la variabilidad observada entre los diferentes grupos es significativamente mayor que la variabilidad observada dentro de cada grupo, lo que indica diferencias significativas en el índice de puentes anafásicos entre los tratamientos. Además, dado que el P-valor es inferior a 0.05 ( $p < 0.001$ ) se rechaza la hipótesis nula, que postula que las medias de los tratamientos son iguales, y aceptar la hipótesis alterna, la cual sostiene que existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, con un nivel de confianza del 95.0%.

Para identificar las medias que son significativamente distintas entre sí, es necesario realizar una prueba Post-Hoc, la cual es el test de Duncan.

**Tabla 21**

*Test de Duncan aplicada para el Índice de Puentes Anafasicos*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T1	3	.0000			
T3	3	.0000			
T6	3	.0000			
T7	3		6.3622		
T4	3		6.7625		
T5	3			15.4009	
T8	3			17.5787	
T2	3				27.0261
Sig.		1.000	.780	.142	1.000

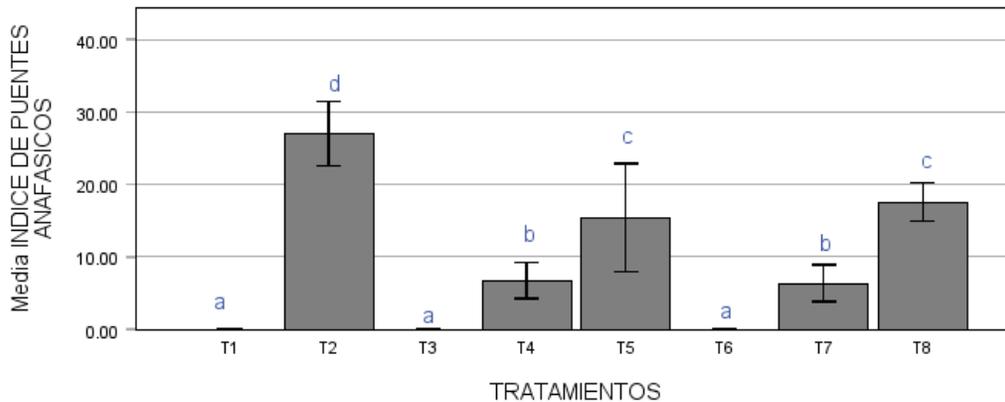
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

En la tabla 22 se realiza una comparación múltiple con el fin de identificar cuáles medias difieren significativamente entre sí. Por lo cual presenta 4 subconjuntos homogéneos para el Índice Puentes Anafasicos, La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí.

## Figura 19

*Test de Duncan para el Índice de Puentes Anafasicos para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneos entre los tratamientos*



La figura 19 de barras muestra las medias del Índice de Puentes Anafasicos (porcentaje de células que presentan puentes Anafasicos en plena Anafase) para diferentes tratamientos (T1 a T8), con barras de error que indican la desviación estándar ( $\pm$  SD) además, las letras sobre cada barra (a, b, c, d) indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos

El tratamiento T2 tiene la media más elevada del IPA, alrededor de 27%, y está etiquetado con la letra "d". Esto indica que T2 es significativamente diferente a los otros tratamientos, los T1, T3 y T6 están etiquetados con la letra "a" y su media es 0, el T4 y T7 están etiquetados con la letra "b" con una media entre 6 lo cual se estimaría que a este tratamiento se evidencia el efecto protector, pero también el daño causado por el extracto, en los T5 y T8 están marcados con la letra "c". demostrando que son significativamente homogéneos entre sí con una media entre 15 y 17.

### **3.3.7. Evaluación de la Frecuencia de Micronúcleos.**

Los micronúcleos (MN) han sido ampliamente considerados por numerosos autores como un método eficaz y simple para evaluar los efectos mutagénicos inducidos por productos químicos.

Esto se debe a que los MN se forman a partir de daños en las células parentales que no han sido reparados o han sido reparados de manera incorrecta. Estos daños se manifiestan en las células hijas como estructuras similares al núcleo principal, pero de menor tamaño. Así, los MN son el resultado de alteraciones cromosómicas, como rupturas o pérdidas cromosómicas. Además, los MN también pueden surgir de otros procesos, como la poliploidización, donde se eliminan fragmentos de ADN excedente del núcleo principal con el fin de restaurar el nivel normal de ploidía. (Leme & Marín-Morales; 2009).

**Tabla 22**

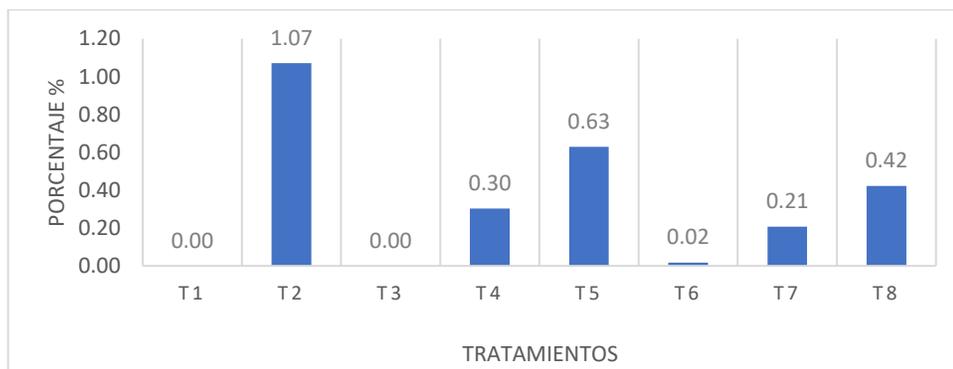
*Frecuencia de Micronúcleos y Células Binucleadas en todos los tratamientos, promedios y desviación estándar más su nivel de toxicidad*

	<b>FMN</b>	<b>Nivel de genotoxicidad</b>	<b>de FBN</b>	<b>Nivel de genotoxicidad</b>
<b>T1</b>	0±0	Nula	0±0	nula
<b>T2</b>	1.07±0.13	Moderada	0.77±0.17	moderada
<b>T3</b>	0±0	Nula	0±0	nula
<b>T4</b>	0.30±0.04	o nula	0.19±0.03	leve
<b>T5</b>	0.63±0.01	Leve	0.43±0.04	leve
<b>T6</b>	0.02±0.03	Nula	0±0	nula
<b>T7</b>	0.21±0.02	Nula	0.13±0.10	leve
<b>T8</b>	0.42±0.	Nula	0.36±0.01	leve

Nota: esta tabla muestra el promedio y desviación estándar de Frecuencias de Micronúcleos y células Binucleadas de todos los tratamientos empleados: T1: Control/agua destilada; T2: Dexametasona al 0.1%; T3: EAAM 0.25%; T4: EAAM 0.5%; T5: EAAM 1%; T6: EAAM 0.25%+Dex 0.1%; T7: EAAM 0.5%+Dex 0.1%; T8: EAAM 1.0%+Dex 0.1%

## Figura 20

*Frecuencia de Micronúcleos presentes en todos los tratamientos en división de células meristemáticas de Vicia faba L.*



En la figura 20 y tabla 23 presentan la frecuencia de Micronúcleos, el tratamiento T2 con 1.07% (nivel de genotoxicidad moderado), la dexametasona está ocasionando un daño genotóxico en las células, ya que son fragmentos de cromosomas que no se integraron en los núcleos hijos o nuevos indicando errores en la segregación cromosómica, las células no puedan corregir los daños antes de la división (Bolognesi, Perrone, Roggieri, Pampanin & Sciutto; 2006)), la alteración en el huso mitótico como se observa en Anafase inhibiendo el factor promotor de la mitosis, también puede generar estrés lo que da lugar a daños en el ADN (oxidativo (Bhat, Sharma, & Anis; 2007) que no siempre pueden ser reparados antes de que la célula entre en la fase mitótica, provocando así la formación de micronúcleos. Este daño cromosómico también puede estar asociado con la fragmentación de cromosomas o la pérdida de cromátidas, lo que explica la alta frecuencia de micronúcleos en el tratamiento T2. Para los demás tratamientos T1, T3 y T6 con 0%,(nivel genotóxico nula) no presenta daño genotóxico, pero el tratamiento T6 con 0.02%(genotoxicidad nula) presenta efectos protectores contra el daño celular inducido por la dexametasona que a comparación con el tratamiento T2 que su nivel de toxicidad es moderado se aprecia el efecto

protector del extracto inhibiendo el estrés oxidativo y promoviendo la reparación del ADN y los tratamientos T4 (genotoxicidad nula) con 0.30% y T5 (genotoxicidad leve) con 0.63% demuestran un ligero incremento, se estima que los extractos estarían estimulando una ligera presencia de alteraciones solo en esta concentración, los tratamientos T7 con 0.21% con nivel de toxicidad mínima o nula al igual que en el tratamiento T4 y el tratamiento T8 presentan 0.42% toxicidad mínima o nula lo que indica el efecto protector del extracto ya que con relación al tratamiento T5 presentan una disminución en el nivel de toxicidad, pasa de leve a mínima o presentándose el efecto protector con menor frecuencia de micronúcleos comparado con el tratamiento T2,

**Tabla 23**

*Análisis de varianza aplicada para la Frecuencia de Micronúcleos*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2.938	7	.420	165.728	<.001
Dentro de grupos	.041	16	.003		
Total	2.979	23			

La tabla 24 presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) aplicado para la Frecuencia de Micronúcleos, donde se descompone: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F valor es igual a 165.728 cociente de media cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de los grupos, Un valor de F alto indica que la variabilidad entre los grupos es mucho mayor que la variabilidad dentro de los grupos, sugiriendo que existen diferencias significativas entre los grupos de Frecuencia de Micronucleos de los tratamientos, ya que también en el P-valor es inferior a 0.05, Dado que el valor de p es menor que 0.001 se rechaza la hipótesis nula que afirma que todas las medias de los tratamientos son iguales, aceptando la hipótesis alterna

lo cual indica la presencia de diferencia significativa entre las medias de los tratamientos para un nivel de confianza de 95.0%

Para conocer las medias que son significativamente diferentes unas de otras se debe de realizar una prueba Post-Hoc, mediante el test de Duncan.

**Tabla 24**

*Test de Duncan aplicada para la Frecuencia de Micronúcleos*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
T1	3	.0000					
T3	3	.0000					
T6	3	.0173					
T7	3		.2065				
T4	3			.3025			
T8	3				.4226		
T5	3					.6290	
T2	3						1.0715
Sig.		.696	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

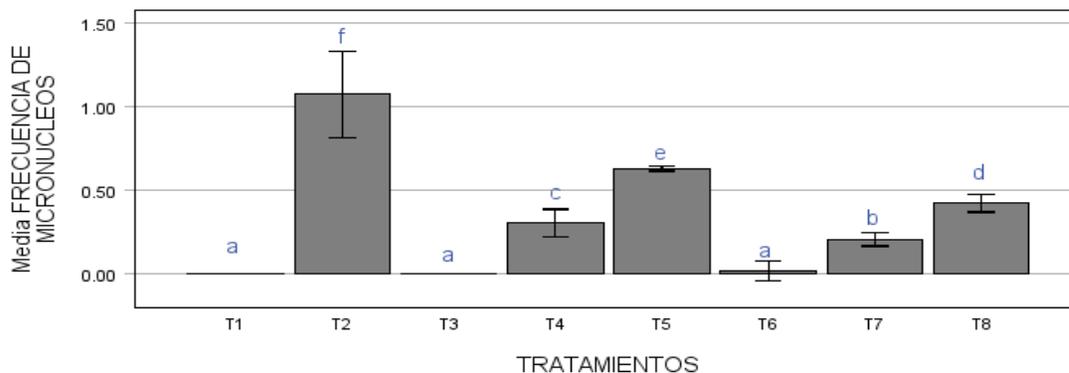
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

En la tabla 25 muestra la comparación múltiple para determinar cuáles son significativamente diferentes de las otras. Por lo cual presenta .6 subconjuntos homogéneos para la frecuencia de Micronúcleos. La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí.

## Figura 21

*Test de Duncan para la Frecuencia de Micronúcleos para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneas entre los tratamientos*



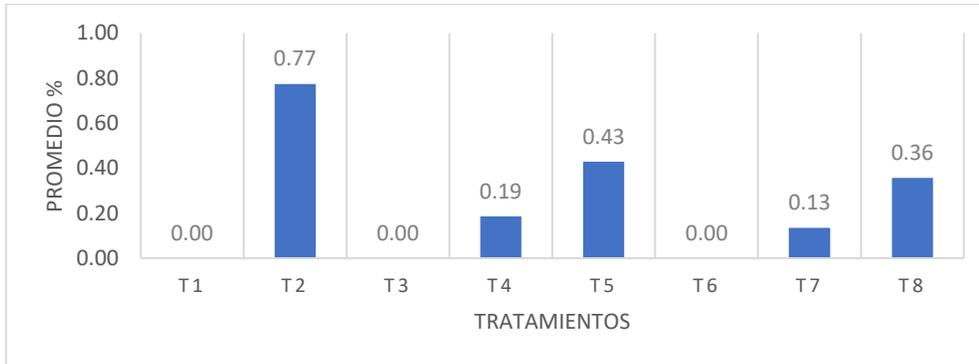
La figura 21 de barras muestra las medias de la Frecuencia de Micronúcleos (porcentaje de micronúcleos) para diferentes tratamientos (T1 a T8), con barras de error que indican la desviación estándar ( $\pm$  SD). Además, las letras sobre cada barra (a, b, c, d & e) indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos

El tratamiento T2 tiene la media más elevada del FMN, alrededor de 1.07, y está etiquetado con la letra "f". Esto indica que T2 es significativamente diferente a los tratamientos, los T1, T3 y T6 está marcado con la letra "a" no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí en cuanto a la frecuencia de micronúcleos. Es decir, todos estos tratamientos tienen frecuencia de micronúcleos muy baja o nula, el tratamiento T7 etiquetado con la letra "b", T4 "c", T8 "d" y T5 "e" todos estos son estadísticamente diferentes a todos los tratamientos. Los tratamientos T4, T5, T7 y T8 se observa un incremento progresivo en la frecuencia de micronúcleos, lo que indica que las concentraciones más altas de extracto pueden inducir daño genético. (Anexo 16)

### 3.3.8. Evaluación de la Frecuencia de Células Binucleadas.

**Figura 22**

*Frecuencia de Células Binucleadas presentes en todos los tratamientos en división de células meristemáticas de Vicia faba L*



En la figura 22 y la tabla 23 muestran la frecuencia de células Binucleadas, el tratamiento T2 siendo la más elevada 0.77%, con un nivel de toxicidad moderado por la presencia de dexametasona tiene efectos genotóxicos, que en este caso se manifiestan con una elevada frecuencia de células binucleadas. El efecto está interfiriendo con la cariocinesis y por ende en el proceso de división celular normal, posiblemente debido a disrupciones en el citoesqueleto o la inhibición de proteínas clave involucradas en la separación de las células hijas durante la división, también las células Binucleadas causadas después de completar la mitosis, no logran llevar a cabo la citocinesis, podría ser por efecto de la inhibición de la citocinesis durante la interferencia en el ensamblaje o formación del fragmoplasto (Fenech, 2000) El hecho de que este tratamiento muestre el mayor valor de células binucleadas indica un efecto genotóxico importante, donde la dexametasona afecta la estabilidad estructural de las células vegetales, provocando errores en el proceso de división en el tratamiento T1, T3 y T6 con 0% se observa el nivel de toxicidad de mínima o nula lo cual se interpreta que no existe daño genotóxico pero para el tratamiento T6

donde se exponen el extracto y la dexametasona presenta un efecto protector que al compararse con el tratamiento T2 que posee un nivel de toxicidad moderado pasaría a mínimo o nulo, evidenciándose el efecto citoprotector, en los tratamientos T4 y T5, con 0.19% y 0.43% FBN con nivel de toxicidad mínima o nula lo que indica que no existe daño genotóxico, en los tratamientos T7 y T8 con 0.13% y 0.36% FBN con nivel de toxicidad mínima o nula que en comparación con el tratamiento T2 de dexametasona muestran que existe el efecto citoprotector ya que el tratamiento T2 está en un nivel moderado a comparación de estas.

**Tabla 25**

*Análisis de varianza aplicada para la Frecuencia de Células Binucleadas*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1.565	7	.224	40.839	<.001
Dentro de grupos	.088	16	.005		
Total	1.652	23			

La Tabla 26 presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) aplicado a la frecuencia de células binucleadas, dividiéndose en dos componentes: uno que representa la variación entre grupos y otro que indica la variación dentro de los grupos. El valor de F calculado es de 40.839, que resulta del cociente entre la media cuadrática entre grupos y la media cuadrática dentro de los grupos. Un valor de F alto sugiere que la variabilidad entre los grupos es significativamente mayor que la variabilidad dentro de cada grupo, lo que implica que hay diferencias significativas en la frecuencia de células binucleadas entre los distintos tratamientos. Además, dado que el P-valor es inferior a 0.05 y el valor de p es menor que 0.001, podemos rechazar la hipótesis nula, que sostiene que todas las medias de los tratamientos son iguales, y

aceptar la hipótesis alternativa, que indica que hay diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, con un nivel de confianza del 95.0%.

Para conocer que medias son significativamente diferentes unas de otras se debe de realizar una prueba Post-Hoc, mediante el test de Duncan.

**Tabla 26**

*Test de Duncan aplicada para la Frecuencia de Células Binucleadas*

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
T1	3	.0000			
T3	3	.0000			
T6	3	.0000			
T7	3	.1332	.1332		
T4	3		.1855		
T8	3			.3570	
T5	3			.4284	
T2	3				.7743
Sig.		.058	.399	.254	1.000

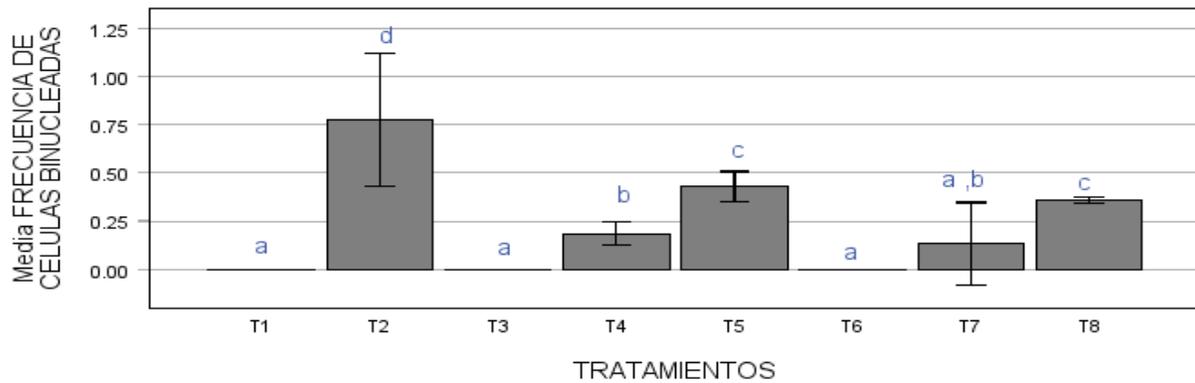
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

La tabla 27 muestra la comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes de las otras. Por lo cual presenta 4 subconjuntos homogéneos para la frecuencia de Células Binucleadas. La columna "Sig." muestra los valores de significación para la diferencia entre los subconjuntos. Los valores cercanos a 1 indican que los tratamientos en un mismo subconjunto no tienen diferencias significativas entre sí.

### Figura 23

*Test de Duncan para la Frecuencia de Células Binucleadas para indicar las diferencias estadísticamente significativas y homogéneas entre los tratamientos*



En la figura 23 muestra el test de comparación múltiple de Duncan donde presenta 4 subgrupos estadísticamente homogéneos, donde los tratamientos T1, T3 y T6 están etiquetados con la letra “a” lo cual indica que son iguales estadísticamente donde su media es 0, el T4 y T7 tiene una media de 0.1332 células binucleadas. se agrupa en un subconjunto etiquetado con la letra “b” diferente a los tratamientos del subconjunto “a”, lo que indica que el tratamiento T7 tiene una mayor cantidad de células binucleadas en comparación con T1, T3 y T6, pero esta diferencia no es significativa en comparación con el tratamiento T4 etiquetado con la letra “b”, los tratamientos T5 y T8 son otro subgrupo con la letra “c” diferentes significativamente al resto de los grupos y el tratamiento T2 con la letra “d” que presenta la mayor frecuencia de células Binucleadas y significativamente diferente a los demás. (Anexo 17)

## Figura 24

*Efecto citoprotector del extracto alcohólico al 70° de hojas de Annona muricata L seco al 20% frente al daño genotóxico inducido por dexametasona en parámetros como: Puentes Anafásicos, Mirconucleos y Células Binucleadas*



nota: 3 microfotografías sobre anomalías causadas por dexametasona en el efecto citoprotector del extracto alcohólico de *Annona muricata L*.

## CONCLUSIONES

1. El análisis de la marcha fitoquímica del extracto alcohólico a 70° de hojas secas de *Annona muricata* L., al 20%, evidenció la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos y esteroides, relacionados con propiedades antioxidantes que podrían explicar su potencial efecto citoprotector.
2. El tratamiento con dexametasona al 0.1% generó un efecto citotóxico y genotóxico en *Vicia faba* L., evidenciado por una reducción del índice mitótico de 24.62% (control) a 11.57%, y disminuciones marcadas en los índices de metafase, anafase y telofase. Además, se observó un incremento en el índice Profásico (81.64%), así como en la frecuencia de puentes Anafásicos (27.03%), micronúcleos (1.07%) considerándose como toxicidad moderada y células binucleadas (0.77%) perteneciente al nivel de toxicidad moderada, lo que confirma su potencial genotóxico.
3. El extracto alcohólico a 70° de hojas secas de *Annona muricata* L. al 20% demostró un efecto citoprotector significativo frente al daño citotóxico y genotóxico inducido por dexametasona, evidenciado por la comparación de los índices mitóticos y de fases con diferencias significativas ( $p = 0.001$ ) en concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1% combinadas con dexametasona al 0.1%. Además, también se observó una disminución en el Índice de puentes Anafásicos, las frecuencias de micronúcleos y células binucleadas en comparación con el grupo tratado solo con dexametasona 0.1%, indicando que el extracto contribuye a mantener la estabilidad cromosómica. Las concentraciones más bajas (0.25%) mostraron mayor similitud estadística con el grupo control, sugiriendo un mejor balance entre efecto protector y ausencia de toxicidad propia del extracto, mientras que las dosis mayores presentaron una respuesta dosis-

dependiente. Estos resultados confirman que el extracto constituye una alternativa prometedora para contrarrestar los efectos citotóxicos y genotóxicos de la dexametasona en células meristemáticas de *Vicia faba* L.

## **RECOMENDACIONES.**

- 1.-Se recomienda realizar investigaciones con otras partes de esta planta como, por ejemplo: las raíces, tronco, flores y frutos, ya que también en estos se encuentran metabolitos secundarios.
- 2.-Se recomienda un análisis de todos los componentes de metabolitos activos mediante el uso de técnicas cualitativas como HPLC, lo que sugiere potenciales propiedades bioactivas del extracto que merecen ser exploradas en estudios posteriores
- 3.- Se recomienda ampliar las investigaciones con los metabolitos secundarios aislados para conocer su potencial efecto citoprotector y toxico que podrían ocasionar cada uno de ellos
- 4.- Se recomienda realizar otro solvente y modelo o método de extracción del extracto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Adewole, S. O., & Ojewole, J. A. O. (2008). Protective effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6(1), 30–41. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v6i1.57071>

Araujo Soria, J. M. (2012). Efecto protector del extracto etanolico de *annona muricata* sobre la citotoxicidad y genotoxicidad del sorbato de potasio en meristemas radiculares de *allium cepa*. [tesis para optar título de Biologo]Universidad Nacional de Trujillo.repositotio institucional.

Auccatoma Cruz, J. L. (2019) Efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018. [tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico, Universidad Nacional De San Cristobal de Huamanga]. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4419>

Ávila Cervantes, RA, Mancilla Montelongo, G., González Pech, PG, Sandoval Castro, CA, & Torres Acosta, F. de J. (2019). Bioensayos in vitro de relevancia en las ciencias biológicas y agropecuarias. *Bioagrociencias* , 12 (1). <https://doi.org/10.56369/bac.2968>

Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 1-6.

Barnes P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science (London, England : 1979)*, 94(6), 557–572. <https://doi.org/10.1042/cs0940557>

Barrachina, I., Royo, I., Baldoni, H. A., Chahboune, N., Suvire, F., DePedro, N., Zafra-Polo, M. C., Bermejo, A., El Aouad, N., Cabedo, N., Saez, J., Tormo, J. R., Enriz, R. D., & Cortes, D. (2007). New antitumoral acetogenin 'Guanacone type' derivatives: isolation and bioactivity. Molecular dynamics simulation of diacetyl-guanacone. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(13), 4369–4381. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.04.039>

Bentley, R. (2006). *The quinonoid compounds: Vol. 1: Chemistry and biochemistry*. Springer.

Bhat, T. A., Sharma, M., & Anis, A. (2007). Comparative analysis of mitotic aberrations induced by diethyl sulphate (DES) and sodium azide (SA) in *Vicia faba* L. *Pak J Biol Sci*, 10(5), 783–787. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.783.787>

Black, R. y Grodzinsky, A. J. (2019). Dexametasona: ¿corticosteroide condroprotector o asesino catabólico?. *Células y materiales europeos*, 38, 246–263. <https://doi.org/10.22203/eCM.v038a17>

Beltrán, R.; Beltrán, P. 2016. Regulación del ciclo celular (CC) de *Vicia faba* L. por el extracto alcohólico de *Annona cherimola* Mill “chirimoya”. *Scientia Agropecuaria* 7(3): 245-251

Biology Dictionary. (n.d.). *Anaphase - Definition and Stages in Mitosis and Meiosis*. Retrieved from [Biology Dictionary](#)

Bolognesi, C., Perrone, E., Roggieri, P., Pampanin, D. M., & Sciutto, A. (2006). Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquatic Toxicology*, 78(Suppl 1), S93–S98. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.05.012>

Botargues, M., Enz, P., & Musso, C. (2011). Nota farmacológica: Tratamiento con corticoides Steroids therapy. *Evid Act Pract Ambul*, 14(1), 33–36. Retrieved from [www.evidencia.org](http://www.evidencia.org)

Bordag, N., Klie, S., Jürchott, K., Vierheller, J., Schiewe, H., Albrecht, V., Tonn, J. C., Schwartz, C., Schichor, C., & Selbig, J. (2015). Los cambios en el metaboloma inducidos por glucocorticoides (dexametasona) en varones sanos sugieren una predicción de la respuesta y los efectos secundarios. *Informes científicos*, 5, 15954. <https://doi.org/10.1038/srep15954>

Carriquiriborde, P. (2021). *Principio de Ecotoxicología. Libros de Cátedra* (p. 343).

Centro Nacional de Información Biotecnológica (2024). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5743, dexametasona. Recuperado el 18 de julio de 2024 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dexametasone>.

Centro Nacional de Información Biotecnológica (2023). Resumen del compuesto PubChem para CID 5743, dexametasona. Consultado el 8 de agosto de 2023 en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dexamethasone>.

Cenkci, S., Korkmaz, M., & Kalkan, Y. (2010). Genotoxic effects of heavy metals on *Vicia faba*: A micronucleus test study. *Turkish Journal of Biology*, 34(1), 29-35. <https://doi.org/10.3906/biy-0903-12>

Cortés, D., Moreno, L., Párraga, J., Galán, A., & Cabedo, N. (2014). Nuevos fármacos inspirados en Annonáceas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36 (spe1), 22–31. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452014000500003>

Costa, P. C., et al. (2021). *Assessment of genotoxicity and cytotoxicity in Vicia faba for environmental monitoring*. Environmental Science and Pollution Research, 28(5), 6043-6052. doi:10.1007/s11356-020-11671-4

Cumpa-Yupton, C., & Zavala-de la Cruz, F. (2018). Determinacion del indice mitótico de meristemas radiculares de *Allium cepa* expuestas al extracto etanólico de hojas de *Erythroxylum coca* coca a diferentes concentraciones y tiempos de exposición. Sagasteguiana, 1(1), 29-38. Recuperado a partir de <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/1774>

Chrysis, Zaman, Chagin, Takigawa & Sävendahl, (2005), La dexametasona induce la apoptosis en condrocitos proliferativos a través de la activación de caspasas y la supresión de la vía de señalización de la Akt-fosfatidilinositol 3'-quinasa, *Endocrinología*, volumen 146, número 3, páginas 1391-1397, <https://doi.org/10.1210/en.2004-1152>

Damin, C., & Dadic, F. (2021). *Toxicología*. Editorial Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina: Editorial El Ateneo.

De Souza, R. C., Silva, L. C., & Gualtieri, A. F. (2016). *Genotoxicity assessment in plants: applications and perspectives*. Environmental and Molecular Mutagenesis, 57(5), 328-342. doi:10.1002/em.22000

Dewick, P. M. (2009). *Medicinal natural products: A biosynthetic approach* (3rd ed.). John Wiley & Sons

Fenech M. (2000). The in vitro micronucleus technique. Mutation research, 455(1-2), 81–95. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(00\)00065-8](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(00)00065-8)

Fernandes, T. C., & Marin-Morales, M. A. (2007). Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(2), 252-259. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.06.004>

Ferreira, F., Medeiros-Souza, P., Silva, PC da, & Almeida, LC de. (2015). Dexametasona. *En Uso racional de medicamentos en pediatría: enfermedades en la infancia 1*. Hospital Universitario de Brasilia. <https://doi.org/10.26512/9788560955077.c10>

Gavamukulya, Y.; Abou-Elella, F.; Wamunyokoli, F.; AEI Shemy, H. 2014. Phytochemical screening, antioxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pac J Trop Med*; 7(Suppl 1): S355-S363

Gavamukulya, Y., Wamunyokoli, F., & El-Shemy, H. A. (2017). *Annona muricata*: is the natural therapy to most disease conditions including cancer growing in our backyard? A systematic review of its research history and future prospects. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(9), 835–848. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.08.009>

Giannuzzi, L. (2018). *Toxicología general aplicada*. Editorial Acribia.

Grupo de farmacovigilancia AAFH. (2020). Dexametasona y Covid-19. Asociación Argentina de Farmaceuticos de Hospital, 3–5. Retrieved from [https://aafh.org.ar/upload1/Dexametasona AAFH final 51\).pdf](https://aafh.org.ar/upload1/Dexametasona AAFH final 51).pdf)

Gonzales Llontop, L. F., Chotón Calvo, M. del R., & Chico Ruiz, J. (2021). Efecto historeparador de un extracto proteico y vitamínico en *Allium cepa* L. con daño cromosómico. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 3(2), 47. <https://doi.org/10.25127/ucni.v3i2.614>

Google. (S.f.) [punto de localización en la municipalidad distrital de Huayopata, provincia de la Convención, Region Cusco]. Recuperado el 19 de noviembre del 2023, <https://www.google.com/maps/d/edit?hl=es-419&hl=es-419&mid=1A1ZyDRNIouWDiC5-7HICEBrLR9qkAuI&ll=-13.008144260803512%2C-72.59223561610965&z=16>

Guan, Y., Chen, J., Zhan, Y., & Lu, H. (2018). Efectos de la dexametasona en la proliferación, migración e invasión de células C6 a través de la regulación positiva de AQP1. *Cartas de Oncología*, 15, 7595-7602. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8269>

Guevara Veneros R. N. (2015). Efecto reparador del extracto acuoso del fruto de *Morinda citrifolia L.* en el índice mitótico de *Vicia faba L.* expuesto a tartrazina. [tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Trujillo], repositorio institucional <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/8779>

Harborne, J. B. (1998). *\*Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis\** (3rd ed.). Springer.

Haslam, E. (1998). *Practical polyphenolics: From structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge University Press.

Hostettmann, K., & Marston, A. (2005). *Saponins: Chemistry and pharmacology of natural products*. Cambridge University Press.

Hu, X., Jin, X., Cao, X., & Liu, B. (2022). The Anaphase-Promoting Complex/Cyclosome Is a Cellular Ageing Regulator. *International journal of molecular sciences*, 23(23), 15327. <https://doi.org/10.3390/ijms232315327>

ICH. (2012). ICH S2 (R1) Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use - Scientific guideline. *European Medicines Agency*. Retrieved from [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s2-r1-genotoxicity-testing-data-interpretation-pharmaceuticals-intended-human-use\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s2-r1-genotoxicity-testing-data-interpretation-pharmaceuticals-intended-human-use_en.pdf)

Iqbal M. (2016). Bioensayo de *Vicia faba* para el monitoreo de toxicidad ambiental: una revisión. *Chemosphere*, 144, 785–802. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.048>

Izzotti, A., Rosano, C., & La Maestra, S. (2023). Micronucleus induction in *Vicia faba* root tips by crude oil-polluted soil from Ecuadorian Amazon. *Environments*, 10(11), 195. <https://doi.org/10.3390/environments10110195>

Johnson, D. B., Lopez, M. J., & Kelley, B. (2023). Dexamethasone. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Liu W, Zhao Z, Na Y, Meng C, Wang J, Bai R. Dexamethasone-induced production of reactive oxygen species promotes apoptosis via endoplasmic reticulum stress and autophagy in MC3T3-E1 cells. *Int J Mol Med*. 2018 Apr;41(4):2028-2036. doi: 10.3892/ijmm.2018.3412. Epub 2018 Jan 23. PMID: 29393368; PMCID: PMC5810234.

Manson, S. C., Brown, R. E., Cerulli, A., & Vidaurre, C. F. (2009). The cumulative burden of oral corticosteroid side effects and the economic implications of steroid use. *Respiratory medicine*, 103(7), 975–994. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.01.003>

Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, JM, & Tuñón, MJ (2002, noviembre). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria* .

Middleton, E., Jr., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). Los efectos de los flavonoides vegetales en las células de mamíferos: implicaciones para la inflamación, las enfermedades cardíacas y el cáncer. *Revisiones farmacológicas*, 52(4), 673–751.

Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H. M., & Kadir, H. A. (2015). *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 15 625–15 658. <https://doi.org/10.3390/ijms160715625>

Mutakin, M., Fauziati, R., Fadhilah, FN, Zuhrotun, A., Amalia, R. y Hadisaputri, YE (1 de febrero de 2022). Actividades Farmacológicas de la Guanábana (*Annona muricata* Lin.). Moléculas . MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27041201>

Murnane, J. P. (2010). Telomere dysfunction and chromosome instability. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 730(1-2), 28-36. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0027510711000911?via%3Dihub>

National Center for Biotechnology Information. (2025). *Vicia faba* L. NCBI Taxonomy Browser. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=3885>

Nielsen, S. F., Hansen, R. R., & Hertz, J. M. (2014). Genomic instability in cancer. *The New England Journal of Medicine*, 370(10), 958-959. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1312898>

Nik Mat Daud, NNN, Ya'akob, H., y Mohamad Rosdi, MN (2016). Acetogeninas de las hojas de *Annona muricata*: caracterización y estudio anticancerígeno potencial. *Integrative Cancer Science and Therapeutics* , 3 (4). <https://doi.org/10.15761/icst.1000202>

Omolekan TO, Chamcheu JC, Buerger C, Huang S. Red de señalización PI3K/AKT/mTOR en salud y enfermedades humanas. *células*. 2024; 13(17):1500. <https://doi.org/10.3390/cells13171500>

Pinheiro P. (25 de Julio de 2023). Dexametasona: qué es, dosis y para qué sirve. Md. Saude. Recuperado de: <https://www.mdsaude.com/es/prospecto/dexametasona-es/#comments>

Repetto Jiménez, M. (2018). *Toxicología fundamental*. Madrid, España: Editorial Díaz de Santos

Repetto Jiménez, Manuel y Repetto Khun, G. (2009). *Toxicología fundamental . Jurnal Sains dan Seni ITS* (págs. 1–619)

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., & Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23(4), 519–534. <https://doi.org/10.1002/med.10033>

Rieder, C. L., & Maiato, H. (2004). Stuck in division or passing through: what happens when cells cannot satisfy the spindle assembly checkpoint. *Developmental cell*, 7(5), 637–651. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.09.002>

Royal Botanic Gardens, Kew. (2025). *Annona muricata* L. Plants of the World Online. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:14455-2>

Scheschowitsch, K., Leite, J. A., & Assreuy, J. (2017). New Insights in Glucocorticoid Receptor Signaling-More Than Just a Ligand-Binding Receptor. *Frontiers in endocrinology*, 8, 16. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00016>

Sofowora, A. (1993). *\*Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa\**. Spectrum Books Ltd.

Tambun, R., Alexander, V., & Ginting, Y. (2021). Performance comparison of maceration method, soxhletation method, and microwave-assisted extraction in extracting active compounds from soursop leaves (*Annona muricata*): A review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1122(1), 012095. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1122/1/012095>

Tjio, J. H., & Levan, A. (1950). The chromosome number of man. *Hereditas*, 36(1), 1–6. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1950.tb03395.x>

Tortosa, F., Balaciano, G., Carrasco, G., Cháves, C., García, D., Montero, G., ... Sanguine, V. (2020). Tratamiento con dexametasona en caso de infección por COVID-19: Informe rápido de evaluación de tecnología sanitaria. *Revista Argentina de Salud Pública, Suplemento(e15)*, 1–8. Retrieved from <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04327401>

Trease, G. E., & Evans, W. C. (2002). *\*Pharmacognosy\** (15th ed.). Saunders.

Sharma, A. K., & Sharma, A. (1965). *Chromosome Techniques: Theory and Practice*. London: Butterworths.

Singh, H., Singh, J. R., Dhillon, V. S., Bali, D., & Paul, H. (1994). Evaluación de genotoxicidad in vitro e in vivo de fármacos hormonales. II. Dexametasona. Investigación de mutaciones, 308(1), 89–97. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90201-1](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90201-1)

Vera, AP, Jesús, I. ; Olivero, T., Ii, V., Jaramillo, BE, & Elena, I. ; (2010). Efecto protector del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) NE: Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de *Allium cepa* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* , 15 (1), 0–0. Obtenido

dehttp://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1028-47962010000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_abstract&pid=S1028-47962010000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Villar de Fresno, M. (1999). *Farmacognosia General*. Editorial Síntesis.

Yasir, M., Goyal, A., & Sonthalia, S. (2023). Corticosteroid Adverse Effects. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Zalacain, M., Sierrasesúмага, L., & Patiño, A. (2005, mayo). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales Del Sistema Sanitario De Navarra* . <https://doi.org/10.4321/s1137-66272005000300007>

Zhou BB, Elledge SJ. La respuesta al daño del ADN: poner los puntos de control en perspectiva. *Naturaleza*. 23 de noviembre de 2000; 408(6811):433-9. DOI: 10.1038/35044005. PMID: 11100718.

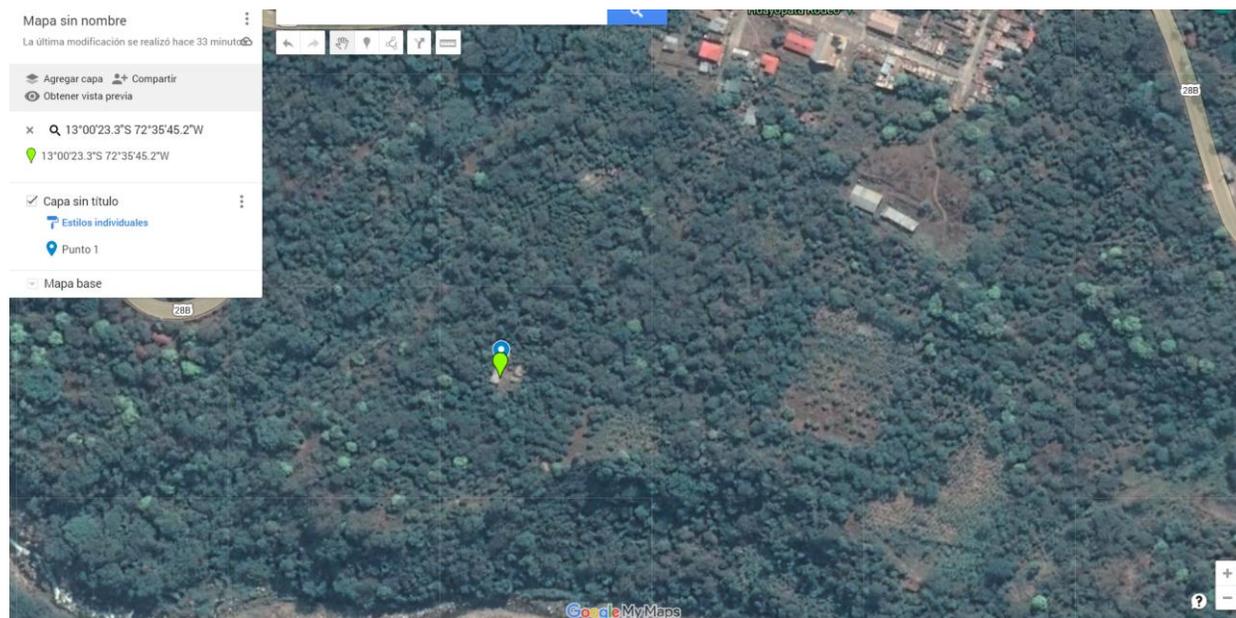
# **ANEXOS**

**ANEXO 1:** Árbol de *Annona muricata* L. (Guanábana), recolección de sus hojas



Toma de muestra, de hojas de *Annona muricata* L., (13°00'23.3"S 72°35'45.2"W) (Google, s.f.)  
en la municipalidad distrital de Huayopata, Provincia de La Convención, Región Cusco.

## ANEXO 2: Punto de Geolocalización del punto de recolección de hojas de *Annona muricata L.*



Nota: la imagen representa el punto de localización ( $13^{\circ}00'23.3''S$   $72^{\circ}35'45.2''W$ ) (Google, s.f.) en la municipalidad distrital de Huayopata, Provincia de La Convención, Región Cusco. lugar donde se encuentran los árboles de *Annona muricata L.* donde se recolectaron las hojas en el abanico de estos árboles.

**ANEXO 3:** Procedimiento de extracción mediante la técnica de maceración



Recolectar 100gr de



Secar a 40° por 72 horas



Triturar las hojas hasta conseguir un polvo fino



Pesar 20gr y diluir en 100ml de alcohol de 70°



Dejar macerar por 7 días y agitar 2 horas cada día



Filtrar 2 veces



Aforar hasta 100ml



Secar a 40° muestras de 5ml



pesar y obtener el promedio por cada 5ml cuanto es el rendimiento

#### ANEXO 4: Procedimiento de preparación del reactivo orceína acética al 2%



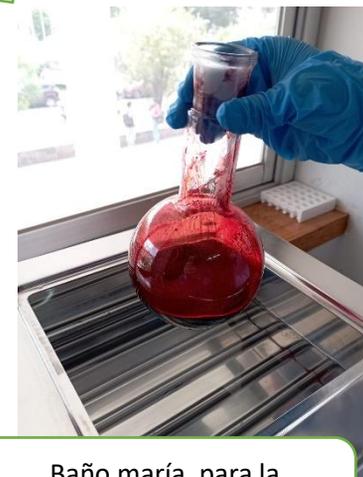
Orceina



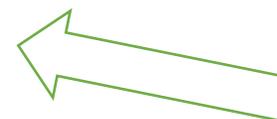
Pesar 2gr.



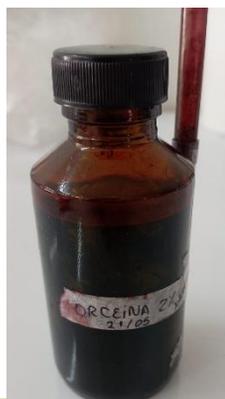
Medir el ácido acético glacial, para diluir



Baño maría, para la dilución de la orceina

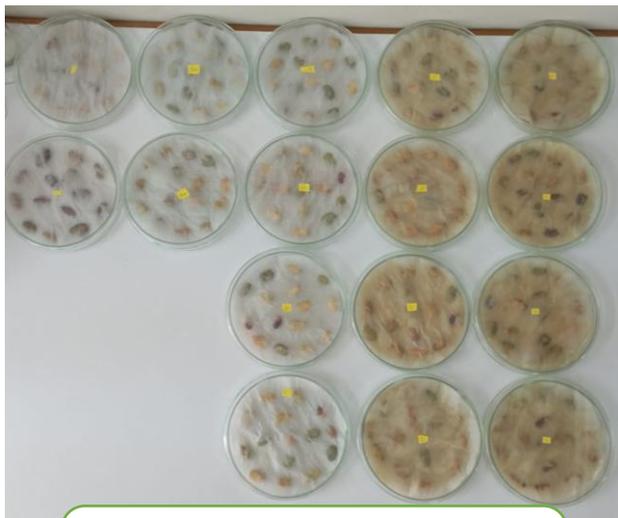


Filtración



Almacenamiento en un frasco ambar

**ANEXO 5:** Procedimiento de germinación y elongación radicular de *Vicia faba L.* y exposición en los diferentes tratamientos.



Germinación de las semillas de *Vicia faba L.* por 14 días.

Cuando ya presenten radículas



Instalación de los 8 tratamientos con sus 3 repeticiones, por tiempo determinado según corresponda



Corte de las radículas 2-5cm,

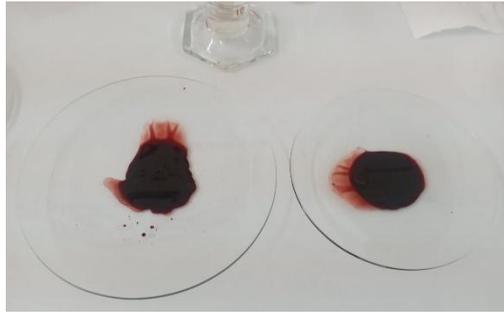


Almacenamiento de las raicillas en Carnoy

**ANEXO 6:** Procedimiento de tinción de las raicillas mediante la técnica de Tjio y Levans, y observación.



Enjuagar con agua destilada 3 veces, hasta quitar los rastros del Carnoy



Colocar la OrceinaAcética hasta cubrir las raicillas



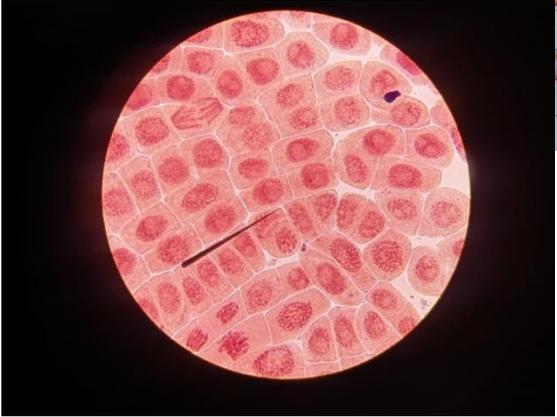
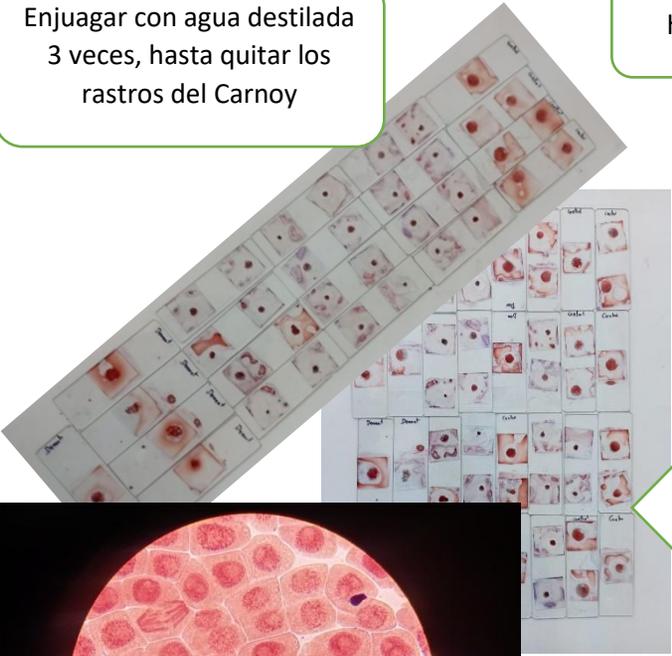
Llevar al mechero la muestra con el colorante hasta alznazar los 60° o emita el humo blanco en intervalos de 5 minutos y por 3 veces, el ultimo por 15 minutos



Montaje y squash



Observación y conteo de las células en división a 100x



**ANEXO 7:** Promedio de las tres repeticiones y promedio general de los 8 tratamientos en los diferentes índices y frecuencias.

**Tabla 27**

*Base de datos del Índice Mitótico , Índice de fases e Índice de Puentes Anafásicos; y de Frecuencia de Micronucleos y Frecuencia de Células Binucleadas de los tratamientos : Control negativo (agua destilada) y control positivo dexametasona al 0.1%.*

		<b>T1 0.0% CONTROL NEGATIVO</b>				<b>T2 DEXAMETASONA 0.1% CONTROL POSITIVO</b>			
<b>INDICE DE FASES Y FRECUENCIAS</b>		1 R (%)	2 R (%)	3 R (%)	X (%)	1 R (%)	2 R (%)	3 R (%)	X (%)
<b>16 HORAS DE EXPOSICION</b>	IM	24.25	24.73	24.90	24.62	12.04	11.45	11.22	11.57
	IP	57.12	59.08	59.07	58.76	81.25	81.43	82.22	81.64
	IMe	14.21	13.94	13.46	13.86	6.25	5.91	5.78	5.98
	IA	15.13	14.50	14.58	14.73	7.08	6.75	6.67	6.83
	IT	12.55	12.48	12.90	12.64	5.42	5.91	5.33	5.55
	IPA	0	0	0	0	29.41	25	26.67	27.03
	FMN	0	0	0	0	1.20	1.06	0.95	1.07
	FBN	0	0	0	0	0.60	0.77	0.95	0.77

**Tabla 28**

*Base de datos del Índice Mitótico, Índice de Fases e Índice de Puentes Anafásicos; y de Frecuencia de Micronúcleos y Frecuencia de Células Binucleadas de los tratamientos: 0.25%, 0.5% y 1% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de Annona muricata L*

CONCENTRACIONES	T3				T4				T5				
	0.25% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%				0.5% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%				1% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%				
	1 R	2 R	3 R	X	1 R	2 R	3 R	X	1 R	2 R	3 R	X	
INDICE DE FASES Y FRECUENCIAS	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
16 HORAS DE EXPOSICION	IM	24.45	24.74	24.98	24.72	22.34	23.04	22.46	22.61	18.69	17.78	16.98	17.82
	IP	58.64	59.43	60.34	57.47	62.47	61.76	65.28	63.17	67	68.40	72.72	69.38
	IMe	13.99	13.52	12.84	13.45	12.59	12.53	11.57	12.23	11.67	9.45	8.81	9.97
	IA	15.02	14.67	14.56	14.75	13.52	13.85	12.01	13.12	12	12.70	9.94	11.55
	IT	12.35	12.38	12.26	12.33	11.42	11.87	11.14	11.48	9.33	9.45	8.52	9.10
	IPA	0	0	0	0	6.90	7.94	5.45	6.76	11.11	17.95	17.14	15.40
	FMN	0.09	0	0	0	0.26	0.30	0.34	0.30	0.62	0.64	0.63	0.63
	FBN	0	0	0	0	0.21	0.15	0.20	0.19	0.44	0.46	0.39	0.43

**Tabla 29**

*Base de datos del Índice Mitótico, de fases, Puentes Anafásicos; y de Frecuencia de Micronúcleos y Células Binucleadas de los tratamientos: 0.25%, 0.5% y 1% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas secas de Annona muricata L. al 20% + dexametasona al 0.1%*

CONCENTRACIONES	T6				T7				T8				
	0.25% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%				0.5% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%				1% de Extracto Alcohólico (70°) de Hojas Secas de <i>Annona muricata L.</i> al 20%				
	+				+				+				
	Dexametasona al 0.1%				Dexametasona al 0.1%				Dexametasona al 0.1%				
INDICE DE FASES Y FRECUENCIAS	1 R (%)	2 R (%)	3 R (%)	X (%)	1 R (%)	2 R (%)	3 R (%)	X (%)	1 R (%)	2 R (%)	3 R (%)	X (%)	
IM	24.13	24.47	23.93	24.18	21.75	22.55	21.67	21.99	18.32	15.30	16.62	16.75	
IP	59.92	59.48	59.96	59.78	63.30	63.77	66.38	64.49	69.43	69.18	73.14	70.58	
IMe	13.71	13.57	12.77	13.35	12.16	12.5	11.06	11.91	10.29	9.18	8.24	9.24	
<b>16 HORAS DE EXPOSICION</b>	IA	14.56	14.57	14.94	14.69	13.30	12.92	11.70	12.64	11.14	12.46	10.37	11.32
	IT	11.81	12.38	12.34	12.18	11.24	10.81	10.85	10.96	9.14	9.18	8.28	8.86
	IPA	0	0	0	0	6.90	4.92	7.72	6.36	18.75	17.86	16.13	17.58
	FMN	0	0	0.05	0.02	0.20	0.19	0.23	0.21	0.42	0.45	0.40	0.42
	FBN	0	0	0	0	0.20	0.19	0.01	0.13	0.37	0.35	0.35	0.36

**ANEXO 8:** Tablas de análisis de varianza de los diferentes índices y frecuencias de los 8 tratamientos

**Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>**

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
INDICE MITOTICO	Eta cuadrado	.984	.944	.987
	Epsilon cuadrado	.977	.920	.981
	Omega cuadrado efecto fijo	.976	.917	.980
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.852	.611	.874

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

La tabla indica que los tamaños de efecto son medidas que indican la magnitud de las diferencias observadas entre los grupos en relación con la variabilidad dentro de los grupos. las diferencias observadas entre los tratamientos o concentraciones en relación con el índice Mitotico son muy grandes y estadísticamente significativas.

**Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>**

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
INDICE PROFASICO	Eta cuadrado	.967	.888	.973
	Epsilon cuadrado	.953	.839	.961
	Omega cuadrado efecto fijo	.951	.833	.959
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.734	.416	.771

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

La tabla indica que los tamaños de efecto son medidas que indican la magnitud de las diferencias observadas entre los grupos en relación con la variabilidad dentro de los grupos. Los tamaños de efecto para el índice profásico son muy grandes, lo que indica que los tratamientos tienen un impacto considerable y significativo en la fase de profase, Los valores altos de eta cuadrado,

épsilon cuadrado, omega cuadrado efecto fijo y omega cuadrado efecto aleatorio: muestran que casi toda la variabilidad en el índice profásico puede explicarse por las diferencias entre los tratamientos, lo que sugiere que estos tratamientos tienen un efecto fuerte y consistente en la profase de la mitosis.

#### Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
INDICE METAFASICO	Eta cuadrado	.939	.794	.949
	Epsilon cuadrado	.912	.704	.927
	Omega cuadrado efecto fijo	.909	.695	.924
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.587	.246	.636

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

La tabla indica que los tamaños de efecto son medidas que indican la magnitud de las diferencias observadas entre los grupos en relación con la variabilidad dentro de los grupos. Los tamaños de efecto para el índice Metafasico son muy grandes, lo que indica que los tratamientos tienen un impacto considerable y significativo en la fase de Metafase, Los valores altos de eta cuadrado, épsilon cuadrado, omega cuadrado efecto fijo y omega cuadrado efecto aleatorio: muestran que casi toda la variabilidad en el índice Metafasico puede explicarse por las diferencias entre los tratamientos, lo que sugiere que estos tratamientos tienen un efecto fuerte y consistente en la Metafase de la mitosis.

#### Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
INDICE ANAFASICO	Eta cuadrado	.936	.784	.947
	Epsilon cuadrado	.908	.690	.924
	Omega cuadrado efecto fijo	.904	.681	.921
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.574	.234	.624

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

La tabla indica que los tamaños de efecto son medidas que indican la magnitud de las diferencias observadas entre los grupos en relación con la variabilidad dentro de los grupos. Los tamaños de efecto para el índice Anafasico son muy grandes, lo que indica que los tratamientos tienen un impacto considerable y significativo en la fase de Anafase, Los valores altos de eta cuadrado, épsilon cuadrado, omega cuadrado efecto fijo y omega cuadrado efecto aleatorio: muestran que casi toda la variabilidad en el índice Anafasico puede explicarse por las diferencias entre los tratamientos, lo que sugiere que estos tratamientos tienen un efecto fuerte y consistente en la Anafase de la mitosis.

**Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>**

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
INDICE TELOFASICO	Eta cuadrado	.984	.946	.987
	Epsilon cuadrado	.977	.922	.981
	Omega cuadrado efecto fijo	.977	.919	.981
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.856	.619	.878

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

La tabla indica que los tamaños de efecto son medidas que indican la magnitud de las diferencias observadas entre los grupos en relación con la variabilidad dentro de los grupos. Los tamaños de efecto para el índice Telofasico son muy grandes, lo que indica que los tratamientos tienen un impacto considerable y significativo en la fase de Telofase, Los valores altos de eta cuadrado, épsilon cuadrado, omega cuadrado efecto fijo y omega cuadrado efecto aleatorio: muestran que casi toda la variabilidad en el índice Telofasico puede explicarse por las diferencias entre los tratamientos, lo que sugiere que estos tratamientos tienen un efecto fuerte y consistente en la Telofase de la mitosis.

}

### Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
INDICE DE PUENTES ANAFASICOS	Eta cuadrado	.978	.923	.981
	Epsilon cuadrado	.968	.889	.973
	Omega cuadrado efecto fijo	.966	.885	.972
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.805	.524	.833

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

La tabla indica que los tamaños de efecto son medidas que indican la magnitud de las diferencias observadas entre los grupos en relación con la variabilidad dentro de los grupos. Los tamaños de efecto para el índice de Puentes Anafásicos son muy grandes, lo que indica que los tratamientos tienen un impacto considerable y significativo en la fase de Anafase. Los valores altos de eta cuadrado, épsilon cuadrado, omega cuadrado efecto fijo y omega cuadrado efecto aleatorio: muestran que casi toda la variabilidad en el índice de Puentes Anafásicos puede explicarse por las diferencias entre los tratamientos, lo que sugiere que estos tratamientos tienen un efecto fuerte y consistente en la mitosis.

### Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS	Eta cuadrado	.986	.953	.989
	Epsilon cuadrado	.980	.932	.984
	Omega cuadrado efecto fijo	.980	.930	.983
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.873	.654	.892

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

Los tamaños del efecto para la frecuencia de micronúcleos indican que los tratamientos tienen un impacto muy grande en la formación de micronúcleos. Las estimaciones del tamaño del efecto (Eta cuadrado, Epsilon cuadrado, y Omega cuadrado efecto fijo) sugieren que una proporción muy alta de la variabilidad en los micronúcleos se debe a las diferencias entre tratamientos. Esto resalta la importancia de los tratamientos en la variabilidad observada y confirma que los efectos son

significativos y relevantes. Dado que los tamaños del efecto son tan altos, es evidente que los tratamientos están produciendo diferencias substanciales en la frecuencia de micronúcleos

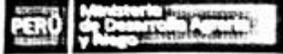
**Tamaños de efecto ANOVA<sup>a</sup>**

		Estimación de puntos	Intervalo de confianza al 95%	
			Inferior	Superior
FRECUENCIA DE CELULAS BINUCLEADAS	Eta cuadrado	.947	.821	.956
	Epsilon cuadrado	.924	.742	.937
	Omega cuadrado efecto fijo	.921	.734	.934
	Omega cuadrado efecto aleatorio	.624	.283	.670

a. Eta cuadrado y Epsilon cuadrado se estiman basándose en el modelo de efecto fijo.

Los tamaños del efecto para la frecuencia de Celulas Binucleadas indican que los tratamientos tienen un impacto muy grande en la formación de micronúcleos. Las estimaciones del tamaño del efecto (Eta cuadrado, Epsilon cuadrado, y Omega cuadrado efecto fijo) sugieren que una proporción muy alta de la variabilidad en los micronúcleos se debe a las diferencias entre tratamientos. Esto resalta la importancia de los tratamientos en la variabilidad observada y confirma que los efectos son significativos y relevantes. Dado que los tamaños del efecto son tan altos, es evidente que los tratamientos están produciendo diferencias substanciales en la frecuencia de Celulas Binucleadas

**ANEXO 9:** Carta de información sobre permiso de recolección de *Annona muricata* L. emitido por el SERFOR.



Decreto de Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres  
Año del Buen vivir, de la consolidación de nuestra independencia y de la conmemoración de las heroínas  
Bolívar de Juan y Avacucha

Cusco, 16 de Enero del 2024

**CARTA N° D000026-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS - CUSCO**

Señor(a)  
**WALTHER RODRIGO FLORES ACHAHUI**  
DNI 71624910  
URB PICCHU ALTO H1  
CUSCO-CUSCO-CUSCO

Presente -

Asunto : Solicita información sobre recolección de hojas *Annona Muricata*.

Referencia : Carta del 12.01.2024  
PROVEIDO D000120-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS CUSCO

Tengo el agrado de dirigirme a usted, en atención a su carta de la referencia, donde su persona, solicita información sobre la recolección de hojas de *Annona Muricata* L. con nombre común de Guanabana en zona privada del distrito de Huayopata, provincia La Convención, Cusco, para investigación de tema de tesis de la UNSAAC titulada "Evaluación del efecto citoprotector de extracto alcohólico de *Annona Muricata* L. frente a la toxicidad inducida con dexametasona en bioensayos con *Vicia faba* L."

Al respecto debo señalar que, de conformidad a la Ley N° 29763 Ley Forestal y de Fauna Silvestre y sus Reglamentos, el SERFOR otorga autorizaciones de investigación científica en caso que estas involucren **recursos forestales y de fauna silvestre** (pudiendo ser necesario su colecta), en ese sentido considerando que la especie *Annona Muricata* L. (Guanabana) corresponde a una especie frutal cultivada no identificada como recurso forestal silvestre, informo a usted que, nuestra representada en el marco de sus atribuciones establecidas en la Ley, no tiene competencias para el otorgamiento de autorización de la investigación proyectada.

Es propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi consideración.

Atentamente,

Documento firmado digitalmente

**RONALD SENIN CHANCASANAMPA MEDINA**  
ADMINISTRADOR TECNICO FFS  
ATFFS – CUSCO

Exp: 2024 0001513

Av. Javier Prado Oeste N° 2442  
Urb. Oromontia, Magdalena del Mar – Lima 17  
T. (511) 225-9005  
[www.gob.pe/serfor](http://www.gob.pe/serfor)  
[www.gob.pe/midagri](http://www.gob.pe/midagri)



Este es un documento digitalmente firmado con un certificado emitido en el Sistema Forestal y de Fauna Silvestre, según lo dispuesto por el Art. 25 del D.L. 270-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 029-2010-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser verificadas a través de la siguiente dirección web: URL: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> (Clave: AP2UH9)



**ANEXO 10:** Certificado de identificación de la especie *Annona muricata* L. por parte del Herbario VARGAS-CUZ.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

- APARTADO POSTAL  
N° 921 - Cusco - Perú
- FAX: 238156 - 238173 - 222512
- RECTORADO  
Calle Tigró N° 127  
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254798
- CIUDAD UNIVERSITARIA  
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232379 - 232375 - 232226
- CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210 - 243033 - 240836 - 243037 - 243038
- LOCAL CENTRAL  
Plaza de Armas s/n  
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- MUSEO INKA  
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA  
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"  
Av. De la Cultura N° 721  
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

## HERBARIO VARGAS CUZ

**CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N°01-2025-HVC-FCB-UNSAAC**

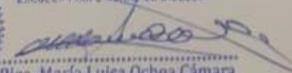
La directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), certifica que el Bachiller en Ciencias Biológicas **Walther Rodrigo Flores Achahui**, ha presentado a la dirección del Herbario Vargas (CUZ), una (01) muestra botánica para su determinación taxonómica (expediente N° 657266), para realizar el proyecto de investigación, "EVALUACION DEL EFECTO CITOPROTECTOR DE EXTRACTO ALCOHOLICO DE *Annona muricata* L., FRENTE A LA TOXICIDAD INDUCIDA CON DEXAMETASONA EN BIOENSAYOS CON *Vicia faba* L.", la que al ser diagnosticada por el M.Sc. Luis Lizárraga Valencia, utilizando claves dicotómicas, consulta de bibliografía especializada y, comparación con las colecciones del herbario, concuerda con la siguiente especie; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group - APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE LOCAL
1	Annonaceae	<i>Annona muricata</i> L.	"guanábana"

Se le expide la presente certificación a petición formal del interesado para los fines que viera por conveniente.

Cusco, 03 de marzo del 2025



  
**Blga. María Luisa Ochoa Cámara**  
 DIRECTORA DEL HERBARIO VARGAS CUZ

**ANEXO 11:** Resultados de la marcha fitoquímica del extracto alcohólico a 70° de hojas al 20% de *Annona muricata L.* por parte del laboratorio de cromatografía y espectrometría de la facultada de Ciencias de la UNSAAC.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
 FACULTAD DE CIENCIAS  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

## RESULTADOS

Cusco 08 de Febrero 2024<sup>04</sup>

Solicitante : Walther Rodrigo Flores Achahui  
 Tipo de Análisis : Marcha fitoquímica  
 Método : Reacciones a la gota y Solubilidad en diferentes solventes  
 Tipo de Muestras : Extracto etanolico al 70% de hojas de *Annona muricata L*  
 Cantidad de Muestra : Una, con 1gr aproximadamente  
 Almacenamiento : 4 °C.

Ensayo	Extracto etanolico al 70% de hojas de <i>Annona muricata L</i>
Compuestos Fenólicos	+++
Flavonoides	+++
Alcaloides	–
Triterpenos y Esteroides	+++
Saponinas	–
Taninos	–
Quinonas	–

Abundante = +++, Poco = ++, Muy Poco = +, Ausente = –

**Nota:**

El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios.

**Referencia**

- Lock de Ugaz O. 1994. "Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio en los productos naturales" Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.



*[Handwritten Signature]*  
 Químico. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP - 914