

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales Citrus reticulata (mandarina), Citrus paradisi (toronja) y Citrus aurantifolia (lima).

Ana Gabriela Noriega Santizo

Química Farmacéutica

Guatemala, Enero de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus aurantifolia* (lima).

INFORME DE TESIS

Presentado por

Ana Gabriela Noriega Santizo

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, Enero de 2015

ACTO QUE DEDICO

- A Dios por permitirme llegar a este paso de mi vida, ser la luz que me ilumina día con día y mantenerme siempre con fe y alegría
- A mis padres Mami: por tu amor infinito y tu apoyo incondicional, por desvelarte conmigo cuando hacia tareas hasta tarde, por la dedicación que siempre me has tenido, por los valores y consejos que me has enseñado, por ser mi mejor amiga y mí ejemplo de lucha y fortaleza.
- Papi: por todo tu apoyo para la culminación de mi carrera, por todos los consejos que me has dado, por el gran cariño y amor que me has tenido y por la humildad y dedicación que me has enseñado.
- A mi hermano por todo su apoyo, amor y enseñanza que da a mi vida, y por ser el mejor amigo que Dios me pudo haber escogido
- A mi novio por su paciencia, apoyo, comprensión y por ser el mejor compañero y amigo durante estos años, por enseñarme a amar incondicionalmente, y por el amor y felicidad que le da a mi vida.
- A mis abuelitas por su amor, dulzura, cariño, dedicación y enseñanzas que dan a mi vida.
- A toda mi familia por todo su apoyo, amor y felicidad que me han brindado a lo largo de mi vida y de mi carrera
- A mis amigos A todos gracias por estar conmigo y apoyarme en todo momento, por ser una gran luz de cariño y alegría.
- A mis catedráticos por compartirme sus conocimientos y ser una gran enseñanza para mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Delia Arriaza, Dra. Amarillis Saravia, Cristian López y Victor Mejía por su apoyo brindado durante la realización de esta tesis.

A Licda. Marcela Figueroa mi agradecimiento especial por el gran cariño y apoyo en la culminación de mi carrera.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, a la Facultad de Ciencias Químicas y farmacia y a la Escuela de Química Farmacéutica.

Al Bioterio Dra. Amarillis Saravia por el gran apoyo en la fase experimental de esta investigación.

Al Hospital Infantil Juan Pablo II, en especial a todo el personal de la Farmacia que han dejado una huella especial en mi vida para siempre.

A todos los animalitos de laboratorio que gracias a ellos es que pudo realizarse esta investigación.

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cóbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M. A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

ÍNDICE

Contenido	No. De página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3
3.1. Hipertensión arterial	3
3.1.1. Definición	3
3.1.2. Fisiopatología	4
3.1.3. Complicaciones	7
3.1.4. Tratamiento	8
3.2. Estudios preclínicos	13
3.2.1. Determinación de la dosis letal media	14
3.2.2. Modelo animal	15
3.2.3. Evaluación de función renal	18
3.3. Evaluación diurética de plantas medicinales	20
3.3.1. Estudios de Guatemala recientes de plantas medicinales	20
3.3.2. Estudios de América recientes de plantas medicinales	22
3.3.3. Estudios de Europa recientes de plantas medicinales	24
4. Justificación	25
5. Objetivos generales y específicos	26
6. Hipótesis	27

7. Materiales y metodología	28
7.1. Universo de trabajo	28
7.2. Muestra	28
7.3. Medios	28
7.4. Metodología	29
7.5. Ensayo farmacológico	29
7.6. Diseño experimental	31
8. Resultados	33
9. Discusión de resultados	41
10. Conclusiones	44
11. Recomendaciones	45
12. Referencias bibliográficas	46
13. Anexos	51

1. RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar y validar mediante estudios farmacológicos la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de las plantas que son Mandarina (*Citrus reticulata*), Lima (*Citrus aurantifolia*) y toronja (*Citrus paradisi*).

Para dicho estudio se preparó un extracto acuoso con una concentración del 20% de las hojas de cada especie a estudiar. Para la determinación diurética se utilizó el método descrito por Naik y col, modificado por Saravia, A. en donde se utilizaron 36 ratas albinas macho, con la misma alimentación, con un peso aproximadamente entre 200 a 300 g. Para cada planta se utilizaron 12 ratas divididas en 4 grupos de 3 ratas cada uno. Al grupo control positivo se administró el fármaco de referencia Furosemida a dosis de 25mg/Kg de peso, al grupo control negativo se administró agua, y a los grupos de las plantas a estudiar, se administró en dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso.

Los resultados del efecto diurético se evaluaron con base a los volúmenes de orina excretados, los cuales se midieron en intervalos de 2, 4 y 6 horas después de la administración.

El análisis de los resultados de cada especie se determinó mediante el área bajo la curva del volumen de orina en relación al tiempo, utilizando la prueba de varianza (ANDEVA) de dos vías, para establecer si existe diferencia significativa entre los tratamientos. Por último se realizó la prueba de Dunnett para comparar el fármaco de referencia, y el extracto acuoso de las plantas a evaluar en las dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso, contra el control negativo a un nivel igual a 0.05.

Respecto a los resultados obtenidos no se observó un aumento significativo de la diuresis en ratas albinas con ninguna dosis aplicada de las hojas de las plantas Mandarina (*Citrus reticulata*), Lima (*Citrus aurantifolia*) y toronja (*Citrus paradisi*).

2. INTRODUCCIÓN

La hipertensión es una enfermedad en Guatemala que afecta a una gran parte de la población, aproximadamente entre el 50-60% la padece, y aumenta de forma importante en frecuencia, después de los 60 años. Es una de las enfermedades más difíciles de controlar, debido a que es una patología silenciosa, y es uno de los principales factores de riesgo de derrames cerebrales, una de las mayores causas de insuficiencia renal, y también puede producir cardiopatías siendo esta la segunda causa de muertes en Guatemala. Una gran parte de la población afectada es de escasos recursos, que viven en áreas rurales, en donde se encuentra una diversidad de plantas medicinales. Por medio de preparaciones fitoquímicas, actúan como diuréticos, pues en estudios recientes se ha dado a conocer que numerosas plantas nativas de Guatemala provocan una disminución de la presión arterial, así como un mejor control de la misma.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad diurética de un conjunto de plantas comúnmente encontradas en Guatemala, de esta manera facilitar el control de la presión arterial, así como también la accesibilidad a la que la población afectada tendría a dichas plantas medicinales, que pertenecen al género *Citreae*, de la familia *Rutaceae*, entre las cuales se encuentran *Citrus aurantifolia* (lima), *Citrus reticulata* (mandarina) y *Citrus paradisi* (toronja).

3. ANTECEDENTES

3.1 HIPERTENSIÓN ARTERIAL

3.1.1 DEFINICIÓN

La Tensión arterial alta o comúnmente conocida como hipertensión arterial (HTA) es el aumento de la presión arterial de forma crónica. Es una enfermedad que no da síntomas durante mucho tiempo y, si no se trata, puede desencadenar complicaciones severas como un infarto de miocardio, una hemorragia o trombosis cerebral, lo que se puede evitar si se controla adecuadamente. Las primeras consecuencias de la hipertensión las sufren las arterias, que se endurecen a medida que soportan la presión arterial alta de forma continua, se hacen más gruesas y puede verse dificultado al paso de sangre a su través.

La tensión arterial tiene dos componentes:

- La tensión sistólica es el número más alto. Representa a tensión que genera el corazón cuando bombea la sangre al resto del cuerpo.
- La tensión diastólica es el número más bajo. Se refiere a la presión en los vasos sanguíneos entre los latidos del corazón. (Márquez, 2012)

La tensión arterial se mide en milímetros de mercurio (mmHg). La tensión arterial alta (HTA) se diagnostica cuando uno de los dos componentes es alto, o ambos son altos. La tensión arterial alta se clasifica como:

- **Normal:** menos de 120/80 mmHg
- **Prehipertensión:** 120/80 a 139/89 mmHg
- **Estadio 1 de hipertensión:** 140/90 a 159/99 mmHg
- **Estadio 2 de hipertensión:** 160/109 a 179/109 mmHg
- **Estadio 3 de hipertensión:** mayor de 179/109 mmHg

3.1.1.1 Factores etiológicos de la hipertensión

Se desconoce el mecanismo de la hipertensión arterial frecuentemente denominada "hipertensión esencial", "primaria" o "idiopática". En la hipertensión esencial no se han descrito todavía las causas específicas, aunque se ha relacionado con una serie de factores que suelen estar presentes en la mayoría de las personas que la sufren. Conviene separar aquellos relacionados con la herencia, el sexo, la edad y la raza y por tanto poco modificables, de aquellos otros que se podrían cambiar al variar los hábitos, ambiente, y las costumbres de las personas, como: la obesidad, la sensibilidad al sodio, el consumo excesivo de alcohol, el uso de anticonceptivos orales y un estilo de vida muy sedentario. En el anexo No. 1 se puede observar una figura que explica con detalle la relación entre los factores etiológicos de la hipertensión arterial. (Márquez, 2012)

3.1.2 FISIOPATOLOGÍA

La presión arterial (PA) es el producto del gasto cardíaco y la resistencia vascular periférica. Cada uno de ellos depende de diferentes factores como son la volemia, contractilidad miocárdica y la frecuencia cardíaca para el gasto cardíaco. La vasoconstricción funcional y estructural de las arterias de mediano calibre, determinan el incremento de las resistencias periféricas.

En diferentes poblaciones de hipertensos el equilibrio entre ambos está desplazado bien hacia niveles relativamente elevados de gasto cardíaco, como es el caso de la obesidad, sal-sensibilidad o jóvenes, o bien hacia el incremento de resistencia, como en el caso de hipertensión de larga evolución.

La HTA esencial, es un proceso complejo cuya génesis se encuentra en la predisposición y susceptibilidad de los sujetos, probablemente hereditaria, que involucra mecanismos vinculados a la homeostasis hidrosalina, nerviosa y hormonal. El gasto cardíaco y las resistencias periféricas son los recursos a través de los cuales opera el sistema de regulación de la PA, intentando mantener las cifras tensionales dentro del rango de normalidad. (Márquez, 2012)

Cuando los mecanismos responsables de la regulación son superados en algunas de sus etapas de participación, las cifras tensionales quedan fuera de la posibilidad de control; entonces, el sistema fija un nuevo valor (más alto) de regulación, se instala la HTA, pudiendo perpetuarse y aún agravarse.

Existen dos teorías que explicarían la patogenia de la hipertensión: En la primera de ellas, el fenómeno iniciador de la hipertensión parece ser la existencia de factores genéticos que reducen la excreción renal de sodio con presión arterial normal. La menor excreción de sodio provoca retención hídrica que lleva a aumento del gasto cardíaco. Esta creciente elevación del gasto genera, como mecanismo de autorregulación, vaso-constricción, para evitar riego tisular excesivo que iría seguido de aumento incontrolado del gasto cardíaco. Sin embargo, esta autorregulación produce aumento de resistencia periférica y con ello hipertensión. (Márquez, 2012). Gracias a esta hipertensión, los riñones pueden excretar más sodio, el suficiente para igualar al sodio ingerido por la dieta y con ello impide la retención de líquido. De este modo, se logra un nivel constante aunque anormal de la excreción de sodio (reajuste de la natriuresis de presión) a expensas de la elevación de la presión arterial.

La otra hipótesis sostiene que la causa primaria es el aumento de la resistencia periférica, ya sea por factores que inducen vasoconstricción funcional, y por factores que provocan alteraciones estructurales en la

pared vascular (hipertrofia, remodelación, hiperplasia de células musculares lisas) que terminan en el aumento de grosor de la pared arterial y/o estrechamiento luminal.(Márquez, 2012)

Los estímulos vasoconstrictores pueden ser:

- Psicógenos. Estrés.
- Mayor liberación de sustancias vasoconstrictoras.
- Mayor sensibilidad de la musculatura a los ajustes vasoconstrictores.

Se ha sugerido que esa mayor sensibilidad se debe a un defecto primario genético del transporte de sodio y calcio a través de la membrana de las células musculares lisas, que provocaría aumento del calcio intracelular y contracción de las fibras musculares lisas. Si los estímulos vasoconstrictores actuaran en forma prolongada o repetida podrían engrosar los vasos y perpetuar la hipertensión.(Márquez, 2012)

La angiotensina II (AGT II) actúa también como factor de crecimiento (hipertrofia, hiperplasia y depósitos de matriz en fibras musculares lisas).Existen pruebas de que en la hipertensión, los cambios de la pared vascular preceden y no suceden a la vasoconstricción, por lo que se presume que los defectos genéticos-ambientales de la señalización intracelular de las fibras musculares lisas afectan a los genes del ciclo celular y a los flujos de iones que maduran el crecimiento de las fibras musculares lisas y al aumento del tono, produciendo mayor grosor de la pared y vasoconstricción.(Márquez, 2012)

El riñón produce varias sustancias vasodepresoras o antihipertensivas, que contrarrestan los efectos de la AGT; son las prostaglandinas, el factor activador de las plaquetas y el NO (óxido nítrico). (Márquez, 2012)

Los factores natriuréticos independientes de la tasa del filtrado glomerular, entre ellos el factor natriurético auricular, Atriopeptina, inhibe la reabsorción de sodio en los túbulos distales y produce vasodilatación.(Márquez, 2012)

3.1.3 COMPLICACIONES

El exceso de presión en las arterias mantenida durante un período de años y no tratada puede llevar a un gran número de complicaciones. Se describen las más importantes. (Wagner, 2010).

3.1.3.1 Arteriosclerosis

Cuando los vasos sanguíneos están sujetos a un aumento de presión mantenido, responden engrosándose, lo que los hace menos flexibles. En estas arterias tíasas se fijan con facilidad las grasas que circulan en exceso en la sangre. A nivel de las arterias de los riñones, la arteriosclerosis hace que llegue menos flujo al riñón, y los riñones responden liberando renina, una hormona que a su vez causa un aumento de la PA. Esto exagera la HTA y causa aún más daño sobre los vasos sanguíneos.(Wagner, 2010)

3.1.3.2 Cardiopatía hipertensiva

Cuando la arteriosclerosis afecta a los vasos que alimentan el músculo cardíaco o miocardio (vasos coronarios), el corazón se ve obligado a trabajar más para mantener el flujo sanguíneo en los tejidos. En algunos casos lo hace aumentando de tamaño, con una hipertrofia del músculo cardíaco, haciéndose más rígido y menos eficaz. El resultado final puede ser la insuficiencia cardíaca congestiva: el corazón se queda atrás en el bombeo de lo que la sangre circulante necesita, y los líquidos se estancan en todo el organismo.(Wagner, 2010).

3.1.3.3 Enfermedad renal

La quinta parte de la sangre bombeada por el corazón va a los riñones. Estos filtran los productos de desecho y ayudan a mantener los valores químicos adecuados. También controlan el balance de ácidos, sales, y agua. Los riñones son especialmente sensibles a las variaciones en el flujo sanguíneo que resultan de la HTA y de sus complicaciones. No pueden funcionar bien si el flujo decrece, así que el flujo bajo hace que secreten más del enzima renina, que hace que se constriñan todas las arterias del cuerpo, subiendo la PA en un intento de restaurar este flujo renal. Sin embargo, en última instancia, lo que se produce es un círculo vicioso que termina en más HTA y peor función renal, hasta llegar al fallo renal.(Wagner, 2010)

3.1.3.4 Accidente cerebrovascular

Cuando la arteriosclerosis afecta a los vasos del cerebro, puede ocurrir un bloqueo de sangre a alguna parte del cerebro por una estrechez o un coágulo (trombosis cerebral), o una rotura de un vaso (hemorragia cerebral). Todo ello es mucho más frecuente en hipertensos, y el riesgo disminuye al tratar la HTA.(Wagner, 2010)

3.1.4 TRATAMIENTO

3.1.4.1 Fisiología Renal Y Fármacos Diuréticos

Para producir la orina, las nefronas y los túbulos colectores desarrollan tres procesos básicos que son:

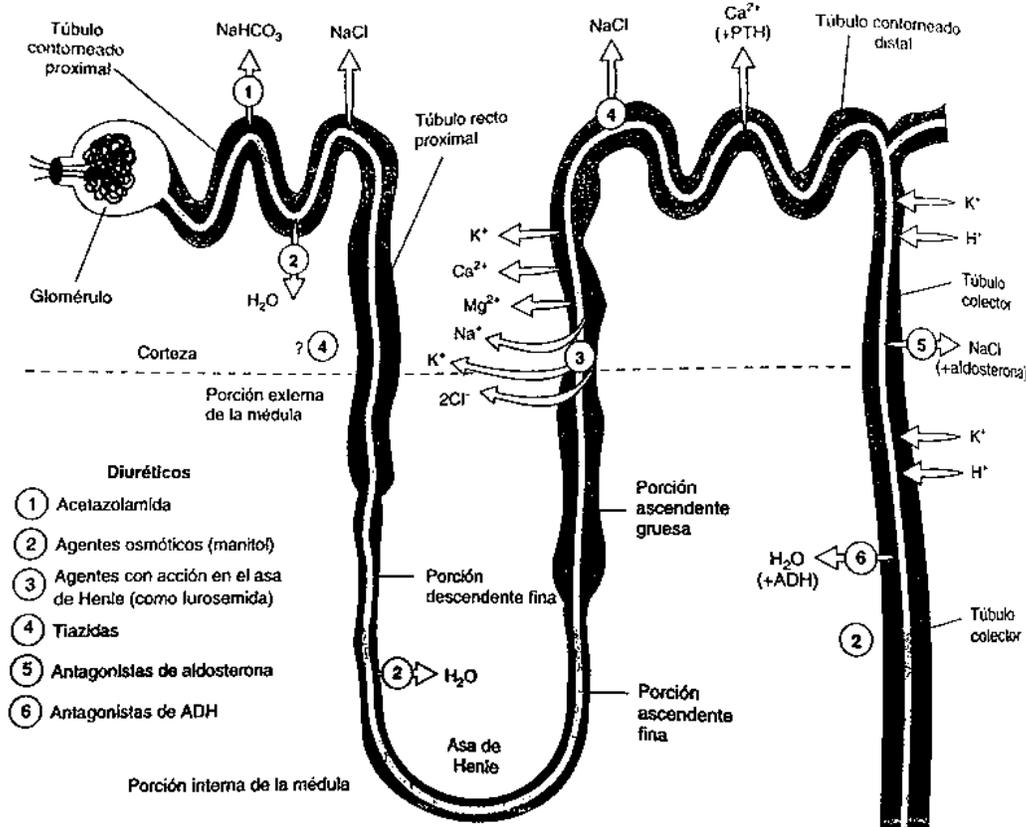
- Filtración glomerular: es el primer paso de la producción de orina, el agua y la mayor parte de los solutos en el plasma sanguíneo, estos se movilizan a través de la pared de los capilares glomerulares hacia la cápsula de Bowman y luego hacia el túbulo renal.

- **Reabsorción tubular:** a medida que el líquido filtrado fluye a lo largo del túbulo renal y a través del túbulo colector, las células tubulares reabsorben cerca del 99% del agua filtrada y diversos solutos útiles. El agua y los solutos regresan a la sangre a medida que fluye a través de los capilares peritubulares y los vasos rectos. La reabsorción se refiere al regreso de las sustancias al torrente sanguíneo.
- **Secreción tubular:** a medida que el líquido fluye a lo largo del túbulo renal y a través del túbulo colector, las células tubulares secretan hacia aquél otras sustancias como desechos, fármacos e iones en exceso, es decir, remueve una sustancia de la sangre. (Tortora, 2007)

3.1.4.2 Clasificación De Fármacos Diuréticos

Los diuréticos son agentes que incrementan el volumen de orina, por lo tanto estos actúan en distintas secciones de la nefrona que cumple un papel muy importante en su mecanismo de transporte por los túbulos renales. Los diuréticos ejercen efectos en proteínas de transporte transmembrana en el epitelio de los túbulos renales, otros ejercen efectos osmóticos que impiden la resorción de agua, inhiben enzimas o interfieren con los receptores de hormonas en células del epitelio renal. Las funciones de cada segmento de los riñones guardan relación estrecha con las propiedades de los fármacos que actúan en ellos. En la Figura 2.1 se puede observar el sitio de acción de los fármacos que actúan como diuréticos. (Katzung, 2010)

Figura No. 2.1
Sitio de acción de diuréticos



3.1.4.2.1 Inhibidores de la anhidrasa carbónica

La anhidrasa carbónica está presente en muchos sitios de la nefrona, pero predomina en la membrana luminal del túbulo contorneado proximal en que cataliza la deshidratación de ácido carbónico. Estos al bloquear la enzima, bloquean también la resorción de bicarbonato de sodio y originan diuresis. Estos fueron los antecesores de los diuréticos actuales. En la actualidad rara vez se usan los inhibidores de anhidrasa carbónica como diuréticos, aunque aún se aplican. El prototipo es acetazolamida, que se muestra en la figura No. 1: sitio de acción de diuréticos (1). (Katzung, 2010)

3.1.4.2.2 Diuréticos con acción en el asa de Henle

Inhiben de manera selectiva la resorción de cloruro de calcio en la rama ascendente gruesa, tal como se muestra en la Figura No. 1: Sitio de acción de diuréticos (3). Debido a su gran capacidad de absorción de este diurético por el segmento mencionado y porque la acción diurética no se frena por la aparición de acidosis como ocurre con los inhibidores de la anhidrasa carbónica, son los más eficaces entre todos los fármacos diuréticos. El prototipo es furosemida y ácido etacrinico, que son los más utilizados. También se encuentran en esta categoría los diuréticos orgánicos mercuriales, sin embargo no se utilizan debido a sus efectos tóxicos. (Katzung, 2010)

3.1.4.2.3 Tiazídicos

Son producto de los intentos de las síntesis de inhibidores más potentes de la anhidrasa carbónica. Inhiben el transporte de cloruro de sodio de manera predominante en el túbulo contorneado distal. Sin embargo algunos fármacos tiazídicos retienen actividad inhibitoria notable de anhidrasa carbónica. El prototipo es la hidroclorotiazida, se encuentra ilustrado en la figura 1: sitio de acción de diuréticos (4). (Katzung, 2010).

3.1.4.2.4 Diuréticos ahorradores de potasio

Estos fármacos evitan la secreción de potasio al antagonizar los efectos de la aldosterona en la porción distal y la cortical de túbulos colectores. La inhibición puede aparecer por antagonismo farmacológico directo de los receptores mineralocorticoides, tal como la espironolactona o esplerenona, o por inhibición de la penetración de sodio, a través de los conductos de dicho ion en la membrana

luminal, como la amilorida o triamtereno, que se observan en la figura 1: sitio de acción de diuréticos (5). (Katzung, 2010)

3.1.4.2.5 Agentes que alteran la excreción de agua

- Diuréticos osmóticos

El túbulo proximal y la porción descendente del asa de Henle son muy permeables al agua. Cualquier agente osmóticamente activo filtrado por el glomérulo, pero que no es reabsorbido, origina retención de agua en los segmentos mencionados y estimula la diuresis hídrica. Los fármacos se utilizan para disminuir la presión intracraneal y estimular la eliminación rápida de toxinas por riñones. El prototipo diurético osmótico es manitol, que se encuentra en la Figura 1: sitio de acción de diuréticos (2), (Katzung, 2010).

- Agonistas de hormona antidiurética (ADH)

La vasopresina y desmopresina se utilizan en el tratamiento de la diabetes insípida central. La acción que ejercen en riñones es mediada de modo predominante por los receptores V_2 . (Katzung, 2010)

- Antagonistas de la hormona antidiurética (ADH)

Enfermedades como insuficiencia cardiaca congestiva y síndrome de secreción inapropiada de ADH, originan retención de agua como consecuencia del exceso de dicha hormona, y de consecuencia puede ocurrir hiponatremia peligrosa, por lo que existe un antagonista aprobado no péptido del receptor de ADH llamado conivaptan, este posee una actividad contra receptores V_1 y V_2 . Existen dos agentes contra ADH no selectivos que son el litio y demeclociclina, sin embargo tiene muchos efectos adversos. (Katzung, 2010).

3.1.4.3 Uso Terapéutico De Los Diuréticos

Los fármacos diuréticos se utilizan para disminuir edema periférico, en el cual se acumula líquido como consecuencia de trastornos del Corazón, riñones o vasos que aminoran la llega de sangre a los riñones. Por lo tanto es útil para insuficiencia cardíaca, nefropatías e insuficiencia renal, cirrosis hepática y edema idiopático. También son útiles en estados no edematosos tal como la hipertensión, nefrolitiasis, hipercalcemia y diabetes insípida. (Tortora, 2007)

Los diuréticos son sustancias que disminuyen la reabsorción renal de agua y producen por lo tanto diuresis, definido como un índice de flujo urinario elevado, que a su vez reduce el volumen sanguíneo. Los diuréticos suelen indicarse para tratar la hipertensión, ya que la disminución del volumen sanguíneo generalmente hace descender la presión arterial. (Katzung, 2010).

3.2 ESTUDIOS PRECLÍNICOS

Los estudios preclínicos son pruebas que se llevan a cabo en un contexto científicamente controlado con utilización de cultivos celulares y animales como modelos. La finalidad de los estudios preclínicos es predecir cómo actúa el organismo sobre el candidato a fármaco (farmacocinética), cómo actúa el candidato a fármaco sobre el organismo (farmacodinamia) y si el candidato a fármaco puede entrañar posibles riesgos para la salud o efectos secundarios tóxicos.

La información derivada de estos estudios es vital. Permite que los investigadores calculen una posología segura para los seres humanos en ensayos clínicos en fase I. Aunque se exige que las empresas farmacéuticas presenten datos de modelos animales a las autoridades sanitarias como parte del proceso de aprobación de medicamentos, las empresas están adoptando

medidas para reducir el número de animales utilizados en los estudios debido a problemas éticos y al coste que conllevan las instalaciones.

Los modelos animales incrementan en gran medida la capacidad de los científicos de estudiar la eficacia y la seguridad de los candidatos a medicamentos nuevos. En la validación de objetivos, los investigadores pueden utilizar ratones con genes desactivados o activados. Se utilizan principalmente roedores tales como ratones, ratas, cuyos y conejos, sin embargo existen estudios que utilizan animales salvajes tales como monos que depende del fármaco a estudiar y de la precisión de resultados que se desea obtener. Por ejemplo a los ratones o ratas con genes desactivados se les altera genéticamente para eliminar las versiones murinas de genes responsables de enfermedades humanas. Estos genes también pueden activarse para crear modelos murinos de enfermedades humanas como cáncer, diabetes, Alzheimer y Parkinson. Los candidatos a medicamentos se analizan en estos ratones, lo que permite que los investigadores comprueben la aparición de efectos adversos secundarios antes de administrarlos a seres humanos.

Cuando los ensayos preclínicos aportan pruebas suficientes de que un candidato a fármaco es seguro, las empresas presentan una solicitud de fármaco nuevo en investigación a la EMEA (Agencia de Medicamentos Europea, por sus siglas en inglés). Una vez que la EMEA aprueba la investigación de la nueva droga, las empresas pueden comenzar a realizar ensayos clínicos escalonados en seres humanos. (Amgen, España).

3.2.1 DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (DL50)

Este es un ensayo preliminar para determinar la zona del ensayo definitivo, que debe situarse entre la dosis más fuerte, en la cual todos los animales sobreviven y la dosis más débil en la cual todos los animales

mueren. Estas dos dosis delimitan la zona en la cual se efectuará el ensayo definitivo.

Se administran dosis constantes de sustancias a diferentes lotes de animales. Se anota el porcentaje de mortalidad en cada lote. La DL50 se determina después por cálculo. Las dosis administradas son en progresión geométrica. (Saravia, 2005)

Categoría	Dosis	No. De ratones utilizados
1	1 g /Kg de peso	5
2	2 g /Kg de peso	5
3	3 g /Kg de peso	5
4	4 g /Kg de peso	5
5	5 g /Kg de peso	5

3.2.2 MODELO ANIMAL

En las investigaciones médicas y biológicas generalmente se utiliza por lo menos una de las siguientes categorías:

- Voluntarios humanos
- Animales de experimentación
- Embriones, órganos, tejidos o células de origen vegetal, animal o humano
- Bacterias, hongos y protozoos
- Modelos inanimados como programas de computación o productos químicos o físicos.

El material experimental a utilizar debería ser elegido con el objetivo de resolver el caso en estudio del modo más simple posible. Además de las consideraciones científicas, existen también problemas legales y éticos que deben tenerse en cuenta cuando se lleva a cabo la selección del material a ser utilizado. (Saravia, 2005).

Los animales de experimentación son utilizados en investigación con fines médicos como:

- Proveedores de productos biológicos
- Modelos para el estudio de respuestas biológicas
- Instrumentos para el estudio de procesos biológicos.
- Investigaciones a mejorar el cuidado, salud y calidad de los mismos y su medio ambiente.
- Muchas experimentaciones el animal empleado sirve como un sustituto del ser humano y se refiere como modelo animal

Un modelo animal es como un modelo en el cual se puede estudiar la biología o el comportamiento, investigar un proceso patológico espontáneo o inducido y en el cual el fenómeno refleje el mismo fenómeno en el ser humano u otras especies animales. (Saravia, 2005).

Los modelos animales utilizados en el estudio de enfermedades humanas pueden ser divididos en 4 grupos:

3.2.2.1 Modelos inducidos

Se refiere a aquellos animales en los cuales la enfermedad o desorden es producido experimentalmente, ya sea mediante métodos quirúrgicos, químico farmacológicos, infecciosos, inmunológicos, genéticos o físicos, con la finalidad de obtener un correlativo entre los síntomas y la etiología inducida experimentalmente con aquellos esperados u observados en las especies blanco de esa patología

3.2.2.2 Modelos espontáneos

Son aquellos que exhiben variantes espontáneas (mutaciones). Actualmente existen cientos de cepas que han sido analizadas y categorizadas. Ej: modelo espontáneo de aterosclerosis en conejo o paloma, el ratón NOD (non obese diabetic mice), modelo de diabetes tipo I. Los modelos espontáneos pueden ser obtenidos a partir de cepas genéticamente uniformes, o a partir de poblaciones cruzadas al azar, donde un alto porcentaje de los animales se encuentren afectados por la enfermedad.

3.2.2.3 Modelos negativos

Son especies, líneas o cepas que no desarrollan una determinada enfermedad. Este término podría ser asignado a un modelo insensible a un determinado estímulo que usualmente tiene efecto sobre otras especies o líneas. Los mecanismos involucrados en la insensibilidad pueden ser estudiados con el objetivo de proveer un mayor conocimiento en esta área de investigación. Ej: en el caso del desarrollo de la diabetes tipo I, el ratón mediante dosis consecutivas subdiabetogénicas de estreptozotocina, se observa que la cepa C57BL/Ks posee una mayor susceptibilidad a desarrollar esta patología de la C57BL/6, pese a ser cepas coisogénicas (solamente difieren en un gen).

3.2.2.4 Modelos huérfanos

Se refiere a modelos donde se reconoce y estudia una enfermedad, pensando que en el futuro se podría identificar una contraparte humana. Ej: el virus del papiloma en tumores epiteliales malignos y el virus de la enfermedad de Mareks como un agente linfoproliferativo.

El modelo animal se debe seleccionar con base a lo que se investigará, y referirse a la bibliografía, pues indicará que especies son utilizadas en el tópico del propio interés. (Saravia, 2005).

3.2.3 EVALUACIÓN DE FUNCIÓN RENAL

El riñón, y el hígado, ambos realizan una variedad de funciones de gran importancia para el mantenimiento de la homeostasis normal. Participa en la excreción de desechos, en la regulación del equilibrio ácido-base y en el equilibrio de hidroelectrolítico. El buen rendimiento de estas funciones depende tanto de la filtración glomerular normal como de la integridad de los túbulos renales. El panel renal primario evalúa ambas funciones renales.

3.2.3.1 Evaluación de función renal en orina

En los análisis de orina se pueden medir cambios en los niveles de sustancias en la misma. Los resultados de estas pruebas pueden ayudar al médico a estimar la eficacia con la que están trabajando los riñones. Una prueba de creatinina mide el nivel de residuos en la orina de un producto llamado creatinina. A medida que la enfermedad renal empeora, el nivel de creatinina en la orina se eleva. Este resultado se utiliza para estimar la tasa de filtración glomerular (GFR). La GFR ayuda al médico a juzgar lo que queda de la función renal a partir del cuidado del riñón o de algún medicamento utilizado. La fase de enfermedad renal se basa en el GFR. Entre los análisis más importantes para evaluar la función renal se encuentran:

- **Nitrógeno Ureico:** Es la cantidad de nitrógeno circulando en forma de urea en el torrente sanguíneo. La urea es una sustancia secretada a nivel del hígado, producto del metabolismo proteico y se elimina a través de los riñones. Generalmente es utilizado como una prueba del funcionamiento renal en mamíferos. Una disminución de sus niveles puede revelar una dieta pobre en proteínas, una insuficiencia hepática, como un concomitante al aumento de amonio en sangre, o el uso de esteroides anabólicos. Un aumento de los niveles se produce cuando se reduce la capacidad de filtración glomerular o cuando el catabolismo

proteico está exacerbado. Además de la insuficiencia renal, las lesiones de la vejiga o la uretra también causan un incremento en sus niveles sanguíneos. Además, se pueden observar valores elevados de nitrógeno ureico sanguíneo en la insuficiencia cardíaca, en la hipofunción de la glándula suprarrenal y en el shock, aumentos que corresponden a la denominada uremia prerrenal.

- **Creatinina:** un subproducto del metabolismo muscular y normalmente, los riñones filtran este residuo. Los niveles de creatinina en la sangre (suero) son los valores más utilizados para determinar la actividad renal. Aunque también pueden evaluarse mediante la orina, sin embargo es más específico determinar los niveles de creatinina en la sangre. Por lo tanto, los niveles séricos de creatinina, así como los niveles de nitrógeno de urea sérico, se utilizan como estimaciones de la tasa de filtración glomerular, siendo equivalentes las interpretaciones de la elevación de la creatinina y nitrógeno de urea séricos, sin embargo, la creatinina está menos influenciada por factores extrarenales. Por esta razón, las mediciones séricas secuenciales de creatinina suelen utilizarse para la evaluación pronóstica de una insuficiencia renal. Cuando los factores como la dieta y la hidratación son constantes, los pacientes con enfermedad renal y elevación secuencial de los niveles de creatinina sérica tienen un pronóstico mucho más reservado que los pacientes con enfermedad renal y una disminución secuencial de los niveles de creatinina sérica. Es un producto nitrogenado de desecho no proteico. La disminución de sus niveles no tiene significación clínica. Sin embargo un aumento de los niveles sanguíneos indica una filtración renal deficiente. Los aumentos de nitrógeno ureico con creatinina normal pueden sugerir trastornos pre-renales, tempranos o leves. Un trastorno pre-renal severo presenta niveles de nitrógeno ureico y creatinina elevados. Aumentos de creatinina, nitrógeno ureico y fósforo

elevados indicaría una enfermedad renal severa (insuficiencia renal crónica).

Existen otros análisis que pueden realizarse para evaluar la función renal, los cuales se presentan en el anexo No. 3.

3.3 EVALUACIÓN DIURÉTICA DE PLANTAS MEDICINALES

3.3.1 Estudios de Guatemala recientes de plantas medicinales

3.3.1.1 Vásquez, C. Validación farmacológica de la actividad diurética de hojas de flor de muerto (*Tagetes erecta L.*), hojas de Santo Domingo (*Baccharis trinervis Lam*) y hojas de Matasano (*Casimiro aedulis Llave et Lex*) en infusión acuosa. (2008). Dicho estudio se realizó con el objetivo de validar la actividad diurética de las hojas de plantas flor de muerto (*Tagetes erecta L.*), de Santo Domingo (*Baccharis trinervis Lam*) y de Matasano (*Casimiro aedulis Llave et Lex*) mediante estudios farmacológicos por el método de Naik y col. Modificado por Saravia. A. y de acuerdo con los resultados obtenidos no se observó aumento significativo de la diuresis en ratas albinas de ninguna de las infusiones de hojas anteriormente mencionadas.

3.3.1.2 Solares, J. Validación farmacológica de la actividad diurética de las infusiones acuosas de las hojas de mejorana (*Ageratum conyzoides L.*), Chalchupa (*Rauvolfia tetraphylla L.*) e infusión acuosa de la raíz de valeriana (*Valeriana prioriophylla Standl.*) en ratas albinas. (2008). La infusión de hojas al 10% de las hojas de plantas mejorana (*Ageratum conyzoides L.*), Chalchupa (*Rauvolfia tetraphylla L.*) y valeriana (*Valeriana prioriophylla Standl.*), no presentan efecto diurético a dosis de 750 y 1000 mg/kg en ratas albinas, sin embargo si tiene validez estadística, pues se observó la diferencia entre los controles positivo y negativo.

- 3.3.1.3** Elgueta, E. Validación farmacológica de la actividad diurética de las infusiones de hojas de *Petiveria alliacea* L. (apacín), hojas de *Ocimum basiliscum* L. (albahaca) y rizoma de *Curcuma Longe* L. (cúrcuma). (2007). Los resultados obtenidos muestran que la infusión de hojas de *Petiveria alliacea* L. (apacín), hojas de *Ocimum basiliscum* L. (albahaca) y rizoma de *Curcuma Longe* L. (cúrcuma), a dosis de 750 y 1000 mg/kg por vía oral a ratas albinas no posee actividad diurética por el método ensayado.
- 3.3.1.4** Sil, J. Validación farmacológica de la actividad diurética de infusiones acuosas de *Cecropia obtusifolia bertaloni* (guarumo), *Cecropia peltata* L. (guarumo), *Solanum nigrensces mart o Gal* (quilete) y *Zebrina pendula Schnizl* (hierba de pollo), popularmente utilizadas en Guatemala (2005). Los resultados obtenidos con el método de experimentación muestran que las infusiones acuosas de *Cecropia obtusifolia bertaloni* (guarumo), *Cecropia peltata* L. (guarumo), *Solanum nigrenscesmart o Gal* (quilete) y *Zebrina pendula Schnizl* (hierba de pollo) a concentraciones de 750 y 1000mg/kg de peso por vía oral a ratas albinas no poseen actividad diurética por el método ensayado.
- 3.3.1.5** Morales, J. Estudio farmacológico de los extractos etanólico, hexánico, clorofórmico, acetato de etilo y acuoso de las hojas de orégano (*lippia graveolens*) como diurético. (2004). En ningún extracto de *Lippia graveolens* se evaluó actividad diurética significativa. Sin embargo con el extracto hexánico de *Lippia graveolens* presento mayor volumen urinario excretado en comparación de otros extractos.
- 3.3.1.6** Méndez, E. Determinación de la actividad diurética de la raíz de *Smilax domingensis* (zarzaparrilla), del fruto de *Averrhoa carambola* L. (carambola dulce) y del fruto de *Capsicum annum* (chile pimiento) (2003). Los resultados obtenidos con el método de experimentación demuestra que las infusiones acuosas de la raíz de *Smilax dominguensis*

(zarzaparrilla), del fruto de *Averrhoa carambola* L. (carambola dulce) a concentraciones de 750mg/kg y de 1000mg/kg de peso por vía oral a ratas albinas carecen de actividad diurética, mientras que con la infusión acuosa del fruto de *Capsicum annum* (chile pimiento) a concentraciones de 750mg/kg y de 1000mg/kg de peso por vía oral a ratas albinas posee actividad diurética, además ninguna de las plantas estudiadas presentan toxicidad a los animales de experimentación.

3.3.2 Estudios de América recientes de plantas medicinales

3.3.2.1 Gasparotto, J. (Et. Al.) Mecanismo subyacente del efecto diurético del extracto de *Tropaeolum majus* L. y del componente bradiscinina. Brasil (2012). Se obtienen los resultados que los extractos de la planta *Tropaeolum majus* incrementa la diuresis en ratas, así como incrementa la biodisponibilidad de la bradiscinina, PGI2 y óxido nítrico, así como un efecto inhibitorio de la bomba de protones Na/K ATPasa.

3.3.2.2 Machin M. Uso tradicional de plantas medicinales con acción diurética en el Municipio de Quemado de Güines, Cuba (2011). En este estudio se identificaron 26 plantas medicinales utilizadas como diuréticas por las comunidades estudiadas, donde 14 de ellas carecían de validación a nivel experimental en Cuba: *Costus pictus* D. Don, *Justicia pectoralis* Jacq., *Citrus aurantium* L., *Coleus amboinicus*, *Ocimum bacilicum* L., *Allium cepa* L., *Zanthoxylum fagara* L., *Nectandra coriácea* (Sw.) Griseb., *Urera baccifera* L., *Persea americana* Miller, *Cassia alata* L., *Parthenium hysterophorus* L., *Roystonea regia* y *Dichrostachys cinerea* (L.). Se encontraron 10 plantas con un mayor nivel de uso significativo y un mayor IVU, que es el método de análisis mediante los índices cuantitativos de valor de uso para cada especie donde se situaron algunas de las no validadas, lo que revela que el conocimiento tradicional continúa profundamente arraigado a las comunidades estudiadas.

3.3.2.3 Zarate, G. Evaluación del efecto diurético del extracto acuoso de *Parmentiera edulis* D.C. (cuajilote), México (2011). En este estudio se demostró que el flujo urinario, depuración de sodio, y agua libre se incrementaron en todos los grupos con respecto al grupo testigo. La flor indujo un efecto diurético mayor al obtenido en los grupos tratados con los extractos de corteza, sin embargo menor al grupo control positivo. En las evaluaciones farmacológicas de las fracciones de acetato de etilo y metanol de fruto, las clorofórmicas y metanólicas de la corteza y la flor se observaron incrementos en el flujo urinario y las depuraciones de sodio respecto al grupo testigo al 50% de las dosis utilizadas de los extractos acuosos.

3.3.2.4 Alviz, A. (Et. Al.) Evaluación del efecto diurético del extracto etanólico y acuoso de la planta total *Ceratopteris pteridoides* en un modelo de ratas, Colombia (2009). Los extractos demostraron ser diuréticos, natriuréticos y kaliuréticos después de la administración aguda, en comparación con los controles; sin embargo, en menor eficacia que la furosemida ($p < 0,001$). Por otro lado, luego de la administración subcrónica se mantuvo el efecto diurético sin modificación en la eliminación de electrolitos ($p < 0.001$), lo que hace a los extractos interesantes en el tratamiento de la falla cardiaca que cursa con hiponatremia. Por otro lado los esteroides, los taninos y las aminas hallados en el tamizaje fitoquímico podrían ser los responsables de dicha actividad ahorradora de electrolitos como el potasio, y por último se demostró que el extracto de dicha planta no presentó daños en tejidos renales y hepáticos en las ratas tratadas.

3.3.3 Estudios de Europa recientes de plantas medicinales

3.3.3.1 Bracci, A. (Et. Al.) Actividad diurética de *Lophophytum leandri*, Italia (2012). Este estudio se realizó para validar el uso tradicional de dicha planta que se utiliza tradicionalmente como diurético en la práctica medicinal de Argentina. Se identificó el principio activo de esta acción el cual es Quercetin-3-O-beta-D-glucopiranosido. Esta planta se demostró que tiene una gran actividad diurética.

3.3.3.2 Abdala S. (Et. Al.) Actividad diurética de fracciones de *Smilax canariensis*, España (2012). Este extracto de la planta fue realizado en medio acuoso y etanólico, y se demuestra que no posee efecto diurético comparado con los medicamentos utilizados en las patologías urinarias.

3.3.3.3 Bisson J. (Et. Al.) Efecto diurético y antioxidante de *Cacti-Nea*, un extracto acuoso de pera espinosa. Francia (2010). Se evaluó el efecto diurético y antioxidante de la planta *Cacti-Nea*, y se demostró que la misma incrementa los volúmenes de orina excretados en ratas albinas, las cuales fueron los animales de experimentación del estudio realizado.

3.3.3.4 Rabiskovi, M. Efecto diurético del extracto acuoso de maíz, Lituania (2007). En este estudio se evaluó el efecto de la diuresis del extracto acuoso de maíz comparado con la hidroclotiazida, y se demostró que si posee efecto diurético, sin embargo menor que la hidroclorotiazida.

4. JUSTIFICACIÓN

La hipertensión arterial es uno de los mayores problemas de salud más frecuentes a nivel mundial. En Guatemala al menos uno de cada tres adultos, aproximadamente el 65.7% de la población, padecen de hipertensión arterial, el principal factor de riesgo para morir por una enfermedad cardiovascular. La presión arterial alta, es decir, igual o por encima de 140/90 mmHg, aumenta el riesgo de sufrir infarto al corazón, accidente cerebrovascular o enfermedad renal crónica. Distintos estudios estiman que la presión arterial alta contribuye con 9,4 millones de muertes al año en todo el mundo por enfermedades cardiovasculares. (OMS, 2013)

Las plantas medicinales que tienen una acción diurética son muy eficaces para el control de la presión arterial ya que es medicina natural, se disminuyen o no se presentan efectos adversos, así como interacciones con otros medicamentos son casi nulas. Es muy importante brindar un estudio respecto a plantas medicinales debido a que en el área rural, la población tiene mayor facilidad de adquirir dichas plantas y tratar la hipertensión, que muchas veces es silenciosa y no se asiste al médico para evaluación general, y cuando se acude y presenta la enfermedad, el médico receta algún medicamento con un alto costo que muchas veces se encuentra fuera del alcance del paciente. Por lo tanto es importante que la población conozca el tratamiento natural para la hipertensión, para utilizar la infusión acuosa de las plantas a evaluar como un hábito en el estilo de vida de la persona que padece de hipertensión y mejorar la salud, evitando el uso de medicamentos de alto costo.

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

- Evaluar la actividad diurética de las plantas *Citrus aurantifolia* (lima), *Citrus reticulata* (mandarina), y *Citrus paradisi* (toronja), del género Citrae de la familia Rutaceae

4.2. ESPECÍFICOS

- Determinar la dosis letal media (DL50) del extracto acuoso de las plantas *Citrus aurantifolia* (lima), *Citrus reticulata* (mandarina), y *Citrus paradisi* (toronja), del género Citrae de la familia Rutaceae.
- Establecer la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de las plantas *Citrus aurantifolia* (lima), *Citrus reticulata* (mandarina), y *Citrus paradisi* (toronja), del género Citrae de la familia Rutaceae.
- Determinar la dosis efectiva en la cual se presenta el efecto diurético esperado.

6. HIPÓTESIS

Las plantas *Citrus aurantifolia* (lima), *Citrus reticulata* (mandarina), y *Citrus paradisi* (toronja), poseen efecto diurético a concentraciones de 750mg/kg y 1000mg/kg de peso.

7. MATERIALES Y METODOLOGÍA

7.1. Universo de trabajo

Hojas secas de *Citrus aurantifolia* (lima), *Citrus reticulata* (mandarina), y *Citrus paradisi* (toronja).

7.2. Muestra

Extracto acuoso de *Citrus aurantifolia* (lima), *Citrus reticulata* (mandarina), y *Citrus paradisi* (toronja).

7.3. Medios

7.3.1. Recursos humanos

- 7.3.1.1. Investigador: Ana Gabriela Noriega Santizo
- 7.3.1.2. Asesora: Licda. Delia María Arriaza García
- 7.3.1.3. Revisora: Dra. Amarillis Saravia Gómez

7.3.2. Recursos materiales

- 7.3.2.1. Balanza semianalitica
- 7.3.2.2. Bebederos
- 7.3.2.3. Concentrado
- 7.3.2.4. Cristalería de laboratorio
- 7.3.2.5. Estufa eléctrica
- 7.3.2.6. Furosemida 25mg/kg
- 7.3.2.7. Jaulas y tapaderas
- 7.3.2.8. Jeringas de 1mL
- 7.3.2.9. Sonda orogástrica
- 7.3.2.10. Viruta
- 7.3.2.11. Ratas albinas Wistar macho con peso de 200 gramos.
- 7.3.2.12. Ratones macho de 20-40 gramos.

7.3.2.13. Caja metabólica marca Nalgene para animales de experimentación (Roedores).

7.3.2.14. Guantes

7.3.2.15. Mascarilla

7.4. Metodología

7.4.1. Elección de plantas a las cuales se les atribuye popularmente la acción terapéutica de interés.

7.4.2. Revisión bibliográfica de flora en Guatemala

7.4.3. Selección de plantas a investigar

7.4.4. Recolección de planta a evaluar

7.4.5. Identificación de planta

7.4.6. Secado y molienda de material vegetal utilizando mortero.

7.4.7. Preparación de los extractos acuosos de las plantas al 20%. Se pesan 10 gramos de materia vegetal a utilizar seca y molida, y se agregan 50mL de agua hirviendo, tapar y dejar enfriar.

7.5. Ensayo Farmacológico

6.5.2 Determinación de la dosis letal media (DL₅₀)

Se seleccionaron 5 lotes con un número determinado de ratones albinos, de la misma edad y sexo, con un peso aproximado de 22 a ± 10 gramos, con el mismo tipo de alimentación. Luego se administró el extracto acuoso de las hojas de las plantas seleccionadas por vía orogástrica de la sustancia a estudiar de 1 a 5 g/Kg de peso corporal, dándole a cada grupo la dosis respectiva y se observaron a la hora, 4, 8, 12, 48 y 72 horas y así sucesivamente durante 8 días. Se evaluó: alteración de los pelos y mucosas, sistema respiratorio y circulatorio, sistema nervioso central y periférico, actividad somatomotriz y del comportamiento, temblores, hipersialorrea, sudoración, convulsiones y cromodaciorrea.

Para determinar la DL50 los datos obtenidos anteriormente se analizaron utilizando el método de Karber y Beherens

$$DL50 = Df - \sum\left(\frac{a*b}{n}\right)$$

Dónde:

- Df = primera dosis que mata a todos los animales de un grupo
- a = suma de muertos de 2 lotes consecutivos
- b = diferencia entre dosis consecutivas entre lotes, expresada en mg.
- n = número de animales por lote

7.5.1. Actividad diurética

El método utilizado para determinar la acción diurética es el método descrito por Naik y col, modificado por Saravia, A.

En este método se utilizaron 12 ratas albinas de un mismo sexo con un peso de 200-300 gramos para cada una de las plantas estudiadas, haciendo un total de 36 ratas. Los animales se dividieron en 4 lotes de 3 ratas cada uno para cada planta.

El extracto de las plantas se administró vía oral, por medio de una sonda orogástrica, de igual forma se administró a las ratas grupo control positivo, 25mg/Kg de peso de furosemida (fármaco diurético de referencia) y a las ratas control negativo únicamente agua “*ad libitum*”.

Las dosis que se administraron de los extractos de las plantas fueron de 750 y 1000mg/kg de peso. Luego de administrado el tratamiento a cada lote se colocaron las ratas en jaulas metabólicas individuales marca Nalgene y se procedió a medir el volumen de orina luego de las 2, 4 y 6 horas de administrados los tratamientos. Esto se repitió todos los días durante 5 días por cada planta. (Saravia, 2005).

6.5.3 Cálculos para determinar la actividad diurética

La actividad diurética se calculó y expresó en porcentaje de volumen de orina excretado utilizando la siguiente fórmula:

- Porcentaje de diuresis respecto al blanco

$$\text{Blanco} = \frac{X - \text{control blanco}}{\text{Control blanco}} \times 100$$

- Excreción volumétrica

$$\% \text{vol. excretado} = \frac{V_i - V_f}{V_f} \times 100$$

6.6 Diseño experimental

El diseño utilizado fue de bloques completados al azar utilizando 4 lotes de tres ratas cada uno, para cada una de las plantas a evaluar, en los que se aplicaron 4 tratamientos (control negativo que es solamente agua, control positivo que se administró el fármaco de referencia el cual fue Furosemida 25mg/Kg de peso, y por último las dosis de 750mg/kg y dosis de 1000mg/Kg de peso de la infusión de las plantas a evaluar.), 5 días de medición y aplicación por cada planta.

El número de réplicas por tratamiento fue de 3 ratas por 5 días que dio un resultado de 15 réplicas para la experimentación completa con 3 plantas distintas.

La respuesta a medir en cada rata, por cada tratamiento y por cada día, se obtuvo por medio del volumen urinario acumulado medido en mL. Cada volumen de cada rata se midió a las 2,4 y 6 horas, y al obtener registros de 3 lecturas se realizó una gráfica de volumen excretado vs. tiempo para cada rata, y se graficó colocando en el eje X tiempo de 2, 4 y 6 horas, y eje Y volumen excretado en mL. El motivo de la obtención de estos datos sirvió para realizar

la integración de los datos de cada rata para establecer y calcular el área bajo la curva.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de 2 vías de acuerdo al diseño para establecer si existía diferencia significativa entre los tratamientos ($\alpha=0.05$), y de esta forma determinar si se aprueba o rechaza la hipótesis nula

Ho: los tratamientos tienen la misma actividad diurética

Ha: al menos uno de los tratamientos tiene actividad diurética

Por último se realizó una prueba de Dunnett para comparar el control positivo que es el fármaco de referencia, las dosis de 750mg/Kg y de 1000mg/Kg de peso contra el control negativo.

8. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos realizados en grupos: grupo control positivo para el cual se utilizó Furosemida en dosis de 25mg/Kg de peso, las infusiones de las plantas estudiadas en dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso y por último el grupo control negativo.

Los resultados obtenidos de la determinación de la actividad diurética de los extractos acuosos de las hojas de mandarina (*Citrus reticulata*), toronja (*Citrus paradisi*) y lima (*Citrus aurantifolia*), fueron obtenidos según la metodología descrita, en donde se recolectaron muestras de orina a las 2, 4 y 6 horas después de haber administrado los tratamientos. Dichos resultados se pueden observar en la tabla No. 1. En la gráfica 1 se observan los volúmenes acumulados de orina luego de 6 horas de haber administrado los tratamientos respectivos, para evaluar la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Citrus reticulata*, así mismo en la gráfica No. 2 se observan los volúmenes para el extracto acuoso de las hojas de *Citrus aurantifolia*, y por último la gráfica No. 3 demuestra los volúmenes para el extracto acuoso de hojas de *Citrus paradisi*.

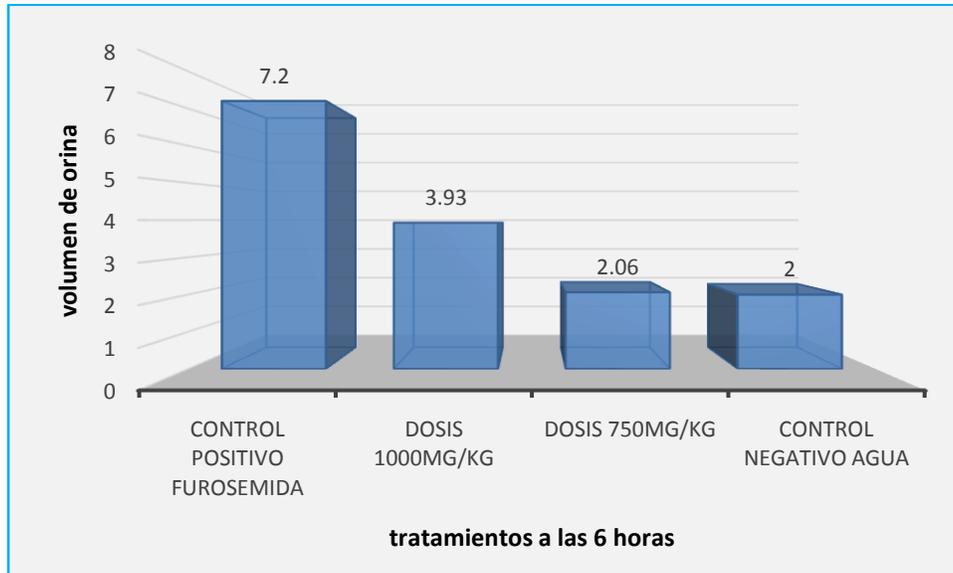
Los resultados del análisis de varianza se basaron en los anexos 13.4-13.6, debido a que se obtuvo el área bajo la curva del volumen total de cada rata, por cada tratamiento por cada día, de las plantas investigadas. Por lo tanto el análisis de varianza de mandarina (*Citrus reticulata*) se presenta en la tabla No. 2, el análisis de varianza de la toronja (*Citrus paradisi*) se observa en la tabla No. 3, por último el análisis de varianza de la lima (*Citrus aurantifolia*) se presenta en la tabla No. 4. Respecto a la prueba de Dunnett tal como el análisis de varianza se basó en los anexos 13.4-13.6, mediante el área bajo la curva obtenida en dichos anexos. La prueba de Dunnett para la mandarina (*Citrus reticulata*) se observa en la gráfica No. 4, para la toronja se observa en la tabla No. 5, seguido de la lima (*Citrus aurantifolia*) se observa en la gráfica No. 6.

Tabla No.1 Volúmenes acumulados en mL a las 6 horas posteriores de la administración de las dosis y sustancias asignadas.

Plantas en estudio	Tratamientos	Promedio mL	Desviación estándar
Mandarina <i>Citrus reticulata</i>	Control positivo Furosemida	7.20	1.55
	Dosis 1000mg/Kg	3.93	1.25
	Dosis 750mg/Kg	2.06	0.68
	Control negativo agua	2.00	0.52
Lima <i>Citrus aurantifolia</i>	Control positivo Furosemida	7.26	1.57
	Dosis 1000mg/Kg	3.26	1.53
	Dosis 750mg/Kg	2.93	0.99
	Control negativo agua	1.73	0.44
Toronja <i>Citrus paradisi</i>	Control positivo Furosemida	9.13	1.71
	Dosis 1000mg/Kg	4.00	1.75
	Dosis 750mg/Kg	2.33	0.79
	Control negativo agua	1.80	0.83

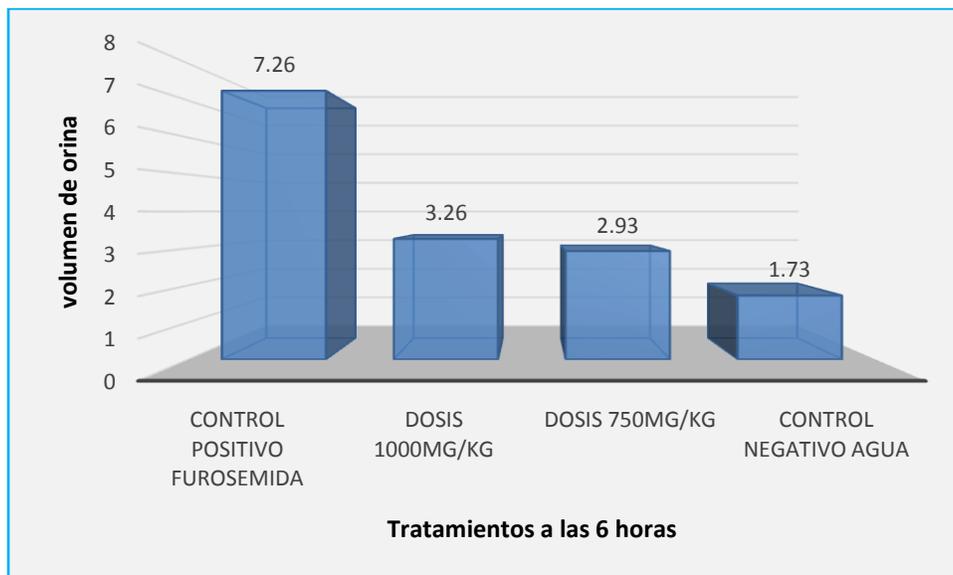
Fuente: Datos experimentales

Grafica No. 1: volúmenes de orina excretados a las 6 horas de la planta *Citrus reticulata*



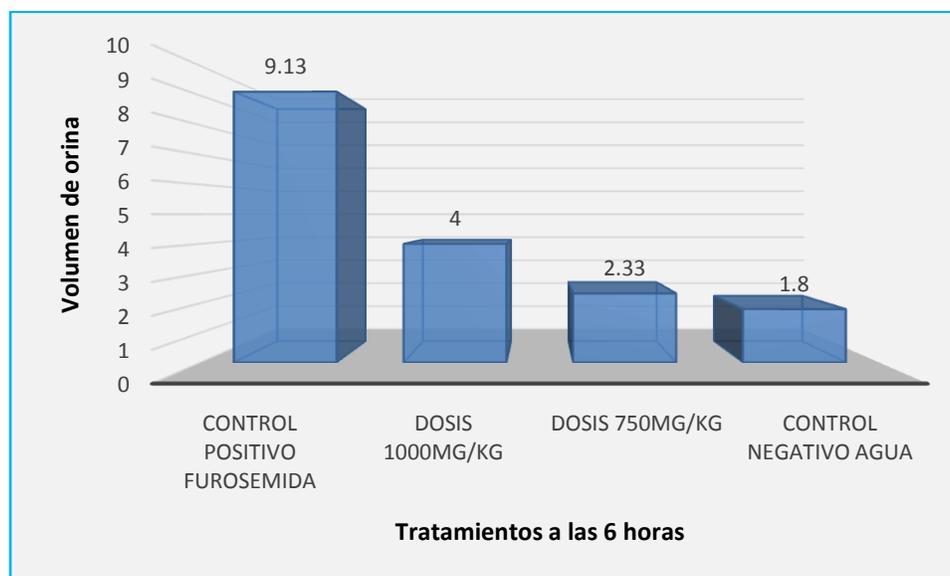
Fuente: Datos experimentales

Grafica No. 2: volúmenes de orina excretados a las 6 horas de la planta *Citrus aurantifolia*



Fuente: Datos experimentales

Grafica No. 3: volúmenes de orina excretados a las 6 horas de la planta *Citrus paradisi*



Fuente: Datos experimentales

Tabla No. 2: Análisis de varianza para mandarina (*Citrus reticulata*)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Evaluación efecto diurético mandarina

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Trat	6280.850	3	2093.617	130.631	<0.0001
Error	833.400	52	16.027 ^a		
Dia	216.600	4	54.150	3.379	0.016
Error	833.400	52	16.027 ^a		

Fuente: Datos experimentales

Existe diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.0001$)

Tabla No. 3: Análisis de varianza para toronja (*Citrus paradisi*)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Evaluación efecto diurético toronja

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
<u>Trat</u>	<u>Hypothesis</u>	11205.650	3	3735.217	190.094	<0.0001
	Error	1021.767	52	19.649 ^a		
<u>Dia</u>	<u>Hypothesis</u>	321.567	4	80.392	4.091	0.006
	Error	1021.767	52	19.649 ^a		

Fuente: Datos experimentales

Existe diferencia significativa entre los tratamientos ($p \leq 0.0001$)

Tabla No. 4: Análisis de varianza para lima (*Citrus aurantifolia*)

Tests of Between-Subjects Effects

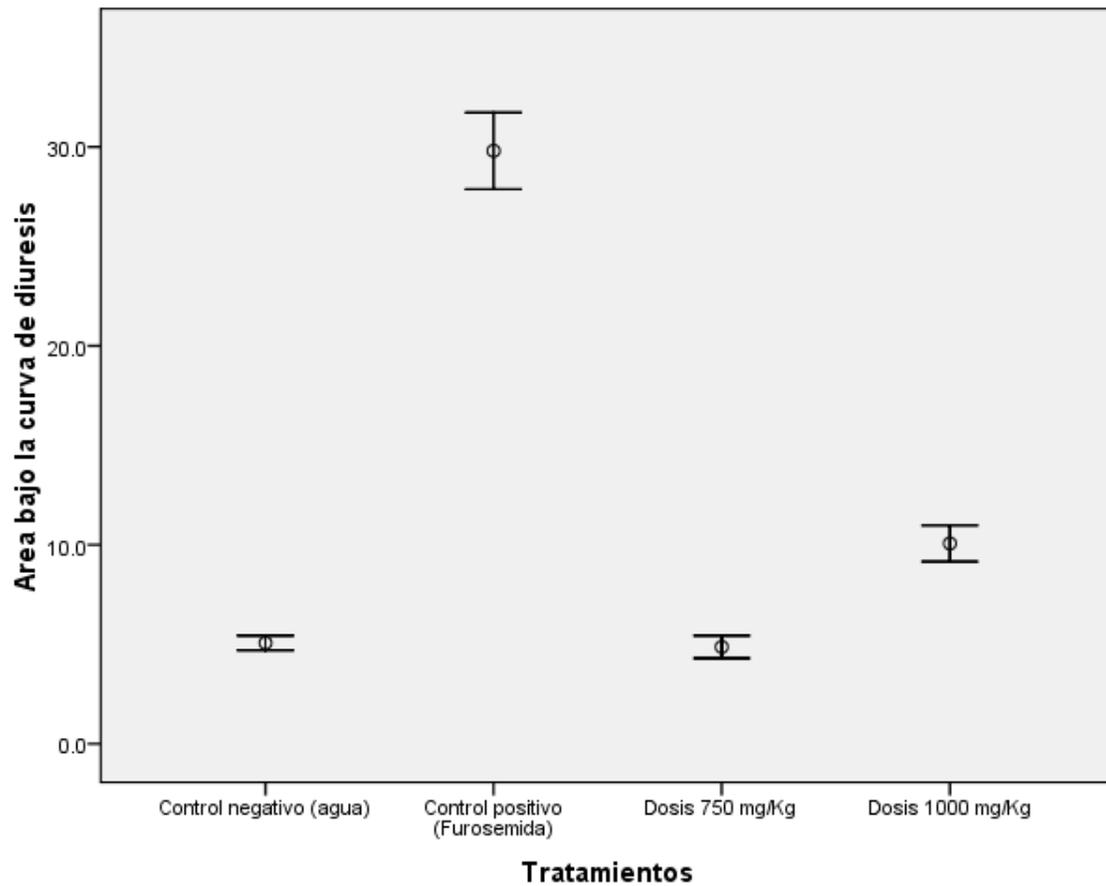
Dependent Variable: Evaluación efecto diurético lima

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<u>Trat</u>	<u>Hypothesis</u>	5472.400	3	1824.133	110.369	<0.0001
	Error	859.433	52	16.528 ^a		
<u>Dia</u>	<u>Hypothesis</u>	299.100	4	74.775	4.524	0.003
	Error	859.433	52	16.528 ^a		

Fuente: Datos experimentales

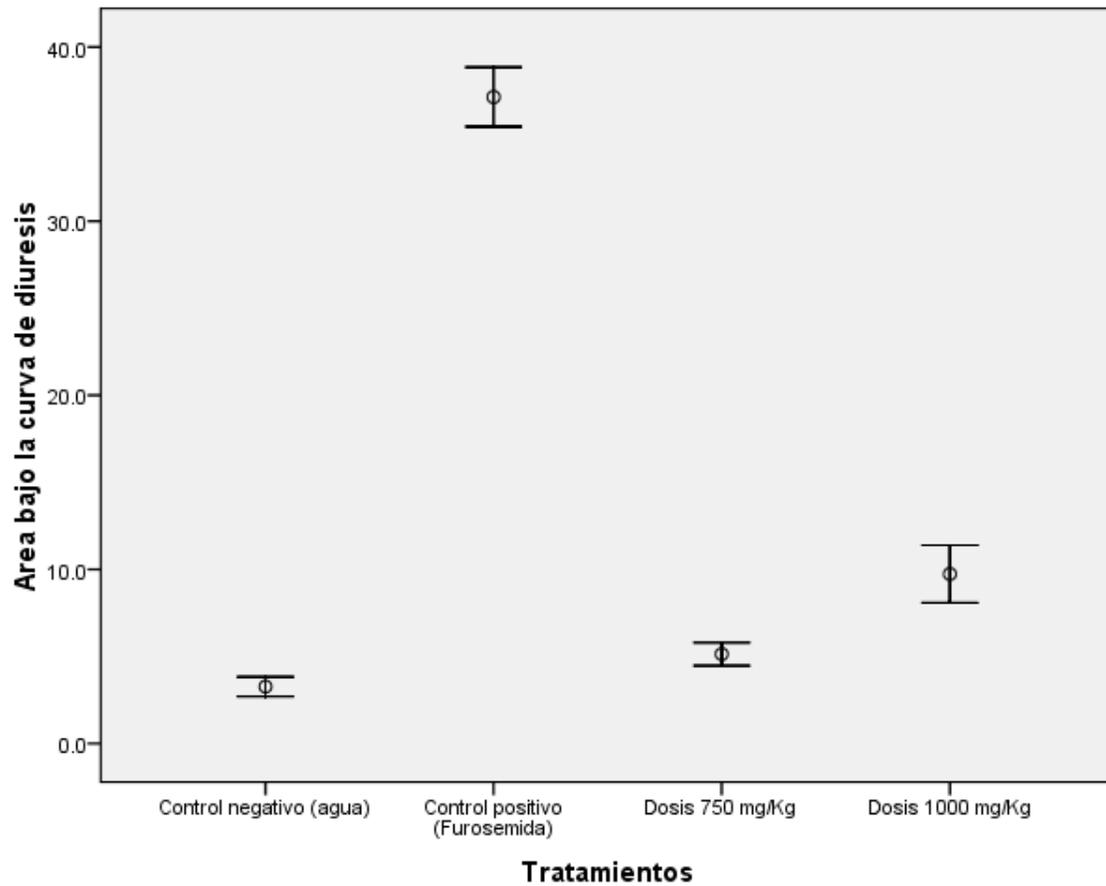
Existe diferencia significativa entre los tratamientos ($p \leq 0.0001$)

Grafica No. 4: Prueba de Dunnett de la Mandarina (*Citrus reticulata*)



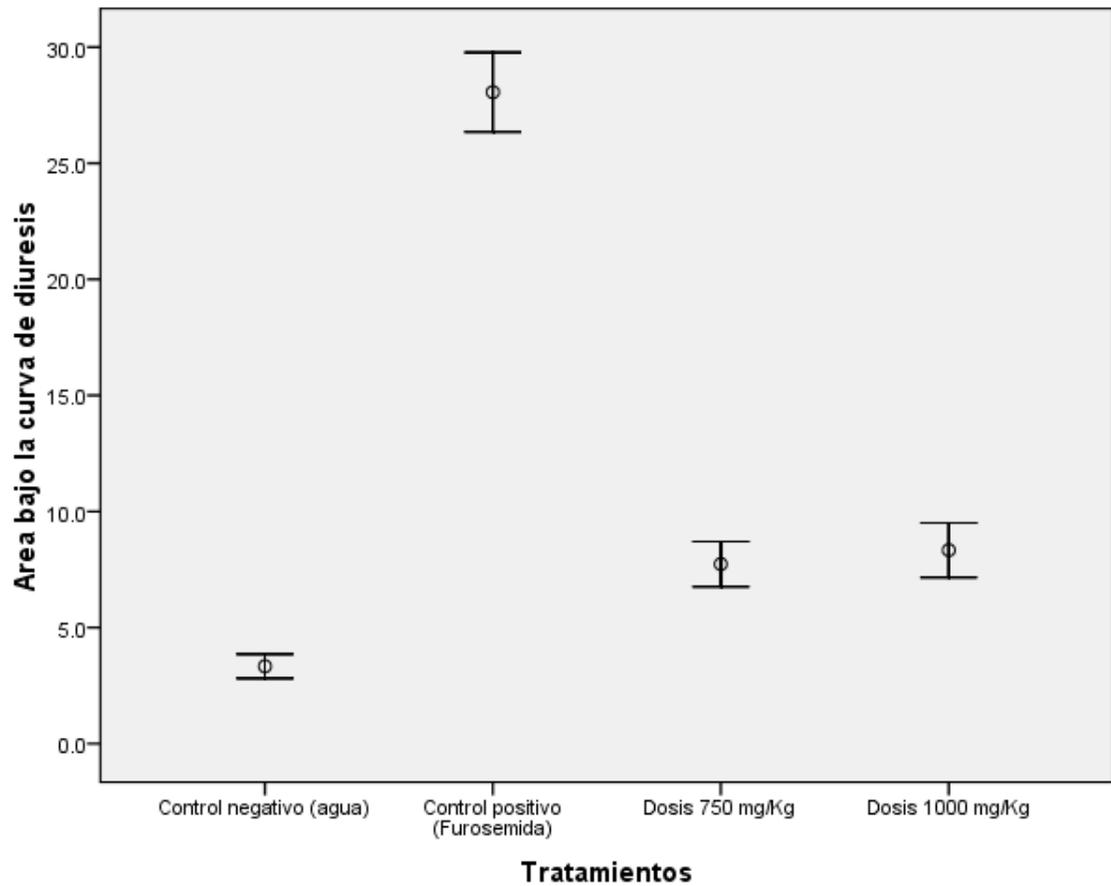
Fuente: Datos experimentales

La Furosemda ($p < 0.0001$) y la planta en dosis 1000 mg/Kg (0.003), presentan diferencia significativa frente al control negativo.

Grafica No. 5: Prueba de Dunnett de la Toronja (*Citrus paradisi*)

Fuente: Datos experimentales

La Furosemida ($p < 0.0001$) y la planta en dosis 1000 mg/Kg (0.001), presentan diferencia significativa frente al control negativo.

Grafica No. 6: Prueba de Dunnett de la Lima (*Citrus aurantifolia*)

Fuente: Datos experimentales

La Furosemida ($p < 0.0001$), la planta en dosis 1000 mg/Kg (0.004), y en dosis de 750 mg/Kg (0.013) presentan diferencia significativa frente al control negativo.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para la determinación de la dosis letal media se utilizó el método de Karber y Beherens mediante la fórmula

$$DL50 = Df - \sum\left(\frac{a*b}{n}\right)$$

A los lotes seleccionados con 5 ratones albinos de la misma edad y sexo se les administro el extracto acuoso de la planta a investigar a concentraciones de 1 a 5 g/Kg de peso corporal, siendo el extracto a una concentración del 20%, para disminuir la cantidad de agua a administrar. Se observaron los 5 lotes de 5 ratones cada lote a la hora, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 horas, hasta observación de 8 días luego de administrado el extracto. Al evaluar alteración de los pelos y mucosas, sistema respiratorio y circulatorio, sistema nervioso central y periférico, actividad somatomotriz y del comportamiento, temblores, hipersialorrea, sudoración, convulsiones y cromodaciorrea, no se observó alteración significativa entre cada lote, por lo tanto no tienen algún nivel de toxicidad significativo las plantas investigadas.

Para poder evaluar la actividad diurética de las infusiones de las plantas estudiadas se determinó el volumen urinario acumulado para cada rata por tratamiento a las 2, 4 y 6 horas, tales resultados se pueden observar en los anexos 13.4 – 13.6. Con dichos resultados se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías. Se elige esta técnica de análisis debido a que consiste en partir la variación total en partes atribuibles a fuentes reconocidas (como tratamientos y bloques), y al error experimental y para determinar si se aprueba o rechaza la hipótesis nula.

Posteriormente de determinar la diferencia significativa entre el grupo control positivo y grupo control negativo, se realizó la prueba de Dunnett para evaluar y comparar el fármaco de referencia, los extractos acuosos en las dosis investigadas, contra el control negativo ($p \leq 0.05$).

En la tabla No. 1 se puede observar el promedio y la desviación estándar de los volúmenes acumulados a las 6 horas luego de la administración de los tratamientos para cada una de las plantas estudiadas. Con tales datos se obtuvo la prueba de Dunnett que se puede observar en las gráficas 4, 5 y 6, con la cual se determinó efecto diurético significativo entre los grupos a los que se les administró los extractos acuosos de las plantas investigadas y la furosemida ($p < 0.0001$), encontrando diferencia significativa entre los grupos a los que se administró el extracto acuoso de las plantas y el grupo control negativo.

Respecto al análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías, y a la prueba de Dunnett realizadas, se observa diferencia significativa entre el control negativo y las dosis estudiadas. De acuerdo a la mandarina (*Citrus reticulata*) la Furosemida y la planta en dosis 1000 mg/Kg, presentan diferencia significativa frente al control negativo. Mandarina (0.003). De acuerdo a la toronja (*Citrus paradisi*) la furosemida y la planta en dosis 1000 mg/Kg, presentan diferencia significativa frente al control negativo. Toronja (0.001). Por último respecto a la lima (*Citrus aurantifolia*) la furosemida y la planta con dosis de 750 y 1000mg/Kg, presentan diferencia significativa frente al control negativo. Dosis de 750mg/Kg (0.013) y dosis de 1000mg/Kg (0.004). Tales resultados del análisis de varianza se observan en las tablas 2, 3 y 4.

En la gráfica 8.1 se observan los resultados obtenidos para mandarina (*Citrus reticulata*). Se presenta que el volumen de orina reportado por el extracto acuoso de la misma a dosis de 750mg/Kg de peso, presenta una diferencia con el volumen obtenido con el fármaco de referencia, no siendo así con el control negativo. Sin embargo la dosis de 1000mg /Kg de peso presenta una diferencia significativa con el volumen obtenido del control negativo, no siendo así con el fármaco de referencia.

En la gráfica 8.2 se observan los resultados obtenidos para lima (*Citrus aurantifolia*). Se presenta que el volumen de orina reportado por el extracto acuoso de la misma a dosis de 750 y 1000mg/Kg presenta una diferencia significativa con

el volumen obtenido del control negativo, no siendo así con el fármaco de referencia.

En la gráfica 8.3 se observan los resultados obtenidos para toronja (*Citrus paradisi*). Se presenta que el volumen de orina reportado por el extracto acuoso de la misma a dosis de 750mg/Kg de peso, presenta una diferencia con el volumen obtenido con el fármaco de referencia, no siendo así con el control negativo. Sin embargo la dosis de 1000mg /Kg de peso presenta una diferencia significativa con el volumen obtenido del control negativo, no siendo así con el fármaco de referencia.

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, en base a los valores estadísticamente reportados y analizados, se acepta la hipótesis de que el extracto acuoso de la planta de lima (*Citrus aurantifolia*) posee efecto diurético a dosis de 750 y 1000 mg/Kg de peso. Sin embargo se rechaza la hipótesis nula, pero se acepta la hipótesis alternativa con la mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*), pues solo tienen efecto diurético a dosis de 1000mg/Kg de peso.

Por lo tanto se observa que tales plantas poseen la leve y significativa capacidad de aumentar la excreción urinaria en ratas albinas de laboratorio en ambiente y condiciones adecuadas.

La determinación de la función renal mediante la obtención de orina no pudo ser observada o cuantificada, debido a que se esperaba obtener los valores de la creatinina y nitrógeno de urea, sin embargo no pudo ser realizada por la falta de insumos necesarios para poder analizar mediante un análisis cuantitativo adquirido por espectrofotometría cinética.

10. CONCLUSIONES

- 10.1. Los resultados obtenidos con el método de experimentación dan a conocer que la infusión de hojas de mandarina (*Citrus reticulata*), posee un efecto diurético significativo a dosis de 1000 mg/Kg de peso por vía oral en ratas albinas diurética por el método ensayado.
- 10.2. Los resultados obtenidos con el método de experimentación dan a conocer que la infusión de hojas de lima (*Citrus aurantifolia*), a dosis de 750 mg/Kg y 1000 mg/Kg de peso por vía oral a ratas albinas si posee actividad diurética significativa por el método ensayado.
- 10.3. Los resultados obtenidos con el método de experimentación dan a conocer que la infusión de hojas de toronja (*Citrus paradisi*), posee un efecto diurético significativo a dosis de 1000 mg/Kg de peso por vía oral en ratas albinas por el método ensayado.
- 10.4. Utilizando el método de Karber y Beherens para la determinación de la dosis letal media, se observó que las plantas investigadas no presentaron ningún nivel de toxicidad significativo, debido a que los animales de estudio no presentaron alteraciones significativas.
- 10.5. El estudio tiene validez estadística debido a que al realizar la prueba de varianza de dos vías se observó diferencia significativa entre el control negativo frente al positivo y las dosis de las plantas evaluadas.
- 10.6. La hipótesis H_0 se acepta, para el extracto acuoso de las hojas de lima (*Citrus aurantifolia*).

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Continuar con los estudios de las plantas mandarina (*Citrus reticulata*), lima (*Citrus aurantifolia*) y toronja (*Citrus paradisi*) para determinar si existe actividad diurética en otras partes de las mismas.
- 11.2. Brindar la información de este estudio respecto a la actividad diurética a las áreas rurales que utilizan dichas plantas para hacer un uso correcto de las mismas.
- 11.3. Continuar con la investigación de plantas medicinales nativas de Guatemala y de esta forma ayudar al desarrollo y la salud de áreas rurales que hacen uso frecuente de las mismas.
- 11.4. Analizar desechos de creatinina y nitrógeno de urea como indicadores de la función renal, posterior a la administración de las dosis de las plantas investigadas evaluando la orina, mediante un análisis cuantitativo utilizando espectrofotometría cinética.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdala S Y Caballeros, M. (2012) *Actividad diurética de fracciones de Smilax canariensis*, España. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22289346>
- Alviz, A. (2009) *Evaluación del efecto diurético del extracto etanólico y acuoso de la planta total Ceratopteris pteridoides en un modelo de ratas*, Colombia. Recuperado de: http://www.actaf.co.cu/index.php?option=com_mtree&task=att_download&link_id=839&cf_id=24
- Amgen (Applied Molecular Genetics), (2014). *Biotecnología, desarrollo de farmacos*. España. Recuperado de: http://www.amgen.es/doc3.php?op=profesionales_medicos2&ap=biotecnologia&sub=bio6.
- Amuthan, A. (2012). *Evaluación de la actividad diurética de Amaranthus spinosus Linnen extracto acuoso*, India. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22331031>
- Arriaza, M. (1983). *Acción diurética de algunas plantas de Guatemala*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos De Guatemala, Guatemala.
- Bellido, M., Fernández, L., Alcalá J., Hernández, P. y Rodríguez, L. (2003). *Etiología y fisiopatología de la hipertensión arterial*. Monocardio No. 3, Vol. V, 141-160. Hospital Virgen de Salud. Toledo, España. Recuperado de: http://www.sld.cu/galerias/pdf/servicios/hta/hipertension_fisiopatologia_espana.pdf
- Benjumea, D. (2009) *Witanolidos de Whitania aristata y su actividad diurética*, España. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17706904>

- Bisson J Y Jean, P. (2010). *Efecto diurético y antioxidante de Cacti-Nea, un extracto acuoso de pera espinosa*. Francia. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19777503>.
- Bracci, A. (2012). *Actividad diurética de Lophophytum leandri*, Italia. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22428237>
- Cáceres, A. (2009) *Vademécum Nacional de Plantas medicinales*. Editorial Universitaria. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- De La Rosa, C. (2007). *Actividad diurética del extracto total acuoso de los cálices de Hibiscus sabdariffa L. administrado a ratas albinas*, Colombia. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22178178>
- Elgueta, E. (2007). *Validación farmacológica de la actividad diurética de las infusiones de hojas de Petiveria alliacea L. (apacin), hojas de Ocimum basiliscum L. (albahaca) y rizoma de Curcuma Longe L. (cúrcuma)*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- European Community Legislation. (2004). *Acute oral toxicity, acute toxic class method*, recuperado de: <http://www.intermed.it/istbiotech/reach/B01trisweb2004.pdf>
- Gasparotto, J. (Et. Al.) (2012). *Mecanismo subyacente del efecto diurético del extracto de Tropaeolum majus L. y del componente bradiscinina*. Brasil. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22465728>
- Hooman, N Y Nolan, A. (2009). *Efecto diurético de Cerasus avium (Cereza), en voluntarios sanos*, Irán. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19783515>
- Katzung, B. (2010). *Farmacología básica y clínica*. 10ª edición. México: manual moderno.

- León, A., Blanco D., Peña, A., Ronda, M. González, B., y Arteaga, M. (2011). Valores hematológicos y bioquímicos de ratas de laboratorio Sprague Dawley. Revista electrónica de veterinaria, volumen No. 12, No. 11. Recuperado de: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n1111111/111101.pdf>.
- Marquez, S. Y Vidonne, D. (2012). *Catedra de anatomía y fisiología patológicas*. Facultad de Ciencias médicas. Recuperado de: <http://www.patologiafcm.com.ar/wpcontent/uploads/downloads/2011/12/Hipertensi%C3%B3n-arterial-2012.pdf>
- Mazid, M. (2010). *Propiedades diuréticas y analgésicas de Polygonum flaccidum*. Bangladesh. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20077435>
- Meera, R. (2009). *Evaluación de la actividad diurética de Tylophora indica en extracto de hojas de la planta*. India. Recuperado de: <http://www.jpsr.pharmainfo.in/Documents/Volumes/Vol1Issue3/pdf/jpsr01030916.pdf>
- Méndez, E. (2003). *Determinación de la actividad diurética de la raíz de Smilax domingensis (zarzaparrilla), del fruto de Averrhoa carambola L. (carambola dulce) y del fruto de Capsicum annum (chile pimienta)*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Merida, N. (2006). *Estudio farmacológico de la actividad diurética de los extractos acuosos de las plantas Persea americana (aguacate), Petroselinum sativum (perejil) y Catharantus roseus (chatía) en ratas albinas*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Morales, J. (2004). *Estudio farmacológico de los extractos etanólico, hexánico, clorofórmico, acetato de etilo y acuoso de las hojas de orégano (lippia*

graveolens) como diurético. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Organización Mundial De La Salud. (OMS) (2013). *Hipertensión arterial y problemas cardiovasculares*. Recuperado de: http://www.paho.org/gut/index.php?option=com_content&view=article&id=635:dia-mundial-de-la-salud-en-guatemala&Itemid=0.

Saravia, A. (2005) *Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos experimentales in vivo e in vitro*. Editorial Universitaria, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Sil, J. (2005). *Validación farmacológica de la actividad diurética de infusiones acuosas de Cecropia obtusifolia bertaloni (guarumo), cecropia peltata L. (guarumo), Solanum nigrensces mart o Gal (quilete) y Zebrina pendula Schnizl (hierba de pollo), popularmente utilizadas en Guatemala*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Solares, J. (2008). *Validación farmacológica de la actividad diurética de las infusiones acuosas de las hojas de mejorana (Ageratum conyzoides L.), Chalchupa (Rauvolfia tetraphylla L.) e infusión acuosa de la raíz de valeriana (Valeriana prioriophylla Standl.) en ratas albinas*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Tortora, G. (2007). *Principios de Anatomía y Fisiología*. 11ª edición. México: editorial medica panamericana.

Vásquez, C. (2008). *Validación farmacológica de la actividad diurética de hojas de flor de muerto (Tagetes erecta L.), hojas de Santo Domingo (Baccharis trinervis Lam) y hojas de Matasano (Casimiro aedulis Llave et Lex) en*

infusión acuosa. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

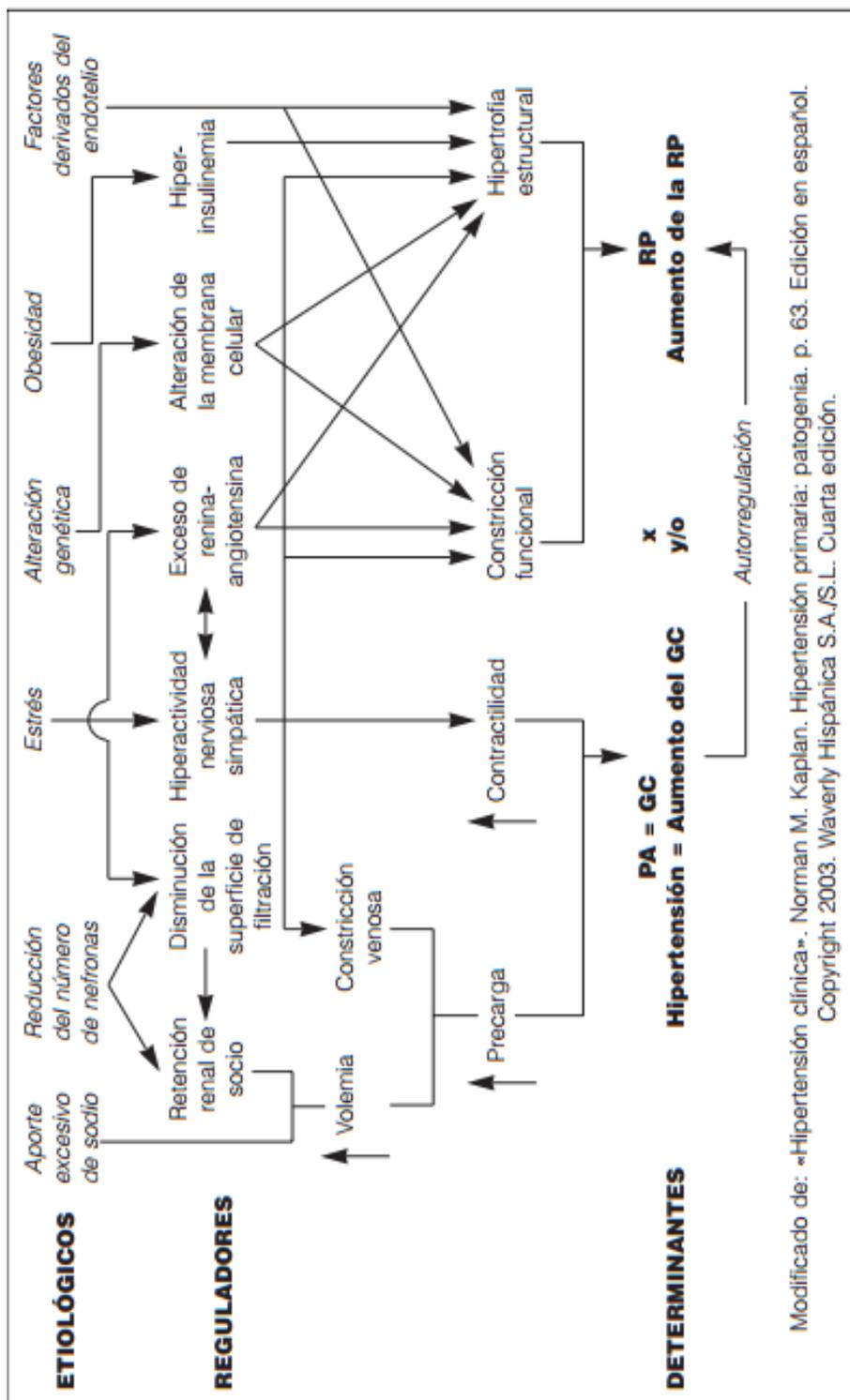
Wagner, P. (2010). *Fisiopatología de la hipertensión arterial*. Sociedad peruana de hipertensión arterial. AnFacmed. 2010;71(4):225-9. Perú. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v71n4/a03v71n4.pdf>.

Yu, Ch. (Et. Al.) (2011). *Actividad diurética, antiinflamatoria y analgésica del extracto etanólico de Cynoglossum lanceolatum, China*. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22075456>

Zarate, G. (2011). *Evaluación del efecto diurético del extracto acuoso de Parmentiera edulis D.C. (cuajilote), México*. Recuperado de: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8940/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1>

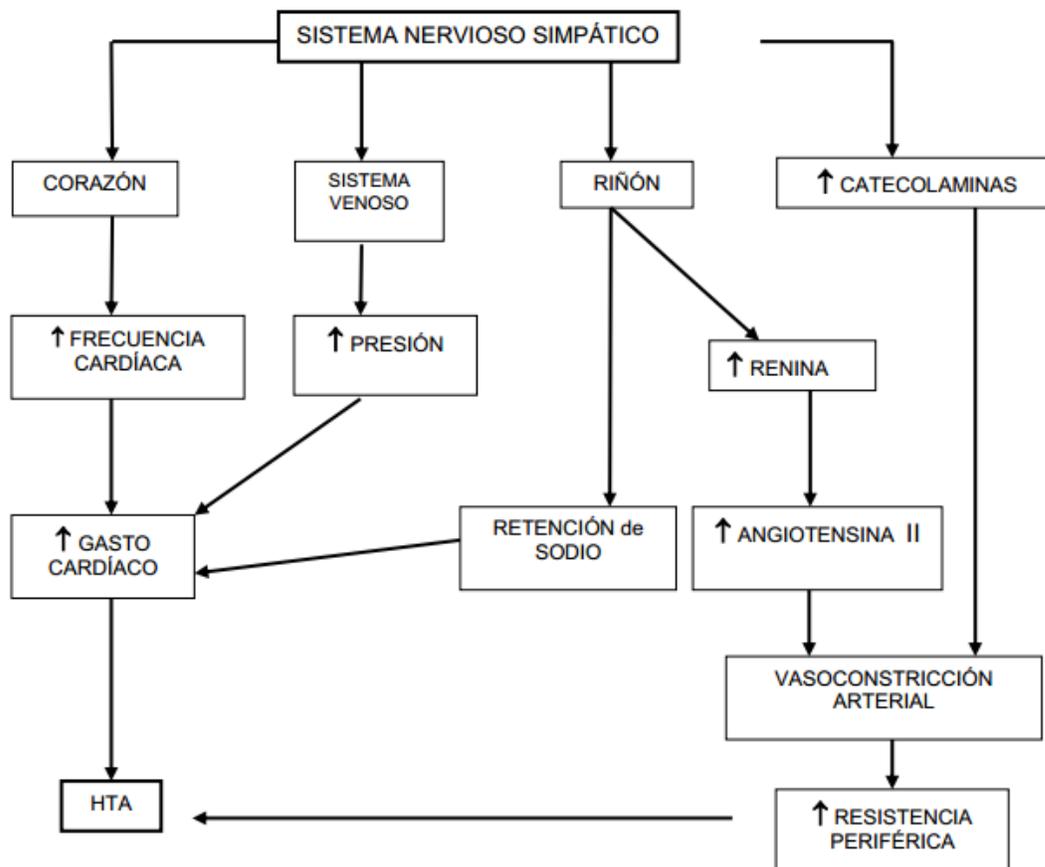
13. ANEXOS

1. Factores etiológicos de la presión arterial



Modificado de: «Hipertensión clínica». Norman M. Kaplan. Hipertensión primaria: patogenia. p. 63. Edición en español. Copyright 2003. Waverly Hispánica S.A./S.L. Cuarta edición.

2. Fisiopatología de la hipertensión arterial



Bellido, M., Fernandez, L., Alcalá J., Hernandez, P. y Rodriguez, L. (2003). *Etiología y fisiopatología de la hipertensión arterial*. Monocardio No. 3, Vol. V, 141-160. Hospital Virgen de Salud. Toledo, España. Recuperado de: http://www.sld.cu/galerias/pdf/servicios/hta/hipertension_fisiopatologia_espana.pdf

3. Valores de referencia de parámetros bioquímicos en suero de ratas.

Parámetros	Genero					
	Hembras			Machos		
	Rangos de edad (semanas)					
	5-8	9-14	15-22	5-8	9-14	15-22
Fosfatasa alcalina (UI/L)	60.5 - 284.1	82.8 - 297.3	69.65 - 227.26	150.5 - 421.3	85.4 - 311.7	134.5 - 357.3
Creatinfosfokinasa (UI/L)	246 - 3228	494 - 4132	3027 - 3428	381 - 3393	233 - 4367	1384 - 4975
GGT (UI/L)	0 - 2.33	0 - 1.43	0 - 3.13	0 - 0.86	0 - 1.05	0 - 1.97
GOT /AST (UI/L)	79.5 - 248.1	94.9 - 240.8	42.9 - 270.8	65.8 - 266.2	88.9 - 215.8	61.4 - 276.2
GPT/ALT (UI/L)	20.2 - 69.8	32.7 - 84.1	33.4 - 73.1	26.3 - 68.5	32.2 - 80.9	41 - 83.1
Albúmina (g/dL)	2.76 - 4.88	2.92 - 4.64	3.18 - 5.22	2.63 - 4.59	2.94 - 4.29	2.94 - 4.65
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.005 - 0.19	0.025 - 0.42	0 - 0.48	0.01 - 0.17	0 - 0.39	0.01 - 0.43
Proteínas totales (g/dL)	6.11 - 17.49	5.99 - 7.45	6.40 - 8.20	5.45 - 7.67	5.69 - 7.34	5.94 - 7.97
Glucosa (mg/dL)	60.0 - 161.7	66.8 - 154.9	54.7 - 189.7	43.0 - 152.7	58.0 - 160.2	48.4 - 91.2
Urea (mg/dL)	33.11 - 86.5	38.33 - 8.79	43.2 - 70.8	38.0 - 63.3	31.6 - 52.6	39.6 - 68.8
AcidoÚrico (mg/dL)	1.05 - 3.01	2.22 - 4.11	1.25 - 3.76	0.88 - 1.66	0.97 - 4.72	1.28 - 3.71
Calcio (mmol/L)	1.79 - 3.29	2.37 - 2.91	2.15 - 3.17	1.51 - 3.19	2.21 - 2.81	2.19 - 3.27
Fósforo (mg/dL)	4.33 - 8.74	5.42 - 6.74	4.2 - 8.33	6.1 - 8.26	6.01 - 8.68	5.26 - 8.44
Colesterol Total (mg/dL)	49.7 - 91.0	41.1 - 59.1	58.5 - 101.6	44.4 - 96.9	40.3 - 84.7	52.2 - 95.7
Triglicéridos (mg/dL)	24.5 - 91.3	76.4 - 132.8	62.4 - 123.7	26.7 - 99.9	44.8 - 119.8	52.2 - 21.5
Creatinina (mg/dL)	0.23 - 0.80	0.5 - 0.92	0.48 - 0.68	0.32 - 0.71	0.46 - 0.88	0.43 - 0.64
Albúmina/globulina	0.25 - 2.80	0.69 - 2.19	0.44 - 2.68	0.32 - 2.48	0.74 - 2.12	0.43 - 2.41

León, A., Blanco D., Peña, A., Ronda, M. González, B., y Arteaga, M. (2011). Valores hematológicos y bioquímicos de ratas de laboratorio Sprague Dawley. Revista electrónica de veterinaria, volumen No. 12, No. 11. Recuperado de: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111111/111101.pdf>.

4. Promedios y desviaciones estándar de la actividad diurética de *Citrus reticulata* (mandarina)

Tratamiento	horas	día 1			día 2			día 3			día 4			día 5			promedio	Desviación estándar
Numero de rata		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
Control (+) furosemida	2	4	5	4	4	4	6	4	4	4	8	4	6	6	4	2	4.63	1.35646599
	4	10	10	8	4	6	6	4	5	4	8	6	6	8	6	6	6.46	1.89267594
	6	10	10	8	6	6	6	6	6	5	8	8	6	8	6	8	7.20	1.55777619
Dosis a 1000 mg/Kg	2	1	2	1	0	0	1	1	0	1	1	0	2	0	0	0	0.66	0.69920589
	4	2	4	1	2	2	1	2	1	1	2	3	4	4	3	4	2.40	1.14309521
	6	2	4	2	4	4	4	4	3	2	4	6	4	4	6	6	3.93	1.24833222
Dosis a 750 mg/Kg	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0.33	0.47140452
	4	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	2	2	0	1	2	1.06	0.57348835
	6	2	2	2	1	2	3	2	1	2	2	2	2	2	2	4	2.06	0.67986926
Control (-) agua	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0.24944382
	4	1	1	1	2	1	1	2	2	1	2	1	2	2	1	2	1.46	0.49888765
	6	2	2	3	2	1	1	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2.00	0.51639779

Fuente: Datos experimentales

5. Promedios y desviaciones estándar de la actividad diurética de *Citrus paradisi* (Toronja)

Tratamiento	horas	día 1			día 2			día 3			día 4			día 5			promedio	Desviación estándar
Numero de rata		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
Control (+) furosemida	2	8	8	6	8	4	6	4	6	4	6	4	6	8	6	6	6.00	1.46059348
	4	10	10	8	10	8	6	8	6	8	8	8	6	10	8	6	8.00	1.46059348
	6	10	14	9	10	8	6	8	10	8	9	9	8	10	10	8	9.13	1.70749979
Dosis a 1000 mg/Kg	2	2	0	0	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0.40	0.71180522
	4	4	2	2	4	2	2	4	2	2	2	1	2	2	0	2	2.20	1.04562581
	6	8	4	3	6	2	4	6	4	2	4	2	2	6	4	3	4.00	1.75119007
Dosis a 750 mg/Kg	2	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20	0.40
	4	2	2	2	0	2	1	1	1	1	2	1	0	0	1	2	1.20	0.74833147
	6	4	3	4	2	2	2	2	2	2	3	2	1	2	2	2	2.33	0.78881064
Control (-) agua	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0.24944383
	4	1	2	2	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0.66	0.69920589
	6	2	4	2	1	2	2	1	1	2	3	2	2	1	1	1	1.80	0.83266639

Fuente: Datos experimentales

6. Promedios y desviaciones estándar de la actividad diurética de *Citrus aurantifolia* (Lima)

Tratamiento	horas	día 1			día 2			día 3			día 4			día 5			promedio	Desviación estándar
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
Numero de rata		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
Control (+) Furosemida	2	6	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	8	6	6	4.53	1.35973853
	4	6	2	4	4	4	4	6	6	6	6	6	6	8	6	6	5.33	1.39841178
	6	6	3	6	6	8	8	8	8	8	8	8	8	10	6	8	7.26	1.56914637
Dosis a 1000 mg/Kg	2	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0.53	0.61824123
	4	0	0	2	2	1	1	1	4	2	1	4	2	2	4	2	1.86	1.25786415
	6	2	2	4	4	2	3	2	6	4	0	2	4	4	5	5	3.26	1.52606975
Dosis a 750 mg/Kg	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2	1	1	0.40	0.61101009
	4	2	2	2	1	2	0	1	2	2	1	2	2	3	4	2	1.86	0.88443327
	6	2	4	2	4	4	2	2	4	2	2	4	2	4	4	2	2.93	0.99777530
Control (-) agua	2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.20	0.40
	4	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	2	0	1	0.60	0.61101009
	6	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	1	2	2	2	2	1.73	0.44221664

Fuente: Datos experimentales

7. Monografía de *Citrus aurantifolia*

Sinonimia botánica

- *Limonia aurantifolia* Christm.

Sinonimia popular

Lima, lima chichona, lima de chichi, lima de ombligo, limón agrio, limón liso, limonero.

Familia: Rutaceae

Botánica y ecología.

Es un árbol pequeño de unos 4m de altura, de ramificación irregular y espinas fuertes y agudas. Las hojas son más anchas en la punta y en el centro que en la base, el soporte de la hoja es un poco alado. Sus flores son pequeñas, solitarias y blancas. Los frutos son pequeños, de 3 a 6cm de largo, y de color verde amarillento cuando maduros. La pulpa es abundante, muy ácida y las semillas son de color blanco y pequeñas. Originaria de la India y sureste asiático, principalmente habita en climas cálido y semicálido, además de semiseco y templado, desde el nivel del mar hasta los 2600m. Adaptada a distintos hábitats, es cultivada en huertos familiares, asociada con vegetación circundante de bosque tropical caducifolio, subcaducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, pastizal, bosque mesófilo de montaña y bosque mixto de pino-encino.



Química

Básicamente, toda la información química que existe sobre esta planta es resultado de los estudios realizados en el aceite esencial obtenido de la cáscara del fruto. Este aceite está constituido principalmente por monoterpenos, dos derivados del bornadol, camfeno, carveo, cimeno, cineol, citronelol, dimetil

estireno, felandreno, geraniol, limoneno, neral, alfa y beta- pineno, pinocarveol, iso-piperitenol, piperitona, sabineno, sabinol, terpineno, terpineol, terpinoleno y verbenol. Además se han identificado los sesquiterpenos, bergamopteno, beta-bisaboleno, alfa-bisabolol, alfa cadinol, beta-cariofileno, farnesal y farnesol; y las cumarinas, un derivado de la cumarina, la iso-impleratorina, limetina, oxi-hidrato de pencedanina, felopterina, iso-pimpinelinea y geranil-psoralen.

Farmacología.

En un estudio para detectar la actividad antibiótica del extracto etanólico obtenido de las ramas sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* y el hongo *Candida albicans*; se observó ausencia de actividad. Observaciones realizadas en individuos que tomaron una taza de la infusión de las flores diariamente por periodos de tres meses, sintieron tranquilidad y seguridad en sí mismas. El efecto se incrementaba cuando las personas padecían de baja presión, la cual se regularizaba; también se observó que después de tomar el té, los sujetos presentaban mucho sueño.

Toxicidad

El aceite esencial, por vía externa dio resultados positivos de carcinogenicidad en ratones. En humanos se han reportado diversos casos de una actividad fotosensibilizadora. Algunos autores han planteado que el bergapteno es el responsable de la dermatitis observada en individuos sensibles, así como al cambio de coloración e intensa picazón que se manifiesta en la piel si ésta ha estado en contacto con fluidos de la planta, previo a la exposición al sol.

8. Monografía de *Citrus paradisi*

Sinonimia:

- *Citrus máxima* (Burm.) Merr.

Familia: Rutaceae

La toronja o pomelo (*Citrus x paradisi*) es un árbol de la familia de las rutáceas, cultivado por su fruta. Es un híbrido, probablemente producido de forma espontánea entre la pampelmusa (*Citrus maxima*) y la naranja dulce (*Citrus x sinensis*) en las plantaciones del mar Caribe alrededor del siglo XVII.



Hábitat

El pomelo es una especie que tiene hábito de formación en bola y de producción en la periferia, por lo que se intenta lobular las formas para aumentar la superficie que intercepta luz y así aumentar la producción. Los árboles se forman con tres ramas principales a unos 60 cm del suelo. La poda de formación es muy controvertida, ya que la cosecha disminuye de forma proporcional a la intensidad de poda debido a que como especie perennifolia acumula las reservas en ramas, brotes y hojas.

Porte Reducido. Tronco corto y copa compacta. Brotes color púrpura. Escasa espinosidad. Hojas Medio-grandes, algo vellosas, con alas grandes, nervios muy marcados y olor típico. Flores Grandes de color verdoso y estambres reducidos. Fruto Hesperidio. Consta de: exocarpo (flavedo: presenta vesículas que contienen aceites esenciales), mesocarpo (albedo: pomposo y de color blanco) grueso y endocarpo (pulpa: presenta tricomas con jugo) blanco, rosa o rojo. De tamaño grande y forma redonda y algo aplastada. Superficie con glándulas prominentes con aceites. Las variedades de pomelo pueden clasificarse en dos grupos. En el

primer grupo se incluyen las variedades blancas o comunes, siendo la variedad Marsh la más importante. En el segundo grupo engloba las variedades pigmentadas, que están adquiriendo mayor popularidad entre los consumidores.

El pomelo o toronja es una especie que tiene hábito de formación en bola y de producción en la periferia, por lo que se intenta lobular las formas para aumentar la superficie que intercepta luz y así aumentar la producción. Los árboles se forman con tres ramas principales a unos 60 cm del suelo. La poda de formación es muy controvertida, ya que la cosecha disminuye de forma proporcional a la intensidad de poda debido a que como especie perennifolia acumula las reservas en ramas, brotes y hojas.

Uso medicinal

La toronja como un todo es reconocida por sus grandes beneficios. El extracto de sus semillas es utilizada como remedio contra los hongos, la infusión preparada con sus flores se usa como tratamiento para el insomnio. La toronja estimula el tracto digestivo y también se le han atribuido propiedades diuréticas. La pulpa por sus propiedades ácidas se utiliza para tratamiento de infecciones urinarias y la pectina que contiene puede ayudar a reducir el colesterol.

Química y farmacología

La naringina es el flavonoide mayoritario en la toronja y también contiene una cantidad importante de aceite esencial. Se dice que consumir una toronja diaria reduce el colesterol en 15% y los triglicéridos en 17%, esto con base en estudios efectuados por la Universidad Hebrea de Jerusalén; recomiendan la toronja roja. Por otro lado, su consumo prolongado puede incrementar los niveles de estrógeno, lo que pudiera ser contraproducente. Además interactúa con diversos medicamentos que pueden provocar efectos adversos en los pacientes. La cáscara de la toronja es rica en pectina, se emplea en la elaboración de conservas de otras frutas.

9. Monografía de *Citrus reticulata*

Familia: Rutaceae

Sinónimos:

- *Citrus x aurantium* fo. *deliciosa* (Ten.) Hiroë
- *Citrus x aurantium* var. *Tachibana* Makino
- *Citrus x nobilis* Lour.
- *Citrus x nobilis* subfo. *deliciosa* (Ten.) Hiroë
- *Citrus x nobilis* subfo. *erythroa* (Yu. Tanaka) Hiroë
- *Citrus x nobilissubfo. reticulata* (Blanco) Hiroë
- *Citrus x nobilis* subfo. *succosa* (Tanaka) Hiroë
- *Citrus x nobilis* subfo. *tachibana* (Makino) Hiroë
- *Citrus x nobilis* subfo. *unshiu* (Marcov.) Hiroë
- *Citrus x nobilis* var. *deliciosa* (Ten.) Guillaumin
- *Citrus x nobilis* var. *major* Ker Gawl.
- *Citrus x nobilis* var. *ponki* Hayata
- *Citrus x nobilis* var. *spontanea* Ito
- *Citrus x nobilis* var. *sunki* Hayata
- *Citrus x nobilis* var. *tachibana* (Makino) Ito
- *Citrus x nobilis* var. *unshiu* (Marcov.) Tanaka ex Swingle
- *Citrus x nobilis* var. *vangasy* (Bojer) Guillaumin
- *Citrus aurantium* subsp. *suntra* Engl.
- *Citrus chrysocarpa* Lush.



- *Citrus daoxianensis* S.W. He & G.F. Liu
- *Citrus deliciosa* Ten.
- *Citrus depressa* Hayata
- *Citrus erythroa* Yu. Tanaka
- *Citrus madurensis* var. *deliciosa* (Ten.) Sagot
- *Citrus mangshanensis* S.W. He & G.F. Liu
- *Citrus nobilis* Lour.
- *Citrus nobilis* var. *deliciosa* (Ten.) Swingle
- *Citrus ponki* Yu. Tanaka
- *Citrus poonensis* Yu. Tanaka
- *Citrus reticulata* subsp. *deliciosa* (Ten.) Rivera & et al.
- *Citrus reticulata* subsp. *tachibana* Rivera, et al.
- *Citrus reticulata* subsp. *unshiu* (Marcov.) Rivera & et al.
- *Citrus reticulata* var. *Austera* Swingle
- *Citrus suhuiensis* Hayata
- *Citrus sunki* hort. ex Tanaka
- *Citrus tachibana* (Makino) Yu. Tanaka
- *Citrus tachibana* subfo. *depressa* (Hayata) Hiroë
- *Citrus tachibana* subfo. *ponki* (Yu. Tanaka) Hiroë
- *Citrus tachibana* subfo. *suhuiensis* (Hayata) Hiroë
- *Citrus tangerina* Yu. Tanaka
- *Citrus tankan* Hayata
- *Citrus unshiu* Marcov.
- *Citrus vangasy* Bojer
- *Citrus voangasay* Bojer

Nombre común: Mandarino

Etimología: *Citrus*, proviene del griego, y significa limón, *reticulata* del latín *reticulatusaum*, refiriéndose a la corteza del fruto.

Descripción: Árbol pequeño de 2-6 m de altura, con tronco con frecuencia torcido, generalmente sin espinas. Ramillas angulosas. Hojas oblongo-ovales, elípticas o lanceoladas, de 3.5-8 cm de longitud y 1.5-4 cm de anchura, con la base y el ápice obtusos. Margen aserrado por encima de la base. Son de color verde oscuro brillante en el haz y verde amarillento en el envés, fragantes cuando se las tritura. Pecíolos con ala muy corta. Inflorescencias axilares o terminales con 1-4 flores pentámeras, de color blanco, olorosas, de 1.5-2.5 cm de diámetro. 18-23 estambres, casi libres. Frutos de 4-7 cm de longitud y 5-8 cm de diámetro, globoso-deprimidos. Su color varía de amarillo verdoso al naranja y rojo anaranjado. La cáscara es delgada, muy fragante, separándose fácilmente de la pulpa. Pulpa jugosa y dulce, refrescante. Semillas oblongo-ovoides.

Química y farmacología

Contiene vitamina C, hidratos de carbono, fibra, vitamina B9, potasio, vitamina B, calcio, vitamina B6, carotenoides, magnesio, calorías, vitamina A, vitamina E, selenio, vitamina B2, hierro, fósforo, vitamina B3, cinc, proteínas, ácidos grasos poliinsaturados, grasa, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos saturados y sodio. Los compuestos mayoritarios se distribuyen como sigue: Compuestos aromáticos: p-cimeno (p-cimol) Aceites volátiles como d-limoneno y citral. Compuestos oxígeno-heterocíclicos, tipo piranocumarinas: Xantiletina Compuestos oxígeno-heterocíclicos, tipo flavonoides: Hesperidina Compuestos alicíclicos, tipo monoterpenoides: alfa-terpineno, para-cymeno, alfa-pineno, betapineno y Linanool

Uso medicinal

Afrodisíaco, analgésico, antiasmático, antiolesterolemicos, antiemético, antiescorbútico, antiséptico, antitusivo, astringente, carminativo, emético, estimulante, expectorante, laxante, tonificante general, tratamientos estomacales y vitamínico