

**DETERMINACION DEL EFECTO ANTINEFROLITIASICO Y DIURETICO
DE LA *Manicaria Saccifera***

JAINER CAÑAS MEDINA

**Tesis presentada para optar al título de
Magister en Ciencias Básicas Médicas**

**Tutor: OSCAR GUTIERREZ Medico MSc. Profesor Departamento de
Farmacología Facultad de Salud**



**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS
MAESTRIA EN FARMACOLOGIA
2011**

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	8
2.	MARCO TEORICO	9
2.1	Litiasis Renal	9
2.1.1	Epidemiología	10
2.1.2	Litogénesis	12
2.1.3	Constituyentes de los cálculos Urinarios	16
2.1.4	Diagnóstico de la Litiasis renal	17
2.1.5	Análisis de Cálculo Renal	18
2.1.6	Tratamiento de la Litiasis renal	19
2.1.7	Fármacos Empleados en el Tratamiento de las Litiasis	19
2.1.8	Recomendaciones para el Tratamiento	22
2.1.9	Hiperoxaluria y Litiasis Renal	23
2.1.10	Tratamiento	24
2.2	Generación de cálculos de oxalato a partir de etilenglicol	25
2.2.1	Intoxicación por Etilenglicol	25
2.2.2	Mecanismo del Efecto Nocivo	26
2.2.3	Grado de Toxicidad	26
2.2.4	Peligros Específicos	26
2.2.5	Signos y Síntomas	26
2.3	Diuréticos	27
2.3.1	Generalidades del efecto Diurético	28
2.3.2	Clasificación de los Diuréticos	29
2.3.2.1	De Escasa Eficacia	30
2.3.2.1.1	Diuréticos Osmóticos	30
2.3.2.1.2	Inhibidores de la Anhidrasa Carbónica	30
2.3.2.1.3	Diuréticos Ahorradores de Potasio	30
2.3.2.1.4	Antagonistas de los Receptores de Mineralocorticoides	31
2.3.2.2	De Moderada Eficacia	31
2.3.2.2.1	Diuréticos Tiazida y Parecidos a Tiazida	31
2.3.2.3	De Alta Eficacia	32
2.3.2.3.1	Diuréticos de Asa; Diuréticos de Límite Alto	32
2.3.3	Aplicaciones Terapéuticas de los Diuréticos	33
2.4	Planta (<i>Manicaria Saccifera</i>)	34
2.4.1	Nombre científico	35
2.4.2	Nombre Vulgar	36
2.4.3	Descripción botánica	37
2.4.4	Distribución	38
2.4.5	Usos Etnobotánicas	39
2.4.6	Estructura química de la <i>M. saccifera</i> y plantas relacionadas	39
3.	PROPÓSITO	41
4.	JUSTIFICACIÓN	42

5.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	43
6.	HIPÓTESIS	44
7.	OBJETIVOS	45
7.1	Objetivo General	45
7.2	Objetivos Específicos	45
8.	MATERIALES	46
8.1	Obtención de la Planta y Almacenamiento	46
8.2	Obtención de la Muestra Experimental	46
8.3	Animales de experimentación	46
8.4	Registro del efecto antinefrolitiásico con etilenglicol	46
8.5	Registro del Efecto Diurético	47
8.6	Determinación de la Dosis Letal 50 (DL_{50}) en Ratas	48
9.	MÉTODO	49
9.1	Toxicidad Aguda	49
9.2	Toxicidad Subaguda	49
9.3	Evaluación de la Actividad Diurética	50
9.4	Evaluación de la Actividad Antinefrolitiásico	51
9.5	Análisis Estadístico	52
10.	RESULTADOS	53
10.1	Toxicidad Aguda	53
10.2	Toxicidad Subaguda	56
10.3	Determinación del Efecto Diurético	61
10.4	Determinación del Efecto Antinefrolitiásico	64
11.	DISCUSIÓN	70
12.	CONCLUSIONES	74
13.	PERSPECTIVAS	75
14.	REFERENCIAS	76
15.	TABLAS	82
16.	LISTA DE ANEXOS	92

LISTA DE FIGURAS

- Figura. 1. Etapas de la Litogénesis
- Figura. 2. Cristales de oxalato de calcio
- Figura. 3. Metabolismo del Etilenglicol
- Figura. 4. Clasificación de los Diuréticos
- Figura. 5. Sitio de acción de los Diuréticos
- Figura. 6. Clasificación científica
- Figura. 7. Fruto y Palma de *Manicaria saccifera*
- Figura. 8. Fruto de la *Manicaria saccifera*
- Figura. 9. Test de Irwin
- Figura.10. Jaulas Metabólicas
- Figura. 11. Peso corporal: variación en dos semanas por grupos
- Figura. 12. Peso de vísceras por grupo Porcentaje de peso de vísceras respecto al peso corporal por grupos
- Figura. 13. Peso de vísceras por grupo Porcentaje de peso de vísceras respecto al peso corporal por grupos
- Figura. 14. Química sanguínea promedios por grupo
- Figura. 15. Electrolitos en sangre y Enzimas promedios por grupo
- Figura. 16. Electrolitos en sangre y Enzimas promedios por grupo
- Figura. 17. Electrolitos en sangre y Enzimas promedios por grupo
- Figura. 18. Electrolitos en sangre y Enzimas promedios por grupo

Figura. 19. porcentajes hematologicos por grupo

Figura. 20. Variación del peso corporal por grupos

Figura. 21. Volumen de orina en 6 horas por grupos

Figura. 22. EVU calculada, en seis horas por grupo

Figura. 23. Electrolitos en orina por grupos

Figura. 24. Concentración de calcio en riñón por grupos

Figura. 25. Promedios de Nitrógeno uréico por grupos

Figura. 26. Promedios de creatinina por grupo

Figura. 27. Promedios de concentración de calcio por grupos

Figura. 28. promedio de fosforo ordenados por grupos

Figura. 29. Promedios de Urea ordenados por grupo

LISTA DE TABLAS

TABLA 1 – Toxicidad Aguda por vía Oral e Intraperitoneal – Peso Corporal en los días 1,7 y 14 (g), Comparación de Promedios – Prueba t de Bonferroni O t Pareada.

TABLA 2 -- Toxicidad Aguda – Peso de Vísceras y Porcentaje de Peso de Vísceras Respecto al peso corporal (g), Comparación de promedios – prueba t de Bonferroni.

TABLA 3 -- Resultados Química Sanguínea (Promedio $\pm$ Desv.std.)

TABLA 4 -- Resultados Hematología (Promedio $\pm$ Desv.std.)

TABLA 5 -- Resultados – Variación de peso Corporal, peso de Órganos y consumo de agua y alimento (Promedio $\pm$ Desv.std.)

TABLA 6 -- Comparación de los promedios por grupo – prueba t de Student – valores de probabilidad (P)

TABLA 7 -- Volumen Urinario recogido en las primeras seis horas (ml), prueba de Bonferroni

TABLA 8 -- Excreción Volumétrica Urinaria (evu) por hora, Calculada en las primeras seis horas, Prueba de Bonferroni.

TABLA 9 – Electrolitos en orina (Promedio $\pm$ Desv.std.)

TABLA 10 – Resultados Efecto Antinefrolitiásico (Promedio $\pm$ Desv.std.)
Prueba de Bonferroni

LISTA DE ANEXOS

1. Resultados análisis de laboratorio de química sanguínea toxicidad subaguda
2. Análisis de laboratorio toxicidad subaguda cuadro hemático
3. Excreción volumétrica urinaria por hora por rata

1. INTRODUCCION

A través del tiempo el uso de plantas medicinales para el tratamiento de diversas patologías ha aumentado considerablemente, esto sustentado en la búsqueda de terapias menos costosas, con pocos o mínimos efectos colaterales y de fácil consecución por la población en general.

Colombia es un país con gran biodiversidad y un número amplio de plantas de interés medicinal que podrían ser explotadas. Este aspecto es de gran importancia considerando que el descubrimiento de un alto porcentaje de fármacos de origen vegetal es resultado del estudio científico de plantas bien conocidas y empleadas en la medicina popular.¹

La *Manicaria saccifera* es una planta ampliamente distribuida en el Pacífico colombiano, la cual es usada popularmente como "productora de orina y lubricadora de riñones". Actualmente no hay estudios que validen experimentalmente sus efectos farmacológicos.²

Partiendo de su uso popular a través de esta investigación se pretende validar dos efectos terapéuticos de la *Manicaria saccifera*: antinefrolitiasis y estimulación de diuresis. También se determinará toxicidad aguda y subaguda.

Este estudio logrará un impacto en la salud de la población al generar una terapéutica de origen vegetal, idealmente de bajo costo, fácil acceso y menores efectos adversos.

2. MARCO TEORICO

2.1 Litiasis Renal

La mineralización en todos los sistemas biológicos tiene una base común en la que se entrelazan los cristales y la matriz. Los cálculos urinarios no son la excepción; son agregados policristalínicos compuestos de cantidades variables de cristaloides y matrices orgánicas.³

La litiasis es una patología frecuente del tracto urinario, se presenta con: dolor agudo e intenso en la zona dorso lumbar y flanco, con irradiación a fosa iliaca y genitales. Característicamente se presenta con irritación psicomotora pudiendo acompañarse de náuseas y hematuria (micro o macroscópica).⁴ Su forma de presentación más frecuente es el cólico nefrítico: aparece cuando un cálculo se desprende o se rompe y se deposita en el sistema colector del riñón, lo que aumenta la presión intraluminal activando las terminaciones nerviosas de la mucosa y provocando dolor.⁵

Este padecimiento es uno de los más frecuentes del aparato urinario; se han reportado litiasis desde el año 4800 A.C., en la actualidad tiene una prevalencia del 35% y una tasa de recurrencias en la litiasis por oxalato de calcio del 1% al primer año, 35% a los 5 años y 50% a los 10 años.

La composición química de los cálculos tiene implicaciones terapéuticas ya que algunos pueden ser disueltos mediante quemolisis (ácido úrico y cistina), en cambio otros, por su composición, son de una dureza tal que no pueden ser tratados con ciertos métodos; esto también tiene implicaciones para la profilaxis de la recurrencia.⁶ Al aumentar la ingesta de líquidos el aumento del volumen de orina puede disminuir la sobresaturación, es ampliamente conocido que ayuda a prevenir la formación de cálculos. La recomendación para la producción de orina varía, pero debe ser superior a los dos litros, y en condiciones calurosas y secas o personas que hacen ejercicio y sudan demasiado necesitan beber más líquidos para mantener la producción de orina adecuada.⁷

El etilenglicol promueve la formación de cálculos renales gracias a la hiperoxaluria que ocasiona, dando como resultado retención renal y formación de cristales (predominantemente compuestos de mono hidrato de oxalato de calcio), además de excreción de oxalato. Según algunos estudios, a nivel molecular la hiperoxaluria induce peroxidación lipídica causando daño de la célula tubular renal al reaccionar con los ácidos grasos poli insaturados de la superficie de membrana. Esto explicaría los fenómenos que ocurren en la III fase de intoxicación mencionada anteriormente.

2.1.1 Epidemiología

Los cálculos que obedecen a factores propios del metabolismo se denominan intrínsecos (Genética, edad y Sexo) los debidos a factores externos se conocen como extrínsecos (Geográficos y Climáticos)

Factores intrínsecos:

Genética: cerca del 25% de los pacientes con litiasis urinaria tienen una historia familiar positiva de litiasis debida posiblemente a un defecto poligénico de penetrancia parcial.

Las enfermedades hereditarias más comunes que se asocian con urolitiasis son la acidosis tubular renal familiar que se presenta con nefrolitiasis y la nefrocalcinosis que se asocia con litiasis en un 70% de los casos; otra alteración genética es la cistinuria cuya transmisión es recesiva.

Edad y Sexo: El mayor pico de presentación de la litiasis urinaria es entre los 20 y 40 años con predominio en los hombres (relación 3:1). Al respecto, una teoría postula que las mujeres tienen mayor nivel de citrato en orina; un protector contra la adhesión de los cristales y los hombres tiene mayor nivel de testosterona que resulta en mayor secreción de oxalato por el hígado.

Factores Extrínsecos:

Geográficos y Climáticos

Se ha demostrado una fuerte relación causal de los factores climáticos, geográficos, dietéticos y ocupacionales con la formación de cálculos. Estos son más frecuentes en personas que habitan en regiones montañosas, desérticas y tropicales, en general áreas calientes y secas que, presumiblemente, pueden favorecer un estado de deshidratación crónica; a ellos se suman los patrones dietéticos de cierta regiones que influyen en la formación de cálculos por que aumenta la excreción de compuestos pocos solubles, tales como el ácido úrico asociado a la ingestión de purinas, los oxalatos, el calcio y los fosfatos.

La ingesta de agua y el incremento del volumen de la orina se asocian con una disminución en la frecuencia de litiasis urinaria en las personas predisuestas a la enfermedad.

La actividad laboral también se ha relacionado con la litiasis, la cual es más frecuente en trabajadores administrativos y en personas sedentarias, así como en quienes laboran en condiciones de altas temperaturas.⁸

La litiasis renal y ureteral constituyen patologías frecuentes en Colombia, especialmente en regiones de clima cálido. Se presenta a cualquier edad, siendo más frecuente entre los 20 y 50 años. Es más frecuente en el hombre que en la mujer en una proporción que varía entre 2:1 y 3:1. Se presenta en todas las razas, siendo menos frecuente en individuos afroamericanos, pero en éstos, la forma de presentación es habitualmente más compleja, como son los cálculos coraliformes. Aunque no existen estadísticas suficientemente confiables, aproximadamente el 13 por 1.000 de los egresos hospitalarios se deben a litiasis renal y ureteral. En algunas formas de presentación existe un factor hereditario, como en los cálculos de cistina, ácido úrico y oxalato de calcio; en cambio en otras la infección urinaria, el clima y la profesión del individuo pueden ser un factor de riesgo.

Se puede concluir que hay factores epidemiológicos que juegan un papel en la génesis de la litiasis urinaria, siendo los más importantes los siguientes:

- Herencia
- Edad
- Sexo
- Geografía
- Temperatura ambiente
- Dieta
- Clase Social
- Ocupación del individuo. ⁹

2.1.2 Litogénesis

La formación de un cálculo renal supone la generación de un núcleo y que éste se retenga en la vía urinaria para dar lugar a su crecimiento. En tal sentido se barajan teorías que ponen el énfasis en factores anatómicos, junto con otras que dan el peso patogénico fundamental a los aspectos fisicoquímicos. Ninguna de las teorías es completa y los cálculos son de origen multifactorial, dependiendo de factores como edad, sexo, ocupación, estado nutricional, dieta, ingesta líquida, clima, infección y alteraciones metabólicas o anatómicas diversas que modifican el pH, composición, volumen y discurrir urinarios.

Las *teorías* anatómicas de la litogénesis propugnan que la orina es una solución sobresaturada para algunos de sus constituyentes cristalinos y que aquellas situaciones que provoquen ectasia favorecerán la precipitación y retención de estructuras cristalinas y su ulterior crecimiento.

Por otra parte, la ectasia propicia el desarrollo de infecciones que, desde el punto de vista de la patogenia de la litiasis, son un factor contribuyente de gran importancia, en especial, las producidas por gérmenes ureolíticos, que poseen una enzima llamada ureasa, capaz de catalizar la transformación de la urea urinaria en amoníaco y radicales hidroxilos, lo que origina una intensa alcalinización y modificación de las características fisicoquímicas de la orina de estos pacientes, lo que potencia la formación de precipitados del llamado fosfato triple.

Se ha sugerido que las bacterias desempeñan un papel en la litiasis renal, como iniciadoras del proceso y, posteriormente, otros factores influirían en su progresión.

A veces, los precipitados cristalinos se producen intrarrenalmente, en un proceso denominado nefrocalcinosis, que suele acompañarse de litiasis renal. La nefrocalcinosis es consecuencia de alteraciones metabólicas, como hipercalcemia, hipercalciuria, hiperoxaluria o de procesos distróficos, como cicatrización de lesiones necrótico-inflamatorias del parénquima renal. La localización medular aparece en casos de hiperparatiroidismo primario, hipercalciuria idiopática, acidosis tubular renal, intoxicación por vitamina D, síndrome de la leche y alcalinos, hiperoxaluria primaria, sarcoidosis, beriliosis, tirotoxicosis, riñón en esponja e hipomagnesemia de origen tubular renal. A nivel cortical es más infrecuente y se asocia con glomerulonefritis crónicas y con necrosis corticales que dan la típica imagen en raíl de tren.

La litogénesis sigue una serie de pasos que consisten en saturación urinaria, posterior sobresaturación, nucleación cristalina, agregación de los mono cristales en maclas, retención en el urotelio y crecimiento posterior de ese núcleo retenido.

De hecho, los pacientes litíasicos tienen más cristaluria y sus partículas cristalinas son de mayor tamaño que las presentes en la orina de los pacientes no litíasicos.



Figura. 1. Etapas de la litogénesis

Los núcleos iniciales de los cálculos urinarios se suelen formar a nivel renal, bien como precipitados cristalinos intratubulares, bien como micro partículas intracelulares epiteliales, bien radicadas en la membrana basal o a nivel intersticial, produciéndose inflamación cerca de los depósitos cristalinos, con engrosamiento epitelial y a veces con necrosis o con descamación. Estas lesiones facilitan la nucleación y adhesión de los cristales al epitelio y su retención. Resulta crítica la fijación o anclaje de los cristales en una célula tubular o en el epitelio papilar, ya que durante los cinco a siete minutos que invierte el filtrado glomerular en alcanzar la papila, los núcleos cristalinos formados en el túbulo no tienen posibilidad de alcanzar un tamaño suficiente para quedar atrapados en el colector. Una vez fijos, tendrá lugar su ulterior crecimiento hasta alcanzar el definitivo tamaño del cálculo. La fijación acontece por mecanismos moleculares y estructurales entre la superficie celular y la cristalina, mediante el concurso de algunos fosfolípidos de la membrana celular. Probablemente, la materia orgánica de la matriz del cálculo actúa como un pegamento biológico, contribuyendo a esta fijación.

El desarrollo de cristaluria se explica mediante el concurso de la llamada teoría fisicoquímica de la litogénesis. En tal sentido, se considera que la orina es una solución en la que, dependiendo de su concentración, cada sal puede alcanzar diversas situaciones en cuanto a su saturación. Cuando la sal está en baja concentración, la orina está infra saturada, existiendo una energía que tiende a disolver la sal e impedir que se precipiten cristales de la misma. Si se aumenta progresivamente la concentración, se alcanza una frontera llamada "producto de saturación" que, una vez superada, puede dar lugar a la precipitación de cristales, aunque la presencia de componentes orgánicos macromoleculares urinarios puede impedir la precipitación que se produciría en una solución acuosa pura. La

existencia de materia con potencialidad de nuclear cristales (como *detritus* celular, cilindros urinarios, epitelio de revestimiento, agregados amorfos o cristales de otras sales) puede revertir esa protección. La orina en esta situación se denomina metastable y el tipo de nucleación producido en estas circunstancias se denomina heterogénea.

La adición continuada de soluto superará un nuevo nivel crítico llamado "producto de formación", con lo cual la solución se torna espontáneamente inestable y la precipitación cristalina resulta irreversible, estado que se denomina de sobresaturación y la nucleación producida, homogénea.

Una vez formado el núcleo del cálculo se producirán las restantes fases de la litogénesis: agregación, fijación y crecimiento. La agregación de cristales en maclas de mayor tamaño depende de interacciones electrostáticas, formación de puentes de hidrógeno y de la materia orgánica, que se va desplazando de la superficie de los cristales, permitiendo la agregación de los mismos, de tal modo que su contenido es siempre menos de la mitad en el interior de un cálculo respecto a su superficie. La matriz o componente orgánico de los cálculos está constituida por proteínas caracterizadas por un alto contenido en ácido glutámico, ácido aspártico y presencia de ácido γ -carboxiglutámico.

La orina es una solución muy compleja, en la que existen sustancias que tienen influencia en los fenómenos de nucleación, crecimiento, agregación y anclaje cristalinos, pues no todos los sujetos con orinas sobresaturadas desarrollan litiasis renal. Tales compuestos se pueden clasificar como promotores (glucosaminoglucanos, sustancia A, uromucoides, uratos, proteínas ácidas), inhibidores (citrato, pirofosfato, glucosaminoglucanos, nefrocalcina, magnesio, uropontina, proteína de Tamm- Horsfall) y complejadores (magnesio, citrato).

Los promotores son aquellos compuestos químicos que, actuando en la superficie de los cristales, facilitan su crecimiento y por ende, la formación de cálculos. Suelen encontrarse en la matriz orgánica de los cálculos y son macromoléculas del tipo de las mucoproteínas como la proteína de Tamm-Horsfall, que puede agregarse y precipitar en los túbulos constituyendo un núcleo litogénico, al hacerse insoluble por desialización; la llamada sustancia A, el uromucoide y, finalmente, algunas proteínas ácidas que contienen residuos de aspártico y glutámico.

Los inhibidores compiten con otros iones, al unirse en los puntos de crecimiento de los cristales del núcleo del cálculo. Actúan en contra de las principales sales cálcicas de la orina, los oxalatos y los fosfatos, y su ausencia facilita la litogénesis. Los inhibidores se pueden catalogar en dos grupos: macromoléculas y moléculas de pequeño tamaño, tanto orgánicas como inorgánicas; dentro del primer grupo se incluyen: glucosaminoglucanos, nefrocalcina, uropontina, proteína de la matriz cristalina, bicunina, proteína de Tamm-Horsfall, calprotectina, litostatina renal y

dentro de los segundos están citratos, pirofosfato, magnesio, zinc, plomo y vanadio.

Los glucosaminoglucanos proceden de la degradación enzimática de proteoglicanos y se eliminan en orina; inhiben el crecimiento y agregación del oxalato cálcico y evitan su anclaje en superficies celulares. La nefrocalcina es una glicoproteína ácida, rica en residuos de ácido γ -carboxiglutámico, que inhibe el crecimiento, agregación y anclaje de los cristales de oxalato de calcio; se produce en el túbulo proximal y asa de Henle. La nefrocalcina presente en la orina de los sujetos litiasicos es anormal, careciendo de carboxiglutámico. La uropontina es una proteína muy similar a la osteopontina de la matriz ósea, rica en aspártico, inhibe la nucleación, crecimiento, agregación y anclaje del oxalato. La codifica un gen presente en el cromosoma 4 y está presente en asa de Henle y túbulo distal. La proteína de la matriz cristalina, también llamada forma urinaria del fragmento 1 de la protrombina, es producto de la degradación de ésta. Se localiza en el asa de Henle y en el túbulo distal, es rica en γ -carboxiglutámico, por lo que liga calcio e inhibe el crecimiento y agregación del oxalato. La bicunina o cadena ligera del inhibidor de la inter- α -tripsina, también conocida como proteína rica en ácido urónico, es un inhibidor del crecimiento de cristales de sales cálcicas de oxalato. En la orina de los litiasicos está presente en una forma con menor capacidad inhibitoria. La proteína de Tamm-Horsfall es una glicoproteína producida en el segmento ascendente del asa de Henle y está presente en la orina en grandes cantidades. Es un débil inhibidor de la nucleación y crecimiento de cristales de oxalato. Algunos sujetos con litiasis tienen esta proteína en una forma anómala que se auto agrega y deteriora su capacidad inhibitoria. La calprotectina es un complejo de dos proteínas aniónicas de la familia S100. Inhibe el crecimiento del oxalato de calcio y la nucleación y crecimiento de la estruvita.

La litostatina renal es un inhibidor del crecimiento del carbonato cálcico y es similar a la misma proteína existente en páncreas; se produce en el túbulo proximal y el asa de Henle y su efecto en la litiasis puede ser indirecto, ya que al impedir la formación de cristales de carbonato cálcico, hace imposible el crecimiento epitaxial del oxalato sobre él mismo.

Finalmente, los complejadores son sustancias que forman complejos solubles con el entramado iónico de un cristal, disminuyendo la actividad de los iones libres en orina y reduciendo la saturación de la sal. El citrato es un típico formador de complejos solubles con el calcio; el magnesio los forma con el oxalato.¹⁰

2.1.3 Constituyentes de los Cálculos Urinarios

Los cálculos renales pueden estar compuestos por diferentes sustancias los tipos más frecuentes son:

- Cálculos de Calcio: que corresponden al 80% de los cálculos renales, compuestos por calcio y fosforo o calcio y oxalato.
- Cálculos de estruvita: Este tipo supone el 10% de todos los cálculos renales. Están compuestos de fosfato anomicomagnesico, frecuentes en pacientes que han presentado infecciones repetidas del tracto urinario por determinados tipos de bacterias, que producen Ureasa alcalinizando la orina. Este entorno no permite que la estruvita sedimente en la orina originando una formación de cálculos.
- Cálculos de Acido úrico: Aproximadamente el 5% son de este tipo, ocurre cuando circulan en el torrente sanguíneo cantidades importantes de acido úrico las partículas sedimentan en la orina y se juntan en el interior del riñón formando una masa solida mayor.
- Cálculos de cistina: Supone el 2% de todos los cálculos renales. La cistina es un aminoácido, y las personas con este tipo de cálculos renales tienen una anomalía en la vía metabólica por la cual su organismo procesa los aminoácidos de la dieta.¹¹
- Grupo de litiasis raras: Por alteraciones metabólicas (déficit de xantinoxidasa, déficit de adenina fosforribodiltransferasa, etc.), por compuestos orgánicos (detritus celulares, colesterol, etc.) o por fármacos (indinavir, triamterene, etc.).¹²

Iones Urinarios:

- Calcio: es el principal ión presente en los cristales urinarios, solo el 50% del calcio plasmático es ionizado y está disponible para la filtración en el glomérulo medio.
- Oxalato: Es un producto normal del desecho del metabolismo y es relativamente insoluble. En condiciones normales, de 10 al 15% del oxalato que se encuentra en la orina se origina en la dieta; l mayor parte es un subproducto metabólico. Casi todo el oxalato que ingresa al intestino grueso se consume por la descomposición bacteriana. La dieta, sin embargo, tiene un impacto sobre la cantidad de oxalato que se encuentra en la orina. Una vez que es absorbido desde el intestino delgado, el oxalato no se metaboliza y se excreta casi exclusivamente por el túbulo proximal. La presencia de calcio en el interior de la luz intestinal es un factor importante que influye en la cantidad de oxalato que se absorbe.
- Fosfato: El fosfato es un amortiguador importante y forma complejos con el calcio en la orina. Es un componente clave en los cálculos de fosfato de calcio y de fosfato amónico – magnésico. La excreción de fosfato urinario en adultos

normales se relaciona con la cantidad de fosfato en la dieta (en especial en carnes, productos lácteos y vegetales). La pequeña cantidad de fosfato que se filtra por el glomérulo se reabsorbe de manera predominante en el túbulo proximal.

- **Acido Úrico:** El ácido úrico es el subproducto del metabolismo de las purinas. Los cristales y cálculos de ácido úrico puros son típicamente de naturaleza radio lúcida y pueden pasar inadvertidos en las placas simples de abdomen.

- **Sodio:** Aunque no se considera como uno de los principales constituyentes de la mayor parte de los cálculos urinarios, el sodio desempeña un papel importante en la regulación de la cristalización de las sales de calcio en la orina. El sodio se encuentra en concentraciones más altas que las esperadas en el núcleo de los cálculos renales y puede tener algún papel en el comienzo del desarrollo y agregación de cristales. La ingesta elevada de sodio en la dieta incrementa la excreción urinaria de calcio.¹³

2.1.4 Diagnóstico de la Litiasis Renal

La enfermedad litiásica con frecuencia no proporciona al paciente ningún síntoma de alarma que le impulse a buscar ayuda médica, además cuando la enfermedad progresa pueden aparecer síntomas suficientemente vagos como para ser atribuidos a cualquier circunstancia banal. De esta manera se llega, con frecuencia, a consultar por primera vez al urólogo en estadíos muy avanzados de la enfermedad, que en ocasiones se diagnostica cuando están presentes complicaciones importantes.

Hemos visto anteriormente que el cálculo no es más que la expresión final de trastornos subyacentes: elevada sobresaturación urinaria de sustancias cristalizables, déficit de inhibidores de la cristalización, cambios en el pH urinario, infecciones urinarias por gérmenes ureolíticos, presencia de nucleantes heterogéneos, zonas con flujo urinario reducidos, alteraciones en el urotelio. El desconocimiento y, por tanto, la no resolución de estos diferentes factores litogénico conducen, en muchos casos, a una indeseable recidiva de la enfermedad litiásica.

Desde un punto de vista clínico sanitario resulta siempre atractivo poder identificar los principales factores de riesgo litógenos, cuyo conocimiento puede facilitarnos el control sobre la aparición de nuevos casos o sus recurrencias mediante el establecimiento de una profilaxis médica individualizada¹⁴. Dicha profilaxis es posible, eficaz y significativamente menos costosa que cualquier otra terapéutica de intervención sobre el cálculo y, desde luego, supone un beneficio real para el enfermo por que le evita el futuro sufrimiento de un cólico nefrítico o de un posible tratamiento activo del cálculo, rebajando así los costos socioeconómicos de esta enfermedad^{15, 16}.

En la actualidad, existe la posibilidad de reconocer una serie de trastornos litogénicos por medio del estudio metabólico – mineral del paciente y el análisis del cálculo, descubriéndose los factores causales en un número elevado de casos.¹⁷

2.1.5 Análisis de Cálculo Renal

Cada tipo de cálculo, en función de su composición y estructura, representa una determinada forma de clínica de la enfermedad litiasica, con una etiología, pronóstico, evolución y tratamiento diferentes. Desde el punto de vista clínico, el estudio del cálculo debería ser, pues, esencial para el diagnóstico y tratamiento del paciente aquejado de litiasis renal, ya que proporciona información fundamental relativa a la patogénesis de la enfermedad (anormalidades urinarias de origen metabólico y/o morfoanatómico, presencia de infección). Las técnicas analíticas utilizadas para el estudio de los cálculos son diversas.¹⁸

Las técnicas consideradas esenciales son el estudio morfológico y estructural mediante microscopia, estereoscopia, complementada con la microscopia electrónica de barrido que incorpora espectroscopia de rayos X por energía dispersiva y la espectroscopia infrarroja (IR)^{19, 20}

El examen del cálculo bajo la lupa binocular (4-100x) permite una primera aproximación a la composición, morfología y estructura del cálculo urinario, así como una adecuada selección del plano de fractura óptimo (en el caso de cálculos completos) que nos permita obtener la máxima información sobre la disposición interna del cálculo, evitando la alteración o destrucción de la estructura de interés. El estudio sistemático de las características macroscópicas de los cálculos urinarios permite, en un gran número de casos, sacar conclusiones acertadas sobre la composición y disposición estructural del cálculo y clasificarlo, a partir de características como la forma, el color, el peso, el tamaño, la consistencia y el aspecto de la estructura externa e interna (existencia de un área adherida al epitelio, presencia de depósitos superficiales, variación de fase química o cristalina entre las diferentes zonas de cálculo, grado de organización interna, localización y tamaño del núcleo del cálculo, presencia de laminación o estructura radial del cálculo). No obstante para ello se precisa cierta experiencia y el apoyo confirmativo de técnicas analíticas complementarias, como la espectroscopia, que permiten un estudio más detallado de las zonas más interesantes (por ejemplo, la zona inicial del cálculo) o diferenciadas del resto del cálculo.

Estas técnicas permiten la observación microestructural de los cálculos, así como el análisis elemental de microáreas, composición del corazón y/o punto de anclaje papilar, identificación de microcomponentes, composición de los compuestos cristalinos, forma de los cristales, conversiones cristalinas, variación de fases

cristalinas, características (que informan sobre cambios en la composición urinaria durante el desarrollo del cálculo, características de los agregados, relaciones íntimas entre cristales y material orgánico).

La espectroscopia IR es una técnica específica, simple y rápida para identificación tanto de los componentes cristalinos (incluyendo los diferentes grados de hidratación), como de los componentes amorfos de los cálculos. Sin la inspección superficial e interna del cálculo revela una apariencia homogénea, la identificación de la composición del cálculo se puede llevar a cabo pulverizando todo el cálculo y tomando una muestra promedio para este estudio. En cambio, si la estructura es heterogénea, será necesario recoger partes de los diferentes materiales con un escalpelo y llevar a cabo las diferentes identificaciones.²¹

2.1.6 Tratamiento de la Litiasis Renal

Tratamiento General:

El tratamiento de primera elección es el farmacológico, siempre que la vía excretora se encuentre permeable. Dicho tratamiento tiene por objeto: 1) Suprimir el dolor, 2) eliminar el cálculo, 3) Prevenir las recidivas. Hoy día se emplean métodos instrumentales poco invasivos, como la cirugía endoscópica y litotricia extracorpórea, asociados a tratamientos farmacológicos. Muchos cálculos se expulsan de manera espontánea, dependiendo de su tamaño y localización.

2.1.7 Fármacos Empleados en el Tratamiento de las litiasis Urinarias

TIACIDAS: Hidroclorotiazidas clortalidona – Diurético

FOSFATOS: Fosfato Sódico – Inhibición de la absorción de calcio y Magnesio.

ALCALINIZANTES URINARIOS: Bicarbonato Sódico, Citratos, Acetazolamida – por aumento del pH urinario y bloqueo de la reabsorción de bicarbonato.

ACIDIFICANTES URINARIOS: Vitamina C – disminuye el pH urinario.

INHIBIDORES DE LA XANTINO OXIDASA: Alopurinol – impide la formación de ácido úrico.

PIRIDOXINA: Vitamina B6 – disminuye la producción de oxalato

ANTICISTINURICOS: D- Penicilamina – aumenta la solubilidad de la cistina.

INHIBIDORES DE LA UREASA: Acido acetohidroxico – evita los aumentos del pH urinario.

Durante la fase aguda hay que aliviar el dolor, según su intensidad, con analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Además de su efecto analgésico, reducen el edema en la obstrucción ureteral, el flujo urinario y la presión intraluminal. Los opiáceos no siempre están indicados por que puede producir espasmos locales.

Hay que forzar la diuresis mediante la ingestión de grandes cantidades de líquidos o empleando diuréticos si es necesario, para conseguir la eliminación espontánea del cálculo. Los diuréticos pueden producir deshidratación e hipotensión, fatiga, impotencia, hipopotasemia, hiperuricemia e hiperglucemia. Por lo tanto, se debe mantener bien hidratado al paciente, con dieta hiposódica, y administrar citrato potásico por vía oral (30 – 40 mEq/ día).

Según el tipo de cálculo, se debe alcalinizar o acidificar la orina. Cuando los cálculos son de calcio, la orina se alcaliniza con bicarbonato o citrato sódicos, teniendo en cuenta que la presencia de sodio potencia la eliminación de calcio por la orina pero puede aumentar la presión arterial y, a pH superior a 7 puede favorecer la precipitación de fosfato cálcico en enfermos predispuestos.

Si se emplea citrato potásico (20 – 80 mEq /día), se produce una inhibición de la cristalización del fosfato cálcico y de la nucleación del oxalato cálcico. Es muy eficaz en la profilaxis de la litiasis por uratos, oxalatos, citratos y calcio; o en la acidosis tubular renal. La Acetazolamida se utiliza en tratamientos cortos por que puede provocar acidosis metabólica y pierde eficacia.

El ácido acetohidroxico (125 / 250 mg / 8 horas), acidifica la orina, evitando los aumentos bruscos de pH urinario al inhibir la acción de la ureasa. Suele asociarse con el antibiótico específico y está contraindicado en caso de insuficiencia renal.

Cuando el origen es infeccioso, es necesario administrará antibióticos, dependiendo del tipo de microorganismos.

En la profilaxis hay que prescribir medidas higiénico – dietéticas, dependiendo de la etiología de la litiasis, con objeto de corregir los factores litogénicos. La alimentación depende de la composición de los cálculos. Debe ser variada, con pocos lácteos, proteínas y sal; y hay que mantener una buena hidratación. Se recomienda un ejercicio moderado y no abusar de los laxantes.²²

En embarazadas se pueden presentar cólicos renales, lo cual constituye una urgencia médica que debe ser tratada con reposo en cama, hidratación y analgésicos y según la evolución clínica referencia a un centro especializado. Se debe recordar que las tiazidas pueden provocar en el feto hipoglucemia, hiponatremia y trombocitopenia.²³

Cuando correlacionan los diferentes tipos de cálculos con las anomalías metabólicas observadas podemos inferir consideraciones etiológicas y terapéuticas como se resumen a continuación.

1. Cálculos de oxalato cálcico dihidrato. Son los más frecuentes (34%) y se asocian principalmente a hipercalciuria, hipocitraturia y pH alcalino (>6.0). Aparte de las medidas generales de aumento de la diuresis y restricción sódica el tratamiento farmacológico irá dirigido a corregir estas alteraciones mediante la utilización de diuréticos tipo tiazida y sales de citrato.

2. Cálculos de oxalato cálcico monohidrato. Su frecuencia es similar a los anteriores (30%) pero con dos variantes:

- a. Oxalato cálcico monohidrato papilar formados en alguna zona dañada del urotelio de la papila renal y que pueden acompañarse de déficits de inhibidores como el citrato y $\text{pH} > 6.0$.

- b. Oxalato cálcico monohidrato no papilar formados en cavidades renales con drenaje urinario enlentecido. Pueden acompañarse de déficits de inhibidores como el anterior y el pH será superior a 6 si se acompañan de hidroxapatita o inferior a 5.5 si el acompañante es ácido úrico.

En ambos casos el tratamiento médico deberá ir orientado a corregir el déficit de inhibidores con sales de citratos y/o la alteración del pH cuando exista.

3. Cálculos mixtos de oxalato cálcico dihidrato y hidroxapatita. Constituyen un 11% del total de los cálculos. Las alteraciones urinaria detectadas incluyen hipercalciuria, pH urinario > 6.0 e hipocitraturia.

4. Cálculos de hidroxapatita (7%) que se acompañan de déficit de citrato y pH urinario superior a 6.

5. Cálculos de estruvita (4%). En este tipo de cálculos el principal factor etiológico es la infección por gérmenes ureolíticos. Por tanto, el tratamiento deberá ir dirigido a corregir la infección según los antibiogramas seriados de que dispongamos y, en paralelo, neutralizar el efecto de la ureasa mediante ácido acetohidroxámico a dosis de 375-750 mg al día. No debe olvidarse de todas formas que la mitad de litiasis infectivas se acompañan de una hipercalciuria que también requerirá de tratamiento.

6. Cálculos de brushita (0,6%). Esta litiasis poco frecuente puede acompañarse de $\text{pH} > 6.0$ y déficit de inhibidores de la cristalización, de todas formas no pueden sacarse conclusiones de una pauta terapéutica, precisamente por su escasa frecuencia.

7. Cálculos de ácido úrico puro (8%), se acompañan de orinas ácidas ($\text{pH} < 5.5$) y de hiperuricosuria con o sin hiperuricemia. En este caso el tratamiento incluye tanto la disolución de los cálculos ya formados como la prevención de la recidiva. La ingestión de líquidos que asegure una diuresis superior a 2 litros al día debe

contribuir también a la alcalinización urinaria (aguas bicarbonatadas), dieta pobre en purinas y proteínas. El tratamiento medicamentoso deberá asegurar la alcalinización manteniendo pH orina entre 6.5-7 y asociando a alopurinol en los casos de hiperuricemia/hiperuricosuria.²⁴

2.1.8 Recomendaciones para el Tratamiento

1. Los cálculos renales de gran tamaño, mayores de 2 cm, requieren por lo general un tratamiento quirúrgico percutáneo inicial y si quedan fragmentos residuales, estos se tratan mediante la litotripsia extra corporal.
2. El tratamiento recomendado para los cálculos renales de oxalato de calcio menores de 2 cm, es la litotripsia extra corporal.
3. La quemolisis oral para los cálculos renales de ácido úrico es una buena alternativa.
4. La cirugía abierta es una alternativa en nuestro medio si no hay disponibilidad de otra tecnología, en caso de fracaso de nefrolitotomía percutánea y de la litotripsia, o en circunstancias especiales cuando existan otras patologías, que obliguen a un mínimo de procedimientos.
5. Los cálculos coraliformes deben tratarse mediante terapia combinada de nefrolitotomía percutánea y litotripsia extra corporal.
6. Los cálculos caliciales menores de 15 mm de diámetro, asintomáticos, en general no requieren obligatoriamente de tratamiento inmediato y pueden ser controlados periódicamente.
7. Tanto la litotripsia extra corporal como la nefrolitotomía percutánea son considerados procedimientos seguros.²⁵

La expulsión va a depender de dos factores.

- A. Tamaño de la Litiasis. Una litiasis menor de 4 mm tendrá un 90% de posibilidades de ser expulsada espontáneamente. Si es mayor 6 mm el porcentaje se reduce al 10%. Entre 4 y 6 mm la probabilidad de expulsión espontánea es del 50%.^{26,27}
- B. Estados del tracto urinario. Si existen patologías que estensen el sistema excretor en sentido distal lógicamente tendremos menos posibilidades para la eliminación espontánea del cálculo. Por otro lado y de forma fisiológica se sabe que existen a lo largo del tracto urinario superior tres localizaciones anatómicas en las que con mayor frecuencia se impactan las litiasis, a saber:²⁸
 - 1) La unión pieloureteral
 - 2) En el uréter iliaco en el cruce con los vasos ilíacos
 - 3) En el uréter yuxtavesical

2.1.9 Hiperoxaluria y Litiasis Renal

En lo referente al riesgo de cristalización de oxalato de calcio debemos destacar las variaciones circadianas encontradas con relación a la diuresis, la sobresaturación urinaria y la presencia de inhibidores urinarios de la cristalización de oxalato de calcio.

- Diuresis. Observamos una diuresis significativamente disminuida en el periodo nocturno respecto a la diuresis diurna, debida posiblemente a un mayor consumo de fluidos durante el periodo de actividad diurna.
- Sobresaturación Urinaria: El producto de actividad de oxalato cálcico y por tanto su sobresaturación urinaria se encuentra significativamente incrementada durante la noche, como consecuencia de las concentraciones considerablemente aumentadas de calcio y oxalato en este periodo. Cosa que explica parcialmente este mayor riesgo nocturno y precipitación de oxalato de calcio.^{29, 30}

El oxalato es un producto metabólico en el ser humano. El oxalato urinario se deriva de la dieta y de la producción metabólica endógena; provienen de los alimentos proporciones de 40 a 50% de éste.

El límite superior normal de excreción de oxalato se considera, en general, de 40 a 50 mg al día. La hiperoxaluria leve (50 a 80 mg/día) suele deberse a ingestión excesiva de alimentos que contienen oxalato en abundancia como espinacas, nueces y chocolate. Además, las dietas bajas en calcio pueden promover la hiperoxaluria, y cuando se utilizan hay menos calcio fijando oxalato en el intestino, lo que incrementa la cantidad disponible de este último para su absorción. La hiperoxaluria intestinal es una consecuencia de enfermedad del intestino delgado que da por resultado mala absorción de grasas. A menudo la excreción de oxalato pasa de 100 mg al día. La hiperoxaluria intestinal puede ser causada por operaciones de derivación yeyunoileal para corregir la obesidad, síndromes de proliferación bacteriana, insuficiencia pancreática o afección extensa del intestino delgado por enfermedad de Crohn. Con la mala absorción de grasa el calcio del intestino delgado se fija en ácidos grasos en vez de hacerlo en oxalato, que queda libre para su absorción en el colon. La descarga de ácidos grasos no absorbidos y de sales biliares en el colon puede lesionar la mucosa de este segmento del intestino e intensificar la absorción de oxalato. Los estados de hiperoxaluria hereditaria son causas raras de hiperoxaluria grave, que a menudo pasa de 150 mg al día. Los pacientes suelen sufrir formación recurrente de cálculos de oxalato de calcio durante la infancia. La hiperoxaluria hereditaria del tipo I se hereda como rasgo autosómico recesivo y se debe a deficiencia de la enzima peroxisómica aminotransferasa de alanina y glicoxilato. La del tipo II se debe a deficiencia de deshidrogenasa D-glicérica. La hiperoxaluria grave de cualquier causa puede producir nefropatía tubulointersticial.

2.1.10 Tratamiento

Los pacientes con hiperoxaluria leve a moderada deben tratarse con una dieta baja en oxalato e ingestión normal de calcio y magnesio, a fin de reducir la absorción de oxalato. La hiperoxaluria de origen intestinal se puede tratar con:

- 1) La resina fijadora de oxalato colestiramina en dosis de 8 a 16 g/día.
- 2) corrección de la mala absorción de grasa.
- 3) dieta baja en grasas y oxalato.

Los suplementos de calcio, administrados con las comidas, precipitan el oxalato en la luz intestinal y suponen un tratamiento alternativo. El tratamiento de la hiperoxaluria hereditaria se basa en una ingestión abundante de líquidos, fosfato neutro y piridoxina (25 a 200 mg/día). El suplemento de citrato puede ayudar. A menudo se produce una insuficiencia renal irreversible, incluso con un tratamiento enérgico, debido a la recidiva litiásica.

El trasplante segmentario de hígado (para corregir el defecto enzimático) junto con el de riñón se ha aplicado con éxito en enfermos con hiperoxaluria hereditaria.³¹

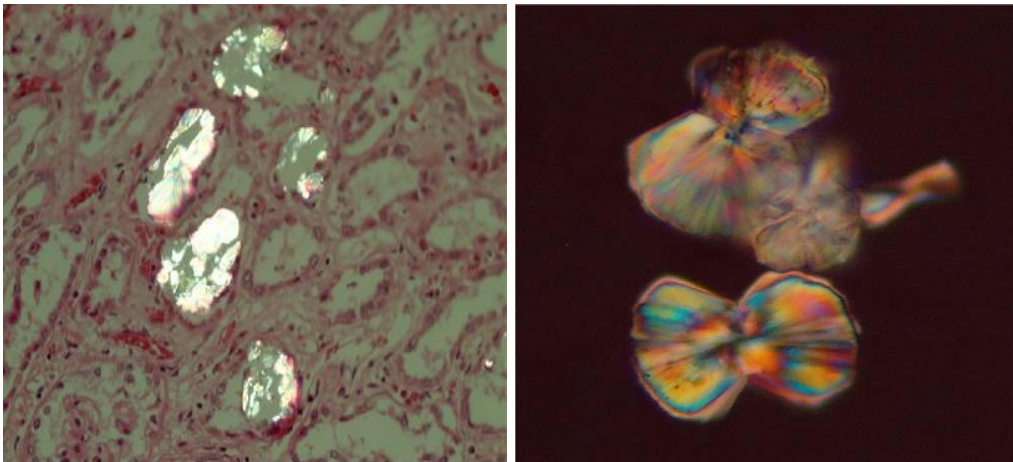


Figura. 2. Cristales de oxalato de calcio

2.2. Generación de cálculos de oxalato a partir de etilenglicol

2.2.1 Intoxicación por Etilenglicol

El etilenglicol es una sustancia líquida sintética que absorbe agua. No tiene olor, pero tiene un sabor dulce.

El etilenglicol se usa para fabricar anticongelante en soluciones para deshelar automóviles, aviones y embarcaciones.

Entre los productos de consumo que contienen etilenglicol están:

- Anticongelantes
- Líquido para frenos hidráulicos
- Tinturas usadas en almohadillas para estampar, bolígrafos y talleres de imprenta

La intoxicación por etilenglicol da origen a la presencia de cristales en la orina lo que puede indicar daño de riñón.³²

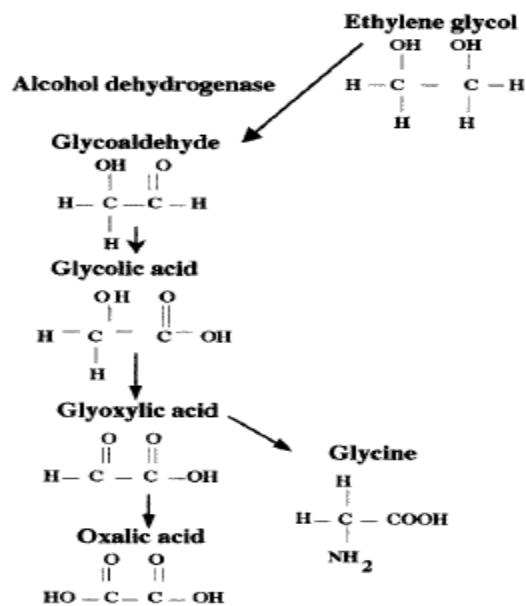


Figura. 3. Metabolismo del Etilenglicol

2.2.2 Mecanismo del Efecto Nocivo

El etilenglicol es tóxico por vía digestiva, y la mayor parte de las intoxicaciones se producen por esa vía, el etilenglicol afecta al cerebro y a los riñones.

2.2.3 Grado de Toxicidad

Por vía digestiva, bastan unos tragos para producir la muerte, aunque incluso en los casos graves puede evitarse el desenlace fatal si se hospitaliza inmediatamente al paciente. Las intoxicaciones graves pueden dar lugar a una lesión cerebral permanente.

2.2.4 Peligros Específicos

También puede ocurrir que se ingiera por error un anticongelante o un líquido que se haya transvasado de su recipiente original a una botella que normalmente contiene una bebida.

2.2.5 Signos y Síntomas

Por ingestión:

Al principio: vómitos; dolor de cabeza; estado de embriaguez aparente, pero sin que el aliento del sujeto huela a alcohol.

A las 24-72 horas: respiración rápida; pulso rápido; tensión arterial baja; edema de pulmón; inconsciencia; convulsiones.

La muerte puede producirse en un plazo de 24 horas. Si el paciente sobrevive más de 24 horas, puede dejar de orinar a consecuencia de la lesión renal.

En los ojos: irritación y enrojecimiento.

Antídoto en las intoxicaciones por etilenglicol: Adminístrele 150 ml (25 ml si se trata de un niño) de cualquier bebida alcohólica fuerte, por ejemplo, ron, whisky, vodka, aguardiente o ginebra. Diluya el alcohol en jugo de frutas y dele a beber pequeños tragos durante 10-15 minutos. Si el paciente muestra signos de falta de azúcar en la sangre (vértigos, confusión, piel pálida y sudorosa, pulso rápido, respiración superficial, somnolencia), adminístrele un jugo de frutas o azúcar.

Además de los efectos mencionados, el etilenglicol puede causar acidosis metabólica grave, desequilibrio electrolítico, trastornos del ritmo cardíaco e insuficiencia renal. El etilenglicol puede medirse en la sangre. Se debe vigilar la respiración, la tensión arterial, el pulso y el equilibrio hidroelectrolítico. Puede ser necesario un tratamiento de sostén, con administración de oxígeno y ventilación asistida, asociadas a, corrección del desequilibrio hidroelectrolítico.

En caso de convulsiones repetidas, administración de diazepam por vía intravenosa, de la siguiente manera (dosis de diazepam):

Adultos: 10-20 mg a razón de 0,5 ml (2,5 mg) en 30 segundos. Si se repitieran las convulsiones, puede reiterarse igual dosis a los 30-60 minutos y seguidamente puede hacerse una perfusión intravenosa. Niños: 0,1 a 0,3 mg/kg/dosis.

Otro antídoto más específico para el tratamiento de las intoxicaciones por etilenglicol, y con menos efectos colaterales, es el fomepizol (4-metilpirazol) que actúa como potente inhibidor de la enzima alcohol deshidrogenasa impidiendo la formación de los metabolitos tóxicos.³³

2.3 Diuréticos

Cada clase de diuréticos influye sobre distintos procesos de transporte localizados en diferentes segmentos de la nefrona tubular. Debido a que estos fármacos procesan acciones relativamente selectivas sobre procesos específicos de transporte y acciones predominantes sobre segmentos concretos, inducen efectos característicos sobre los equilibrios de los electrolitos y ácido básico en los pacientes, por tanto es posible presentar las características generales del mecanismo de acción y de los efectos adversos de cada clase de diuréticos.³⁴

Los diuréticos constituyen un grupo indispensable de medicamentos terapéuticos que se usan para ajustar el volumen, o la composición, de los líquidos corporales en diversas situaciones clínicas, entre ellas hipertensión, insuficiencia cardiaca aguda y crónica, insuficiencia renal aguda y crónica, síndrome nefrótico y cirrosis.

Los diuréticos persisten como piedra angular en la terapéutica del edema o de la sobrecarga de volumen, en particular el debido a insuficiencia cardiaca congestiva, ascitis, insuficiencia renal crónica y síndrome nefrótico. Con respecto a la insuficiencia cardiaca, los diuréticos reducen el edema pulmonar y la congestión venosa, y quizá sea posible tratar la insuficiencia cardiaca leve con dichos fármacos solos. Como quiera que sea, la mayoría de los enfermos requerirán finalmente terapéutica adicional con digitálicos, o con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o con ambos. El suministro periódico de diuréticos en pacientes con cirrosis y ascitis quizá eliminen la necesidad de paracentesis o reduzca el intervalo entre las mismas, lo cual agrega comodidad al individuo y preserva las reservas de proteína que se pierden con dicho procedimiento. Si bien los diuréticos reducen el edema vinculado con insuficiencia renal crónica, tal vez se requieran dosis aumentadas de diuréticos de asa más potentes. En el síndrome nefrótico, la respuesta a los diuréticos a menudo es desalentadora.³⁵

2.3.1 Generalidades del Efecto Diurético

Por definición, los diuréticos son fármacos que aumentan la tasa de flujo urinario; aun así, los que son útiles en clínica también incrementan la tasa de excreción del Sodio (Na^+) natriuresis y de un anión acompañante, por lo general cloro (Cl^-). En el organismo, el Cloruro de sodio (NaCl) es el principal determinante del volumen de líquido extracelular, y casi todas las aplicaciones clínicas de los diuréticos se dirigen a reducir dicho volumen al disminuir el contenido corporal total de NaCl . Un desequilibrio sostenido entre la ingestión del Na^+ en la dieta y la pérdida del Na^+ es incompatible con la vida. Un balance positivo sostenido del Na^+ daría como resultado sobrecarga del volumen con edema pulmonar, y uno negativo sostenido originaría disminución del volumen y colapso cardiovascular.

Si bien el suministro continuo de un diurético causa déficit neto sostenido de Na^+ corporal total, la evolución temporal de la natriuresis es finita puesto que los mecanismos compensadores equilibran la excreción del Na^+ con la captación del mismo, fenómeno conocido como “Freno diurético”. Esos mecanismos compensadores, o de freno, incluyen activación del sistema nervioso simpático y del eje renina – angiotensina – aldosterona, decremento de la presión arterial (que reduce la natriuresis – presión), hipertrofia de las células epiteliales renales, incremento de la expresión de transportadores epiteliales renales y quizás alteraciones de las hormonas natriuréticas como el péptido natriurético auricular.

Históricamente, la clasificación de los diuréticos se basó en un mosaico de ideas como el sitio de acción (diuréticos del asa), eficacia (diuréticos de límite alto), estructura química (diuréticos tiazídicos), similitud de acción con otros diuréticos (diuréticos parecidos a tiazida), efecto sobre la excreción de potasio (diuréticos ahorradores de potasio) y otros. Sin embargo, puesto que el mecanismo de acción de cada una de las principales clases de diuréticos ahora se entiende

Razonablemente bien, en la actualidad es posible un esquema de clasificación basado en el mecanismo de acción.

Los diuréticos no sólo alteran la eliminación del Na^+ , sino que también modifican la manipulación renal de otros cationes (por ejemplo K^+ , H^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), aniones por ejemplo Cl^- , HCO_3^- y H_2PO_4^-) y ácido úrico; además pueden alterar de manera indirecta la hemodinámica renal.³⁶

2.3.2 Clasificación de los Diuréticos

FÁRMACO	VÍA DE ADMIN.	ZONAS DE ACCIÓN PRINCIPALES	EFFECTO PRINCIPAL SOBRE LA REABSORCIÓN DE Na^+
Diuréticos mercuriales (p. ej. meralurida, cloromerodrina)	Intramuscular	Túbulos proximal, distal o ambos, y asa de Henle	Bloqueo isoosmótico de la reabsorción de Na^+ y Cl^-
Inhibidores de la anhidrasa carbónica (p. ej., acetazolamida, diclorfenamida)	Oral	Túbulo proximal	Disminución de la secreción de H^+ y de la reabsorción neta de Na^+ y HCO_3^- mediante la inhibición de la anhidrasa carbónica
Tiazidas (p. ej., clorotiazidas)	Oral	Asa de Henle y túbulo distal en la corteza renal	Inhibición de la reabsorción selectiva de Na^+ y Cl^- en el segmento de dilución distal (alteración de la dilución de la orina)
Diuréticos con efectos de retención del potasio (p. ej., amilorida, triamtereno, espironolactona)	Oral	Túbulo distal, conductos colectores	Amilorida/triamtereno: Inhibición directa de la reabsorción distal de Na^+ y Cl^- , y del intercambio distal de Na^+ por H^+ y K^+ Espironolactona: Antagonismo competitivo de la reabsorción de sodio en intercambio con Cl^- estimulada por la aldosterona, y de la reabsorción de Na^+ en intercambio por H^+ y K^+
Diuréticos de asa (p. ej., furosemida, ácido etacrínico)	Oral o parenteral	Rama ascendente del asa de Henle	Bloqueo selectivo de la reabsorción de Na^+ y Cl^- , inhibición de la capacidad del riñón para diluir o concentrar la orina
Diuréticos osmóticos (p. ej., glicerol, manitol)	Intravenosa	Túbulo proximal, rama ascendente del asa de Henle	La presencia de partículas osmóticas en la nefrona retrasa la reabsorción de H_2O y reduce el transporte neto de Na^+ y Cl^-

Figura. 4. clasificación de los diuréticos

Los diuréticos se clasifican de varias formas (según mecanismo de acción, eficacia, sitio de actuación). La más aceptada actualmente se basa en la eficacia del medicamento para producir el efecto diurético:

2.3.2.1 De Escasa Eficacia

Eliminan menos del 5 % del Na^+ filtrado. En el túbulo contorneado proximal actúan los diuréticos osmóticos, inhibidores de la anhidrasa carbónica. En el túbulo contorneado distal (ahorradores de K^+). A nivel de túbulo colector actúa la espironolactona (antagonista de la aldosterona).

2.3.2.1.1 Diuréticos Osmóticos

Son compuestos que se filtran libremente en el glomérulo, sufren resorción limitada por los túbulos renales y son relativamente inertes desde el punto de vista farmacológico. Se proporcionan en dosis cuya magnitud basta para incrementar mucho la osmolalidad del plasma y líquido tubular (Glicerina, Isosorbide, Manitol, Urea). Los diuréticos osmóticos aumentan la excreción urinaria de casi todos los electrólitos, entre ellos el Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HOC_3^- , y fosfato.

2.3.2.1.2 Inhibidores de la Anhidrasa Carbónica

La Acetazolamida es el prototipo de fármaco que ha tenido utilidad limitada como diurético, pero que ha sido importante en la creación de los conceptos fundamentales de fisiología y farmacología renales. Se relacionan con aumento rápido de la excreción urinaria de HCO_3^- hasta aproximadamente 35% de la carga filtrada. Esto, junto con la inhibición de la secreción titulable de ácido y amoníaco en el sistema de conductos colectores, incrementa el pH urinario hasta alrededor de 8 y genera aparición de acidosis metabólica (Acetazolamida, Diclorfenamida, Metazolamida).

2.3.2.1.3 Diuréticos Ahorradores de Potasio

El triamtereno y amilorida son los únicos fármacos de esta clase para uso clínico. Ambos causan incrementos pequeños de la excreción de NaCl y por lo general se usan por sus efectos anticaliuréticos para compensar los efectos de otros diuréticos que incrementan la excreción de K^+ .

Puesto que la parte final de los túbulos distales y los conductos colectores tienen capacidad limitada para resorber solutos, el bloqueo de los canales del Na^+ en esta parte de la nefrona sólo da como resultado incremento leve de la tasa de excreción de $\text{Na}^+ \text{Cl}^-$ (alrededor de 2% de la carga filtrada). El bloqueo de los canales del Na^+ hiperpolariza la membrana luminal, lo que reduce el voltaje transepitelial negativo en la luz. Dado que la diferencia de potencial negativa en la luz normalmente se opone a la resorción de cationes y facilita la secreción de los mismos, la atenuación del voltaje negativo en la luz disminuye las tasas de excreción de K^+ , H^+ , Ca^{2+} , y Mg^{2+} . La contracción de volumen puede incrementar la resorción de ácido úrico en los túbulos proximales en consecuencia,

proporcionar de modo permanente amilorida y triamtereno disminuye la excreción de ácido úrico³⁵

2.3.2.1.4 Antagonistas de los Receptores de Mineralocorticoides

Las células epiteliales de la parte final de los túbulos distales y de los conductos colectores contienen receptores de mineralocorticoides citoplásmicos que muestran gran afinidad por la aldosterona. Este receptor es un miembro de la súper familia de receptores de hormonas esteroideas y tiroideas, vitamina D y retinoides. La aldosterona entra en las células epiteliales desde la membrana baso lateral y se une a receptores de mineralocorticoides; el complejo de estos últimos y la aldosterona sufren translocación hacia el núcleo, donde se une a secuencias específicas DNA y, así, regula la expresión de múltiples productos de genes llamados proteínas inducidas por aldosterona.³⁵

Los mineralocorticoides causan retención de sal y agua e incrementan la excreción de K^+ y H^+ al unirse a receptores de mineralocorticoides específicos. Kagawa y colaboradores observaron que algunas espirolactonas bloquean los efectos de los mineralocorticoides, y este dato condujo a la síntesis de antagonistas específicos de los receptores de mineralocorticoides.³⁶

2.3.2.2 De Moderada Eficacia

Eliminan 5 al 10 % del Na^+ filtrado. En el túbulo contorneado distal actúan las tiazidas.

2.3.2.2.1 Diuréticos Tiazida y Parecidos a Tiazida

Las benzotiadiazidas se sintetizaron en un esfuerzo por aumentar la potencia de los inhibidores de la anhidrasa carbónica. De cualquier modo, al contrario de estos últimos, incrementan de modo primario la excreción de carbonato monoácido de sodio ($NaHCO_3$), se encontró que las benzotiadiazidas incrementan de modo predominante la excreción de $NaCl$ ³⁷, efecto que se demostró es independiente de la inhibición de la anhidrasa carbónica. La clorotiazida fue el primer desafío para los diuréticos mercuriales, una clase hoy obsoleta de compuestos organometálicos que dominaron más de 30 años el tratamiento con diuréticos.

Estudios con micropunción³⁸ y micropercusión in situ³⁹ indican que los diuréticos tiazida causan inhibición del transporte de $NaCl$ en los túbulos contorneados distales.

Además, la corteza renal posee un receptor de alta afinidad por los diuréticos tiazida⁴⁰, y la unión de tiazida se localiza en dichos túbulos⁴¹. En la actualidad se acepta que el sitio primario de acción de los diuréticos tiazidas son los túbulos contorneados distales, en tanto los túbulos proximales pueden constituir un sitio de

acción secundario. (Bendroflumetiazida, Clorotiazida, Hidroclorotiazidas, Hidroflumetiazida, Metilclotiazida, Politiazida, Triclormetiazida, Clortalidona, Indapamida, Metolazona, Quinetazona).

2.3.2.3 De Alta Eficacia

Eliminan >15 % del sodio filtrado. En el asa ascendente gruesa de Henle actúan la furosemida, el ácido etacrínico

2.3.2.3.1 Diuréticos de Asa; Diuréticos de Límite Alto

Los inhibidores del simporte de Na^+ , K^+ , 2Cl^- constituyen un grupo de diuréticos que tiene en común bloquear el simportador de Na^+ , K^+ , 2Cl^- en la rama ascendente gruesa del asa de Henle; por ende también se denominan diuréticos de asa (o con acción en asa de Henle). Si bien los túbulos proximales resorben alrededor de 65% del ultrafiltrado de Na^+ , los diuréticos que actúan sólo en dichos túbulos poseen eficacia limitada por que la rama ascendente gruesa tiene gran capacidad de resorción y resorbe la mayor parte del líquido que se rechaza desde los túbulos proximales. Los diuréticos que actúan de modo predominante en sitios que se hallan después de la rama ascendente gruesa también poseen eficacia limitada, porque un pequeño porcentaje de la carga filtrada del Na^+ alcanza alguna vez esos sitios más distales.

En contraste, los inhibidores del simporte Na^+ , K^+ , 2Cl^- son sumamente eficaces; por ello a menudo se denominan diuréticos de límite alto. La eficacia de los inhibidores del simporte de Na^+ , K^+ , 2Cl^- en la rama ascendente gruesa de asa de Henle se debe a una combinación de dos factores: 1) bajo situaciones normales, alrededor del 25% de la carga de solutos del Na^+ filtrada se resorbe en la rama ascendente gruesa, y 2) los segmentos de nefrona posteriores a esta última rama no poseen la capacidad de resorción para rescatar el flujo de líquido rechazado que sale de dicha rama.

Los inhibidores del simporte de Na^+ , K^+ , 2Cl^- actúan de manera primaria en la rama ascendente gruesa. La micropunción del túbulo contorneado distal muestra que los diuréticos de asa aumentan la liberación de solutos hacia afuera del asa de Henle⁴². Así mismo, la micropercusión *in situ* de esta última⁴³ y la microperfusión *in vitro* de la rama ascendente gruesa cortical⁴⁴ indican inhibición del transporte mediante concentraciones bajas de furosemida en el líquido de perfusión. Algunos inhibidores del simporte de Na^+ , K^+ , 2Cl^- pueden tener otros efectos en los túbulos proximales; con todo, no está clara la importancia de tales efectos. (Furosemida, Bumetanida, Ácido Etacrínico, Torsemida, Azosemida, Musolimida, Piretanida, Tripamida).

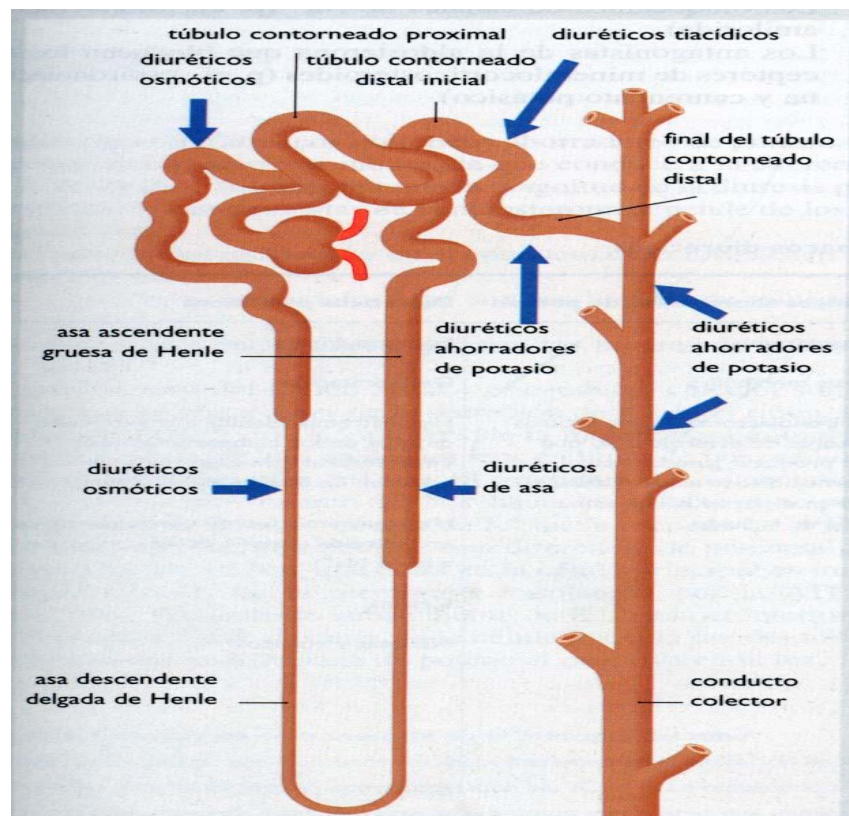


Figura. 5. Sitio de acción de los diuréticos

2.3.3 Aplicaciones Terapéuticas de los Diuréticos

Los diuréticos persisten como piedra angular en la terapéutica del edema o de la sobrecarga de volumen, en particular el debido a insuficiencia cardíaca congestiva, ascitis, insuficiencia renal crónica y síndrome Nefrotico. Con respecto a la insuficiencia cardíaca, los diuréticos, reducen el edema pulmonar y la congestión venosa, y quizás sea posible tratar la insuficiencia cardíaca leve, con dichos fármacos solos. Como quiera que sea, la mayoría de los enfermos requerirá finalmente terapéutica adicional con digitálicos, con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, o con ambos. El suministro periódico de diuréticos en pacientes con cirrosis y ascitis quizás elimine la necesidad de paracentesis o reduzca el intervalo entre las mismas, lo cual agrega comodidad al individuo y preserva las reservas de proteína que se pierden con dicho procedimiento. Si bien los diuréticos reducen el edema vinculado con insuficiencia renal crónica, tal vez

se requiera dosis aumentada de diuréticos de asa más potente. En el síndrome nefrótico, la respuesta a los diuréticos a menudo es desalentadora.

El hecho de si un paciente debe recibir diuréticos y, de ser así, que régimen terapéutico se usará (es decir, tipo de diurético, vía de administración y rapidez de movilización de líquido de edema) depende de la situación clínica. El edema pulmonar copioso en sujetos con insuficiencia, aguda del epicardio izquierdo es una urgencia médica que exige tratamiento rápido y enérgico, que incluye aplicación intravenosa de diurético de asa. En esta situación es inapropiado utilizar diuréticos por vía oral o aquellos que son menos eficaces. Por otro lado, la congestión pulmonar y venosa leve relacionada con insuficiencia cardíaca crónica se trata mejor con un diurético de asa por vía oral, y la dosificación debe titularse con sumo cuidado para mejorar al máximo la proporción entre riesgo y beneficio.

La resistencia a los diuréticos se refiere al edema que es o se ha tornado resistente a un diurético dado. Si aparece resistencia a un compuesto menos útil, entonces debe sustituirse por uno más eficaz, por ejemplo, una tiazida por un diurético de asa. Sin embargo, la resistencia a estos últimos se observan con cierta frecuencia y puede deberse a varias causas.⁴⁵

En la insuficiencia renal crónica, una reducción del flujo sanguíneo renal disminuye la liberación de diuréticos hacia riñones y los ácidos orgánicos endógenos acumulados compiten con los diuréticos de asa por el transporte en los túbulos proximales. En consecuencia, la concentración de diuréticos en el sitio activo en la luz tubular está disminuida. En el síndrome nefrótico, la proteína urinaria se une a los diuréticos y, así, limita la respuesta. En cirrosis hepática o insuficiencia cardíaca, el riñón puede mostrar una menor reactividad a los diuréticos por que aumentó la resorción de sodio en la porción proximal o del túbulo, con lo cual hay un menor aporte de dicho ion a los segmentos distales de la nefrona.⁴⁶

2.4 Planta (*Manicaria saccifera*)

El uso de los medicamentos con base de en plantas medicinales o fitoterapia recientemente ha ganado popularidad en Europa y los Estados Unidos. Sin embargo, el mecanismo exacto de los efectos preventivos de estos productos está aún lejos de estar claramente establecida, siendo su conocimiento necesario para aplicar con éxito estas terapias para evitar la formación de cálculos.⁴⁷

Las Arecáceas, son una familia de plantas monocotiledóneas perteneciente al orden Arecales. Esta importante familia es fácil de reconocer. Normalmente se las conoce como palmeras o palmas, distribuidas en regiones cálidas a templadas, son leñosas (con crecimiento primario del tronco), a pesar de ser monocotiledóneas muchas de ellas son arborescentes, con las grandes hojas en corona al final del tallo, generalmente pinnadas (pinnatisectas) o palmadas

(palmatisectas). Sus flores poseen 3 sépalos y 3 pétalos, y se disponen en inflorescencias provistas de una o varias espatas. El fruto es carnoso: una baya o una drupa.⁴⁸

Es una familia estrictamente pantropical, sin embargo tiene representantes en zonas templadas (por ejemplo *Chamaerops*), sobreviven en ambientes desde el desierto (*Phoenix spp.*), bosques tropicales hasta manglares (*Nypa fruticans*), y desde el nivel del mar (*Cocos nucifera*) hasta altitudes muy elevadas (*Trachycarpus*).^{49, 50.}

Colombia cuenta con 209 especies agrupadas en 44 géneros, por lo cual es considerado el país más rico en palmas del continente americano, además cuenta con el mayor número de endemismos con un total de 33 especies que equivalen al 15% del total de palmas del territorio; desafortunadamente Colombia también es el país con el mayor número de palmas amenazadas en América con 30 especies que se ubican en alguna categoría de peligro de las cuales 17 son endémicas). Los géneros más representativos son: *Astrocaryum*, *Bactris*, *Chamaedorea*, *Desmoncus*, *Euterpe*, *Geonoma*, *Mauritia*, *Oenocarpus* y *Syagrus*.⁵¹

Manicaria es un género monotípico de planta perteneciente a la familia de las palmeras (Arecaceae) y el único miembro de la Subtribu Manicariinae: *Manicaria saccifera* es también su única especie.⁵²

2.4.1 Nombre Científico

Manicaria saccifera

Sinonimia:

- *Pilophora saccifera*.⁵³
- *Pilophora testicularis*.⁵⁴
- *Manicaria plukenetii*.⁵⁵
- *Manicaria martiana*.⁵⁶
- *Manicaria atricha*.⁵⁷

Clasificación científica	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Arecales
Familia:	Areceaceae
Subfamilia:	Arecoideae
Tribu:	Areceae
Subtribu:	Manicariinae
Género:	<i>Manicaria</i>

Figura.6. Clasificación científica

2.4.2 Nombres vulgares

“Cabecinegro”, “Napa”, “Jícara”, “Jicra”, “Yajuji”, “Mavaco”, “Temiche” (Venezuela), “Palma Real” (Costa rica), “Tukira” (Embera), “k.ed” (Waudnana).

2.4.3 Descripción Botánica

La napa o Cabecinegro (*Manicaria saccifera*) es una palma solitaria o cespitosa con estípite de 5 a 10 m de altura y diámetro de 15 a 30 cm. La corona está formada por 5 a 28 hojas semierectas con pecíolo de 1,2 a 1,8 m y raquis de 2,3 a 7 m de longitud y 40 foliolos a cada lado. La inflorescencia es péndula con un pecíolo hasta de 1 m de largo, envuelta en brácteas. Fruto globoso de 5 a 6 cm de diámetro, de superficie formada por protuberancias leñosas piramidales y con una a tres semillas de 3 a 4 cm de diámetro.

La jícara es una palma que alcanza más o menos 3 m de longitud con un diámetro de hasta 1 m, con hojas pinnadas, parafinadas de unos 3 m de largo, con foliolos más anchos unos 10 cm y mas separados que los de las otras palmas, el envés un poco blancuzco, con varias nervaduras muy pronunciadas; presenta inflorescencia en espádice, envuelta en una membrana protectora muy fina y resistente de color café llamada Cabecinegro (Fig. 1). Cuando ya se han formado los frutos la membrana se rompe y el racimo queda libre; los frutos son cápsulas de un solo lóculo, hasta triloculares, con epidermis apiñada, dura, y leñosa, su estructura interna es similar a *Cocos nucifera*s, a diferencia de que la pulpa es muy dura y difícil de consumir (Fig. 2 a, b y c).⁵²



Figura. 7. Fruto y Palma de *Manicaria saccifera*



Figura. 8. Fruto de la *Manicaria saccifera*

2.4.4 Distribución

Es originaria de Trinidad, Centroamérica y América del Sur. Se encuentra desde Guatemala hasta Brasil en zonas bajas inundables, relativamente cerca de las costas o de los ríos.⁵²

La *Manicaria saccifera* es una especie obligación de pantano y como la mayoría de las otras palmas, prospera en condiciones húmedas de los bosques tropicales de la tierra baja. En los ambientes húmedos de las zonas tropicales hay un aumento en la abundancia de palmas. Siguiendo esto, los bosques de la tierra baja tienen generalmente una densidad más alta de palmas que bosques de la

altiplanicie, y las palmas prosperan mejor en suelos mal drenados, que en suelos secos o bien-drenados.⁵⁸

2.4.5 Usos Etnobotánicos

Las hojas se usan para techar las construcciones, garantizando resistencia y duración. Las brácteas pedunculares sirven como fibra para cestería y elaboración de diferentes objetos artesanales.⁵²

Muchas diversas especies de palmas han sido útiles a los seres humanos ahora y a través de la historia. Las palmas de todos los tipos se pueden utilizar para la paja de las casas, madera para apoyar las viviendas, cuerdas, arcos, los ganchos, los utensilios, los instrumentos musicales, y varias clases de alimento y de bebidas medicinales.⁵⁹

Múltiples propiedades medicinales de la *Manicaria saccifera* han sido atribuidas por la población, pero su empleo como diurético y antinefrolitiásico es el más difundido y aceptado. Se ha hecho referencia al efecto resultante de tomar por vía oral 10 ml del contenido líquido que se encuentra dentro de los frutos de la planta cada 24 horas hasta que los síntomas desaparezcan.

Por medio de mediciones en la cantidad de orina de sujetos usuarios de la planta se ha descrito que transcurrido un tiempo posterior a la administración de ésta, las cifras de diuresis aumentan. Además, reportes anecdóticos hablan de lubricación renal y prevención en la formación de cálculos renales cuando se ingiere el contenido acuoso del fruto de la planta.

2.4.6 Estructura Química de la *Manicaria saccifera* y Plantas Relacionadas

Estas plantas favorecen de forma suave la diuresis, son ligeramente expectorantes, contienen una variedad de ácidos grasos y fitosteroles, en esos ácidos grasos están incluidos el ácido caprico, caprilico, caproico, laurico, palmítico y ácido oleico con sus esteres etílicos. Los principales fitosteroles son: Beta-fitosterol, Stig-mastosterol, Cycloartenol, Estigmasterol y 24-Metil-Cycloartenol. Los fitosteroles mayores son: beta-sitosterol, estigmasterol, cicloartenol, lupeol, lupenona y 24- metil-ciclo-artenol.

El extracto soluble de grasa inhibe la conversión de testosterona (DHT) la cual se cree que es responsable del crecimiento de la próstata.⁶⁰

Se utiliza en varias formas de la medicina tradicional. Los aborígenes estadounidenses utilizan la fruta para alimentos y en el tratamiento de una variedad de problemas urinarios y del sistema reproductivo, Los mayas lo bebieron

como tónico. También es un expectorante y controla la irritación de los tejidos mucosos.

Ha resultado útil a la exposición de sustancias irritativas, tos bronquial crónica, tosferina, laringitis, aguda y crónica, catarro, asma, laringitis tuberculosa y la tos de tisis pulmonalis. En los órganos digestivos actúa para mejorar el apetito, la digestión y la asimilación. Sin embargo, sus efectos más pronunciados parecen ser los ejercidos en el tracto genital neuropsíquico de masculinos y femeninos y a todos los órganos interesados en la reproducción. Se dice que amplía órganos mal formados, como los senos, ovarios y testículos, y reduce la hipertrofia de la próstata.⁶¹ El extracto de Saw Palmetto es la preparación de hierbas más popular adoptada para la hiperplasia prostática benigna.⁶² Estudios *in vitro* y modelos animales sugieren posible actividad antitumoral, potencial para su uso en el tratamiento del cáncer ⁶³. El extracto de Saw Palmetto se ha sugerido como tratamiento potencial para la calvicie masculina.⁶⁴ La evidencia sugiere que la Saw Palmetto mejora los síntomas urinarios y medidas de flujo, y se asocia con menos efectos adversos.⁶⁵

Actualmente en la literatura científica no se encuentran estudios que determinen la estructura química de la planta. Finalmente se conoce que las plantas que pertenecen a la familia Arecaceae como la *Manicaria Saccifera* presenta moléculas de Ácidos grasos, esteroides, y esteroides tipo: beta-sitosterol, cicloartenol, estigmasterol, campesterol trazas de aceite esencial, alcoholes alifáticos de cadena larga.⁶⁶

Algunas personas usan la palma enana americana para los resfriados y la tos, para el dolor de garganta, el asma, la bronquitis crónica, el síndrome del dolor pélvico crónico, y para los dolores de cabeza de migraña. Se usa también para aumentar el flujo de orina (como un diurético), para promover la relajación (como un sedante), y para mejorar el apetito sexual (como un afrodisíaco).

También se le atribuyen propiedades antilitiásicas renales. Estudios recientes han demostrado que los granos de Saw Palmetto actúan satisfactoriamente en el tratamiento de la Hiperplasia Prostática Benigna.^{67,68,69,70}

3. PROPOSITO

A través de este proyecto se evaluara el efecto diurético y antinefrolitiásico de la *Manicaria saccifera* utilizando un modelo de experimentación animal. También se evaluará la toxicidad aguda y subaguda.

4. JUSTIFICACION

La nefrolitiasis es una patología de alta prevalencia, afecta entre el 3-4 % de la población general, la mayoría entre 15 y 45 años (que se considera la edad de mayor productividad laboral). Su tasa de recurrencia es alta, siendo de gran importancia instaurar una terapia preventiva más que curativa. Entre los tratamientos usados actualmente se encuentran: tratamientos quirúrgicos (litotricia extracorpórea, cirugía abierta) y el tratamiento farmacológico. Los primeros son muy costosos, además presentan riesgo de falla renal aguda, disminución de la función renal y aumento en la recurrencia del cálculo. Aunque el tratamiento farmacológico es una estrategia viable en algunos estudios randomizados, éste no es efectivo en todos los pacientes y muchos medicamentos poseen efectos adversos que comprometen su uso a largo plazo.

Los diuréticos se utilizan en varias enfermedades cardiovasculares, principalmente la hipertensión arterial, afecciones renales como en el síndrome Nefrotico, en las alteraciones hepáticas que presentan ascitis y otras que producen alteraciones en los compartimentos líquidos del organismo. No obstante, hay pocos estudios que validen esta acción antinefrolitiásico y diurética en las diferentes plantas.

A pesar del progreso considerable en la terapia médica, no hay ningún fármaco satisfactorio para tratar estas patologías. Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo buscar un tratamiento alternativo mediante el uso de *Manicaria saccifera*, La cual es usada popularmente en Colombia, predominantemente en el Pacífico colombiano; sin embargo, en la literatura no se encuentran estudios sistemáticos que confirmen las múltiples propiedades que se le atribuyen a esta planta. Con este proyecto se pretende validar a través de modelos experimentales los efectos diuréticos y antinefrolitiásico que tiene esta planta, además de determinar su toxicidad aguda y subaguda.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Comúnmente se les da un uso indiscriminado a las plantas medicinales sin conocimiento de sus efectos y de su toxicidad

Para el desarrollo de este proyecto se han planteado las siguientes preguntas:

- ¿Presenta efecto antinefrolitiásico la *Manicaria saccifera*?
- ¿Presenta efecto diurético la *Manicaria saccifera*?
- ¿Presenta efecto toxico agudo y subagudo la *Manicaria saccifera*?

6. HIPOTESIS

- La administración de *Manicaria saccifera* previene la formación de cálculos renales por oxalato de calcio en un modelo de nefrolitiasis inducida por etilenglicol
- La administración aguda de *Manicaria saccifera* aumenta el volumen urinario y la excreción de electrolitos, en ratas con el método de Lipschitz.

7. OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto antinefrolitiásico y diurético de la especie *Manicaria saccifera* utilizando un modelo de experimentación en ratas

7.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la toxicidad aguda y subaguda de la *Manicaria saccifera*
- Evaluar la excreción urinaria y concentración de electrolitos urinarios con la administración aguda del fruto de la *Manicaria saccifera*
- Determinar la concentración sérica de electrolitos y pruebas de función renal con la admón. de *Manicaria saccifera* en ratas con nefrolitiasis inducida por etilenglicol (EG).
- Medir por espectrofotometría de flama los niveles de Ca^{++} posterior a la administración de *Manicaria saccifera* en ratas con nefrolitiasis inducida por EG.
- Determinar por histopatología los depósitos de cristales de oxalato de calcio en un riñón, posterior a la administración de *Manicaria saccifera* en ratas con nefrolitiasis inducida por EG.

8. MATERIALES

8.1 Obtención de la Planta y Almacenamiento

La *Manicaria saccifera* fue recolectada en una sola ocasión, en la cordillera occidental del Valle del Cauca a 50 metros sobre el nivel del mar, se siguieron las recomendaciones para la recolección y procesamiento de plantas medicinales del CYTED. Se guardaron muestras de raíces, tallos, hojas y flores para su clasificación taxonómica por parte de un especialista en biología botánica de la Universidad del Valle. El material recolectado fue desecado a 35°C en un horno de flujo laminar durante 48 horas y almacenado en envases cerrados al vacío en un sitio seco y oscuro.

8.2 Obtención de la Muestra Experimental

El contenido acuoso del fruto de la planta fue utilizado en su forma original, sin someterlo a ningún proceso químico. Se congelo hasta su uso.

8.3 Animales de Experimentación

Para el modelo del efecto diurético se utilizaron ratas Wistar hembras con peso de 250 ± 20 g.; para el modelo de nefrolitiasis inducida por etilenglicol ratas Wistar hembras de 250 ± 20 g.; para la toxicidad aguda ratas Wistar hembras de 250 ± 20 g-; para la toxicidad subaguda ratas Wistar hembras de 250 ± 20 g. Todos los animales utilizados tenían una edad de $8 \pm 0,5$ semanas.

Los animales se mantuvieron en el Bioterio de la Universidad del Valle bajo ciclo luz-día de 12 horas, temperatura 22-26°C, en jaulas metabólicas, con seis animales por cada jaula. La alimentación consistió en agua y comida (Purina ®) a libre demanda.

8.4 Registro del efecto antinefrolitiásico con etilenglicol

El Etilenglicol es un alcohol di hídrico ($\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$), usado ampliamente como solvente orgánico industrial, anticongelante, para la fabricación de batería de carro. Se caracteriza por ser inoloro, incoloro, hidrosoluble.

Respecto a su farmacocinética, se absorbe por tracto gastrointestinal. Alcanza su concentración máxima sérica en 1 a 4 horas, con una vida media de 3 a 8 horas. Presenta mínima absorción por piel o pulmón.

8.5 Registro del Efecto Diurético

La acción diurética fue evaluada según el método de *Lipschitz* y otros⁷¹ en 1943, donde se registró el volumen de orina por hora y total a la sexta hora, así como las concentraciones de sodio (Na^+) y Potasio (K^+) excretados en el volumen final

Los animales se mantuvieron en el Bioterio de la Universidad del Valle en las siguientes condiciones: ciclo luz oscuridad de 12 horas; temperatura, 22° a 26°C, seis animales en cada jaula.

Los animales se mantuvieron sin comida y sin agua en las 18 horas previas al inicio del experimento y durante las seis horas de recolección de la orina. Se hizo una administración oral del contenido acuoso de la planta se utilizó desde su forma original, sin someterlo a ningún proceso químico. Se congeló desde la obtención en una sola muestra hasta su uso.

Los animales fueron colocados individualmente en jaulas metabólicas para coleccionar la orina, donde se les registró la acción diurética evaluada por método de *Lipschitz* y otros.

El cálculo de la acción diurética de los medicamentos en cada grupo se midió por:

- $\text{UVE} = (\text{volumen recolectado} / \text{volumen administrado}) \times 100$

Para el estudio del contenido acuoso se formaron grupos de animales cada uno distribuidos aleatoriamente de la siguiente forma:

- Grupo I: Control negativo administrado con solución de cloruro de sodio al 0,9 %
- Grupo II: Administrados con contenido acuoso de la planta a dosis de 10 ml/Kg. de peso corporal, respectivamente.
- Grupo III: Tratado con Furosemida en dosis de 10 mg/Kg. de peso

En todos los casos las sustancias de ensayo fueron administradas por la vía oral mediante cánula intragástrica a razón de 10 ml/Kg. de peso corporal. Las

disoluciones se prepararon en cloruro de sodio al 0,9 % para igualar estos volúmenes.

- (Primer grupo) recibió únicamente solución salina normal (sodio =154 m mol /L, cloro =154 m mol/L);
- (Segundo grupo) recibió furosemida (10 mg/Kg.) disuelta en solución salina normal;
- (Tercer grupo) recibieron, *Manicaria Saccifera* al 100% respectivamente

8.6 Determinación de la Dosis Letal $_{50}$ (DL $_{50}$) en Ratas

La determinación de la DL 50 se realizó de acuerdo a la guía de la **OECD** (Organization for Economic Cooperation and Development) para toxicidad aguda No. 42: *Up and Down Procedure*.⁷² Se tomaron 10 ratas Wistar, 250 ± 20 g de peso, distribuidos homogéneamente al azar en un grupo de cinco animales cada uno. A cada grupo se le administró una dosis de contenido acuoso de *Manicaria saccifera* al 100 %; en el primer grupo el contenido acuoso se administró por vía oral y en el otro grupo se administró por vía Intraperitoneal. Las ratas se observaron durante 14 días, practicándoseles previamente el test de Irwin y cuantificando el número de ratas vivas/muertas.



Figura. 9. Test de Irwin

9. MÉTODO

9.1 Toxicidad Aguda

Se tomaron 20 ratas Wistar Hembras con masa corporal de 250 ± 20 g y edad de $8 \pm 0,5$ semanas. Se mantuvieron en salas climatizadas con $T 20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa entre 30 y 70% y ciclos luz/oscuridad de 12/12 horas. La dieta consistió en un alimento comercia Purina® y agua de calidad apta para consumo humano, a libre demanda. Los animales fueron sometidos a cuarentena e inspección clínica diaria durante 5 días antes del inicio de experimento. Se dejaron en ayuno previo de 16 a 18 horas⁷³.

Tratamiento 1: Los animales se dividieron en 2 grupos de 5 ratas cada uno se les administro un tratamiento con contenido acuoso de *Manicaria saccifera*, a un volumen de 10 ml/Kg. Al grupo 1 se le administro vía oral y al grupo 2 se le administro vía Intraperitoneal.

Tratamiento 2 Control: Los animales se dividieron en 2 grupos de 5 ratas cada uno se les administro un tratamiento de solución salina al 0.9% con un volumen de 10 ml/Kg. Al grupo 1 se le administro vía oral y al grupo 2 se le administro vía Intraperitoneal.

Se realizó una observación individual por 14 días, con determinación de mortalidad y tiempo de ocurrencia de la misma, signos y síntomas de toxicidad diario, control de peso en los días 1,7 y 14. Al final del experimento se realizó sacrificio de los animales para estudio anatomopatológico macroscópico.

9.2 Toxicidad Subaguda

Se tomo 10 ratas Wistar hembras, con un peso de 250 ± 20 g y edad de $8 \pm 0,5$ semanas. Se mantuvieron en salas climatizadas con $T 22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclos luz/oscuridad de 12/12 horas. La dieta consistió en un alimento comercial llamado Purina® y agua de calidad apta para consumo humano, la cual se proporciono *Ad libitum*. Los animales fueron sometidos a cuarentena e inspección clínica diaria durante 5 días antes del inicio de experimento. Se les coloco en ayuno previo de 16 a 18 horas⁷³.

Las ratas se dividieron en 2 grupos, cada uno de 5 animales. Se les proporciono el tratamiento a un volumen de 10 ml/Kg de la siguiente forma:

Grupo 1: n=5 contenido acuoso de *M. saccifera*

Grupo 2: n=5 solución salina al 0.9%

El tratamiento se administro mediante cánula intragástrica. Se hizo una observación individual por 28 días, cuantificándose semanalmente el peso, comida y agua ingeridos.

Al día 29 del período de experimentación se tomaron muestras sanguíneas para: Cuadro Hemático (Hemoglobina (Hb), Hematocrito (Hto), Recuento de Glóbulos Blancos (GB) y diferencial, Recuento de Glóbulos Rojos (GR)); Bioquímica Sanguínea (Glucosa, Alaninaaminotransferasa (ALAT), Aspartatoaminotransferasa (ASAT), Bilirrubina total, Bilirrubina directa Colesterol, Triglicéridos (TG), Electrolitos, Urea, Creatinina, Proteínas totales, Albúmina).

Posteriormente se sacrificaron los animales para peso de órganos en una balanza de precisión (corazón, riñón, hígado, bazo, pulmones, páncreas, suprarrenales, ovarios). Se realizo un estudio histopatológico, previa tinción de las muestras con hematoxilina-eosina.

9.3 Evaluación de la Actividad Diurética

Para este modelo experimental se utilizaron 9 ratas Wistar hembras con masa corporal de 250 ± 20 g. Se mantienen en condiciones normales de humedad, temperatura (25 ± 1 °C) y luz (ciclo 12 h día: 12 h noche). Teniendo libre acceso a la alimentación. Se les privo de agua 18 h antes del experimento y durante las 6 horas de recolección de orina.

Los animales se dividieron en 3 grupos de 3 ratas cada uno y se les administro un tratamiento con volumen constante de 10 ml/ Kg de la siguiente forma:

G1: S/S al 0.9%

G2: Furosemida 10 mg/Kg

G3: Extracto de *M. saccifera* 100 %

Todos los tratamientos se administraron por vía intragástrica.

Posteriormente se recolecto la orina durante 6 horas en jaulas metabólicas individuales, midiéndose la excreción volumétrica de orina excretada con intervalos de 1 hora, se utilizo la siguiente fórmula:

$$UVE = (\text{volumen recolectado} / \text{volumen administrado}) \times 100$$

Por último se midió el pH, electrolitos (Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺ y P) en orina.



Figura. 10. Jaulas Metabólica

9.4 Evaluación de la Actividad Antinefrolitiásico

En este modelo experimental se utilizaron 36 Ratas Wistar con peso de 250 ± 20 g, las cuales se aclimataron por 3 días en jaulas metabólicas antes de iniciar el experimento. Se les proporciono comida y agua *ad libitum*, bajo ciclo de 12 h luz/oscuridad y a una temperatura de 22 °C.

Las 36 ratas se dividieron en 6 grupos, cada uno con 6 animales. Cada grupo recibió diferentes protocolos de tratamiento durante 10 días, de la siguiente forma:

G1: Control Negativo. Acceso *Ad libitum* a comida y agua + 10 ml / Kg S/S

G2: Acceso *Ad libitum* a comida y agua que contiene 0.75% [v/v] de E.G y 2% [p/v] de C.A + 10 ml / kg de extracto *M. saccifera* [100%]

G3: Acceso *Ad libitum* a comida y agua que contiene 0.75% [v/v] de E.G y 2% [p/v] de C.A + 10 ml / kg de extracto *M. saccifera* [75%]

G4: Acceso *Ad libitum* a comida y agua que contiene 0.75% [v/v] de E.G y 2% [p/v] de C.A + 10 ml / Kg contenido acuoso *M. saccifera* [50%]

G5: Control positivo. Acceso *Ad libitum* a comida y agua que contiene 0.75% [v/v] de E.G y 2% [p/v] de C.A + 10 ml / Kg S/S

G6: Contenido Acuoso [100%] 10 ml / Kg

*Todos los tratamientos se administraron por vía intragástrica

S/S: Solución Salina, EG: etilenglicol, CA: cloruro de amonio

Después del 10 día del período experimental las ratas fueron anestesiadas, y se les tomo una muestra sanguínea. Esta se centrifugo a $10000 \times g$ por 10 min. En el suero obtenido se analizaron los niveles de calcio, fósforo, urea y creatinina, usando un sistema automatizado. Posteriormente se sacrificaron las ratas por

dislocación cervical, y se abrió el abdomen extrayendo ambos riñones para su posterior procesamiento.

El riñón izquierdo se secó en horno a 100 °C por 24 h, se pesó y se picó en un vaso de precipitado con 7 mL 0.5 N de Ácido nítrico. Luego se calentó la mezcla hasta que el líquido se volvió transparente. Este se calibró usando una solución estándar de calcio. Finalmente el contenido de calcio de la mezcla fue determinado por espectroscopia de flama; la cantidad de calcio en ug/g de riñón seco.

El riñón derecho se fijó y luego se hizo inmersión en parafina. Se practicaron cortes a intervalos de 3-4 μ m. Se realizó una tinción con hematoxilina - eosina⁴⁷

9.5 Análisis Estadístico

Siendo todos los datos de tipo paramétrico, es decir, con una unidad de medida, se calculó el promedio y la desviación estándar para cada variable y grupo.

Para comparar los promedios de grupos diferentes, por ejemplo de furosemida vs contenido acuoso planta experimental se usó la prueba t de Student, para varianzas heterogéneas (diferentes significativamente) u homogéneas según lo que indicara la comparación de las varianzas respectivas, mediante la prueba F (de Fisher). Para comparar diferencias en un mismo grupo, para diferentes tiempos, por ejemplo variación del peso corporal o de vísceras, se usó la prueba t pareada. Para interpretar todas las pruebas, el nivel de significación se fijó *a priori* un valor $p = 0.05$.

10.RESULTADOS

10.1 Toxicidad Aguda

No ocurrió mortalidad a los 14 días en los diez animales expuestos a las dosis de 10 ml/kg por vía Intraperitoneal y vía oral. En el test de Irwin no se manifestaron signos de toxicidad posterior a la administración del contenido acuoso de la planta durante la observación.

Diferencias significativas entre grupos: El grupo al que se administró contenido acuoso de la planta por vía Intraperitoneal y oral presento un descenso en el peso corporal, en tanto que los otros grupos subieron de peso.

Se observó además mayor peso de las vísceras de las ratas que fueron sometidas al tratamiento acuoso de la planta por vía oral como Intraperitoneal que en los grupos control, en los que el peso de viseras no varió entre los animales a los que se les administro solución salina vía oral e Intraperitoneal.

De las cinco ratas tratadas con el contenido acuoso de la planta por vía oral, cuatro de ellas presentaron por histopatología Atelectasis, posiblemente por la entrada del contenido acuoso al pulmón por regurgitación, mientras que los demás biomodelos de los diferentes grupos no la presentaron.

A las observaciones histopatológicas y macroscópicas de los diferentes órganos en ratas, coincide el hecho de que:

- Tres biomodelos a los que se les administró el contenido acuoso de la planta por vía oral presentaron áreas de Atelectasis por histopatología y por examen macroscópico, Granulomas de tejido caseificado y zonas hemorrágicas en tejido pulmonar, además de congestión de sinusoides en hígado.

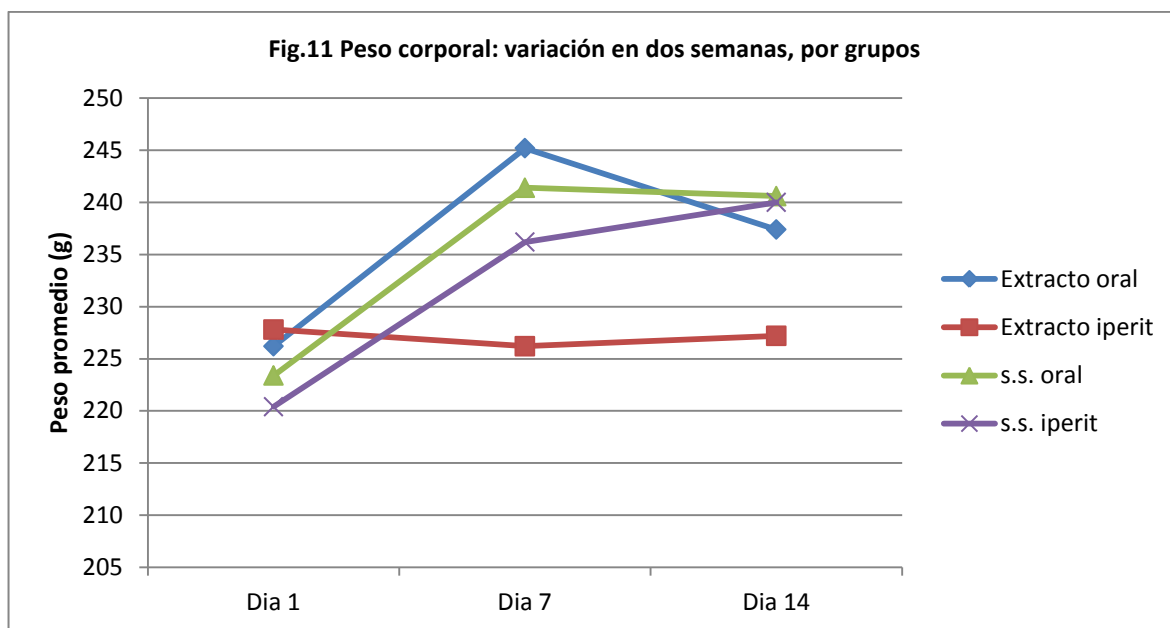
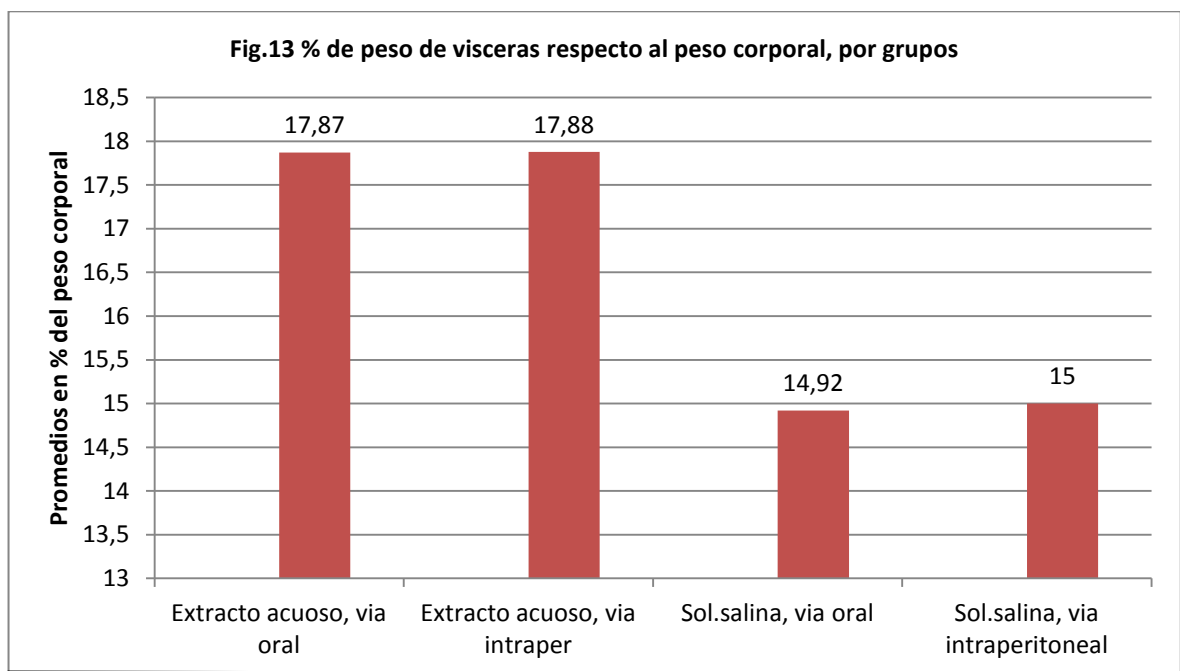
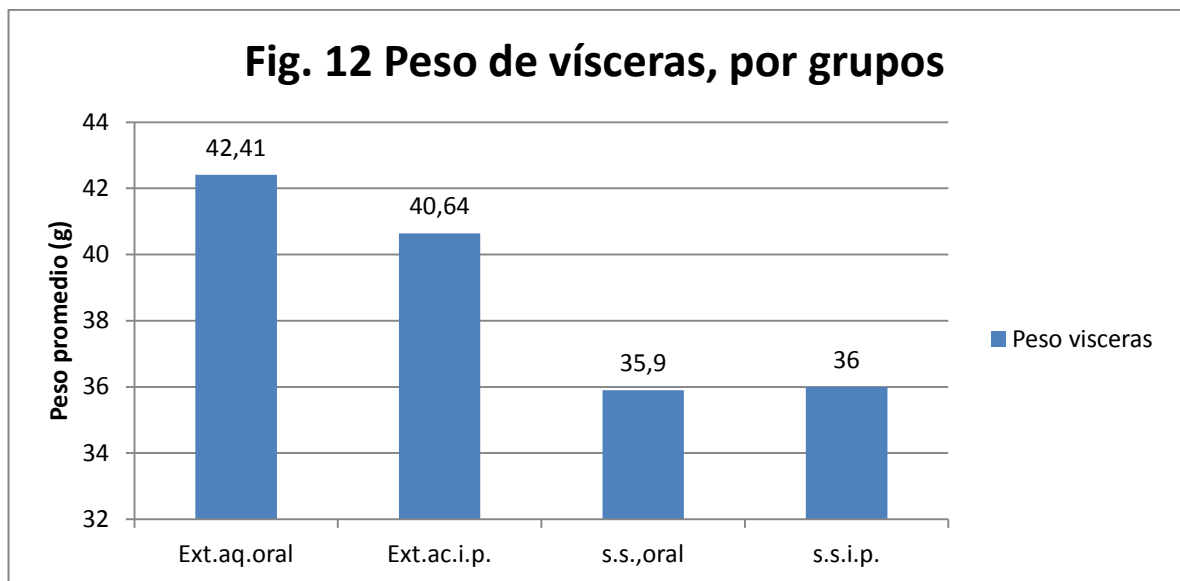


FIGURA 11 Peso corporal: variación en dos semanas por grupos

La grafica muestra los pesos semanales de cada grupo experimental en la toxicidad aguda se observan diferencias significativas entre cada semana entre cada grupo; El contenido acuoso experimental por vía Intraperitoneal, produjo un descenso en el peso corporal, en tanto que los otros grupos subieron de peso.



FIGURAS 12 y 13 Peso de vísceras por grupo; Porcentaje de peso de vísceras respecto al peso corporal por grupos No se observan diferencias significativas en los pesos entre los grupos, pero se observa mayor peso de las vísceras en el extracto, tanto oral como Intraperitoneal, que en los grupos controles que no varían entre oral e Intraperitoneal

10.2 Toxicidad Subaguda

Diferencia significativa ($p < 0.05$) para el promedio de Monocitos en biomodelos tratados con contenido acuoso de la planta versus biomodelos tratados con solución salina, con un 50 % menor en el grupo experimental que en el grupo control.

Diferencia significativa ($p < 0.05$) para la variación del Peso del día 1 al 7 en ambos grupos, el experimental y el control.

Diferencia significativa ($p < 0.05$) para la variación del peso inicial de biomodelos, versus peso final entre los grupos de experimentación.

Diferencia significativa ($p < 0.05$) para el promedio del peso del Estomago de biomodelos tratados con contenido acuoso de la planta versus biomodelos tratados con solución salina, con peso mayor en el grupo experimental que en el control.

Hubo variación en el peso de las glándulas adrenales en los biomodelos a los que se les administró el contenido acuoso de la planta, pero la diferencia no es estadísticamente significativa.

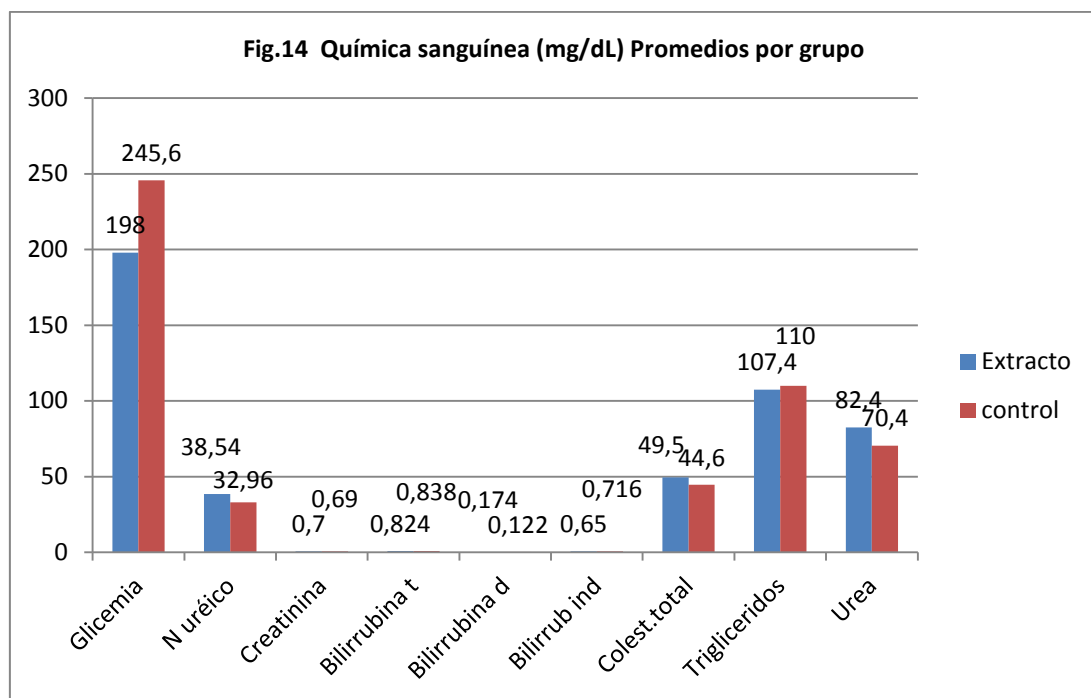


FIGURA 14 Química sanguínea, promedios por grupo

El cuadro muestra los valores de química sanguínea para cada grupo

No hay diferencia significativa para ninguna variable medida entre los dos grupos ($p > 0.05$)

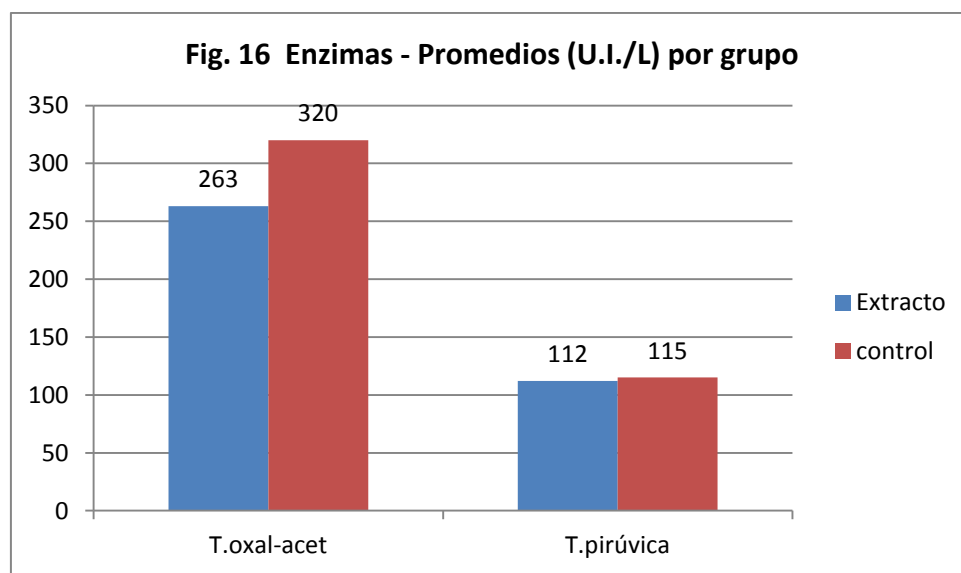
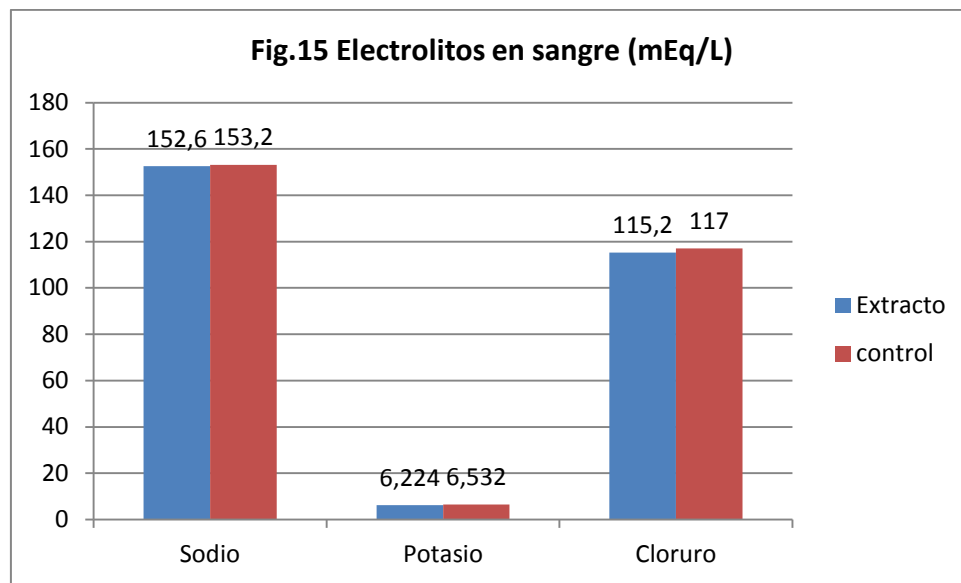


FIGURA 15 Y 16 Electrolitos en sangre y Enzimas promedios por grupo
 No hay diferencia significativa para ninguna variable medida en ningún grupo ($p > 0.05$)

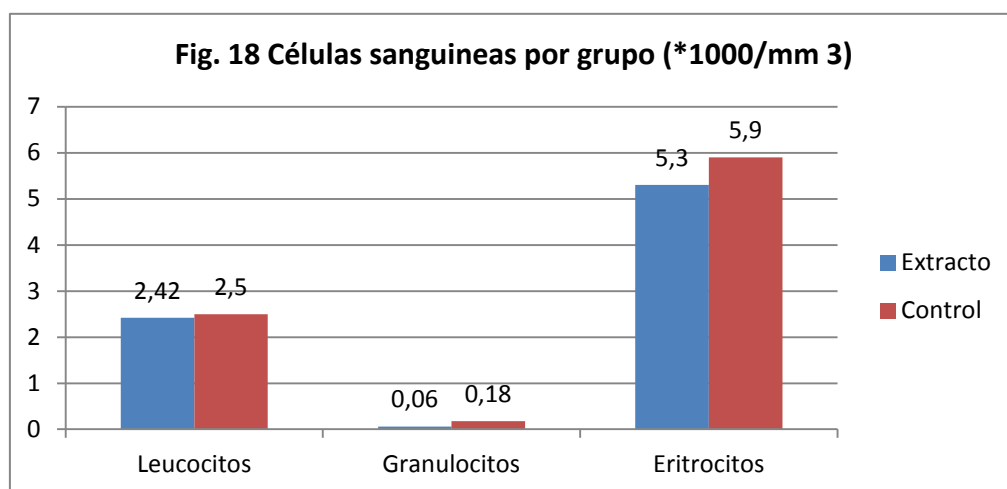
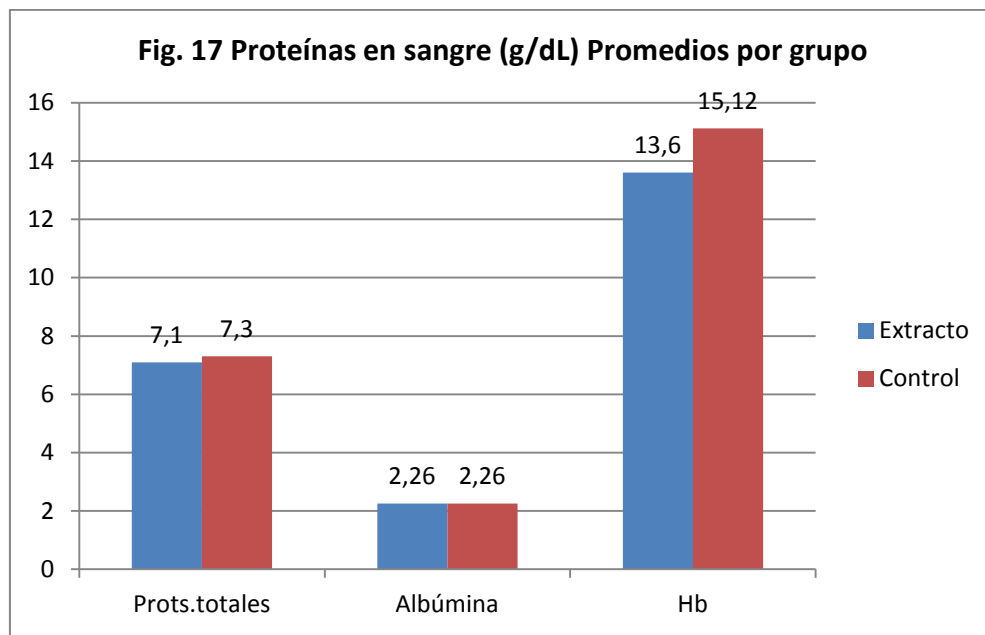


FIGURA 17 Y 18 Electrolitos en sangre y Enzimas promedios por grupo
 No hay diferencia significativa para ninguna variable medida en ningún grupo ($p > 0.05$)

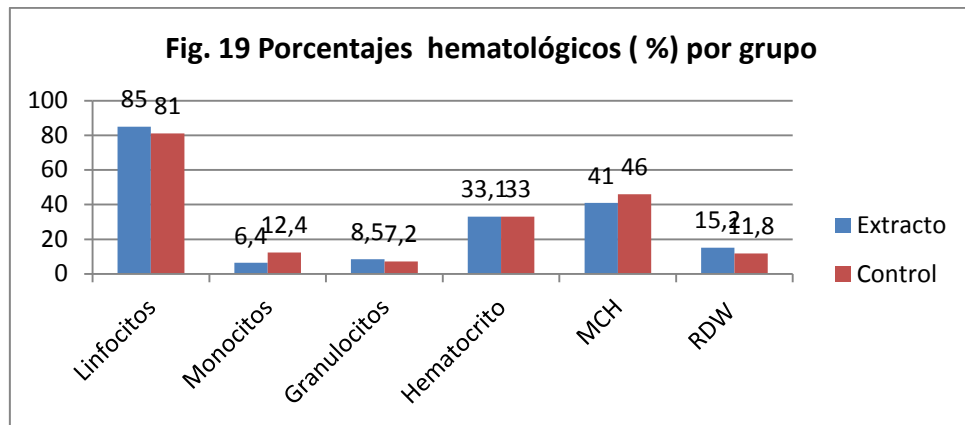


FIGURA 19 Porcentajes hematológicos por grupo

Se observa una diferencia estadísticamente significativa solo en el porcentaje de monocitos extracto versus control $p = 0,042$; 50 % menor en el grupo que se administra el contenido acuoso de la planta (Extracto).

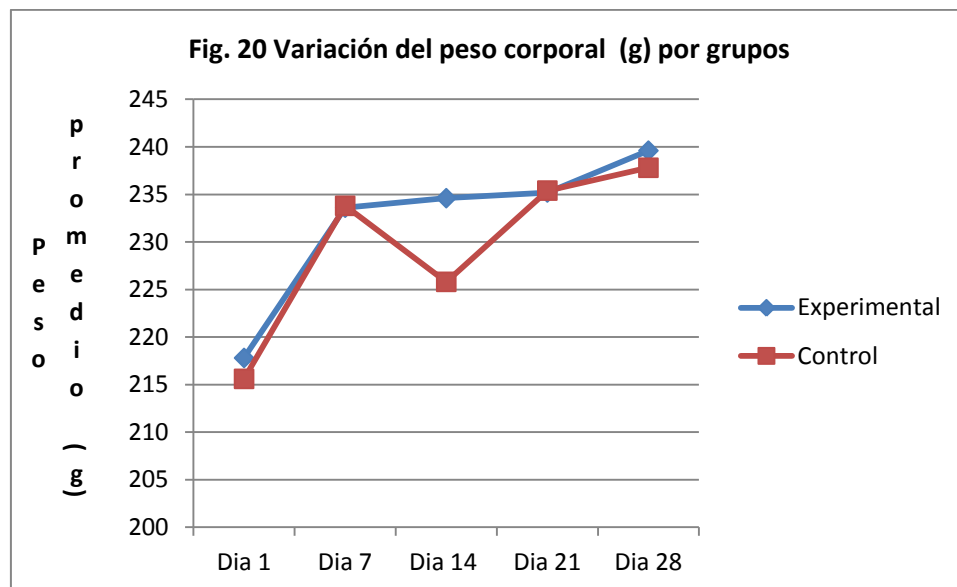


FIGURA 20 Variación del peso corporal por grupos

La variación de peso semanal es significativa ($p < 0.05$) pero no hay diferencia significativa entre el grupo experimental y el control

10.3 Determinación Del Efecto Diurético

No hay diferencias significativas entre los tres grupos, pero a la cuarta hora es más alto el volumen de orina en el grupo experimental (*Manicaria saccifera*), lo que demuestra un efecto diurético aunque no tan intenso como el de la furosemida.

El volumen total recogido en 6 horas es más alto para furosemida, seguido por el experimental (*Manicaria saccifera*) y después por el control.

Se puede considerar que la planta (*Manicaria saccifera*) tiene un efecto diurético menor que la furosemida pero mayor que el control a la dosis utilizada, y que se tarda 3 horas en hacerse notorio, alcanzando un pico a las 4 horas.

En la EVU: (Excreción Volumétrica Urinaria) según la prueba de Bonferroni, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) para las siguientes comparaciones:

- A la cuarta hora, grupo experimental versus grupo control negativo ($p=0.0077$)
- A la sexta hora, grupo experimental versus grupo control negativo
- A la quinta y sexta hora para grupo experimental ($p<0.002$) versus grupo control positivo (furosemida)
- A la sexta hora la EVU fue mayor para el grupo experimental que para los controles, que dieron $EVU = 0$.

EVU: Se observó un notable pico de efecto diurético a las 4 horas, con diferencias significativas entre grupos para la Quinta y Sexta hora.

Diferencia significativa a las 4 horas entre el grupo experimental y el control, pero no versus furosemida

En cuanto a los electrolitos en la orina, con la planta elimina:

1. Calcio, Potasio Mayor cantidad que la furosemida
2. Cloro en Menor cantidad que la furosemida
3. Fosforo en Menor cantidad que el grupo control positivo y negativo.
4. Sodio en Menor cantidad que furosemida mayor que grupo control (-)

Entre los tres grupos no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) en todas las comparaciones.

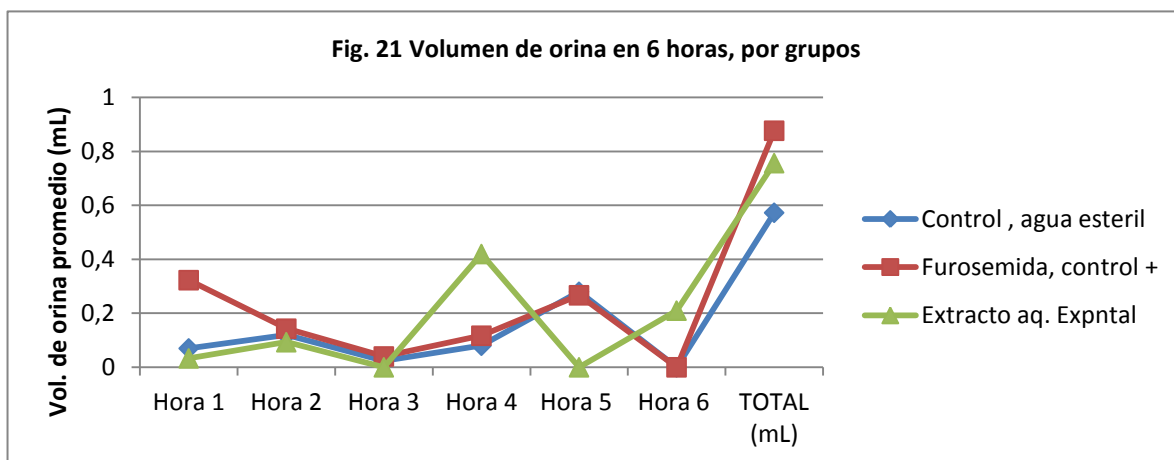


FIGURA 21 Volumen de orina en 6 horas por grupos

No hay diferencias significativas entre los tres grupos, pero a la cuarta hora es más alto el volumen de orina en el grupo experimental. El volumen total recogido en 6 horas es más alto para furosemida, seguido por el experimental y el control. Se puede considerar que el producto experimental tiene un efecto diurético menor que la furosemida pero mayor que el control, y que se tarda 3 horas en hacerse notorio, alcanzando un pico a las 4 horas.

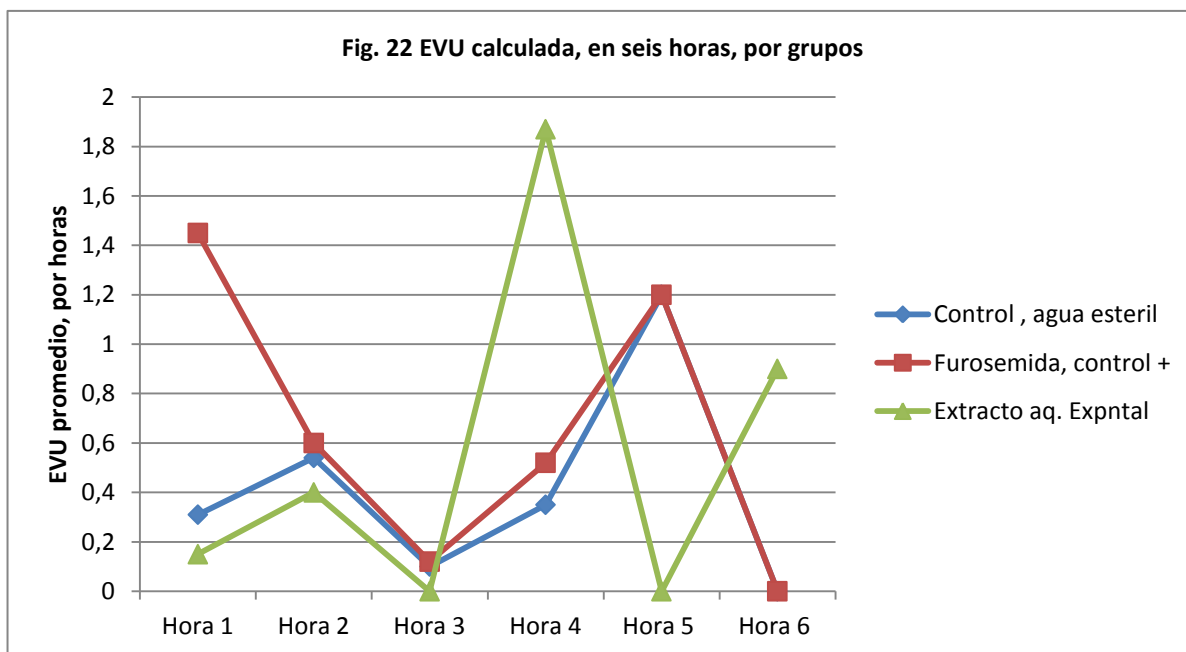


FIGURA 22 EVU calculada, en seis horas por grupo

Se observa un notable pico de efecto diurético a las 4 horas. Diferencias significativas entre grupos para 5 y 6 horas. Diferencia significativa a las 4 horas entre el grupo experimental y el control, pero no versus furosemida.

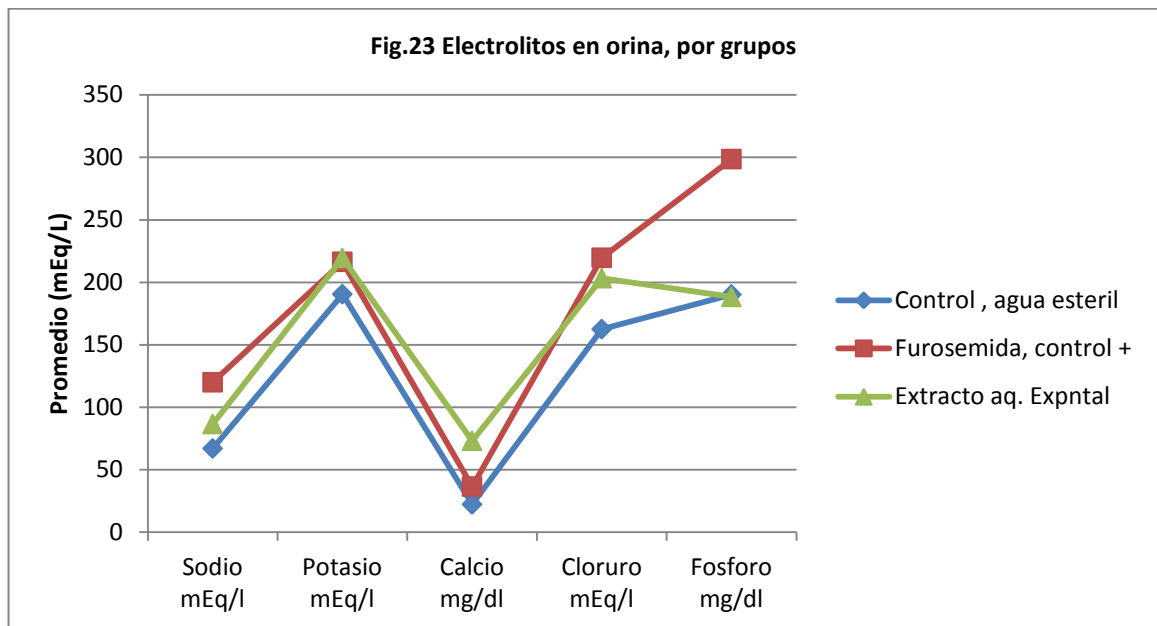


FIGURA 23 Electrolitos en orina por grupos

No se observan diferencias significativas para los tres grupos

10.4 Determinación Del Efecto Antinefrolitiásico

Según el análisis de varianza y la prueba de Bonferroni los promedios no difieren significativamente para ninguna de las comparaciones posibles de cada parámetro medido ($p > 0.0033$), teniendo en cuenta que p debe ser menor de 0.0033 por tratarse de comparaciones múltiples.

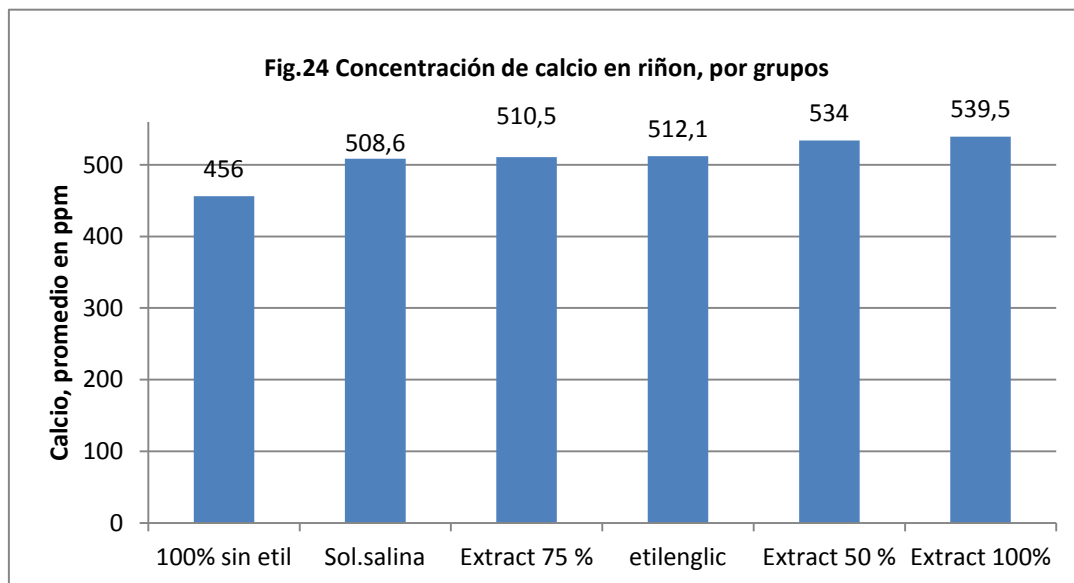


FIGURA 24 Concentración de calcio en riñón por grupos

Se presentan en orden creciente la concentración de Ca^{+} en riñón, por grupos. Las diferencias no son significativas entre grupos

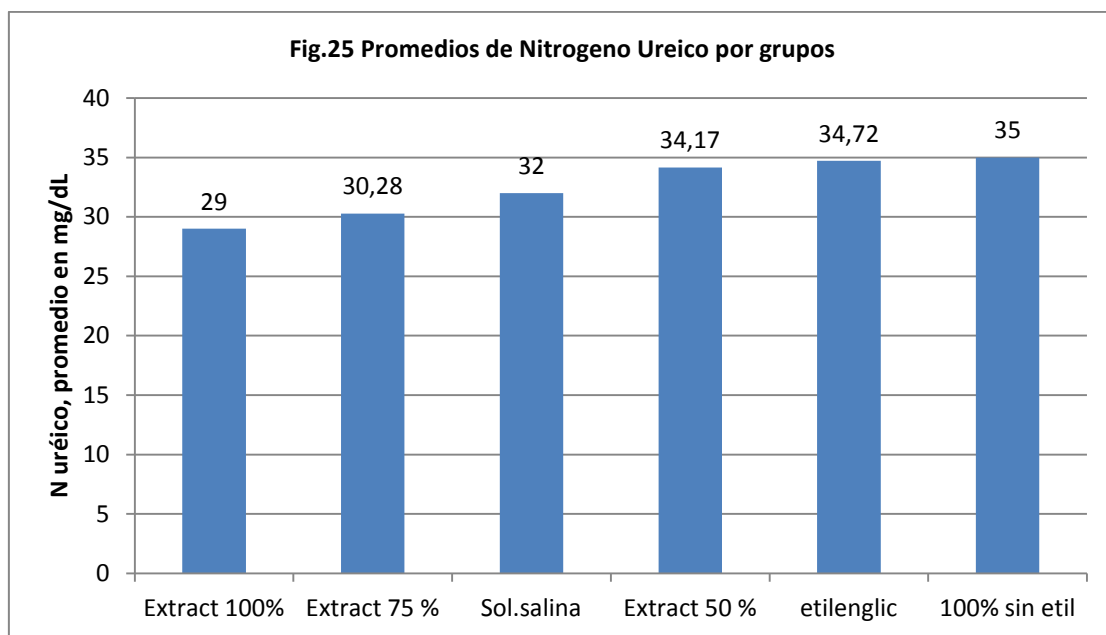


FIGURA 25 Promedios de Nitrógeno uréico por grupos
las diferencias no son significativas entre grupos

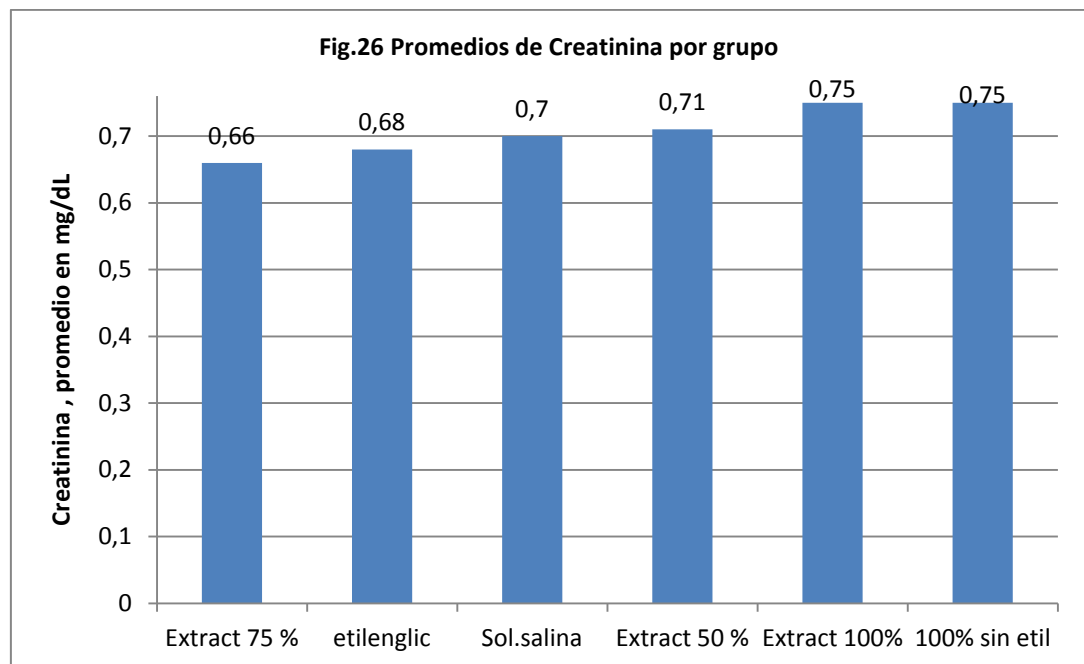


FIGURA 26 Promedios de creatinina por grupo

No hay diferencias significativas entre los grupos en la cantidad de creatinina en sangre

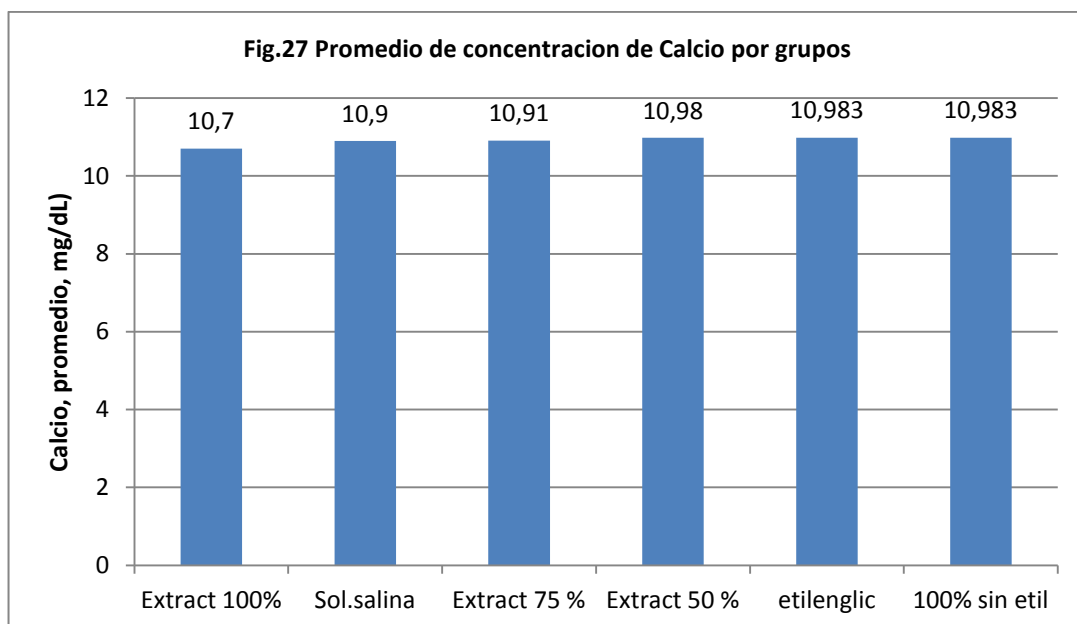


FIGURA 27 Promedios de concentración de calcio por grupos
Diferencias no significativas entre grupos

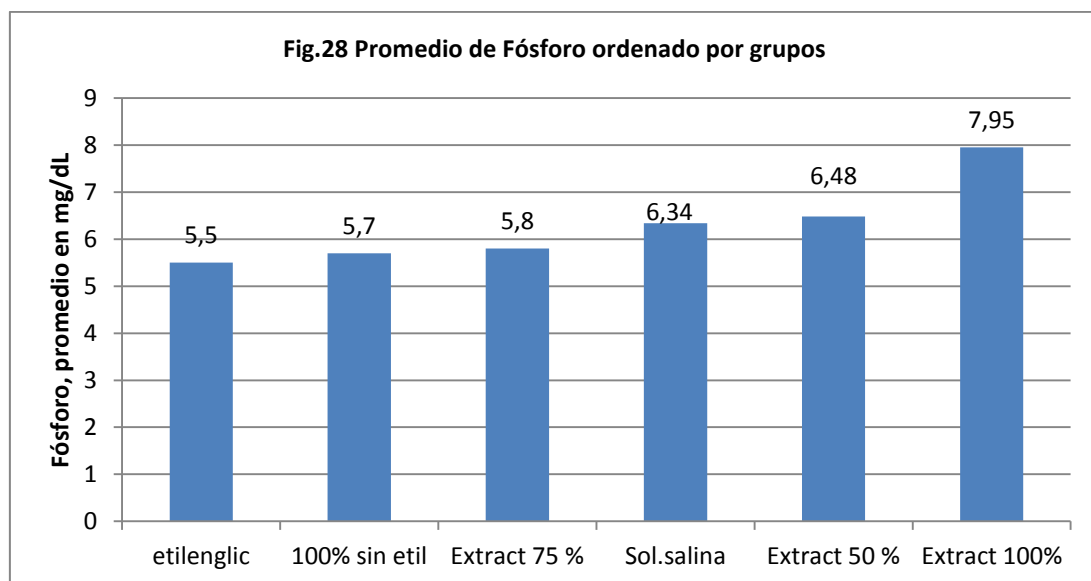


FIGURA 28 promedio de fosforo ordenados por grupos
 Las diferencias no son significativas entre los grupos

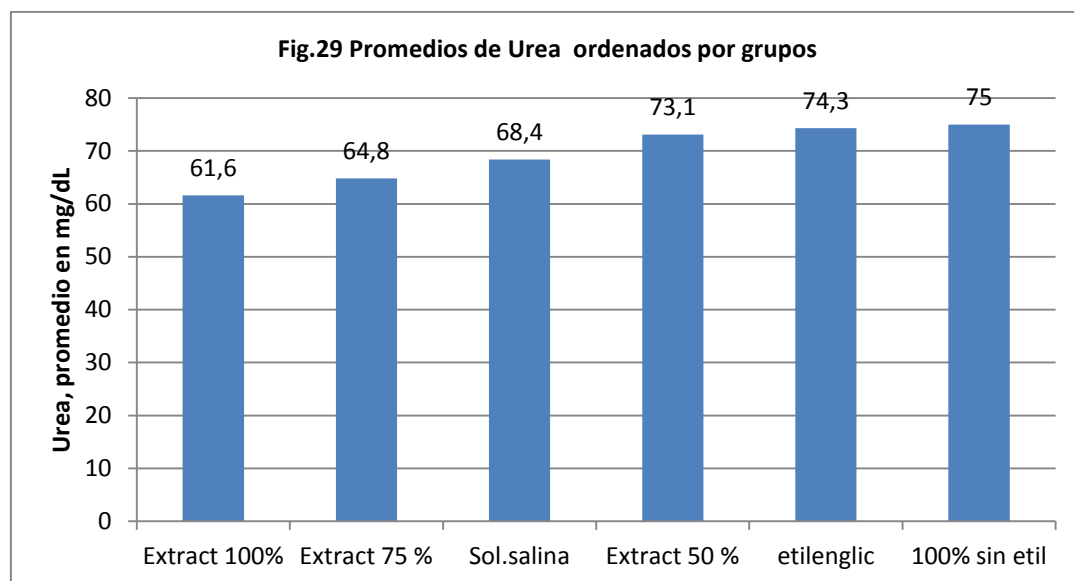


FIGURA 29 Promedios de Urea ordenados por grupo
Las diferencias no son significativas entre los grupos

11. DISCUSIÓN

Toxicidad

En el estudio de toxicidad aguda, la administración en ratas del contenido acuoso de *Manicaria saccifera* (10 ml/Kg) por vía oral e intraperitoneal, no produjo mortalidad, pero sí se presentaron signos de toxicidad, sin cambios comportamentales durante los 14 días de observación, con diferencias significativas en el grupo al que se le administró contenido acuoso de la planta por vía oral e intraperitoneal donde se presentó descenso en el peso corporal, e incremento en el peso de las vísceras de estas ratas, con la presencia de atelectasis, y lesiones macroscópicas y microscópicas en hígado.

La administración de las dosis de *Manicaria saccifera* durante 28 días produjo signos de toxicidad sin alteración de la ingesta de agua/comida pero si en la pérdida de peso durante los 28 días de observación. Todos los animales sobrevivieron hasta la eutanasia programada para el día 29. Posterior a la necropsia se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) para la variación del peso inicial, versus peso final entre los grupos de experimentación, diferencia significativa ($p < 0.05$) para el promedio del peso del estomago de los biomodelos tratados con contenido acuoso de la planta, con variaciones no significativas en el peso para las dos glándulas adrenales; Lo anterior denota que la administración de *Manicaria saccifera* durante 28 días produce edema, atrofia e hipertrofia del estomago.

La presencia de alteraciones en los parámetros bioquímicos, hematológicos, se pueden relaciona con los hallazgos histopatológicos; Con diferencias significativa ($p < 0.05$) para el aumento del promedio de Monocitos en los biomodelos tratados con contenido acuoso de la planta.

Diuresis

Se considera que la *Manicaria saccifera* a dosis de 10 ml/Kg tiene un efecto diurético mayor que el control, pero menor que la furosemida y que tarda 3 horas en hacerse notorio, alcanzando un pico a las 4 horas, además en la eliminación de los electrolitos en orina de cada uno de los tres grupos experimentales no se observan diferencias significativas, aunque hay un aumento en la excreción de calcio y potasio en los biomodelos a los que se les administró el contenido acuoso de la planta.

Una sobrecarga de potasio, que en los túbulos sea capaz de absorberse, aparecerá en la orina, con agua adicional.⁷⁴

Se sugiere que el efecto diurético de esta planta es actuar como la aldosterona, a nivel de los receptores de mineralocorticoides. Los mineralocorticoides causan retención de sal y agua e incrementan la excreción de K^+ y H^+ , sin embargo la importancia de este efecto en la acción diurética y antinefrolitiásico de la *Manicaria saccifera* deberá ser aclarado con futuros experimentos.

El efecto farmacológico de una planta en ocasiones se explica por la acción aditiva y sinérgica de varios principios activos. Los efectos en la diuresis de *Manicaria saccifera* a dosis de 10 ml/kg produjeron un aumento en la excreción de electrolitos, principalmente de potasio. Los efectos en la excreción de electrolitos no pueden ser mediados por un aumento en la concentración de potasio de la planta, debido a que se observó también un aumento en la concentración de calcio urinario con *Manicaria saccifera*.

Las concentraciones tubulares altas de potasio alteran la concentración de sodio en la orina debido a que estimulan la actividad de la bomba Na^+/K^+ ATPasa en la membrana basolateral de las células del epitelio tubular, disminuyendo la concentración de sodio en la orina. Además, el potasio altera el gradiente de voltaje transepitelial, favoreciendo la reabsorción de sodio.⁷⁵

Efecto Antinefrolitiásico

Estas propiedades de las plantas medicinales favorecen de manera ventajosa, la prevención y eliminación de cálculos urinarios, por inducir la excreción de pequeñas partículas del riñón y reducir la posibilidad de la retención en el tracto urinario, lo que reduce la sobresaturación que es un primer paso y requisito previo para la litogénesis.

A las ratas a las que se les administro en la dieta Etilenglicol para generar litiasis renal se les disminuyó esta posibilidad tras la administración del contenido acuoso de la planta a una concentración del 100%, el cual disminuyó los niveles de calcio en sangre, Aunque esta reducción en sangre no fue significativa ($P > 0,05$)

El contenido acuoso de la planta aumenta los niveles de calcio en sangre al igual que la excreción en orina, los mecanismos no están claros pero hacen parte del proceso que favorece la diuresis y el efecto antinefrolitiásico.

A las ratas a las que les fue administrado Etilenglicol para generar litiasis renal, tras la administración del contenido acuoso de la planta a la concentración de

75%, se disminuye la posibilidad de formar cálculos renales, pues disminuye el nivel de fosforo en sangre, esta reducción no fue significativa ($P > 0,05$).

La disparidad en algunos resultados hace parte de alteraciones fisiológicas debidas al género (ratas hembras más susceptibles a los cambios externos), y al entorno (cambios bruscos en temperatura humedad relativa ventilación) que modifican los resultados en los diferentes protocolos.

Estudios, han demostrado que las ratas macho inducen la urolitiasis de manera eficiente pues se sabe que el sistema urinario de las ratas macho se parece a la de los seres humanos y también estudios han demostrado que la formación de depósitos de cristales en las ratas hembras han sido significativamente inferiores.

Dentro de los diferentes compuestos que hacen parte de la estructura química de la planta y que aun no se han estudiado, se encuentran, algunos compuestos que favorecen niveles altos en sangre de electrolitos como Calcio, Urea, Nitrógeno Ureico, que pueden presentar alteraciones en los diversos sistemas orgánicos del animal, siendo esto entonces tema para estudios posteriores. El aumento de calcio urinario es un factor que favorece la nucleación y precipitación de oxalato de calcio o de apatita (Fosfato de calcio) de la orina y el crecimiento de cristales. Sin embargo por experimentación, se determino que la *Manicaria saccifera* reduce los niveles de oxalato, y favorece la excreción de calcio.

El aumento de la excreción urinaria de fosfato junto con el oxalato proporciona un entorno apropiado para la formación de cálculos, mediante la formación de cristales de fosfato de calcio, lo que induce a la deposición epitelial de oxalato de calcio. El tratamiento con el contenido acuoso de la *Manicaria saccifera* restaura el nivel de fosfato, lo que reducirá el riesgo de formación de cristales; la dieta de las ratas juega un papel importante, también en los niveles de electrolitos en sangre que podrían interferir o no con el efecto antinefrolitiásico.

En la urolitiasis, la tasa de filtración glomerular, disminuye debido a la obstrucción de la salida de la orina por cálculos del sistema. Debido a esto, los productos de desecho, en particular nitrogenados sustancias como la urea, creatinina y ácido úrico se acumulan en sangre. Además, el aumento de la peroxidación lipídica y la disminución de los niveles del potencial antioxidante favorecen a la formación de cálculos. Se ha reportado que el oxalato induce a la peroxidación lipídica y causa daño a los tejidos renales al reaccionar con ácidos grasos poli insaturados en la membrana celular. En los cálculos inducidos a las ratas, se ha visto un

marcado daño renal, tal como se indica en las concentraciones séricas elevadas de creatinina ácido úrico y BUN. Sin embargo, en el tratamiento con el contenido acuoso de la planta *Manicaria saccifera* y su efecto diurético se podría acelerar el proceso de eliminación de los componentes que favorecen la formación de los cristales, y prevenir la formación de cálculos en el sistema urinario.⁷⁶

las ratas a las que se les administro en la dieta Etilenglicol para generar litiasis renal se les disminuyó esta posibilidad tras la administración del contenido acuoso de la planta a una concentración del 75% y 100% el cual mermó los niveles de Nitrógeno Ureico en sangre, aunque esta reducción en sangre no fue significativa ($P > 0,05$).

Los niveles de creatinina en suero fueron ligeramente elevados en el grupo al que se le administro contenido acuoso de la planta al 75% y al 100% mas Etilenglicol, al igual que al grupo que se le administro solo el contenido acuoso de la planta al 100%, lo que indica daño renal, y se mermaron los niveles de creatinina en suero al grupo de biomodelos a los que se les administró el contenido acuoso de la planta al 75% junto con Etilenglicol.

La reducción significativa de los niveles séricos de productos de desecho acumulados se puede atribuir a la mayor tasa de filtración glomerular y la posible disminución de la actividad peroxidativa de los lípidos de la *Manicaria saccifera*. En conclusión, los datos presentados indican que la administración del contenido acuoso de la *Manicaria saccifera* en ratas con Etilenglicol para inducir la litiasis renal, reduce y previene la litiasis urinaria.

Se respalda con este estudio el concepto popular de que la *Manicaria saccifera* presenta actividad antinefrolitiásico y diurética. El mecanismo subyacente a este efecto es aún desconocido, pero al parecer están relacionadas con una mayor diuresis y al descenso de las concentraciones urinarias de metabolitos que favorezcan la formación de cristales.

12. CONCLUSIONES

1. La administración de *Manicaria saccifera* representa una toxicidad significativa cuando se administra de forma aguda o subaguda
2. La *Manicaria saccifera* presenta un efecto diurético significativo.
3. Se requieren futuros estudios *In Vitro* y en otros modelos animales de diuresis para aclarar los mecanismos subyacentes a los resultados en el modelo de diuresis por el método de *Lipschitz* y otros.
4. Los estudios corroboran la aparente actividad diurética y antinefrolitiásico reportada por practicantes de la medicina tradicional de la *Manicaria saccifera*
5. Se requiere ampliar los estudios de toxicidad de la planta antes de iniciar los estudios clínicos limitados y controlados en humanos, para comprobar su efectividad como diurético y antinefrolitiásico y establecer los parámetros de uso, limitaciones y efectos colaterales

13. PERSPECTIVAS

1. Se sugiere continuar este estudio haciendo una curva dosis-respuesta, del contenido acuoso de la planta, tomando como respuesta el efecto diurético a las 4 horas en la Excreción Volumétrica Urinaria.
2. Verificar el posible efecto que ejerce el contenido acuoso de la planta, sobre las glándulas adrenales determinando la interferencia de estas glándulas en los respectivos efectos diuréticos y antinefrolitiásico que esta planta presenta.
3. Determinar la toxicidad aguda y subaguda que tiene esta planta al exponerla al animal y su posible efecto sobre el incremento de tamaño que se registró en órganos como el estómago.
4. Verificar en estudios posteriores el efecto sobre los monocitos que ejerce el contenido acuoso de la planta.
5. Determinar la importancia del efecto diurético de la planta en el control del efecto Antihipertensivo.

14. REFERENCIAS

1. **González ML, S.G.**, *Potencial frutícola de la zona de influencia del Bajo Calima en el pacífico colombiano.*, in *Agronomía*. **2000** Universidad del Tolima: Ibagué.
2. Collin, G., *The kernel-fats of some members of the Palmae: Acrocomia sclerocarpa Mart. (Gru-gru palm), Manicaria saccifera Gaertn., Astrocaryum Tucuma Mart., Maximiliana caribaea Griseb., Attalea excelsa Mart. (Pallia palm), and Cocos nucifera Linn. (coconut).* Biochem J, 1933. **27**(5): p. 1366-72.
3. Mcaninch, E.A.T.-J.W., ***Urología General de Smith*** Manual Moderno Edición 11 ed. 2000: Traducida de la 14ª Edición en Ingles
4. Dedes, D.P.C., ***Urgencias en Urología.*** 2001.
5. Dr. Mireia Fabregas Ecurriola, Y.S.C., Rosa Aragonés Fores. , ***Guías Clínicas en Atención Primaria.*** 2004.
6. Dr. Tomás Wilde Sonderman, D.J.D.B.D.Y.S.R.D.J.M.S.H.D.G.M.P., ***Litiasis Renal y Uretral.*** 2000.
7. **Stoller M, B.D.**, Tanagho E, Mcanisch J, eds, , *Litiasis Urinaria.* Urología General de smith, 12ª ed, 2001.
8. Juan Fernando Uribe Arcila, F.F.S., Dr. Rafael Ignacio Castellano Acosta., ***Fundamentos de Cirugía. 3ra Edición Urología*** ed. 2006, Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas.
9. Juan Fernando Uribe Arcila, F.F.S., Dr Rafael Ignacio Castellano Acosta., ***Fundamentos de Cirugía. Urología General de smith, 12a ed***, 2000. **2da Edición**(Corporación para Investigaciones Biológicas): p. Litiasis Urinaria Capítulo 19
10. L Hernando Avendaño, J.M.C., ***Nefrología Clínica.*** Editorial Médica panamericana ed. 2003: 2da del Edición. Capítulo 11 Litiasis Renal.
11. ***Enciclopedia de las Medicinas Alternativas*** ed. E. Océano. 2003.
12. Antoni Vicens Vicens, X.R.P., Juan Pablo Burgués Gasió, Mariano Ozonas Moragues, H U Son Dureta., ***Libro del Residente de Urología*** Palma de Mallorca. Capítulo 43.

13. Emil A. Tanagho, J.W.M., ***Urología General de Smith***. Manual Moderno, ed. Traducida de la 17ª Edición en inglés. Vol. 14ª Edición. 2008: Enfermedad Litiásica urinaria.
14. Resnick, M.I. and C.Y. Pak, *Are metabolic studies of urolithiasis necessary?* J Urol, 1987. **137**(5): p. 960-1.
15. Yendt, E.R. and M. Cohanin, *Prevention of calcium stones with thiazides*. Kidney Int, 1978. **13**(5): p. 397-409.
16. Pak, C.Y., *Citrate and renal calculi*. Miner Electrolyte Metab, 1987. **13**(4): p. 257-66.
17. Preminger, G.M., *The metabolic evaluation of patients with recurrent nephrolithiasis: a review of comprehensive and simplified approaches*. J Urol, 1989. **141**(3 Pt 2): p. 760-3.
18. **Ibartz , J.M.**, J. Lazaro, and L.A. Rioja, *Litiasis Sintomatología.*, in *Tratado de urología*. 1993, J.R. Prous Editores Barcelona,: España.
19. Conte, A. and F. Grases, *Manual para el estudio de los cálculos renales*. 1996, Barcelona: CEGE Comunicación Gráfica S.L.
20. Grases, F., L. García -Ferragut, and A. Costa - Bauzá, *Analytical study of renal calculi. A new insight*. Recent Res Devel In Pure & Applied anal Chem, 1998. **1**: p. 187.
21. Muñoz Martinez, J.A., *Litiasis Renal Oxalocálcica, avances en la comprensión de su etiología y mejoras en la metodología analítica para su estudio*. . 2004: Universidad Autónoma de Barcelona.
22. *Farmacología Clínica y Terapéutica Médica*. 2004: McGRAW - HILL - INTERAMÉRICANA.
23. Rondon Nucete, M., *Compendio de Nefrología Clínica* 2003: Universidad los Andes.
24. Ibarz Servio, L., et al., *Tratamiento Médico de Litiasis Renal* Annals d`Urologia, 2006. **6**(4).
25. Diaz Berrocal, J., et al., ***GUIAS DE MANEJO DE LA LITIASIS RENAL BASADA EN LA EVIDENCIA***. 1999, **SOCIEDAD COLOMBIANA DE UROLOGIA GUIAS DE PRÁCTICA CLÍNICA (GPC)**.

26. Díez Cordero, J.M., et al., *Cólico nefrítico URGENCIAS UROLOGICAS*, in *LXI congreso Nacional de urología*. 1996: Madrid.
27. Drach George, W., et al., *Litiasis urinaria: Etiología, Diagnostico y manejo médico*. En in *UROLOGIA DE CAMPBELL* Tomo III. 1994, Editorial Medica Panamericana: Buenos Aires.
28. Duarte Ojeda, J.M., et al., *cólico nefrítico*. , in *MANUAL PRACTICO DE URGENCIAS QUIRURGICAS*, P. S.A, Editor. 1998, HOSPITAL UNIVERSITARIO DOCE DE OCTUBRE: Madrid.
29. Robert, M., et al., *Circadian variations in the risk of urinary calcium oxalate stone formation*. Br J Urol, 1994. **74**(3): p. 294-7.
30. Ahlstrand, C., L. Larsson, and H.G. Tiselius, *Variations in urine composition during the day in patients with calcium oxalate stone disease*. J Urol, 1984. **131**(1): p. 77-81.
31. *Trastornos del riñón y las vías urinarias*. 2006: McGraw Hill Harrison.
32. *Agencia para Sustentación Tóxicas y el Registro de enfermedades.*, in *Resumen de salud pública Etilenglicol* 2007.
33. González García, G., *Manual de Atención Primaria de Intoxicaciones*, República Argentina Ministerio de Salud, Editor. 2002.
34. Raffa, R.B., S.M. Rawls, and E.P. Beyzarov, *NETTER FARMACOLOGIA ILUSTRADA*. 2008.
35. Hardman, J.G., L.E. Limbird, and A.G. Gilman, *GOODMAN & GILMAN Las Bases Farmacologicas de la Terapeutica* 9ed. 2001: Mcgraw hill.
36. Hardman, J.G., L.E. Limbird, and A.G. Gilman, *GOODMAN & GILMAN Las Bases Farmacologicas de la Terapéutica*. 10 ed. 2003: Mcgraw hill,.
37. Kagawa, C.M., J.A. Cella, and C.G. Van Arman, *Action of new steroids in blocking effects of aldosterone and desoxycorticosterone on salt*. Science, 1957. **126**(3281): p. 1015-6.
38. Beyer, K.H., *The mechanism of action of chlorothiazide*. Ann N Y Acad Sci, 1958. **71**(4): p. 363-79.
39. Kunau, R.T., Jr., D.R. Weller, and H.L. Webb, *Clarification of the site of action of chlorothiazide in the rat nephron*. J Clin Invest, 1975. **56**(2): p. 401-7.

40. Costanzo, L.S. and E.E. Windhager, *Calcium and sodium transport by the distal convoluted tubule of the rat*. Am J Physiol, 1978. **235**(5): p. F492-506.
41. Beaumont, K., D.A. Vaughn, and D.D. Fanestil, *Thiazide diuretic drug receptors in rat kidney: identification with [3H]metolazone*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85**(7): p. 2311-4.
42. Beaumont, K., D.A. Vaughn, and D.P. Healy, *Thiazide diuretic receptors: autoradiographic localization in rat kidney with [3H]metolazone*. J Pharmacol Exp Ther, 1989. **250**(1): p. 414-9.
43. Dirks, J.H. and J.F. Seely, *Effect of saline infusions and furosemide on the dog distal nephron*. Am J Physiol, 1970. **219**(1): p. 114-21.
44. Morgan, T., et al., *Effect of furosemide on Na⁺ and K⁺ transport studied by microperfusion of the rat nephron*. Am J Physiol, 1970. **218**(1): p. 292-7.
45. Burg, M., et al., *Furosemide effect on isolated perfused tubules*. Am J Physiol, 1973. **225**(1): p. 119-24.
46. Brunton, L.L., J.S. Lazo, and K.L. Parker, *GOODMAN & GILMAN Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 11 ed. 2006.
47. Knauf, H. and E. Mutschler, *Sequential nephron blockade breaks resistance to diuretics in edematous states*. J Cardiovasc Pharmacol, 1997. **29**(3): p. 367-72.
48. Touhami, M., et al., *Lemon juice has protective activity in a rat urolithiasis model*. BMC Urol, 2007. **7**: p. 18.
49. ***Botanical Journal of the linnean Society*** 2003.
50. **Cañizo, J.A.d., Palmeras**, ed. E. Mundi-Prensa. **(2002)**.
51. Izco, J. and E. Barreno, *botánica*. 1997: McGraw_Hill.
52. Galeano, G., *Estado de conservación de las palmas en Colombia*. Revista Pérez - Arbelaezia, 2000. **5**(11): p. 68-70.
53. Galeano, G. and R. Bernal, *Palmas del departamento de Antioquia*. 1987, Bogotá: Universidad Nacional.
54. Gaertn. *O.C.E.de Kerchove de Denterghem* 1878.
55. Jacq. 1800.

56. G.H.W.i.A.H.R.G. ((1864)).
57. Burret. 1928.
58. Burret, 1930.
59. Myers, R.L., *The Ecology of Low Diversity Palm Swamps Near Tortuguero, Costa Rica*. Ann Arbor: University Microfilms International., 1981.
60. Kricher, J., *A Neotropical Companion*. 1997, New Jersey: Princeton University Press.
61. Assmann, G., et al., *Plasma sitosterol elevaciones son asociados con una mayor incidencia de eventos coronarios en hombres: resultados de un análisis de casos y controles anidado del estudio prospectivo Cardiovascular Münster*. 2006.
62. Mayo., C. (2008).
63. Markowitz, J.S., et al., *Multiple doses of saw palmetto (Serenoa repens) did not alter cytochrome P450 2D6 and 3A4 activity in normal volunteers*. Clin Pharmacol Ther, 2003. **74**(6): p. 536-42.
64. Anderson M.L, *Una investigación preliminar de la inhibición enzimática de reducción de la 5 alpha y el crecimiento de la línea de células de carcinoma prostático Du145-FGC astaxantina natural y extracto de lípidos enana in vitro*. 2005.
65. MedlinePlus. *Biblioteca Nacional de medicina* 2008 [cited 2010].
66. Wilt, T.J., A. Ishani, and R. Mac Donald, *Serenoa repens para la hiperplasia benigna de próstata*. Cochrane Database Syst Rev, 2002.
67. Di Silverio, F., et al., *Effects of long-term treatment with Serenoa repens (Permixon) on the concentrations and regional distribution of androgens and epidermal growth factor in benign prostatic hyperplasia*. Prostate, 1998. **37**(2): p. 77-83.
68. Hamid, S., S. Rojter, and J. Vierling, *Protracted cholestatic hepatitis after the use of prostata*. Ann Intern Med, 1997. **127**(2): p. 169-70.
69. Gerber, G.S., et al., *Saw palmetto (Serenoa repens) in men with lower urinary tract symptoms: effects on urodynamic parameters and voiding symptoms*. Urology, 1998. **51**(6): p. 1003-7.

70. Wilt, T.J., et al., *Saw palmetto extracts for treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review*. JAMA, 1998. **280**(18): p. 1604-9.
71. Lipschitz, W., Z. Haddian, and A. Kerpskar, *Bioassay of diuretics*. J Pharm Exp Ther, 1943. **79**: p. 110-6.
72. OECD, *Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure*. 1998.
73. OECD, *Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents*. 1999, OECD Guidelines for Testing of chemicals: OECD, Paris, France.
74. Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic Canary species. Benjumea D, Abdala S, Hernandez-Luis F, Pérez-Paz P, Martin-Herrera D. Source Unidad de Farmacología y Farmacognosia, Facultad de Farmacia, Universidad de La Laguna, 38207, La Laguna, Canary Islands, Spain.
75. Ramírez JH, Palacios M., Gutiérrez O. Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. Biomédica v.26 n.1 Bogotá mar. 2006
76. Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats Ravindra V. Karadi a, Navneet B. Gadgeb,1, K.R. Alagawadi a, Rudraprabhu V. Savadi a *Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, K.L.E.S's College of Pharmacy, J.N.M.C. Campus, Nehru Nagar, Belgaum 590010, Karnataka, India*

15. TABLAS

TABLA 1. Toxicidad aguda por vía oral e Intraperitoneal - peso corporal en los días 1, 7 y 14 (g)

GRUPO	Día 1	Día 7	Día 14
Extracto acuoso, vía oral	226,2 ± 3,83	245,2 ± 4,21	237,4 ± 3,85
Extracto acuoso, vía Intraperitoneal	227,8 ± 1,3	226,2 ± 2,28	227,2 ± 5,8
Sol. Salina, vía oral	223,4 ± 0,547	241,4 ± 1,67	240,6 ± 4,28
Sol. Salina, vía Intraperitoneal	220,4 ± 3,97	236,2 ± 10,47	239,8 ± 12,64

COMPARACION DE PROMEDIOS - PRUEBA t de BONFERRONI O t PAREADA

Las siguientes diferencias fueron significativas:

		P
Extracto acuoso, vía oral	día 1 vs 7	0,00034
	día 1 vs 14	0,0004
	día 7 vs 14	0,031
sol. Salina, vía oral	día 1 vs 7	0,000014
	día 1 vs 14	0,00088
Extracto acuoso oral vs i.p.	día 7	0,00002
Extracto acuoso oral vs i.p.	día 14	0,011
Extracto acuoso i.p. vs sol.sal oral	día 1	0,00011
Extracto acuoso i.p. vs sol.sal oral	día 7	0,000002
Extracto acuoso i.p. vs sol.sal oral	día 14	0,0032
Extracto acuoso i.p. vs sol.sal,i.p.	día 1	0,047

TABLA 2. Toxicidad aguda - peso de vísceras y % de peso de vísceras respecto al peso corporal (g)

GRUPO	Peso vísceras	% peso visceral
Extracto acuoso, vía oral	42,41 ± 3,93	17,87 ± 1,71
Extracto acuoso, vía Intraperitoneal	40,644 ± 2,42	17,88 ± 0,82
Sol. Salina, vía oral	35,92 ± 4,49	14,92 ± 1,75
Sol. Salina, vía Intraperitoneal	36 ± 3,73	15 ± 1,1

COMPARACION DE PROMEDIOS - PRUEBA t de BONFERRONI : No hay diferencias significativas entre grupos, ni para peso ni para %

TABLA 3 - Resultados química sanguínea (Promedio $\pm$ desv.std)

	Glicemia mg/dL	N uréico mg/dL	Creatinina mg/dL	Sodio mEq/L	Potasio mEq/L	Cloruro mEq/L	T.oxal-acet u.i./L
Experimental	198 $\pm$ 42,63	38,54 $\pm$ 7,79	0,702 $\pm$ 0,096	152,58 $\pm$ 2,06	6,224 $\pm$ 0,474	115,16 $\pm$ 0,676	262,8 $\pm$ 203,61
Control	245,6 $\pm$ 27,32	32,96 $\pm$ 1,56	0,688 $\pm$ 0,167	153,16 $\pm$ 2,168	6,532 $\pm$ 0,736	116,96 $\pm$ 2,72	320,4 $\pm$ 96,53

	Bilirrubina t mg/dL	Bilirrubina d mg/dL	Bilirrub ind mg/dL	T.pirúvica u.i./L	Colest.total mg/dL	Triglicéridos mg/dL	Prots.totales g/dL	Albúmina g/dL	Urea mg/dL
Experimental	0,824 $\pm$ 0,474	0,174 $\pm$ 0,226	0,65 $\pm$ 0,256	111,8 $\pm$ 85,31	49,5 $\pm$ 4,43	107,4 $\pm$ 45,84	7,06 $\pm$ 0,78	2,26 $\pm$ 0,195	82,4 $\pm$ 16,83
Control	0,838 $\pm$ 0,181	0,122 $\pm$ 0,075	0,716 $\pm$ 0,109	115,2 $\pm$ 83,82	44,6 $\pm$ 5,17	110 $\pm$ 41,78	7,28 $\pm$ 0,342	2,26 $\pm$ 0,207	70,4 $\pm$ 3,28

TABLA 4 - Resultados hematología (promedio $\pm$ desv.std)

	Leucocitos E+3 /mm ³	Linfocitos %	Linfocitos número	Monocitos %	Monocitos número	Granulocitos %	Granulocitos E+3 /mm ³	Eritrocitos E+3 /mm ³	Hemoglobina g/dL
Experimental	2,42 $\pm$ 0,936	85 $\pm$ 4,46	1,16 $\pm$ 1,24	6,42 $\pm$ 4,57	0,14 $\pm$ 0,167	8,54 $\pm$ 6,13	0,06 $\pm$ 0,09	5,3 $\pm$ 1,02	13,62 $\pm$ 2,45
Control	2,5 $\pm$ 0,696	80,7 $\pm$ 4,21	2,02 $\pm$ 0,62	12,4 $\pm$ 2,7	0,3 $\pm$ 0,07	7,16 $\pm$ 1,82	0,18 $\pm$ 0,083	5,9 $\pm$ 0,38	15,12 $\pm$ 0,45

	Hematocrito %	Vol.corp.m mm ³	MCH pg	MCH %	RDW %	Plaquetas número	MPVFL
Experimental	33,14 $\pm$ 1,37	64,2 $\pm$ 11,49	25,68 $\pm$ 1,08	40,92 $\pm$ 6,33	15,16 $\pm$ 4,32	1165,2 $\pm$ 125,6	6,88 $\pm$ 2,53
Control	33 $\pm$ 2,14	56,08 $\pm$ 0,65	25,76 $\pm$ 1,02	45,9 $\pm$ 1,74	11,76 $\pm$ 0,93	1193,4 $\pm$ 220,89	5,9 $\pm$ 0,41

TABLA 5 - Resultados - variación de peso corporal, peso de órganos y consumo de agua y alimento (promedio $\pm$ desv.std.)

PESO (g)	Día 1	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Variación de peso en 28 días			
Experimental	217,8 $\pm$ 2,17	233,6 $\pm$ 2,7	234,6 $\pm$ 8,67	235,2 $\pm$ 6,06	239,6 $\pm$ 7,3	Experimental	21,8 g		
Control	215,6 $\pm$ 1,82	233,8 $\pm$ 2,38	225,8 $\pm$ 10,68	235,4 $\pm$ 6,65	237,8 $\pm$ 5,93	Control	22,2 g		

PESO (g)	Corazón	Pulmón	Adrenales	Riñones	Bazo	Hígado	Estómago	Páncreas	Ovarios
Experimental	0,696 $\pm$ 0,07	2,178 $\pm$ 0,483	0,222 $\pm$ 0,323	1,654 $\pm$ 0,13	0,63 $\pm$ 0,327	8,784 $\pm$ 1,19	1,396 $\pm$ 0,192	0,336 $\pm$ 0,127	0,296 $\pm$ 0,338
Control	0,662 $\pm$ 0,038	2,144 $\pm$ 0,351	0,082 $\pm$ 0,019	1,602 $\pm$ 0,05	0,428 $\pm$ 0,008	8,928 $\pm$ 0,55	1,054 $\pm$ 0,035	0,318 $\pm$ 0,126	0,134 $\pm$ 0,053

	intestino	total vísceras	Agua/día (mL)	Alimento/día (g)
Experimental	11,534 $\pm$ 2,07	27,726 $\pm$ 3,63	109,7 $\pm$ 27	70,46 $\pm$ 11
Control	10,698 $\pm$ 1,21	28,05 $\pm$ 3,67	111,35 $\pm$ 24,7	71,68 $\pm$ 16,2

Nota: los promedios de consumo de agua y alimento corresponden a n = 28 días. Los demás datos corresponden a promedios de n = 5 ratas/grupo

TABLA 6 - Comparación de los promedios por grupo - prueba t de Student - valores de probabilidad (p)

CONCLUSIONES SOBRE TOXICIDAD SUBAGUDA:

No hay diferencia significativa para ninguna variable medida ($p > 0.05$) excepto las siguientes:

		p	Interpretación, significativa:
Promedio exp. Vs control	Monocitos %	0,042	50 % menor en el grupo experimental que en el control
Promedio exp. Vs control	peso estómago	0,004	Mayor en el grupo experimental que en el control
Variación de peso día 1 a 7		< 0,001	Prueba t pareada indica variación significativa en el peso en ambos
Variación de peso inicial versus final		< 0,006	Grupos.

La variación en el peso de vísceras es notable solamente para las dos glándulas adrenales (experimental: 0.222 vs control: 0,082, pero la diferencia no es

estadísticamente significativa ($p = 0,388$, varianzas significativamente diferentes) debido a la gran variabilidad de los datos (ver desviación estándar) y al tamaño de la muestra ($n = 5$). Solamente es significativa la diferencia en peso del estómago.

TABLA 7 Volumen de orina recogido en las primeras seis horas (ml)

GRUPO	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 4	Hora 5	Hora 6	TOTAL (mL)
Control , agua estéril	0,07 ± 0,096	0,12 ± 0,208	0,023 ± 0,04	0,08 ± 0,072	0,28 ± 0,26	0	0,573 ± 0,242
Furosemida, control +	0,323 ± 0,543	0,143 ± 0,248	0,04 ± 0,056	0,117 ± 0,202	0,267 ± 0,07	0	0,877 ± 0,581
Extracto acu. Expntal	0,033 ± 0,058	0,093 ± 0,09	0	0,42 ± 0,095	0	0,21 ± 0,052	0,757 ± 0,057

La cantidad de datos (n = 3) y la distribución que no es normal, impiden hacer un ANOVA DE DOS VIAS). Diferencias no significativas (P > 0.05) en todas las comparaciones, según la prueba de Bonferroni

TABLA 8. Excreción volumétrica urinaria (evu) por hora, calculada en las primeras seis horas

GRUPO	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 4	Hora 5	Hora 6
Control , agua estéril	0,31 ± 0,429	0,536 ± 0,93	0,103 ± 0,179	0,353 ± 0,3189	1,25 ± 1,177	0
Furosemida, control +	1,446 ± 2,43	0,64 ± 1,1	0,116 ± 0,2	0,52 ± 0,9	1,19 ± 0,34	0
Extracto acuo. Expntal	0,146 ± 0,254	0,413 ± 0,4	0	1,876 ± 0,428	0	0,937 ± 0,231

La cantidad de datos (n = 3) y la distribución que no es normal, impiden hacer un ANOVA DE DOS VIAS .

Diferencias no significativas

(p > 0.05) en todas las comparaciones, según la prueba de Bonferroni, excepto para las siguientes comparaciones:

Cuarta hora, experimental vs control negativo (p = 0.0077), pero no difiere significativamente experimental vs furosemida

(p = 0.078).

Sexta hora, control negativo vs grupo experimental y 5a y 6a horas para furosemida (control +) vs experimental (p < 0.002)

En la sexta hora la EVU fue mayor para el grupo experimental que para los controles, que dieron EVU =0

TABLA 9 Electrolitos en orina

GRUPO	Sodio mEq/l	Potasio mEq/l	Calcio mg/dl	Cloruro mEq/l	Fosforo mg/dl	pH
Control , agua estéril	67 ± 37,42	190,5 ± 21,72	22,26 ± 4,12	162,46 ± 36,7	190,23 ± 36,28	6
Furosemida, control +	119,97 ± 15,6	216,4 ± 70,94	36,53 ± 10,56	219,63 ± 24,98	298,6 ± 60,61	6
Extracto acuo. Expntal	86,53 ± 60,22	219,5 ± 47,79	73,2 ± 37,66	203,3 ± 69,86	188,27 ± 34,74	6

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS: Entre los tres grupos no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) en todas las comparaciones

TABLA 10
Resultados efecto antinefrolitiásico (promedio $\pm$ desv.std.)

	Ca ppm/riñón	N uréico mg/dL	Creatinina	Ca mg/dL	Fósforo mg/dL	urea mg/dL	Cálculos en riñón contra lateral
Sol.							
G1 Salina	508,58 $\pm$ 90,22	31,95 $\pm$ 2,52	0,7 $\pm$ 0,1	10,86 $\pm$ 0,18	6,34 $\pm$ 0,87	68,39 $\pm$ 5,46	No
G2 Planta 100%	539,52 $\pm$ 105,66	28,92 $\pm$ 2,7	0,75 $\pm$ 0,14	10,68 $\pm$ 0,65	7,95 $\pm$ 1,49	61,66 $\pm$ 5,92	no
G3 Planta 75 %	510,5 $\pm$ 71,76	30,28 $\pm$ 2,173	0,666 $\pm$ 0,1	10,916 $\pm$ 0,331	5,8 $\pm$ 0,853	64,83 $\pm$ 4,58	no
G4 Planta 50 %	533,19 $\pm$ 114,4	34,17 $\pm$ 4,25	0,716 $\pm$ 0,075	10,983 $\pm$ 0,45	6,48 $\pm$ 0,3	73,16 $\pm$ 9,56	no
G5 Etilenglicol Planta100%	512,1 $\pm$ 112,37	34,72 $\pm$ 5	0,683 $\pm$ 0,147	10,983 $\pm$ 0,584	5,53 $\pm$ 1,83	74,33 $\pm$ 11	No
G6 sin E.G	456 $\pm$ 127	35 $\pm$ 5,2	0,75 $\pm$ 0,176	10,983 $\pm$ 0,318	5,7 $\pm$ 1,9	75 $\pm$ 11	No

Según el análisis de varianza y la prueba de Bonferroni los promedios no difieren significativamente para ninguna de las 15 comparaciones posibles de cada parámetro medido ($p > 0.0033$), teniendo en cuenta que p debe ser menor de 0.0033 por tratarse de comparaciones múltiples.

Cada grupo es de $n = 6$ ratas lo cual contribuye a que las comparaciones no alcancen a indicar diferencias significativas

16. ANEXOS

1. Resultados análisis de laboratorio de química sanguínea toxicidad subaguda

GRUPO	Nro Rata	Glicemia mg/dl	Nitrógeno Ureico mg/dl	Creatinina mg/dl	Sodio mEq/L	Potasio mEq/L	Cloro mEq/L	Transaminasa Oxaloacetica UI/L	Bilirrubina Total mg/dl	Bilirrubina Directa mg/dl	Bilirrubina Indirecta mg/dl	Transaminasa Piruvica UI/L	Colesterol Total mg/dl	Triglicéridos mg/dl	Proteínas Totales g/dl	Albumina g/dl	Urea mg/dl
G1 V.O Acuoso Planta	141	161	30.9	0.67	154.1	4.84	114.5	146	0.48	0.02	0.46	67	43	134	7.4	2.2	0.6
G1 V.O Acuoso Planta	142	259	43.8	0.86	149.9	6.81	115.1	122	0.69	0.10	0.59	38	51	84	6.2	2.1	5.0
G1 V.O Acuoso Planta	143	158	49.1	0.64	151.3	8.44	116.3	135	0.62	0.14	0.48	50	51	132	6.3	2.2	1.0
G1 V.O Acuoso Planta	144	221	36.9	0.72	152.6	5.82	114.9	600	1.66	0.57	1.09	174	54	38	8.0	2.6	1.0
G1 V.O Acuoso Planta	145	191	32	0.62	155	5.21	115	311	0.67	0.04	0.63	230	53	149	7.4	2.2	0.6
G2 V.O S/S	146	257	31.9	0.65	155.4	7.35	118.9	485	1.12	0.25	0.87	67	40	81	7.2	2.3	0.6
G2 V.O S/S	147	210	32.7	0.50	154.5	6.58	118.7	266	0.69	0.08	0.61	51	41	164	7.7	2.1	1.0
G2 V.O S/S	148	277	32.9	0.65	153	5.7	116.2	293	0.92	0.13	0.79	72	48	135	7.5	2.6	1.0
G2 V.O S/S	149	259	31.7	0.96	149.7	5.88	112.5	318	0.74	0.08	0.66	255	52	111	7.2	2.1	0.6
G2 V.O S/S	150	225	35.6	0.68	153.2	7.15	118.5	240	0.72	0.07	0.65	131	42	59	6.8	2.2	1.0

2. Análisis de laboratorio toxicidad subaguda cuadro hemático

GRUPO	Nro. Rata	Recuento Blancos $10^3 \times \text{mm}^3$	Linfocitos %	Linfocitos (#) $10^3 \times \text{mm}^3$	Monocitos %	Monocitos (#) $10^3 \times \text{mm}^3$	Granulocitos %	Granulocitos (#) $10^3 \times \text{mm}^3$	Recuento de Rojos $10^6 \times \text{mm}^3$	Hemoglobina g/dl	Hematocrito %	Volumen Corpuscular Medio FL	MCH pg	MCHC %	RDW %	Plaquetas $10^3 \times \text{mm}^3$	MPV FL
G1 V.O Acuoso Planta	141	2.5	87	2.2	9.4	0.2	3.6	0.1	6.2	14.9	33.3	53.4	23.9	44.8	12	1381	5.3
G1 V.O Acuoso Planta	142	3.2	80	0	2	0	18	0	3.9	10.3	31.8	80.9	26.1	32.3	21.4	1114	11.3
G1 V.O Acuoso Planta	143	2.1	87	0	2	0	11	0	4.6	11.8	32.7	71.2	25.6	36	18	1138	6.7
G1 V.O Acuoso Planta	144	1	90.4	0.9	6.3	0.1	3.3	0	6.2	16.1	35.4	57.2	26	45.5	11.9	1140	5.6
G1 V.O Acuoso Planta	145	3.3	80.8	2.7	12.4	0.4	6.8	0.2	5.6	15	32.5	58.3	26.8	46	12.5	1053	5.5
G2 V.O S/S	146	2.6	74.9	1.9	14.9	0.4	10.2	0.3	6.1	15.5	34.6	56.7	25.4	44.8	11.7	1120	5.8
G2 V.O S/S	147	3.1	82.3	2.6	11	0.3	6.7	0.2	6.4	15.7	35.8	56.4	24.7	43.9	13.2	1524	5.6
G2 V.O S/S	148	2.8	83.5	2.3	9.9	0.3	6.6	0.2	5.9	14.8	32.3	55	25.3	45.9	12	1305	5.9
G2 V.O S/S	149	1.3	77.8	1	15.2	0.2	7	0.1	5.4	14.9	30.6	56.3	27.4	48.5	10.9	1005	6.6
G2 V.O S/S	150	2.7	85	2.3	9.7	0.3	5.3	0.1	5.7	14.7	31.7	56	26	46.4	11	1013	5.6

3. Excreción volumétrica urinaria por hora por rata							
GRUPO	Nro. Rata	Primera Hora	Segunda Hora	Tercera Hora	Cuarta Hora	Quinta Hora	Sexta Hora
AGUA ESTERIL	195	0.0	1.61	0.0	0.62	0.71	0.0
AGUA ESTERIL	190	0.80	0.0	0.0	0.0	2.60	0.0
AGUA ESTERIL	192	0.13	0.0	0.31	0.44	0.44	0.0
DIURETICO (FUROSEMIDA)	194	4.26	0.0	0.0	1.56	0.89	0.0
DIURETICO (FUROSEMIDA)	191	0.0	1.92	0.0	0.0	1.56	0.0
DIURETICO (FUROSEMIDA)	187	0.08	0.0	0.35	0.0	1.12	0.0
CONTENIDO ACUOSO 100%	188	0.0	0.80	0.0	1.65	0.0	0.67
CONTENIDO ACUOSO 100%	193	0.44	0.44	0.0	1.61	0.0	1.07
CONTENIDO ACUOSO 100%	200	0.0	0.0	0.0	2.37	0.0	1.07